



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

**Evaluación de macronutrientes de dos fertilizantes
orgánicos y su impacto en la productividad de calabaza y
frijol**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

Maestra en Ciencias Agropecuarias

P R E S E N T A :

FÁTIMA ABIGAIL GARCÍA IBARRA

TUTORA: M. EN C. MARÍA GUADALUPE
RAMOS ESPINOSA

CO-TUTOR: DR. FIDEL ADOLFO PAYÁN
ZELAYA

ASESORA: DRA. MARÍA GUADALUPE
BARAJAS GUZMÁN

Ciudad de México

2019

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Antonio Flores Macías por las facilidades para el uso de los espacios en el Centro de Investigaciones Biológicas y Acuícolas de Cuernavaca (CIBAC).

Al Dr. Javier Fortanelli Martínez del Instituto de Investigaciones Desérticas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP) por su apoyo y orientación en la recolección de residuos de hormiga arriera en el municipio de Santa María del Río, San Luis Potosí.

Al Dr. Pascal Jouquet, jefe del equipo “Funcionamiento Físico y Bioquímico de Suelos” (FEST) del Instituto de Investigación para el Desarrollo (IRD), Bondy, Francia por las facilidades brindadas para realizar la estancia de investigación bajo su supervisión.

Al Dr. Thomas Lerch del equipo “Biogeografía y diversidad de las interacciones del suelo” (BioDis) del IRD, Bondy, Francia por el apoyo teórico y práctico en la medición de actividad microbiana.

A la Ing. Hanane Aroui Boukbida del Instituto de Ecología y Ciencias del Ambiente (IEES) de París por el apoyo en la técnica de espectroscopía y propiedades físicas de los sustratos.

A la Comisión Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por otorgarme la beca de maestría en el periodo de septiembre de 2017 a agosto de 2019.

DEDICATORIAS

A mi madre Norma, por recordarme cada día que el esfuerzo rinde frutos y ser fuente inagotable de apoyo y cariño. Agradezco diariamente a la vida porque hayan sido ustedes y no otros quienes forjaran los inicios de la persona que soy y que llegaré a ser.

A mis hermanos Abraham y Ana, por ser desde niños, las personas más nobles que conozco. Con el tiempo se han convertido en amigos y los quiero a ambos por ser seres auténticos y llenos de bondad, siempre dispuestos a escuchar y ayudar no solo a mí, sino a todo aquel que se cruce en su camino.

A mis sobrinos Lucio y Demian por que crezcan para enfrentarse a la vida con fuerza y valor. Los quiero mucho, niñitos.

A Montse, hermana que nació en otra familia. No existen palabras para describir cuánto agradezco que estés en mi vida y lo feliz que me hace estar en presencia de tu luz infinita. Te quiero mucho bebé.

A Ale y Sandra, amigas desde hace mucho. Por su paciencia, cariño y cuidado; por mantenernos juntas en los momentos felices y en las adversidades a lo largo de tantos años. Las quiero mucho.

A mis amigos Tania y Lalo, por todas las risas y momentos increíbles que tenemos cada que estamos juntos. Con pocas personas me puedo sincerar tanto como con ustedes dos. Los quiero.

Al Calmécac de la amistad: Paty, Mars, Naye, Nelly y Juan, porque siempre me transmiten su apoyo y buenos deseos. Son la prueba de que los amigos verdaderos están ahí aún después de largas ausencias.

A Mónica, Chucho y Norma, por ayudarme cuanto han podido desde que se me ocurrió la idea de hacer esta maestría. Lo han hecho todo mucho más fácil y en verdad me he sentido apreciada durante estos años.

A Kari y Adriana, por apoyarme y ayudarme con la adaptación a la UAM. No lo hubiera logrado sin ustedes y el chal que siempre echamos.

Al doctor Fidel y la maestra Lupita porque me abrieron las puertas y confiaron en mí sin conocerme; me tuvieron paciencia, y me dieron su apoyo y compromiso de principio a fin, a pesar de la alumna tan latosa y obsesiva que resulté ser.

A todos los amigos que hice en Francia: Hanane, Pascal, Laurence, Julio, Pierre, Claudia, Toño, Laura, Sandrine, Thierry, Mercedes, Elsa, Julia, Fethiye, Caroline, Emilie. Con su apoyo y amabilidad hicieron desde el día uno de mi estancia, uno de los periodos más lindos que he tenido.

ÍNDICE

ÍNDICE	5
I. INTRODUCCIÓN	7
1.1. Agricultura orgánica	4
1.2. Materia orgánica del suelo (MOS)	6
1.2.1. Importancia de la MOS en la nutrición vegetal	7
1.3. Fertilizantes orgánicos	8
1.3.1. Vermicomposta	8
1.3.2. Residuo de hormiga arriera	13
1.4. Cultivos de importancia económica en México	16
1.4.1. Frijol (<i>Phasolus vulgaris</i> L.)	16
1.4.2. Calabacita (<i>Cucurbita pepo</i> , L.)	17
II. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	19
III. HIPÓTESIS	19
IV. OBJETIVO GENERAL	19
V. OBJETIVOS PARTICULARES	19
VI. MATERIAL Y MÉTODO	20
6.1. Obtención y caracterización fisicoquímica de los abonos orgánicos	20
6.2. Cultivo de frijol y calabacita	21
6.3. Bolsas de descomposición	22
6.4. Obtención y procesamiento de muestras	22
6.5. Espectroscopía	23
6.6. Análisis elemental de C y N	24
6.7. Ensayo de respiración microbiana	25
6.8. Análisis estadístico	26
VII. RESULTADOS	33

7.1. Temperatura y humedad	33
7.2. pH y conductividad eléctrica de los abonos	34
7.3. Contenido de carbono y relación C:N en ambos abonos	35
7.4. Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier	37
7.5. Dinámica de crecimiento	39
7.6. Dinámica de producción de clorofila	41
7.7. Dinámica de crecimiento y rendimiento	42
7.8. Producción de frutos	44
VIII. DISCUSIÓN	46
8.1. Contenido de carbono y relación C:N	46
8.2. Actividad microbiana	47
8.3. Nitrógeno disponible en los abonos	48
8.4. pH y conductividad eléctrica	51
8.5. Fenología de calabacita y frijol	52
IX. CONCLUSIONES	54
X. BIBLIOGRAFÍA	55
ANEXO I	66

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente, se espera que la población mundial alcance un total de entre 8 y 10 billones de habitantes para el año 2050 (Godfray et al, 2010). Alimentar a esta cantidad de personas representa un gran reto para la agricultura ya que a la par de incrementar la producción es necesario disminuir los impactos negativos sobre el suelo, el agua y el clima (Foley et al., 2011). Es poco probable que la productividad de los cultivos se incremente mediante el simple aumento en la superficie dedicada a la agricultura. El territorio utilizado por la urbanización, el suelo perdido por procesos de salinización y desertificación, automáticamente reducen la posibilidad de extender los territorios de uso agrícola (Fedoroff et al., 2010).

En un estudio realizado por DeFries y colaboradores en 2010, en el que analizaron imágenes satelitales de bosques en 41 países y su relación con factores económicos y demográficos, encontraron que una alta tasa de pérdida de bosques está fuertemente relacionada con la demanda de productos agrícolas y el crecimiento de la población en zonas urbanas que, además, son las zonas que menor contribución a la producción primaria tienen.

Parece difícil aumentar la productividad usando los métodos de intensificación convencionales (Roberts y Mattoo, 2018). La producción de alimentos se duplicó en los últimos 35 años, principalmente debido a la enorme cantidad de fertilizantes sintéticos, pesticidas e irrigación (Foley, et al., 2011). El uso de fertilizantes de N incrementó en aproximadamente 800% de 1960 al 2000, siendo el 50% del total usado en cultivos de arroz y maíz que usualmente presentan eficiencias por debajo del 40%, lo que lleva a una pérdida de nitrógeno que se deposita en el ambiente (Roberts y Mattoo, 2018; Beeckman et al., 2018). La intensificación agrícola ocurrida en las décadas pasadas ha tenido impactos negativos como el incremento en la erosión y disminución en la fertilidad del suelo; contaminación y eutrofización de cuerpos de agua e incremento de compuestos con potencial para agravar el cambio climático, lo que a su vez ocasiona cambios en la producción de alimentos (Roberts y Mattoo, 2018; Foley et al., 2011).

El alto uso de pesticidas, fertilizantes y agua y la aplicación de nuevas tecnologías, ha permitido un gran avance en la agricultura moderna desde el siglo pasado. Esto ha incrementado el rendimiento por unidad de área y a la vez ha promovido el desarrollo económico en todo el mundo (Chen et al., 2018). A pesar de que el desarrollo derivado de la nueva agricultura ha sido significativo, el impacto ambiental es prácticamente incalculable. La agricultura intensiva es dependiente de la adición de fertilizantes, pero el mal manejo de los mismos (aplicación excesiva), práctica típica de la agricultura convencional, es una conocida amenaza para el ambiente (Chen et al., 2018). En la actualidad, la mayoría de los cultivos son manejados mediante sistemas convencionales de producción que hacen uso de pesticidas y fertilizantes sintéticos, pero también podemos encontrar en menor medida, sistemas de producción orgánica que utilizan de fuentes naturales para mantener la fertilidad del suelo y controlar las plagas (Roberts y Mattoo, 2018). Por lo anterior, es necesario estudiar alternativas a la agricultura convencional que resulten eficientes para la productividad y permitan reducir los impactos negativos al ambiente.

I.1. AGRICULTURA ORGÁNICA

La agricultura orgánica es un sistema integral de gestión de producción que busca promover y mejorar la salud del ecosistema agrícola, incluidos su diversidad, ciclos de nutrientes y actividad biológica del suelo. Da preferencia al uso de prácticas autogestivas sobre el uso de insumos ajenos a la explotación, teniendo en cuenta que las condiciones regionales necesitan sistemas adaptados a la realidad local. Para lograr este objetivo, hace uso de métodos culturales, biológicos y mecánicos en lugar de materiales sintéticos, para realizar cualquier función específica dentro del sistema. Comúnmente se utilizan de manera indistinta los términos “agroecología” y “agricultura orgánica”, sin embargo, la primera no promulga necesariamente la prohibición del uso de insumos sintéticos. Se entiende por agroecología la ciencia y aplicación práctica de conceptos y principios ecológicos al estudio, diseño y gestión de las interacciones ecológicas en los sistemas agropecuarios (FAO, 2009), en tanto que la agricultura orgánica es un sistema

caracterizado por excluir el uso de los productos de síntesis química (fertilizantes y plaguicidas en general), organismos genéticamente modificados, aguas negras y radiaciones en los alimentos (Gómez-Cruz et al. 2003).

Las prácticas dentro de un sistema orgánico son complejas e incluyen controles biológicos, uso suplementario de minerales, fertilizantes orgánicos, selección adecuada de los cultivos, manejo espacial y temporal y manejo de arvenses, entre otras (Figura 1) (Reganold y Wachter, 2016). Los sistemas de producción orgánicos y convencionales han sido comparados en numerosas ocasiones y se han encontrado diferencias en los rendimientos, impactos en el ambiente y niveles de sustentabilidad (Reganold y Wachter, 2016; Gopinath, et al, 2008). La productividad asociada a los sistemas de producción orgánica ha resultado ser entre 5% y 34% menor a la convencional, sin embargo, depende del cultivo, las condiciones, las prácticas agrícolas e incluso de la región del mundo (Seufert et al., 2012)

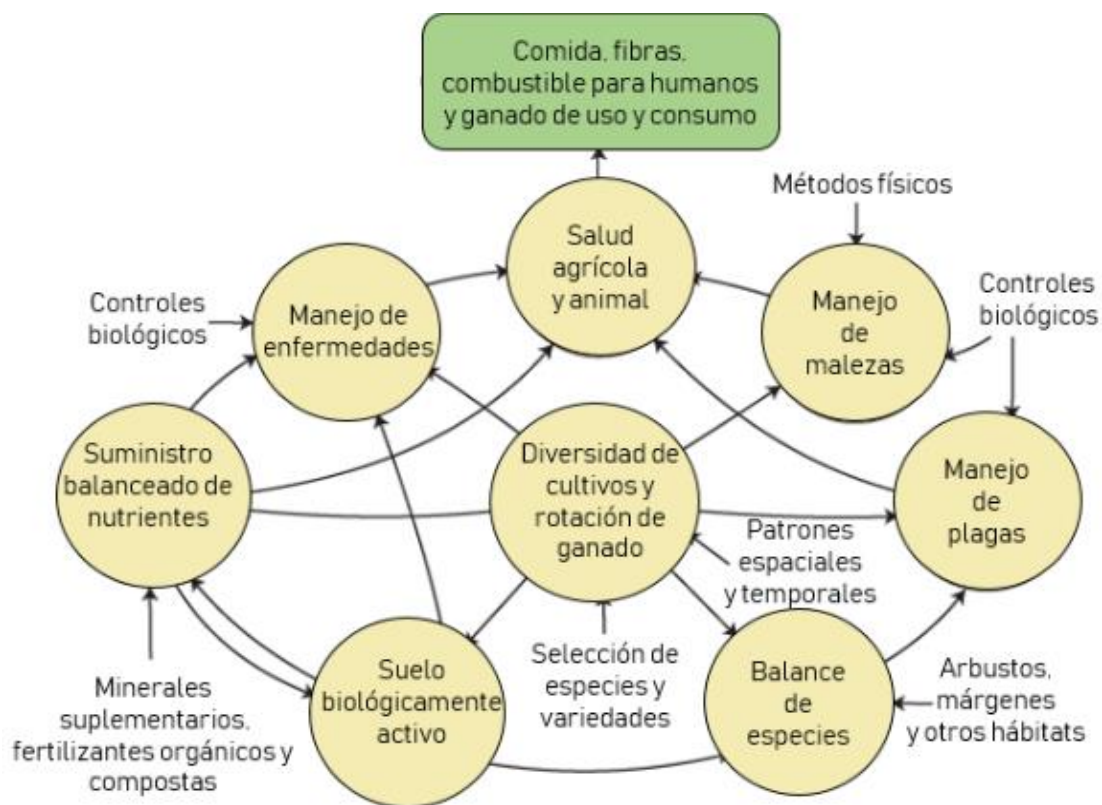


Figura 1. Prácticas de manejo en un sistema orgánico. Modificado de Reganold y Wachter, 2016.

Los sistemas orgánicos están diseñados para ser menos perjudiciales para los humanos y el ambiente que los sistemas convencionales ya que ponen mayor énfasis en el correcto manejo de procesos ecológicos y eliminan insumos que son potencialmente dañinos, tales como los fertilizantes y pesticidas sintéticos (Seufert et al., 2012). Reganold y Wachter (2016) realizaron una evaluación cualitativa basada en numerosos artículos relacionados con ambos sistemas de producción. Para dicha evaluación, analizaron doce metas para conseguir la sustentabilidad, divididas en cuatro grupos: producción, sustentabilidad ambiental, sustentabilidad económica y bienestar (Figura 2). Encontraron que, aunque la agricultura orgánica tiene menor rendimiento que el sistema convencional, tiene mayor rentabilidad; es más amigable con el ambiente; da alimentos igual de nutritivos con menor (o incluso nula) generación de residuos de pesticidas.

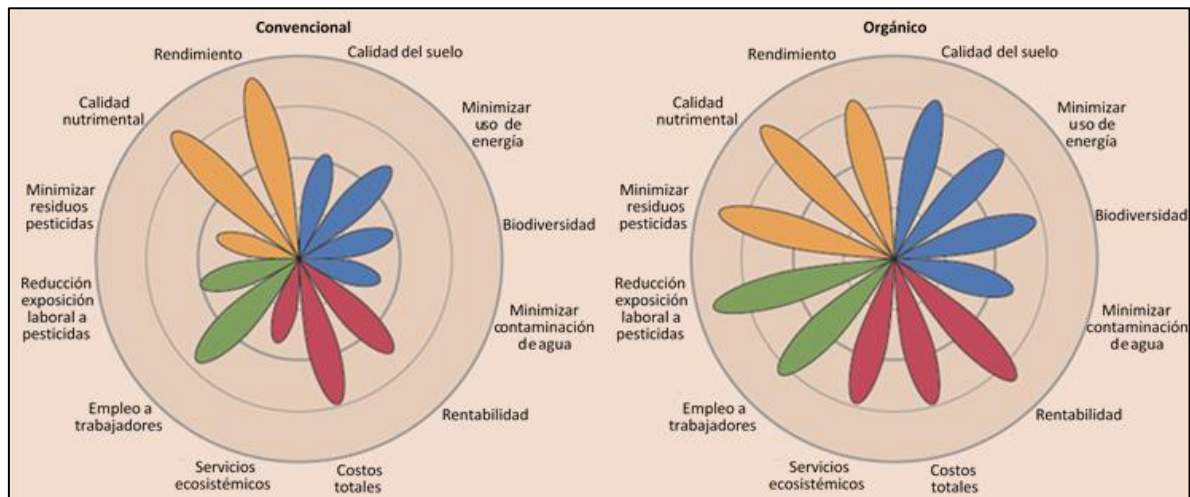


Figura 2. Evaluación de cuatro áreas principales de la sustentabilidad en sistemas orgánicos contra convencionales. Naranja: áreas de producción; azul: sustentabilidad ambiental; rojo: sustentabilidad económica; verde: áreas de bienestar. Modificado de Reganold y Wachter, 2016.

I. 2. MATERIA ORGÁNICA DEL SUELO (MOS)

Uno de los principales objetivos de la agricultura orgánica es la construcción de materia orgánica en el suelo mediante el uso de cultivos de cobertura, estiércoles animales y otros subproductos como acolchados verdes. Los suelos con mayores

niveles de materia orgánica por lo general tienen más capacidad de mineralizar, capturar y almacenar nutrientes y mejorar la retención de agua (Spargo et al, 2011). Se conoce como Materia Orgánica del Suelo (MOS) a la fracción de éste que está enriquecida con carbono y formada por restos de plantas, animales y microorganismos en distintos estados de descomposición. Típicamente, se divide la MOS en fracción lábil (sustancias de bajo peso molecular) y fracción estable (sustancias de alto peso molecular). La primera consiste en material orgánico parcialmente descompuesto que se modifica rápidamente y tiene una menor densidad que los minerales del suelo; la segunda está compuesta de productos más procesados que se descomponen lentamente y tienen altas densidades porque están íntimamente relacionadas con los minerales (Álvarez y Álvarez, 2000).

Dentro de los nuevos enfoques sobre la MOS, está el concepto de Modelo Continuo del Suelo (SCM por sus siglas en inglés) que propone la existencia de la materia orgánica como un continuo de fragmentos orgánicos constantemente procesados por la comunidad descomponedora para formar moléculas más pequeñas. Las herramientas analíticas modernas usadas para la caracterización de biomoléculas en células microbianas y suelos ahora sugieren una contribución rápida y directa de las paredes celulares microbianas a la MOS protegida por la interacción con minerales (Miltner et al., 2012; Schuring et al., 2013). Además, una consecuencia de la presencia de microorganismos en el proceso de descomposición influye directamente en la deposición de células microbianas, restos celulares, exopolisacáridos y exudados de raíces en las superficies minerales (Lehmann y Kleber, 2015).

Solo el SCM explica las variaciones de materia orgánica en los tiempos de rotación mediante: a) la presencia o ausencia de organismos descomponedores y enzimas y la energía que necesitan; b) las propiedades y abundancia de superficies minerales que pudieran proteger la materia orgánica; y c) la disponibilidad de recursos tales como oxígeno y nutrientes (Schmidt et al, 2011).

I.2.1 Importancia de la MOS en la nutrición vegetal

La materia orgánica contribuye a la fertilidad del suelo al retener el agua y nutrientes disponibles para la planta. El momento más beneficioso se da cuando la materia orgánica, al descomponerse, libera energía y nutrientes. Una práctica fundamental en la agricultura orgánica es la adición de fertilizantes orgánicos (compostas y/o restos vegetales o animales) al suelo para suministrar la cantidad de materia orgánica y, por ende, nutrientes necesarios para la producción agrícola (Lehmann y Kleber, 2015).

Dos componentes indispensables en la MOS, son el nitrógeno y el carbono.que al cumplir procesos de mineralización en el suelo, se vuelven disponibles para la planta. En los sistemas de producción orgánica se ha observado una mayor cantidad de N comparado con sistemas convencionales, lo que guarda relación con la productividad y la toma de este nutriente por la planta (Spargo et al., 2011).

Los procesos de descomposición de la MOS son realizados por microorganismos, principalmente hongos y bacterias, que poseen una enorme diversidad de capacidades bioquímicas para el rompimiento de compuestos orgánicos. Esta capacidad descomponedora hace a los microorganismos actores principales en procesos de descomposición fundamentales para el ecosistema (Bardgett et al. 2008, Wall et al. 2012, Camenzind et al., 2018). Microorganismos heterótrofos de vida libre y algunos mutualistas de plantas (hongos micorrízicos y bacterias fijadoras de nitrógeno) participan en procesos de extracción, dinámica y mineralización de nutrientes y emisiones de gases de efecto invernadero a partir de los suelos (van der Heijden 2008, Trivedi et al. 2016, Camenzind et al., 2018).

I.3. FERTILIZANTES ORGÁNICOS

Un fertilizante orgánico es el material resultante de la descomposición de la materia orgánica del suelo mediada por los microorganismos presentes en él, quienes generan formas de nutrientes utilizables por las plantas. Según el tipo de microorganismos involucrados, el proceso puede ser aerobio o anaerobio (Ramos-Agüero y Terry-Alfonso, 2014).

Los fertilizantes orgánicos aportan materia orgánica, nutrientes y microorganismos al suelo, lo que favorece su fertilidad y la nutrición y crecimiento de las plantas (Egball et al., 2004). Además, mejoran la eficiencia de los nutrientes en el suelo al disminuir las pérdidas por lixiviación y volatilización e incluso disminuyen la contaminación ambiental al retardar o controlar la liberación de nutrientes al suelo (Chen et al., 2018).

I.3.1 Vermicomposta

En los últimos años, los residuos sólidos orgánicos se han convertido en un problema mayor debido a las dificultades para manejarlos, sobre todo en los países en desarrollo donde ya representan problemas ambientales y económicos (Soobhany et al., 2017). La opción biológica que actualmente se considera la más eficiente es el compostaje ya que es barato, se puede generar a partir de residuos sólidos municipales y genera fertilizantes orgánicos estables con altos contenidos nutrimentales (Mohee y Soobhany, 2014). El proceso de compostaje más utilizado es el llamado compostaje termofílico que consiste en la descomposición de los restos orgánicos a través del metabolismo de bacterias aerobias. Este proceso posee la ventaja de ser económico y fácil de llevar a cabo, pero su uso implica precauciones sanitarias debido a que los restos orgánicos suelen presentar agentes zoonóticos tales como virus, hongos, helmintos y bacterias que pueden sobrevivir al proceso de compostaje (Hassen et al., 2001). Es posible atribuir la supervivencia de éstos a una temperatura diferente en distintos puntos de la pila de compostaje; falta de homogeneización de los residuos orgánicos; contaminación cruzada con herramientas de trabajo; contacto de lixiviados y adición de compostas jóvenes a compostas maduras (Soobhany et al., 2017). Dadas estas inconveniencias del compostaje termofílico, el uso de las vermicompostas se ha generalizado en todo el mundo (Domínguez, 2010).

La vermicomposta es el resultado de un proceso bio-oxidativo mesofílico (<35°C) en el que las lombrices detritívoras interactúan con microorganismos que llevan a cabo el proceso de descomposición y acelerada estabilización de la materia orgánica, modificando sus propiedades físicas y bioquímicas (Domínguez, 2010).

Existen varias especies que son utilizadas para el proceso de vermicompostaje; las más comunes son *Eisenia foetida*, *Eisenia andrei*, *Eudrilus eugeniae* y *Perionyx excavatus*, que además de participar eficientemente en el proceso de degradación, son adaptables a condiciones extremas y capaces de aprovechar la materia orgánica en estado de descomposición (Draskovits et al., 2017).

Un aspecto fundamental que debe considerarse cuando se evalúan los efectos de una vermicomposta, es la interacción de ésta con los microorganismos. Hongos y bacterias producen enzimas que causan la descomposición bioquímica de la materia orgánica, pero son las lombrices las conductoras del proceso ya que están involucradas en la estimulación y posterior aumento en la actividad de las poblaciones microbianas a través de fragmentación e ingestión de materia orgánica fresca que funciona como medio de colonización. Además, las lombrices modifican la biomasa y actividad microbiana mediante la estimulación, digestión y dispersión en las eyecciones, que ocasionan cambios en la estructura de las comunidades de microfauna y microflora del suelo (Domínguez, 2010). Dentro de una vermicomposta se da una red biótica entre los microorganismos y los invertebrados, producto del reciclaje de materia orgánica y liberación de nutrientes a partir de ella. El grupo más numeroso y diverso de esta cadena son los microorganismos, aunque también hay abundantes protozoos e invertebrados como nemátodos, microartrópodos y lombrices que ocupan distintos niveles tróficos: bacteriófagos, fungívoros, detritívoros, carnívoros y omnívoros (Sampedro y Domínguez, 2008).

Los microorganismos endosimbióticos presentes en el tracto digestivo de la lombriz producen enzimas extracelulares que degradan celulosa y compuestos fenólicos, mejorando la degradación del material ingerido, de forma que la materia orgánica ya degradada pasa a través del cuerpo de la lombriz y sale en forma de eyecciones (Figura 3). Mientras las lombrices se alimentan de residuos orgánicos en proceso de descomposición, crean túneles en el sustrato, lo que favorece la aereación y pone a disposición de los microorganismos agua, oxígeno y nutrientes. Además, mientras los descomponedores mueren, más comida se añade al sustrato para ser utilizadas por otros. Debido a ello, no está claro de dónde se obtienen los nutrientes y energía presentes en la vermicomposta (de la descomposición de la materia

orgánica, microorganismos, microfauna o la combinación de ellas) (Domínguez, 2010).

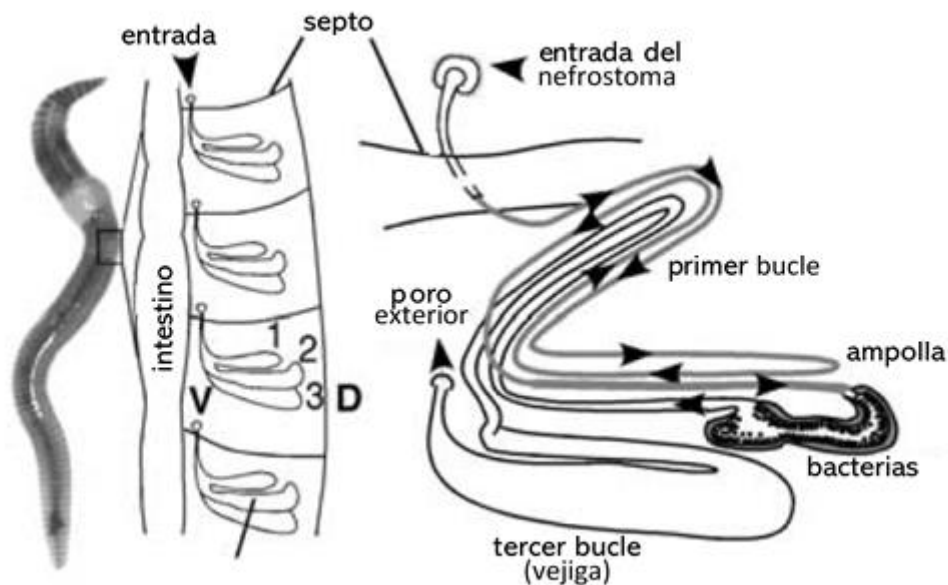


Figura 3. Anatomía de los nefridios dentro de la lombriz. En cada septo se encuentran dos nefridios. Cada uno de ellos, toma fluido del celoma de la lombriz a través de un poro llamado nefrostoma. El fluido pasa a través de tres bucles, incluyendo la ampolla en el segundo bucle donde se encuentran las bacterias simbióticas de la lombriz. Los residuos son liberados al ambiente través del poro exterior o nefridióforo. Modificada de Davidson y Stahl, 2008.

Una ventaja de la vermicomposta respecto a la composta termofílica es que puede reducir la cantidad de patógenos como *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, coliformes fecales totales y huevos de helmintos presentes en las compostas (Edwards, 2011). De manera general, se ha aceptado que los patógenos potencialmente dañinos para los humanos son destruidos durante el vermicompostaje (Yadav et al., 2011), principalmente mediante un mecanismo de antagonismo propuesto por Monroy y colaboradores (2009).

Al final del vermicompostaje, se obtiene un producto parecido a una turba muy fina que posee alta porosidad y capacidad de retención de agua, una relación C:N baja, y nutrientes en formas que las plantas pueden tomar rápidamente tales como amonio, nitratos y fosfatos. En las eyecciones presentes en la vermicomposta se

presentan altas tasas de mineralización, que potencian la viabilidad de nutrientes inorgánicos, en especial de amonio y nitratos, pero también fósforo, potasio, calcio y magnesio que son usados por las plantas (Domínguez, 2010).

I.3.1.1 Contenido de nutrientes en vermicomposta

La cantidad de materia orgánica no estabilizada (lábil) presente en una vermicomposta representa una propiedad importante ya que provee las fuentes de energía para la actividad biológica y una fuente potencial de nutrientes mineralizables en el suelo (Edwards et al, 2011).

Tabla 1. Contenido de nutrientes en vermicompostas.

Autor, año	Vermicomposta	Método	Resultados
Pant et.al. 2012	<i>Perionyx excavatus</i> y <i>E. foetida</i> (5:1)	C y N totales combustión seca Amonio y nitratos con KCl K y P con digestión húmeda ácida	Contenido de macro y micronutrientes mayor en vermicompostas comparado con compostas termofílicas.
Zarel et al. 2016	<i>Eisenia foetida</i>	N por micro Kjeldahl P método amarillo de vanadato de molibdeno K fotómetro de flama	Mayor concentración de N, P, K y micronutrientes en tratamiento de vermicomposta con estiércol de vaca comparado con otras vermicompostas orgánicas.
Taheri-Rahimabadi et al, 2017	<i>Eisenia andrei</i>	N por Kjeldahl P por Olsen K fotometría en película	Macro y micronutrientes mayores en estiércol de vaca vermicompostado comparado con el estiércol solo.
Nigussie et.al. 2017.	<i>Eisenia foetida</i> y <i>Dendrobaena veneta</i> (2:1)	Análisis de flujo segmentado	NO ₃ cuatro veces mayor con lombrices respecto a composta termofílica. NH ₄ no mostró diferencias

Además de nutrientes orgánicos, las vermicompostas contienen sustancias como ácidos húmicos y fúlvicos y fitohormonas tales como auxinas, giberelinas (GA) y citoquininas (CK) (Arancon et al., 2010; Zhang et al., 2015) que juegan papeles importantes en la regulación del crecimiento, desarrollo y respuesta a estrés vegetal

(Santner y Estelle, 2009). Anteriormente, la detección de fitohormonas en las compostas y vermicompostas era un procedimiento complicado debido a que se encuentran como trazas (Zhang et al. 2015) pero con las nuevas técnicas, su detección se ha facilitado (Tabla 2).

Tabla 2. Contenido de fitohormonas en vermicompostas.

Autor, año	Vermicomposta	Método	Resultados
Zhang et.al. 2015.	<i>Perionyx excavatus</i> y <i>Eisenia foetida</i> (65:35)	Extracción ultrasónica asistida (UAE) y extracción en fase sólida (SPE) optimizar espectrometría de masas/cromatografía líquida.	Citoquinina N ⁶ -[2-isopentil]adenina 0.49ng g ⁻¹ N ⁶ -isopentenyladenosina 0.53 ng g ⁻¹ Citoquinina Trans-zeatina (tZ) debajo del límite de cuantificación (<0.03 ng g ⁻¹) Acido indolacético 79.78 ng g ⁻¹
Pant et.al. 2012	Vermicomposta de residuos domésticos (té) Vermicomposta con estiércol de pollo madura (comercial) (té) Vermicomposta con estiércol de pollo fresca (comercial) (té) <i>P. excavatus</i> y <i>E. foetida</i> (5:1)	Tándem de espectrometría de masas, electrospray y cromatografía de alto rendimiento.	Giberilina 4 (GA ₄) y giberilina 34 (GA ₃₄) presentes en composta termofílica de estiércol y vermicomposta madura de estiércol
Ravindran et al. 2016	<i>Eudrilus eugeniae</i> (composta con y sin lombrices)	Método de Uyayar et al., 1996	Mayor concentración de IAA, kinetina y GA ₃ en tratamiento de vermicomposta comparado con el tratamiento sin lombrices.

I.3.2 Residuos de hormiga arriera

Las hormigas son reconocidas como una de las mayores fuentes de disturbio del suelo en todo el mundo debido a su enorme abundancia y diversidad, amplia

distribución y comportamiento social (Frouz & Jilkova 2008). Estos insectos frecuentemente despojan de vegetación la superficie del suelo y movilizan una gran cantidad de suelo subterráneo hacia capas superficiales para construir y mantener sus nidos. Concentran una gran cantidad de materia orgánica y producen residuos que depositan en cámaras específicas dentro del nido o sobre la superficie del suelo. Por lo anterior, los hormigueros son considerados perturbaciones clave del suelo a pequeña escala (Farji-Brener y Werenkraut, 2015).

Las hormigas arrieras, de los géneros *Atta* y *Acromyrmex* pertenecientes a la tribu Attini, se caracterizan por su relación con hongos mutualistas que cultivan en cámaras subterráneas (jardines) dentro de sus nidos. La diferencia de estos géneros con otros miembros de la misma tribu es que *Atta* y *Acromyrmex* solo usan material fresco para cultivar sus hongos (Weber, 1966). El hongo asociado, *Leucoagaricus gongylophorus*, es un basidiomiceto perteneciente a la familia Lepiotaceae (Agaricaceae: Basidiomycota) que desarrolla estructuras llamadas gongilidia (De Fine et al., 2014). Dichas estructuras son hifas modificadas que poseen altas concentraciones de lípidos y polisacáridos que se ordenan en conjuntos (estafilos), fuente exclusiva de alimento para las larvas, y complementaria para los adultos que toman azúcares adicionales de la savia (Quinlan y Cherrett, 1979) (Figura 4). Las hormigas proveen al hongo los nutrientes que necesita y le da protección contra parásitos y competidores (Weber, 1972). Poseen una glándula metapleuraleal que secreta sustancias como ácido fenilacético, ácido indolacético (fitohormonas), mirmicacina (antimicótico específico) y más de 20 compuestos con actividad antibiótica (Ortius-Lechner et al., 2000), lo que permite al hongo proliferar sin ser atacado por microorganismos patógenos. Una vez terminado el ciclo de vida del hongo, las hormigas obreras sacan el sustrato del “jardín” y lo colocan en cámaras especiales para ello o bien, lo sacan del hormiguero, formando grandes montículos de este material rico en nutrientes. (Farji-Brener y Werenkraut, 2015).

En México podemos encontrar dos especies del género *Atta* (*A. mexicana* y *A. cephalotes*) y cinco del género *Acromyrmex* (*A. coronatus*, *A. echinator*, *A. versicolor*, *A. octospinosus* y *A. octospinosus ekchuah*, endémica) (AntWeb.org, 2019), siendo *A. mexicana* (Smith) una de las más importantes por el tamaño de

sus colonias que se estima alrededor de los 1×10^6 individuos (Ríos-Casanova, 2014). Sin embargo, los estudios sobre su distribución e importancia son muy escasos.

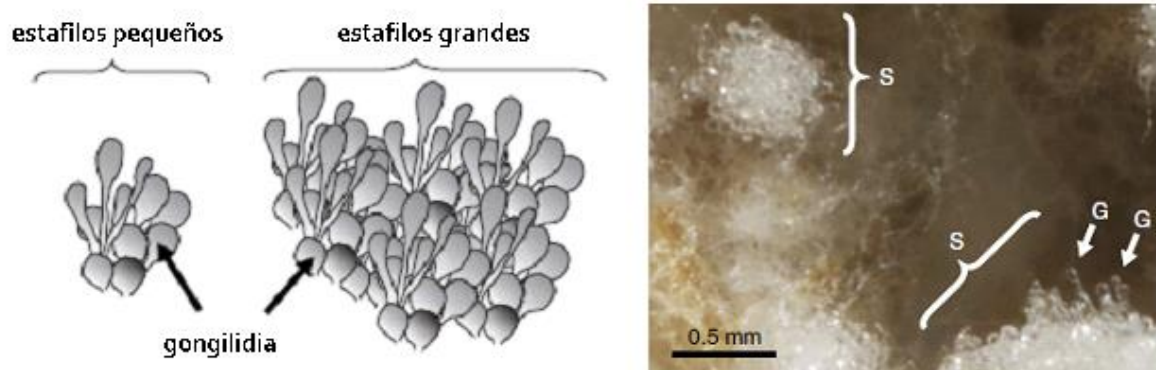


Figura 4. Gongilidia en hongo mutualista dentro de los jardines del hormiguero. A la derecha una fotografía de los estafilos (S) y gongilidia (G) del hongo dentro del hormiguero. Modificado de De Fine et al, 2014.

I.3.2.1 Contenido de nutrientes en residuos de hormiga arriera

En un meta-análisis realizado por Farji-Brener y Werenkraut en 2017, se analizó la posibilidad de que el contenido de nutrientes en los residuos fuera dependiente del tipo de suelo, latitud, vegetación entre otros factores, lo que dificultaría la afirmación de que son útiles como fertilizantes del suelo. En este estudio se encontró que la presencia de hormigueros incrementa el contenido de nutrientes y cationes en el suelo, además las áreas con hormigueros mostraron mayor crecimiento y reproducción vegetal, aunque igual densidad aparente y pH comparado con suelos adyacentes sin hormigueros. En el mismo estudio, se demostró que el contenido de nutrientes de los desechos de hormiga es mayor que el de los suelos con hormigueros sin importar el tipo de alimentación, el tipo de suelo o la latitud.

No se encontraron en la literatura muchos estudios en los que se cuantifique la cantidad de macronutrientes en los desechos de hormiga, sin embargo, en la Tabla 3 se presentan algunos. Cabe destacar que en México se ha reportado que los desechos de hormiga de la especie *Atta mexicana* tienen un contenido de nitrógeno mayor al sirle (combinación entre estiércoles de borrego y cabra), y estiércol de

bovino (2.15%, 1.66% y 1.38% respectivamente) (Fortanelli-Martínez y Servín-Montoya, 2002).

Tabla 3. Contenido de nutrientes en los desechos de hormiga arriera.

Autor	Hormiga	Método	Resultados
Fortanelli-Matínez y Servín-Montoya, 2002	<i>Atta mexicana</i>	No reportado	N (2.15 ± 0.32) P (0.21 ± 0.06) K (2.15 ± 0.54) Ca (1.42 ± 0.28) Mg (0.25 ± 0.17) CO ($29.8\% \pm 5.51$) pH promedio fue de 5.8 ± 0.46 N, K, Ca altos P Mg bajos
Bieber et al., 2011	<i>Atta cephalotes</i> (Vertederos abandonados)	Técnicas definidas por la EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuarias)	C 1.45 ± 0.24 % Na 9.69 ± 1.62 ppm Fe 225 ± 49.72 ppm
Hudson et al, 2009	<i>Atta colombica</i>	PO ₄ , reacción de molibdato NO ₃ ⁻ , catálisis de reducción a NO ₂ ⁻ con Cd / reacción de sulfanilamida NH ₄ ⁺ reacción salicilato-nitroprusiato N y C totales combustión dinámica P total digestión de ácido sulfúrico y Se	Cinco veces mayor concentración de nutrientes totales que suelos controles. Concentraciones de amonio más altas arriba de 548 mg N kg ⁻¹ NO ₃ ⁻ mayores 345 ± 196 mg N kg ⁻¹
Fernández, et al, 2019	<i>Acromyrmex lobicornis</i>	No reportado	C (%) 21.56 ± 2.14 N (%) 2.4 ± 0.42 P (μg g ⁻¹) 223.5 ± 29.1 K (g kg ⁻¹) 4.9 ± 0.47

Debido a que el cultivo de hongo conlleva la descomposición de residuos vegetales, se presentan gran cantidad de microorganismos. Scott y colaboradores en 2010 reportaron que los restos presentan en mayor cantidad bacterias Grampositivas (taxa *Bacillus* y *Clostridium*), aunque la comunidad está enriquecida por bacterias Gram-negativas (taxa *Enterobacter*, *Vibrio*, *Xanthomonas*, *Pseudomonas*, *Cytophaga*, *Flexibacter*, *Bacteroides*) y anaerobias, mientras que en los jardines dentro del hormiguero, predominan las bacterias Gram-negativas. Estas diferencias entre las poblaciones bacterianas en diferentes momentos del cultivo de hongo son una fuerte evidencia de que los nidos de hormigas defoliadoras podrían ser

composteros naturales en ecosistemas tropicales mediados por la actividad “agrícola” de las obreras (Scott et al., 2010).

En México, los desechos de hormiga arriera son utilizados por los agricultores de zonas semiáridas como el Municipio de Santa María del Río en el estado de San Luis Potosí como abono para el cultivo de calabacita (*Cucurbita pepo*, L.) y jitomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill) (Fortanelli-Martínez y Servín-Montoya, 2002).

En un estudio realizado por Fernández y colaboradores en 2019 el residuo de hormiga arriera *Acromyrmex lobicornis* fue usado como sustrato para el cultivo de *Eschscholzia californica*, planta herbácea con hábito entomófilo originaria de Norteamérica. Mediante técnicas morfométricas, la forma y tamaño de la flor fue medido y encontraron que el tamaño y diversidad de formas fue mayor en plantas sembradas en residuos que aquellas en un sustrato control. Además, las flores sembradas en residuos tuvieron una temporada de floración más larga y más flores que el control.

I.4. CULTIVOS DE IMPORTANCIA ECONÓMICA EN MÉXICO

I.4.1 Frijol ejotero (*Phaseolus vulgaris*)

Según datos de Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura (FIRA), durante el año 2015 se cosecharon 969.1 miles de toneladas en 1.56 millones de hectáreas de frijol en México (7.5 % menor que en el año 2014). México es considerado uno de los centros de origen del frijol y existen cerca de 70 variedades nativas y más de 150 mejoradas. Durante ese mismo año, México importó 88,543 toneladas y exportó 36,800, lo que dio un saldo total negativo de 51,743 toneladas (FIRA, 2016).

Según la variedad de frijol, el hábito de crecimiento puede ser determinado o indeterminado. Si al comenzar la etapa reproductiva, el tallo y ramas terminan en racimo, el crecimiento es determinado; mientras, si terminan en un meristemo (conjunto de células indiferenciadas que se encargan de regenerar tejidos), el crecimiento será indeterminado. Según el tipo de crecimiento, las etapas fenológicas pueden tener variaciones en su duración (Fernández et al, 1983).

Al igual que en el caso de la planta de maíz, el frijol tiene una fase vegetativa seguida de una reproductiva (Tabla 5). La etapa vegetativa inicia con la germinación y termina cuando aparecen los primeros botones florales, en variedades con hábito de crecimiento determinado, o los primeros racimos (inflorescencias florales) en variedades con hábitos de crecimiento indeterminado (V0 a V4). La fase reproductiva comienza con la aparición de botones o racimos y termina hasta la madurez de cosecha (R5 a R9) (Fernández et al, 1986).

Tabla 5. Etapas del desarrollo en la planta de frijol (*Phaseolus vulgaris*)

Etapas vegetativas		Etapas reproductivas	
V0	Germinación	R1	Prefloración
V1	Emergencia	R2	Floración
V2	Hojas primarias	R3	Formación de vainas
V3	Primera hoja trifoliada	R4	Llenado de vainas
V4	Tercera hoja trifoliada	R5	Maduración

El frijol pertenece al grupo de las leguminosas, es decir, se caracteriza entre otras cosas, por fijar nitrógeno atmosférico mediante los nódulos de *Rhizobium* (bacteria fijadora de nitrógeno). De esta forma, el frijol satisface parte de sus necesidades de N, aunque no es del todo eficiente (Graham y Ranalli, 1997). En cuanto a los requerimientos de otros elementos, es variable de acuerdo con la variedad que se esté usando. Los valores promedio de elementos absorbidos por el frijol se pueden observar en la Tabla 6.

Tabla 6. Necesidades nutrimentales de frijol (*Phaseolus vulgaris*)

Macronutriente	Kg ⁻¹ por 1000 kg de semilla
Nitrógeno	36.2
Fósforo	5.4
Potasio	17.2
Azufre	10
Calcio	4
Magnesio	4

I.4.2 Calabacita (*Cucurbita pepo*, L.)

La calabacita, es una planta cucurbitácea originaria de Mesoamérica cuya principal forma de aprovechamiento en nuestro país es el consumo nacional o exportación del fruto. Puede tener crecimiento determinado o indeterminado según la variedad. De acuerdo al Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), a finales de 2017, la producción nacional fue de 547.1 mil toneladas en una superficie de 29 mil 579 hectáreas.

II. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la disponibilidad de los macronutrientes generados por el residuo de hormiga arriera y vermicomposta y cuál es su efecto en el crecimiento y productividad durante las fenofases de calabaza y frijol?

III. HIPÓTESIS

- La velocidad de liberación de macronutrientes en el residuo de hormiga arriera será mayor que en la vermicomposta.
- Las plantas fertilizadas con residuo de hormiga tendrán mayor crecimiento y rendimiento en las primeras etapas fenológicas, comparadas con aquellas fertilizadas con vermicomposta.

IV. OBJETIVO GENERAL

Relacionar la disponibilidad de macronutrientes del residuo de hormiga arriera y vermicomposta con el crecimiento y rendimiento de las plantas de calabaza y frijol en cada etapa fenológica.

V. OBJETIVOS PARTICULARES

- Cuantificar la cantidad de C, NO₃⁻, NH₄, N total, P total, P lábil/PO₄₃⁻, K y parámetros fisicoquímicos (contenido de agua, pH, conductividad eléctrica, contenido de materia orgánica) en vermicomposta y residuo de hormiga arriera.
- Analizar la producción de CO₂ (CO₂/C) en ambos sustratos.
- Medir la disponibilidad de nutrientes (NO₃⁻, NH₄, P lábil/PO₄₃⁻) en el sustrato durante el crecimiento vegetativo, floración, fructificación y madurez fisiológica.
- Medir indicadores de crecimiento y productividad de los cultivos en presencia de ambos fertilizantes.

VI. MATERIAL Y MÉTODO

6.1 Obtención y caracterización fisicoquímica de abonos orgánicos

La vermicomposta fue producida con lombriz roja californiana (*Eisenia foetida*) a partir de una base de estiércol de vaca, silo de maíz y rastrojo de avena en una granja de producción de humus de lombriz en Texcoco, Estado de México. El composteo de la materia orgánica se realizó durante seis meses hasta su estabilización basada en la relación C:N < 20 (Edwards et al, 2011). Una vez estabilizada, se realizó la cosecha separando las lombrices y obteniendo únicamente la vermicomposta.

El residuo de hormiga arriera (*Atta mexicana*) fue colectado en Fracción de Sánchez, municipio de Santa María del Río, San Luis Potosí, ubicado aproximadamente a 21°47' N y 100°42' O, a una altitud de 1700 msnm. Posteriormente, en el laboratorio se tamizó con un tamiz para suelo del número 4 (4.75 mm, 0.187") para separar pequeñas rocas, espinas y otros materiales de mayor tamaño.

Se realizó una evaluación fisicoquímica para ambos abonos en el Laboratorio de Fertilidad de Suelos y Química Ambiental del Colegio de Posgraduados (COLPOS) Campus Montecillo. Los resultados de esta caracterización (Tabla 6.1), sirvieron para ajustar las dosis de abono necesarias para cada planta (Ver punto 6.3).

Tabla 6.1. Determinaciones fisicoquímicas para abonos orgánicos

Método	Determinación	Resultados	
		RHA	VC
Determinador automático	C total ®	34	19
Kjeldahl	N total (%)	1.8	1.8
Arrastre de vapor	N-NO ₃ (mg/L)	2	2
	N-NH ₄ (mg/L)	19	10
Amarillo vanadomolibdico, colorimetría	P total (%)	trazas	trazas
	P-PO ₄ (mg/L)	3235	1119
Digestión HNO: HClO ₄ , emisión atómica	K ⁺ (%)	2.6	1.4
	Na ⁺ ®	0.8	19.6
Digestión HNO: HClO ₄ , absorción y atómica	Ca ²⁺ (%)	3.4	2.2
	Mg ²⁺ (%)	1.2	0.5
Potenciómetro/puente de conductividad	pH, CE	5.5	8.7
Método gravimétrico	Materia orgánica (%)	61	39
	Cenizas (%)	39	62

6.2 Descripción del sitio experimental

El experimento se realizó en un invernadero de baja tecnología con cubierta de plástico y malla antiáfidos dentro de las instalaciones del Centro de Investigaciones Biológicas y Acuícolas de Cuernavaca (CIBAC) con coordenadas 19°16'54"N 99°6'11"O, ubicado en el Canal de Cuernavaca al costado oriente de la pista Olímpica de Canotaje "Virgilio Uribe", en la Ciudad de México. Cada hora durante todo el experimento se midieron la temperatura y humedad relativa del invernadero mediante dos termohigrómetros U23-00 HOBO Pro v2 Temp/HR, Onset. El motivo de realizar este monitoreo es que la temperatura y humedad son factores que pueden modificar el desarrollo de las plantas y es deseable conocer ambas condiciones.

6.3 Cultivo de frijol y calabacita

Se realizó una siembra directa de semillas de frijol ejotero (*Phaseolus vulgaris* var. Strike) y calabacita (*Cucurbita pepo* var. Round zucchini) en bolsas de cultivo de 35cm x 35cm con 11kg de sustrato inerte (una mezcla de 70% de arena de río esterilizada y 30% de agrolita) junto a la dosis calculada de abono. La elección de las especies y variedades se dio por la facilidad de manejo que tienen ambas al ser de crecimiento determinado (mata), además se consideró que ambas son de importancia económica en nuestro país y tienen metabolismos diferentes ya que el frijol es diazótrofo y la calabaza no lo es.

Se sembraron tres semillas y siete días después de la germinación, se eliminaron las dos plántulas más débiles. La fertilización se ajustó en función del nitrógeno únicamente según las dosis 150-90-90 de NPK (Sedano et al, 2011) y 30,000 plantas/ha⁻¹ (SAGARPA/INIFAP) para calabacita y 100-100-00 de NPK y 62,000 plantas/ha⁻¹ para frijol (Díaz-López, et al, 2013). Cabe destacar que debido a que ambos abonos presentaron el mismo porcentaje de N total (ver Tabla 6.1), la cantidad de abonos será la misma para cada planta. La cantidad de abono que debían incorporarse a cada cultivo fue calculada mediante las siguientes conversiones.

Calabacita

$$\left(\frac{150,000 \text{ gN}}{1 \text{ ha}^{-1}}\right) \left(\frac{1 \text{ ha}^{-1}}{30,000 \text{ plantas}}\right) \left(\frac{1000 \text{ g abono}}{18 \text{ gN}}\right) = 277.78 \frac{\text{g abono}}{\text{planta}}$$

Frijol

$$\left(\frac{100,000 \text{ gN}}{1 \text{ ha}^{-1}}\right) \left(\frac{1 \text{ ha}^{-1}}{62,000 \text{ plantas}}\right) \left(\frac{1000 \text{ g abono}}{18 \text{ gN}}\right) = 89.60 \frac{\text{g abono}}{\text{planta}}$$

El riego se realizó cada tres días con agua corriente. En el riego, se adicionaron los siguientes micronutrientes 6% Fe, 0.2% Mn, 0.1% Mo, 0.2% Cu, 0.2% Zn, y 0.2% B, semanalmente (Colla y Saccardo, 2002).

6.4 Bolsas de descomposición

En bolsas para cultivo con el mismo sustrato inerte y en el mismo volumen que en el usado para el cultivo de calabacita y frijol, se colocaron bolsas de descomposición de acuerdo con el método descrito por Karberg y colaboradores en 2008. Dicho método consiste en poner el abono en una bolsa de tela de 100% poliéster (forro japonés) y colocarla dentro del sustrato en cuestión. Las bolsas de cultivo en las que se pondrán las de descomposición, fueron sometidas a las mismas condiciones de riego y se les adicionó la misma cantidad de micronutrientes que a aquellas en las que se sembraron frijol y/o calabaza. Las bolsas se desenterraron cuando las plantas fueron cosechadas de acuerdo con la etapa fenológica que les corresponda y secadas a temperatura ambiente para su posterior análisis.

El objetivo de utilizar las bolsas de descomposición es monitorear la liberación de nutrientes y la estabilidad de la materia orgánica de los dos abonos sin la presencia de una planta que los tome, a manera de grupo control. Se realizó la FTIR en todos los tiempos, tanto en el contenido de las bolsas como en el sustrato en el que se encontraban.

6.5 Obtención y procesamiento de muestras

Semanalmente se midieron la altura y diámetro de la planta con una cinta métrica; diámetro del tallo con un vernier digital Absolute (Mitutoyo); número de hojas; clorofila por triplicado de tres hojas al azar con un medidor portátil de clorofila CCM-200 plus (Apogee Instruments Inc.).

Tabla 6.2. Características morfológicas de las plantas por etapa

Etapas	Frijol (Fernández et al, 1982)	Calabacita (Modificado de Feller et al, 1995)
Crecimiento vegetativo (T1)	-De tres a cuatro hojas trifoliadas desplegadas (las láminas de los folíolos se encuentran en un solo plano) en la rama principal -La primera rama presenta una hoja trifoliada.	-Cotiledones completamente desplegados. -Nueve o más hojas verdaderas completamente desplegadas.
Floración (T2)	-El 50% de los botones florales están abiertos. -La floración comienza en el último nudo del tallo y continúa de forma descendente.	-Flores abiertas y flores con peciolo alargados (no necesariamente abiertas) completamente visibles. -Aproximadamente entre el día 70 y 90 después de la germinación.
Madurez comercial (T3)	-Vistas por la sutura, las vainas presentan abultamientos que corresponden a las semillas en crecimiento. -Las vainas alcanzan su tamaño máximo.	-El 50% de los frutos muestran la forma y tamaño típica de la madurez.
Madurez Fisiológica (T4)	-Las vainas se decoloran, las hojas caen y todas las partes de la planta se secan. -Las semillas adquieren su coloración típica (en esta variedad, amarillo pálido).	-La planta comienza a perder las hojas o comienza a secarse.

Se asignaron al azar cuatro plantas de ambos cultivos para su medición y posterior cosecha en cada una de las siguientes etapas: crecimiento vegetativo (T₁), floración (T₂), madurez comercial (T₃) y madurez fisiológica (T₄) de acuerdo con las características mencionadas en la Tabla 6.2. Después de la cosecha fue medida el área foliar con un medidor LI-3100 C (Li-Cor Corporation) por triplicado en tres hojas tomadas al azar en cada una de las plantas. Los frutos fueron medidos con vernier (longitud de los ejotes y diámetro de las calabazas).

Las mediciones que se realizaron en cada una de las plantas al momento de la cosecha se encuentran en la tabla 6.3.

Tabla 6.3. Mediciones para frijol y calabaza en cada etapa fenológica

	Crecimiento vegetativo	Floración	Madurez comercial	Madurez fisiológica
Frijol	Peso fresco Peso seco Área foliar Altura	Peso fresco Peso seco Área foliar Altura Flores/planta	Peso fresco Peso seco Área foliar Altura Vainas/planta Semillas/vaina	Peso fresco Peso seco Área foliar Altura Vainas/planta Semillas/vaina
Calabaza	Peso fresco Peso seco Área foliar Altura	Peso fresco Peso seco Área foliar Altura Flores/planta	Peso fresco Peso seco Área foliar Altura Frutos/planta Peso del fruto/planta	Peso fresco Peso seco Área foliar Altura Frutos/planta Peso del fruto/planta

6.6 Espectroscopía

La espectroscopía en los rangos visible (VIS), infrarrojo cercano (NIR) e infrarrojo medio (MIR) ha sido ampliamente usado por la última década como una alternativa rápida, no destructiva y menos cara para cuantificar propiedades físico químicas del suelo (Tiecher et al, 2015). Varios estudios han probado que la espectroscopía MIR es más adecuada que la VIS o NIR, ya que tiene la mayor incidencia de bandas y la intensidad y especificidad de la señal (Viscarra Rossel et al., 2006; Reeves, 2010; Soriano-Disla et al., 2014). Además, el espectro brinda información sobre la composición inherente del suelo, que engloba minerales, compuestos orgánicos y agua. Dicha información está representada como absorciones a longitudes de onda específicas dentro de la radiación electromagnética, por lo que se pueden usar las mediciones para describir el suelo tanto cualitativa como cuantitativamente (Viscarra et al, 2016).

Las muestras frescas de ambos abonos, los sustratos de las plantas en cada etapa y bolsas de descomposición fueron molidas y tamizadas a 200 μm y colocadas en un plato multi pot de 96 huecos antes de ser escaneados mediante Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) en modo Reflectancia Difusa (DR, por sus siglas en inglés) con un espectrómetro con rango de 4000 a 400 cm^{-1} (4 escaneos por muestra) en el Laboratorio de Física de Suelos en el Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Campus Bondy, Francia. El objetivo fue medir la estabilidad de la materia orgánica en cada etapa fenológica (contenido de

las bolsas de descomposición) y, de forma semicuantitativa, los nutrientes que se encuentran en los sustratos donde fueron cultivadas las plantas. La reflectancia (R) fue automáticamente convertida a absorbancia (A) mediante la ecuación $A = \log(1/R)$ para reducir la no linealidad.

Una vez obtenidos los datos de absorbancia, fueron analizados mediante el software OriginLab (2019b) para analizar los picos en las frecuencias 2800-3000 cm^{-1} para compuestos alifáticos; 1580-3010 cm^{-1} para compuestos aromáticos, 1340-1410 cm^{-1} NO_3^- , 950-1050 cm^{-1} para PO_4^{4-} y 3030-3335 cm^{-1} para NH_4^+ .

6.7 Análisis elemental de C y N

La medición de los elementos C y N en la muestra tiene como intención conocer el contenido en los abonos crudos (T0) y los sustratos del tiempo final (T4) para su posterior comparación con la producción microbiana de CO_2 . Dicho análisis se llevó a cabo con un analizador elemental CHN (carbono, hidrógeno, nitrógeno) de la marca ThermoFisher tipo Flash HT. Las muestras para análisis fueron de 1 μg para los abonos crudos (T0) y 30 μg para los sustratos del tiempo final (T4) previa homogeneización, trituración y tamizado a 250 μm . Las muestras se pesaron en botes de hojalata.

Primero, se realizó la combustión total de la muestra a 1020 $^{\circ}\text{C}$ bajo una corriente de oxígeno y helio (método Dumas), con lo cual el carbono, hidrógeno y nitrógeno se convierten respectivamente en dióxido de carbono, agua y óxidos de nitrógeno. Después de pasar por cobre reducido, los óxidos de nitrógeno se reducen a nitrógeno y el agua se retiene en perclorato de magnesio. El dióxido de carbono y el nitrógeno se separan a través de un sistema de cromatografía de gases, que permite que los gases se cuantifiquen fácilmente.

El carbono y nitrógeno totales en la muestra se cuantificaron por catarometría (medición de la conductividad térmica) a través de un detector de termoconductividad (TDC). Por último, los datos de catarometría fueron analizados con el software Isodat 3.0.

6.8 Ensayo de respiración microbiana. CO₂ por cromatografía de gases

Para este ensayo se realizó la medición de la capacidad de campo de los dos abonos y los sustratos de las plantas. Para ello se calculó el potencial de succión a niveles de capacidad de campo (pF 2.5) (Ver ANEXO método). Se pesaron 7g de abono y sustrato, se colocaron en un vial y se les añadió el 40% del agua de capacidad de campo ((2.437g, 0.721g, 0.057g en myrmecomposta, vermicomposta y sustratos, respectivamente), se preincubaron a 25°C. Después de cinco días de preincubación se añadió nuevamente el 40% de agua (para un total de 80%) y se cerraron herméticamente con una tapa de aluminio y goma y continuaron la incubación a la misma temperatura.

Durante la incubación se realizaron frecuentes mediciones (días 2, 5, 8, 12, 19, 27, 33, 61 y 89) de CO₂ con un cromatógrafo de gases Technologies 490 MicroGC (Agilent) y se analizó con el software SOPRANO. Se calculó la producción diaria de CO₂ microbiano como medida indirecta de la población existente en los sustratos (Lerch, et al, 2011).

6.9 Análisis estadístico

Los datos de fueron sometidos a una prueba de Shapiro-Wilk para determinar si la distribución era normal en cada caso. Se llevaron a cabo regresiones lineales con los datos de crecimiento (altura, área foliar, biomasa, número de hojas, diámetro de tallo) y de clorofila semanales y se determinaron las ecuaciones que describen estos datos con el software Table Curve.

Con los datos de crecimiento, y productividad (número y peso de frutos), se realizó una prueba de Análisis de Varianza (ANOVA) de dos vías (tratamiento, tiempo) y posterior prueba de comparación de medias de Tukey con el programa Statistica. Con el mismo software, se realizó un análisis de componentes principales (ACP) para indagar en cuáles de las variables medidas están más relacionadas entre sí y si algunas de ellas podrían explicar la variabilidad de las plantas en cada etapa fenológica.

Los datos de emisión de CO₂/ C total fueron analizados con Table Curve para determinar la pendiente y el coeficiente de determinación (r^2).

Todas las gráficas fueron realizadas mediante el programa SigmaPlot.

VII. Resultados

7.1 Temperatura y humedad

La temperatura en ambos termohigrómetros fue similar. De forma general, la mayor temperatura se presentó a las 13:00 ($36.01 \pm 0.45^\circ\text{C}$ en Hobo 1 y $33.59 \pm 0.40^\circ\text{C}$ en Hobo 2) y la más baja a las 8:00h ($9.01 \pm 0.34^\circ\text{C}$ en Hobo 1 y $8.37 \pm 0.39^\circ\text{C}$ en Hobo 2) (Figura 1a). El día más caluroso fue el día 3 del experimento (21/09/2018) con una temperatura media de $23.6 \pm 2.41^\circ\text{C}$ y $22.7 \pm 2.16^\circ\text{C}$ en hobos 1 y 2 respectivamente, mientras el día más frío fue el 57 (14/11/2018) con temperaturas de $9.41 \pm 0.37^\circ\text{C}$ en hobo 1 y $9.36 \pm 0.35^\circ\text{C}$ en el hobo 2 (Figura 1b).

Del inicio del experimento al día 92 (19/12/2018), la temperatura promedio disminuyó de forma relativamente constante, pero a partir de esa fecha volvió a aumentar poco a poco hasta el fin del experimento (Figura 1b). La media de temperatura durante todo el experimento fue 17.59 ± 9.27 y la temperatura media $66.67\% \pm 27.02$.

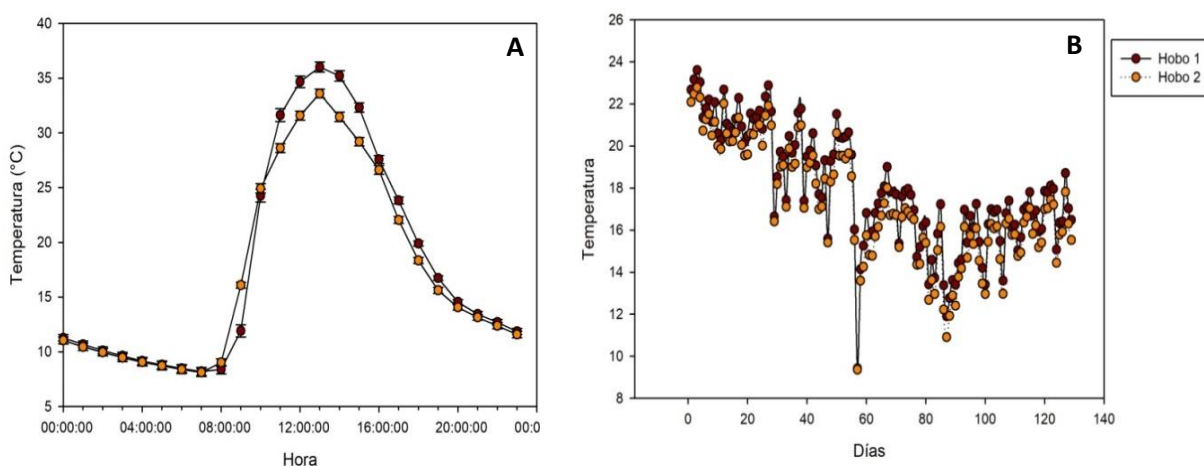


Figura 1. Temperatura media por hora (A) y por día (B) durante todo el experimento en los dos termohigrómetros.

De forma similar a lo ocurrido con la temperatura, en la humedad ambos termohigrómetros reportaron valores similares. La mayor humedad se presentó a las 8:00 hrs. ($96.42 \pm 0.29\%$ y $95.49 \pm 0.35\%$) y la menor a las 13:00 hrs. (22.33 ± 0.90 y 24.85 ± 0.94) (Figura 2a). El día con mayor humedad fue el número 57 (14/11/2018)

con $92.68 \pm 0.99\%$ y $93.13 \pm 0.81\%$ y el día con menor humedad fue el 127 (23/01/2019), cuando se presentó $47.18 \pm 5.18\%$ y $47.04 \pm 4.91\%$ (Figura 2b). En general, el porcentaje de humedad fue contrario a la temperatura, es decir, los días más calurosos coincidieron con la menor humedad y viceversa, a excepción del día con la menor humedad que no correspondió al día más caluroso, lo cual podría haber sido explicado por variables climáticas externas al invernadero.

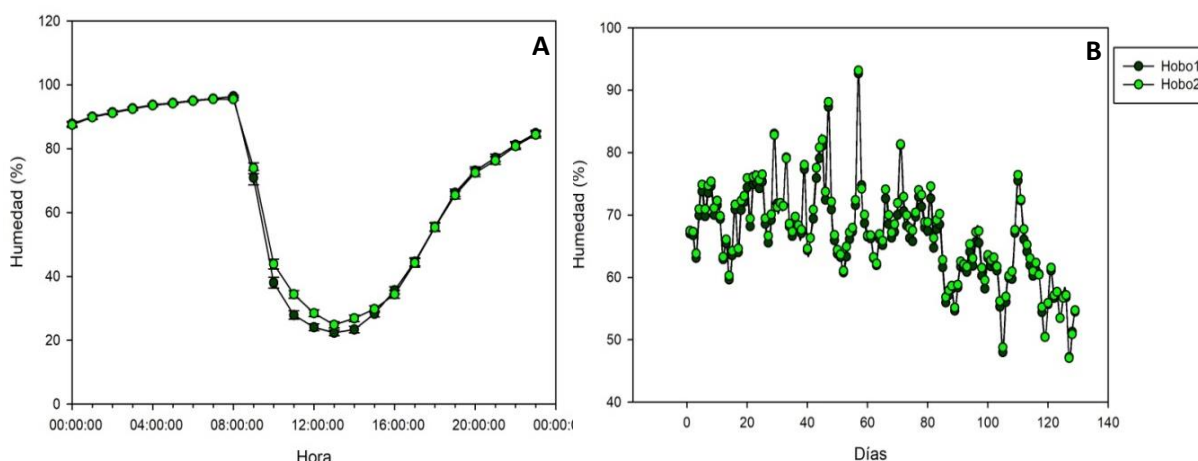


Figura 2. Humedad media por hora (A) y por día (B) durante todo el experimento en los dos termohigrómetros.

7.2 pH y conductividad eléctrica de los dos abonos.

El pH (Figura 3) fue significativamente mayor en la vermicomposta que en la mirmecomposta desde la etapa 1 a la 4 aunque durante todo el experimento se mantuvo estable en ambos tratamientos.

La conductividad eléctrica fue mayor en la vermicomposta cruda que en la mirmecomposta (6071 S/cm^{-1} y 10570 S/cm^{-1} respectivamente). En la conductividad de las litter bags, se observó la misma tendencia en ambos tratamientos (Figura 4) a disminuir a partir de la etapa 2 y permanecer sin diferencias estadísticamente significativas.

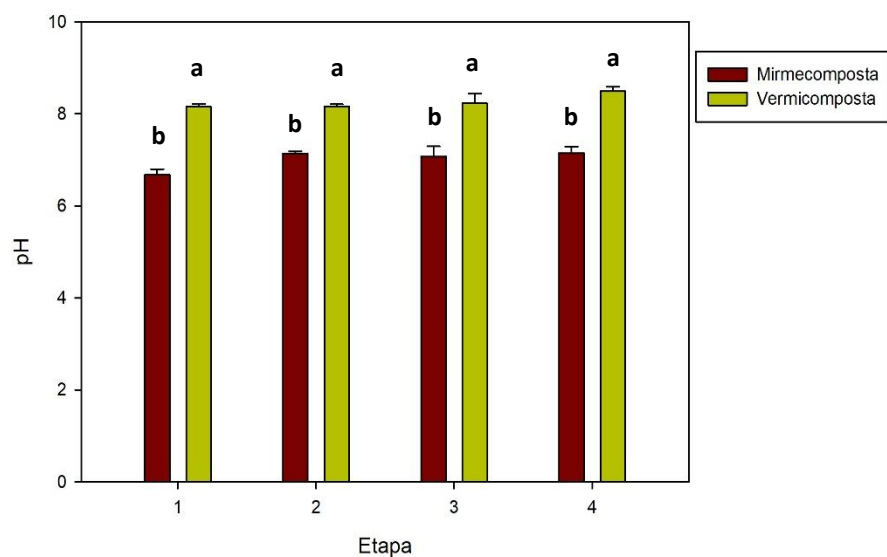


Figura 3. pH en compostas (litter bags) durante las cuatro etapas fenológicas. ANOVA, Tukey ($p < 0.05$)

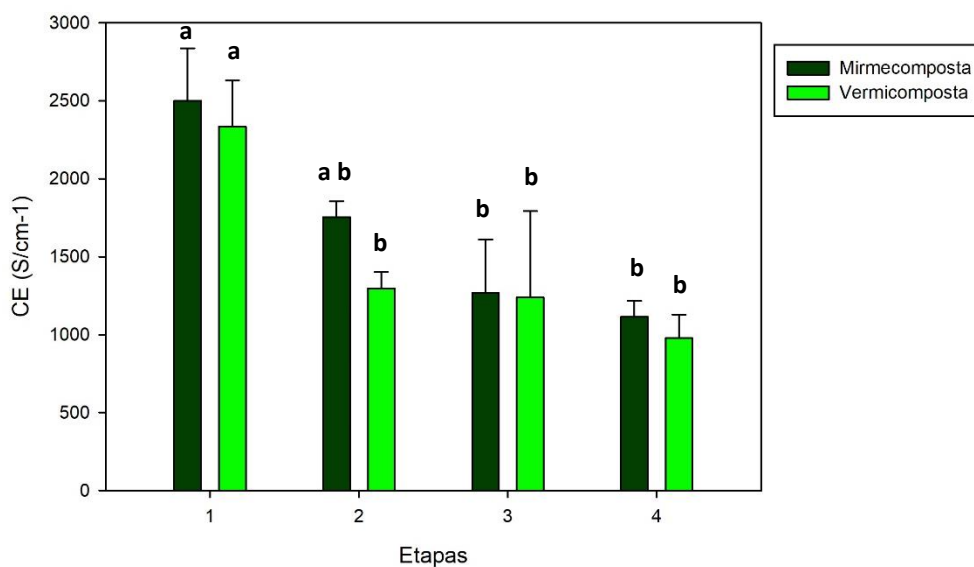


Figura 4. Conductividad eléctrica en compostas (litter bags) durante las cuatro etapas fenológicas. ANOVA. Tukey ($p < 0.005$).

7.3 Contenido de carbono y relación C:N en ambos abonos

En la Figura 5 se presenta el porcentaje de carbono, nitrógeno y la proporción C:N en ambas compostas crudas. Existen diferencias estadísticamente significativas en el carbono y C:N. La cantidad de carbono es mayor en mirmecomposta que en

vermicomposta (28.95 ± 0.09 y $16.76 \pm 0.28\%$, respectivamente). De igual forma, la relación C:N fue mayor en mirmecomposta (16.07 ± 0.43) que en vermicomposta (8.81 ± 0.05). El porcentaje de nitrógeno fue 1.8 ± 0.04 y 1.9 ± 0.04 en mirmecomposta y vermicomposta respectivamente. Cabe destacar que en el análisis preliminar de nitrógeno total reportado en el apartado Método (Tabla 6.1) arrojó que ambas compostas contenían 1.8% de nitrógeno y en este caso, aunque son diferentes, no representa un cambio estadístico ya que no existen diferencias entre abonos.

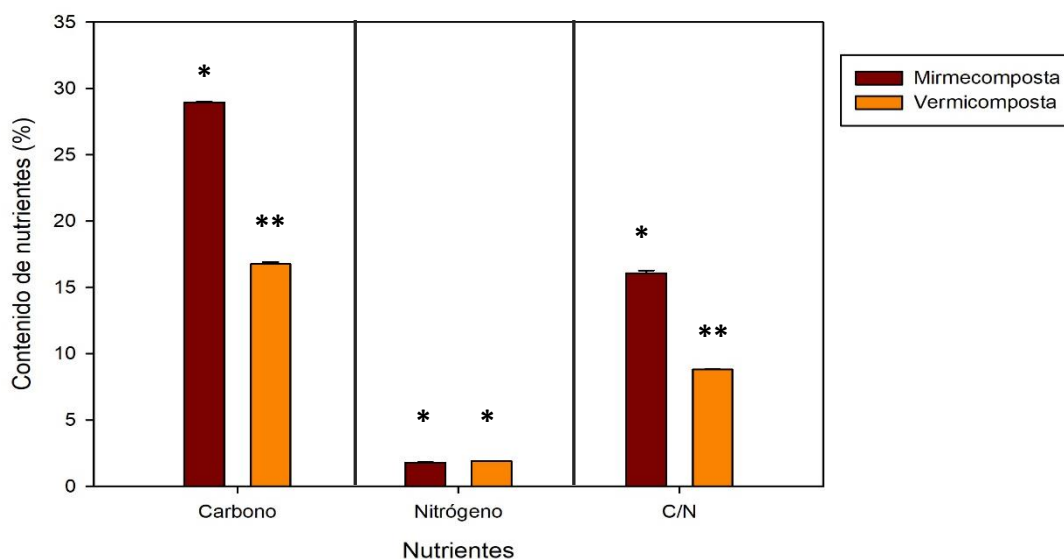


Figura 5. Contenido de carbono, nitrógeno y C/N en los dos abonos crudos (T0). T de Student ($p < 0.05$).

El porcentaje de carbono total transformado en CO_2 se presenta en la Figura 6. El valor de la pendiente en el caso de la mirmecomposta fue 0.033 y en la vermicomposta fue de 0.0007, lo que indica que la velocidad media de producción de CO_2 fue mucho mayor en mirmecomposta que en vermicomposta.

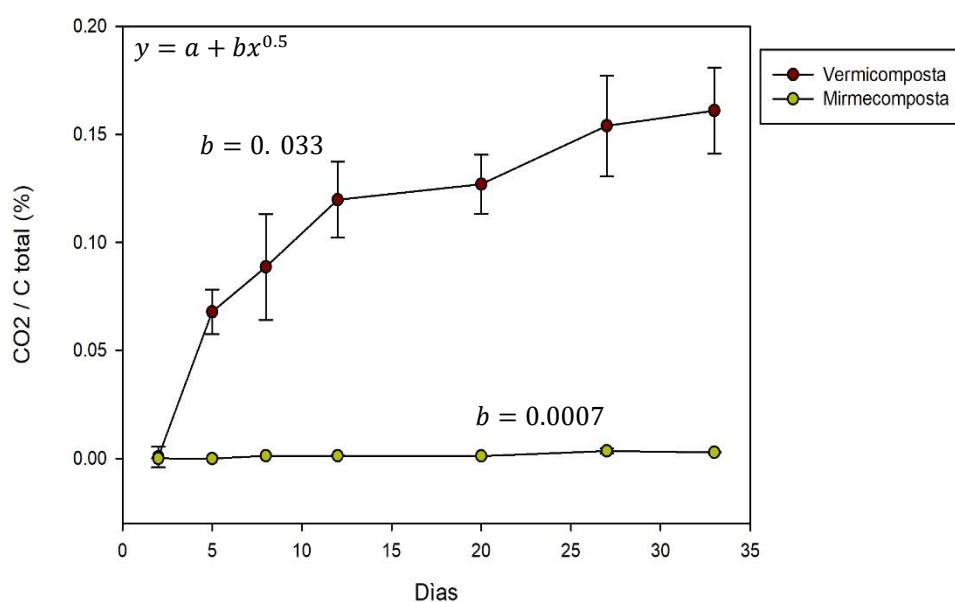


Figura 6. CO₂ / C total en ambos abonos durante los primeros 33 días de incubación. Diferencias únicamente entre los días del tratamiento de mirmecomposta (ANOVA $p < 0.05$).

7.4 Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier

En el análisis del intervalo correspondiente a enlaces alifáticos (C-H a 3010-2810 cm^{-1}) en las dos compostas se encontró que, en general, la vermicomposta tuvo niveles más altos que la mirmecomposta, pero la diferencia es estadísticamente significativa sólo en el material crudo y en la etapa 4 (Figura 7). En la vermicomposta, la absorbancia del intervalo correspondiente al enlace aromático (C=C a 1660-1580 cm^{-1}) es mayor que la mirmecomposta con una diferencia marginalmente significativa ($p=0.054$). En general, el índice de humificación (proporción aromático/alifático) fue estadísticamente mayor en presencia de vermicomposta que en mirmecomposta ($p < 0.00001$).

En el caso del NO_3^- hubo diferencias marginalmente significativas ($p=0.053$) entre los tratamientos, siendo mayor la absorbancia en la mirmecomposta que en la vermicomposta. El máximo nivel de absorbancia se presentó en la etapa 2 y no se presentan diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos durante ninguna de las etapas, aunque se aprecia una tendencia a ser mayor en los tratamientos de mirmecomposta (Figura 8).

El PO_4^- y el NH_4^+ no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos o etapas.

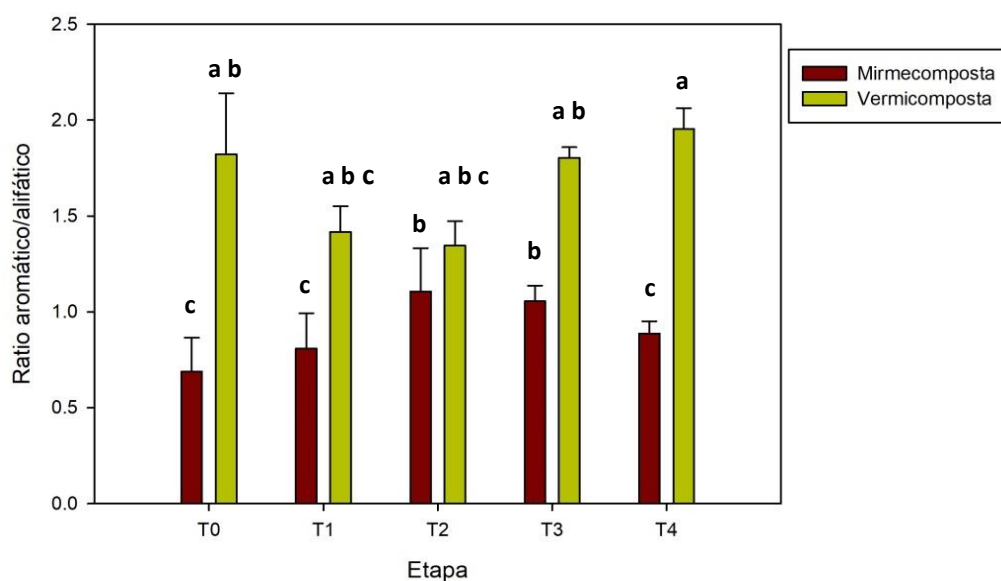


Figura 7. Índice de humificación (aromático/alifático) en ambos abonos crudos y durante las cuatro etapas. ANOVA ($p < 0.05$).

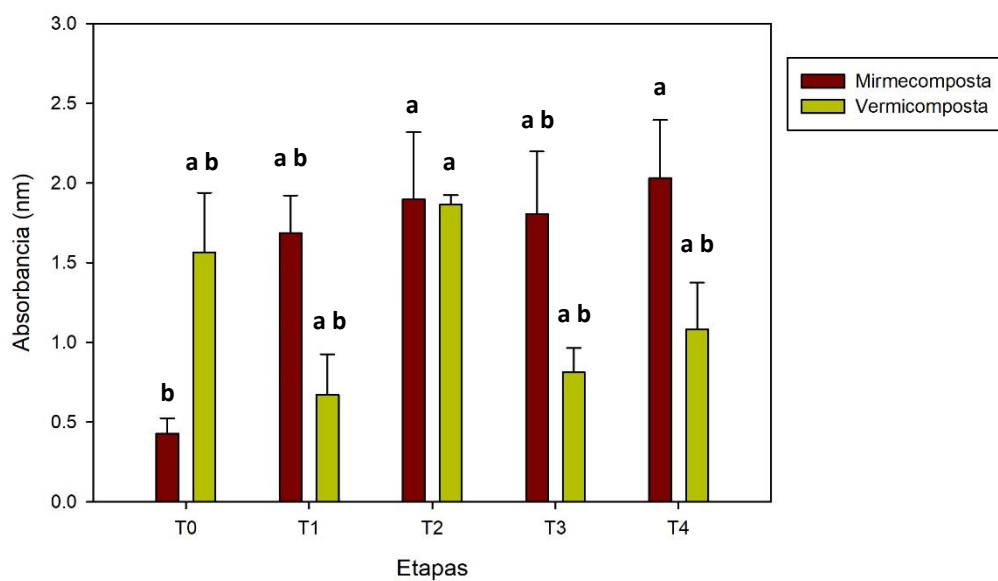


Figura 8. Absorbancia 1340-1410 cm^{-1} (NO_3^-), en ambos abonos crudos y durante las cuatro etapas. (ANOVA $p < 0.05$).

7.5 Dinámica de crecimiento.

La Figura 9 representa las medias de crecimiento por tiempo en los dos tratamientos aplicados a plantas de calabaza. La curva correspondiente a las plantas fertilizadas con mirmecomposta tuvo una pendiente $b=47.227$ y con vermicomposta $b=87.242$. Debido a que la función es inversa, los valores de b disminuyen y por ello se pueden interpretar como mayores en la mirmecomposta, donde la tasa de crecimiento por día supera el crecimiento en vermicomposta.

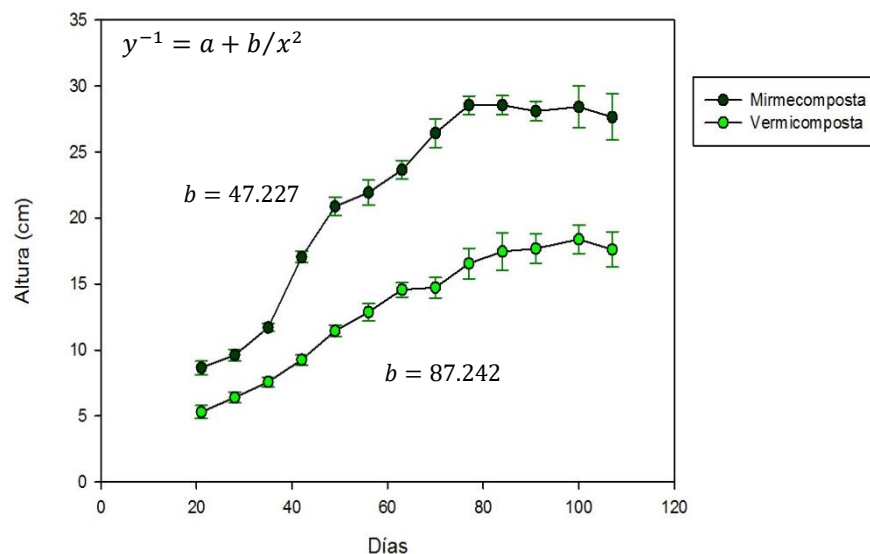


Figura 9. Crecimiento de calabaza con mirmecomposta (ANOVA $p < 0.00001$) y vermicomposta (ANOVA $p < 0.00001$)

En la Figura 10 se muestra el crecimiento de plantas de frijol fertilizadas con ambos abonos. De manera similar a la calabaza, las plantas de frijol crecieron más cuando se les fertilizó con mirmecomposta comparadas con la vermicomposta, sin embargo, las pendientes de estas curvas fueron negativas, hecho que se debe a que, por su fenología, el frijol pierde las hojas cuando alcanza la madurez. En el tratamiento de mirmecomposta la pendiente fue $b=-3548.588$ y en la vermicomposta fue $b=-311.885$, lo que indica que en el primero la velocidad de crecimiento por día fue cerca de diez veces mayor que en el segundo tratamiento. A partir del día 56, el frijol fertilizado con mirmecomposta presentó mayor variabilidad que el de

vermicomposta porque una de las plantas de este tratamiento era muy pequeña, probablemente debido a aspectos genéticos propios del individuo.

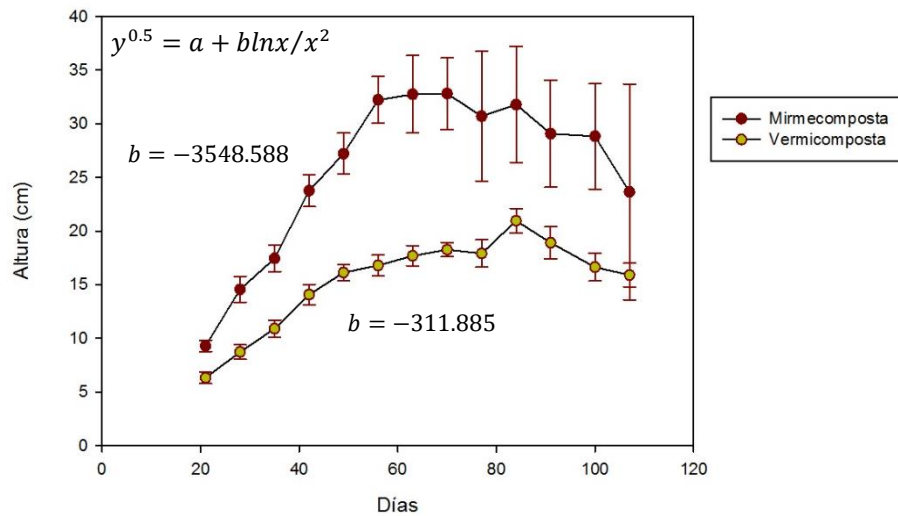


Figura 10. Crecimiento de frijol con mirmecomposta (ANOVA $p < 0.001$) y vermicomposta (ANOVA $p < 0.0001$).

En la Figura 11 se muestra la media de las alturas de ambas plantas según el abono utilizado. Como se observa, las plantas fertilizadas con mirmecomposta tuvieron mayor crecimiento que las fertilizadas con vermicomposta (prueba t de Student) lo que demuestra que el crecimiento está asociado al tratamiento y no a las diferencias morfofisiológicas entre ambos cultivos.

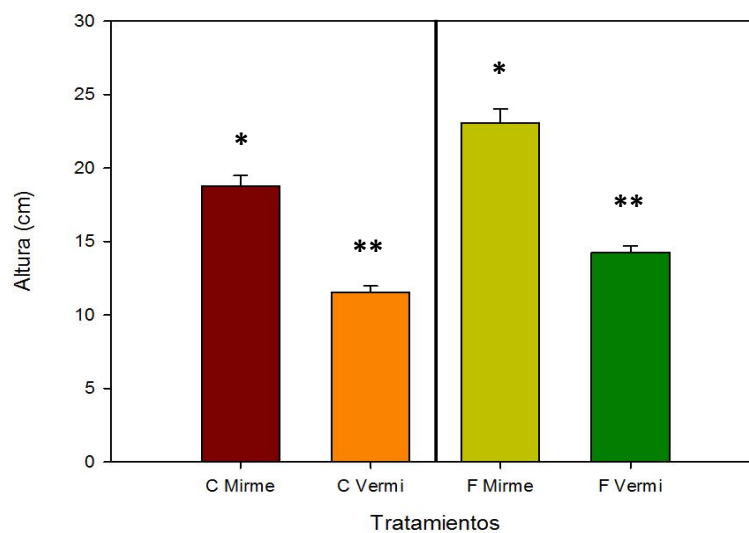


Figura 11. Media de altura plantas de frijol y calabaza con tratamiento de mirmecomposta y vermicomposta. Prueba t de Student ($p < 0.05$).

7.6 Dinámica de producción de clorofila

La Figura 12 muestra el contenido de clorofila en CCI (Índice de Concentración de Clorofila) en las hojas de calabaza respecto al tiempo en los dos tratamientos aplicados. La tasa de clorofila/día en el tratamiento de mirmecomposta fue ligeramente menor que la vermicomposta ($b=270.5757$ y $b=272.437$, respectivamente). Sin embargo, los valores totales de contenido de clorofila en mirmecomposta fueron más altos durante todo el experimento.

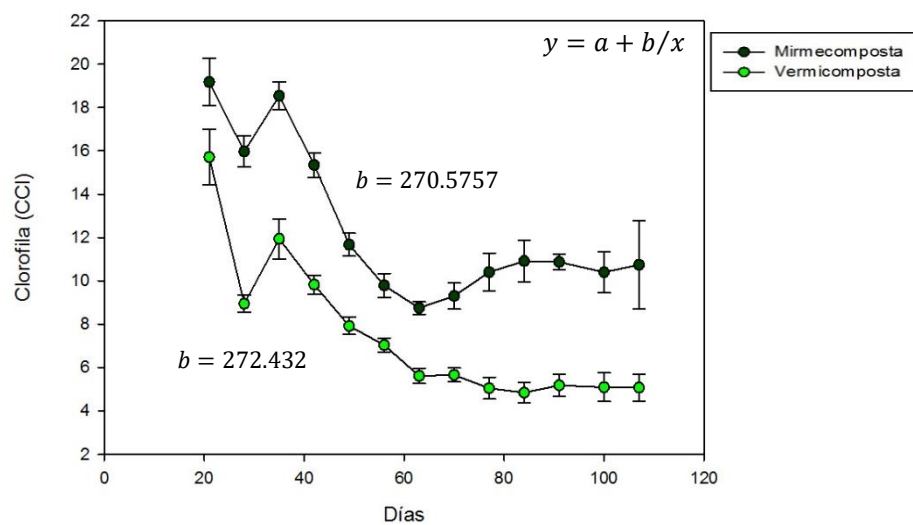


Figura 12. Contenido de clorofila en plantas de calabaza abonadas con mirmecomposta y vermicomposta.

En el caso de las plantas de frijol, la función es inversa y las tasas tienden a disminuir, por lo que se considera la tasa de clorofila/día en mirmecomposta mayor que en vermicomposta ($b=1.190$ y $b=1.824$, respectivamente) (Figura 13).

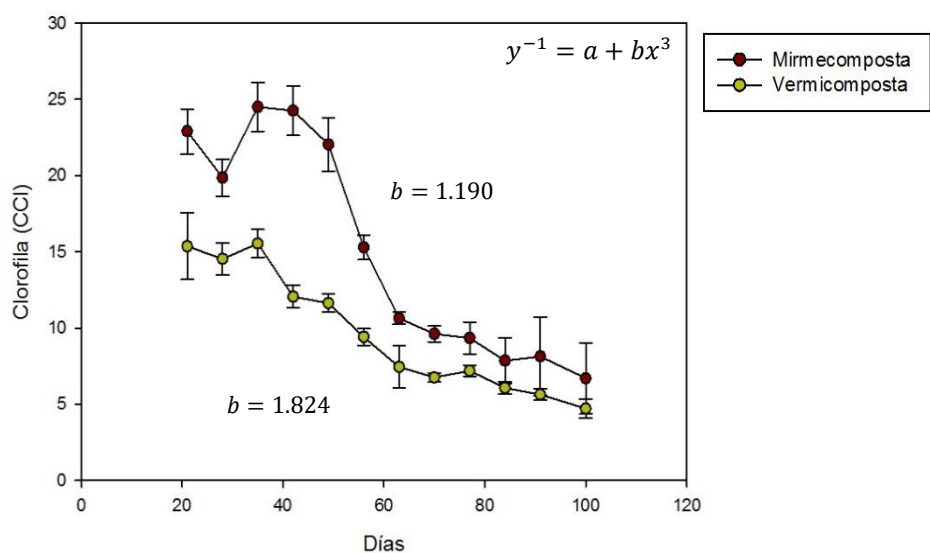


Figura 13. Contenido de clorofila en plantas de frijol abonadas con mirmecomposta ($p < 0.0001$) y vermicomposta ($p < 0.00001$).

7.7 Crecimiento y rendimiento

Se realizó un ACP (Análisis de Componentes Principales) con las variables altura, número de hojas, biomasa, clorofila, diámetro del tallo y área foliar al momento de la cosecha. Se tomaron los dos primeros factores que explican el 71.4184% de la varianza total. Las variables que más contribuyen al factor 1 son la biomasa (0.236457) y el número de hojas (0.230733), mientras que en el factor 2 son altura (0.513021) y área foliar (0.210565) (Figura 14).

En la Figura 15 se muestra la distribución de los tratamientos y etapas respecto a los dos primeros componentes. Se puede distinguir que el tratamiento de mirmecomposta en las cuatro etapas de calabaza (CM1 a CM4) y las tres primeras del frijol (FM1 a FM3) se agrupan asociadas a los mayores valores de número de hojas, biomasa, altura y área foliar, mientras el tratamiento de vermicomposta en los cuatro tiempos y ambas plantas (CV1 a CV4 y FV1 a FV4), se asocia a valores menores de las mismas variables. La etapa 4 del tratamiento de mirmecomposta con frijol (FM4) que corresponde a la madurez fisiológica de la planta, muestra una tendencia distinta a las demás etapas de plantas fertilizadas con mirmecomposta,

probablemente porque las variables que más contribuyen a los dos ejes son también afectadas en dicha etapa de desarrollo del frijol, que pierde las hojas y con ello altura biomasa y área foliar.

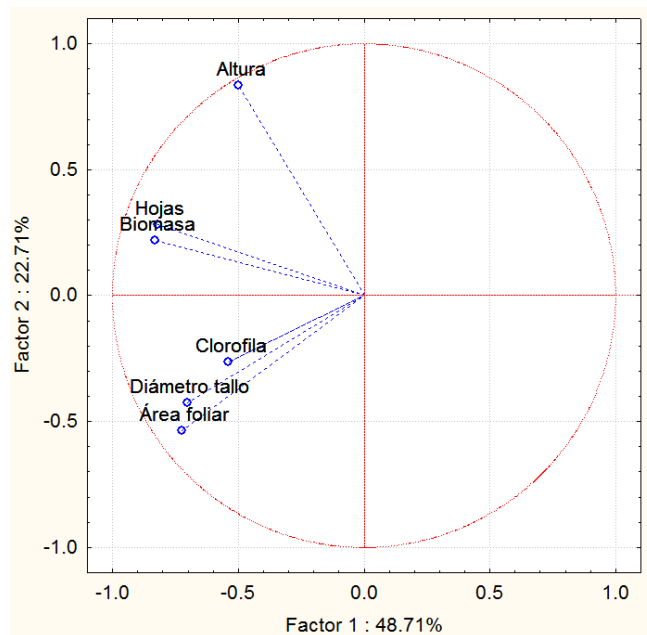


Figura 14. Análisis de Componentes Principales. Proyección de variables en el plano de los factores 1 y 2.

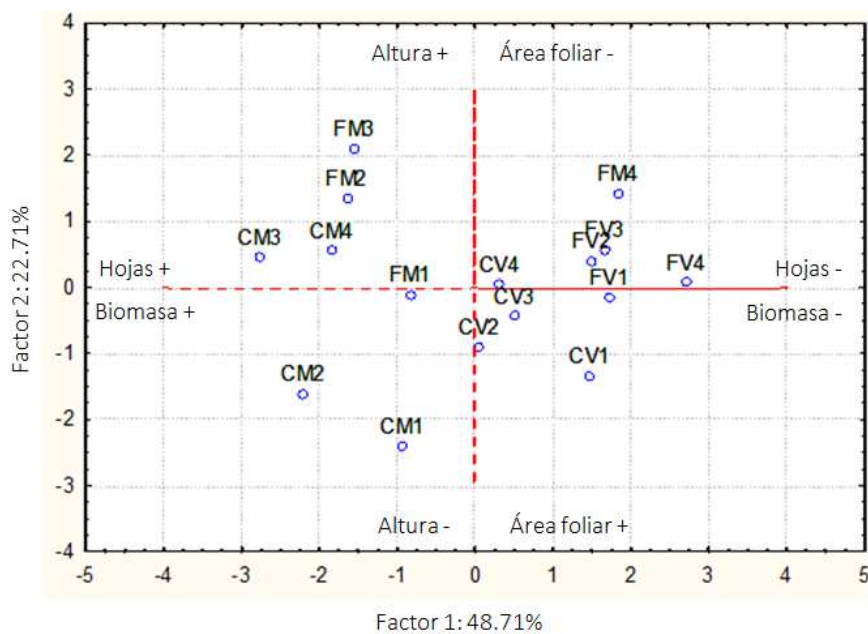


Figura 15. Análisis de Componentes Principales. Proyección de los grupos según los factores 1 y 2. CM=Calabaza-Mirmecomposta CV=Calabaza-Vermicomposta, FM=Frijol-Mirmecomposta FV=Frijol-Vermicomposta Los números 1 a 4 corresponden a las etapas de cosecha.

7.8 Producción de frutos

La producción de frutos en plantas de calabaza fertilizadas con mirmecomposta fue mayor en número (Figura 16A, ANOVA $p<0.001$) y en peso (Figura 16B, ANOVA $p<0.01$) que las fertilizadas con vermicomposta en las cuales no hubo producción alguna.

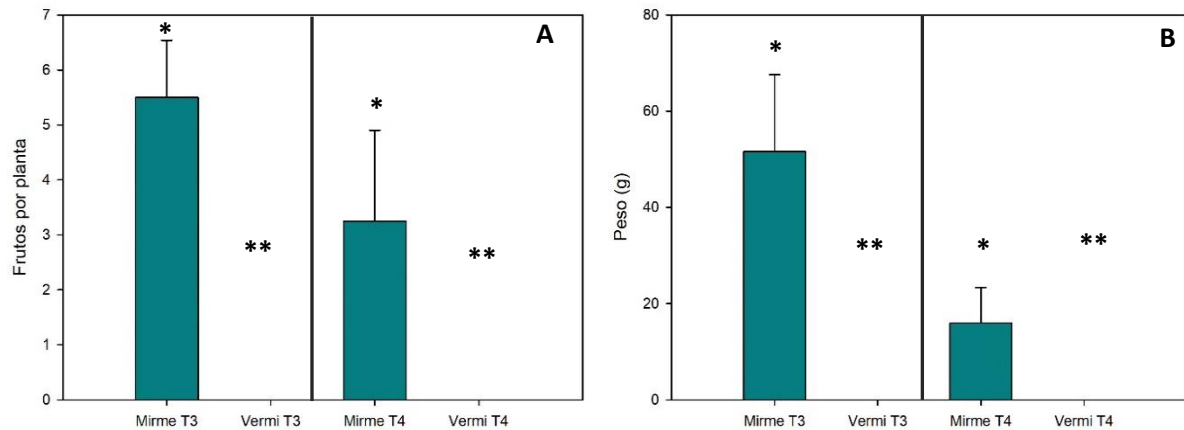


Figura 16. Producción de frutos en plantas de calabaza durante las etapas 3 y 4. A) número de frutos por planta; B) peso medio de los frutos por planta. * T de Student ($p<0.05$).

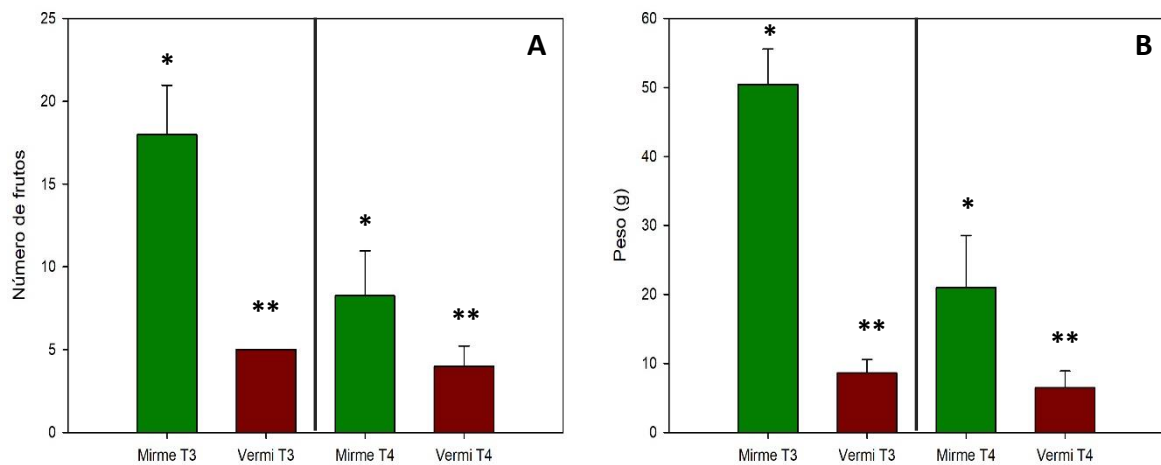


Figura 17. Producción de frutos en plantas de frijol durante las etapas 3 y 4. A) número de frutos por planta; B) peso medio de los frutos por planta. * T de Student ($p<0.05$).

El número de frutos en las plantas de frijol fertilizadas con mirmecomposta fue mayor que aquellas con tratamiento de vermicomposta (ANOVA $p < 0.01$) tanto en la madurez comercial como en la fisiológica. El peso de los frutos (Figura 17b) fue, asimismo, mayor con fertilización de mirmecomposta comparado con la vermicomposta ($p < 0.0001$) en ambas etapas ($p < 0.01$).

VIII. DISCUSIÓN

8.1 Contenido de carbono y relación C:N

La proporción C:N es un parámetro importante para determinar la madurez y estabilidad en las compostas, ya que es una medida de la mineralización de nitrógeno y carbono. Una relación C:N baja, como hojas frescas, favorece la descomposición e incrementa el nitrógeno lábil a corto plazo, mientras que la aplicación de material vegetal con proporción C:N alto generalmente favorece la inmovilización de nutrientes, acumulación de materia orgánica y formación de humus, con mayor potencial para mejorar la estructura del suelo (Bot y Benites, 2005). Una relación $C:N < 20$ confirma la mineralización de los restos orgánicos, mientras que $C:N < 12$ es preferible para fines agrícolas (Bhat et al, 2017).

Como es bien sabido, el proceso de vermicompostaje llevado a cabo por las lombrices y microorganismos dentro de su intestino, genera un producto estable, homogéneo y parecido al humus. En general, la vermicomposta se considera mejor que la composta porque la tasa de mineralización de la materia orgánica es acelerada y tiene un grado más alto de humificación (Lim, et al, 2014). Como se mencionó en el apartado 7.3, la relación C:N en mirmecomposta es mayor que en vermicomposta (16.07 ± 0.436 y $8.81 \pm 0.057\%$, respectivamente), y dado que ambos fertilizantes tienen el mismo contenido de nitrógeno, la diferencia es atribuible al carbono total, que es mayor también en la mirmecomposta (Figura 5). Una proporción C:N < 20 indica un estado avanzado de estabilización de la materia orgánica (Lim et al, 2014), por lo que se considera que ambas compostas se encuentran en este proceso, sin embargo la vermicomposta tiene C:N menor y ello indica que es más estable que la mirmecomposta.

Uno de los métodos utilizados para estimar la cantidad de mineralización de la materia orgánica es a través del carbono orgánico mineralizado que puede medirse indirectamente con la liberación de CO_2 producida durante la respiración microbiana (Zhao et al, 2016). Como puede verse en la Figura 6, la producción de CO_2 fue mayor en la mirmecomposta que en la vermicomposta, lo que podría estar indicando que la mineralización aún está ocurriendo en los residuos de hormiga, mientras en

la vermicomposta la mineralización ha ocurrido casi por completo, pues su producción fue muy baja.

8.2 Actividad microbiana

Como se mencionó en el apartado anterior, la emisión de CO₂ puede ser utilizada como un indicador eficiente de la mineralización realizada por los microorganismos que participan en el proceso de nitrificación. En estudios recientes se ha investigado el papel de bacterias oxidantes de amonio (AOB, por sus siglas en inglés) y arqueas oxidantes de amonio (AOA) en el proceso de vermicompostaje (Huang, et al, 2017; Leininger et al, 2006). Las evidencias apuntan a que las lombrices aceleran el proceso de oxidación del amonio, al aumentar tanto la diversidad como el número de AOA, tales como *Crenarchaeota* y *Thaumarchaeota* y AOB, como *Nitrosomonas* y *Nitrospira*, durante el proceso (Huang, et al, 2017). Estos microorganismos podrían estar presentes en la vermicomposta utilizada durante este experimento, lo que promovería la estabilización de la materia orgánica durante el proceso previo a su utilización, razón por la cual, la producción de CO₂ en este fertilizante fue menor que en la mirmecomposta (Figura 6).

En el caso de la mirmecomposta, existen pocos estudios en los que se analicen los efectos de la diversidad bacteriana sobre el contenido nutrimental de los residuos, sin embargo, el estudio realizado por Scott y colaboradores en 2010 sugirió que los vertederos tienen en su mayoría bacterias Grampositivas, mientras que los jardines dentro de los nidos tienen mayoría de bacterias Gramnegativas. Las hormigas cuentan con un sistema de degradación de la materia orgánica dividido en dos fases: la primera llevada a cabo por las bacterias Gramnegativas, en especial *Proteobacteria*, y la segunda, caracterizada por la degradación de lignina llevada a cabo por comunidades de bacterias Grampositivas tales como *Actinobacterias* (Scott et al 2010; Yu et al, 2007). Dichos estudios han planteado que la estabilización de los residuos de hormiga es finalizada en los vertederos. Aunque en este estudio no se ha analizado directamente la población de microorganismos, los resultados de la producción de dióxido de carbono (Figura 6) coincidirían con la

segunda fase del sistema de degradación antes mencionado y por ello, podría considerarse que la estabilización de la materia orgánica no está completa en el caso de la mirmecomposta.

Por cuestiones de disponibilidad del cromatógrafo de gases, no se continuó con la incubación de las compostas después de los 33 días, sin embargo, sería importante prolongar este análisis hasta alcanzar los 107 días que duró el experimento con las plantas, o bien hasta que la producción de CO_2 se mantuviera estable para caracterizar la actividad microbiana de forma más global. Asimismo, es importante considerar que las condiciones a las que se encontraban los sustratos durante la incubación no son exactamente las mismas a las que se encontraron dentro de las bolsas de descomposición o macetas, por lo que la actividad microbiana pudo ser distinta en los sustratos usados en el experimento de invernadero. En este estudio no se estudió la cantidad o diversidad de microorganismos oxidantes de amonio, sin embargo, sería importante determinar si están presentes y en qué cantidad, las mismas cepas de bacterias y arqueas en la mirmecomposta que en la vermicomposta mediante metodologías como PCR y siembra en medios específicos con posterior conteo de unidades formadoras de colonias (UFC). Con esto podría compararse la actividad microbiana de manera más directa y complementarse con lo observado en la incubación.

8.3 Nitrógeno disponible en los abonos

El proceso de nitrificación que ocasiona el paso de NH_4^+ a NO_3^- se lleva a cabo en las últimas etapas del compostaje (Kim et al, 2008, Lim et al, 2011). Las diferencias en el contenido de NO_3^- entre las dos compostas (Figura 8) indican una mayor nitrificación en la mirmecomposta comparada con la vermicomposta y por ello mayor disponibilidad de nitrógeno para ser tomado por las plantas en este tratamiento. Dado que el nitrato produce respuestas en toda la planta, puede considerarse una señal molecular de suma importancia, tanto local como a larga distancia, que interviene en la estimulación de la germinación, crecimiento postembrionario y control de transiciones entre fases fenológicas a través de producción de

aminoácidos, mejor uso de la luz, CO_2 y agua (mediante la síntesis de NADH y NAD^+ para la fotosíntesis), que la planta requiere para producir azúcares y ácidos orgánicos (Guan, 2017, Nunes-Nesi et al, 2010). La disponibilidad de nitrógeno en la planta es un determinante importante en la capacidad fotosintética y rendimiento de los cultivos. El crecimiento y desarrollo de las plantas son altamente dependientes de la interacción entre C y N. Ya que se invierten grandes cantidades de N en la maquinaria fotosintética y adecuada asimilación de CO_2 a través de la fotosíntesis, es necesario el suministro suficiente de N para la producción de biomasa (Nunes-Nesi et al, 2010). En este experimento hubo mayor producción de clorofila en plantas tratadas con mirmecomposta comparadas con aquellas a las que se suministró vermicomposta (Figuras 8 y 9), probablemente debido al mayor contenido de nitrato en el primero que en el segundo abono.

La asimilación del carbono en la planta sucede solo en el día a través de la fotosíntesis, pero durante la noche este nutriente debe estar disponible para sostener, no solo la demanda inmediata de crecimiento (sacarosa), sino la acumulación de sustancias en las hojas (almidón), que a su vez son movilizadas y proveen el carbono necesario para la continuación del crecimiento durante la noche (Smith y Stitt, 2007). Debido a que la mirmecomposta tiene más nitrógeno disponible para la planta, es posible que la síntesis de sacarosa y almidones fuera mayor y con ello se estimulara el crecimiento (Figuras 9 a 11), la producción de clorofila (Figuras 12 y 13) y el número y peso de frutos (Figuras 16 y 17) más que en el otro tratamiento.

Las plantas pueden asimilar el nitrógeno del suelo en forma de nitratos y amonio. La diferencia en el crecimiento entre los tratamientos de mirmecomposta y vermicomposta en ambas plantas (Figuras 6 a 8) puede deberse a que los nitratos son más en el primero que en el segundo (ver Figura 8), por lo que el nitrógeno disponible para la planta es mayor. Guo y colaboradores (2019) reportaron que en plantas de trigo, las variables de crecimiento aumentaron con mayores concentraciones de NO_3^- comparado con aquellas plantas con tratamiento de menor NO_3^- (2 y 10 mmol L^{-1} , respectivamente). Farji-Brener y Ghermandi en 2008

encontraron que las plantas de cardo (*Carduus nutans*) que crecieron sobre los residuos de hormiga tienen la misma cantidad del isótopo ^{15}N que los vertederos donde se acumulan, lo que indica una asimilación directa de nitrógeno por las plantas. Además de nitrógeno, se ha reportado en diversas ocasiones que los vertederos de residuos de hormiga contienen altos niveles de C, P, Ca, K, Mg y Na (Farji-Brener y Ghermandi, 2008; Fortanelli-Martínez y Servin-Montoya, 2002; Pinto-Tomás, et al., 2009) involucrados de distintas formas en el crecimiento y desarrollo de las plantas

En la Figura 14, se observa que las variables que más contribuyen a explicar las diferencias entre tratamientos en ambos cultivos son área foliar, altura, biomasa y número de hojas, lo cual podría atribuirse a la mayor cantidad de NO_3^- en mirmecomposta. Se ha comprobado que la materia seca de la parte aérea y el área foliar en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*, var. Annabel) son significativamente mayores al suplementarlas con nitrógeno en forma de NO_3^- , que cuando se suplementa con NH_4^+ (Guo et al, 2002; Guo et al, 2007). En hojas de tabaco, se observó una reducción del 50% en el número y 30% en el tamaño de las células con suplementación con NH_4^+ comparadas con aquellas fertilizadas con NO_3^- , lo que indica que la tasa de expansión de las hojas se reduce cuando este último no se suplementa. Además, se han encontrado una disminución en la síntesis de citoquininas zeatina y ribósido de zeatina, citoquininas involucradas en la división y elongación de las células, lo que sugiere que existen mecanismos mediante los cuales el nitrato podría intervenir en procesos fisiológicos de crecimiento y desarrollo de las plantas (Walch-Liu, 2000). La evidencia indica que la biosíntesis, conjugación, degradación, transporte y señalización de hormonas están parcialmente regulados por la señalización de nitratos (Guan, 2017).

Por otro lado, bacterias como *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* establecen simbiosis formando nódulos en las raíces de leguminosas como la soya, chícharo, frijol, cacahuete y alfalfa, donde se convierte el N_2 en amonio que a su vez, se usa como fuente de nitrógeno (Murray 2011; Pérez-Montaña, et al 2014). La mayoría de las cepas de rizobacterias potencian la nutrición mineral mediante la liberación de

sideróforos y ácidos orgánicos que movilizan Fe y P y Mn, respectivamente. Además, estas bacterias liberan moléculas promotoras del crecimiento como IAA, giberelinas y citoquininas (Dakora, 2002). Estas rizobacterias podrían estar ayudando a la toma de nutrientes en el caso de las plantas de frijol, cuya tasa de crecimiento comparada con la calabaza, muestra una tendencia a ser mayor (Figura 11). En la calabaza, la tendencia a seguir aumentando la altura hasta el día 100, disminuye por la pérdida de hojas propia de la madurez de la planta, mientras que en el frijol, la disminución de altura a partir del día 80 se debe a que la defoliación es parte del proceso de maduración que acompaña el llenado de las vainas (Fernández, 1983).

En este experimento se usaron cuatro réplicas por tratamiento y por tiempo, sin embargo, en la Figura 8, puede observarse que los errores en cada uno fueron muy grandes. Aunque es clara una tendencia a tener más nitratos en la mirmecomposta que en la vermicomposta, no hay diferencias estadísticamente significativas por etapa, lo que podría atribuirse a la distribución de los datos. Sería importante repetir este ensayo con una mayor cantidad de muestras para disminuir el error y cerciorarse de que esta tendencia se conserva. De igual manera, sería importante analizar el número de nódulos en el caso de las plantas de frijol para saber si los efectos en el crecimiento están relacionados a un mayor número de nódulos en las raíces de las plantas.

8.4 pH y conductividad eléctrica

El pH de cualquier medio de crecimiento afecta directamente la disponibilidad de los nutrientes en las plantas (Verma et al, 2019). Es bien sabido que el pH en el compostaje tiende a aumentar en las primeras etapas debido a la mineralización de aminas ($R - NH_2 \rightarrow NH_4 + OH^-$) que produce OH^- y a disminuir en la última etapa por proceso de nitrificación ($NH_4^+ \rightarrow NO_3^- + 2H^+$) que produce H^+ (Kim et al, 2008, Lim et al, 2011). Aunque las dos compostas están hechas de diferente materia prima, es posible inferir que la mirmecomposta tiene mayor nitrificación que la vermicomposta, debido a que desde el tiempo 0, presentó menor pH, tendencia que

continuó durante todas las etapas (Figura 3). La toma de nutrientes ocurre usualmente durante la acidificación del suelo vía producción orgánica de ácido o vía estimulación de bomba de ATPasa (Mantelin y Touraine, 2004). Cuando decrece el pH en el sustrato, mejora la solubilización de los nutrientes (Pérez-Montaño, et al 2014). El crecimiento en las plantas tratadas con mirmecomposta fue mayor que la vermicomposta (Figuras 5 a 7), por lo que podía pensarse que esta acidificación estimule las ATPasas en las plantas tratadas con el primer abono más que con el segundo.

La conductividad eléctrica refleja el grado de salinidad en el sustrato; salinidad excesiva en la zona de las raíces resulta en una alta presión osmótica que, a su vez, afecta la absorción de agua. Dicha condición también disminuye la toma de nutrientes esenciales y aumenta simultáneamente la concentración de Na^+ y Cl^- (Verma et al, 2019). En este estudio, sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la conductividad eléctrica de los sustratos a lo largo del experimento, sugiriendo que esta no es una variable que ocasione efectos evidentes en la absorción de nutrientes.

8.5 Fenología de calabacita y frijol

En este estudio no se encontró que alguno de los tratamientos favoreciera una etapa fenológica particular en ninguna de las plantas, pero ocurrió que en ambas plantas hubo crecimiento exponencial durante la primera etapa (Figuras 9 y 10) y por ello la biomasa, área foliar (Figura 11) y contenido de clorofila (Figuras 12 y 13) aumentarían. Después de dicho crecimiento exponencial se presentó un crecimiento más lento en el que también disminuyeron los fotoasimilados, comportamiento normal en el crecimiento de plantas (Taiz y Zeiger, 2006). Como se ha mencionado anteriormente, las variables de crecimiento como altura, área foliar, número de hojas fueron mayores en las plantas fertilizadas con mirmecomposta desde el inicio del experimento, pero no se encontraron diferencias en el crecimiento de estructuras específicas.

Un aspecto a considerar en este trabajo es que el invernadero utilizado fue de baja tecnología, por lo que, aunque se monitorearon la temperatura y humedad, no había forma de controlarlas, por lo que el entorno aún las afectaba. Además, las plantas fueron sembradas fuera de las fechas recomendadas: abril-junio para el frijol ejotero (SAGARPA, 2014b) y marzo-abril para calabacita (SAGARPA, 2014), lo que pudo afectar su desarrollo. Aún en el caso de las plantas fertilizadas con mirmecomposta que, en general, tuvieron mejor desempeño que aquellas fertilizadas con vermicomposta, el rendimiento de ambas plantas estuvo por debajo del reportado en la literatura. En calabacita el rendimiento reportado es de 1.8 kg de calabacita por planta (SAGARPA, 2014) y en este estudio se encontró uno de 33.733 g por planta. En el caso del frijol, el rendimiento esperado es de 100 g de fruto por planta (SAGARPA, 2014b) y en este estudio se reporta 35.725 g por planta. Estas diferencias pueden deberse en parte al uso de un sustrato inerte, por lo que sería importante hacer un ensayo con otros sustratos y monitoreando también otros nutrientes además del nitrógeno.

IX. CONCLUSIONES

- Los resultados de este estudio sugieren que la cantidad de nitratos disponibles para la planta es mayor en la mirmecomposta que en la vermicomposta.
- No se comprobó la hipótesis de que los residuos de hormiga producirían mayor crecimiento en las primeras etapas fenológicas comparados con la vermicomposta.
- La actividad microbiana en la mirmecomposta fue mucho mayor que en la vermicomposta, lo que sugiere que procesos de mineralización del nitrógeno y otros nutrientes podrían estar ocurriendo aún después de la colecta.
- Estudios en los que se analicen otros nutrientes, presencia de fitohormonas como ácido indolacético, giberelinas o ácido abscísico en ambas compostas son necesarios para comprobar si las diferencias en crecimiento y productividad reportadas en este estudio se pudieran atribuir a otras sustancias además de la disponibilidad de macronutrientes.
- Se sugiere, asimismo, un ensayo con diferentes sustratos y/o en los meses sugeridos por la literatura, para descartar bajos rendimientos por efecto de la cantidad de luz o temperatura.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez, R. y Álvarez, C.R. 2000. Soil organic matter pools and their associations with carbón mineralization. *Soil Science Society of America Journal* 64, 184-189.
- Anderson, J.M. e Ingram, J.S.I. 1993. Tropical biology and fertility: A handbook of methods 2ª edición, Wallingford, U.K.: CAB International.
- AntWeb v8.7 México. Consultado en: <https://www.antweb.org/taxonomicPage.do?rank=genus&countryName=Mexico> el 6 de Junio de 2019.
- Arancon, N., Edwards, C.A., Webster, K.A. y Buckerfield, J.C. The Potential of Vermicomposts as Plant Growth Media for Greenhouse Crop Production. En: C.A. Edwards, N.Q. Arancon, R. Sherman (Eds.), *Vermiculture Technology: Earthworms, Organic Wastes, and Environmental Management*, CRC Press, Boca Raton, 2010, pp.103–128.
- Bhat, S.A, Singh, J. y Vig, A.P. 2017. Instrumental characterization of organic wastes for evaluation of vermicompost maturity. *Journal of Analytical Science and Technology* 8:2.
- Baldock, J. A., and Nelson, P. N. 1998. Soil Organic Matter. Publicado en Sumner, 1999. *Handbook of Soil Science*. CRC Press.
- Bardgett, R. D., Freeman, C. y Ostle, N. J. 2008. Microbial contributions to climate change through carbon cycle feedbacks. *International Society for Microbial Ecology Journal* 2:805–814.
- Bates R. G. 1983. Determination of pH, Wiley, New York.
- Beeckman, F., Motte, H. y Beeckman, T. 2018. Nitrification in agricultural soils: impact, actors and mitigation. *Current Opinion in Biotechnology*, 50, 166-173.
- Bieber, A.G.D., Oliveira, M.A., Wirth, R., Tabarelli, M. y Leal, I.R. 2011. Do abandoned nests of leaf-cutting ants enhance plant recruitment in Atlantic Forest? *Austral Ecology* 36, 220-232.
- Bot, A. y Benites, J. 2005. The importance of soil organic matter. Key to drought-resistant soil and sustained food and production. *FAO Soils Bulletin* 80.

- Camenzind, T., Hattenschwiler, S., Treseder, K. K., Lehmann, A. y Rillig, M. C. 2018. Nutrient limitation of soil microbial processes in tropical forests. *Ecological Monographs*, 88, 4-21.
- Chen, J, Lü, S., Zhang, Z., Zhao, X., Li, X., Ning, P. y Liu, M. 2018. Environmentally friendly fertilizers: A review of materials used and their effects on the environment. *Science of the Total Environment* 613-614, 829-839.
- Colla, G. y Saccardo, F. 2002. Application of systematic variation method for optimizing mineral nutrition of soilless-grown zucchini squash. *Journal of Plant Nutrition*. 26:9, 1859-1872
- Dakora, F. 2003. Defining new roles for plant and rhizobial molecules in sole and mixed plant cultures involving symbiotic legumes. *New phytologist* 158: 39-49.
- Davidson, S.K. y Stahl, D.A. 2008. Selective recruitment of bacteria during embryogenesis of an earthworm. *International Society for Microbial Ecology* 2, 510-518.
- DeFine-Licht, H.H., Boomsma, J.J. y Tunlid, A. 2014. Symbiotic adaptations in the fungal cultivar of leaf-cutting ants. *Nature Communications* 5: 5675.
- DeFries, R.S., Rudel, T., Uriarte, M. y Hansen, M. 2010. Deforestation driven by urban population growth and agricultural trade in the twenty-first century. *Nature Geoscience* 3, 178-181.
- Díaz-López, E., Escalante-Estrada, J.A.S., Rodríguez-González, M.T. y Gaytán-Acuña, A. (2010) Producción de frijol ejotero en función del tipo de espaldera. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 16(3), 215-221.
- Domínguez, J. 2010. The microbiology of vermicomposting. En: C.A. Edwards, N.Q. Arancon, R. Sherman (Eds.), *Vermiculture Technology: Earthworms, Organic Wastes, and Environmental Management*, CRC Press, Boca Raton, 2011, pp.103–128.
- Draskovits, E., Németh-Borsányi, B., Rivier, P. A. & Szabó, A. 2017. Vermicomposting as an alternative way of composting sewage sludge. *Agrokemia es Talajtan*, 66, 397-417.
- Edwards, C.A., 2011. Human pathogen reduction during vermicomposting. En: Edwards, C.A., Arancon, N.Q., Sherman, R. (Eds.), *Vermiculture Technology:*

- Earthworms, Organic Wastes and Environmental Management. CRC Press, Boca Raton, pp. 249–261.
- Edwards, C.A., Subler, S., Arancon, N. 2011. Quality criteria for vermicomposts. En: Edwards, C.A., Arancon, N.Q., Sherman, R. (Eds.), *Vermiculture Technology: Earthworms, Organic Wastes and Environmental Management*. CRC Press, Boca Raton, pp. 249–261.
- Eghball, B., Ginting, D., Gilley, J.E. 2004. Residual effects of manure and compost applications on corn production and soil properties. *Agronomy Journal* 96, 442-447.
- Elrashidi, M. A. 2001. Selection of an appropriate phosphorous test for soils. Soil Survey Laboratory, National Soil Survey Center. USDA.
- FAO. 2009. Glosario de agricultura orgánica, Roma, Italia. Consultado en: http://www.fao.org/fileadmin/templates/organicag/files/Glossary_on_Organic_Agriculture.pdf el 16 de noviembre de 2017.
- Farji-Brener, A. y Ghermandi, L. 2008. Leaf-cutting ant nests near roads increase fitness of exotic plant species in natural protected. *Proceedings of the Royal Society B* 275; 1641: 1431-1440
- Farji-Brener, A.G. y Werenkraut, V. 2015. A meta-analysis of leaf-cutting ant nest effects on soil fertility and plant performance. *Ecological Entomology* 40, 150–158.
- Farji-Brener, A.G. y Werenkraut, V. 2017. The effects of ant nests on soil fertility and plant performance: a meta-analysis. *Journal of Animal Ecology* 86, 866-877.
- Fedoroff, N.V.; Battisti, D.S.; Beachy, R.N.; Cooper, P.J.M.; Fischhoff, D.A.; Hodges, C.N.; Knauf, V.C.; Lobell, D.; Mazur, B.J.; Molden, D., Reynolds, M.P., Ronald, P.C., Rosegrant, M.W., Sanchez, P.A., Vonshak, A. Zhu, J.K. 2010. Radically rethinking agriculture for the 21st Century. *Science* 327, 833–834.
- Fernández, F., Gepts, P., López, M., 1983. Etapas de desarrollo de la planta de frijol común; Guía de estudio para ser usada como complemento de la Unidad Audiotutorial sobre el mismo tema. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia.

- Fernandez, A., Tadey, M. y Farji-Brener, A. 2019. Refuse attracts? Effect of refuse dumps of leaf-cutting ants on floral traits. *Austral Ecology* 44, 70–77.
- FIRA, 2016b. Panorama agroalimentario. Frijol. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200638/Panorama_Agroalimentario_Frijol_2016.pdf Consultado el 13/01/2018.
- Foley, J.A., Ramankutty, N., Brauman, K.A., Cassidy, E.S., Gerber, J.S., Johnston, M., Mueller, N.D., O'Connell, C., Ray, D.K., West, P.C.; Balzer C., Bennett E.M., Carpenter S.R., Hill J., Monfreda C., Polasky S., Rockström J., Sheehan J., Siebert S., Tilman D., Zaks D.P. 2011. Solutions for a cultivated planet. *Nature* 478, 337–342.
- Fortanelli-Martínez, J. y Servín-Montoya, M. E. 2002. Desechos de hormiga arriera (*Atta mexicana* Smith), un abono orgánico para la producción hortícola. *Terra* 20 (2), 153-160.
- Frouz, J. y Jilková, V. 2008. The effect of ants on soil properties and processes (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News* 11, 191-199.
- Godfray, H.C.J., Beddington, J.R., Crute, I.R., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J.F., Robinson, S., Thomas, S.M., Toulmin, C. 2010. Food security: The challenge of feeding 9 billion people. *Science* 237, 812–818.
- Gómez Cruz, Manuel Ángel; Laura Gómez Tovar; y Rita Schwentesius Rindermann. 2003. La Agricultura Orgánica en México. En: Gómez Cruz, M. A., Gómez Tovar, L., Lobato García, A.J., Schwentesius Rindermann, R., Meráz Alvarado, M. R. (eds.) Producción, comercialización y certificación de la agricultura orgánica en América Latina. CIESTAAM-AUNA, Edo. De México, pp. 91-108.
- Gopinath, K.A., Saha, S., Mina, B.L., Pande, H., Kundu, S., Gupta, H.S. 2008. Influence of organic amendments on growth, yield and quality of wheat and on soil properties during transition to organic production. *Nutrient cycling in agrosystems* 82, 51-60.
- Guan, P. 2017. Dancing with hormones: A current perspective of nitrates signaling and regulation in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science* 8: 1697.

- Guo, S., Brück, H. y Sattelmacher, B. 2002. Effects of supplied nitrogen form on growth and water uptake of French vean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants. *Plant and Soil* 239: 267-275.
- Guo, S., Kaldenhoff, R., Uehlein, N., Sattelmacher, B. y Brueck, H. 2007. Relationship between water and nitrogen uptake in nitrate- and ammonium-supplied *Phaseolus vulgaris* L. plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 170, 73-80.
- Guo, J., Jia, Y., Chen, H., Zhang, L., Yang, J., Zhang, J., Hu, X., Ye, X., li, Y. y Zhou. Y. 2019. Growth, photosynthesis, and nutrient uptake in wheat are affected by differences in nitrogen levels and forms and potassium supply. *Scientific reports* 9:1248.
- Hanway, J.J. 1966. How a corn plant develops. Iowa State University Special Report 38.
- Hassen, A., Belguith, K., Jedidi, N., Cherif, A., Cherif, M., Boudabous, A., 2001. Microbial characterization during composting of municipal solid waste. *Bioresource Technology* 80, 217–225.
- Hendershot, W.H., Lalonde, H. and Duquette, M. 2008. Soil Reaction and Exchangeable Acidity. Publicado en: Carter y Gregorich (2006). Soil Sampling and Methods of Analysis.
- Hudson, T.M., Turner, B.L., Herz, H., Robinson, J.S. 2009. Temporal patterns of nutrient availability around nests of leaf-cutting ants (*Atta colombica*) in secondary moist tropical forest. *Soil Biology & Biochemistry* 21, 1088-1093.
- Karberg, N.J., Scott, N.A. y Giardina, C.P. 2008. Methods for estimating litter decomposition. En: Hoover, C.M. (Editor). Field measurements for forest carbon monitoring. A landscape-scale approach, USA. Springer. 103-111.
- Lehmann, J y Kleber, M. 2015. The contentious nature of soil organic matter. *Nature*. 528, 60-68.

- Leininger, S., Urich, T., Schloter, M., Schwark, L., Qi, J., Nicol, G.W., Prosser, J.I., Schuster, S.C., Schleper, C., 2006. Archaea predominate among ammonia oxidizing prokaryotes in soils. *Nature* 442, 806-809.
- Lerch, T. Z, Nunan, N., Dignac, M.-F., Chenu, C., Mariotti, A. 2011. Variations in microbial isotopic fractionation during soil organic matter decomposition. *Biogeochemistry* 106 (1), 5-21.
- Lim, S.L., Wu, Y., Lim P.N., Pui, K. 2014. The use of vermicompost in organic farming: overview, effects on soil and economics. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 95, 1143-1156.
- Mantelin S, Touraine B. Plant growth-promoting bacteria and nitrate availability: impacts on root development and nitrate uptake. *Journal of Experimental Botany* 55, 27–34.
- Mera-Ovando, L.M., Mapes-Sánchez, C. 2009. El Maíz. Aspectos biológicos. En: Kato, T.A., Mapes, C., Mera, L.M., Serratos, J.A., Bye, R.A. 2009. Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México. 116 pp.
- Miltner, A., Bombach, P., Schmidt-Brücken, B. & Kästner, M. 2012. SOM genesis: microbial biomass as a significant source. *Biogeochemistry* 111, 41–55
- Mohee, R. y Soobhany, N., 2014. Comparison of heavy metals content in compost against vermicompost of organic solid waste: past and present. *Resources, Conservation and Recycling* 92, 206–213.
- Monroy, F., Aira, M. & Dominguez, J. 2009. Reduction of total coliform numbers during vermicomposting is caused by short-term direct effects of earthworms on microorganisms and depends on the dose of application of pig slurry. *Science of the Total Environment*, 407, 5411-5416.
- Murray, J.D. 2011. Invasion by invitation: rhizobial infection in legumes. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 24, 631–9.
- Nigussie, A., Bruun, S., de Neergaard, A., Kuyper, T.W. 2017. Earthworms change the quantity and composition of dissolved organic carbon and reduce

- greenhouse gas emissions during composting. *Waste management* 62, 43-51.
- Ortius-Lechner, D., Maile, R., Morgan, E.D., Boomsma, J.J. 2000. Metapleural gland secretion of the leaf-cutter ant *Acromyrmex octospinus*: New compounds and their functional significance. *Journal of Chemical ecology* 26, 1667-1683.
- Pant, A.P., Radovich, T.J.K., Hue, N.V., Paull, R.E., 2012. Biochemical properties of compost tea associated with compost quality and effects on pak choi growth. *Scientia Horticulturae* 148, 138-146.
- Pinto-Tomás, A.A., Anderson, M.A., Suen, G., Stevenson, D.M., Chu, F.S.T., Cleland, W., Weimer, P.J., Currie, C.R., 2009. Symbiotic nitrogen fixation in the fungus gardens of leaf-cutter ants. *Science* 326, 1120.
- Quinlan, R.J., and J.M. Cherrett, 1977. The role of substrate preparation in the symbiosis between the leaf-cutting ant *Acromyrmex octospinosus* (Reich) and its food fungus. *Ecological Entomology* 2: 161–170.
- Radford, P.J. 1967. Growth analysis formulae, their use and abuse. *Crop Science* 7: 171-173.
- Ramos-Agüero, D., Terry-Alfonso, E. 2014. Generalidades de los abonos orgánicos: importancia del bocashi como alternativa nutricional para suelos y plantas. *Cultivos tropicales* 35(4), 52-59.
- Ravindran, B., Wong, J.W.C., Selvam, A., Sekaran, G. 2016. Influence of microbial diversity and plant growth hormones in compost and vermicompost from fermented tannery waste. *Bioresource Technology* 217, 200-204.
- Reganold, J.P. y Wachter, J.M. 2016. Organic agriculture in the twenty-first century. *Nature Plants*, 2, 1522.
- Reeves III, J.B., 2010. Near- versus mid-infrared diffuse reflectance spectroscopy for soil analysis emphasizing carbon and laboratory versus on-site analysis: where are we and what needs to be done? *Geoderma* 158 (1–2), 3–14.
- Ríos-Casanova, L. 2014. Biodiversidad de hormigas en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 85, 392-398.

- Roberts, D.P. y Mattoo A.K. 2018. Sustainable agricultura-Enhancing environmental benefits, food nutritional quality and building crop resilience to abiotic and biotic stresses. *Agriculture* 8, 8.
- SAGARPA. 2014. Carta tecnológica número 2. Cultivo de calabacita. Programa Integral de Desarrollo Rural 2014. Componente de Agricultura Familiar Periurbana y de Traspatio.
- SAGARPA. 2014b. Carta tecnológica número 10. Cultivo de frijol ejotero. Programa Integral de Desarrollo Rural 2014. Componente de Agricultura Familiar Periurbana y de Traspatio.
- Sampedro, L. y Domínguez, J. 2008. Stable isotope natural abundances ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) of the earthworm *Eisenia fetida* and other soil fauna living in two different vermicomposting environments. *Applied. Soil Ecology* 38:91–99
- Santner, A. y Estelle, M. 2009. Recent advances and emerging trends in plant hormone signalling. *Nature* 459, 1071-1078.
- Schmidt, M. W. I., Torn, M.S., Abiven, S., Dittmar, T., Guggenberger, G., Janssens, I.A., Kleber, M., Kögel-Knabner, I., Lehmann, J., Manning, D.A.C., Nannipieri, P., Rasse, D.P., Weiner, S., Trumbore, S.E. 2011. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature* **478**, 49–56.
- Schurig, C., Smittenberg, R.H., Berger, J., Kaft, F., Woche, S.K., Goebel, M.O., Heipieper, H.J., Miltner, A., Kaestner, M. 2013. Microbial cell-envelope fragments and the formation of soil organic matter: a case study from a glacier forefield. *Biogeochemistry* 113, 595–612.
- Scott, J. J., Budsberg, K. J., Suen, G., Wixon, D. L., Balser, T. C., Currie, C. R. 2010. Microbial community structure of leaf-cutter ant fungus gardens and refuse dumps. *PLoS ONE* 5(3): e9922.
- Sedano-Castro, G., González-Hernández, V.A., Engleman, E.M. y Villanueva-Verduzco, C. 2005. Dinámica del crecimiento y eficiencia fisiológica de la planta de calabacita. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 11: 291-297
- Seufert, V., Ramankutty, N., Foley, J.A. 2012. Comparing the yields of organic and conventional agriculture. *Nature* 485, 229–234.

- Siebe, C., Jahn, R. y Stahr, K. 2006. Manual para la descripción y evaluación ecológica de suelos en el campo. 2da Edición, UNAM.
- Skjemstad, J.O. y Baldock, J.A. 2007. Total and organic carbon. En: Carter, M. R., y Gregorich, E.G. Soil sampling and methods of analysis 2a edición. Canadian Society of Soil Science, Boca Ratón. P. 225-237.
- Smith, A. y Stitt, M. 2007. Coordination of carbon supply and plant growth. *Plant, Cell and Environment* 30, 1126–1149
- Soobhany, N., Mohee, R. & Garg, V. K. 2017. A comparative analysis of composts and vermicomposts derived from municipal solid waste for the growth and yield of green bean (*Phaseolus vulgaris*). *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 11228-11239.
- Soriano-Disla, J.M., Janik, L.J., Viscarra Rossel, R.A., MacDonald, L.M. y McLaughlin, M.J. 2014. The performance of visible, near and mid-infrared reflectance spectroscopy for prediction of soil physical, chemical and biological properties. *Applied Spectroscopy Reviews* 49, 139-186.
- Spargo, J.T., Cavigelli, M.A., Mirsky, S.B., Maul, J.E., Meisinger, J.J. 2011. Mineralizable soil nitrogen and labile soil organic matter in diverse long-term cropping systems. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 90, 253–266.
- Stevenson, F.J. y Cole, M.A. 1999. Cycles of soil. Carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients 2a edición. John Wiley & Sons, Inc. EUA.
- Taheri-Rahimabadi, E., Ansari, M.H. y Razavi-Nematollahi, A. 2017. Influence of cow manure and its vermicomposting on the improvement of grain yield and quality of rice (*Oryza sativa*, L.) in field conditions. *Applied Ecology and Environmental Research* 16(1), 97-110.
- Taiz, L. y Zeiger, E. 2006. Plant physiology. 2a ed. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. 764 p.
- Tiecher, T., Caner, L., Gomez Minella, J.P. y dos Santos, D.R. 2015. Combining visible-based-color parameters and geochemical tracers to improve sediment source discrimination and apportionement. *Science of the Total Environment* 527-528, 135-149.

- Trivedi, P., Delgado-Baquerizo, M., Trivedi, C., Hu, H., Anderson, I. C., Jeffries, T. C., Zhou, J., Singh, B. K. 2016. Microbial regulation of the soil carbon cycle: evidence from gene- enzyme relationships. *ISME Journal* 10, 2593–2604.
- Unyayar, S., Topcuoglu, S.F. y Unyayar, A. 1996. A modified method for extraction and identification of indole-3-acetic acid (IAA) gibberellic acid (GA3), abscisic acid (ABA), and zeatin produced by *Phanerochaete chrysosporium* ME446. *Bulgarian Journal of Plant Physiology* 22, 105–110.
- van der Heijden, M. G. A. 2008. The unseen majority: Soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters* 11,651.
- Verma, A.K., Sindhu, S.S., Anshuman Singh, Arvind Kumar, Anupama Singh y Chauhan, V.B.S. 2019. Conditioning effects of biodegradable superabsorbent polymer and vermiproducs on media properties and growth of gerbera. *Ecological Engineering* 132, 23-30.
- Viscarra Rossel, R.A., Behrens, T., Ben-Dor, E., Brown, D.J., Demattê, J.A.M., Shepherd, K.D., Shi, Z., Stenberg, B., Stevens, A., Adamchuk, V., Aichi, V., Barthès, B.G., Bartholomeus, H.M., Bayer, A.D., Bernoux, M., Böttcher, K., Brodský, L., Du, C.W. y Ji, W. 2016. A global spectral library to characterize the world's soil. *Earth-Science Reviews* 155, 198-230.
- Walch-Liu, P., Neumann, G., Bangerth, F., Engels, C. 2000. Rapid effects of nitrogen form on leaf morphogenesis in tobacco. *Journal of Experimental Botany* 51, 343: 227-237.
- Walkley, A. y Black, I. Armstrong. 1934. An examination of the degtjarreff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, January, Volume 37, Issue 1, pp 29-38.
- Wall, D., Bardgett, R. D., Behan-Pelletier, V., Herrick, J. E., Jones, T. H., Ritz, K., Six, J., Strong, D. R. y Putten, W. H. V. 2012. Soil ecology and ecosystem services. Oxford University Press, Oxford, Mississippi, USA
- Weber, N.A., 1966. Fungus-growing ants. *Science* 153: 587–604.

- Weber, N.A., 1972. *Gardening Ants: The Attines*. American Philosophical Society, Philadelphia, USA. 146 pp.
- Willard, H. H., Merrit, L. L., Dean, J. A. 1974. Instrumental Methods of Soil Analysis. 5a edición. Van Nostrand.
- Yadav, K.D., Tare, V., Ahammed, M.M., 2011. Vermicomposting of source-separated human faeces by *Eisenia fetida*: effect of stocking density on feed consumption rate, growth characteristics and vermicompost production. *Waste Management* 31, 1162–1168.
- Yu H, Zeng G, Huang H, Xi X, Wang R., Huang, D., Huang, G., Li, J. 2007. Microbial community succession and lignocellulose degradation during agricultural waste composting. *Biodegradation* 18: 793–802.
- Zarei, M., Jahandideh Mahjen Abadi, V.A. y Morid, A. 2017. Comparison of vermiwash and vermicompost tea properties produced from different organic beds under greenhouse conditions. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture* 7, 25-32.
- Zhang, H., Tan, S. N., Teo, C. H., Yew, Y. R., Ge, L. Y., Chen, X. y Yong, J. W. H. 2015. Analysis of phytohormones in vermicompost using a novel combinative sample preparation strategy of ultrasound-assisted extraction and solid-phase extraction coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Talanta* 139, 189-197.
- Zhao, X., He, L., Zhang, Z., Wang, H., y Zhao, L. 2016. Simulation of accumulation and mineralization (CO₂ release) of organic carbon in chernozem under straw return ways after corns harvesting. *Soil and Tillage Research* 156, 148-154.

ANEXO I

MÉTODOLOGÍAS

pH (H₂O) (Willard *et al.*, 1974, Bates, 1983, Hendershot, Lalande y Duquette, 2008).

Con el método potenciométrico se mide el potencial de hidrógeno con un electrodo sensible a los iones H⁺ presentes en una solución problema; se utiliza como referencia un electrodo cuya solución problema no se modifica cuando cambia la concentración de los iones por medir, que es generalmente un electrodo de calomelano o de plata/plata-cloro. El electrodo de vidrio a través de sus paredes desarrolla un potencial eléctrico. En la práctica se utilizan soluciones amortiguadoras de pH conocido para calibrar el instrumento y luego comparar, ya sea el potencial eléctrico o el pH directamente de la solución a evaluar.

La solución sobrenadante debe ser suficiente para que el electrodo se sumerja correctamente y se procede a la lectura de la solución con el potenciómetro. Los valores obtenidos serán analizados conforme a la escala que señala Siebe *et al.* 2006.

Material y reactivos

1. Potenciómetro.
2. Electrodo.
3. Recipientes de 30 mL, profundos (Pyrex o plástico desechable), incluso vasos de precipitados de 100 mL.
4. Agitadores (vidrio o plástico desechable).

Procedimiento

- 1- Pesar 1 gramo de suelo secado al aire (<2mm) y colocar dentro del recipiente de vidrio y añadir 2 mL de agua doblemente desionizada (solución 1:2). Se registra la proporción de agua y suelo utilizada. Se recomienda hacer duplicados de las mediciones como control de calidad.
- 2- Agitar la suspensión de manera intermitente durante 30 minutos.
- 3- Dejar reposar por una hora.

- 4- Sumergir el electrodo en la fase *clara* (menos turbia) del sobrenadante y registrar el pH una vez que el valor mostrado en la pantalla es constante.

Comentarios:

Se recomienda el uso de dos *soluciones estándar* para calibrar el potenciómetro; estos deben ser elegidos acorde con el rango de pH esperado para los suelos analizados (pH 4.0 y 7.0 o bien pH 7.0 y 10.0).

Cuando se mide el pH utilizando agua, la principal preocupación es que un incremento en la cantidad de agua añadida podría causar un incremento en el pH; por lo tanto es muy importante mantener el ratio de la solución (1:2) constante y lo más bajo posible.

Materia Orgánica del Suelo (Walkley y Black 1934)

El método de oxidación con dicromato y ácido sulfúrico (Walkley y Black 1934) se basa en la oxidación del carbono orgánico del suelo por medio de una disolución de dicromato de K y el calor de reacción que se genera al mezclarla con ácido sulfúrico concentrado. Después de un cierto tiempo de espera la mezcla se diluye, se adiciona ácido fosfórico para evitar interferencias de Fe^{3+} y el dicromato de potasio residual es valorado con sulfato ferroso. Con este procedimiento se detecta entre un 70 y 84% del carbono orgánico total por lo que es necesario introducir un factor de corrección, el cual puede variar entre suelo y suelo. En los suelos de México se recomienda utilizar el factor 1.298 (1/0.77).

Reactivos

1. Dicromato de potasio 0.166 M o 1N.- Disolver 48.82 g de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ en agua destilada aforar a 1000 ml en un matraz volumétrico.
2. Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4).
3. Ácido fosfórico concentrado (H_3PO_4).
4. Indicador de difenilamina. Disolver 0.5 g de difenilamina en 20 ml de agua y añadir 100 ml de ácido sulfúrico concentrado.
5. Sulfato ferroso 1.0 M (aproximadamente). Disolver 278 g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en agua a la que previamente se le añadieron 80 ml de H_2SO_4 concentrado, enfriar y

diluir a un litro. Esta solución debe ser valorada con $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 1 N antes de realizar la determinación.

Material

1. Matraces Erlenmeyer de 500 ml.
2. Bureta para $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (50 ml).
3. Bureta para $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (50 ml).
4. Pipeta volumétrica (10 ml).
5. Probeta de vidrio (25 ml).

Procedimiento

- 1- Pesar 0.5 g de suelo seco y pasado por un tamiz de 0.5 mm y colocarlo en un matraz Erlenmeyer de 500 ml. Procesar un blanco con reactivos por triplicado.
- 2- Adicionar exactamente 10 ml de dicromato de potasio 1 N girando el matraz cuidadosamente para que entre en contacto con todo el suelo.
- 3- Agregar cuidadosamente con una bureta 20 ml de H_2SO_4 concentrado a la suspensión, girar nuevamente el matraz y agitar de esa forma durante un minuto.
- 4- Dejar reposar durante 30 minutos sobre una lámina de asbesto o sobre una mesa de madera, evitando las mesas de acero o cemento.
- 5- Añadir 200 ml de agua destilada.
- 6- Añadir 5 ml de H_3PO_4 concentrado.
- 7- Adicionar de 5 a 10 gotas del indicador de difenilamina.
- 8- Titular con la disolución de sulfato ferroso gota a gota hasta un punto final verde claro.

Cálculos

B: Volumen de sulfato ferroso gastado para valorar el blanco de reactivos (ml).

T: Volumen de sulfato ferroso gastado para valorar la muestra (ml).

N: Normalidad exacta del sulfato ferroso (valorar por separado al momento de

analizar las muestras).

g: Peso de la muestra empleada (g).

mcf: factor de corrección de humedad.

% Materia orgánica: % C Orgánico x 1.724

Para la interpretación de los resultados del análisis de MOS, se pueden utilizar los siguientes parámetros como referencia:

	Muy Baja	Baja	Media	Media Alta	Alta	Muy Alta	Ext. Alta
Siebe, et al., 2006	<1%	1-2%	2-4%	4-8%	8-15%	15-30%	>30%
NOM- AS07*	<4.0	4.1 - 6.0	6.1 - 10.9	-	11.0 – 16.0	> 16.1	-

*NOM-AS07 propone una evaluación con esos parámetros para suelos volcánicos.

Carbono total (%Ct), Total Organic Carbon (TOC) Dry Combustion, (Skjemstad y Baldock, 2007, Hilke, 2015).

Con este análisis se obtiene el %Ct en una muestra de suelo. El C en el suelo está presente en formas orgánicas e inorgánicas. El carbonato, en una variedad de formas, conforma el componente inorgánico del Carbono Total (Ct), mientras que la otra mitad, está conformada por un componente de Carbono Orgánico (CO). Los términos Corg o MO asociados con el suelo han sido definidos de varias maneras, por ejemplo, Stevenson y Cole (1999), Baldock y Nelson (1998) definen al C_{org} como el total de todos los materiales orgánicos existentes en un suelo (Skjemstad y Baldock 2007).

El método de la combustión seca está basado sobre la oxidación térmica de los compuestos que contienen C. Esta puede aplicarse a muestras sólidas o líquidas. Cuando se aplican altas temperaturas, en la combustión seca se supone que se asegura una oxidación de C cuantitativa y por lo tanto se le puede considerar como el método de referencia. Muchos de los analizadores de elementos están diseñados sobre la base de esta técnica, con algunas variantes tanto en sus catalizadores como en la temperatura empleada en la combustión e incluso en la técnica de detección del elemento (Hilke, 2015).

La cuantificación del TOC se efectuó utilizando un Analizador de Carbono Orgánico Automatizado (Shimadzu, Modelo TOC-VCSH) con una unidad de combustión de muestras sólidas (Shimadzu, Modelo SSM-5000A). En este equipo una muestra de 1 gramo de suelo seco es colocada en un recipiente de cerámica y se combustiona la muestra a 900°C en una corriente de oxígeno. Para asegurar la conversión hacia CO₂, el gas generado se pasa sobre una mezcla de un catalizador (cobalto/potasio) para una catálisis post-combustión.

La determinación de C inorgánico se realiza con el módulo SSM-5000A. Se añade ácido fosfórico a la muestra y el CO₂, resultante es purgado a 200°C y es cuantificado. El SSM-5050A está acoplado a un detector infrarrojo (non-dispersive infrared spectrometry NDIR). La NDIR indica que la concentración de CO₂ en el gas de combustión se mide en términos electro-ópticos por absorción de una longitud de onda específica en el espectro infrarrojo. Este tipo de detector tiene una gran especificidad y sensibilidad acoplado con un límite de detección muy fino. Dada su especificidad, los gases de combustión como el CO₂ pueden ser detectados simultáneamente, lo cual reduce el tiempo empleado en el análisis (Hilke, 2015). Este detector está equipado con dos celdas de medición para completar el análisis. El módulo está completamente integrado al TOC-Control Software el cual automáticamente calcula el contenido de TOC (Shimadzu Co., s.f.).

La interpretación puede realizarse tomando en consideración los siguientes valores (Landon, 1991).

Clasificación	Contenido de C_{org} (%)
<i>Muy alto</i>	>20
<i>Alto</i>	10-20
<i>Medio</i>	4-10
<i>Bajo</i>	2-4
<i>Muy Bajo</i>	>2

Tomado de Metson, 1961

Nitrógeno total porcentaje (%Nt) (Anderson y Ingram, 1993)

La evaluación se realiza con el método micro-Kjeldahl (Anderson e Ingram, 1993), que se utiliza como índice de disponibilidad de N en el suelo. Se basa en la extracción del amonio intercambiable por equilibrio de la muestra de suelo con KCl 2 N y su determinación por destilación mediante arrastre de vapor en presencia de MgO. La adición de la aleación de Devarda permite incluir la determinación de nitratos y nitritos.

Reactivos

1. Óxido de magnesio (MgO). Se calcina en una mufla a 600-700°C durante dos horas y se almacena en frascos con tapa hermética, después de enfriarlo en desecador provisto de gránulos de KOH.
2. Solución de ácido bórico con indicador. Disolver 20 g de H₃BO₃ puro en 700 ml de agua caliente y transferir la solución fría a un matraz volumétrico de 1 litro que contenga 200 ml de etanol (96%) y 20 ml de la solución indicadora descrita más abajo. Ajustar a pH de 5.0 con NaOH 0.05 N. Complete el volumen de 1 litro.
3. Mezcla de indicadores. Disolver 0.300 g de verde de bromocresol y 0.165 g de rojo de metilo en 500 ml de etanol (96%).
4. Aleación de Devarda. En (Al:Zn:Cu 10:9:1). Moler si es necesario en un molino de bolas o mortero hasta que el 75% pase un tamiz de 300 mallas.
5. Ácido sulfúrico 0.005 N. Estandarizarlo con THAM (trihidroximetilaminometano).

6. Solución patrón de 50 ppm de N-NH₄ y N-NO₃. Pesar 0.236 g de (NH₄)₂SO₄ y 0.361 g de KNO₃ desecados y diluirlos a 1 litro con agua destilada. Guardar en refrigerador.
7. Solución de cloruro de potasio 2 N. Disolver 1490.8 g de KCl grado reactivo en 8 litros de agua y diluir la solución a 10 litros.

Material y equipo

1. Balanza analítica.
2. Matraces de destilación.
3. Destilador con arrastre de vapor.
4. Microburetas de 5 ml, graduadas a intervalos de 0.01 ml.
5. Matraces Erlenmeyer de 125 ml.
6. Agitador de vaivén regulado a 180 oscilaciones por minuto.

Procedimiento

1. Pesar 5 g de suelo y colocar en un bote de polietileno de 100 ml de capacidad o en un matraz Erlenmeyer de 125 ml.
2. Agregar 50 ml de solución de KCl 2 N y agitar por 60 minutos en agitador de acción recíproca regulado a 180 rpm y centrifugar 5 minutos. Decantar o filtrar si es necesario.
3. Colocar 10 ml de solución H₃BO₃ con indicador en un matraz Erlenmeyer de 125 ml y conectarlo en un tubo de salida del refrigerante, de modo que éste quede en contacto con el líquido.
4. Pipetear una alícuota de 10 a 20 ml del extracto de suelo y colocar en un matraz de destilación y agregar 0.2 g de MgO calcinado y 0.2 g de aleación de Devarda.
5. Conectar el aparato de destilación y destilar hasta completar aproximadamente 30 ml en 3-4 minutos (6-7 ml min⁻¹).
6. Titular la muestra y los blancos (se preparan de forma similar a las muestras) con ácido sulfúrico 0.005 N. En el punto final el color cambia de verde a rosa tenue.

Cálculos

Calcular la cantidad de nitrógeno inorgánico con la siguiente ecuación:

$$N \text{ (ppm)} = (M-B) \times N \times 14 \times (V_i / a) \times 1/p \times 1000$$

Dónde:

M y B= Son los mililitros de ácido sulfúrico usados en la titulación de muestra y el blanco, respectivamente.

N= La normalidad del ácido.

V_i = Es el volumen del extractante.

a= La alícuota destilada.

p= El peso de la muestra en gramos.

Informe de la prueba

Se reporta la cantidad de N inorgánico (nitratos + amonio + nitritos) en miligramos por kilogramo de suelo (mg Kg^{-1}). Se recomienda el uso de una cifra decimal. Adjunto al resultado debe citarse el método empleado.

Sensibilidad

Con este procedimiento es posible detectar concentraciones de aproximadamente 0.5 mg Kg^{-1} de nitrógeno inorgánico en el suelo, suficiente para fines de diagnóstico. Los parámetros sugeridos por la NOM-021-RECNAT-2000 son los siguientes:

<i>Evaluación</i>	<i>Nitrógeno Total (%)</i>
Bajo	< 0.30
Medio	0.30 – 0.80
Alto	>0.80

Amonio y nitrato, Extracción con solución 2.0 M KCl (Maynard, Kalra y Crumbaugh, 2007)

El amonio está retenido como forma intercambiable en los suelos de la misma forma que los cationes metálicos intercambiables. Fijado o intercambiable, el amonio puede compensar una parte significativa de N del suelo; sin embargo, el amonio

fijado está definido como el amonio en el suelo que no puede ser extraído por agitación con una solución 2.0 M de cloruro de potasio (KCl). El nitrato es soluble en agua y por lo tanto también puede extraerse por la solución de KCl.

Materiales y Reactivos

1. Agitador de vaivén
2. Piceta
3. Matraces Erlenmeyer de 125mL
4. Botes Nalgene de 60 mL
5. Filtros de embudo
6. Papel Whatman No. 42
7. Platos de aluminio
8. Cloruro de potasio (2.0 M KCl), para ello disolver 149g de KCl en aproximadamente 800 mL de agua desionizada libre de NH_3 en un recipiente volumétrico de 1L y aforar.

Procedimiento

A. Determinación Húmeda

- 1- Pesar 5.0 g de suelo húmedo en un plato de aluminio (pesado previamente)
- 2- Secar durante la noche en horno o estufa a 105° C
- 3- Dejar enfriar y pesar.

B. Proceso de extracción

- 1- Pesar (5.0 g) de suelo a capacidad de campo dentro de un matraz Erlenmeyer de 125 mL. En algunos casos se puede utilizar el suelo seco.
- 2- Añadir 50 mL de la solución 2.0 M KCl utilizando la piceta. (si la muestra es limitada, está puede reducirse a un mínimo de 1.0 g y 10 mL para mantener el radio 1:10).
- 3- Llevar un blanco de reactivos durante todo el experimento.
- 4- Tapar el frasco y agitarlo durante 30 minutos a 160 golpes por minuto.
- 5- Filtrar con el papel Whatman no. 42 dentro de los frascos Nalgene de 60 mL.
- 6- Analizar para nitrato y amonio en un lapso máximo de 24 horas.

Determinación de $\text{NO}_3\text{-N}$ en extractos de KCl 2.0 M por Análisis de Segmentación de Flujo (Procedimiento por Reducción de Cadmio)

El nitrato se determina por métodos espectrofotométricos automatizados. Los nitratos son reducidos hacia nitrito por una bobina reductora de cadmio y cobre (Copper-Cadmium Reductor Coil, CRC, en inglés). El ión nitrito reacciona con sulfanilamida bajo condiciones ácidas para formar un diazocompuesto. Este se acopla con dihidroclorato de N-1-naftiletildiamina ($\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2 \cdot 2\text{HCl}$), para formar un colorante azoico rojizo-púrpura (Technicon Instrument Corporation, 1971).

Materiales y reactivos.

- 1- Autoanalizador Technicon que consta de un muestrario, colector, bomba propulsora, CRC, colorímetro y un sistema de adquisición de datos.
- 2- CRC (su activación se refiere al punto 5 en esta sección, más adelante). Este procedimiento debe ser ejecutado antes de conectar el CRC al sistema. No inducir aire dentro del CRC durante el proceso de activación.
 - a. Utilizando una jeringa Luer-Lok de 10 mL y un adaptador hembra de $\frac{1}{4}$ "-28, enjuagar lentamente el CRC con 10 mL agua desionizada. Si cualquier detrito se ve saliendo del CRC, continuar lavando con el agua desionizada hasta que todos los detritos sean removidos.
 - b. Enjuagar lentamente el CRC con 10 mL de una solución 0.5 M de HCl (ácido clorhídrico). Rápidamente se procede con el siguiente paso antes de que la solución de HCl produzca daños en la superficie de cadmio si se deja sobre el CRC por más de algunos segundos.
 - c. Enjuagar el CRC con 10 mL de agua desionizada para remover la solución de HCl.
 - d. Enjuagar lentamente el CRC con 10 ml de una solución de sulfato de cobre al 2%. Dejar esta solución en el CRC por aproximadamente 5-10 minutos.
 - e. Enjuagar enérgicamente el CRC con 10 mL de una solución reactiva de cloruro de amonio (NH_4Cl) para remover cualquier pérdida de cobre que

pueda haberse formado dentro del reactor. Continúe enjuagando hasta que todos los detritos sean removidos.

f. el CRC debe ser almacenado y rellenado con agua desionizada cuando no esté en uso.

3- Soluciones Estándar

- a. Solución stock ($100\mu\text{g NO}_3\text{-N mL}^{-1}$): disolver 0.7218 g de nitrato de potasio (KNO_3) –secado toda la noche a 105°C - en un frasco volumétrico de 1 l que contenga agua desionizada. Añadir 1 mL de cloroformo para preservar la solución. Aforar a 1L y mezclar bien.
- b. Estándares de trabajo: pipetear 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 mL de la solución *stock* dentro de un envase volumétrico de 100 mL y aforar con la solución 2.0m KCl para obtener 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 $\mu\text{g NO}_3\text{-N mL}^{-1}$ de solución estándar, respectivamente.

4- Reactivos

- a. Diluir una solución de hidróxido de amonio (NH_4OH): añadir cuatro o 5 gotas de NH_4OH concentrado en aproximadamente 30 ml de agua desionizada.
- b. Reactivo cloruro de amonio (NH_4Cl): disolver 10g de NH_4Cl en matraz de 1 L que contenga 750 mL de agua desionizada. Añadir solución de NH_4OH para alcanzar un pH de 8.5, añadir 0.5 mL de Brij-35, aforar a 1 L y mezclar bien. (*Nota:* basta con tan sólo unas cuantas gotas para alcanzar el pH deseado).
- c. Reactivo colorante: en un matraz aforado de 1 L que contenga 750 ml de agua desionizada, añadir cuidadosamente 100 mL de ácido fosfórico (PO_4H_3) y 10 g de sulfanilamida. Disolver completamente. Añadir 0.5 g de dihidroclorhidrato de 1-N-naftil-etilendiamida (reactivo Marshall) y disolver. Aforar a un volumen de 1 L con agua desionizada y mezclar bien. Añadir 0.5 mL de Brij-35. Almacenar en un frasco ámbar. Este reactivo es estable por un mes.

5- Reactivos para el CRC

- a. Solución de sulfato de cobre - CuSO_4 - (2% p/v): disolver 20 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en aproximadamente 900 mL de agua desionizada en un matraz aforado de 1 L. aforar a 1 L con agua desionizada y mezclar bien.
- b. Solución de ácido clorhídrico -HCl- (0.5 M): añadir cuidadosamente 4.15 mL de HCl concentrado en aproximadamente 70 mL de agua desionizada en un matraz de 100 mL. Aforar a 100 mL con agua desionizada y mezclar bien.

Procedimiento

- 1- Si las muestras están refrigeradas, llevarlas a una cámara de temperatura
- 2- Agitar bien los extractos.
- 3- Ajustar el autoanalizador. Calentar el colorímetro por al menos 30 minutos.
- 4- Colocar todos los tubos reactivos en agua desionizada y correr por 10 minutos.
- 5- Insertar los tubos en los reactivos correctos y correr durante 20 minutos para asegurar el flujo a través del sistema (alimentar con solución 2.0 M KCl a través de la línea de lavado)
- 6- Establecer una línea base estable
- 7- Colocar la muestra en el estándar más alto por 5 minutos.
- 8- Resetear la línea base, si es necesario.
- 9- Transferir las soluciones estándar a las muestras y arreglar sobre la bandeja en orden descendente.
- 10- Transferir los extractos de la muestra y colocar en la bandeja de muestras siguiendo los estándares.
- 11- Empezar a correr
- 12- Después de que se ha completado el ciclo, reiniciar con las soluciones estándar para asegurar que no ha habido cambios. Reestablecer la línea base.
- 13- Colocar los tubos en agua desionizada, enjuagar y correr durante 20 minutos antes de que la bomba se apague.

Cálculos

Preparar una curva patrón con los registros obtenidos (absorción vs. concentración)

de las soluciones estándar y las lecturas como $\mu\text{g NO}_3\text{-N mL}^{-1}$ en el extracto de KCL. El resultado se calcula de la siguiente manera:

$$\text{NO}_3 - \text{N en muestra de suelo húmedo } (\mu\text{g g}^{-1}) = \frac{\text{NO}_3 \text{ en el extracto } (\mu\text{g mL}^{-1}) \times \text{volumen del extractante (mL)}}{\text{peso de suelo húmedo (g)}}$$

$$\text{Factor de humedad} = \frac{\text{suelo húmedo (g)}}{\text{suelo seco en estufa (g)}}$$

$\text{NO}_3\text{-N suelo seco en estufa } (\mu\text{g g}^{-1}) = \text{NO}_3\text{-N en suelo húmedo } (\mu\text{g g}^{-1}) \times \text{factor de humedad}$

Fósforo lábil (Krutz y Bray, 1945).

Existen distintos métodos para la cuantificación de P en los suelos, principalmente del P que puede ser extraíble. En 1945 Bray y Krutz sugieren la combinación de ácido clorhídrico y fluoruro de amonio para remover con facilidad el P soluble (Elrashidi, 2001).

Existen otros métodos para la cuantificación de P en suelos (Olsen, Mehlich) no obstante, cuando se trata de suelos con carácter ácido, es decir con pH's menores a 6, la recomendación es analizar con el método de Bray, ya que el método de Olsen se utiliza en suelos alcalinos. Por otra parte, se sugiere que Bray es el método que obtiene una mayor cantidad de P que otros dada las sustancias extractantes que se utilizan, además de que el P que se extraído está unido a minerales de Al, Fe y Mn (Elrashidi, 2001).

El P determinado con este procedimiento ha mostrado una estrecha relación con la respuesta de los cultivos. La solución extractora de P consiste de una combinación de HCl y NH_4F la cual remueve formas de P ácido solubles como los fosfatos de calcio y una porción de fosfatos de aluminio y hierro. El NH_4F disuelve los fosfatos de aluminio y de hierro al formar un ion complejo con estos iones metálicos en solución ácida.

Reactivos

1. Solución de fluoruro de amonio 1 N. Disolver 37 g de NH_4F en agua destilada y diluir hasta un litro. Conservar esta solución en botella de polietileno.
2. Ácido clorhídrico 0.5N. Diluir 20.4 ml de HCl concentrado hasta 500 ml con agua destilada.
3. Solución extractora Bray-Kurtz 1. Mezclar 30 ml de la solución de fluoruro de amonio 1N con 50 ml de la solución de ácido clorhídrico 0.5N y diluir a un litro con agua destilada. La solución resultante es 0.03N en NH_4F y 0.025N en HCl y es estable por más de un año si se conserva en frasco de polietileno.
4. Solución de tartrato de antimonio y potasio al 0.5%. Pese 0.5 g de $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$, transfíralo a un matraz volumétrico de 100 ml disuélvalo y afore con agua destilada.
5. Solución de molibdato de amonio $[(\text{NH}_4)_6 \text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$. Disolver 20 g de molibdato de amonio $[(\text{NH}_4)_6 \text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ en 300 ml de agua destilada. Agregue lentamente bajo constante agitación y con cuidado, 450 ml de H_2SO_4 (14 N) (194.4 ml H_2SO_4) concentrado diluido a 500 ml con agua da una concentración de aproximadamente 14 N). Agregue 100 ml de una solución al 0.5% (p/v) de tartrato de antimonio y potasio. Diluya las mezclas a 1 litro con agua destilada. Este frasco se debe mantener tapado y con papel aluminio y protegido de la luz.
6. Solución reductora con ácido ascórbico. Disolver 0.50 g de ácido ascórbico con un poco de solución patrón de molibdato de amonio y aforar a 100 ml con la misma solución. Esta solución es preparada cada vez que se vaya a formar color.
7. Solución patrón de 200 mg L^{-1} de P. Disolver 0.8786 g de fosfato dihidrógeno de potasio (KH_2PO_4), secado al horno, en agua y diluirla a un litro. Esta solución contiene 200 mg L^{-1} y debe guardarse refrigerada en frasco de plástico o de vidrio blando (no Pyrex) para evitar contaminación con arsénico. Algunos autores recomiendan agregar antes de envasar 25 ml de H_2SO_4 7N, lo cual ayudará a su conservación indefinida.

8. Solución patrón de 10 mg L^{-1} de P. Diluir 10 ml (medidos con bureta) de la solución de 200 mg L^{-1} P en 200 ml con agua destilada.

Material y equipo

1. Tubos de polietileno de 50 ml.
2. Papel Whatman No. 42.
3. Balanza analítica.
4. Espectrofotómetro para hacer lecturas a 880 nm (nanómetros) y celdas.
5. Agitador mecánico recíproco ajustado a 180 oscilaciones por minuto.
6. Bureta de 10 ml.
7. Matraces volumétricos de 50 ml.

Procedimiento

- 1- Pesar 2.5 g de suelo previamente tamizado por malla de 2 mm y colocarlo en un tubo de polietileno de 50 ml.
- 2- Adicionar 25 ml de la solución extractora taparlo.
3. Agitar la suspensión en agitador de acción recíproca regulado a 180 oscilaciones por minuto, por 5 min.
- 4- El extracto se filtra a través de papel Whatman No. 42 u otro de calidad similar. Debe recordarse que algunos papeles filtro pueden contener cantidades altas de P.
- 5- Tomar una alícuota de 2 a 40 ml del extracto, dependiendo de la concentración de P en solución (alícuotas de 5 a 10 ml son en general adecuadas para suelos bajos y medios en P) y colocarla en un matraz aforado de 50 ml.
- 6- Adicionar agua hasta completar aproximadamente 40 ml. Si es que se usa una alícuota inferior a este volumen.
- 7- Agregar 5 ml de la solución reductora, agitar y completar a volumen.
- 8- Esperar 30 minutos y leer la intensidad de la absorción de luz a 882 nm.
- 9- Preparar blancos siguiendo el mismo procedimiento que en las muestras.
- 10- Preparar una curva de calibración que contenga puntos correspondientes a 0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 y 5 mg L^{-1} de P. Para ello colocar en matraces aforados de 50 ml 0, 5, 10, 15, 20 y 25 ml de la solución de 10 mg L^{-1} de P y proseguir en la forma

descrita para las muestras.

11- Adicionar un volumen de solución extractante igual a la alícuota empleada para medir en las muestras conocidas.

12- Llevar a aproximadamente 40 ml con agua y adicionar 5 ml de la solución reductora, agitar y completar a volumen.

13- Esperar 30 minutos y leer la intensidad de la absorción de luz a 862 nm (nanómetros).

Cálculos

$$P \text{ (mg Kg}^{-1}\text{de suelo)} = CC \times V_f/A \times V_i/p$$

Dónde:

CC= mg L⁻¹ de P en la solución. Se obtiene graficando la curva de calibración (absorbancia contra mg L⁻¹) e interpolando en la misma los valores de absorbancia de las muestras analizadas a las cuales previamente se les ha restado el valor promedio de los blancos o por medio de una regresión simple.

V_f= volumen final de la solución colorimétrica, ml.

A= alícuota del extracto usado colorimetría, ml.

V_i= volumen de la solución empleada para hacer el extracto, ml.

p= peso de la muestra seca al aire.

Informe de la prueba

Los resultados del contenido de P disponible en el suelo se reportan en miligramos por kilogramo de suelo (mg Kg⁻¹). Se recomienda el uso de una cifra decimal. Adjunto al resultado debe hacerse referencia al método empleado.

Interpretación de resultados de Fósforo Bray y Kurtz 1

Los resultados de los análisis de suelos pueden ser interpretados de manera aproximada con el siguiente cuadro:

Evaluación	P (mg Kg ⁻¹)
<i>Bajo</i>	> 15

Medio	15 – 30
Alto	> 30

Es necesario considerar que para cada condición climática y cultivo existe un nivel diferente de aprovechamiento del P del suelo. Por lo que, si se conocen los criterios de interpretación para algún suelo y cultivo determinado, éstos se reportarán junto con el resultado del análisis.