

Agrociencia

eISSN: 2521-9766

VOLUMEN 57, NÚMERO 1 | 1 DE ENERO - 15 DE FEBRERO, 2023 | MÉXICO



AGRICULTURA
SECRETARÍA DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL

DIRECTORIO

EDITOR EN JEFE DE LA REVISTA AGROCIENCIA

Fernando Carlos Gómez Merino

CONSEJO EDITORIAL INTERNACIONAL

Roger Austin (Inglaterra)
José Sarukhán Kermez (México)
Barry C. Arnold (EUA)

COMITÉ ASESOR EDITORIAL INTERNO

Jorge Alvarado López
Jorge D. Etchevers Barra
Víctor A. González Hernández
Said Infante Gil
Leopoldo E. Mendoza Onofre
José A. Villaseñor Alva

RESPONSABLES DE LA EDICIÓN

Fernando Carlos Gómez Merino

FORMACIÓN, DISEÑO Y MAQUETACIÓN

L. Brenda Espejel Lagunas

TRADUCTORES

Inés Enriquez
Elena A. Preciado Gutiérrez
Joel Castillo González

COSECHADOR DE METADATOS

Moises Quintana Arévalo

PLATAFORMA

Ana Luisa Mejía Sandoval
L. Brenda Espejel Lagunas

APOYO SECRETARIAL

Yolanda Feroso Meraz

DERECHOS DE AUTOR Y DERECHOS CONEXOS, **Volumen 57, Número 1, 1 de enero - 15 de febrero, 2023**, Agrociencia es una publicación sesquimensual editada por el Colegio de Postgraduados. Carretera México-Texcoco, Km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México. CP 56264. Tel. 5959284427. www.colpos.mx. Editor responsable: **Dr. Fernando Carlos Gómez Merino**. Reservas de Derechos al Uso Exclusivo 04-2021-031913431800-203. eISSN: 2521-9766, otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Fecha de última modificación, **28 de febrero del 2023**.

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

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

~~~~~  
Oficinas Centrales:

#### DIRECTOR DE AGROCIENCIA

Guerrero #9, Esquina Avenida Hidalgo.  
56220. San Luis Huexotla. Texcoco, Estado de México

Teléfono: 595 92 84427

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

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

Portada: Nanacamilpa, Tlaxcala. Foresta Mexicana. 2014.

Fotografía: Miguel Ángel Alcalde e Iliana Huerta Guzmán.



AGRICULTURA

SECRETARÍA DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL

BIOTECHNOLOGY * BIOTECNOLOGÍA

EFFECT OF PROMOTING COMPOUNDS OF INDIRECT SOMATIC
EMBRYOGENESIS IN THREE *Agave* SPECIES

*

EFFECTO DE COMPUESTOS PROMOTORES DE LA EMBRIOGÉNESIS
SOMÁTICA INDIRECTA EN TRES ESPECIES DEL GÉNERO *Agave*

1

Monserrat **Hernández-Solis**, Amaury Martin **Arzate-Fernández**,
Sandra Yarensy **Martínez-Martínez**, Laura **Acosta-Villagrán**

CROP SCIENCE * FITOCIENCIA

POST-HARVEST CHARACTERISTICS OF MANGO FRUITS (*Mangifera* sp.)
FROM SOCONUSCO, CHIAPAS

*

CARACTERÍSTICAS POSTCOSECHA DE FRUTOS DE MANGO
(*Mangifera* sp.) PROCEDENTES DEL SOCONUSCO, CHIAPAS

22

Berenice Karina **Flores-Hernández**, Ma. de Lourdes **Arévalo-Galarza**,
Rubén **San Miguel-Chavez**, Saúl **Espinosa-Zaragoza**, Noé Delfino **Pérez-Díaz**,
Víctor Heber **Aguilar-Rincón**

FOOD SCIENCE * CIENCIA DE LOS ALIMENTOS

REDUCTION OF CYANIDE CONTENT IN BAMBOO SHOOTS BY
OPTIMIZING TEMPERATURE, HEATING TIME,
AND SODIUM CHLORIDE CONCENTRATION

*

REDUCCIÓN DEL CONTENIDO DE CIANURO EN LOS BROTES DE
BAMBÚ MEDIANTE LA OPTIMIZACIÓN DE LA TEMPERATURA,
EL TIEMPO DE CALENTAMIENTO Y LA CONCENTRACIÓN
DE CLORURO SÓDICO

56

Norma Abril **Borja-Zamora**, Mauricio **Mora-Tello**,
Gabriel Abraham **Cardoso-Ugarte**

PROXIMAL, THERMAL, AND STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF
STARCH EXTRACTED FROM TWO VARIETIES OF WHITE SORGHUM
CULTIVATED IN MEXICO

*
CARACTERIZACIÓN PROXIMAL, TÉRMICA Y ESTRUCTURAL DE
ALMIDÓN EXTRAÍDO DE DOS VARIEDADES DE SORGO
BLANCO CULTIVADO EN MÉXICO

75

Jared Reyes-Gallardo, Guadalupe Rodríguez-Castillejos,
Ricardo Navarro-Cortez, Adriana Perales-Torres,
San Juana Alemán-Castillo, Octelina Castillo-Ruíz

NATURAL RENEWABLE RESOURCES * RECURSOS NATURALES RENOVABLES

PROBABILITY OF MORTALITY IN CASUARINA TWO YEARS AFTER THE
FIRE AT THE PIEDMONT OF THE TLALOC VOLCANO,
STATE OF MEXICO, 2017

*
PROBABILIDAD DE MORTALIDAD EN CASUARINA DOS AÑOS
DESPUÉS DEL INCENDIO AL PIE DEL TLÁLOC, ESTADO DE MÉXICO, 2017

102

María Magdalena Hernández-Rosas,
Ana Laura Hernández-Leyva, Dante Arturo Rodríguez-Trejo

PLANT PROTECTION * PROTECCIÓN VEGETAL

PREBIOTIC, *Bacillus subtilis* AND POTASSIUM PHOSPHITE ON
ANTHRACNOSIS SEVERITY AND POST HARVEST QUALITY IN
'MÉNDEZ' AVOCADO

*
PREBIÓTICO, *Bacillus subtilis* Y FOSFITO DE POTASIO EN LA
SEVERIDAD DE ANTRACNOSIS Y CALIDAD POSCOSECHA
EN AGUACATE 'MÉNDEZ'

132

Elizeth Vizcaíno-Ríos, Alfredo López-Jiménez*, Daniel Téliz-Ortiz,
Crescenciano Saucedo-Veloz

DESCRIPTIVE STUDY OF THE CAPACITY OF SIX HILLSIDE SOIL
MANAGEMENT SYSTEMS IN THE CONTROL OF SURFACE RUNOFF

*

ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA CAPACIDAD DE SEIS SISTEMAS DE
MANEJO DE SUELOS DE LADERA EN EL CONTROL
DEL ESCURRIMIENTO SUPERFICIAL

150

Rigoberto **Zetina-Lezama**, Sergio **Uribe-Gómez**, Ángel **Capetillo-Burela**,
Néstor **Francisco-Nicolás**, Carmen Aridaí **Hernández-Estrada**,
Marco Antonio **Reynolds-Chávez**

ARTIFICIAL NEURAL NETWORK MODELS FOR PREDICTION OF
STANDARDIZED PRECIPITATION INDEX IN CENTRAL MEXICO

*

MODELOS DE REDES NEURONALES ARTIFICIALES PARA
PRONOSTICAR EL ÍNDICE ESTANDARIZADO DE
PRECIPITACIÓN EN EL CENTRO DE MÉXICO

177

Rafael **Magallanes-Quintanar**, Carlos Eric **Galván-Tejada**, Jorge Issac **Galván-
Tejada**, Santiago de Jesús **Méndez-Gallegos**, Fidel **Blanco-Macías**,
Ricardo David **Valdez-Cepeda**

EFFECT OF PROMOTING COMPOUNDS OF INDIRECT SOMATIC EMBRYOGENESIS IN THREE *Agave* SPECIES

Monserrat **Hernández-Solis**, Amaury Martin **Arzate-Fernández***,
Sandra Yarensy **Martínez-Martínez**, Laura **Acosta-Villagrán**

Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Ciencias Agrícolas. Carretera Toluca-Ixtlahuaca km 11.5, Toluca, Estado de México, México. C. P. 50295.

* Author for correspondence: amaury1963@yahoo.com.mx

ABSTRACT

The *Agave* genus is one of the largest and most widely used in Mexico, mainly for the production of alcoholic beverages. The species in this genus are characterized by their long-life cycles and limited sexual reproduction, which endangers them and demands the search for an alternative that allows mass multiplication and preservation of these species. Somatic embryogenesis (ES) is emerging as a solution to solve this problem, although it is a complex process that depends on a large number of factors and the development of species-specific protocols. Osmotic stress is one of these factors, a condition that can promote the formation and maturation of somatic embryos through the application of compounds such as polyethylene glycol (PEG) or abscisic acid (ABA). So far, no studies have been reported on the effect of osmotic stress on somatic embryogenesis in *Agave* species. In this work we evaluated its effect on the expression and maturation of somatic embryos in *Agave angustifolia*, *A. cupreata* and *A. salmiana*. Its formation was determined using two concentrations of ABA (3 and 9 mg L⁻¹) and two concentrations of PEG (50 and 70 g L⁻¹) in callus obtained from embryonic zygotic axes. Treatments with 9 mg L⁻¹ ABA and 50 g L⁻¹ PEG favored the formation of somatic embryos in the three species evaluated, in addition to the treatment with 70 g L⁻¹ PEG, with which *A. angustifolia* was obtained. Somatic embryo formation was asynchronous, especially for *A. cupreata*. Seedling regeneration from somatic embryos was achieved in *A. angustifolia*, *A. cupreata* and *A. salmiana*.

Keywords: Maguey, osmotic stress, ABA, PEG, ripening.

INTRODUCTION

The *Agave* genus is one of the most widely used in Mexico, mainly for the production of alcoholic beverages, a sector that has grown significantly in recent years, drastically increasing demand for agaves. This has endangered several species due to their long-life cycles (7–15 years); in addition, their sexual reproduction is limited by the same production of alcoholic beverages, making asexual reproduction the main way of propagation (Esparza-Ibarra *et al.*, 2015; Garcia-Mendoza, 2002). Such is the case for mezcal species such as *A. angustifolia*, most widely used for mezcal production; *A. cupreata*, which cannot reproduce asexually (Avendaño-Arrazate *et al.*, 2015); and *A. salmiana*, a species from which pulque is obtained and has been recently used to obtain

Citation: Hernández-Solis M, Arzate-Fernández AM, Martínez-Martínez SY, Acosta-Villagrán L. 2023. Effect of promoting compounds of indirect somatic embryogenesis in three *Agave* species.

Agrociencia 57(1): 1-21.
<https://doi.org/10.47163/agrociencia.v57i1.2858>

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: August 28, 2022.
Approved: December 21, 2022.
Published in *Agrociencia*:
February 22, 2023.

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



saponins with medicinal potential (Leal-Diaz *et al.*, 2016). Therefore, it is strongly advisable to develop propagation protocols that allow for efficient large-scale plant production using biotechnological techniques such as somatic embryogenesis (ES) (Monja-Mio and Robert, 2013).

Indirect somatic embryogenesis is the process by which somatic cells acquire the capability to develop a complete somatic embryo. This occurs through prior disorganization and dedifferentiation triggered by a wide variety of typically stressful stimuli, such as growing conditions, nutrient levels, or the application of plant growth regulators (RCV) (Fehér, 2015; Loyola-Vargas, and Ochoa-Alejo, 2016). This generally consists of two phases: callus induction to disorganize and dedifferentiate cells, and the expression or maturation of somatic embryos, the latter being one of the most problematic since important morphological changes occur for the correct development of somatic embryos, which are generally at different developmental stages (Márquez-Martín *et al.*, 2011; Vale *et al.*, 2014).

Osmotic stress has been proposed as an important factor during somatic embryo maturation and has the potential to trigger rapid biochemical changes in the activity of specific proteins and genes during maturation (Leal *et al.*, 1995; Kong *et al.*, 1998). This restriction in water absorption, low turgor pressure, and reduction in intracellular osmotic potential have the ability to stimulate the maturation of somatic embryos by promoting the accumulation of essential lipids and proteins, simulating the natural desiccation that occurs during seed formation (Merkle *et al.*, 1995; Svobodová *et al.*, 1999); in addition, it favors the development of apical and radical meristems (Valencia-Lozano *et al.*, 2021).

In this regard, compounds such as polyethylene glycol (PEG) and abscisic acid (ABA) have been reported in other ES protocols (Acanda *et al.*, 2020; Cruz *et al.*, 2022). PEG is a large molecule that is unable to penetrate the cell wall, causing a decrease in the osmotic potential (Klimaszewska *et al.*, 2000); whereas ABA is a molecule related to abiotic stress in general, with emphasis on its role in water stress tolerance and osmotic in face of stress synthesis (Parwes *et al.*, 2022). The latter has been linked mainly to the ABI-3 gene and the embryogenic cell protein (ECP) genes, both of which belong to the late embryogenesis abundant (LEA) gene family, essential for the process of somatic embryogenesis (Kikuchi *et al.*, 2006).

So far, there are no reports of the evaluation of the effect of osmotic stress on ES in the genus *Agave*, so the purpose of the present work was to evaluate the effect of PEG and ABA on the expression and maturation of somatic embryos in *Agave angustifolia*, *A. cupreata*, and *A. salmiana*.

MATERIALS AND METHODS

Plant material

For disinfection and *in vitro* establishment, the method proposed by Martínez-Martínez *et al.* (2021) was followed. Mature seeds of *Agave angustifolia*, *A. cupreata*, and *A. salmiana* were washed in tap water with 2 mL of liquid detergent and two

drops of Tween® 20 for 15 min. Subsequently, inside a laminar flow hood, seeds were immersed in 70 % ethanol for 1 min, then in 1 % sodium hypochlorite solution for 15 min, rinsed three times with sterile distilled water, and then immersed in 16 $\mu\text{L L}^{-1}$ gentamicin for stratification for 48 h at 4 °C.

Embryogenic callus induction

Ten embryonic zygotic axes were placed in ten 100 x 15 mm plastic Petri dishes with 20 mL of culture medium per box. The culture medium for callus induction (MCICE) proposed by Alvarez-Aragón *et al.* (2020) was used, which was composed of MS salts (Murashige and Skoog, 1962) at 25 % concentration. It was supplemented with L2 vitamins (Phillips and Collins, 1979), 60 g L⁻¹ sucrose, 5 mg L⁻¹ 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D, Sigma-Aldrich Chemical Company, MO, USA), 3 mg L⁻¹ 6-benzylaminopurine (BA, Sigma-Aldrich Chemical Company, MO, USA) and 8 g L⁻¹ agar (Sigma-Aldrich Chemical Company, MO, USA).

Cultures were incubated in complete darkness for 60 d at a temperature of 25 ± 2 °C. The percentage of embryogenesis was obtained as follows: [Number of responsive explants] * [100] / 10 = % embryogenic callus.

Somatic embryo maturation

Approximately 0.1 g of embryogenic callus was placed in culture medium for embryo expression and maturation (MCEMES) as proposed by Alvarez-Aragón *et al.* (2020), composed of MS salts at 50 % of their original concentration, 30 g L⁻¹ sucrose, and 8 g L⁻¹ agar. Two concentrations of ABA (3 and 9 mg L⁻¹) and two of PEG 6000 (50 and 70 g L⁻¹) were evaluated, in addition to the control treatment supplemented with 0.1 mg L⁻¹ of 2,4-D.

The number of somatic embryos was determined at 30 d. The cultures were incubated at a temperature of 25 ± 2 °C in complete darkness during 60 d for *A. angustifolia* and *A. salmiana*, and 45 d for *A. cupreata*.

Somatic embryo germination and seedling growth

The obtained somatic embryos in the scutellar phase were transferred to germination culture medium (MCG) composed of MS salts at 50% of their original concentration, 30 g L⁻¹ sucrose and 0.5 g L⁻¹ activated charcoal (Sigma-Aldrich Chemical Company, MO, USA), free of RCV.

The cultures were incubated for 60 d at a temperature of 25 ± 2 °C and a 16 h photoperiod. The germination percentage was obtained as follows: [Number of germinated embryos] * [100] / total embryos in MCG = % germination.

Seedling acclimatization

Seedlings regenerated by ES, regardless of maturation treatment, were rinsed with tap water to remove all residue from the culture medium and transferred to trays with 2.2 x 3.6 cm phenolic foam cylinders (peatFOAM®) and placed in a floating root

system (Martínez-Martínez *et al.*, 2021). They were kept for 30 d in a polyethylene micro tunnel with a minimum of 70 % humidity at 27 ± 5 °C. The survival percentage was evaluated, which was obtained as follows: $[\text{Number of surviving plants}] * [100] / \text{total seedlings} = \% \text{ survival}$.

Statistical analysis

In the present study, the percentage of embryogenic callus, the average number of somatic embryos for each treatment, and the percentage of germination were evaluated. A completely randomized design was used, with three replicates per species. The data obtained were subjected to an analysis of variance using Stathgraphics software version 5.0. Where significant differences were found, a mean comparison test (DMS method) was performed with a significance level of 95 %.

RESULTS AND DISCUSSION

Induction of embryogenic callus

Explant dedifferentiation began after the first 12 d of culture initiation (ddic) in MCICE (Figure 1A) with no distinction in the area of the embryonic zygotic axes or their orientation in the culture medium. It differed from previous reports (Hartweck *et al.*, 1988; Kysely and Jacobsen, 1990), in which disorganization and dedifferentiation occurred only at one explant site. Non-embryogenic callus with a compact, whitish and smooth appearance (Figure 1B) and embryogenic callus characterized by being friable with a beige coloration (Figure 1C) were obtained at 60 ddic, similar to what has been previously reported in indirect ES of *Agave* species (Portillo *et al.*, 2012; Martínez-Martínez *et al.*, 2021).

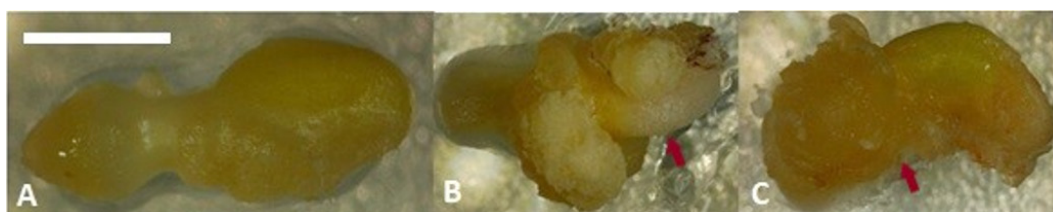


Figure 1. Callus formation in *Agave angustifolia*. A: explant with disorganization 12 days after initiation of culture; B: non-embryogenic callus (arrow); C: embryogenic callus (arrow). Bar: 5 mm.

The presence of both embryogenic and non-embryogenic tissue in the same culture is frequently reported in other models (Fehér *et al.*, 2003). It is known that non-embryogenic cells can secrete molecules into the culture medium (Hecht *et al.*, 2001), which, when sensed by other competent cells, promote the formation of somatic embryos (Pennell *et al.*, 1992; Santa-Catarina *et al.*, 2004). In this sense, the presence of non-embryogenic callus in the cultures may be necessary to obtain somatic embryos

of the three *Agave* species, where the expression of somatic embryos was observed in a section of the callus while presenting a morphology considered non-embryogenic in others (Figure 2).

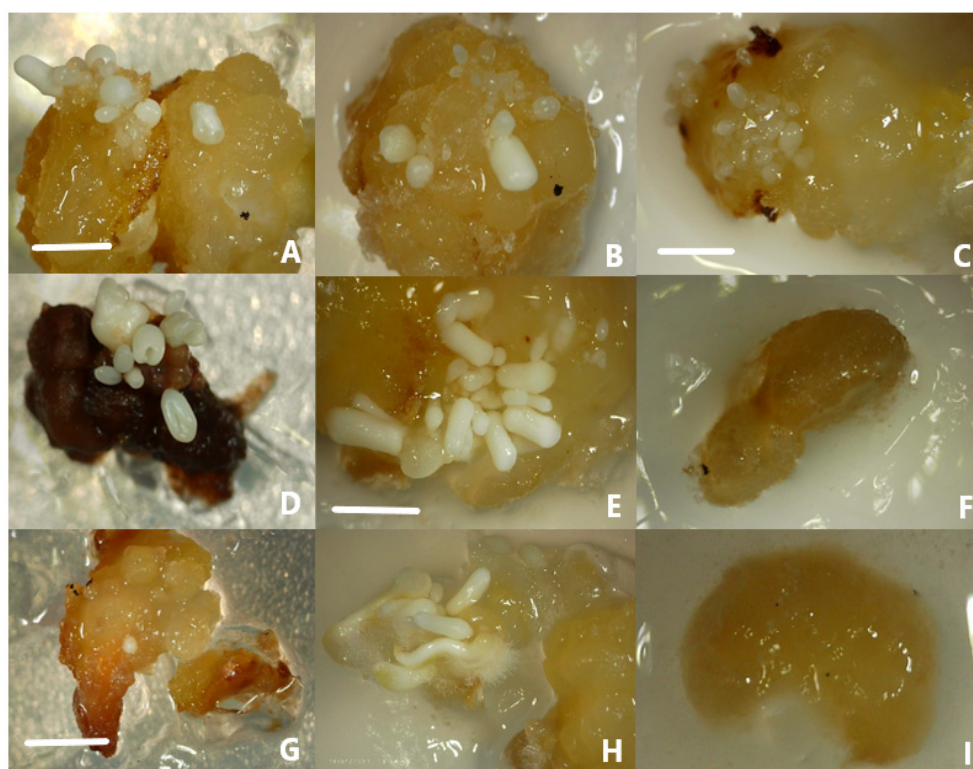


Figure 2. Expression and maturation of somatic embryos in *Agave angustifolia* (A, B, C), *A. salmiana* (D, E, F), and *A. cupreata* (G, H, I) after 30 d in MCEMES. From left to right: (A, D, G) treatment with 9 mg L⁻¹ ABA; (B, E, H) 50 g L⁻¹ PEG; (C, F, I) 70 g L⁻¹ PEG. Bar: 5 mm.

Evaluation of osmotic stress on somatic embryo expression and maturation

The first somatic embryos were observed from day 18 (78 ddc) in the control for *A. cupreata*, in the treatment with 9 mg L⁻¹ ABA for *A. salmiana*, as well as the 50 g L⁻¹ PEG treatment for *A. angustifolia* and *A. salmiana*. Somatic embryo formation was observed in all three species at 90 ddc in treatments with 9 mg L⁻¹ ABA (Figure 2A, 2D, 2G) and 50 g L⁻¹ PEG (Figure 2B, 2E, 2H). In addition, somatic embryo formation was observed in *A. angustifolia* treated with 70 g L⁻¹ PEG (Figure 2C). These findings support previous reports for other species such as *Picea abies* L. (Svobodová *et al.*, 1999), *Daucus carota* (Kikuchi *et al.*, 2006), *Cicer arietinum* L. (Mishra *et al.*, 2012), *Cunninghamia lanceolata* (Zhou *et al.*, 2017), *Passiflora edulis* (Cruz *et al.*, 2022), and *Ocotea catharinensis* Mez. (Santa-Catarina *et al.*, 2004), where osmotic stress positively affected somatic embryo formation and maturation.

Statistical analysis revealed no significant differences between *A. angustifolia* and *A. salmiana*, as well as between the best treatments (50 g L⁻¹ of PEG and 9 mg L⁻¹ of ABA) for obtaining somatic embryos (Table 1). The number of somatic embryos obtained varied: within the same treatment, while in some explants an average of three was observed, others exceeded ten (Table 1). This is possibly due to the fact that the primary explants were embryonic zygotic axes obtained from open-pollinated seed, resulting in each callus having unique genetic characteristics that influenced the response to osmotic stress treatments (Merkle *et al.*, 1995; Namasivayam, 2007). In addition, genotype-specific differences could have played a role, given the variances among the three species in terms both the number of embryos and the percentage of embryogenesis. These differences are common among different species, even if they are of the same genus (Loyola-Vargas and Ochoa-Alejo, 2016).

Table 1. Expression and maturation of somatic embryos in osmotic stress treatments with ABA and PEG in *Agave angustifolia*, *A. salmiana* and *A. cupreata* at 90 days after initiation of culture.

Treatment	Species	Percentage of embryogenic callus	Number of embryos
Control	<i>A. angustifolia</i>	0.0 ± 14.64ab	0.0 ± 3.62 b
	<i>A. salmiana</i>	0.0 ± 14.64ab	0.0 ± 3.62 b
	<i>A. cupreata</i>	83.3 ± 14.64ab	11.2 ± 3.62b
ABA 3 mg L ⁻¹	<i>A. angustifolia</i>	0.0 ± 14.64c	0.0 ± 3.62b
	<i>A. salmiana</i>	0.0 ± 14.64c	0.0 ± 3.62b
	<i>A. cupreata</i>	0.0 ± 14.64c	0.0 ± 3.62b
ABA 9 mg L ⁻¹	<i>A. angustifolia</i>	33.3 ± 14.64a	5.0 ± 3.62a
	<i>A. salmiana</i>	33.3 ± 14.64a	15.4 ± 3.62a
	<i>A. cupreata</i>	33.3 ± 14.64a	4.8 ± 3.62a
PEG 50 g L ⁻¹	<i>A. angustifolia</i>	66.6 ± 14.64a	8.3 ± 3.62a
	<i>A. salmiana</i>	16.6 ± 14.64a	14.0 ± 3.62a
	<i>A. cupreata</i>	50.0 ± 14.64a	3.0 ± 3.62a
PEG 70 g L ⁻¹	<i>A. angustifolia</i>	33.3 ± 14.64bc	11.0 ± 3.62b
	<i>A. salmiana</i>	0.0 ± 14.64bc	0.0 ± 3.62b
	<i>A. cupreata</i>	0.0 ± 14.64bc	0.0 ± 3.62b

[†]Mean values per column with different letter are statistically different ($p \leq 0.05$).

In the three *Agave* species, ABA at a concentration of 9 mg L⁻¹ favored somatic embryo development, assisting in genetic reprogramming by acting as the main messenger molecule in the face of abiotic stress (Karami and Saidi, 2010; Parwes *et al.*, 2022). This has been reported in relation to several genes essential for ES such as embryogenic cell protein (ECP) genes or the ABI-3 gene in several species (Karami and Saidi, 2010; Kikuchi *et al.*, 2006). It also interacts with other RCVs such as polyamines, which are crucial molecules for stress modulation that regulate ABA synthesis when applied

exogenously and which, in turn, are regulated by ABA produced by the same osmotic stress (Parwes *et al.*, 2022).

PEG at 50 g L⁻¹ favored the development of somatic embryos in all species (Figure 2B, 2E, 2H); however, at 70 g L⁻¹, its formation was only observed in *A. angustifolia* (Figure 2C). This is owed to the fact that their large molecules cause a restriction in water absorption; osmotic changes favor physiological changes in somatic embryos that help them acquire polarity with the development of meristems (Valencia-Lozano *et al.*, 2021). PEG-treated cultures have been reported to increase meristematic activity, endogenous ABA content, and polyamines, as well as proteins related to glycolytic and light-responsive processes required for embryo development (Cruz *et al.*, 2022), as well as the regulation in the gene expression related to differentiation and development (Vale *et al.*, 2014). Both molecules, ABA and PEG, promote the accumulation of essential lipids and proteins in the maturation process of somatic embryos, being comparable to that of embryonic zygotic axes (Elhiti and Stasolla 2022; Merkle *et al.*, 1995; Svobodová *et al.*, 1999).

The presence of both scutellar and globular phase somatic embryos was observed in all treatments, indicating a lag in the development of somatic embryos (Figure 3A). This is a common phenomenon in ES protocols which originates from embryogenic callus cells at different stages (Zegzouti *et al.*, 2001; Souza *et al.*, 2011). This variability in stages can be synchronized, mainly by filtering and separating embryogenic cells by type and size (Liu *et al.*, 2021; Othmani *et al.*, 2009; Souza *et al.*, 2011), keeping cells at a similar stage while physically isolating embryogenic cells, a necessary condition for the conversion of these to somatic embryos (Lowe *et al.*, 1985).

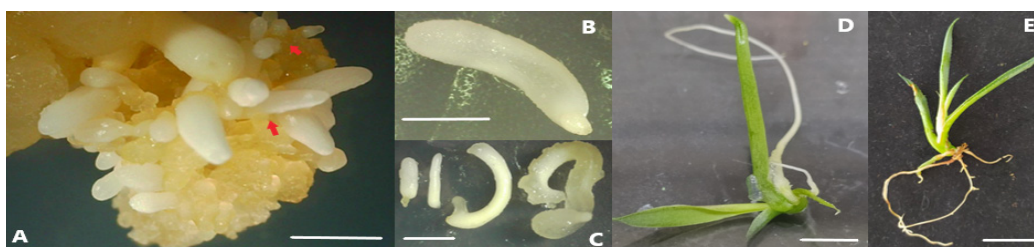


Figure 3. Indirect somatic embryogenesis in *Agave* spp. A: expression of somatic embryos at different stages (arrows) in callus under osmotic stress treatment at 30 d in MCEMES, bar: 5 mm; B: somatic embryo in scutellar phase, bar: 2 mm; C: somatic embryos obtained from osmotic stress treatments, normal scutellar somatic embryos (first two on the left) and elongated and deformed somatic embryos (last two on the right), bar: 5 mm; D: seedling after 60 d in MCG, bar: 10 mm; E: plant after 30 d in *ex vitro* acclimatization, bar: 3 cm.

Somatic embryo germination and seedling growth

After 60 d (*A. angustifolia* and *A. salmiana*) and 45 d (*A. cupreata*) in MCEMES, somatic embryos in the scutellar phase (Figure 3B) were transferred to MCG for germination. Even when *A. cupreata* somatic embryos remained a shorter period of time in MCEMES, there were somatic embryos that developed faster and started to elongate and deform (Figure 3C), so they were not used in the germination phase.

A hundred percent (100 %) of the somatic embryos in MCG medium germinated and developed completely, with no morphological anomalies were observed, and the seedlings displaying green leaves and white roots. After 60 d at MCG, the seedlings showed two to four leaves measuring 4 to 6 cm in length and a developed root system (Figure 3D). The high percentage of somatic embryo germination in *Agave* spp. is similar to what has been reported previously (Alvarez-Aragón *et al.*, 2020; Monja-Mio and Robert, 2013).

Seedling acclimatization

The survival rate of seedlings obtained by ES after 30 d of *ex vitro* acclimatization was 95 % (Figure 3E). This value is similar to previous results for the *Agave* genus, since these species do not face significant adaptation challenges (Portillo *et al.*, 2007; Naziri *et al.*, 2018). The plants obtained showed more intense leaf coloration, three to four leaves between 7 and 10 cm in length, in addition to a vigorous root system.

CONCLUSIONS

This is the first report of osmotic stress-induced somatic embryogenesis in *Agave angustifolia*, *A. salmiana* and *A. cupreata*. Osmotic stress induced by ABA and PEG favored the maturation of somatic embryos capable of regenerating seedlings in the three *Agave* species. Further research is needed to achieve better synchronization of somatic embryo developmental stages.

REFERENCES

- Acanda Y, Martínez Ó, Prado MJ, González MV, Rey M. 2020. Changes in abscisic acid metabolism in relation to the maturation of grapevine (*Vitis vinifera* L., cv. Mencía) somatic embryos. *BMC Plant Biology* 20 (1): 1–17. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02701-z>
- Alvarez-Aragón C, Arzate-Fernández AM, Martínez-Martínez SY, Martínez-Velasco I. 2020. Regeneración de plantas de *Agave marmorata* Roez, vía embriogénesis somática. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 23 (36): 1–16.
- Avendaño-Arrazate CH, Iracheta-Donjuan L, Gódinez-Aguilar JC, López-Gómez P, Barrios-Ayala A. 2015. Morphological characterization of endemic *Agave cupreata* species of Mexico. *Phyton* 84 (1): 148–162. <https://doi.org/10.32604/phyton.2015.84.148>
- Cruz KZCM, Almeida FA, Vale EM, Botini N, Vettorazzi RG, Santos RC, Santa-Catarina C, Silveira V. 2022. PEG induces maturation of somatic embryos of *Passiflora edulis* Sims 'UENF Rio Dourado' by differential accumulation of proteins and modulation of endogenous contents of free polyamines. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 150 (3): 527–541. <https://doi.org/10.1007/s11240-022-02301-9>
- Elhiti M, Stasolla C. 2022. Transduction of Signals during Somatic Embryogenesis. *Plants* 11 (2): 178. <https://doi.org/10.3390/plants11020178>
- Esparza-Ibarra EL, Violante-González J, Monks S, Cadena-Iñiguez J, Araujo-Andrade C, Rössel-Kipping ED. 2015. Los agaves mezcaleros del altiplano Potosino y Zacatecano. *In: Pulido-Flores G, Monks S, López-Herrera M. (eds.), Estudios en biodiversidad, Vol I. Zea books: Lincoln, NE, USA, pp: 227–245.*
- Fehér A. 2015. Somatic embryogenesis — Stress-induced remodeling of plant cell fate. *Biochimica et Biophysica Acta* 1849 (4): 385–402. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2014.07.005>
- Fehér A, Pasternak TP, Dudits D. 2003. Transition of somatic plant cells to an embryogenic state. *Plant Cell, Tissue Organ Culture* 74: 201–228. <https://doi.org/10.1023/A:1024033216561>
- García-Mendoza AJ. 2002. Distribution of *Agave* (Agavaceae) in Mexico. *Cactus and Succulent Journal* 74 (4): 177–187.

- Hartweck LM, Lazzert PA, Cui D, Collins GB, Williams EG. 1988. Auxin-orientation effects on somatic embryogenesis from immature soybean cotyledons. *In Vitro Cellular and Developmental Biology* 24 (8): 821–828.
- Hecht V, Vielle-Calzada JP, Hartog MV, Schmidt ED, Boutilier K, Grossniklaus U, de Vries SC. 2001. The *Arabidopsis* somatic embryogenesis receptor kinase 1 gene is expressed in developing ovules and embryos and enhances embryogenic competence in culture. *Plant Physiology* 127 (3): 803–816.
- Karami O, Saidi A. 2010. The molecular basis for stress-induced acquisition of somatic embryogenesis. *Molecular Biology Reports* 37 (5): 2493–2507. <https://doi.org/10.1007/s11033-009-9764-3>
- Kikuchi A, Sanuki N, Higashi K, Koshiba T, Kamada H. 2006. Abscisic acid and stress treatment are essential for the acquisition of embryogenic competence by carrot somatic cells. *Planta* 223 (4): 637–645. <https://doi.org/10.1007/s00425-005-0114-y>
- Klimaszewska K, bernier-Cardou M, Cyr DR, Sutton BCS. 2000. Influence of gelling agents on culture medium gel strength, water availability, tissue water potential, and maturation response in embryogenic cultures of *Pinus strobus* L. *In Vitro Cellular and Developmental Biology* 36: 279–286. <https://doi.org/10.1007/s11627-000-0051-1>
- Kong L, Attree SM, Fowke LC. 1998. Effects of polyethylene glycol and methylglyoxal bis (guanyldiazide) on endogenous polyamine levels and somatic embryo maturation in white spruce (*Picea glauca*). *Plant Science* 133 (2): 211–220. [https://doi.org/10.1016/s0168-9452\(98\)00040-5](https://doi.org/10.1016/s0168-9452(98)00040-5)
- Kysely W, Jacobsen HJ. 1990. Somatic embryogenesis from pea embryos and shoot apices. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 20: 7–14. <https://doi.org/10.1007/BF00034751>
- Leal-Diaz A, Noriega LG, Torre-Villalvazo I, Torres N, Alemán-Escondrillas G, López-Romero P, Sánchez-Tapia M, Aguilar-López M, Furuzawa-Carballeda J, Velázquez-Villegaz LA, Avila-Nava A, Ordáz G, Gutiérrez-Urbe JA, Serna-Saldivar SO, Tovar AR. 2016. Aguamiel concentrate from *Agave salmiana* and its extracted saponins attenuated obesity and hepatic steatosis and increased *Akkermansia muciniphila* in C57BL6 mice. *Scientific Reports* 6 (1): 34242. <https://doi.org/10.1038/srep34242>
- Leal I, Misra S, Attree SM, Fowke LC. 1995. Effect of abscisic acid, osmoticum and desiccation on 11 S storage protein gene expression in somatic embryos of white spruce. *Plant Science* 106 (2): 121–128. [https://doi.org/10.1016/0168-9452\(95\)04081-5](https://doi.org/10.1016/0168-9452(95)04081-5)
- Liu Y, Wei C, Wang H, Ma X, Shen H, Yang L. 2021. Indirect somatic embryogenesis and regeneration of *Fraxinus mandshurica* plants via callus tissue. *Journal of Forestry Research* 32: 1613–1625. <https://doi.org/10.1007/s11676-020-01199-3>
- Lowe K, Taylor DB, Ryan P, Paterson KE. 1985. Plan regeneration via organogenesis and embryogenesis in the maize inbred line B73. *Plant Science* 41 (2): 125–132.
- Loyola-Vargas VM, Ochoa-Alejo N. 2016. Somatic embryogenesis: fundamental aspects and applications. Springer: Cham, Switzerland, 506 p. https://doi.org/10.1007/978-3-319-33705-0_5_53
- Márquez-Martín B, Sesmero R, Quesada MA, Pliego-Alfaro F, Sánchez-Romero C. 2011. Water relations in culture media influence maturation of avocado somatic embryos. *Journal of Plant Physiology* 168 (17): 2028–2034. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2011.06.008>
- Martínez-Martínez SY, Arzate-Fernández AM, Alvarez-Aragón C, Martínez-Velasco I, Norman-Mondragón T. 2021. Regeneration of *Agave marmorata* Roelz plants in temporary immersion systems, via organogenesis and somatic embryogenesis. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 24 (3): 1–13 <http://dx.doi.org/10.56369/tsaes.3472>
- Merkle SA, Parrott WA, Flinn BS. 1995. Morphogenic aspects of somatic embryogenesis. In: Thorpe TA. (ed.), *In Vitro Embryogenesis in Plants*. Springer: Dordrecht, Netherlands, pp. 155–203. https://doi.org/10.1007/978-94-011-0485-2_5
- Mishra S, Sanyal I, Amla DV. 2012. Changes in protein pattern during different developmental stages of somatic embryos in chickpea. *Biologia Plantarum* 56 (4): 613–619. <https://doi.org/10.1007/s10535-012-0124-0>
- Monja-Mio KM, Robert ML. 2013. Direct somatic embryogenesis of *Agave fourcroydes* Lem. through thin cell layer culture. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant* 49 (5): 541–549. <https://doi.org/10.1007/s11627-013-9535-7>

- Murashige T, Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15 (3): 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Namasivayam P. 2007. Acquisition of embryogenic competence during somatic embryogenesis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 90 (1): 1–8. <https://doi.org/10.1007/s11240-007-9249-9>
- Naziri M, Sadat S, Howyzeh MS. 2018. The effect of different hormone combinations on direct and indirect somatic embryogenesis in *Agave americana*. *Iranian Journal of Plant Physiology* 9 (2): 2739–2747.
- Othmani A, Bayouhd C, Drira N, Marrakchi M, Trifi M. 2009. Somatic embryogenesis and plant regeneration in date palm *Phoenix dactylifera* L., cv. Boufeggous is significantly improved by fine chopping and partial desiccation of embryogenic callus. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 97 (1): 71–79. <https://doi.org/10.1007/s11240-009-9500-7>
- Parwes R, Aftab T, Singh S, Gill S, Naeem M. 2022. Abscisic acid signaling and crosstalk with phytohormones in regulation of environmental stress responses. *Environmental and Experimental Botany* 199: 104885. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2022.104885>
- Pennell RI, Janniche L, Scofield NG, Booij H, de Vries SC, Roberts K. 1992. Identification of a transitional cell state in the developmental pathway to carrot somatic embryogenesis. *Journal of Cell Biology* 119 (5): 1371–1380. <https://doi.org/10.1083/jcb.119.5.1371>
- Phillips GC, Collins GB. 1979. *In vitro* tissue culture of selected legumes and plant regeneration from callus cultures of red clover. *Crop Science* 19 (1): 59–64. <https://doi.org/10.2135/cropsci1979.0011183X001900010014x>
- Portillo L, Olmedilla A, Santacruz-Ruvalcaba F. 2012. Cellular and molecular changes associated with somatic embryogenesis induction in *Agave tequilana*. *Protoplasma* 249 (4): 1101–1107. <https://doi.org/10.1007/s00709-011-0354-6>
- Portillo L, Santacruz-Ruvalcaba F, Gutiérrez-Mora A, Rodríguez-Garay B. 2007. Somatic embryogenesis in *Agave tequilana* Weber cultivar azul. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant* 43 (6): 569–575. <https://doi.org/10.1007/s11627-007-9046-5>
- Santa-Catarina C, Olmedo SA, Meyer GA, Macedo J, de Amorim W, Viana AM. 2004. Repetitive somatic embryogenesis of *Ocotea catharinensis* Mez. (Lauraceae): effect of somatic embryo developmental stage and dehydration. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 78: 55–62. <https://doi.org/10.1023/B:TICU.0000020395.40974.8a>
- Souza JMM, Tomaz ML, Arrud SCC, Demétrio CGB, Venables WN. 2011. Callus sieving is effective in improving synchronization and frequency of somatic embryogenesis in *Citrus sinensis*. *Biologia Plantarum* 55: 703–707. <https://doi.org/10.1007/s10535-011-0171-y>
- Svobodová H, Albrechtová J, Kumstýřová L, Lipavská H, Vágner M, Vondráková Z. 1999. Somatic embryogenesis in Norway spruce: Anatomical study of embryo development and influence of polyethylene glycol on maturation process. *Plant Physiology and Biochemistry* 37 (3): 209–221. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(99\)80036-9](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(99)80036-9)
- Vale EM, Heringer AS, Barroso T, Ferreira ATS, da Costa MN, Perales JEA, Santa-Catarina C, Silveira V. 2014. Comparative proteomic analysis of somatic embryo maturation in *Carica papaya* L. *Proteome Science* 12 (1): 37. <https://doi.org/10.1186/1477-5956-12-37>
- Valencia-Lozano E, Ibarra JE, Herrera-Ubaldo H, De Folter S, Cabrera-Ponce JL. 2021. Osmotic stress-induced somatic embryo maturation of coffee *Coffea arabica* L., shoot and root apical meristems development and robustness. *Scientific Reports* 11 (1): 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88834-z>
- Zegzouti R, Arnould MF, Favre JM. 2001. Histological investigation of the multiplication step in secondary somatic embryogenesis of *Quercus robur* L. *Annals of Forest Science* 58: 681–690. <https://doi.org/10.1051/forest:2001155>
- Zhou X, Zheng R, Liu G, Zhou Y, Laux T, Zhen Y, Harding SA, Shi J, Chen J. 2017. Desiccation treatment and endogenous IAA levels are key factors influencing high frequency somatic embryogenesis in *Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook. *Frontiers in Plant Science* 8: 2054. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02054>

EFFECTO DE COMPUESTOS PROMOTORES DE LA EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA INDIRECTA EN TRES ESPECIES DEL GÉNERO *Agave*

Monserrat Hernández-Solis, Amaury Martin Arzate-Fernández*,
Sandra Yarensy Martínez-Martínez, Laura Acosta-Villagrán

Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Ciencias Agrícolas. Carretera Toluca-Ixtlahuaca km 11.5, Toluca, Estado de México, México. C. P. 50295.

* Autor para correspondencia: amaury1963@yahoo.com.mx

RESUMEN

El género *Agave* es uno de los más amplios y utilizados de México, principalmente por su uso en la elaboración de bebidas alcohólicas. Las especies de este género se caracterizan por su largo ciclo de vida y reproducción sexual limitada, lo que las amenaza y hace necesaria la búsqueda de una alternativa que permita la multiplicación en masa y la preservación de estas especies. La embriogénesis somática (ES) se perfila como una solución para resolver este problema, aunque sea un proceso complejo que depende de un gran número de factores y del desarrollo de protocolos específicos por especie. Uno de estos factores es el estrés osmótico, condición que puede favorecer la formación y maduración de embriones somáticos, mediante la aplicación de compuestos como el polietilenglicol (PEG) o el ácido abscísico (ABA). Hasta ahora, no se han reportado estudios sobre el efecto del estrés osmótico en la embriogénesis somática en especies de *Agave*, por lo que en este trabajo se evaluó su efecto en la expresión y maduración de embriones somáticos en *Agave angustifolia*, *A. cupreata* y *A. salmiana*. Se determinó su formación con dos concentraciones de ABA (3 y 9 mg L⁻¹) y dos de PEG (50 y 70 g L⁻¹) en callos obtenidos a partir de ejes cigóticos embrionarios. Los tratamientos con 9 mg L⁻¹ de ABA y 50 g L⁻¹ de PEG favorecieron la formación de embriones somáticos en las tres especies evaluadas, además del tratamiento con 70 g L⁻¹ de PEG, con el que se obtuvo *A. angustifolia*. La formación de embriones somáticos presentó asincronía, especialmente en *A. cupreata*. Se logró la regeneración de plántulas a partir de embriones somáticos en *A. angustifolia*, *A. cupreata* y *A. salmiana*.

Palabras clave: Maguey, estrés osmótico, ABA, PEG, maduración.

INTRODUCCIÓN

El género *Agave* es uno de los más utilizados en México, principalmente para la producción de bebidas alcohólicas, un sector que ha crecido de manera importante en los últimos años, aumentando drásticamente la demanda de agaves. Esto ha puesto en peligro a varias especies por tener ciclos de vida largos (7–15 años), además su reproducción sexual se encuentra limitada por la misma producción de bebidas alcohólicas, lo que hace de la reproducción asexual la principal vía de propagación (Esparza-Ibarra *et al.*, 2015; García-Mendoza, 2002). Este es el caso de especies mezcaleras como *A. angustifolia*, la más utilizada para la elaboración de mezcal; y *A. cupreata*, que no puede

Citation: Hernández-Solis M, Arzate-Fernández AM, Martínez-Martínez SY, Acosta-Villagrán L. 2023. Efecto de compuestos promotores de la embriogénesis somática indirecta en tres especies del género *Agave*. *Agrociencia* 57(1): 1-21. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v57i1.2858>

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: August 28, 2022.
Approved: December 21, 2022.
Published in Agrociencia:
February 22, 2023.

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



reproducirse asexualmente (Avendaño-Arrazate *et al.*, 2015), así como *A. salmiana*, una especie de la que se obtiene pulque y recientemente es utilizada para la obtención de saponinas con potencial medicinal (Leal-Díaz *et al.*, 2016). Debido a esto es altamente recomendable establecer protocolos de propagación que permitan eficientizar la producción de plantas a gran escala mediante técnicas biotecnológicas, como la embriogénesis somática (ES) (Monja-Mio y Robert, 2013).

La embriogénesis somática indirecta es el proceso en el que las células somáticas adquieren la capacidad de desarrollar un embrión somático completo mediante previa desorganización y desdiferenciación provocadas por una amplia variedad de estímulos usualmente estresantes, como las condiciones de cultivo, la cantidad de nutrientes o la aplicación de reguladores de crecimiento vegetal (RCV) (Fehér, 2015; Loyola-Vargas y Ochoa-Alejo, 2016). Esta consta generalmente de dos fases: la inducción de callo para desorganizar y desdiferenciar las células, y la expresión o maduración de embriones somáticos, generalmente siendo esta última una de las más problemáticas ya que ocurren cambios morfológicos importantes para el correcto desarrollo de los embriones somáticos, que generalmente se encuentran en fases de desarrollo distintas (Márquez-Martín *et al.*, 2011; Vale *et al.*, 2014).

El estrés osmótico se ha propuesto como un factor importante durante la maduración de los embriones somáticos y es potencialmente capaz de desencadenar rápidos cambios bioquímicos en la actividad de proteínas y genes específicos durante la maduración (Leal *et al.*, 1995; Kong *et al.*, 1998). Esta restricción en la absorción de agua, la baja presión de turgencia y la reducción del potencial osmótico intracelular, tienen la facultad de estimular la maduración de embriones somáticos al promover la acumulación de lípidos y proteínas esenciales, simulando la desecación natural que ocurre en la formación de semillas (Merkle *et al.*, 1995; Svobodová *et al.*, 1999), además de favorecer el desarrollo de los meristemos apical y radical (Valencia-Lozano *et al.*, 2021). En este sentido, se han reportado en otros protocolos de ES compuestos como el polietilenglicol (PEG) y el ácido abscísico (ABA) (Acanda *et al.*, 2020; Cruz *et al.*, 2022). El PEG es una molécula de gran tamaño que es incapaz de traspasar la pared celular, causando una reducción del potencial osmótico (Klimaszewska *et al.*, 2000), mientras que el ABA es una molécula relacionada con el estrés abiótico en general, con especial énfasis en su papel en la tolerancia al estrés hídrico y síntesis ante estrés osmótico (Parwes *et al.*, 2022). Éste último ha sido vinculado principalmente con el gen ABI-3 y los genes de las proteínas de células embriogénicas (ECP), que pertenecen a la familia de los genes abundantes en la embriogénesis tardía (LEA), todos ellos esenciales para el proceso de embriogénesis somática (Kikuchi *et al.*, 2006).

Hasta ahora, no hay reportes de la evaluación del efecto del estrés osmótico en la ES en el género *Agave*, por lo que el propósito del presente trabajo fue evaluar el efecto del PEG y el ABA en la expresión y maduración de embriones somáticos en *Agave angustifolia*, *A. cupreata* y *A. salmiana*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Siguiendo la metodología de desinfección propuesta por Martínez-Martínez *et al.* (2021), se emplearon semillas maduras de *Agave angustifolia*, *A. cupreata* y *A. salmiana*, las cuales fueron lavadas con agua de grifo con 2 mL de detergente líquido y dos gotas de Tween® 20 por 15 min. Posteriormente, dentro de una campana de flujo laminar, las semillas se sumergieron en etanol al 70 % durante 1 min, después en una solución de hipoclorito de sodio al 1 % por 15 min, se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril y luego se sumergieron en 16 $\mu\text{L L}^{-1}$ de gentamicina para su estratificación durante 48 h a 4 °C.

Inducción de callo embriogénico

Se colocaron diez ejes cigóticos embrionarios por caja, en diez cajas Petri de plástico de 100 x 15 mm provistas de 20 mL de medio de cultivo. Se empleó el medio de cultivo para inducción de callo (MCICE) propuesto por Alvarez-Aragón *et al.* (2020), compuesto por sales MS (Murashige y Skoog, 1962) a 25 % de su concentración original, suplementado con vitaminas L2 (Phillips y Collins, 1979), 60 g L^{-1} de sacarosa, 5 mg L^{-1} de ácido 2,4- diclorofenoxiacético (2,4-D, Sigma-Aldrich Chemical Company, MO, EUA), 3 mg L^{-1} de 6-bencilaminopurina (BA, Sigma-Aldrich Chemical Company, MO, EUA) y 8 g L^{-1} de agar (Sigma-Aldrich Chemical Company, MO, EUA).

Los cultivos se incubaron durante 60 d a una temperatura de 25 ± 2 °C en condiciones de completa oscuridad. El porcentaje de embriogénesis se obtuvo de la siguiente forma: $[\text{Número de explantes con respuesta}] * [100] / 10 = \%$ de callo embriogénico.

Maduración de embriones somáticos

Se colocó aproximadamente 0.1 g de callo embriogénico en medio de cultivo para expresión y maduración de embriones (MCEMES) propuesto por Alvarez-Aragón *et al.* (2020), compuesto por sales MS a 50 % de su concentración original, 30 g L^{-1} de sacarosa y 8 g L^{-1} de agar. Se evaluaron dos concentraciones de ABA (3 y 9 mg L^{-1}) y dos de PEG 6000 (50 y 70 g L^{-1}), además del tratamiento control suplementado con 0.1 mg L^{-1} de 2,4-D.

El número de embriones somáticos se contabilizó a los 30 d. Los cultivos se mantuvieron incubados durante 60 d para *A. angustifolia* y *A. salmiana*, y 45 d para *A. cupreata*, a una temperatura de 25 ± 2 °C en completa oscuridad.

Germinación de embriones somáticos y crecimiento de plántulas

Los embriones somáticos en fase escutelar fueron transferidos a medio de cultivo de germinación (MCG) compuesto por sales MS a 50 % de su concentración original, 30 g L^{-1} de sacarosa y 0.5 g L^{-1} de carbón activado (Sigma-Aldrich Chemical Company, MO, EUA), libre de RCV.

Los cultivos se mantuvieron incubados durante 60 d a una temperatura de 25 ± 2 °C con fotoperiodo de 16 h. El porcentaje de germinación se obtuvo de la siguiente forma:

$[\text{Número de embriones germinados}] * [100] / \text{total embriones en MCG} = \% \text{ de germinación.}$

Aclimatización de plántulas

Las plántulas regeneradas por ES, indistintamente del tratamiento de maduración, se enjuagaron con agua de grifo para eliminar todo residuo del medio de cultivo y se transfirieron a charolas con cilindros de espuma fenólica (peatFOAM®) de 2.2 x 3.6 cm y se colocaron en un sistema de raíz flotante (Martínez-Martínez *et al.*, 2021). Se mantuvieron durante 30 d en un micro túnel de polietileno con un mínimo de 70 % de humedad a 27 ± 5 °C. Se evaluó el porcentaje de supervivencia, que se obtuvo de la siguiente forma: $[\text{Número de plantas sobrevivientes}] * [100] / \text{total plántulas} = \% \text{ de supervivencia.}$

Análisis estadístico

En el presente estudio se evaluó el porcentaje de callo embriogénico, el número promedio de embriones somáticos para cada tratamiento y el porcentaje de germinación. Se realizó un diseño completamente al azar con tres repeticiones por especie. Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza con ayuda del software Stathgraphics versión 5.0. En donde se presentó diferencia significativa, se realizó una prueba de comparación de medias (método de DMS) con un nivel de significancia del 95 %.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Inducción de callo embriogénico

La dediferenciación de los explantes comenzó tras los primeros 12 d después de iniciado el cultivo (ddic) en el MCICE (Figura 1A) sin ninguna distinción en la zona de los ejes cigóticos embrionarios o de su orientación en el medio de cultivo, a diferencia de reportes previos (Hartweck *et al.*, 1988; Kysely y Jacobsen, 1990), en los que la desorganización y dediferenciación se presentaba solo en un sitio del explante. Se obtuvieron callos no embriogénicos de apariencia compacta, blanquecina y lisa (Figura 1B) y callos embriogénicos caracterizados por ser friables con una coloración beige (Figura 1C) a los 60 ddic, similar a lo reportado anteriormente en la ES indirecta de especies de *Agave* (Portillo *et al.*, 2012; Martínez-Martínez *et al.*, 2021).

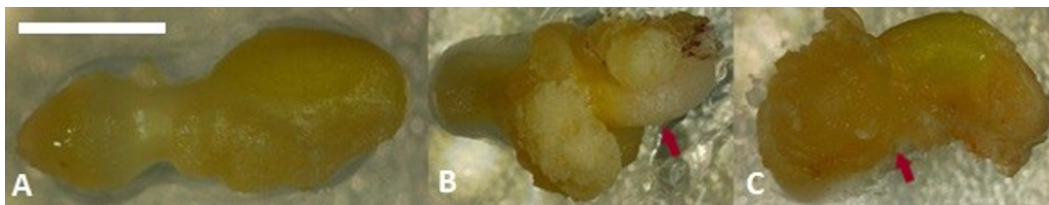


Figura 1. Formación de callo en *Agave angustifolia*. A: explante con desorganización de 12 días de iniciado el cultivo; B: callo no embriogénico (flecha); C: callo embriogénico (flecha). Barra: 5 mm.

La presencia de tejido tanto embriogénico como no embriogénico en el mismo cultivo es frecuentemente reportado en otros modelos (Fehér *et al.*, 2003). Es sabido que las células no embriogénicas pueden secretar moléculas al medio de cultivo (Hecht *et al.*, 2001), que al ser percibidas por otras células competentes, favorecen la formación de embriones somáticos (Pennell *et al.*, 1992; Santa-Catarina *et al.*, 2004). En este sentido, la presencia de callo no embriogénico en los cultivos podría ser necesaria para la obtención de embriones somáticos de las tres especies de *Agave*, donde se observó la expresión de embriones somáticos en una parte del callo mientras que en otras secciones presentó una morfología considerada no embriogénica (Figure 2).

Evaluación del estrés osmótico en la expresión y maduración de embriones somáticos

Los primeros embriones somáticos se observaron a partir del día 18 (78 ddc) en el control para *A. cupreata*, en el tratamiento con 9 mg L⁻¹ ABA para *A. salmiana*, así como para el tratamiento con 50 g L⁻¹ de PEG para *A. angustifolia* y *A. salmiana*. Al alcanzar los 90 ddc, en las tres especies se observó la formación de embriones somáticos en los tratamientos con 9 mg L⁻¹ de ABA (Figura 2A, 2D, 2G) y 50 g L⁻¹ PEG (Figura 2B,

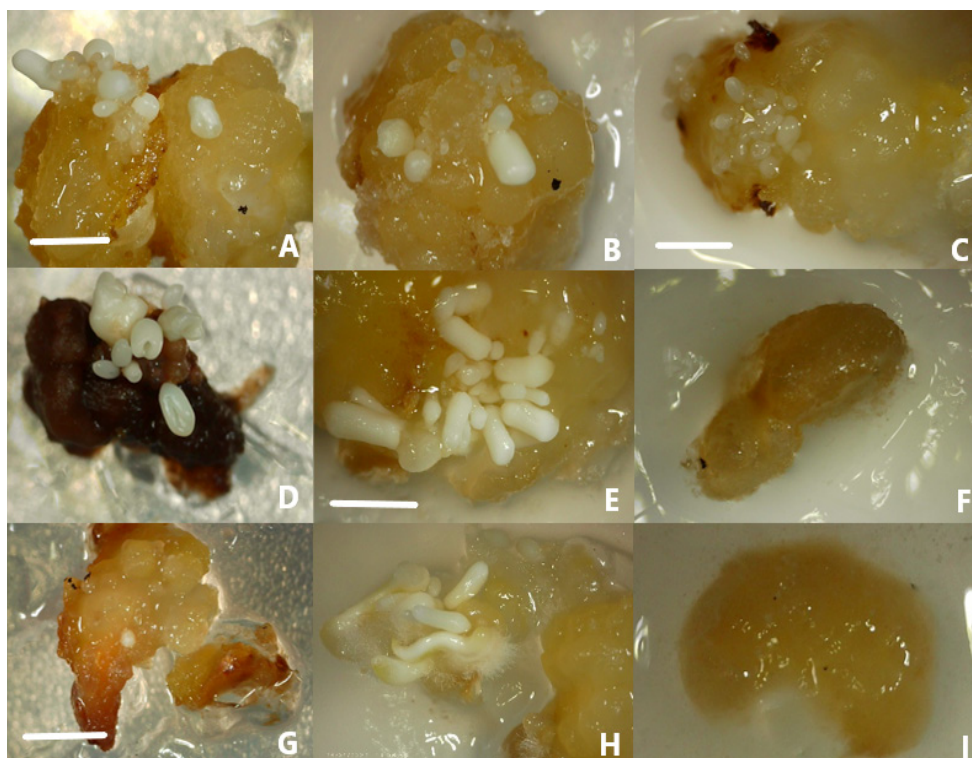


Figura 2. Expresión y maduración de embriones somáticos en *Agave angustifolia* (A, B, C), *A. salmiana* (D, E, F), y *A. cupreata* (G, H, I) tras 30 d en MCEMES. De izquierda a derecha: (A, D, G) tratamiento con 9 mg L⁻¹ ABA; (B, E, H) 50 g L⁻¹ PEG; (C, F, I) 70 g L⁻¹ PEG. Barra: 5 mm.

2E, 2H). Además, en *A. angustifolia* se observó la formación de embriones somáticos en el tratamiento con 70 g L⁻¹ de PEG (Figura 2C). Estos resultados coinciden con lo reportado para otras especies como *Picea abies* L. (Svobodová *et al.*, 1999), *Daucus carota* (Kikuchi *et al.*, 2006), *Cicer arietinum* L. (Mishra *et al.*, 2012), *Cunninghamia lanceolata* (Zhou *et al.*, 2017), *Passiflora edulis* (Cruz *et al.*, 2022) y *Ocotea catharinensis* Mez. (Santa-Catarina *et al.*, 2004), donde el estrés osmótico afectó de manera positiva la formación y maduración de embriones somáticos.

El análisis estadístico reveló que no hubo diferencias significativas entre *A. angustifolia* y *A. salmiana*, así como entre los mejores tratamientos (50 g L⁻¹ de PEG y 9 mg L⁻¹ de ABA) para la obtención de embriones somáticos (Cuadro 1). La cantidad de embriones somáticos obtenidos fue variable: dentro del mismo tratamiento, mientras que en algunos explantes se observó en promedio tres, hubo algunos que sobrepasaban la decena (Cuadro 1). Esto es posiblemente debido a que los explantes primarios fueron ejes cigóticos embrionarios obtenidos de semilla de polinización abierta, lo que generó que cada callo tuviera características genéticas únicas que influyeron en la respuesta a los tratamientos de estrés osmótico (Merkle *et al.*, 1995; Namasivayam, 2007). Además, pudieron haber afectado las diferencias propias del genotipo, dada la respuesta variada entre las tres diferentes especies tanto en el número de embriones como en el porcentaje de embriogénesis. Estas diferencias son comunes entre especies diferentes, aunque sean del mismo género (Loyola-Vargas y Ochoa-Alejo, 2016).

Cuadro 1. Expresión y maduración de embriones somáticos en tratamientos de estrés osmótico con ABA y PEG en *Agave angustifolia*, *A. salmiana* y *A. cupreata* a los 90 días después de iniciado el cultivo.

Tratamiento	Especie	Porcentaje de callo embriogénico	Número de embriones
Control	<i>A. angustifolia</i>	0.0 ± 14.64ab	0.0 ± 3.62 b
	<i>A. salmiana</i>	0.0 ± 14.64ab	0.0 ± 3.62 b
	<i>A. cupreata</i>	83.3 ± 14.64ab	11.2 ± 3.62b
ABA 3 mg L ⁻¹	<i>A. angustifolia</i>	0.0 ± 14.64c	0.0 ± 3.62b
	<i>A. salmiana</i>	0.0 ± 14.64c	0.0 ± 3.62b
	<i>A. cupreata</i>	0.0 ± 14.64c	0.0 ± 3.62b
ABA 9 mg L ⁻¹	<i>A. angustifolia</i>	33.3 ± 14.64a	5.0 ± 3.62a
	<i>A. salmiana</i>	33.3 ± 14.64a	15.4 ± 3.62a
	<i>A. cupreata</i>	33.3 ± 14.64a	4.8 ± 3.62a
PEG 50 g L ⁻¹	<i>A. angustifolia</i>	66.6 ± 14.64a	8.3 ± 3.62a
	<i>A. salmiana</i>	16.6 ± 14.64a	14.0 ± 3.62a
	<i>A. cupreata</i>	50.0 ± 14.64a	3.0 ± 3.62a
PEG 70 g L ⁻¹	<i>A. angustifolia</i>	33.3 ± 14.64bc	11.0 ± 3.62b
	<i>A. salmiana</i>	0.0 ± 14.64bc	0.0 ± 3.62b
	<i>A. cupreata</i>	0.0 ± 14.64bc	0.0 ± 3.62b

[†]Valores medios por columna con letra distinta son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$).

El ABA en concentración de 9 mg L^{-1} favoreció el desarrollo de embriones somáticos en las tres especies de *Agave*, ayudando en la reprogramación genética al ser la principal molécula mensajera ante el estrés abiótico (Karami y Saidi, 2010; Parwes *et al.*, 2022). Ésta ha sido reportada en relación a varios genes esenciales para la ES como los genes de las proteínas de células embriogénicas (ECP) o el gen ABI-3 en varias especies (Karami y Saidi, 2010; Kikuchi *et al.*, 2006). Su relación con la ES también se da mediante la interacción con otros RCV como las poliaminas, moléculas cruciales para la modulación del estrés que regulan la síntesis de ABA al ser aplicadas exógenamente, y que a su vez son reguladas por el ABA producido por el mismo estrés osmótico (Parwes *et al.*, 2022).

Por su parte, el PEG en una concentración de 50 g L^{-1} favoreció el desarrollo de embriones somáticos en todas las especies (Figura 2B, 2E, 2H); sin embargo, a 70 g L^{-1} solo se observó su formación en *A. angustifolia* (Figura 2C). Esto es debido a que sus moléculas de gran tamaño generan una restricción en la absorción de agua; los cambios osmóticos favorecen cambios fisiológicos en los embriones somáticos que les ayudan a adquirir polaridad con el desarrollo de meristemas (Valencia-Lozano *et al.*, 2021). Se ha reportado que cultivos tratados con PEG aumentan la actividad meristemática, el contenido endógeno de ABA y las poliaminas, además de proteínas relacionadas a procesos glucolíticos y de respuesta a la luz necesarios para el desarrollo de los embriones (Cruz *et al.*, 2022), así como la regulación en la expresión de genes relacionados a la diferenciación y desarrollo (Vale *et al.*, 2014). Ambas moléculas, ABA y PEG, promueven la acumulación de lípidos y proteínas esenciales en el proceso de maduración de embriones somáticos, siendo comparable a la de los ejes cigóticos embrionarios (Elhiti y Stasolla 2022; Merkle *et al.*, 1995; Svobodová *et al.*, 1999).

Se observó la presencia tanto de embriones somáticos en fase escutelar como en fase globular en todos los tratamientos, es decir, hubo un desfase en el desarrollo de los embriones somáticos (Figura 3A). Este es un fenómeno común en los protocolos de ES que provienen de células embriogénicas de callo en distintos estadios (Zegzouti *et*

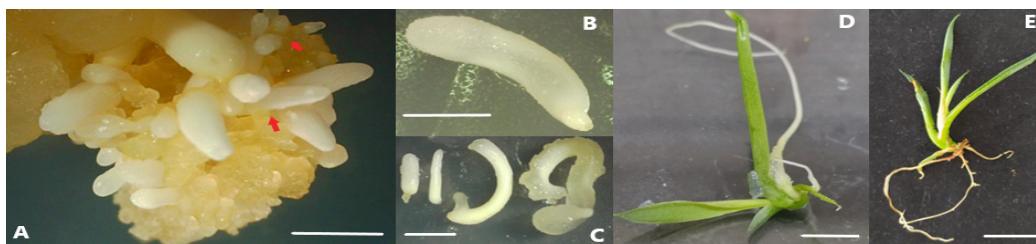


Figura 3. Embriogénesis somática indirecta en *Agave* spp. A: expresión de embriones somáticos en distintas fases (flechas) en callos bajo tratamiento de estrés osmótico a los 30 d en MCEMES, barra: 5 mm; B: embrión somático en fase escutelar, barra: 2 mm; C: embriones somáticos obtenidos de tratamientos de estrés osmótico, embriones somáticos escutelares normales (dos primeros a la izquierda) y embriones somáticos elongados y deformados (dos últimos a la derecha), barra: 5 mm; D: plántula después de 60 d en MCG, barra: 10 mm; E: planta después de 30 d en aclimatación *ex vitro*, barra: 3 cm.

al., 2001; Souza *et al.*, 2011). Esta variabilidad de estados puede ser sincronizada, principalmente filtrando y separando las células embriogénicas por tipos y tamaños (Liu *et al.*, 2021; Othmani *et al.*, 2009; Souza *et al.*, 2011), lo que permite tener células en un estadio similar a la vez que se aíslan físicamente las células embriogénicas, condición necesaria para la conversión de estas a embriones somáticos (Lowe *et al.*, 1985).

Germinación de embriones somáticos y crecimiento de plántulas

Después de 60 d (*A. angustifolia* y *A. salmiana*) y 45 d (*A. cupreata*) en MCEMES, los embriones somáticos en fase escutelar (Figura 3B) fueron transferidos a MCG para su germinación. Incluso cuando los embriones somáticos de *A. cupreata* permanecieron un menor tiempo en MCEMES, hubo embriones somáticos que se desarrollaron más rápidamente y comenzaron a elongarse y deformarse (Figura 3C), por lo que no fueron usados para la fase de germinación.

El 100 % de los embriones somáticos en medio MCG completaron una germinación y desarrollo correcto, es decir, no se observaron anomalías morfológicas, las plántulas presentaron hojas verdes y raíces blancas. Después de 60 d en MCG las plántulas mostraron de dos a cuatro hojas de entre 4 y 6 cm de longitud y un sistema radical desarrollado (Figura 3D). El alto porcentaje en la germinación de embriones somáticos en *Agave* spp. es similar a lo reportado anteriormente (Alvarez-Aragón *et al.*, 2020; Monja-Mio y Robert, 2013).

Aclimatización de las plántulas

Se contabilizó la sobrevivencia de las plántulas obtenidas por ES tras 30 d de aclimatación *ex vitro* (Figura 3E), obteniendo un porcentaje del 95 %. Este valor es similar a resultados previos del género *Agave*, ya que estas especies no tienen problemas serios para adaptarse (Portillo *et al.*, 2007; Naziri *et al.*, 2018). Las plantas obtenidas mostraron una coloración más intensa en sus hojas, de tres a cuatro hojas de entre 7 y 10 cm, además de un sistema radical vigoroso.

CONCLUSIONES

Este es el primer reporte de embriogénesis somática inducida por estrés osmótico en *Agave angustifolia*, *A. salmiana* y *A. cupreata*. El estrés osmótico inducido por ABA y PEG favoreció la maduración de embriones somáticos capaces de regenerar plántulas en las tres especies de *Agave*. Es necesaria una mayor investigación para lograr una mejor sincronización de los estadios de desarrollo de los embriones somáticos.

REFERENCIAS

- Acanda Y, Martínez Ó, Prado MJ, González MV, Rey M. 2020. Changes in abscisic acid metabolism in relation to the maturation of grapevine (*Vitis vinifera* L., cv. Mencía) somatic embryos. *BMC Plant Biology* 20 (1): 1–17. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02701-z>
- Alvarez-Aragón C, Arzate-Fernández AM, Martínez-Martínez SY, Martínez-Velasco I. 2020. Regeneración de plantas de *Agave marmorata* Roetzl, vía embriogénesis somática. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 23 (36): 1–16.

- Avendaño-Arrazate CH, Iracheta-Donjuan L, Gódinez-Aguilar JC, López-Gómez P, Barrios-Ayala A. 2015. Morphological characterization of endemic *Agave cupreata* species of Mexico. *Phyton* 84 (1): 148–162. <https://doi.org/10.32604/phyton.2015.84.148>
- Cruz KZCM, Almeida FA, Vale EM, Botini N, Vettorazzi RG, Santos RC, Santa-Catarina C, Silveira V. 2022. PEG induces maturation of somatic embryos of *Passiflora edulis* Sims ‘UENF Rio Dourado’ by differential accumulation of proteins and modulation of endogenous contents of free polyamines. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 150 (3): 527–541. <https://doi.org/10.1007/s11240-022-02301-9>
- Elhiti M, Stasolla C. 2022. Transduction of Signals during Somatic Embryogenesis. *Plants* 11 (2): 178. <https://doi.org/10.3390/plants11020178>
- Esparza-Ibarra EL, Violante-González J, Monks S, Cadena-Iñiguez J, Araujo-Andrade C, Rössel-Kipping ED. 2015. Los agaves mezcaleros del altiplano Potosino y Zacatecano. In: Pulido-Flores G, Monks S, López-Herrera M. (eds.), *Estudios en biodiversidad*, Vol I. Zea books: Lincoln, NE, USA, pp: 227–245.
- Fehér A. 2015. Somatic embryogenesis – Stress-induced remodeling of plant cell fate. *Biochimica et Biophysica Acta* 1849 (4): 385–402. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2014.07.005>
- Fehér A, Pasternak TP, Dudits D. 2003. Transition of somatic plant cells to an embryogenic state. *Plant Cell, Tissue Organ Culture* 74: 201–228. <https://doi.org/10.1023/A:1024033216561>
- García-Mendoza AJ. 2002. Distribution of *Agave* (Agavaceae) in Mexico. *Cactus and Succulent Journal* 74 (4): 177–187.
- Hartweck LM, Lazzert PA, Cui D, Collins GB, Williams EG. 1988. Auxin-orientation effects on somatic embryogenesis from immature soybean cotyledons. *In Vitro Cellular and Developmental Biology* 24 (8): 821–828.
- Hecht V, Vielle-Calzada JP, Hartog MV, Schmidt ED, Boutilier K, Grossniklaus U, de Vries SC. 2001. The *Arabidopsis* somatic embryogenesis receptor kinase 1 gene is expressed in developing ovules and embryos and enhances embryogenic competence in culture. *Plant Physiology* 127 (3): 803–816.
- Karami O, Saidi A. 2010. The molecular basis for stress-induced acquisition of somatic embryogenesis. *Molecular Biology Reports* 37 (5): 2493–2507. <https://doi.org/10.1007/s11033-009-9764-3>
- Kikuchi A, Sanuki N, Higashi K, Koshihara T, Kamada H. 2006. Abscisic acid and stress treatment are essential for the acquisition of embryogenic competence by carrot somatic cells. *Planta* 223 (4): 637–645. <https://doi.org/10.1007/s00425-005-0114-y>
- Klimaszewska K, Bernier-Cardou M, Cyr DR, Sutton BCS. 2000. Influence of gelling agents on culture medium gel strength, water availability, tissue water potential, and maturation response in embryogenic cultures of *Pinus strobus* L. *In Vitro Cellular and Developmental Biology* 36: 279–286. <https://doi.org/10.1007/s11627-000-0051-1>
- Kong L, Attree SM, Fowke LC. 1998. Effects of polyethylene glycol and methylglyoxal bis (guanyldrazone) on endogenous polyamine levels and somatic embryo maturation in white spruce (*Picea glauca*). *Plant Science* 133 (2): 211–220. [https://doi.org/10.1016/s0168-9452\(98\)00040-5](https://doi.org/10.1016/s0168-9452(98)00040-5)
- Kysely W, Jacobsen HJ. 1990. Somatic embryogenesis from pea embryos and shoot apices. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 20: 7–14. <https://doi.org/10.1007/BF00034751>
- Leal-Díaz A, Noriega LG, Torre-Villalvazo I, Torres N, Alemán-Escondrillas G, López-Romero P, Sánchez-Tapia M, Aguilar-López M, Furuzawa-Carballeda J, Velázquez-Villegas LA, Avila-Nava A, Ordáz G, Gutiérrez-Urbe JA, Serna-Saldivar SO, Tovar AR. 2016. Aguamiel concentrate from *Agave salmiana* and its extracted saponins attenuated obesity and hepatic steatosis and increased *Akkermansia muciniphila* in C57BL6 mice. *Scientific Reports* 6 (1): 34242. <https://doi.org/10.1038/srep34242>
- Leal I, Misra S, Attree SM, Fowke LC. 1995. Effect of abscisic acid, osmoticum and desiccation on 11 S storage protein gene expression in somatic embryos of white spruce. *Plant Science* 106 (2): 121–128. [https://doi.org/10.1016/0168-9452\(95\)04081-5](https://doi.org/10.1016/0168-9452(95)04081-5)
- Liu Y, Wei C, Wang H, Ma X, Shen H, Yang L. 2021. Indirect somatic embryogenesis and regeneration of *Fraxinus mandshurica* plants via callus tissue. *Journal of Forestry Research* 32: 1613–1625. <https://doi.org/10.1007/s11676-020-01199-3>

- Lowe K, Taylor DB, Ryan P, Paterson KE. 1985. Plan regeneration via organogenesis and embryogenesis in the maize inbred line B73. *Plant Science* 41 (2): 125–132.
- Loyola-Vargas VM, Ochoa-Alejo N. 2016. Somatic embryogenesis: fundamental aspects and applications. Springer: Cham, Switzerland, 506 p. https://doi.org/10.1007/978-3-319-33705-0_5_53
- Márquez-Martín B, Sesmero R, Quesada MA, Pliego-Alfaro F, Sánchez-Romero C. 2011. Water relations in culture media influence maturation of avocado somatic embryos. *Journal of Plant Physiology* 168 (17): 2028–2034. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2011.06.008>
- Martínez-Martínez SY, Arzate-Fernández AM, Alvarez-Aragón C, Martínez-Velasco I, Norman-Mondragón T. 2021. Regeneration of *Agave marmorata* Roelz plants in temporary immersion systems, via organogenesis and somatic embryogenesis. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 24 (3): 1–13 <http://dx.doi.org/10.56369/tsaes.3472>
- Merkle SA, Parrott WA, Flinn BS. 1995. Morphogenic aspects of somatic embryogenesis. In: Thorpe TA. (ed.), *In Vitro Embryogenesis in Plants*. Springer: Dordrecht, Netherlands, pp. 155–203. https://doi.org/10.1007/978-94-011-0485-2_5
- Mishra S, Sanyal I, Amla DV. 2012. Changes in protein pattern during different developmental stages of somatic embryos in chickpea. *Biologia Plantarum* 56 (4): 613–619. <https://doi.org/10.1007/s10535-012-0124-0>
- Monja-Mio KM, Robert ML. 2013. Direct somatic embryogenesis of *Agave fourcroydes* Lem. through thin cell layer culture. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant* 49 (5): 541–549. <https://doi.org/10.1007/s11627-013-9535-7>
- Murashige T, Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15 (3): 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Namasivayam P. 2007. Acquisition of embryogenic competence during somatic embryogenesis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 90 (1): 1–8. <https://doi.org/10.1007/s11240-007-9249-9>
- Naziri M, Sadat S, Howyze MS. 2018. The effect of different hormone combinations on direct and indirect somatic embryogenesis in *Agave americana*. *Iranian Journal of Plant Physiology* 9 (2): 2739–2747.
- Othmani A, Bayoudh C, Drira N, Marrakchi M, Trifi M. 2009. Somatic embryogenesis and plant regeneration in date palm *Phoenix dactylifera* L., cv. Boufeggous is significantly improved by fine chopping and partial desiccation of embryogenic callus. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 97 (1): 71–79. <https://doi.org/10.1007/s11240-009-9500-7>
- Parwes R, Aftab T, Singh S, Gill S, Naeem M. 2022. Abscisic acid signaling and crosstalk with phytohormones in regulation of environmental stress responses. *Environmental and Experimental Botany* 199: 104885. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2022.104885>
- Pennell RI, Janniche L, Scofield NG, Booij H, de Vries SC, Roberts K. 1992. Identification of a transitional cell state in the developmental pathway to carrot somatic embryogenesis. *Journal of Cell Biology* 119 (5): 1371–1380. <https://doi.org/10.1083/jcb.119.5.1371>
- Phillips GC, Collins GB. 1979. *In vitro* tissue culture of selected legumes and plant regeneration from callus cultures of red clover. *Crop Science* 19 (1): 59–64. <https://doi.org/10.2135/cropsci1979.0011183X001900010014x>
- Portillo L, Olmedilla A, Santacruz-Ruvalcaba F. 2012. Cellular and molecular changes associated with somatic embryogenesis induction in *Agave tequilana*. *Protoplasma* 249 (4): 1101–1107. <https://doi.org/10.1007/s00709-011-0354-6>
- Portillo L, Santacruz-Ruvalcaba F, Gutiérrez-Mora A, Rodríguez-Garay B. 2007. Somatic embryogenesis in *Agave tequilana* Weber cultivar azul. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant* 43 (6): 569–575. <https://doi.org/10.1007/s11627-007-9046-5>
- Santa-Catarina C, Olmedo SA, Meyer GA, Macedo J, de Amorim W, Viana AM. 2004. Repetitive somatic embryogenesis of *Ocotea catharinensis* Mez. (Lauraceae): effect of somatic embryo developmental stage and dehydration. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 78: 55–62. <https://doi.org/10.1023/B:TICU.0000020395.40974.8a>
- Souza JMM, Tomaz ML, Arrud SCC, Demétrio CGB, Venables WN. 2011. Callus sieving is effective in improving synchronization and frequency of somatic embryogenesis in *Citrus sinensis*. *Biologia Plantarum* 55: 703–707. <https://doi.org/10.1007/s10535-011-0171-y>

- Svobodová H, Albrechtová J, Kumstýřová L, Lipavská H, Vágner M, Vondráková Z. 1999. Somatic embryogenesis in Norway spruce: Anatomical study of embryo development and influence of polyethylene glycol on maturation process. *Plant Physiology and Biochemistry* 37 (3): 209–221. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(99\)80036-9](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(99)80036-9)
- Vale EM, Heringer AS, Barroso T, Ferreira ATS, da Costa MN, Perales JEA, Santa-Catarina C, Silveira V. 2014. Comparative proteomic analysis of somatic embryo maturation in *Carica papaya* L. *Proteome Science* 12 (1): 37. <https://doi.org/10.1186/1477-5956-12-37>
- Valencia-Lozano E, Ibarra JE, Herrera-Ubaldo H, De Folter S, Cabrera-Ponce JL. 2021. Osmotic stress-induced somatic embryo maturation of coffee *Coffea arabica* L., shoot and root apical meristems development and robustness. *Scientific Reports* 11 (1): 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88834-z>
- Zegzouti R, Arnould MF, Favre JM. 2001. Histological investigation of the multiplication step in secondary somatic embryogenesis of *Quercus robur* L. *Annals of Forest Science* 58: 681–690. <https://doi.org/10.1051/forest:2001155>
- Zhou X, Zheng R, Liu G, Zhou Y, Laux T, Zhen Y, Harding SA, Shi J, Chen J. 2017. Desiccation treatment and endogenous IAA levels are key factors influencing high frequency somatic embryogenesis in *Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook. *Frontiers in Plant Science* 8: 2054. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02054>

POST-HARVEST CHARACTERISTICS OF MANGO FRUITS (*Mangifera* sp.) FROM SOCONUSCO, CHIAPAS

Berenice Karina Flores-Hernández¹, Ma. de Lourdes Arévalo-Galarza^{1*}, Rubén San Miguel-Chavez², Saúl Espinosa-Zaragoza³, Noé Delfino Pérez-Díaz³, Víctor Heber Aguilar-Rincón¹

¹ Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Recursos Genéticos y Productividad. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56264.

² Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Posgrado en Botánica. Carretera México- Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56264.

³ Universidad Autónoma de Chiapas. Facultad de Ciencias Agrícolas Campus IV. Entronque Carretera Costera y Estación Huehuetán, Chiapas, México. C. P. 30660.

* Author for correspondence: larevalo@colpos.mx

ABSTRACT

Mango (*Mangifera indica* L.) is the second most important tropical fruit in the world. In the Soconusco region of Chiapas, Mexico, there is a large number of mango genotypes with a broad range of shapes, flavors, and aromas, with the potential to increase its cultivation. Therefore, the post-harvest characteristics of three creole mango genotypes, 'Manililla', 'Cuero', and 'Manzana' were evaluated and compared with the variety 'Ataúlfo'. Fifty fruits from each genotype were harvested and stored at 20 °C and 75 % relative humidity; quality characteristics (epidermis/seed/pulp ratio, weight loss, color, firmness, °Bx, titratable acidity, ascorbic acid, pectinmethylesterase enzymatic activity, phenolic acid and flavonoid content in epidermis) were evaluated under a completely randomized design. The results showed that 'Manililla' and 'Cuero' fruits had a significantly higher weight loss, while 'Manzana' and 'Ataúlfo' were similar in pulp content. The creole genotypes 'Cuero' and 'Manzana' had an attractive yellow-orange color, with red shading on the shoulders and orange in the pulp. The SST/AT ratio in 'Manililla' and 'Cuero' (71.1 and 62.6, respectively), was significantly higher in relation to 'Ataúlfo' (39.1) due to low acidity. 'Manzana' had higher total sugar content (30.3 g 100 g⁻¹) and a firmer texture after six days of storage (dda). 'Cuero' showed greater weight loss and higher ascorbic acid content, 32 % more than 'Ataúlfo'. The pulp content of 'Manzana' fruits was similar to that of 'Ataúlfo', with less weight loss and greater firmness, making it appealing for marketing.

Keywords: Plant genetic resources, outstanding genotypes, postharvest quality, shelf life.

INTRODUCTION

Mango (*Mangifera indica* L.) is one of the most commercially important tropical fruits in the world, with Thailand being the main exporting country with 18.91 % of the world market, followed by Mexico with 11.82 %, with a value of USD 734 M and USD 458.8 M respectively by 2020 (Tridge, 2021). Consumer acceptance of the fruit is due to its distinct flavor, sweetness, succulence and varied composition (carbohydrates,

Citation: Flores-Hernández BK, Arévalo-Galarza ML, San Miguel-Chávez R, Espinosa-Zaragoza S, Pérez-Díaz ND, Aguilar-Rincón VH. 2023. Post-harvest characteristics of mango fruits (*Mangifera* sp.) From Soconusco, Chiapas. *Agrociencia* 57(1): 22-55. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v57i1.2546>

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: January 11, 2022.
Approved: December 01, 2022.
Published in Agrociencia:
January 27, 2023.

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



phenolic acids, vitamins A, B₃, B₅, E, and K) with a nutraceutical role (Maldonado-Celis *et al.*, 2019).

In Mexico, mangoes have adapted well to the environmental conditions in the tropical zone; April and July are the months with the highest exports. 'Tommy Atkins', 'Haden', 'Kent', 'Keitt', 'Ataulfo', 'Manila' and creole mangoes are grown (SIAP, 2018). The Mexican state of Chiapas is characterized by favorable climatic and soil conditions for mango cultivation, with approximately 38 000 ha of which 84 % are planted with 'Ataulfo' (Mazariegos-Sánchez *et al.*, 2016; SIAP, 2019). However, there is a wide range of regionally-named mangoes with potential for marketing and genetic breeding improvement that are not being exploited. In the Soconusco region of Chiapas, several mango genotypes have been characterized, such as: 'Coche', 'Piña', 'Madura verde', 'Manzana', 'Manilón', 'Tapanero', 'Tecalote', 'Amate', 'Alcamfor', 'Oro', 'Amatillo', 'Pomarrosa', 'Canela', 'Blanco', 'Melocotón', 'Manililla', 'Cachetio', 'Pepino', 'Papaya', 'Agua', and 'Cuero', with different skin and pulp color shades and distinct flavors which make them attractive to local consumer, but no studies have been conducted to evaluate their post-harvest characteristics with the objective of determining their market potential (Gálvez-López *et al.*, 2007).

The consumption of fresh mangoes in the world has increased. In 2004, per capita consumption in the United States was 0.92 kg, and in 2013 it was 1.31 kg, representing a 4.24 % annual growth rate (USDA, 2014). Mango consumers prefer smaller fruits, with attractive skin color and different flavors, so it is important to know the post-harvest characteristics of outstanding mango genotypes from the Soconusco region in order to diversify the market supply. In this study, the postharvest quality variables of three types of outstanding Criollo mangoes ('Manililla', 'Cuero' and 'Manzana') were evaluated and compared with fruits of the 'Ataulfo' variety.

MATERIALS AND METHODS

Fruits at physiological maturity were harvested from trees with an average age of 20 years from different orchards in the Soconusco region, Chiapas. The fruits of 'Manililla' were harvested in the municipality of Mazatán (14° 56' 38" N, 92°30'6" W), 'Cuero' and 'Ataulfo' in the municipality of Huehuetán (15° 00' 43. 8" N, 92° 22' 39.8" W; 15°00'28.7" N, 92° 24'02.2" W, respectively) and those of 'Manzana' in the municipality of Tuzantán (15° 07'17.0" N, 92° 26'23.6" W). From each material, fifty fruits were harvested at physiological maturity and transferred to the Laboratory of Postharvest Physiology at the Colegio de Postgraduados, where they were selected for color, absence of damage and diseases. They were washed in a sodium hypochlorite solution (70 mg L⁻¹), dried and stored at 20 °C and 75 % RH. The evaluation of post-harvest quality parameters was carried out on 4 fruits every 2 days until consumption maturity. Each fruit shoulder was sampled once, for a total of eight replicates, except for the fruit weight, pulp/seed/epidermis ratio and weight loss variables in which each fruit was a replicate.

Variables evaluated

Fruit weight, pulp/seed/epidermis ratio and weight loss

To determine fruit weight and pulp/seed/epidermis ratio, 10 fruits were taken at day zero of storage. Weight loss was measured by weighing 20 fruits daily and reporting the losses as a percentage (%) of their initial weight. A digital balance with 0.001 g precision (Ex2200 Asep[®], A&D Company, Tokyo, Japan) was used.

Dry matter and moisture

A forced-air oven (Lab-Line Imperial[®], AM Inc; El Paso, TX, USA) was used to dry 500 mg of pulp in trays at 80 °C for 48 h, until constant weight. Subsequently, the dry matter content was calculated with the moisture percentage.

Epidermis and pulp color

For the color of both tissues, the reading was taken at the equatorial section of the fruit using a colorimeter (Ci60, X-rite; Grand Rapids[®], MI, USA), the values were expressed in L (lightness), C (chromaticity) and °H (Hue angle).

Titrateable acidity

Determined by the volumetric method (AOAC, 1990), 10 g of pulp were weighed and liquefied with 50 mL of distilled water. Three drops of phenolphthalein were added to a 5 mL aliquot of the mixture as an indicator for color change; it was subsequently titrated with NaOH (0.1N) to pH 8. The results were reported as citric acid percentage.

Total soluble solids

Determined by weighing 5 g of the middle section of the fruit pulp and placing them in a sieve to be squeezed. The juice drops were set on the optical sensor of a digital refractometer (300033, Sper Scientific; Milton Freewater[®], OR, USA); the results were expressed in °Brix (°Bx).

Total sugars

One gram of pulp was weighed and boiled with 50 mL of ethanol (80 % v v⁻¹), for 20 min. It was completely evaporated without caramelization and 50 mL of distilled water was added. From this homogenate, 1 mL was taken and made up to 3 mL with distilled water. To each tube, 6 mL of anthrone solution (0.04 %) in sulfuric acid was added, keeping the tubes in ice bath. Absorbance was measured at 600 nm in a spectrophotometer (Genesys 10 UV-Vis, Thermo Spectronic[®]; Madison, WI, USA). The blank was made with 3 mL of distilled water and 6 mL of the anthrone solution. A glucose standard curve was performed and the results were reported as g 100 g⁻¹ (Witham *et al.*, 1971).

Ascorbic acid

Based on the 2,6 dichlorophenol indophenol method (AOAC, 1990) in which 2 g of pulp were taken and homogenized in 20 mL of oxalic acid (5 %). Subsequently the mix was titrated with Tillman's solution until it turned pink. The results were expressed in mg 100 g⁻¹.

Chlorophyll and carotenoids

Obtained by weighting 0.1 g of pulp and macerating it in a mortar with 10 mL of acetone (80 %), which was then made up to 10 mL. The extract was centrifuged at 2000 × g for 20 min. Absorbances at 470, 646, and 663 nm were measured using a spectrophotometer (Genesys 10 UV-Vis, Thermo Spectronic®; Madison, WI, USA) (Figueroa-Cares *et al.*, 2010). Chlorophyll and carotenoid contents were calculated using the formulas of Lichtenthaler (1987) and expressed as mg 100 g⁻¹.

Firmness

It was determined with a texturometer (Chatillon DFE-050, Ametek®; Largo, FL, USA) equipped with a 7 mm diameter conical strut, by measuring the force required to penetrate the pulp in whole fruit after 1 cm of the epidermis was removed. Values are reported in Newtons (N).

Pectinmethyl esterase activity (PME)

Pectin supplied by Sigma-Aldrich® (Massachusetts, USA) was used to prepare a solution in water (1 %) and its pH was adjusted to 4 using NaOH (1 N); the solution was made up to 200 mL. Subsequently, the potentiometer was immersed in the solution, followed by the addition of 0.8 mL of enzyme extract (20 g pulp + 50 mL NaOH 0.2 N), and the time was registered. Using NaOH (0.01 N) for 10 minutes at 40 °C maintained the pH at 4 throughout the analysis. Finally, the amount of NaOH spent was calculated. The results were reported as mEq mL⁻¹ min (Rangana, 1979).

Phenolic acids and flavonoids in the epidermis

Extracts were obtained using the ultrasonic technique to identify and quantify flavonoids and phenolic acids in epidermis (Kim *et al.*, 2002). One gram of fresh frozen sample was placed in N₂ and macerated with the help of quartz sand supplied by Sigma-Aldrich® (Massachusetts, USA). They were then transferred to polypropylene tubes, 5 mL of aqueous methanol (80 %) were added and placed in a vortex shaker (VORTEX GENIE 2 SI-0236, Scientific Industries®; Madrid, Spain) for 1 min. They were then subjected to sonication in an ultrasonic bath (Emerson® Cpx2800h Branson, Danbury, CT, USA) for 30 min, giving a five-minute rest for every 10 min of sonication. Upon completion, they were centrifuged for 5 min at 5000 rpm in a centrifuge (Eppendorf 5804®, Hamburg, Germany). It was decanted and finally filtered using a nylon membrane (0.45 µm/13 mm). Extracts were stored in 1.5 mL amber glass vials (Agilent®) at 4 °C until analysis.

For the identification and quantification of flavonoids and phenolic acids, methanolic extracts were analyzed on a liquid chromatograph (Infinity 1220 series, Agilent Technologie, Santa Clara, CA, USA) at 30 °C, using a Hypersil® ODS-2 column (125 × 4 mm), 5 µm particle size with a water-acetonitrile mobile phase (65:35 v v⁻¹) and pH adjusted to 2.5 with trifluoroacetic acid. The sample injection volume was 20 µL at 1 mL min⁻¹ flow conditions and 114 bar pressure (Svedström *et al.*, 2006). The standards used for phenolic acids were: gallic, sinapic, p-hydroxybenzoic (pOHa), syringic, β-resorcylic, vanillic, 3,5-dihydroxybenzoic, ferulic, protocatechuic and p-coumaric; for flavonoids: rutin, catechin, myricetin, quercetin, naringenin and fletetin (Svedström *et al.*, 2006).

Statistical analysis

Data were expressed as mean ± standard deviation; they were compared by analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test ($\alpha = 0.05$), under a completely randomized design. All analyses were performed using SAS® version 9.0 software (SAS Institute, Cary, NC, USA) and the graphs were created with GraphPad Prism version 7.0. To visualize the differences in postharvest quality parameters, a heat map was created with the Rstudio pheatmap package version 4.1.0.

RESULTS AND DISCUSSION

Appearance of the epidermis and pulp

According to external appearance and post-harvest changes, genotypes reached consumption maturity at six days of storage (Figure 1). Gálvez-López *et al.*, (2007)



Figure 1. External appearance of skin color and morphological characteristics of mango genotypes according to days of storage.

mention that between the creole genotypes and the commercial varieties ('Ataúlfo', 'Kent' and 'Tommy Atkins') produced in Soconusco, Chiapas, there is a morphological similarity of 20 to 75 %, due to the fact that they share some progenitor due to genetic recombination.

At consumption maturity, the epidermis of all genotypes had an intense yellow tone. 'Manililla' and 'Cuero' presented °Hue values of 74.4 and 64.5 at day six of storage, while for 'Manzana' it was 81, with red hues on the shoulders making the epidermis more conspicuous. Similar values are reported for commercial cultivars such as 'Edward', 'Kent', 'Osteen' and 'Fabian' (79, 83, 82 and 80 °H, respectively) (Siller-Cepeda *et al.*, 2009). 'Manililla' and 'Ataulfo' presented higher values of chromaticity and luminosity on day six of storage, revealing a fainter color. Epidermis and pulp color have potential for commercial exploitation if targeted to specific markets, as there is a growing preference for mangoes with red epidermis (Human and Rhedder, 2004). Regarding flesh color on day six of storage, the genotypes presented an attractive yellow-orange hue in the flesh (Figure 2). There were no significant differences in the Hue angle tone. Chromaticity (C*) increased independently of genotype, with 'Cuero' fruit showing the highest values (70.6), visually distinguished by a better yellow-orange hue. In 'Cuero' and 'Manililla' the lightness (L*) values for day six of storage were lower and the flesh was darker unlike 'Manzana' and 'Ataúlfo', similar to those reported in the cultivar 'Alphonso' (56) at consumption maturity (Nambi *et al.*, 2016).

Fruit weight, pulp/seed/epidermis ratio and weight loss

NMX-FF-058-SCFI-2006 8/20 classifies mango fruit into different sizes, indicating the number of fruits per 10 lb (4.536 kg) box. According to this standard, 'Manzana' and



Figure 2. Color of A: epidermis; B: pulp, of four mango (*Mangifera* sp.) genotypes from Soconusco, Chiapas, at days 0 and 6 of storage.

'Cuero' fruits are classified as size fourteen with a weight range of 305–349 g (Figure 3). 'Manililla' was characterized as a small fruit (CODEX STAN 184-1993) that is ideal for marketing in size 20 (227–233 g), but does not meet international market demand standards for medium (250–323 g) and large (600 g) sizes (Méndez *et al.*, 2010). Breeding studies have been conducted in India focusing on mango genetic diversity, as market demand shifts towards smaller sized fruits with the characteristics that a heavier fruit can offer (Kulkarni *et al.*, 2019). On average, the materials evaluated contained 77.5 % of their weight in pulp, with the remainder made up of epidermis and seed (Figure 3). Fruits of commercial cultivars, such as 'Gaylour' produced in Hawaii and 'Ah ping' from Egypt, weigh between 348 and 500 g, with pulp percentage between 60 and 90 % of their total weight (Lu, 2018). Regarding the percentage of epidermis and seed, values were low (20-25 %) compared to 'Haden' and 'Tommy Atkins', which recorded weights from 400 to 600 g, with 40 % of their weight divided between seed and epidermis on average (Vega-Vega *et al.*, 2013). However, it is important to note that all the creole fruits had larger seed than 'Ataulfo' (Figure 3). Regarding weight loss, the fruit of 'Cuero' showed the greatest decrease after six days of storage (18.79 % of its initial weight, with losses of 3 % per day), followed by 'Manililla' (12.26 %, 2 % per day). The fruits of 'Manzana' were similar to 'Ataulfo', with average daily losses of 1.7 %. In fruits of genotypes 'Chokanan', 'Golden Phoenix' and 'Water Lily' (Malaysian varieties), daily weight losses of approximately 1.12 % have been reported (Lawson *et al.*, 2019). The genotypes had an average dry matter content of 17.6 %. This value is comparable to the dry matter percentage used as harvest index for the cultivar 'Mahajaneka' (16.89–19.22 %) when it reaches eating maturity with the development of all organoleptic characteristics (Saranwong *et al.*, 2004). Famiani *et al.* (2012) mention that fruits with high dry matter content have higher specific weight and may have higher sugar and organic acid content, which is another quality indicator.

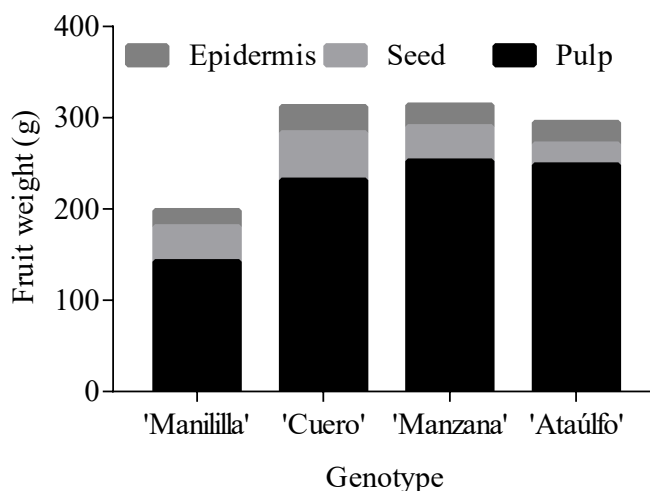


Figure 3. Fruit weight (g) and pulp/seed/epidermis ratio of mango (*Mangifera* sp.) genotypes from Soconusco, Chiapas. n = 10.

Titratable acidity (TA) and total soluble solids (TSS)

NMX-FF-058-SCFI-2006 8/20 for 'Ataúlfo' mentions a minimum acceptable value of 2.9 °Bx at physiological maturity, with fruits of all genotypes having a value of 7.7 °Bx at harvest. 'Manililla' fruits increased 58 % TSS during storage while TA decreased 86 % (Figure 4A). In 'Cuero', they had a 67.5 % increase in TSS, and a decrease in acidity of 74.8 % (Figure 4B), with significant changes from the second day of evaluation. 'Manzana' had no significant statistical differences ($p > 0.05$) in the first days and showed the least increase in TSS (Figure 4C). The genotypes studied comply with the values of 10 to 20 °Bx for ripe mangoes for export. Indian cultivars ('Alphonso' and 'Banganapalli') have reported 19.3 and 16.5 °Bx, and 0.3 and 0.1 % TA at consumption maturity, respectively (Nambi *et al.*, 2015). As for the TSS/TA ratio at day six of storage, the fruits of 'Cuero' and 'Manililla' presented an average value of 67, while for 'Manzana' and 'Ataúlfo' it was 32. The fruits of 'Cuero' and 'Manililla' are less acidic, with an attractive flavor because these values represent their palatability. Siller-Cepeda *et al.* (2009) reported a TSS/acidity ratio in 'Ataulfo' and 'Haden' of 33.64 and 23.71, respectively, similar to those obtained in 'Ataulfo' and 'Manzana'.

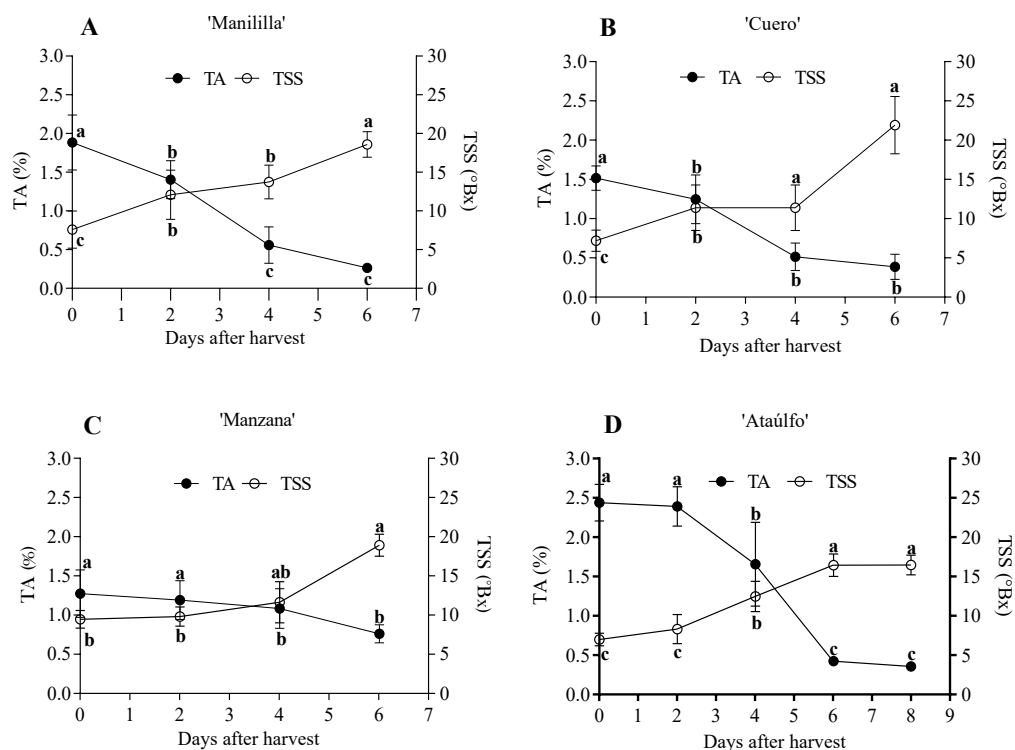


Figure 4. Changes in titratable acidity and total soluble solids of fruits in four mango genotypes (*Mangifera* sp.) from Soconusco, Chiapas. A: 'Manililla'; B: 'Cuero'; C: 'Manzana'; D: 'Ataúlfo' (20 °C and 75 % RH). Values with different letters indicate statistically significant differences (Tukey, $p \leq 0.05$) for each mango genotype. $n = 8 \pm$ standard deviation. TA (%): Titratable acidity; TSS (°Bx): Total soluble solids.

Total sugars

Sucrose is the predominant sugar in mango fruits (70 %), while the remaining proportion corresponds to fructose and glucose. At day six of storage, there were no significant statistical differences ($p \leq 0.05$) with values in 'Ataúlfo' (24.6 g 100 g⁻¹), 'Manililla' (25 g 100 g⁻¹), 'Cuero' (27.2 g 100 g⁻¹) and 'Manzana' (30.3 g 100 g⁻¹). These values are similar to those found in fruits of 'Ataúlfo', 'Manila', 'Criollo', and 'Irwin' (27.1, 21.7, 16.4, 31.0 g 100 g⁻¹, respectively) harvested in Guerrero, Mexico (Maldonado-Astudillo *et al.*, 2016).

Firmness and enzymatic activity of pectinmethyl esterase (PME)

Firmness is a variable considered to be one of the main quality attributes of the fruit. This is relevant because in quarantine situations, fruits are subjected to hydrothermal treatment (Luna-Esquivel *et al.*, 2006). The fruits of 'Manililla' and 'Cuero' (Figure 5A and B) showed 50% less firmness than 'Manzana' and 'Ataúlfo' (Figure 5C and 5D) during storage. 'Manzana' and 'Ataúlfo' have an advantage in packing and logistics practices due to the resistance that confers them high firmness values (Luna-Esquivel *et al.*, 2006).

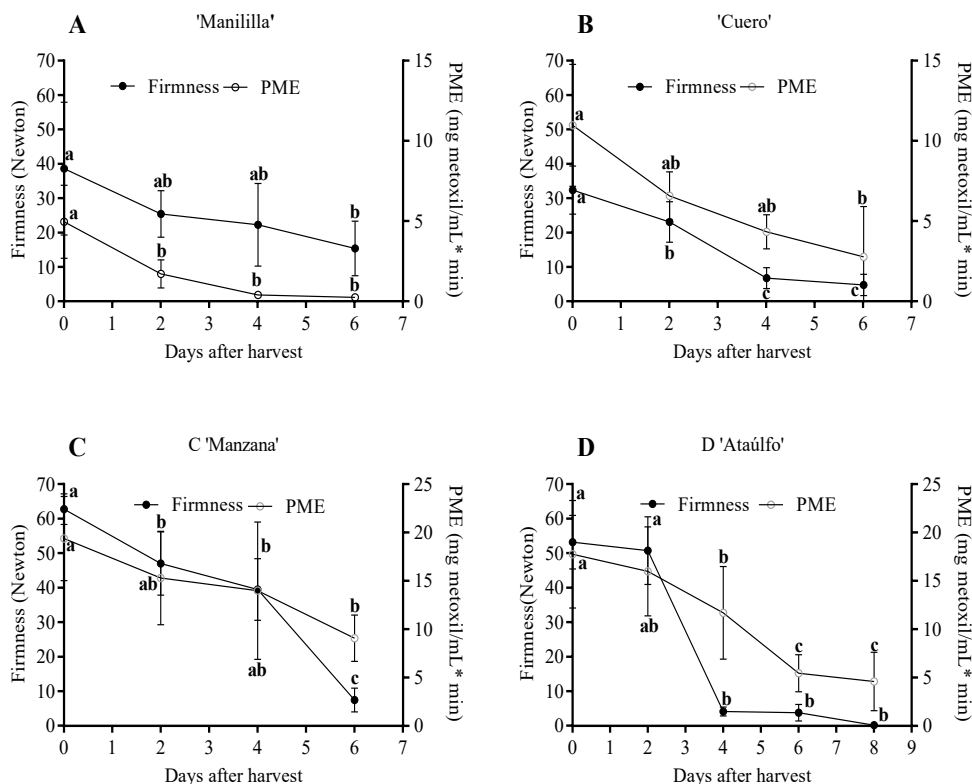


Figure 5. Changes in firmness and pectinmethyl esterase (PME) activity in fruits of four mango (*Mangifera* sp.) genotypes from Soconusco, Chiapas, during storage (20 °C and 75 % RH). A: 'Manililla'; B: 'Cuero'; C: 'Manzana'; D: 'Ataúlfo'. Values with different letters indicate statistically significant differences (Tukey, $p \leq 0.05$) for each mango genotype. $n = 8 \pm$ standard deviation.

Regarding PME activity, it catalyzes the hydrolysis of C-6 methyl esters of galacturonic acid residues, resulting in the demethylation of pectins facilitating the degradation of pectic polymers and the action of endopolygalacturonases that contribute to cell wall relaxation (Diaz-Cruz *et al.*, 2016; Khaliq *et al.*, 2017). Increased PME activity precedes the drop in firmness in all genotypes (Figure 5). The fruits of 'Manzana' and 'Ataúlfo' presented higher enzymatic activity related to higher firmness, however, it is interesting that the fruits of the former maintain firmness two days longer than 'Ataúlfo', which is interesting considering that the fruits are subjected to hydrothermal treatment where the loss of firmness is a factor of deterioration. Luna-Esquivel *et al.* (2006) report that this treatment causes a 50 % loss in fruit firmness of the 'Ataúlfo' variety.

Ascorbic acid

The initial ascorbic acid content in 'Cuero' was 81.4 mg 100 g⁻¹, while 'Ataulfo' had 61.4 mg 100 g⁻¹, 'Manililla' with 32.8 mg 100 g⁻¹ with the lowest content, and 'Manzana' with 48.9 mg 100 g⁻¹. Ascorbic acid is easily oxidized when exposed to different factors such as high temperatures, some divalent cations (copper or iron), oxygen, alkaline pH, light or degradative enzymes. These values are within the average reported for mango, with 36.4 mg 100 g⁻¹ of vitamin C (Lebaka *et al.*, 2021). During the ripening process, ascorbic acid degradation normally occurs, with the 'Manililla' fruit showing the least degradation at day six of storage (15 %). Hu *et al.* (2018) showed ascorbic acid losses in different mango cultivars such as 'Keitt' (163.94–46.87 mg 100 g⁻¹), 'Sensation' (176.03–29.34 mg 100 g⁻¹) and 'Xiangya' (160.35–30.84 mg 100 g⁻¹) with high degradation percentages (71, 83 and 80 %, respectively).

Phenolic acids and flavonoids in the epidermis

Regarding phenolic acid content, mangoes contain two main categories of phenolic acids: hydroxybenzoic acid and hydroxycinnamic acid derivatives. These phenolic acids can occur in free forms or conjugated with glucose or quinic acid (Burton-Freeman *et al.*, 2017). Mango epidermis contains significant amounts of dietary fiber (45–78 %), phenolic acids, flavonoids, xanthenes, carotenoids, vitamin C and tocopherol. The hydroxybenzoic acids detected in mango are gallic acid, vanillic acid, syringic acid, protocatechuic acid, and *p*-hydroxybenzoic acid (*p*OHa). The hydroxycinnamic acid derivatives found include *p*-coumaric, chlorogenic, ferulic and caffeic acids (Ediriweera *et al.*, 2017). In pulp, Palafox-Carlos *et al.* (2012) identified chlorogenic, gallic, vanillic and protocatechuic acids in mango pulp by HPLC-DAD.

The content and characteristics of phenolic acids depend on cultivar and maturity stage (Corrales-Bernal *et al.*, 2014). In this study, 10 phenolic acids were identified in mango epidermis, predominantly: gallic, *p*-coumaric, *p*-oligohyaluronic, syringic and vanillic acids. On day zero of storage, the creole genotypes presented higher phenolic acid content than the 'Ataúlfo' variety with significant statistical differences ($p \leq 0.05$), which presented a higher incidence of anthracnose with the exception of 'Manililla'.

However, this behavior is similar to ‘Golden Delicious’ and ‘Jonagold’ apple cultivars infected by *Venturia inaequalis*, where infected tissue presented higher phenolic acid content (114.1 mg 100 g⁻¹ DW) compared to non-infected tissue, which presented 91.4 mg 100 g⁻¹ DW (Mikulič-Petkovšek *et al.*, 2009). The production and accumulation of phenolic acids occur in healthy cells surrounding infected cells, and are stimulated by damaged cells. Phenolic acids can oxidize and react with proteins, causing a loss of enzymatic function and restricting pathogen viability, or they can be deposited within the cell wall as an important first line of plant defense against infection (Agrios, 2005). Gallic acid has the highest content in the mango epidermis. In different mango varieties at consumption maturity, the presence of higher contents of gallic (72.0–1450 mg 100 g⁻¹ FW), protocatechuic (3.9–64.3 mg 100 g⁻¹ FW) and chlorogenic (4.4–27.1 mg 100 g⁻¹ FW) acids has been observed (Ramirez *et al.*, 2014; Abbasi *et al.*, 2015). In the case of ‘Manililla’ and ‘Ataúlfo’, total phenolic acids increased on the sixth day; gallic acid was found in higher concentration in the fruits of ‘Manililla’, ‘Cuero’ and ‘Ataúlfo’, while ‘Manzana’ presented a lower content and its susceptibility to anthracnose was higher (Table 1).

Table 1. Phenolic acid content in the fruit epidermis of four mango (*Mangifera* sp.) genotypes from Soconusco, Chiapas, at days 0 and 6 of storage (20 ± 2 °C and 60 % RH).

Phenolic acids (mg 100 g ⁻¹ FW)	Day	Genotype			
		‘Manililla’	‘Cuero’	‘Manzana’	‘Ataúlfo’
Sinapic	0	0.08 ± 0.01 b	0.14 ± 0.00 a	0.13 ± 0.00 a	0.09 ± 0.00 b
	6	0.17 ± 0.00 a	0.14 ± 0.01 ab	0.14 ± 0.01 ab	0.11 ± 0.00 b
<i>p</i> OHa	0	0.05 ± 0.00 c	3.64 ± 0.48 a	1.16 ± 0.24 b	0.04 ± 0.02 c
	6	ND	4.08 ± 1.01 a	1.17 ± 0.37 b	0.72 ± 0.05 b
Siringic	0	0.65 ± 0.02 ab	0.61 ± 0.00 bc	0.66 ± 0.00 a	0.60 ± 0.00 c
	6	0.68 ± 0.00 a	0.60 ± 0.00 b	0.69 ± 0.02 a	0.68 ± 0.03 a
β-resorcylic	0	ND	0.23 ± 0.02 a	0.15 ± 0.005 b	ND
	6	ND	0.18 ± 0.03 a	0.14 ± 0.01 a	0.18 ± 0.06 a
Ferulic	0	0.05 ± 0.01 b	0.09 ± 0.01 a	0.06 ± 0.01 ab	0.05 ± 0.00 b
	6	0.08 ± 0.00 a	0.07 ± 0.01 a	0.08 ± 0.02 a	0.07 ± 0.00 a
3,5-diOHbenzoic	0	0.17 ± 0.03 ab	0.11 ± 0.01 b	0.13 ± 0.01 b	0.30 ± 0.10 a
	6	0.22 ± 0.01 b	0.09 ± 0.00 d	0.15 ± 0.01 c	0.36 ± 0.03 a
Gallic	0	4.93 ± 1.08 a	3.91 ± 0.37 a	1.20 ± 0.14 b	2.08 ± 0.23 b
	6	8.27 ± 0.25 a	3.57 ± 1.19 b	1.35 ± 0.26 c	2.98 ± 0.53 bc
<i>p</i> -coumaric	0	0.31 ± 0.12 b	0.24 ± 0.06 b	0.24 ± 0.01 b	0.57 ± 0.07 a
	6	0.47 ± 0.09 a	0.20 ± 0.02 b	0.22 ± 0.03 b	0.19 ± 0.07 b
Protocatechuic	0	0.19 ± 0.000 b	0.28 ± 0.03 a	0.23 ± 0.01 ab	0.24 ± 0.00 ab
	6	0.20 ± 0.01 b	0.23 ± 0.00 ab	0.22 ± 8.7 ab	0.24 ± 0.00 a
Vanillic	0	0.15 ± 0.09 b	0.21 ± 0.04 b	0.55 ± 0.04 a	0.04 ± 0.00 b
	6	0.21 ± 0.08 b	0.28 ± 0.08 b	0.60 ± 0.6 a	0.33 ± 0.05 b
Total	0	6.58 ± 0.13	9.46 ± 0.10	4.51 ± 0.04	4.01 ± 0.04
	6	10.3 ± 0.04	9.44 ± 0.23	4.76 ± 0.06	5.86 ± 0.07

Values with different letters in the same row indicate statistically significant differences (Tukey, *p* ≤ 0.05). n = 3 ± standard deviation. ND: Not detected

The flavonoids present in mango are: catechins, quercetin, kaempferol, rhamnetin, anthocyanins, tannic acid, and xanthones such as mangiferin (Masibo and Quian, 2008). On days zero and six of storage, catechin and rutin predominated in the epidermis of mango fruits. 'Ataulfo' presented the highest flavonoid content at day zero, which increased at day 6 to 152.43 mg 100 g⁻¹. However, only four of the six flavonoids identified in the creole genotypes could be quantified. On day six, 'Manililla' presented the highest flavonoid content, significantly higher than the rest of the creole genotypes. Generally, these molecules are involved in protecting plants from ultraviolet radiation, reactive oxygen species (ROS) and pathogen attack (Sudheeran *et al.*, 2020). According to research on 23 black currant (*Ribes nigrum*) cultivars with varying degrees of infection caused by black currant leaf spot (*Drepanopeziza ribis*) and leaf spot (*Septoria ribis*), cultivars with severe symptoms of leaf spot infection had high levels of hydroxycinnamic acids, epicatechin (6.31 mg 100 g⁻¹) and myricetin (6.5 mg 100 g⁻¹). While cultivars with minimal symptoms of leaf spot infection were detected, higher contents of kaempferol glycosides (38.4 mg 100 g⁻¹) and quercetin were found (1.3 mg 100 g⁻¹) (Mikulič-Petkovšek *et al.*, 2013). Based on the above, the total flavonoid content was also lower in 'Manzana' fruits which may partly explain its susceptibility to disease; however, further studies are needed (Table 2).

Fruits were grouped in a heat map according to their postharvest characteristics (Figure 6); at day zero, 'Cuero' and 'Ataulfo' fruits were similar in soluble solids/acidity ratio, as well as in firmness and sugar content. However, at day six, the 'Manzana' and 'Ataulfo' fruits were the most similar in firmness, skin color, pulp content, and ascorbic

Table 2. Flavonoid content in fruit epidermis of four mango (*Mangifera* sp.) genotypes from Soconusco, Chiapas, at days 0 and 6 of storage (20 ± 2 °C and 60 % RH).

Flavonoids (mg 100 g ⁻¹ FW)	Day	Genotype			
		'Manililla'	'Cuero'	'Manzana'	'Ataulfo'
Rutin	0	1.26 ± 0.22 b	2.53 ± 0.07 a	0.95 ± 0.12 b	1.40 ± 0.001 b
	6	3.0 ± 0.09 a	2.33 ± 0.11 b	0.49 ± 0.02 c	2.05 ± 0.15 b
Quercetin	0	0.48 ± 0.04 b	0.17 ± 0.00 c	0.14 ± 0.01 c	0.83 ± 0.06 a
	6	0.23 ± 0.03 b	0.13 ± 0.00 c	0.14 ± 0.00 c	2.26 ± 0.001 a
Catechin	0	21.43 ± 1.32 b	20.93 ± 1.90 b	22.68 ± 0.95 b	62.23 ± 4.86 a
	6	157.55 ± 6.68 a	26.41 ± 1.73 b	38.91 ± 2.32 b	148.11 ± 2.13 a
Myricetin	0	0.30 ± 0.03 a	0.21 ± 0.01 b	0.16 ± 5.9 b	ND
	6	0.50 ± 0.00 a	0.16 ± 0.02 b	0.15 ± 0.01 b	ND
Naringenin	0	0.12 ± 0.00 b	0.12 ± 0.00 b	ND	0.99 ± 0.001 a
	6	0.12 ± 0.00 a	0.12 ± 0.00 a	0.11 ± 0.00 b	ND
Floretin	0	0.11 ± 0.00 a	0.10 ± 0.00 b	ND	ND
	6	0.10 ± 0.00 a	0.10 ± 0.00 a	0.09 ± 0.00 a	ND
Total	0	23.7 ± 0.26	24.06 ± 0.33	23.93 ± 1.16	65.45 ± 0.82
	6	161.5 ± 1.33	29.25 ± 0.31	39.89 ± 0.39	152.42 ± 0.38

Values with different letters in the same row indicate statistically significant differences (Tukey, $p \leq 0.05$). n = 3 ± standard deviation. ND: Not detected

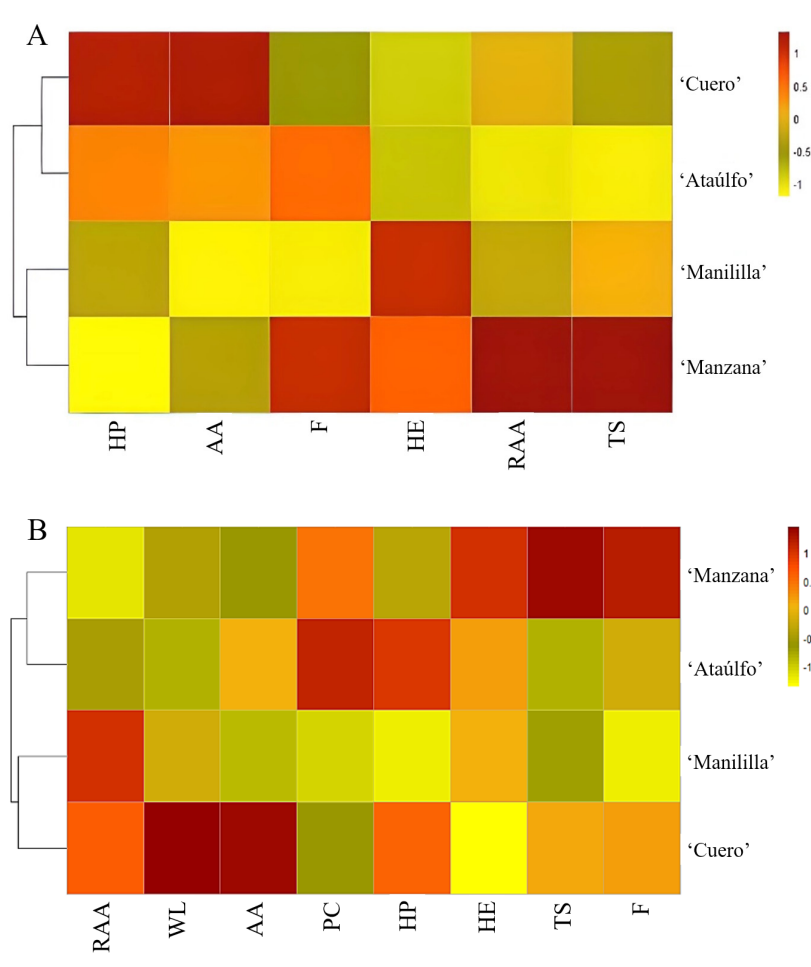


Figure 6. Fruit grouping of four mango (*Mangifera* sp.) genotypes from Soconusco, Chiapas, based on postharvest quality parameters. A: day 0; B: day 6; PC: pulp content; F: firmness; WL: Weight loss; HE: °hue epidermis; HP: °hue pulp; RAA: ratio of total soluble solids to titratable acidity; TS: total sugars; AA: ascorbic acid.

acid. It is important to highlight that the fruits of 'Ataúlfo' have a longer shelf life and significantly lower weight loss than other genotypes, making it an attractive variety. Even so, the fruits of 'Manzana' were distinguished by their greater firmness and color intensity of the pulp and epidermis. Furthermore, the high flavonoid content in the epidermis of 'Manililla' makes them materials for future studies and candidates for genetic improvement in order to diversify the mango supply.

CONCLUSIONS

Mango fruits of the genotypes 'Manzana' and 'Cuero' belong to the same commercial classification as 'Ataúlfo' according to NOM-188-SCFI-2012. It is important to note that 'Manzana' fruits have similar weight, TSS/AT balance and firmness, and that they

can compete with 'Ataúlfo' fruits. However, 'Cuero' fruits showed significantly higher weight losses, which reduced their shelf life. The fruits of 'Manililla' and 'Ataúlfo' were outstanding for their high flavonoid content in the epidermis, which offers resistance to pathogen attack. This information can be useful for growers and breeders to identify desirable traits and expand the mango supply in the market.

REFERENCES

- Abbasi AM, Guo X, Fu X, Zhou L, Chen Y, Zhu Y, Yan H, Liu RH. 2015. Comparative assessment of phenolic content and *in vitro* antioxidant capacity in the pulp and peel of mango cultivars. *International Journal of Molecular Sciences* 16 (12): 13507–13527. <https://doi.org/10.3390/ijms160613507>
- Agrios G. 2005. *Introducción a la Fitopatología*. Fitopatología (Segunda edición). Editorial Limusa Noriega: Ciudad de México, México, pp: 3–36.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists* (15th edition). Association of Official Analytical Chemists: Arlington, VA, USA. pp: 1058–1059.
- Burton-Freeman BM, Sandhu AK, Edirisinghe I. 2017. Mangos and their bioactive components: adding variety to the fruit plate for health. *Food and Function* 8 (9): 3010–3032. <https://doi.org/10.1039/C7FO00190H>
- CODEX. CODEX-STAN-184-1993. 2005. <http://www.colpos.mx/bancodenormas/ninternacionales/CODEX-STAN-184-1993.pdf> (Recuperado: diciembre 2020).
- Corrales-Bernal A, Maldonado ME, Urango LA, Franco MC, Rojano BA. 2014. Mango de azúcar (*Mangifera indica* L.) variedad de Colombia: características antioxidantes, nutricionales y sensoriales. *Revista Chilena de Nutrición* 41 (3): 312–318. <https://doi.org/10.4067/s0717-75182014000300013>
- Díaz-Cruz CA, Regalado C, Morales-Sánchez E, Velázquez G, Amaya-Llano S. 2016. Determinación de actividad de pectin metilesterasa parcialmente purificada de bagazo y pulpa de mango (*Mangifera indica* L.) var. Keitt. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos* 1 (1): 406–410.
- Ediriweera MK, Tennekoon KH, Samarakoon SR. 2017. A Review on ethnopharmacological applications, pharmacological activities and bioactive compounds of mango. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2017: 1–24. <https://doi.org/10.1155/2017/6949835>
- Famiani F, Baldicchi A, Farinelli D, Cruz-Castillo JG, Marocchi F, Mastroleo M, Moscatello S, Proietti S, Battistelli A. 2012. Yield affects qualitative kiwifruit characteristics and dry matter content may be an indicator of both quality and storability. *Scientia Horticulturae* 146: 124–130. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.08.009>
- Gálvez-López D, Adriano-Anaya ML, Villarreal-Treviño C, Mayek-Pérez N, Salvador-Figueroa M. 2007. Diversidad isoenzimática de mangos criollos de Chiapas, México. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 13 (1): 71–76.
- Hu K, Dars AG, Liu Q, Xie B, Sun Z. 2018. Phytochemical profiling of the ripening of chinese mango (*Mangifera indica* L.) cultivars by real-time monitoring using UPLC-ESI-QTOF-MS and its potential benefits as prebiotic ingredients. *Food Chemistry* 256: 171–180. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.014>
- Human CF, Rhedder S. 2004. Mango breeding: results and successes. *Acta Horticulturae* 645: 331–335. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2004.645.39>
- Khaliq G, Nisa M, Ramzan M, Koondhar N. 2017. Textural properties and enzyme activity of mango (*Mangifera indica* L.) fruit coated with chitosan during storage. *Journal of Agricultural Studies* 5 (2): 32–50. <https://doi.org/10.5296/jas.v5i2.10946>
- Kim DO, Lee KW, Lee HJ, Lee CY. 2002. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolics phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (13): 3713–3717. <https://doi.org/10.1021/jf020071c>
- Kulkarni MM, Burondkar MM, Dalvi NV, Salvi BR, Haldankar PM, Bhattacharyya T. 2019. Mango fruit size diversity found in Konkan. *Advanced Agricultural Research and Technology Journal* 3 (1): 43–46.

- Lawson T, Lycett GW, Ali A, Chin CF. 2019. Characterization of Southeast Asia mangoes (*Mangifera indica* L.) according to their physicochemical attributes. *Scientia Horticulturae* 243: 189–196. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.08.014>
- Lebaka VR, Wee YJ, Ye W, Korivi M. 2021. Nutritional composition and bioactive compounds in three different parts of mango fruit. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 18 (2): 741. <https://doi.org/10.3390/ijerph18020741>
- Lichtenthaler HK. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomenbranes. *Methods in Enzymology* 148: 350–382.
- Luna-Esquivel G, Arévalo-Galarza ML, Anaya-Rosales S, Villegas-Monter A, Acosta-Ramos M, Leyva-Ruelas G. 2006. Calidad de mango 'Ataulfo' sometido a tratamiento hidrotérmico. *Revista Fitotecnia Mexicana* 29 (2): 123–128.
- Maldonado-Astudillo YI, Navarrete-García HA, Ortiz-Morales ÓD, Jiménez-Hernández J, Salazar-López R, Alia-Tejacal I, Álvarez-Fitz P. 2016. Propiedades físicas, químicas y antioxidantes de variedades de mango crecidas en la costa de Guerrero. *Revista Fitotecnia Mexicana* 39 (3): 207–214.
- Maldonado-Celis ME, Yahia EM, Bedoya R, Landázuri P, Loango N, Aguillón J, Restrepo B, Guerrero-Ospina JC. 2019. Chemical composition of mango (*Mangifera indica* L.) fruit: nutritional and phytochemical compounds. *Frontiers in Plant Science* 10: 1073. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01073>
- Masibo M, Qian H. 2008. Major mango polyphenols and their potential significance to human health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 7 (4): 309–319. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2008.00047.x>
- Mazariegos-Sánchez A, Milla-Sánchez AI, Martínez-Chávez J, Águila-González JM, Villanueva-Vázquez KE. 2017. Identificación del sistema local de comercialización del mango Ataulfo en el municipio de Huehuetán, Chiapas. *Revista Mexicana de Agronegocios* 40: 571–582.
- Méndez R, Quijada O, Castellano G, Burgos ME, Camacho R, Marin C. 2010. Características físicas y químicas de frutos de trece cultivares de mango (*Mangifera indica* L.) en el municipio Mara en la planicie de Maracaibo. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 10 (2): 65–72.
- Mikulič-Petkovšek M, Slatnar A, Schmitzer V, Štampar F, Veberič R, Koron D. 2013. Chemical profile of black currant fruit modified by different degree of infection with black currant leaf spot. *Scientia Horticulturae* 150, 399–409. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.11.038>
- Mikulič-Petkovšek M, Štampar F, Veberič R. 2009. Accumulation of phenolic compounds in apple in response to infection by the scab pathogen, *Venturia inaequalis*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 74 (1): 60–67. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2009.09.003>
- Nambi VE, Thangavel K, Jesudas DM. 2015. Scientific classification of ripening period and development of colour grade chart for Indian mangoes (*Mangifera indica* L.) using multivariate cluster analysis. *Scientia Horticulturae* 193: 90–98. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.05.031>
- Nambi VE, Thangavel K, Rajeswari KA, Manickavasagan A, Geetha V. 2016. Texture and rheological changes of Indian mango cultivars during ripening. *Postharvest Biology and Technology* 117: 152–160. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.02.009>
- NMX-FF-058-SCFI-2006 8/20. Norma Oficial Mexicana. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano – Fruta Fresca – Mango (*Mangifera indica* L.). <http://www.economia-nmx.gob.mx/normas/nmx/2006/nmx-ff-058-scfi-2006.pdf> (Recuperado: abril 2020).
- Palafox-Carlos H, Yahia EM, González-Aguilar GA. 2012. Identification and quantification of major phenolic compounds from mango (*Mangifera indica*, cv. Ataulfo) fruit by HPLC–DAD–MS/MS–ESI and their individual contribution to the antioxidant activity during ripening. *Food Chemistry* 135 (1): 105–111. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.103>
- Ramírez J, Zambrano R, Sepúlveda B, Simirgiotis M. 2014. Antioxidant properties and hyphenated HPLC–PDA–MS profiling of Chilean Pica mango fruits (*Mangifera indica* L. cv. piqueño). *Molecules* 19 (1): 438–458. <https://doi.org/10.3390/molecules19010438>
- Rangana, S. 1979. *Manual of Analysis of Fruits and Vegetables products*. Tata McGraw Hill Publishing Company Limited: New Delhi, India. 20 p.

- Saranwong S, Sornsrivichai J, Kawano S. 2004. Prediction of ripe-stage eating quality of mango fruit from its harvest quality measured nondestructively by near infrared spectroscopy. *Postharvest Biology and Technology* 31 (2): 137–145. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2003.08.007>
- SAS (Statistical Analysis System). 2004. SAS/STAT users guide. Version 9.1. SAS Institute Inc. Cary NC, U.S.A. 5121 p.
- Lu P. 2018. Achieving sustainable cultivation of mangoes. Burleigh Dodds Science Publishing Limited: Sawston, UK. 570 p.
- SIAP (Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera). 2018. Avance de siembras y cosechas resumen nacional por estado. http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/AvanceNacionalCultivo.do (Recuperado: abril 2020).
- SIAP (Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera). 2019. Anuario estadístico de la producción agrícola. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> (Recuperado: abril 2020).
- Siller-Cepeda J, Muy-Rangel D, Báez-Sañudo M, Araiza-Lizarde E, Ireta-Ojeda A. 2009. Calidad poscosecha de cultivares de mango de maduración temprana, intermedia y tardía. *Revista Fitotecnia Mexicana* 32 (1): 45–52.
- Sudheeran PK, Ovidia R, Galsarker O, Maoz I, Sela N, Maurer D, Feygenberg O, Shamir M, Alkan N. 2020. Glycosylated flavonoids: fruit's concealed antifungal arsenal. *New Phytologist* 225 (4): 1788–1798. <https://doi.org/10.1111/nph.16251>
- Svedström U, Vuorela H, Kostianen R, Laakso I, Hiltunen R. 2006. Fractionation of polyphenols in hawthorn into polymeric procyanidins, phenolic acids and flavonoids prior to high-performance liquid chromatographic analysis. *Journal of Chromatography A* 1112: 103–111. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.12.080>
- Tridge. 2021. Top exporting countries of fresh mango. <https://www.tridge.com/es/intelligences/mango> (Recuperado: septiembre 2021)
- USDA (United States Department of Agriculture). 2014. Data sets: fruit and tree nuts yearbook, data tables. <http://usda.mannlib.cornell.edu/MannUsda/viewDocumentInfo.do?documentID=1377> (Recuperado: abril 2020).
- Vega-Vega V, Silva-Espinoza BA, Cruz-Valenzuela MR, Bernal-Mercado AT, González-Aguilar GA, Ruiz-Cruz S, Moctezuma E, Siddiqui MD, Ayala-Zavala JF. 2013. Antimicrobial and antioxidant properties of byproduct extracts of mango fruit. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 86 (1): 205–211. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2013.086.028>
- Witham FH, Blaydes DF, Devlin RM. 1971. Experiments in Plant Physiology. Van Nostrand Reinhold Company: New York, NY, USA, pp: 55–58.

CARACTERÍSTICAS POSTCOSECHA DE FRUTOS DE MANGO (*Mangifera* sp.) PROCEDENTES DEL SOCONUSCO, CHIAPAS

Berenice Karina Flores-Hernández¹, Ma. de Lourdes Arévalo-Galarza^{1*}, Rubén San Miguel-Chavez²,
Saúl Espinosa-Zaragoza³, Noé Delfino Pérez-Díaz³, Víctor Heber Aguilar-Rincón¹

¹ Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Recursos Genéticos y Productividad. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56264.

² Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Posgrado en Botánica. Carretera México- Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56264.

³ Universidad Autónoma de Chiapas. Facultad de Ciencias Agrícolas Campus IV. Entronque Carretera Costera y Estación Huehuetán, Chiapas, México. C. P. 30660.

* Autor para correspondencia: larevalo@colpos.mx

RESUMEN

El mango (*Mangifera indica* L.) es el segundo fruto tropical de mayor importancia en el mundo. En la región del Soconusco, Chiapas, México, existen un gran número de genotipos de mango de gran diversidad de formas, sabores y aromas, con potencial para incrementar su cultivo. Por ello, se evaluaron las características postcosecha de tres genotipos de mango criollo 'Manillilla', 'Cuero' y 'Manzana', y se compararon con la variedad la variedad 'Ataúlfo'. Se cosecharon 50 frutos de cada genotipo y se almacenaron a 20 °C y 75 % humedad relativa; se evaluaron características de calidad (relación epidermis/semilla/pulpa, pérdida de peso, color, firmeza, °Bx, acidez titulable, ácido ascórbico, actividad enzimática de pectimetilesterasa, contenido de ácidos fenólicos y flavonoides en epidermis), bajo un diseño completamente al azar. Los resultados mostraron que los frutos de 'Manillilla' y 'Cuero' tuvieron pérdidas de peso significativamente mayores, mientras que 'Manzana' y 'Ataúlfo' fueron semejantes en contenido de pulpa. Los genotipos criollos 'Cuero' y 'Manzana' tuvieron un atractivo color amarillo-anaranjado, con matiz rojo en los hombros y naranja en la pulpa. La relación SST/AT en 'Manillilla' y 'Cuero' (71.1 y 62.6, respectivamente), fue significativamente mayor con relación a 'Ataúlfo' (39.1) debido a la baja acidez. 'Manzana' tuvo mayor contenido de azúcares totales (30.3 g 100 g⁻¹) y mantuvo mayor firmeza a los seis días de almacenamiento (dda). 'Cuero' presentó mayor pérdida de peso y mayor contenido de ácido ascórbico, 32 % más que 'Ataúlfo'. Los frutos de 'Manzana' fueron similares a 'Ataúlfo' en contenido de pulpa, con menor pérdida de peso y mayor firmeza, lo que lo hace atractivo para su comercialización.

Palabras clave: Recursos fitogenéticos, genotipos sobresalientes, calidad postcosecha, vida de anaquel.

INTRODUCCIÓN

El mango (*Mangifera indica* L.) es uno de los frutos tropicales de mayor importancia comercial en el mundo, siendo Tailandia el principal país exportador con 18.91 % del mercado mundial, seguido de México con 11.82 %, teniendo

Citation: Flores-Hernández BK, Arévalo-Galarza ML, San Miguel-Chávez R, Espinosa-Zaragoza S, Pérez-Díaz ND, Aguilar-Rincón VH. 2023. Características postcosecha de frutos de mango (*Mangifera* sp.) procedentes del Soconusco, Chiapas. *Agrociencia* 57(1): 22-55. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v57i1.2546>

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: January 11, 2022.
Approved: December 01, 2022.
Published in Agrociencia:
January 27, 2023.

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



un valor de USD 734 M y USD 458.8 M respectivamente para el año 2020 (Tridge, 2021). La aceptación del fruto por parte del consumidor se debe a su sabor característico, dulzor, succulencia y variada composición (carbohidratos, ácidos fenólicos, vitaminas A, B₃, B₅, E, y K) con papel nutracéutico (Maldonado-Celis *et al.*, 2019).

En México, el mango se ha adaptado bien a las condiciones ambientales de la zona tropical; abril y julio son los meses con mayor exportación. Se cultivan las variedades 'Tommy Atkins', 'Haden', 'Kent', 'Keitt', 'Ataúlfo', 'Manila' y mangos criollos (SIAP, 2018). El estado de Chiapas, México, se caracteriza por tener condiciones climáticas y edáficas favorables para el cultivo de mango, con aproximadamente 38 000 ha de las cuales el 84 % están sembradas con 'Ataúlfo' (Mazariegos-Sánchez *et al.*, 2016; SIAP, 2019). Sin embargo, existe una amplia gama de mangos con nombres locales potencialmente importantes para su comercialización y mejoramiento genético que no son aprovechados. En la región del Soconusco en Chiapas, se han caracterizado varios genotipos de mango como: 'Coche', 'Piña', 'Madura verde', 'Manzana', 'Manilón', 'Tapanero', 'Tocolote', 'Amate', 'Alcanfor', 'Oro', 'Amatillo', 'Pomarrosa', 'Canela', 'Blanco', 'Melocotón', 'Manililla', 'Cachetio', 'Pepino', 'Papaya', 'Agua' y 'Cuero', con diferentes tonalidades de piel y pulpa y sabor distintivo que los hace atractivos al consumidor local, pero no existen estudios que evalúen sus características postcosecha con el objetivo de conocer su potencial para un mercado más amplio (Gálvez-López *et al.*, 2007).

El consumo de mango fresco en el mundo se ha incrementado. Para 2004, en EUA, el consumo per cápita fue de 0.92 kg, y para 2013 de 1.31 kg, lo que representa una tasa de crecimiento anual de 4.24 % (USDA, 2014). El consumidor de mango busca frutos de menor tamaño, color de epidermis más atractivo y sabores diferentes, por lo que es importante conocer las características postcosecha de genotipos sobresalientes de mango de la región del Soconusco a fin de diversificar la oferta en el mercado. En este estudio se evaluaron las variables de calidad postcosecha de tres tipos de mangos criollos sobresalientes ('Manililla', 'Cuero' y 'Manzana') y se compararon con frutos de la variedad 'Ataúlfo'.

MATERIALES Y MÉTODOS

Frutos en madurez fisiológica se cosecharon en árboles de 20 años de edad promedio, procedentes de diferentes huertas de la región del Soconusco, Chiapas. Los frutos de 'Manililla' se cosecharon en el municipio de Mazatán (14° 56' 38" N, 92° 30' 6" O), 'Cuero' y 'Ataúlfo' en el municipio de Huehuetán (15° 00' 43.8" N, 92° 22' 39.8" O; 15° 00' 28.7" N, 92° 24' 02.2" O, respectivamente) y los de 'Manzana' en el municipio de Tuzantán (15° 07' 17.0" N, 92° 26' 23.6" O). De cada material se cosecharon 50 frutos en madurez fisiológica y se trasladaron al Laboratorio de Fisiología Postcosecha del Colegio de Postgraduados,

donde fueron seleccionados por color, ausencia de daños y enfermedades. Fueron lavados en una solución de hipoclorito de sodio (70 mg L^{-1}), secados y posteriormente almacenados a una temperatura de $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ y 75 \% HR . La evaluación de los parámetros de calidad postcosecha se realizó en 4 frutos cada 2 días hasta la madurez de consumo. De cada hombro de los frutos se tomó una muestra, sumando 8 repeticiones, con excepción de las variables peso de fruto, relación pulpa/semilla/epidermis y pérdida de peso, en las cuales cada fruto fue una repetición.

Variables evaluadas

Peso de fruto, relación pulpa/semilla/epidermis y pérdida de peso

Para determinar el peso de fruto y la relación pulpa/semilla/epidermis se tomaron 10 frutos al día cero de almacenamiento. Para la pérdida de peso se pesaron 20 frutos, diariamente reportando las pérdidas en porcentaje (%) respecto al peso inicial de los mismos. Se utilizó una balanza digital con 0.001 g de precisión (Ex2200 Alsep[®], A&D Company, Tokio, Japón).

Materia seca y humedad

Se pesó 500 mg de pulpa y se colocó en charolas dentro de una estufa de aire forzado (Lab-Line Imperial[®], AM Inc; El Paso, TX, Estados Unidos) a $80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ por 48 h , hasta peso constante. Posteriormente, con el porcentaje de humedad se calculó el contenido de materia seca.

Color de epidermis y pulpa

Para el color de ambos tejidos se tomó la lectura en la sección ecuatorial del fruto con un colorímetro (Ci60, X-rite; Grand Rapids[®], MI, Estados Unidos), los valores se expresaron en L (luminosidad), C (cromaticidad) y $^{\circ}\text{H}$ (ángulo Hue).

Acidez titulable

Determinada por el método volumétrico (AOAC, 1990), se pesaron 10 g de pulpa y se licuó con 50 mL de agua destilada. Se tomó una alícuota de 5 mL de la mezcla y se adicionaron tres gotas de fenolftaleína como indicador para el vire de color; posteriormente se tituló con NaOH (0.1N) hasta pH 8. Los resultados se reportaron como $\%$ de ácido cítrico.

Sólidos solubles totales

Se determinó pesando 5 g de la parte media de la pulpa de los frutos, los cuales se colocaron en un cedazo y se exprimieron, colocando las gotas de jugo en el sensor óptico de un refractómetro digital (300033, Sper Scientific; Milton Freewater[®], OR, Estados Unidos); los resultados se expresaron en $^{\circ}\text{Brix}$ ($^{\circ}\text{Bx}$).

Azúcares totales

Se pesó 1 g de pulpa y se puso en ebullición con 50 mL de etanol (80 % v v⁻¹), por 20 min. Se evaporó completamente sin caramelizar y se agregaron 50 mL de agua destilada. De este homogenizado, se tomó 1 mL y se aforó a 3 mL con agua destilada. A cada tubo se le agregaron 6 mL de solución de antrona (0.04 %) en ácido sulfúrico, manteniendo los tubos en baño de hielo. Posteriormente se midió la absorbancia a 600 nm en un espectrofotómetro (Genesys 10 UV-Vis, Thermo Spectronic®; Madison, WI, Estados Unidos). El blanco se hizo con 3 mL de agua destilada y 6 mL de la solución de antrona. Se realizó una curva patrón de glucosa, los resultados se reportaron como g 100 g⁻¹ (Witham *et al.*, 1971).

Ácido ascórbico

Se determinó con base al método 2,6 diclorofenol indofenol (AOAC, 1990). Se tomaron 2 g de pulpa que fueron homogeneizadas con 20 mL de ácido oxálico (5 %). Posteriormente se tituló con solución de Tillman hasta el vire a color rosa. Los resultados se expresaron en mg 100 g⁻¹.

Clorofila y carotenoides

Se pesó 0.1 g de pulpa y se maceró en un mortero con 10 mL de acetona (80 %), posteriormente se aforó a 10 mL. El extracto se centrifugó a 2000 x g por 20 min, para después leer absorbancias a 470, 646 y 663 nm en un espectrofotómetro (Genesys 10 UV-Vis, Thermo Spectronic®; Madison, WI, Estados Unidos) (Figueroa-Cares *et al.*, 2010). El contenido de clorofila y carotenoides se calculó con las fórmulas de Lichtenthaler (1987) y se expresó en mg 100 g⁻¹.

Firmeza

Se determinó con un texturómetro (Chatillon DFE-050, Ametek®; Largo, FL, Estados Unidos) equipado con un puntal cónico de 7 mm de diámetro, midiendo la fuerza necesaria para penetrar la pulpa en frutos enteros en los que se eliminó 1 cm de la epidermis. Los valores se reportaron en Newtons (N).

Actividad pectinmetilesterasa (PME)

Se preparó una solución de pectina suministrada por Sigma-Aldrich® (Massachusetts, Estados Unidos) en agua (1 %) y se ajustó el pH a 4 utilizando NaOH (1 N); la solución se aforó a 200 mL. Posteriormente, se colocó el potenciómetro en la solución, se agregó 0.8 mL de extracto enzimático (20 g de pulpa + 50 mL NaOH 0.2 N) y se contabilizó el tiempo. Durante el análisis el pH se mantuvo a 4 con NaOH (0.01 N) por 10 min a 40 °C. Finalmente, se cuantificó la cantidad de NaOH gastado. Los resultados se reportaron como mEq mL⁻¹ min (Rangana, 1979).

Ácidos fenólicos y flavonoides en epidermis

Los extractos para identificar y cuantificar flavonoides y ácidos fenólicos en epidermis se obtuvieron mediante el método de ultrasonido (Kim *et al.*, 2002). Se tomó 1 g de muestra fresca congelada en N₂, la cual se maceró con ayuda de arena de cuarzo suministrada por Sigma-Aldrich® (Massachusetts, Estados Unidos). Después se transfirió a tubos de polipropileno, se agregó 5 mL de metanol acuoso (80 %) y se colocaron en un agitador vortex (VORTEX GENIE 2 SI-0236, Scientific Industries®; Madrid, España) por 1 min. Posteriormente se sometieron a sonicación en un baño de ultrasonido (Emerson® Cpx2800h Branson, Danbury, CT, Estados Unidos) durante 30 min, dando un descanso de cinco minutos por cada 10 min de sonicación. Al terminar, se centrifugaron durante 5 min a 5000 rpm en una centrífuga (Eppendorf 5804®, Hamburgo, Alemania). Se decantó y por último se filtró usando una membrana de nylon (0.45 µm/13 mm). Los extractos se almacenaron en viales de vidrio ámbar de 1.5 mL (Agilent®) a 4 °C hasta su análisis.

Para la identificación y cuantificación de flavonoides y ácidos fenólicos, los extractos metanólicos fueron analizados en un cromatógrafo de líquidos (Infinity serie 1220, Agilent Technologie, Santa Clara, CA, Estados Unidos) a una temperatura de 30 °C, utilizando una columna Hypersil® ODS-2 (125 x 4 mm), tamaño de partícula 5 µm con fase móvil agua-acetonitrilo (65:35 v v⁻¹), pH ajustado a 2.5 con ácido trifluoroacético. En condiciones de flujo de 1 mL min⁻¹, el volumen de inyección de la muestra fue de 20 µL, presión de 114 bares (Svedström *et al.*, 2006). Los estándares utilizados para ácidos fenólicos fueron: gálico, sinápico, *p*-hidroxibenzoico (pOHa), siríngico, β-resorcílico, vainillílico, 3,5-dihidroxibenzoico, ferúlico, protocatecuico y *p*-cumárico; y para flavonoides: rutina, catequina, miricetina, quercetina, naringenina y fletetina (Svedström *et al.*, 2006).

Análisis estadístico

Los datos se expresaron como media ± desviación estándar; se compararon mediante análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$), bajo un diseño completamente al azar. Todos los análisis fueron realizados con la ayuda del software SAS® versión 9.0 (SAS Institute, Cary, NC, Estados Unidos) y las gráficas con ayuda del programa GraphPad Prism versión 7.0. Para visualizar las diferencias en los parámetros de calidad postcosecha, se creó un mapa de calor con el paquete pheatmap de Rstudio versión 4.1.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Apariencia de epidermis y pulpa

De acuerdo a la apariencia externa y los cambios posteriores a la cosecha, los genotipos alcanzaron la madurez de consumo a los seis días de almacena-

miento (Figura 1). Gálvez-López *et al.* (2007) mencionan que entre los genotipos criollos y las variedades comerciales ('Ataúlfo', 'Kent' y 'Tommy Atkins') producidos en el Soconusco, Chiapas, existe una similitud morfológica del 20 al 75 %, debido a que comparten algún progenitor atribuido a la recombinación genética.

El color de la epidermis de todos los genotipos presentó tono amarillo intenso a la madurez de consumo. 'Manililla' y 'Cuero' presentaron valores de °Hue de 74.4 y 64.5 al día seis de almacenamiento, mientras que para 'Manzana' fue de 81, con matices rojos en los hombros haciendo la epidermis más llamativa. Valores similares se reportan en cultivares comerciales como 'Edward', 'Kent', 'Osteen' y 'Fábian' (79, 83, 82 y 80 °H, respectivamente) (Siller-Cepeda *et al.*, 2009). 'Manililla' y 'Ataulfo' presentaron valores más altos de cromaticidad y luminosidad en el día seis de almacenamiento, presentando un color más tenue. El color de epidermis y pulpa tiene potencial para su explotación comercial si se dirige hacia mercados específicos, pues existe una tendencia al alza de preferir mangos con epidermis rojas (Human y Rhedder, 2004). Respecto al color de la pulpa para el día seis de almacenamiento, los genotipos presentaron un atractivo matiz amarillo-naranja en la pulpa (Figura 2). No se presentaron diferencias significativas en el tono de ángulo Hue. La cromaticidad (C*) aumentó independientemente del genotipo, siendo los frutos de 'Cuero' los que presentaron valores más altos (70.6), distinguido visualmente por un mejor matiz amarillo-naranjado. En 'Cuero' y 'Manililla' los valores de luminosidad (L*) para el día seis de almacenamiento fueron más bajos y la pulpa fue más oscura a diferencia de 'Manzana' y 'Ataúlfo', similares a los reportados en el cultivar 'Alphonso' (56) a la madurez de consumo (Nambi *et al.*, 2016).

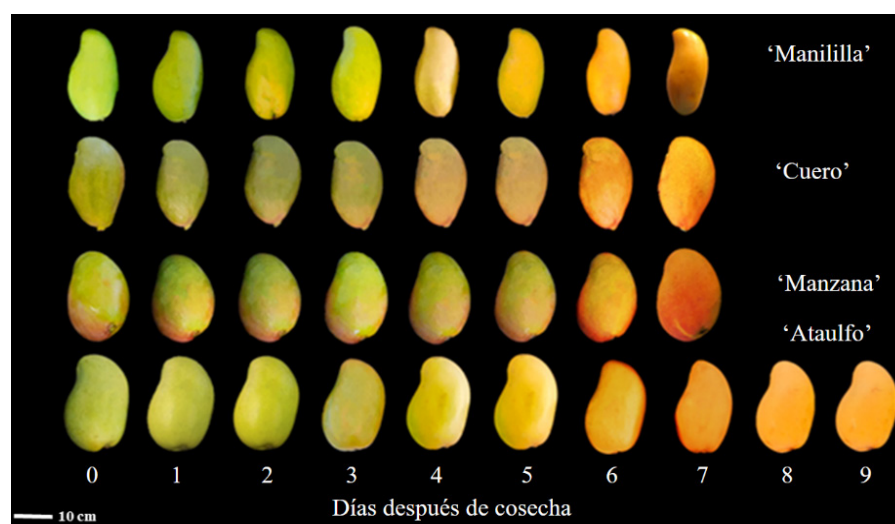


Figura 1. Aspecto externo del color de la piel y características morfológicas de los genotipos de mango de acuerdo a los días de almacenamiento.

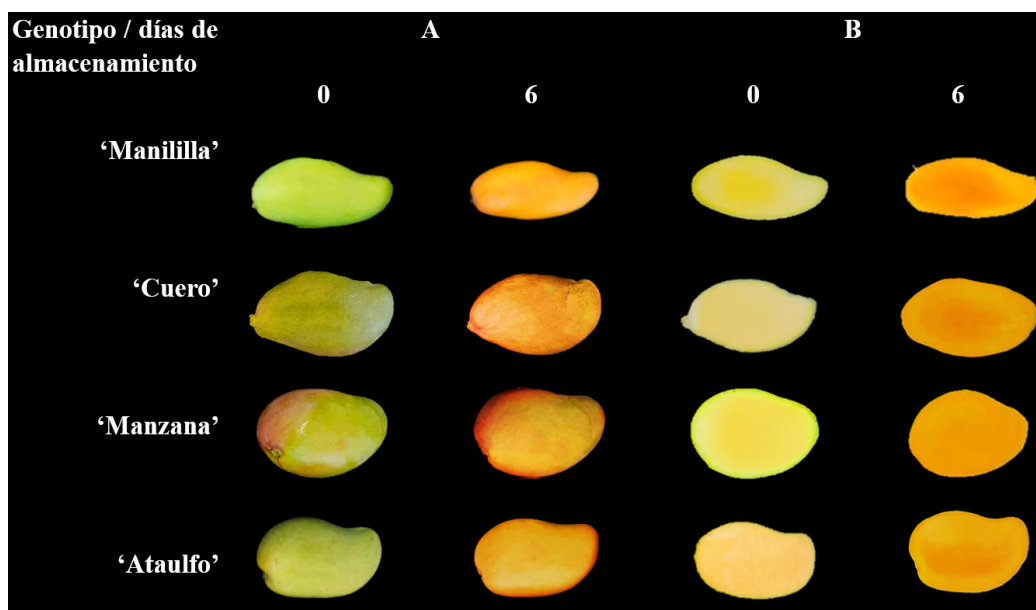


Figura 2. Color de A: epidermis; B: pulpa, de cuatro genotipos de mango (*Mangifera* sp.) del Soconusco, Chiapas, al día 0 y 6 de almacenamiento.

Peso de fruto, relación pulpa/semilla/epidermis y pérdida de peso

La NMX-FF-058-SCFI-2006 8/20 clasifica los frutos de mango en diferentes calibres, indicando el número de frutos por caja de 10 lb (4.536 kg). De acuerdo a esta norma, los frutos de 'Manzana' y 'Cuero' se clasifican en el calibre catorce con un intervalo de peso (305–349 g) (Figura 3). 'Manililla' se caracterizó como un fruto pequeño (CODEX STAN 184-1993) óptimo para la comercialización en el calibre 20 (227–233 g), pero no cumple con los estándares de la demanda del mercado internacional para tamaño mediano (250–323 g) y grande (600 g) (Méndez *et al.*, 2010).

Se han realizado estudios de mejoramiento genético en India enfocados a la diversidad genética del mango, ya que la demanda del mercado se está dirigiendo a frutos de tamaño más pequeño con las características que puede ofrecer un fruto de mayor peso (Kulkarni *et al.*, 2019). En promedio, los materiales evaluados presentaron 77.5 % de su peso en pulpa, lo restante correspondiendo a epidermis y semilla (Figura 3). Frutos de cultivares comerciales, tales como 'Gaylour' producido en Hawaïi y 'Ah ping' producido en Egipto, pesan entre 348 y 500 g, con porcentaje de pulpa entre 60 y 90 % de su peso total (Lu, 2018). En cuanto al porcentaje de epidermis y semilla, los valores fueron bajos (20–25 %) comparado con 'Haden' y 'Tommy Atkins', que registran pesos de 400 a 600 g, con 40 % en promedio de su peso entre semilla y epidermis (Vega-Vega *et al.*, 2013). Sin embargo, es importante resaltar que todos los frutos criollos tuvieron la semilla más grande que 'Ataulfo' (Figura 3).

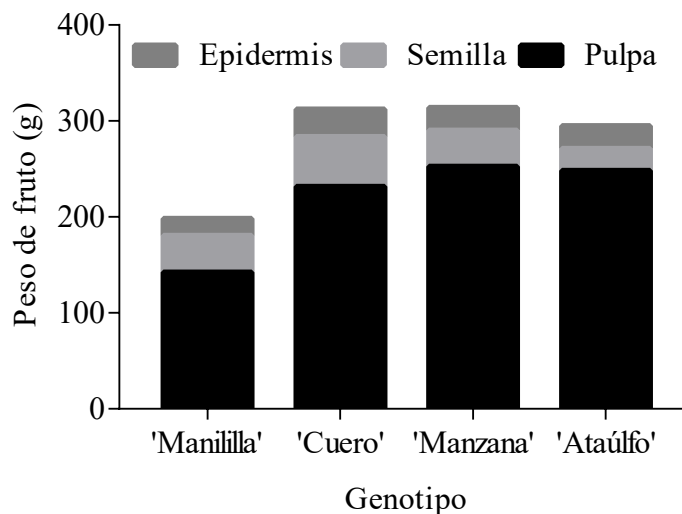


Figura 3. Peso de fruto (g) y proporción pulpa/semilla/epidermis de genotipos de mango (*Mangifera* sp.) del Soconusco, Chiapas. n = 10.

Con relación a la pérdida de peso, los frutos de 'Cuero' presentaron el mayor decrecimiento a los seis días de almacenamiento (18.79 % de su peso inicial, con pérdidas de 3 % por día), seguido por 'Manililla' (12.26 %, 2 % por día). Los frutos de 'Manzana' fueron semejantes a 'Ataúlfo', con pérdidas promedio de 1.7 % por día. En frutos de genotipos 'Chokanan', 'Golden Phoenix' y 'Water Lily' (variedades de Malasia), se reportan pérdidas de peso diarias de aproximadamente 1.12 % (Lawson *et al.*, 2019). En cuanto al contenido de materia seca, los genotipos presentaron un promedio de 17.6 %. Este valor es similar al porcentaje de materia seca que se toma como índice de cosecha para el cultivar 'Mahajaneka' (16.89–19.22 %) cuando alcanza la madurez de consumo con el desarrollo de todas las características organolépticas (Saranwong *et al.*, 2004). Famiani *et al.* (2012) mencionan que frutos con alto contenido de materia seca tienen mayor peso específico y pueden presentar mayor contenido de azúcares y ácidos orgánicos, lo cual constituye otro indicador de calidad.

Acidez titulable (AT) y sólidos solubles totales (SST)

La NMX-FF-058-SCFI-2006 8/20 para 'Ataúlfo' menciona un mínimo aceptable de 2.9 °Bx en madurez fisiológica, teniendo los frutos de todos los genotipos un valor de 7.7 °Bx a la cosecha. Los frutos de 'Manililla' incrementaron 58 % de SST durante el almacenamiento mientras que la AT disminuyó (86 %) (Figura 4A). En 'Cuero', tuvieron un 67.5 % de incremento de SST, y disminución de la acidez de 74.8 % (Figura 4B), con cambios significativos a partir del segundo día de evaluación. 'Manzana' no tuvo diferencias estadísticas significativas

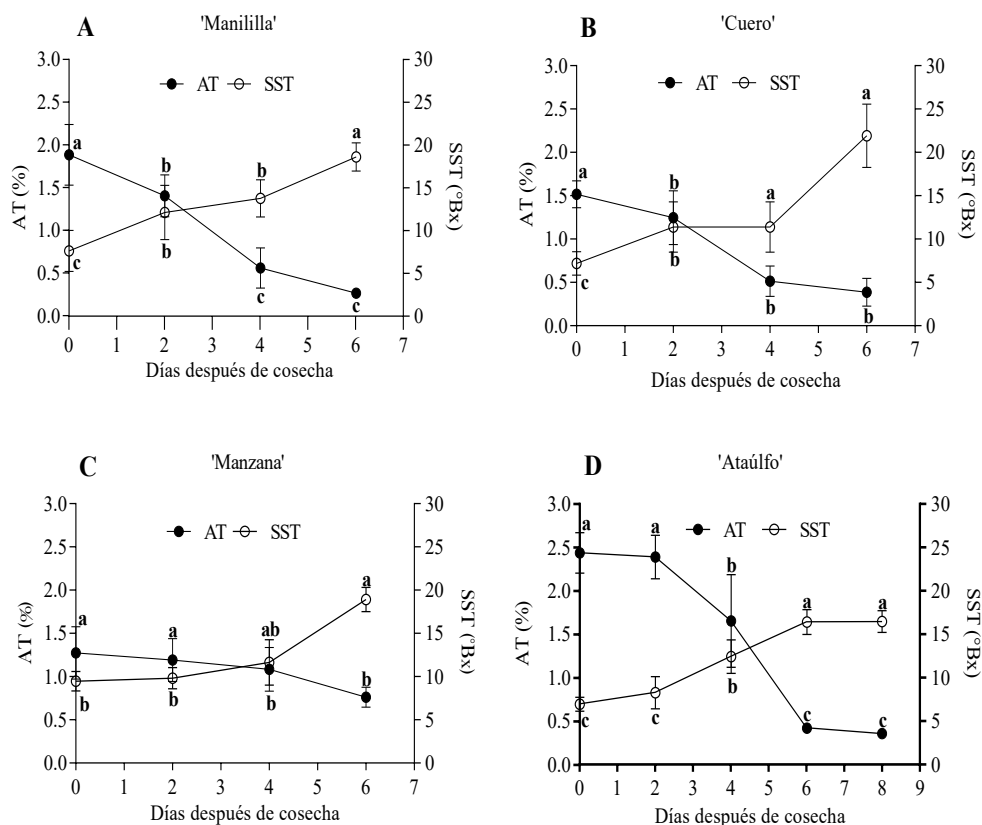


Figura 4. Cambios en la acidez titulable y sólidos solubles totales de frutos en cuatro genotipos de mango (*Mangifera* sp.) del Soconusco, Chiapas. A: 'Manililla'; B: 'Cuero'; C: 'Manzana'; D: 'Ataúlfo' (20 °C y 75 % HR). Valores con diferente letra indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey, $p \leq 0.05$) para cada genotipo de mango. $n = 8 \pm$ desviación estándar. AT (%): Acidez titulable; SST (°Bx): Sólidos solubles totales.

($p > 0.05$) en los primeros días y fue el que menos incremento presentó en SST (Figura 4C). Los genotipos estudiados cumplen con los valores de 10 a 20 °Bx para mangos maduros de exportación. En cultivares de la India ('Alphonso' y 'Banganapalli') han reportado 19.3 y 16.5 °Bx, y 0.3 y 0.1 % de AT en madurez de consumo, respectivamente (Nambi *et al.*, 2015). En cuanto a la relación SST/AT al día seis de almacenamiento, los frutos de 'Cuero' y 'Manililla' presentaron en promedio un valor de 67, mientras que para 'Manzana' y 'Ataúlfo' fue de 32; los frutos de 'Cuero' y 'Manililla' son menos ácidos, con sabor atractivo debido a que estos valores representan su palatabilidad. Siller-Cepeda *et al.* (2009) reportaron una relación de SST/acidez en 'Ataúlfo' y 'Haden' de 33.64 y 23.71, respectivamente, similares a los obtenidos en 'Ataúlfo' y 'Manzana'.

Azúcares totales

La sacarosa es el azúcar predominante en los frutos de mango (70 %), mientras la proporción restante corresponde a fructosa y glucosa. Al día seis de

almacenamiento no se presentaron diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$) con valores en 'Ataúlfo' (24.6 g 100 g⁻¹), 'Manililla' (25 g 100 g⁻¹), 'Cuero' (27.2 g 100 g⁻¹) y 'Manzana' (30.3 g 100 g⁻¹). Estos valores son similares a los encontrados en frutos de 'Ataúlfo', 'Manila', 'Criollo' e 'Irwin' (27.1, 21.7, 16.4, 31.0 g 100 g⁻¹, respectivamente) cosechados en Guerrero, México (Maldonado-Astudillo *et al.*, 2016).

Firmeza y Actividad enzimática de pectinmetilesterasa (PME)

La firmeza es una variable considerada como uno de los principales atributos de calidad del fruto. Es relevante debido a que por situaciones cuarentenarias, los frutos se someten a un tratamiento hidrotérmico (Luna-Esquivel *et al.*, 2006). Los frutos de 'Manililla' y 'Cuero' (Figura 5A y B) presentaron 50 % menos firmeza que 'Manzana' y 'Ataúlfo' (Figura 5C y 5D) durante el almacenamiento. 'Manzana' y 'Ataúlfo' presentan ventaja en las prácticas de empaque y logística debido a la resistencia que les confiere valores altos de firmeza (Luna-Esquivel *et al.*, 2006).

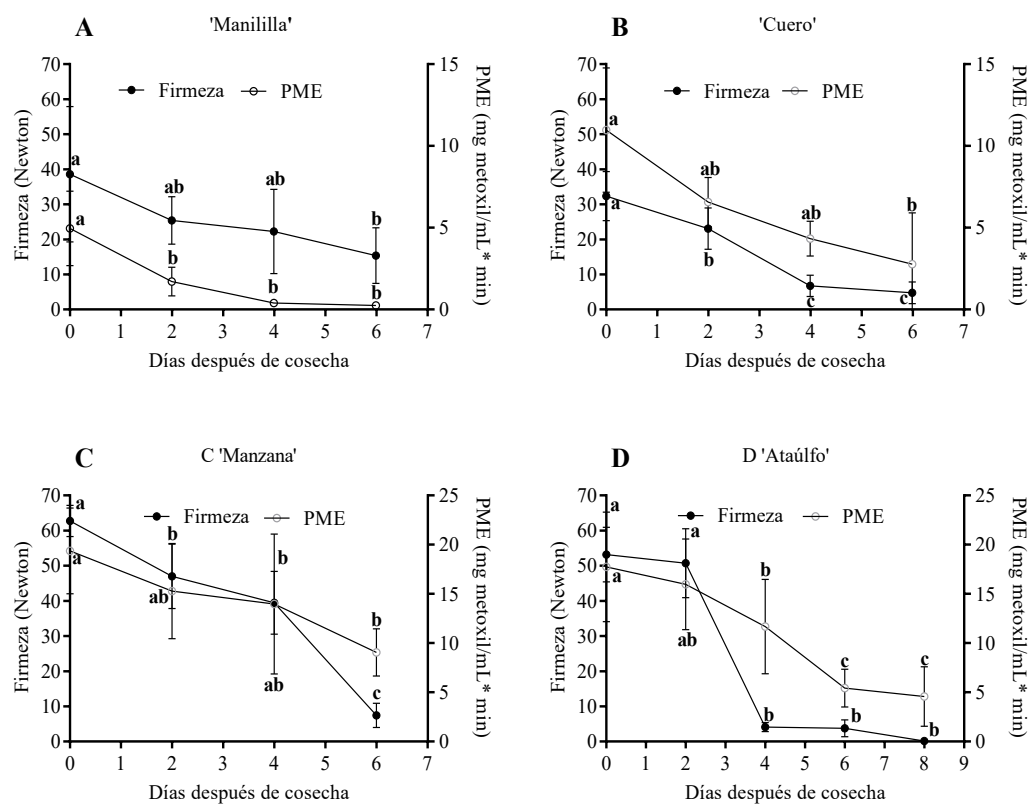


Figura 5. Cambios en firmeza y actividad de pectinmetilesterasa (PME) en frutos de cuatro genotipos de mango (*Mangifera* sp.) del Soconusco, Chiapas, durante el almacenamiento (20 °C y 75 % HR). A: 'Manililla'; B: 'Cuero'; C: 'Manzana'; D: 'Ataúlfo'. Valores con diferente letra indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey, $p \leq 0.05$) para cada genotipo de mango. $n = 8 \pm$ desviación estándar.

Con relación a la actividad de PME, ésta cataliza la hidrólisis de metil ésteres del C-6 de residuos de ácido galacturónico, lo cual genera la demetilación de las pectinas facilitando la degradación de los polímeros pécticos y la acción de endopoligalacturonasas que contribuyen a la relajación de la pared celular (Díaz-Cruz *et al.*, 2016; Khaliq *et al.*, 2017). La mayor actividad de PME precede a la caída de la firmeza en todos los genotipos (Figura 5). Los frutos de 'Manzana' y 'Ataúlfo' presentaron mayor actividad enzimática relacionada con mayor firmeza, sin embargo, es interesante que los frutos de los primeros mantienen la firmeza dos días más que 'Ataúlfo', lo que representa un dato interesante, sobre todo considerando que los frutos son sometidos a tratamiento hidrotérmico donde la pérdida de firmeza es un factor de deterioro. Luna-Esquivel *et al.* (2006) reportan que este tratamiento provoca una pérdida de 50 % en la firmeza de frutos de la variedad 'Ataúlfo'.

Ácido ascórbico

El contenido inicial de ácido ascórbico en 'Cuero' fue de 81.4 mg 100 g⁻¹, mientras que 'Ataulfo' tuvo 61.4 mg 100 g⁻¹, el de menor contenido 'Manililla' con 32.8 mg 100 g⁻¹, y 'Manzana' con 48.9 mg 100 g⁻¹. El ácido ascórbico fácilmente se oxida cuando se expone a diferentes factores como altas temperaturas, algunos cationes divalentes (cobre o hierro), oxígeno, pH alcalino, luz o enzimas degradativas. Estos valores están dentro del promedio que se reporta para mango con 36.4 mg 100 g⁻¹ de vitamina C (Lebaka *et al.*, 2021). Durante el proceso de maduración normalmente se presenta la degradación de ácido ascórbico, siendo los frutos de 'Manililla' los que menos degradación tuvieron al día seis de almacenamiento (15 %). Hu *et al.* (2018) mostraron las pérdidas de ácido ascórbico en diferentes cultivares de mango como 'Keitt' (163.94-46.87 mg 100 g⁻¹), 'Sensation' (176.03-29.34 mg 100 g⁻¹) y 'Xiangya' (160.35-30.84 mg 100 g⁻¹) con altos porcentajes de degradación (71, 83 y 80 %, respectivamente).

Ácidos fenólicos y flavonoides en epidermis

Con relación al contenido de ácidos fenólicos, en mango se presentan las dos categorías principales de ácidos fenólicos: los derivados del ácido hidroxibenzoico y del ácido hidroxicinámico. Estos ácidos fenólicos se pueden presentar en formas libres o conjugadas con glucosa o ácido quínico (Burton-Freeman *et al.*, 2017). La epidermis de mango contiene cantidades significativas de fibra dietética (45-78 %), ácidos fenólicos, flavonoides, xantonas, carotenoides, vitamina C y tocoferol. Los ácidos hidroxibenzoicos que se han detectado en mango son ácido gálico, vainílico, siríngico, ácido protocatecuico, ácido *p*-hidroxibenzoico (*p*OHa). Y de los derivados del ácido hidroxicinámico son los ácidos *p*-cumárico, clorogénico, ferúlico y cafeico (Ediriweera *et al.*, 2017). En pulpa, Palafox-Carlos *et al.* (2012) identificaron mediante HPLC-DAD en pulpa de mango los ácidos clorogénico, gálico, vainílico y protocatecuico.

El contenido y las características de los ácidos fenólicos dependen del cultivar y la etapa de madurez (Corrales-Bernal *et al.*, 2014). En este estudio se identificaron 10 ácidos fenólicos en la epidermis de mango, predominando: ácido gálico, *p*-cumárico, *p*-oligohialurónico, siríngico y vainílico. En el día cero de almacenamiento los genotipos criollos presentaron mayor contenido de ácidos fenólicos que la variedad 'Ataúlfo' con diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$) los cuales presentaron mayor incidencia de antracnosis con excepción de 'Manililla'. Sin embargo, este comportamiento es similar a cultivares de Manzana 'Golden Delicious' y 'Jonagold' infectados por *Venturia inaequalis*, donde el tejido infectado presentó mayor contenido de ácido fenólicos (114.1 mg 100 g⁻¹ PS) comparado con el tejido no infectado, que presentó 91.4 mg 100 g⁻¹ PS (Mikulič-Petkovšek *et al.*, 2009). La producción y acumulación de ácidos fenólicos ocurre en células sanas que rodean las células infectadas, y son estimulados por las células dañadas. Los ácidos fenólicos pueden oxidarse y reaccionar con las proteínas, causando una pérdida de la función enzimática y restringiendo la viabilidad de patógenos, o pueden depositarse dentro de la pared celular como una primera línea importante en la defensa de las plantas contra la infección (Agrios, 2005). El ácido gálico es el de mayor contenido en la epidermis de mango. En diferentes variedades de mango en madurez de consumo, se ha observado la presencia de mayor contenido de ácido gálico (72.0–1450 mg 100 g⁻¹ PF), protocatecuico (3.9–64.3 mg 100 g⁻¹ PF) y clorogénico (4.4–27.1 mg 100 g⁻¹ PF) (Ramírez *et al.*, 2014; Abbasi *et al.*, 2015). En el caso de 'Manililla' y 'Ataúlfo', el total de ácidos fenólicos aumentó al sexto día; el ácido gálico se encontró en mayor concentración en los frutos de 'Manililla', 'Cuero' y 'Ataúlfo', mientras que 'Manzana' presentó menor contenido y su susceptibilidad a antracnosis fue mayor (Cuadro 1).

Los flavonoides presentes en mango son: catequinas, quercetina, kaempferol, ramnetina, antocianinas, ácido tánico; y xantonas como mangiferina (Masibo y Quian, 2008). En el día cero y seis de almacenamiento la catequina y la rutina predominaron en la epidermis de los frutos de mango. 'Ataúlfo' presentó el mayor contenido de flavonoides en el día cero, que aumentaron al día 6 hasta 152.43 mg 100 g⁻¹, sin embargo, solo se pudieron cuantificar cuatro de los seis flavonoides identificados en los genotipos criollos. En el día seis, 'Manililla' presentó el mayor contenido de flavonoides significativamente mayor que el resto de los genotipos criollos. Generalmente estas moléculas están involucradas en la protección de las plantas de la radiación ultravioleta, especies reactivas de oxígeno (ROS) y ataque de patógenos (Sudheeran *et al.*, 2020). En estudios realizados a 23 cultivares de grosella negra (*Ribes nigrum*) con diferente grado de infección causada por mancha foliar de grosella negra (*Drepanopeziza ribis*) y mancha foliar por *Septoria ribis*, se encontró que los cultivares con síntomas severos de infección por manchas foliares presentaban altos niveles de ácidos hidroxicinámicos, epicatequina (6.31 mg 100 g⁻¹) y miricetina

Cuadro 1. Contenido de ácidos fenólicos en la epidermis de frutos de cuatro genotipos de mango (*Mangifera* sp.) del Soconusco, Chiapas, en el día 0 y 6 de almacenamiento (20 ± 2 °C y 60 % HR).

Ácidos fenólicos (mg 100 g ⁻¹ PF)	Día	Genotipo			
		'Manililla'	'Cuero'	'Manzana'	'Ataúlfo'
Sinápico	0	0.08 ± 0.01 b	0.14 ± 0.00 a	0.13 ± 0.00 a	0.09 ± 0.00 b
	6	0.17 ± 0.00 a	0.14 ± 0.01 ab	0.14 ± 0.01 ab	0.11 ± 0.00 b
pOHa	0	0.05 ± 0.00 c	3.64 ± 0.48 a	1.16 ± 0.24 b	0.04 ± 0.02 c
	6	ND	4.08 ± 1.01 a	1.17 ± 0.37 b	0.72 ± 0.05 b
Siríngico	0	0.65 ± 0.02 ab	0.61 ± 0.00 bc	0.66 ± 0.00 a	0.60 ± 0.00 c
	6	0.68 ± 0.00 a	0.60 ± 0.00 b	0.69 ± 0.02 a	0.68 ± 0.03 a
β-resorcílico	0	ND	0.23 ± 0.02 a	0.15 ± 0.005 b	ND
	6	ND	0.18 ± 0.03 a	0.14 ± 0.01 a	0.18 ± 0.06 a
Ferúlico	0	0.05 ± 0.01 b	0.09 ± 0.01 a	0.06 ± 0.01 ab	0.05 ± 0.00 b
	6	0.08 ± 0.00 a	0.07 ± 0.01 a	0.08 ± 0.02 a	0.07 ± 0.00 a
3,5-diOHbenzóico	0	0.17 ± 0.03 ab	0.11 ± 0.01 b	0.13 ± 0.01 b	0.30 ± 0.10 a
	6	0.22 ± 0.01 b	0.09 ± 0.00 d	0.15 ± 0.01 c	0.36 ± 0.03 a
Gálico	0	4.93 ± 1.08 a	3.91 ± 0.37 a	1.20 ± 0.14 b	2.08 ± 0.23 b
	6	8.27 ± 0.25 a	3.57 ± 1.19 b	1.35 ± 0.26 c	2.98 ± 0.53 bc
p-cumárico	0	0.31 ± 0.12 b	0.24 ± 0.06 b	0.24 ± 0.01 b	0.57 ± 0.07 a
	6	0.47 ± 0.09 a	0.20 ± 0.02 b	0.22 ± 0.03 b	0.19 ± 0.07 b
Protocatecuico	0	0.19 ± 0.000 b	0.28 ± 0.03 a	0.23 ± 0.01 ab	0.24 ± 0.00 ab
	6	0.20 ± 0.01 b	0.23 ± 0.00 ab	0.22 ± 8.7 ab	0.24 ± 0.00 a
Vainíllico	0	0.15 ± 0.09 b	0.21 ± 0.04 b	0.55 ± 0.04 a	0.04 ± 0.00 b
	6	0.21 ± 0.08 b	0.28 ± 0.08 b	0.60 ± 0.6 a	0.33 ± 0.05 b
Total	0	6.58 ± 0.13	9.46 ± 0.10	4.51 ± 0.04	4.01 ± 0.04
	6	10.3 ± 0.04	9.44 ± 0.23	4.76 ± 0.06	5.86 ± 0.07

Valores con diferente letra en la misma hilera indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey, $p \leq 0.05$). n = 3 ± desviación estándar. ND: No detectado.

(6.5 mg 100 g⁻¹). Mientras que los cultivares con síntomas mínimos de infección por manchas foliares se detectaron mayor contenido de glucósidos de kaempferol (38.4 mg 100 g⁻¹) y quercetina (1.3 mg 100 g⁻¹) (Mikulič-Petkovšek *et al.*, 2013). Con base en lo anterior, el contenido total de flavonoides también fue menor en los frutos de 'Manzana' que puede explicar en parte su susceptibilidad al ataque de patógenos; sin embargo, es necesario realizar estudios a mayor profundidad (Cuadro 2).

Los frutos se agruparon en un mapa de calor de acuerdo a sus características postcosecha (Figura 6); al día cero, los frutos de 'Cuero' y 'Ataúlfo' fueron similares en cuanto a la relación de sólidos solubles/acidez, así como en firmeza y contenido de azúcares. Sin embargo, al día seis los frutos de 'Manzana' y 'Ataúlfo' fueron los de mayor similitud en firmeza, color de epidermis, contenido de pulpa y ácido ascórbico. Es importante destacar que los frutos de 'Ataúlfo' tienen mayor vida de anaquel y pérdida de peso significativamente menores que el resto de los genotipos, lo que lo ha hecho una variedad

Cuadro 2. Contenido de flavonoides en la epidermis de frutos de cuatro genotipos de mango (*Mangifera* sp.) del Soconusco, Chiapas, en el día 0 y 6 de almacenamiento (20 ± 2 °C y 60 % HR).

Flavonoides (mg 100 g ⁻¹ FW)	Día	Genotipo			
		'Manililla'	'Cuero'	'Manzana'	'Ataúlfo'
Rutina	0	1.26 ± 0.22 b	2.53 ± 0.07 a	0.95 ± 0.12 b	1.40 ± 0.001 b
	6	3.0 ± 0.09 a	2.33 ± 0.11 b	0.49 ± 0.02 c	2.05 ± 0.15 b
Quercetina	0	0.48 ± 0.04 b	0.17 ± 0.00 c	0.14 ± 0.01 c	0.83 ± 0.06 a
	6	0.23 ± 0.03 b	0.13 ± 0.00 c	0.14 ± 0.00 c	2.26 ± 0.001 a
Catequina	0	21.43 ± 1.32 b	20.93 ± 1.90 b	22.68 ± 0.95 b	62.23 ± 4.86 a
	6	157.55 ± 6.68 a	26.41 ± 1.73 b	38.91 ± 2.32 b	148.11 ± 2.13 a
Miricetina	0	0.30 ± 0.03 a	0.21 ± 0.01 b	0.16 ± 5.9 b	ND
	6	0.50 ± 0.00 a	0.16 ± 0.02 b	0.15 ± 0.01 b	ND
Naringenina	0	0.12 ± 0.00 b	0.12 ± 0.00 b	ND	0.99 ± 0.001 a
	6	0.12 ± 0.00 a	0.12 ± 0.00 a	0.11 ± 0.00 b	ND
Floretina	0	0.11 ± 0.00 a	0.10 ± 0.00 b	ND	ND
	6	0.10 ± 0.00 a	0.10 ± 0.00 a	0.09 ± 0.00 a	ND
Total	0	23.7 ± 0.26	24.06 ± 0.33	23.93 ± 1.16	65.45 ± 0.82
	6	161.5 ± 1.33	29.25 ± 0.31	39.89 ± 0.39	152.42 ± 0.38

Valores con diferente letra en la misma hilera indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey, $p \leq 0.05$). n = 3 ± desviación estándar. ND: No detectado.

atractiva; sin embargo, la mayor firmeza e intensidad de color de la pulpa y epidermis caracterizaron a los frutos de 'Manzana'. Además, es importante destacar el alto contenido de flavonoides en la epidermis de 'Manililla' que los hace materiales para estudios futuros y candidatos a mejoramiento genético a fin de diversificar la oferta de mango.

CONCLUSIONES

Los frutos de mango de los genotipos 'Manzana' y 'Cuero' pertenecen a la misma clasificación comercial que 'Ataúlfo' según la NOM-188-SCFI-2012. Es importante destacar que los frutos de 'Manzana' presentan el peso, balance de SST/AT y de firmeza similares, y que pueden competir con los frutos 'Ataúlfo'. Sin embargo, los frutos de 'Cuero' presentaron pérdidas de peso significativamente mayores, lo que reduce su vida de anaquel. Los frutos de 'Manililla' y 'Ataúlfo' fueron sobresalientes por su alto contenido de flavonoides en la epidermis, lo que ofrece resistencia al ataque de patógenos. Esta información puede ser útil para los productores y fitomejoradores de mango a fin de identificar las características deseables y ampliar la oferta de estos frutos en el mercado.

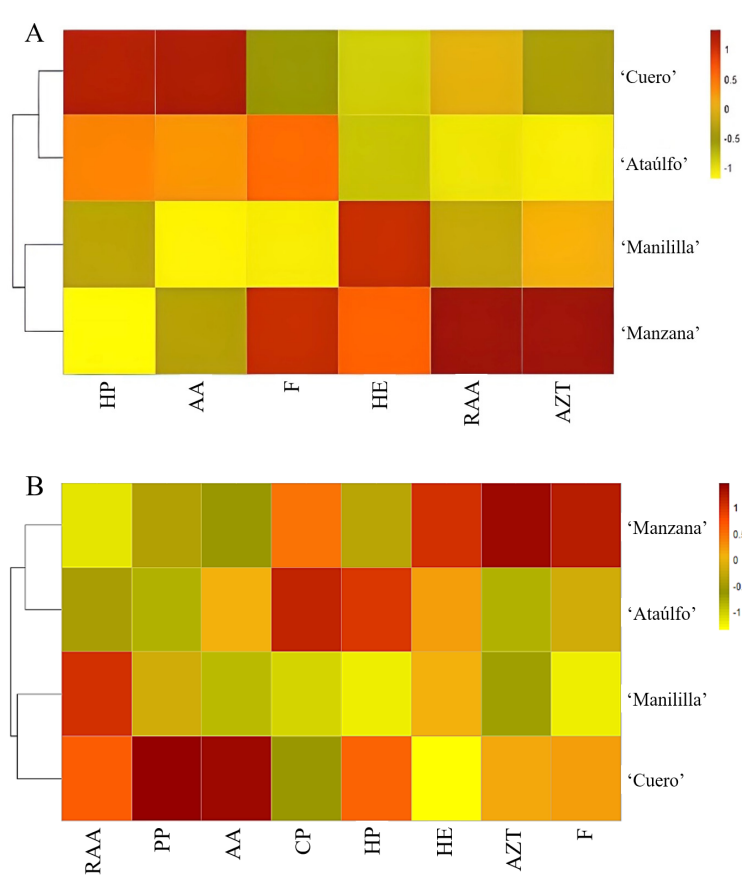


Figura 6. Agrupamiento de frutos de cuatro genotipos de mango (*Mangifera* sp.) del Soconusco, Chiapas, basados en los parámetros de calidad postcosecha. A: día 0; B: día 6; CP: contenido de pulpa; F: firmeza; PP: pérdida de peso; HE: °hue epidermis; HP: °hue pulpa; RAA: relación sólidos solubles totales/acidez titulable; AZT: azúcares totales; AA: ácido ascórbico.

REFERENCIAS

- Abbasi AM, Guo X, Fu X, Zhou L, Chen Y, Zhu Y, Yan H, Liu RH. 2015. Comparative assessment of phenolic content and *in vitro* antioxidant capacity in the pulp and peel of mango cultivars. *International Journal of Molecular Sciences* 16 (12): 13507–13527. <https://doi.org/10.3390/ijms160613507>
- Agrios G. 2005. *Introducción a la Fitopatología*. Fitopatología (Segunda edición). Editorial Limusa Noriega: Ciudad de México, México, pp: 3–36.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists* (15th edition). Association of Official Analytical Chemists: Arlington, VA, USA. pp: 1058–1059.
- Burton-Freeman BM, Sandhu AK, Edirisinghe I. 2017. Mangos and their bioactive components: adding variety to the fruit plate for health. *Food and Function* 8 (9): 3010–3032. <https://doi.org/10.1039/C7FO00190H>
- CODEX. CODEX-STAN-184-1993. 2005. <http://www.colpos.mx/bancodenormas/ninternacionales/CODEX-STAN-184-1993.pdf> (Recuperado: diciembre 2020).
- Corrales-Bernal A, Maldonado ME, Urango LA, Franco MC, Rojano BA. 2014. Mango de azúcar (*Mangifera indica* L.) variedad de Colombia: características antioxidantes, nutricionales

- y sensoriales. *Revista Chilena de Nutrición* 41 (3): 312–318. <https://doi.org/10.4067/s0717-75182014000300013>
- Díaz-Cruz CA, Regalado C, Morales-Sánchez E, Velázquez G, Amaya-Llano S. 2016. Determinación de actividad de pectin metilesterasa parcialmente purificada de bagazo y pulpa de mango (*Mangifera indica* L.) var. Keitt. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos* 1 (1): 406–410.
- Ediriweera MK, Tennekoon KH, Samarakoon SR. 2017. A Review on ethnopharmacological applications, pharmacological activities and bioactive compounds of mango. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2017: 1–24. <https://doi.org/10.1155/2017/6949835>
- Famiani F, Baldicchi A, Farinelli D, Cruz-Castillo JG, Marocchi F, Mastroleo M, Moscatello S, Proietti S, Battistelli A. 2012. Yield affects qualitative kiwifruit characteristics and dry matter content may be an indicator of both quality and storability. *Scientia Horticulturae* 146: 124–130. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.08.009>
- Gálvez-López D, Adriano-Anaya ML, Villarreal-Treviño C, Mayek-Pérez N, Salvador-Figueroa M. 2007. Diversidad isoenzimática de mangos criollos de Chiapas, México. *Revista Chapinango Serie Horticultura* 13 (1): 71–76.
- Hu K, Dars AG, Liu Q, Xie B, Sun Z. 2018. Phytochemical profiling of the ripening of chinese mango (*Mangifera indica* L.) cultivars by real-time monitoring using UPLC-ESI-QTOF-MS and its potential benefits as prebiotic ingredients. *Food Chemistry* 256: 171–180. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.014>
- Human CF, Rhedder S. 2004. Mango breeding: results and successes. *Acta Horticulturae* 645: 331–335. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2004.645.39>
- Khaliq G, Nisa M, Ramzan M, Koondhar N. 2017. Textural properties and enzyme activity of mango (*Mangifera indica* L.) fruit coated with chitosan during storage. *Journal of Agricultural Studies* 5 (2): 32–50. <https://doi.org/10.5296/jas.v5i2.10946>
- Kim DO, Lee KW, Lee HJ, Lee CY. 2002. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolics phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (13): 3713–3717. <https://doi.org/10.1021/jf020071c>
- Kulkarni MM, Burondkar MM, Dalvi NV, Salvi BR, Haldankar PM, Bhattacharyya T. 2019. Mango fruit size diversity found in Konkan. *Advanced Agricultural Research and Technology Journal* 3 (1): 43–46.
- Lawson T, Lycett GW, Ali A, Chin CF. 2019. Characterization of Southeast Asia mangoes (*Mangifera indica* L.) according to their physicochemical attributes. *Scientia Horticulturae* 243: 189–196. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.08.014>
- Lebaka VR, Wee YJ, Ye W, Korivi M. 2021. Nutritional composition and bioactive compounds in three different parts of mango fruit. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 18 (2): 741. <https://doi.org/10.3390/ijerph18020741>
- Lichtenthaler HK. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomenbranes. *Methods in Enzymology* 148: 350–382.
- Luna-Esquivel G, Arévalo-Galarza ML, Anaya-Rosales S, Villegas-Monter A, Acosta-Ramos M, Leyva-Ruelas G. 2006. Calidad de mango 'Ataulfo' sometido a tratamiento hidrotérmico. *Revista Fitotecnia Mexicana* 29 (2): 123–128.
- Maldonado-Astudillo YI, Navarrete-García HA, Ortiz-Morales ÓD, Jiménez-Hernández J, Salazar-López R, Alia-Tejacal I, Álvarez-Fitz P. 2016. Propiedades físicas, químicas y antioxidantes de variedades de mango crecidas en la costa de Guerrero. *Revista Fitotecnia Mexicana* 39 (3): 207–214.
- Maldonado-Celis ME, Yahia EM, Bedoya R, Landázuri P, Loango N, Aguillón J, Restrepo B, Guerrero-Ospina JC. 2019. Chemical composition of mango (*Mangifera indica* L.) fruit: nutritional and phytochemical compounds. *Frontiers in Plant Science* 10: 1073. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01073>
- Masibo M, Qian H. 2008. Major mango polyphenols and their potential significance to human health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 7 (4): 309–319. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2008.00047.x>
- Mazariegos-Sánchez A, Milla-Sánchez AI, Martínez-Chávez J, Águila-González JM, Villanueva-Vázquez KE. 2017. Identificación del sistema local de comercialización del mango Ataulfo en el municipio de Huehuetán, Chiapas. *Revista Mexicana de Agronegocios* 40: 571–582.

- Méndez R, Quijada O, Castellano G, Burgos ME, Camacho R, Marin C. 2010. Características físicas y químicas de frutos de trece cultivares de mango (*Mangifera indica* L.) en el municipio Mara en la planicie de Maracaibo. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 10 (2): 65–72.
- Mikulič-Petkovšek M, Slatnar A, Schmitzer V, Štampar F, Veberič R, Koron D. 2013. Chemical profile of black currant fruit modified by different degree of infection with black currant leaf spot. *Scientia Horticulturae* 150, 399–409. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.11.038>
- Mikulič-Petkovšek M, Štampar F, Veberič R. 2009. Accumulation of phenolic compounds in apple in response to infection by the scab pathogen, *Venturia inaequalis*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 74 (1): 60–67. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2009.09.003>
- Nambi VE, Thangavel K, Jesudas DM. 2015. Scientific classification of ripening period and development of colour grade chart for Indian mangoes (*Mangifera indica* L.) using multivariate cluster analysis. *Scientia Horticulturae* 193: 90–98. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.05.031>
- Nambi VE, Thangavel K, Rajeswari KA, Manickavasagan A, Geetha V. 2016. Texture and rheological changes of Indian mango cultivars during ripening. *Postharvest Biology and Technology* 117: 152–160. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.02.009>
- NMX-FF-058-SCFI-2006 8/20. Norma Oficial Mexicana. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano – Fruta Fresca – Mango (*Mangifera indica* L.). <http://www.economia-nmx.gob.mx/normas/nmx/2006/nmx-ff-058-scfi-2006.pdf> (Recuperado: abril 2020).
- Palafox-Carlos H, Yahia EM, González-Aguilar GA. 2012. Identification and quantification of major phenolic compounds from mango (*Mangifera indica*, cv. Ataulfo) fruit by HPLC–DAD–MS/MS–ESI and their individual contribution to the antioxidant activity during ripening. *Food Chemistry* 135 (1): 105–111. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.103>
- Ramírez J, Zambrano R, Sepúlveda B, Simirgiotis M. 2014. Antioxidant properties and hyphenated HPLC–PDA–MS profiling of Chilean Pica mango fruits (*Mangifera indica* L. cv. piqueño). *Molecules* 19 (1): 438–458. <https://doi.org/10.3390/molecules19010438>
- Rangana, S. 1979. *Manual of Analysis of Fruits and Vegetables products*. Tata McGraw Hill Publishing Company Limited: New Delhi, India. 20 p.
- Saranwong S, Sornsrivichai J, Kawano S. 2004. Prediction of ripe-stage eating quality of mango fruit from its harvest quality measured nondestructively by near infrared spectroscopy. *Postharvest Biology and Technology* 31 (2): 137–145. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2003.08.007>
- SAS (Statistical Analysis System). 2004. *SAS/STAT users guide*. Version 9.1. SAS Institute Inc. Cary NC, U.S.A. 5121 p.
- Lu P. 2018. *Achieving sustainable cultivation of mangoes*. Burleigh Dodds Science Publishing Limited: Sawston, UK. 570 p.
- SIAP (Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera). 2018. *Avance de siembras y cosechas resumen nacional por estado*. http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/AvanceNacionalCultivo.do (Recuperado: abril 2020).
- SIAP (Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera). 2019. *Anuario estadístico de la producción agrícola*. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> (Recuperado: abril 2020).
- Siller-Cepeda J, Muy-Rangel D, Báez-Sañudo M, Araiza-Lizarde E, Ireta-Ojeda A. 2009. Calidad poscosecha de cultivares de mango de maduración temprana, intermedia y tardía. *Revista Fitotecnia Mexicana* 32 (1): 45–52.
- Sudheeran PK, Ovadia R, Galsarker O, Maoz I, Sela N, Maurer D, Feygenberg O, Shamir M, Alkan N. 2020. Glycosylated flavonoids: fruit's concealed antifungal arsenal. *New Phytologist* 225 (4): 1788–1798. <https://doi.org/10.1111/nph.16251>
- Svedström U, Vuorela H, Kostianen R, Laakso I, Hiltunen R. 2006. Fractionation of polyphenols in hawthorn into polymeric procyanidins, phenolic acids and flavonoids prior to high-performance liquid chromatographic analysis. *Journal of Chromatography A* 1112: 103–111. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.12.080>
- Tridge. 2021. *Top exporting countries of fresh mango*. <https://www.tridge.com/es/intelligences/mango> (Recuperado: septiembre 2021)

- USDA (United States Department of Agriculture). 2014. Data sets: fruit and tree nuts year-book, data tables. <http://usda.mannlib.cornell.edu/MannUsda/viewDocumentInfo.do?documentID=1377> (Recuperado: abril 2020).
- Vega-Vega V, Silva-Espinoza BA, Cruz-Valenzuela MR, Bernal-Mercado AT, González-Aguilar GA, Ruiz-Cruz S, Moctezuma E, Siddiqui MD, Ayala-Zavala JF. 2013. Antimicrobial and antioxidant properties of byproduct extracts of mango fruit. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 86 (1): 205–211. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2013.086.028>
- Witham FH, Blaydes DF, Devlin RM. 1971. *Experiments in Plant Physiology*. Van Nostrand Reinhold Company: New York, NY, USA, pp: 55–58.

REDUCTION OF CYANIDE CONTENT IN BAMBOO SHOOTS BY OPTIMIZING TEMPERATURE, HEATING TIME, AND SODIUM CHLORIDE CONCENTRATION

Norma Abril **Borja-Zamora**¹, Mauricio **Mora-Tello**², Gabriel Abraham **Cardoso-Ugarte**^{1*}

¹ Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla. Facultad de Gastronomía. 21 Sur 1103, Barrio Santiago, Puebla, Puebla, Mexico. C.P. 72410.

² Fundación Produce Puebla. 26 Norte 1202, Colonia Humboldt, Puebla, Puebla, Mexico. C.P. 72370.

* Author for correspondence: gabrielabraham.cardoso@upaep.mx

ABSTRACT

The impact of temperature, heat treatment time, and NaCl concentration on the hydrocyanic acid (HCN) content in bamboo shoots (BS) after processing optimization was investigated in this study. The goal was to reduce HCN concentrations in samples of *Phyllostachys aurea* BS harvested in Oaxaca, Mexico, using designed optimization, by identifying and determining optimal processing conditions. Fifteen treatments with different combinations of the factors were assigned in a Box-Behnken design with a 95 % confidence level and analyzed using Minitab® 19 software. A modification of the qualitative spectrophotometric technique of Guignard sodium picrate was used to quantify HCN. A calibration curve was constructed, showing a quadratic form and high correlation ($R^2 = 0.965$); the resulting equation allowed quantifying the content of the treatments. HCN concentrations in samples were found to range between 0.007 and 0.015 mg mL⁻¹. Among the variables tested, only the temperature and heating time showed a significant effect ($p \leq 0.05$) on HCN reduction. Finally, contour plots were built to identify the optimal treatment conditions for the most significant HCN reduction.

Keywords: *Phyllostachys aurea*, hydrocyanic acid, Box-Behnken, Guignard picrate test.

INTRODUCTION

Bamboo is a plant classified as an herb which belongs to the Poaceae family. It has approximately 1250 species and 75 genera and is found almost all over the world, except in the Polar regions. It is more frequently found in tropical and subtropical climates. It has been used as a fuel, food, and raw building material in indigenous communities since time immemorial (Pandey and Ojha, 2014).

Bamboo shoots (BS) are culms that have just emerged from the ground during the rainy season, reaching a height of 20–30 cm. They have a crispy and tender texture, comparable to asparagus, but are creamy-yellow. The preparation for its consumption entails washing, peeling, slicing, and cutting into cones; followed by a heat treatment that allows its consumption (Satya *et al.*, 2012). Because of its high protein, carbohydrate, mineral, vitamin, and bioactive compound content, BS is a highly valued food product.

Citation: Borja-Zamora NA, Mora-Tello M, Cardoso-Ugarte GA. 2023. Reduction of cyanide content in bamboo shoots by optimizing temperature, heating time, and sodium chloride concentration. *Agrociencia* 57(1): 56-74. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v57i1.2441>

Editor in Chief:

Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: September 05, 2021.

Approved: November 22, 2022.

Published in *Agrociencia*:

February 15, 2022.

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



However, most bamboo species carry cyanogenic glycosides that undergo endogenous enzymatic hydrolysis, producing hydrocyanic acid or hydrogen cyanide (HCN), both of which can be lethal in high enough concentrations (Rana *et al.*, 2011).

Cyanogenic glycosides are bioactive compounds found in some edible plants, produced from amino acids. As aforementioned, its hydrolysis produces hydrogen cyanide, which is harmful to human health. The content of these compounds has been reported to vary depending on the species, the age of the plant at the time of harvest, the part of the plant (tip, base, or half), and external factors such as altitude, temperature, and rainfall (Wang *et al.*, 2020). In this regard, the food industry and local consumers of BS have resorted to a variety of thermal and non-thermal treatments in order to eliminate or reduce the cyanide content to permissible consumption levels. These processes include boiling, blanching, soaking, fermentation, drying, and salt or citric acid addition (Kuliahari *et al.*, 2021; Pattarathitiwat *et al.*, 2021).

According to Bolarinwa *et al.* (2016), cyanide toxicity in animals, including humans, occurs at doses ranging from 0.5 and 3.5 mg of HCN per kilogram of body weight, causing symptoms such as vomiting, stomach pain, diarrhoea, seizures, and, in more severe cases, death. The World Health Organization (WHO) has established a maximum acceptable level of cyanide in drinking water at 1.9 μM (Mahalakshmi *et al.*, 2019). It was hypothesized that by using a Box-Behnken design, an optimized combination of temperature, heat treatment time, and NaCl concentration would be obtained to reduce the HCN in BS to permissible limits. This study aimed to reduce the concentrations of HCN in samples of *Phyllostachys aurea* bamboo shoots harvested in Oaxaca, Mexico, by identifying and determining optimal processing parameters.

MATERIALS AND METHODS

Raw material

The bamboo shoots (BS) samples were donated by the Produce Puebla A.C. Foundation and harvested on the 15th day of sprouting in the Mexican state of Oaxaca. The samples were stripped by manually removing their first three layers; the base and tip were discarded to obtain 0.5 cm thick slices from the middle part of the shoots.

Sample treatment

The BS cut-samples were immersed in a saline solution at various concentrations for 30 minutes and then subjected to a heat treatment using a Sous vide-type immersion thermocirculator (PolyScience, USA) for specific times. The different concentrations and times were determined by the experimental design. The samples were bagged using a vacuum packing machine (TOR-REY, Mexico) and frozen for later analysis.

Determination of hydrocyanic acid

A spectrophotometric methodology adapted from the Guignard sodium picrate test (Lian and Hamir, 1981) was followed to quantify cyanide in BS samples. In brief, 1×10

cm filter paper strips were impregnated in a 0.05 M picric acid solution. They were dried and then impregnated in a 10 % sodium bicarbonate solution, allowed to dry at room temperature, and stored in a closed amber bottle.

An HCN calibration curve was constructed, for which a stock solution was prepared by dissolving 0.241 g of NaCN (sodium cyanide) in 1 L of distilled water, equivalent to an HCN solution concentration of 0.1 mg mL⁻¹. This solution was diluted in test tubes to obtain concentrations ranging from 0 to 400 mg of hydrocyanic acid, and a blank was prepared with distilled water. To each tube, the required amount of distilled water was added to obtain a final volume of 8 mL. Finally, to release the cyanide from the solutions, 3 mL of HCl 3N were added. The strips of sodium picrate were then suspended in the cap of each tube so as not to come into contact with the solution; the tubes were closed and left to stand for 24 h at room temperature. During this time, the cyanide gases caused the indicator strips to turn a reddish colour, the intensity of which depended on the concentration of HCN. The strips were removed after 24 hours and eluted in 10 mL of distilled water.

The absorbance of the coloured solutions was read in a spectrophotometer (Genova Plus JENWAY, USA) with a wavelength of 550 nm, establishing the solution without cyanide as zero. The absorbances were measured in triplicate, and the calibration curve was constructed with the means obtained. To determine the amount of cyanide in BS samples, 2 g of each sample were weighed and placed in test tubes, 1 mL of chloroform was added to release the cyanide in samples, and the aforementioned sodium picrate strip methodology was used. With the average absorbances obtained in the BS samples, the amount of HCN in each was calculated using the regression equation obtained from the previously constructed calibration curve.

Statistical analysis

To determine the impact of the treatment heat temperature (T), treatment time (t), and NaCl concentration (s), a 3² Box-Behnken experimental design was applied. The high and low levels assigned to each processing condition (Table 1) were within the range reported in previous research (Pandey and Ojha, 2014). Based on the results obtained from the HCN content in the bamboo samples, surface plots were constructed using the Minitab v.19 software (Minitab Inc., USA). A prediction model was built from the coefficients obtained to minimize the HCN content.

Table 1. Values of the high and low levels of the Box-Behnken type design for the treatment of *Phyllostachys aurea* bamboo shoots (BS) samples.

Factors	High level	Low level
Temperature (°C)	95	50
Time (minutes)	30	5
NaCl (%)	10	0

RESULTS AND DISCUSSION

Construction of the calibration curve

After eluting the strips impregnated with sodium picrate in water that reacted with the NaCN dilutions, the calibration curve (Figure 1) was constructed using the means of the recorded absorbances of the solutions. As observed, the regression curve was adjusted to a quadratic form showing a high correlation ($R^2 = 0.965$), and the following equation was obtained: $y = -2.95242 + 2.2724x + 0.0174$. However, because the HCN content was calculated from the absorbance, an inverse curve was constructed with y representing the cyanide content, and x the absorbance, giving the equation $y = 1.41112 + 0.1071x + 0.0071$, from which the HCN concentrations in BS were calculated.

Effect of treatments on HCN content in bamboo shoots

To evaluate the impact of the tested factors (temperature, time, and salt concentration) on the concentration of HCN in bamboo shoots, the experimental design used yielded 15 different treatments arranged in duplicate, each of them with specific processing conditions. Different absorbances were obtained for each treatment and used to calculate HCN concentrations (Table 2).

HCN concentrations were found to be in a narrow range between 0.007 and 0.015 mg g⁻¹. Additionally, the coefficients and p values obtained for each of the factors evaluated and their interactions were also calculated (Table 3), revealing that the factors that significantly ($p < 0.05$) affected the concentration of HCN were time, temperature, and their interaction, with p values of 0.023, 0.042 and 0.036, respectively. In contrast, neither the salt concentration nor its interactions had a significant effect ($p \geq 0.05$) on the HCN content.

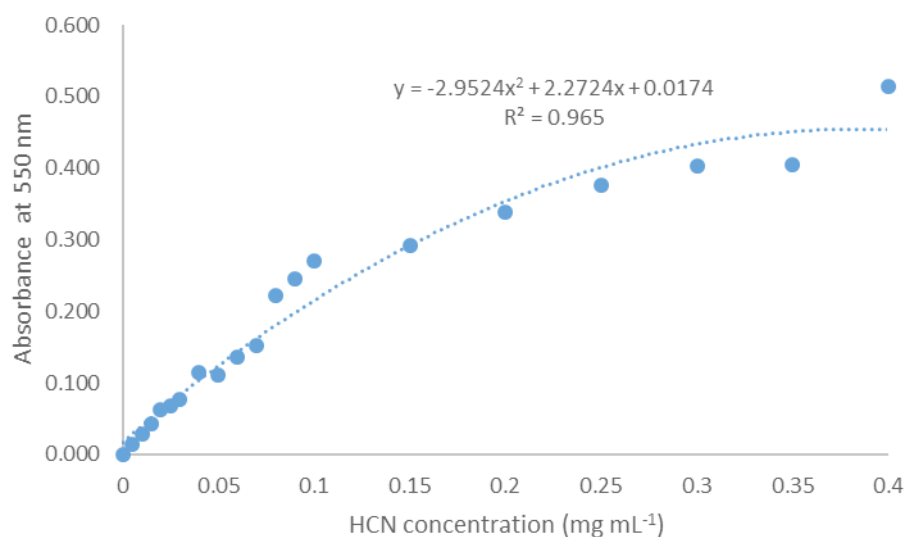


Figure 1. Calibration curve of the absorbances obtained from NaCN dilutions at the release of HCN in the Guignard's sodium picrate test.

Table 2. Treatment conditions, absorbance measurements, and calculated HCN concentrations in *Phyllostachys aurea* bamboo shoots (BS).

Treatment	Time (minutes)	Temperature (°C)	NaCl concentration (%)	Absorbance at 550 nm	HCN concentration (mg g ⁻¹)
1	17.5	95	0	0.003	0.007
2	17.5	95	10	0.004	0.007
3	17.5	72.5	5	0.014	0.009
4	30	72.5	10	0.003	0.007
5	30	95	5	0.004	0.007
6	5	95	5	0.012	0.009
7	5	50	5	0.022	0.010
8	5	72.5	0	0.015	0.009
9	30	95	5	0.003	0.007
10	17.5	50	0	0.006	0.008
11	30	72.5	10	0.005	0.008
12	17.5	72.5	5	0.010	0.008
13	5	72.5	10	0.008	0.008
14	30	72.5	0	0.006	0.008
15	30	72.5	0	0.005	0.008
16	5	72.5	0	0.008	0.008
17	17.5	50	10	0.005	0.008
18	17.5	95	10	0.003	0.007
19	5	50	5	0.046	0.015
20	17.5	72.5	5	0.008	0.008
21	30	50	5	0.004	0.007
22	17.5	72.5	5	0.003	0.007
23	17.5	72.5	5	0.005	0.008
24	17.5	50	10	0.012	0.009
25	17.5	72.5	5	0.035	0.012
26	17.5	95	0	0.008	0.008
27	5	95	5	0.004	0.007
28	30	50	5	0.004	0.008
29	5	72.5	10	0.009	0.008
30	17.5	50	0	0.019	0.010

Table 3. Coefficients and *p*-values of the evaluated factors and their interactions.

Factors	Coefficients	<i>p</i> -values
Time	-0.000873	0.023
Temperature	-0.000768	0.042
NaCl concentration	-0.000187	0.602
Time * Temperature	0.001119	0.036
Time * NaCl concentration	0.000060	0.905
Temperature * NaCl concentration	0.000087	0.864

Three surface plots were created from the interactions of the factors in order to identify the optimal temperature, time, and salt concentration conditions to minimize the content of HCN in BS. The interaction of time * temperature (Figure 2) allowed us to identify that in order to obtain HCN concentrations below 0.009 mg g^{-1} in BS, the samples must be subjected to heat treatment with temperatures greater than $80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ for a minimum of 22 minutes with a fixed salt concentration of 5 %.

Regarding the salt concentration * time interaction (Figure 3), it was observed that as long as the heat treatment was extended (higher than 25 minutes), the HCN

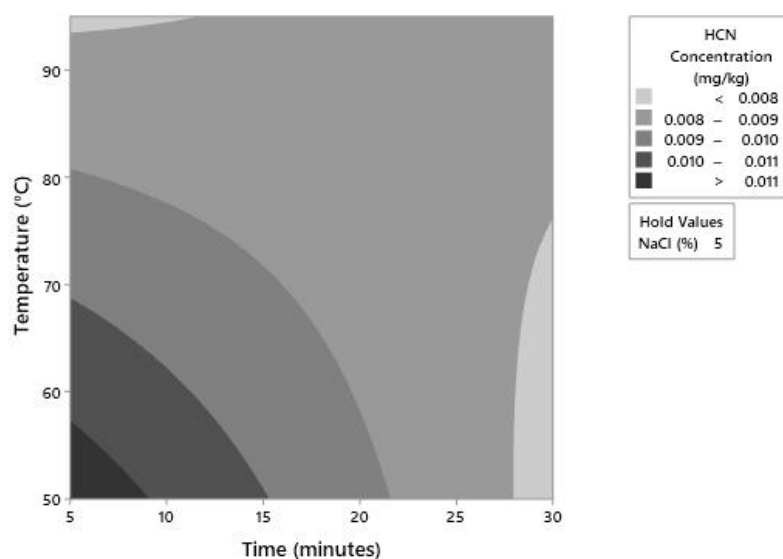


Figure 2. Contour plot of the prediction of HCN concentration in *Phyllostachys aurea* bamboo shoots (BS) as a function of the temperature * time interaction.

concentration would fall below 0.0080 mg g^{-1} at $72.5 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Finally, it was confirmed in the salt concentration * temperature interaction (Figure 4) that salt concentration did not affect the HCN content in BS, since HCN concentrations below 0.0085 mg g^{-1} could be obtained with heat treatments above $80 \text{ }^{\circ}\text{C}$, regardless of the amount of salt added to the samples. In the end, in all cases, the concentrations of HCN obtained after the treatments were below the limits reported by other authors. According to Bolhuis (1954), the lethal dose of cyanide for a 50 kg adult is between 50–60 mg.

Previous studies found that untreated bamboo shoots of various species contain 0.1–0.8 % of HCN on average (Singhal *et al.*, 2013). Additionally, Waikhom *et al.* (2013) examined 15 different BS species and discovered that the total cyanide content ranged from $300\text{--}2604 \text{ mg kg}^{-1}$ at the tip, $210\text{--}2243 \text{ mg kg}^{-1}$ on the stem, and $199\text{--}920 \text{ mg kg}^{-1}$ at the base, using the Haque and Bradbury method.

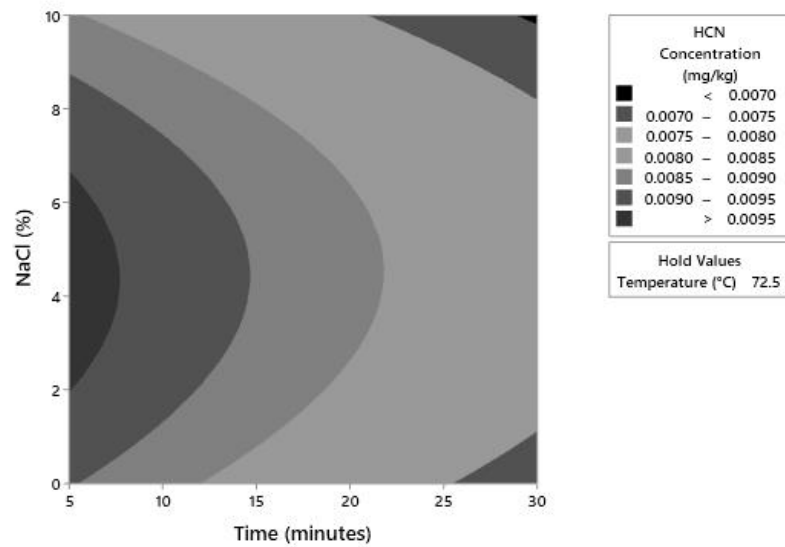


Figure 3. Contour plot of the prediction of HCN concentration in *Phyllostachys aurea* bamboo shoots (BS) as a function of NaCl concentration * time interaction.

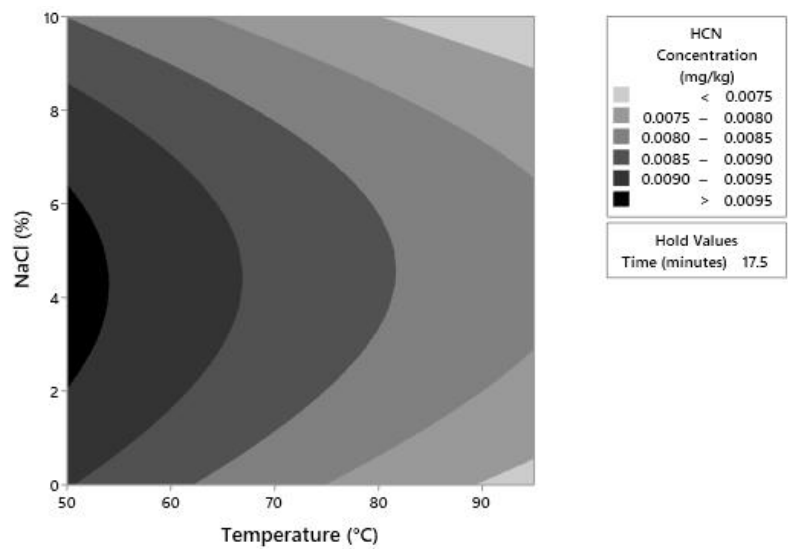


Figure 4. Contour plot of the prediction of HCN concentration in *Phyllostachys aurea* bamboo shoots (BS), as a function of the NaCl concentration * temperature interaction.

Pokhariya *et al.* (2018) reported a reduction of 94.72 % HCN in BS after boiling the samples for 25 minutes. Aguirre *et al.* (2018) mentioned that BS should be chopped and boiled for 10 minutes, then drained and boiled in water for the same period of time to achieve total HCN elimination in the culms. Therefore, as the cooking time

and temperature increase, the HCN content in the culms decreases. Pattarathitawat *et al.* (2021) assessed the reduction of HCN by boiling sliced BS samples for 30 minutes. The samples were then cooled and stored at -20 °C resulting in complete elimination of HCN. Choudhury *et al.* (2012) reported that 70 % of the cyanide content in BS is eliminated by boiling the shoots at 98 °C for 20 minutes, and a 96 % removal is reached with longer boiling periods.

Rana *et al.* (2011) investigated the impact of NaCl concentration, NaCl solution amount, boiling time, and culms thickness. The lowest cyanide content was obtained by boiling the samples for 20 minutes in 300 mL of 3% NaCl solution with a thickness of 1.5 cm, while the highest cyanide content was obtained with 100 mL of 1% NaCl solution at the same conditions of thickness and time.

Regarding this study, the essential factors in reducing the HCN content in bamboo shoots are time and temperature, obtaining no harmful edible *Phyllostachys aurea* bamboo shoots (cyanide content lower than 1.0–1.2 mg kg⁻¹ for an adult person). Despite the obtained results, the bamboo species to be processed should be considered, since cyanide levels differ among species. According to Wang *et al.* (2020), the HCN content in bamboo species ranges from 31.68 ± 2.12 mg kg⁻¹ (*Chimonobambusa callosa*) to 1951.49 ± 28.20 mg kg⁻¹ (*Dendrocalamus longispatus*). Moreover, the proportion of BS to process is also a key consideration; the smaller the sample, the less cyanide is present, and the longer the treatment time is required.

CONCLUSIONS

The spectrophotometric methodology adapted from the Guignard sodium picrate test proved to be a viable alternative for quantifying hydrocyanic acid (HCN) in bamboo shoots. The obtained calibration curve followed the same quadratic form as previously reported. With the calculated equation, high-reliability data were obtained. The effect of temperature, treatment time, and salt concentration on the final concentration of hydrocyanic acid in bamboo shoots was objectively evaluated; temperature and treatment time were significant. Thermal treatments at high temperatures for extended periods of time resulted in considerable reductions of hydrocyanic acid in *Phyllostachys aurea* bamboo shoots. In all cases, HCN concentrations obtained after treatments were lower the limits reported by other authors.

ACKNOWLEDGEMENTS

To Fundación Produce Puebla A.C. for funding this research.

REFERENCES

- Aguirre Cadena JF, Ramírez Valverde B, Cadena Íñiguez J, Caso Barrera L, Juárez Sánchez JP, Martínez Carrera DC. 2018. Possibilities of bamboo (*Guadua angustifolia* Kunth) for human consumption in Sierra Nororiental of Puebla, Mexico. *Nova Scientia* 10 (21): 137–153. <https://doi.org/10.21640/ns.v10i21.1425>
- Bolarinwa IF, Oke MO, Olaniyan S, Ajala AS. 2016. A review of cyanogenic glycosides in edible plants. *In: Toxicology – New Aspects to This Scientific Conundrum*, Soloneski S, Larramendy ML. (eds.). IntechOpen. London, UK, pp: 179–191.

- Choudhury D, Sahu JK, Sharma GD. 2012. Value addition to bamboo shoots: a review. *Journal of Food Science and Technology* 49 (4): 407–414. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0379-z>
- Bolhuis GG. 1954. The toxicity of cassava roots. *NJAS – Wageningen Journal of Life Sciences* 2 (3): 176–185. <https://doi.org/10.18174/njas.v2i3.17841>
- Kuliahsari DE, Sari INI, Estiasih T. 2021. Cyanide detoxification methods in food: A review. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 733: 012099. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/733/1/012099>
- Lian TS, Hamir NA. 1981. Spectrophotometric quantification of Guignard's sodium picrate test. *Mardi Research Bulletin* 9 (1): 35–41. <http://jtafs.mardi.gov.my/jtafs/09-1/QUANTIFICATION.pdf> (Retrieved: August 2022).
- Mahalakshmi G, Saravana-Kumar P, Raja-Lakshmi P, Seenivasa-Perumal M, Elango KP. 2019. Highly selective turn-on fluorescent probe for detection of cyanide in water and food materials. *Methods and Applications in Fluorescence* 7 (2): 025003. <https://doi.org/10.1088/2050-6120/ab0bf0>
- Pandey AK, Ojha V. 2014. Precooking processing of bamboo shoots for removal of anti-nutrients. *Journal of Food Science and Technology* 51: 43–50. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0463-4>
- Pattarathitawat P, Chinvongamorn C, Sansanya S. 2021. Evaluation of cyanide content, volatile compounds profile, and biological properties of fresh and boiled sliced Thai bamboo shoot (*Dendrocalamus asper* Back.). *Preventive Nutrition and Food Science* 26 (1): 92–99. <https://doi.org/10.3746/pnf.2021.26.1.92>
- Pokhariya P, Tangariya P, Sahoo A, Awasthi P, Pandey A. 2018. Reducing hydrocyanic acid content, nutritional and sensory quality evaluation of edible bamboo shoot based food products. *International Journal of Chemical Studies* 6 (4): 1079–1084.
- Rana B, Awasthi P, Kumbhar B. 2011. Optimization of processing conditions for cyanide content in fresh bamboo shoot during NaCl treatment by response surface methodology. *Journal of Food Science and Technology* 49: 103–109. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0324-1>
- Satya S, Singhal P, Bal LM, Sudhakar P. 2012. Bamboo shoot: a potential source of food security. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism* 5: 1–10. <https://doi.org/10.1007/s12349-011-0086-3>
- Singhal P, Bal LM, Satya S, Sudhakar P, Naik SN. 2013. Bamboo shoots: a novel source of nutrition and medicine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 53 (5): 517–34. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.531488>
- Waikhom S, Bengyella L, Sharma C, Kumari P, Somkuwar B, Singh M, Talukdar N. 2013. Grappling the High Altitude for Safe Edible Bamboo Shoots with Rich Nutritional Attributes and Escaping Cyanogenic Toxicity. *BioMed Research International* 2013: 1–11. <https://doi.org/10.1155/2013/289285>
- Wang Y, Chen J, Wang D, Ye F, He Y, Hu Z, Zhao G. 2020. A systematic review on the composition, storage, processing of bamboo shoots: Focusing the nutritional and functional benefits. *Journal of Functional Foods* 71: 104015. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104015>

REDUCCIÓN DEL CONTENIDO DE CIANURO EN LOS BROTES DE BAMBÚ MEDIANTE LA OPTIMIZACIÓN DE LA TEMPERATURA, EL TIEMPO DE CALENTAMIENTO Y LA CONCENTRACIÓN DE CLORURO SÓDICO

Norma Abril **Borja-Zamora**¹, Mauricio **Mora-Tello**², Gabriel Abraham **Cardoso-Ugarte**^{1*}

¹ Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla. Facultad de Gastronomía. 21 Sur 1103, Barrio Santiago, Puebla, Puebla, Mexico. C.P. 72410.

² Fundación Produce Puebla. 26 Norte 1202, Colonia Humboldt, Puebla, Puebla, Mexico. C.P. 72370.

* Autor para correspondencia: gabrielabraham.cardoso@upaep.mx

RESUMEN

En este estudio, se investigó el impacto de la temperatura, el tiempo de tratamiento térmico y la concentración de NaCl sobre el contenido de ácido cianhídrico (HCN) en brotes de bambú (BS) tras la optimización de su procesamiento. El objetivo fue reducir las concentraciones de HCN en muestras de BS (*Phyllostachys aurea*) cosechadas en Oaxaca, México, mediante la identificación y determinación de las condiciones óptimas de procesamiento. Se asignaron quince tratamientos con diferentes combinaciones de los factores en un diseño Box-Behnken, con un nivel de confianza del 95 % y se analizaron mediante el programa informático Minitab® 19. Para cuantificar el HCN se utilizó una modificación de la técnica espectrofotométrica cualitativa del picrato sódico de Guignard. Se construyó una curva de calibración, que mostró una forma cuadrática y una alta correlación ($R^2 = 0.965$); la ecuación resultante permitió cuantificar el contenido de los tratamientos. Se observó que las concentraciones de HCN en las muestras oscilaban entre 0.007 y 0.015 mg mL⁻¹. Entre las variables analizadas, sólo la temperatura y el tiempo de calentamiento mostraron un efecto significativo ($p \leq 0.05$) sobre la reducción de HCN. Por último, se construyeron gráficas de contorno para identificar las condiciones de tratamiento óptimas para la reducción más significativa de HCN.

Palabras clave: *Phyllostachys aurea*, ácido cianhídrico, Box-Behnken, prueba del picrato de Guignard.

INTRODUCCIÓN

El bambú es una planta clasificada como hierba que pertenece a la familia Poaceae. Tiene aproximadamente 1250 especies y 75 géneros y se encuentra en casi todo el mundo, excepto en las regiones polares. Es más frecuente encontrarla en climas tropicales y subtropicales. Se ha utilizado como combustible, alimento y materia prima para la construcción en comunidades indígenas desde tiempos inmemoriales (Pandey y Ojha, 2014).

Citation: Borja-Zamora NA, Mora-Tello M, Cardoso-Ugarte GA. 2023. Reducción del contenido de cianuro en los brotes de bambú mediante la optimización de la temperatura, el tiempo de calentamiento y la concentración de cloruro sódico.

Agrociencia 57(1): 56-74.
<https://doi.org/10.47163/agrociencia.v57i1.2441>

Editor in Chief:

Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: September 05, 2021.

Approved: November 22, 2022.

Published in Agrociencia:

February 15, 2022.

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



Los brotes de bambú (BS) son tallos que acaban de emerger del suelo durante la estación lluviosa y alcanzan una altura de 20–30 cm. Tienen una textura crujiente y tierna, comparable a la de los espárragos, pero de color amarillo cremoso. La preparación para su consumo conlleva lavarlos, pelarlos, rebanarlos y cortarlos en conos; seguido de un tratamiento térmico que permite su consumo (Satya *et al.*, 2012). Por su alto contenido en proteínas, carbohidratos, minerales, vitaminas y compuestos bioactivos, el bambú es un producto alimenticio muy apreciado. Sin embargo, la mayoría de las especies de bambú son portadoras de glucósidos cianogénicos que sufren hidrólisis enzimática endógena, produciendo ácido cianhídrico o cianuro de hidrógeno (HCN), ambos letales en concentraciones suficientemente altas (Rana *et al.*, 2011).

Los glucósidos cianogénicos son compuestos bioactivos que se encuentran en algunas plantas comestibles, producidos a partir de aminoácidos. Como ya se ha dicho, su hidrólisis produce cianuro de hidrógeno, perjudicial para la salud humana. Se ha informado que el contenido de estos compuestos varía en función de la especie, la edad de la planta en el momento de la recolección, la parte de la planta (punta, base o mitad) y factores externos como la altitud, la temperatura y las precipitaciones (Wang *et al.*, 2020). En este sentido, la industria alimentaria y los consumidores locales de BS han recurrido a diversos tratamientos térmicos y no térmicos para eliminar o reducir el contenido de cianuro a niveles de consumo admisibles. Estos procesos incluyen: hervido, escaldado, remojo, fermentación, secado y adición de sal o ácido cítrico (Kuliahari *et al.*, 2021; Pattarathitawat *et al.*, 2021).

Según Bolarinwa *et al.* (2016), la toxicidad del cianuro en animales, incluidos los humanos, se produce a dosis que oscilan entre 0.5 y 3.5 mg de HCN por kilogramo de peso corporal, causando síntomas como vómitos, dolor de estómago, diarrea, convulsiones y, en casos más graves, la muerte. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha establecido un nivel máximo aceptable de cianuro en el agua potable de 1.9 μM (Mahalakshmi *et al.*, 2019). Por lo tanto, se planteó la hipótesis de que, utilizando un diseño Box-Behnken, se obtendría una combinación optimizada de temperatura, tiempo de tratamiento térmico y concentración de NaCl para reducir el HCN en BS hasta límites permisibles. El objetivo de este estudio fue reducir las concentraciones de HCN en muestras de brotes de bambú *Phyllostachys aurea* cosechados en Oaxaca, México, mediante la identificación y determinación de parámetros óptimos de procesamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

Las muestras de brotes de bambú (BS) fueron donadas por la Fundación Produce Puebla A.C. y cosechadas a los 15 días de brotación en el estado de Oaxaca, México. Las muestras se deshojaron, retirando manualmente sus tres primeras capas; la base y la punta se desecharon para obtener rebanadas de 0.5 cm de espesor de la parte media de los brotes

Tratamiento de muestras

Las muestras cortadas de BS se sumergieron en una solución salina a distintas concentraciones durante 30 minutos y luego se sometieron a un tratamiento térmico, utilizando un termocirculador de inmersión de tipo Sous vide (PolyScience, EE.UU.), durante tiempos específicos. Las diferentes concentraciones y tiempos fueron determinados por el diseño experimental. Las muestras se embolsaron utilizando una empacadora al vacío (TOR-REY, México) y se congelaron para su posterior análisis.

Determinación del ácido cianhídrico

Se siguió una metodología espectrofotométrica adaptada de la prueba del picrato sódico de Guignard (Lian y Hamir, 1981) para cuantificar el cianuro en muestras de BS. En resumen, se impregnaron tiras de papel filtro de 1×10 cm en una solución 0.05 M de ácido pícrico. Se secaron y luego se impregnaron en una solución de bicarbonato sódico al 10 %, se dejaron secar a temperatura ambiente y se guardaron en un frasco ámbar cerrado.

Se construyó una curva de calibración de HCN, para lo cual se preparó una solución madre disolviendo 0.241 g de NaCN (cianuro sódico) en 1 L de agua destilada, equivalente a una concentración de solución de HCN de 0.1 mg mL⁻¹. Esta solución se diluyó en tubos de ensayo para obtener concentraciones que oscilaban entre 0 y 400 mg de ácido cianhídrico, y se preparó un blanco con agua destilada. A cada tubo se añadió la cantidad necesaria de agua destilada para obtener un volumen final de 8 mL. Por último, para liberar el cianuro de las soluciones, se añadieron 3 mL de HCl 3N. Luego se suspendieron las tiras de picrato sódico en el tapón de cada tubo para que no entraran en contacto con la solución; se cerraron los tubos y se dejaron reposar durante 24 h a temperatura ambiente. Durante este tiempo, los gases de cianuro hicieron que las tiras indicadoras adquirieran un color rojizo, cuya intensidad dependía de la concentración de HCN. Las tiras se retiraron al cabo de 24 horas y se eluyeron en 10 mL de agua destilada.

La absorbancia de las soluciones coloreadas se leyó en un espectrofotómetro (Genova Plus JENWAY, EE.UU.), a una longitud de onda de 550 nm, estableciendo como cero la solución sin cianuro. Las absorbancias se midieron por triplicado y con las medias obtenidas se construyó la curva de calibración. Para determinar la cantidad de cianuro en las muestras de BS, se pesaron 2 g de cada muestra y se colocaron en tubos de ensayo, se añadió 1 mL de cloroformo para liberar el cianuro de las muestras y se utilizó la metodología de la tira de picrato sódico antes mencionada. Con las medias de las absorbancias obtenidas en las muestras de BS, se calculó la cantidad de HCN en cada una de ellas, utilizando la ecuación de regresión obtenida a partir de la curva de calibración construida previamente.

Análisis estadístico

Para determinar el impacto de la temperatura del tratamiento térmico (T), el tiempo de tratamiento (t) y la concentración de NaCl (s), se aplicó un diseño experimental 3² de

tipo Box-Behnken. Los niveles alto y bajo asignados a cada condición de tratamiento (Cuadro 1) estaban dentro del rango reportado en investigaciones previas (Pandey y Ojha, 2014). A partir de los resultados obtenidos del contenido de HCN en las muestras de bambú, se construyeron gráficas de superficie utilizando el programa informático Minitab v.19 (Minitab Inc., EE.UU.). Se construyó un modelo de predicción a partir de los coeficientes obtenidos para minimizar el contenido de HCN.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Construcción de la curva de calibración

Tras eluir las tiras impregnadas de picrato de sodio en agua que reaccionó con las diluciones de NaCN, se construyó la curva de calibración (Figura 1), utilizando las medias de las absorbancias registradas de las soluciones. Como se observa, la curva de regresión se ajustó a una forma cuadrática que mostraba una alta correlación ($R^2 = 0.965$), y se obtuvo la siguiente ecuación: $y = -2.9524x^2 + 2.2724x + 0.0174$. Sin embargo,

Cuadro 1. Valores de los niveles alto y bajo del diseño tipo Box-Behnken para el tratamiento de muestras de brotes de bambú (BS) de *Phyllostachys aurea*.

Factores	Nivel alto	Nivel bajo
Temperatura (°C)	95	50
Tiempo (minutos)	30	5
NaCl (%)	10	0

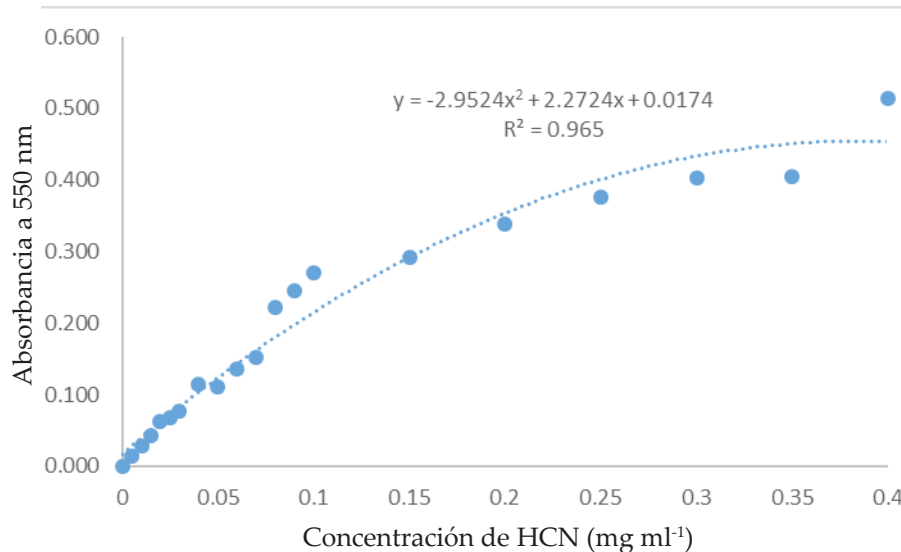


Figura 1. Curva de calibración de las absorbancias obtenidas a partir de diluciones de NaCN en la liberación de HCN en la prueba del picrato sódico de Guignard.

como el contenido de HCN se calculó a partir de la absorbancia, se construyó una curva inversa con y , que representa el contenido de cianuro, y x la absorbancia, dando la ecuación $y = 1.41112 + 0.1071x + 0.0071$, a partir de la cual se calcularon las concentraciones de HCN en BS.

Efecto de los tratamientos sobre el contenido de HCN en los brotes de bambú

Para evaluar el impacto de los factores probados (temperatura, tiempo y concentración de sal) sobre la concentración de HCN en los brotes de bambú, el diseño experimental utilizado dio lugar a 15 tratamientos diferentes dispuestos por duplicado, cada uno de ellos con condiciones de procesamiento específicas. Se obtuvieron diferentes absorbancias para cada tratamiento y se utilizaron para calcular las concentraciones de HCN (Cuadro 2).

Cuadro 2. Condiciones de tratamiento, mediciones de absorbancia y concentraciones calculadas de HCN en brotes de bambú *Phyllostachys aurea* (BS).

Tratamiento	Tiempo (minutos)	Temperatura (°C)	Concentración NaCl (%)	Absorbancia a 550 nm	Concentración HCN (mg g ⁻¹)
1	17.5	95	0	0.003	0.007
2	17.5	95	10	0.004	0.007
3	17.5	72.5	5	0.014	0.009
4	30	72.5	10	0.003	0.007
5	30	95	5	0.004	0.007
6	5	95	5	0.012	0.009
7	5	50	5	0.022	0.010
8	5	72.5	0	0.015	0.009
9	30	95	5	0.003	0.007
10	17.5	50	0	0.006	0.008
11	30	72.5	10	0.005	0.008
12	17.5	72.5	5	0.010	0.008
13	5	72.5	10	0.008	0.008
14	30	72.5	0	0.006	0.008
15	30	72.5	0	0.005	0.008
16	5	72.5	0	0.008	0.008
17	17.5	50	10	0.005	0.008
18	17.5	95	10	0.003	0.007
19	5	50	5	0.046	0.015
20	17.5	72.5	5	0.008	0.008
21	30	50	5	0.004	0.007
22	17.5	72.5	5	0.003	0.007
23	17.5	72.5	5	0.005	0.008
24	17.5	50	10	0.012	0.009
25	17.5	72.5	5	0.035	0.012
26	17.5	95	0	0.008	0.008
27	5	95	5	0.004	0.007
28	30	50	5	0.004	0.008
29	5	72.5	10	0.009	0.008
30	17.5	50	0	0.019	0.010

Se observó que las concentraciones de HCN estaban en un estrecho rango entre 0.007 y 0.015 mg g⁻¹. Adicionalmente, se calcularon los coeficientes y valores *p* obtenidos para cada uno de los factores evaluados y sus interacciones (Cuadro 3), revelando que los factores que afectaron significativamente (*p* < 0.05) la concentración de HCN fueron el tiempo, la temperatura y su interacción, con valores *p* de 0.023, 0.042 y 0.036, respectivamente. Por el contrario, ni la concentración de sal ni sus interacciones tuvieron un efecto significativo (*p* ≥ 0.05) sobre el contenido de HCN.

Se crearon tres gráficas de superficie a partir de las interacciones de los factores con el fin de identificar las condiciones óptimas de temperatura, tiempo y concentración de sal para minimizar el contenido de HCN en BS. La interacción del tiempo * temperatura (Figura 2) nos permitió averiguar que para obtener concentraciones de HCN inferiores a 0.009 mg g⁻¹ en BS, las muestras deben someterse a un tratamiento térmico con temperaturas superiores a 80 °C durante un mínimo de 22 minutos, con una concentración fija de sal del 5 %.

Cuadro 3. Coeficientes y valores *p* de los factores evaluados y sus interacciones.

Factores	Coeficientes	valores <i>p</i>
Tiempo	-0.000873	0.023
Temperatura	-0.000768	0.042
Concentración NaCl	-0.000187	0.602
Tiempo * Temperatura	0.001119	0.036
Tiempo * Concentración NaCl	0.000060	0.905
Temperatura * Concentración NaCl	0.000087	0.864

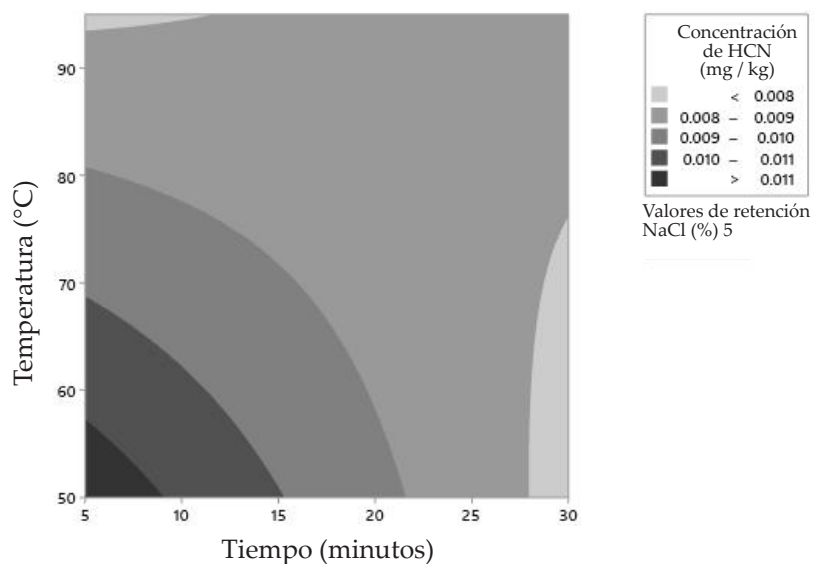


Figura 2. Diagrama de contorno de la predicción de la concentración de HCN en brotes de bambú *Phyllostachys aurea* (BS) como función de la interacción temperatura * tiempo.

En cuanto a la interacción concentración de sal * tiempo (Figura 3), se observó que mientras se prolongaba el tratamiento térmico (más de 25 minutos), la concentración de HCN caía por debajo de 0.0080 mg g^{-1} a $72.5 \text{ }^\circ\text{C}$. Por último, en la interacción concentración de sal * temperatura (Figura 4) se confirmó que la concentración de sal no

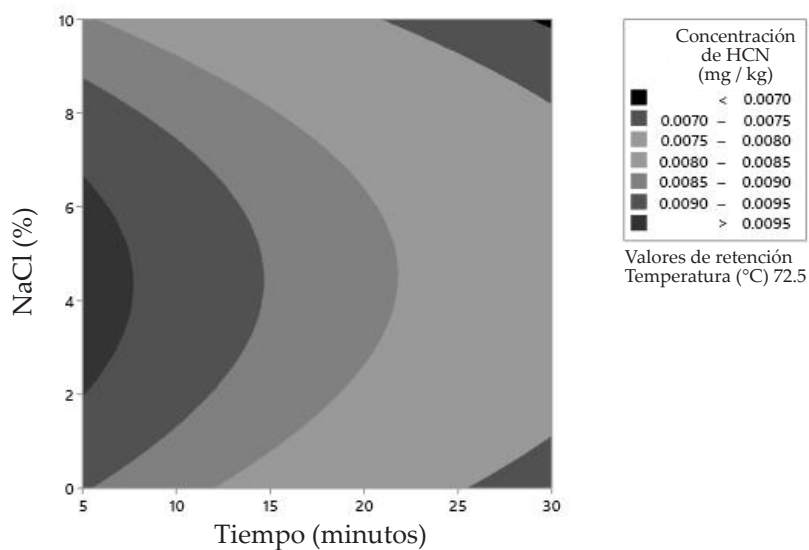


Figura 3. Diagrama de contorno de la predicción de la concentración de HCN en brotes de bambú *Phyllostachys aurea* (BS) como función de la interacción concentración de NaCl * tiempo.

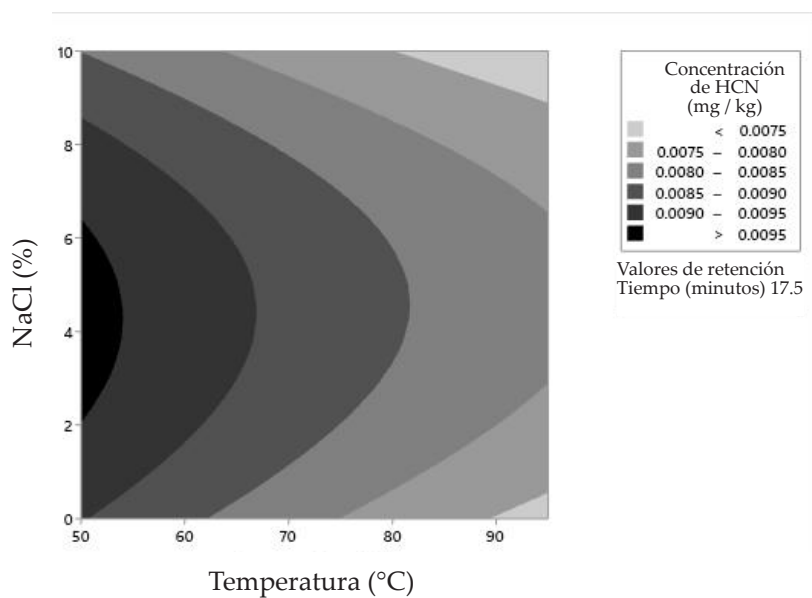


Figura 4. Diagrama de contorno de la predicción de la concentración de HCN en brotes de bambú *Phyllostachys aurea* (BS), como función de la interacción concentración de NaCl * temperatura.

afectaba el contenido de HCN en la BS, ya que podían obtenerse concentraciones de HCN inferiores a 0.0085 mg g^{-1} con tratamientos térmicos superiores a $80 \text{ }^\circ\text{C}$, independientemente de la cantidad de sal añadida a las muestras. Al final, en todos los casos, las concentraciones de HCN obtenidas tras los tratamientos estaban por debajo de los límites señalados por otros autores. Según Bolhuis (1954), la dosis letal de cianuro para un adulto de 50 kg se sitúa entre 50–60 mg.

En estudios anteriores se descubrió que los brotes de bambú no tratados de varias especies contienen 0.1–0.8 % de HCN en promedio (Singhal *et al.*, 2013). Además, Waikhom *et al.* (2013) examinaron 15 especies diferentes de BS y descubrieron que el contenido total de cianuro oscilaba entre $300\text{--}2604 \text{ mg kg}^{-1}$ en la punta, $210\text{--}2243 \text{ mg kg}^{-1}$ en el tallo y $199\text{--}920 \text{ mg kg}^{-1}$ en la base, utilizando el método de Haque y Bradbury. Pokhariya *et al.* (2018) informaron de una reducción del 94.72 % de HCN en BS después de hervir las muestras durante 25 minutos. Aguirre *et al.* (2018) mencionaron que la BS debe picarse y hervirse durante 10 minutos, luego escurrirse y hervirse en agua durante el mismo periodo de tiempo para lograr la eliminación total de HCN en los tallos. Por lo tanto, a medida que aumentan el tiempo y la temperatura de cocción, disminuye el contenido de HCN en los tallos. Pattarathitawat *et al.* (2021) evaluaron la reducción de HCN hirviendo muestras de BS en rodajas durante 30 minutos. Luego las muestras se enfriaron y se almacenaron a $-20 \text{ }^\circ\text{C}$, lo que resultó en la eliminación completa del HCN. Choudhury *et al.* (2012) informaron que el 70 % del contenido de cianuro en BS se elimina hirviendo los brotes a $98 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 20 minutos, y se alcanza una eliminación del 96 % con periodos de ebullición más largos.

Rana *et al.* (2011) investigaron el impacto de la concentración de NaCl, la cantidad de solución de NaCl, el tiempo de ebullición y el grosor de los tallos. El menor contenido de cianuro se obtuvo hirviendo las muestras durante 20 minutos en 300 mL de solución de NaCl al 3%, con un espesor de 1.5 cm, mientras que el mayor contenido de cianuro se obtuvo con 100 mL de solución de NaCl al 1%, en las mismas condiciones de espesor y tiempo.

En este estudio, los factores esenciales para reducir el contenido de HCN en los brotes de bambú fueron el tiempo y la temperatura, obteniéndose brotes de bambú *Phyllostachys aurea* comestibles no nocivos (contenido de cianuro inferior a $1.0\text{--}1.2 \text{ mg kg}^{-1}$ para una persona adulta). A pesar de los resultados obtenidos, debe tenerse en cuenta la especie de bambú que se va a procesar, ya que los niveles de cianuro difieren entre especies. Según Wang *et al.* (2020), el contenido de HCN en las especies de bambú oscila entre $31.68 \pm 2.12 \text{ mg kg}^{-1}$ (*Chimonobambusa callosa*) y $1951.49 \pm 28.20 \text{ mg kg}^{-1}$ (*Dendrocalamus longispathus*). Además, la proporción de BS a procesar también es una consideración clave; cuanto más pequeña sea la muestra, menor será la presencia de cianuro y mayor el tiempo de tratamiento requerido.

CONCLUSIONES

La metodología espectrofotométrica adaptada de la prueba del picrato sódico de Guignard demostró ser una alternativa viable para cuantificar el ácido cianhídrico

(HCN) en los brotes de bambú. La curva de calibración obtenida siguió la misma forma cuadrática que la reportada anteriormente. Con la ecuación calculada se obtuvieron datos de alta fiabilidad. Se evaluó objetivamente el efecto de la temperatura, el tiempo de tratamiento y la concentración de sal sobre la concentración final de ácido cianhídrico en los brotes de bambú. La temperatura y el tiempo de tratamiento fueron significativos. Los tratamientos térmicos a altas temperaturas durante largos periodos de tiempo produjeron reducciones considerables de ácido cianhídrico en los brotes de bambú *Phyllostachys aurea*. En todos los casos, las concentraciones de HCN obtenidas tras los tratamientos fueron inferiores a los límites señalados por otros autores.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Fundación Produce Puebla A.C. por haber financiado esta investigación.

REFERENCIAS

- Aguirre Cadena JF, Ramírez Valverde B, Cadena Íñiguez J, Caso Barrera L, Juárez Sánchez JP, Martínez Carrera DC. 2018. Possibilities of bamboo (*Guadua angustifolia* Kunth) for human consumption in Sierra Nororiental of Puebla, Mexico. *Nova Scientia* 10 (21): 137–153. <https://doi.org/10.21640/ns.v10i21.1425>
- Bolarinwa IF, Oke MO, Olaniyan S, Ajala AS. 2016. A review of cyanogenic glycosides in edible plants. *In: Toxicology – New Aspects to This Scientific Conundrum*, Soloneski S, Larramendy ML. (eds.). IntechOpen. London, UK, pp: 179–191.
- Choudhury D, Sahu JK, Sharma GD. 2012. Value addition to bamboo shoots: a review. *Journal of Food Science and Technology* 49 (4): 407–414. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0379-z>
- Bolhuis GG. 1954. The toxicity of cassava roots. *NJAS – Wageningen Journal of Life Sciences* 2 (3): 176–185. <https://doi.org/10.18174/njas.v2i3.17841>
- Kuliahsari DE, Sari INI, Estiasih T. 2021. Cyanide detoxification methods in food: A review. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 733: 012099. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/733/1/012099>
- Lian TS, Hamir NA. 1981. Spectrophotometric quantification of Guignard's sodium picrate test. *Mardi Research Bulletin* 9 (1): 35–41. <http://jtafs.mardi.gov.my/jtafs/09-1/QUANTIFICATION.pdf> (Retrieved: August 2022).
- Mahalakshmi G, Saravana-Kumar P, Raja-Lakshmi P, Seenivasa-Perumal M, Elango KP. 2019. Highly selective turn-on fluorescent probe for detection of cyanide in water and food materials. *Methods and Applications in Fluorescence* 7 (2): 025003. <https://doi.org/10.1088/2050-6120/ab0bf0>
- Pandey AK, Ojha V. 2014. Precooking processing of bamboo shoots for removal of anti-nutrients. *Journal of Food Science and Technology* 51: 43–50. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0463-4>
- Pattarathitiwat P, Chinvongamorn C, Sansenya S. 2021. Evaluation of cyanide content, volatile compounds profile, and biological properties of fresh and boiled sliced Thai bamboo shoot (*Dendrocalamus asper* Back.). *Preventive Nutrition and Food Science* 26 (1): 92–99. <https://doi.org/10.3746/pnf.2021.26.1.92>
- Pokhariya P, Tangariya P, Sahoo A, Awasthi P, Pandey A. 2018. Reducing hydrocyanic acid content, nutritional and sensory quality evaluation of edible bamboo shoot based food products. *International Journal of Chemical Studies* 6 (4): 1079–1084.
- Rana B, Awasthi P, Kumbhar B. 2011. Optimization of processing conditions for cyanide content in fresh bamboo shoot during NaCl treatment by response surface methodology. *Journal of Food Science and Technology* 49: 103–109. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0324-1>
- Satya S, Singhal P, Bal LM, Sudhakar P. 2012. Bamboo shoot: a potential source of food security. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism* 5: 1–10. <https://doi.org/10.1007/s12349-011-0086-3>

- Singhal P, Bal LM, Satya S, Sudhakar P, Naik SN. 2013. Bamboo shoots: a novel source of nutrition and medicine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 53 (5): 517–34. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.531488>
- Waikhom S, Bengyella L, Sharma C, Kumari P, Somkuwar B, Singh M, Talukdar N. 2013. Grappling the High Altitude for Safe Edible Bamboo Shoots with Rich Nutritional Attributes and Escaping Cyanogenic Toxicity. *BioMed Research International* 2013: 1–11. <https://doi.org/10.1155/2013/289285>
- Wang Y, Chen J, Wang D, Ye F, He Y, Hu Z, Zhao G. 2020. A systematic review on the composition, storage, processing of bamboo shoots: Focusing the nutritional and functional benefits. *Journal of Functional Foods* 71: 104015. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104015>

PROXIMAL, THERMAL, AND STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF STARCH EXTRACTED FROM TWO VARIETIES OF WHITE SORGHUM CULTIVATED IN MEXICO

Jared Reyes-Gallardo¹, Guadalupe Rodríguez-Castillejos^{1*}, Ricardo Navarro-Cortez², Adriana Perales-Torres¹, San Juana Alemán-Castillo¹, Octelina Castillo-Ruíz¹

¹ Universidad Autónoma de Tamaulipas. Departamento de Tecnología de Alimentos, UAM Reynosa-Aztlán. Calle 16 y Lago de Chapala S/N, Aztlán, Reynosa, Tamaulipas, México. C. P. 88740.

² Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Instituto de Ciencias Agropecuarias. Avenida Universidad km 1, Exhacienda Aquetzalpa, Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México. C. P. 43600.

* Author for correspondence: gcastillejos@docentes.uat.edu.mx

ABSTRACT

Sorghum (*Sorghum bicolor*) is a starch source that may contain tannins in red varieties, so white grains are preferred as a better alternative. The hypothesis of this study was that white sorghum starch grown in Mexico has the necessary properties for industrial use. The objective was to evaluate the chemical, thermal and structural characteristics of starch extracted from white sorghum var. Mazatlan-16, and RB-Paloma. Protein, moisture, ash, fiber, fat, water absorption rate, and swelling capacity were evaluated. Thermal properties were determined by calorimetry and viscosity analysis; structural properties by Fourier transform infrared spectroscopy and X-ray diffraction. One-way analysis of variance and Student's t-test ($p \leq 0.05$) were performed. The starch extracted from Mazatlán-16 grain contained the highest moisture (5.47 %), protein (0.72 %) and crude fiber values, and no significant differences ($p \leq 0.05$) were found for ash and fat content in both starch varieties. The water absorption rate and swelling power was higher for RB-Paloma variety starch ($p \leq 0.05$). Regarding thermal properties, the maximum viscosity temperature was 80.55 and 89 °C for RB-Paloma and Mazatlan-16 starch, respectively; the peak gelatinization temperature was higher for Mazatlan-16 (72.28 °C) and showed differences ($p \leq 0.05$) with RB-Paloma. Structural analysis revealed that the starches of both varieties correspond to the A-type crystalline pattern, with the presence of OH, CH in stretching, H₂O and CH₂ groups. The starches extracted from the two varieties showed properties suitable for use as a viable alternative in the food industry.

Keywords: *Sorghum bicolor*, chemical composition, analysis, utilization.

INTRODUCTION

Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) is one of the five most important cereals worldwide, belonging to the Poaceae family, along with millet (*Panicum miliaceum*) and wheat (*Triticum aestivum* L). This cereal is an important food source in Africa, where it originated, and Asia, with a reported *per capita* consumption of 18 and 2.1 kg,

Citation: Reyes-Gallardo J, Rodríguez-Castillejos G, Navarro-Cortez R, Perales-Torres A, Alemán-Castillo SJ, Castillo-Ruíz O. 2023. Proximal, thermal, and structural characterization of starch extracted from two varieties of white sorghum cultivated in Mexico. *Agrociencia* 57(1): 75-101. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v57i1.2641>

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: June 20, 2022.
Approved: December 20, 2022.
Published in Agrociencia:
February 10, 2023.

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



respectively (Bhagavatula *et al.*, 2013). Among 20 sorghum species, *S. bicolor* stands out in human food, being used in products such as tortillas, pastas, cookies, alcoholic beverages, and porridges (Treviño-Salinas *et al.*, 2021). In Mexico, it is primarily used as cattle feed and to produce bioethanol; however, its nutritional properties are now becoming well-known and it has been considered as a substitute or accompaniment for other cereals (Adebo, 2020).

The color of sorghum kernels is determined by the phenolic compounds and tannins found in the testa and pericarp. This, in turn, is determined by the genotype and can include red, cinnamon, black, purple, yellow or white grains (Dykes *et al.*, 2005). Despite their beneficial effects, these metabolites can cause gastric mucosal irritation or act as anti-nutritional compounds that reduce the availability and digestibility of carbohydrates, proteins or minerals at high concentrations (Tasie and Gebreyes, 2020). For this reason, white sorghum varieties are preferred for human consumption, since they have no testa.

White sorghum contains protein, lipids, carbohydrates, ash and fiber levels comparable to corn, including unsaturated fatty acids (Treviño-Salinas *et al.*, 2021). Like all cereals, the main component is starch, which is an important source of energy and nutrients in both human and animal diets. However, this is not the only potential use of white grain sorghum, it has also been reported that the starch can absorb and retain tannins if the grain contains them (Beta *et al.*, 2001).

White sorghum starch has a variety of applications. For example, the formulation of gluten-free pastas with different percentages of sorghum starch in place of rice flour has been evaluated; the authors reported that using 15 % sorghum starch in pasta resulted in a high-fiber, slow-digesting pasta, without affecting sensory properties (Cervini *et al.*, 2021). In addition to its use in food, starch is used in industry as a thickening agent, emulsifier and raw material for beverages, among other things. Such applications are dependent on the amylose to amylopectin ratio, which determines the structural and functional properties of starch (Mohamad Yazid *et al.*, 2018).

Research in the last decade has pointed to a wide range of applications for this polymer, including energy generation, packaging, 3D printing, and even regenerative medicine. To that end, starch modification has been proposed in order to enable a broader range of applications (Liu *et al.*, 2019). Corn is the most common source of starch; however, it is important to search for new, cost-effective and easily accessible sources, such as agro-industrial residues or other grains. White sorghum is an alternative for native starch extraction because it can grow in arid environments, alkaline soils, or soils with low organic matter load, where corn cannot.

Sorghum grain has a starch content of approximately 70 %, making it a viable source of starch. However, in order to determine potential applications, the chemical and structural properties must be evaluated. The remaining protein, fat, ash and fiber content affects the swelling properties of starch. On the other hand, structural properties determine the fundamental thermal properties in the industry, which is why the gelatinization temperature, viscosity and water absorption capacity must be evaluated (Udachan *et al.*, 2012). The hypothesis of this study is that starch extracted

from white sorghum has properties suitable for use in the food industry. Therefore, the objective was to evaluate the structural, thermal and chemical properties of starch extracted from two varieties of white sorghum grown in Mexico.

MATERIALS AND METHODS

Raw material

White sorghum grains of the RB-Paloma and Mazatlan-16 varieties were used, which were developed under the "Sorghum Genetic Improvement" program of the Institute of Forestry, Agricultural and Livestock Research (INIFAP), at the Rio Bravo Experimental Field (Tamaulipas) and Culiacan Valley Experimental Field (Sinaloa). The grains were donated by INIFAP- Rio Bravo Experimental Field, located in Rio Bravo, Tamaulipas, Mexico. The agricultural soil of Rio Bravo is xerosol (arid), the climate is semi-dry and semi-warm with little rainfall throughout the year, and the temperature ranges between 18 and 38 °C during planting (April) and harvest (August) (Government of Tamaulipas, 2020).

Starch production and conditions from sorghum grain flour

The grains were dried at 60 °C for 48 h. For starch extraction, a grain mill (BI-DTOOL 3000A, China) was used, followed by sieving with a No. 20 mesh (850 mm) and a No. 40 mesh (420 mm). Once the flour was obtained, NaOH 0.1 % was added and the mixture was left to stand for 18 h. The wet flour was triturated in a home blender for two minutes, the obtained suspension was filtered on a No. 100 mesh (0.149 mm) followed by a No. 200 (0.074 mm). The filtrate of the above mixture was washed with distilled water until it was clear. The obtained suspension was centrifuged at 4034 g for 10 minutes (Optima XL-100L Beckman Coulter, USA) and the supernatant was discarded.

The isolated starch was neutralized with 1.0 M HCl to pH 6.5, washed three times with distilled water, and centrifuged again under the same conditions. Finally, the extracted starch was dried in a recirculating air oven (CE5F ShellLab®, USA) at 55 °C for 24 h, ground and sieved again, and stored at 4 °C in hermetically sealed plastic containers until proximal, thermal and structural analysis (Wang and Wang, 2001).

Proximal chemical analysis

The AACC (American Association of Cereal Chemists) official methods were used to determine proximal starch content, and all determinations were made in triplicate: crude fiber (32-10.01), protein by the Kjeldahl method (46-13.01), ash by combustion (08-03.01), moisture by oven drying (44-15.02), and lipids by the Soxhlet method (30-10.01). Carbohydrate content was determined by difference.

IAA and swelling capacity

To determine the water absorption index (IAA), 10 mL of distilled water were added to 1 g of starch extracted from the corresponding variety, shaken vigorously, and

subjected to centrifugation for 15 min at 4034 g; the supernatant was decanted into a pre-weighed porcelain capsule. The AAI was calculated as a weight percentage of the original sample using the dry weight of the dried solid supernatants. The results are expressed as percentage of grams of water retained per gram of sample.

The swelling power was determined with the method proposed by Subramanian *et al.* (1994), using 100 mg of sample mixed with 2 mL of distilled water and exposing the mixture to different temperatures (40, 50, 60 and 70 °C) for 4 h. The mixture was then centrifuged at 8232 g for 15 min, the supernatant was decanted, and the wet sediment was weighed. The swelling power was expressed as the ratio between the weight of the wet sediment and the initial weight of the dry starch. In both cases an analytical balance accurate to 0.0001 g (Denver Instrument P-114.1 Analytical Balance, 110, USA) was used; the analyses were performed in triplicate.

Viscosity and gelatinization profile

The following heating and cooling cycles were programmed into an RVA-4500 rapid viscosity analyzer (Perten Instruments, Australia): heating at 50 °C for 1 min, followed by heating 1.5 °C per minute until 95 °C was reached, held at this temperature for 5 min, and cooled to 50 °C for 7.7 min (Alvis *et al.*, 2008). The following parameters were determined: the temperature of first viscosity (viscosity values are reported in centipois), which refers to the increase by at least 25 cp over a period of 20 s; peak viscosity (the maximum viscosity reached); the peak time (time at which the peak viscosity occurred); final viscosity (viscosity at the end of the test after cooling); viscosity decomposition (peak viscosity holding force); and receding viscosity (final viscosity - holding force).

Differential Scanning Calorimetry (DSC)

Thermal properties of isolated sorghum starch were determined using a DSC 822E differential scanning calorimeter (Mettler Toledo, USA) calibrated with native standard ($T_0 = 156.6$ °C, $\Delta H = 28.4$ J g⁻¹). The starch was hydrated in distilled water with a 1:4 ratio. Then, 40 μ L were taken and placed in aluminum crucibles; finally, they were evaluated in the temperature range of 30 to 95 °C with a heating rate of 5 °C min⁻¹ (Palacios-Fonseca *et al.*, 2013).

X-ray diffraction (XDR)

The pulverized starch grains were packed inside a 30 × 30 mm aluminum mount to obtain X-ray diffraction patterns with an Equinox 2000 equipment (Inel, France) and the method by Navarro-Cortez *et al.* (2016). The equipment has a Cu K λ radiation line (1 to 1.5406 °) and a power difference of 30 kV with a current density of 20 mA. The packed samples recorded a diffraction angle for the 2 θ beam from 5 to 35 ° with 0.1 ° intervals by probing for 8 s per degree, as well as a counting time per step of 15 min.

Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

Starch samples were pulverized with a mortar to a particle size of 230 µm and 2 mg of sample of each variety's sample mixed with KBr were weighed; the mixture was placed in a press to form a crystalline tablet, which was read in a spectrophotometer (Spectrum 3 FT-IR Spectrometer, Perkin Elmer, England). Each sample was analyzed with 10 scans from 4000 to 400 cm⁻¹ at a resolution of 4 cm⁻¹. Spectra baseline was corrected and normalized by Spelwin32 - Spectroscopy (Navarro-Cortez *et al.*, 2016). All measurements (chemical, thermal and structural) were made in triplicate, and the mean and standard deviation were calculated. A one-way analysis of variance was performed using SPSS version 22.0 software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA), followed by Student's t test ($p \leq 0.05$). Graphs were constructed in Excel 2010 (Microsoft®, USA).

RESULTS AND DISCUSSION

Proximal content

The results of starch proximal analysis of RB-Paloma and Mazatlan-16 varieties show differences ($p \leq 0.05$) in moisture, protein, fiber and carbohydrate parameters (Table 1). These analyses are used to assess the purity of the extracted starch as well as its potential stability; for example, moisture content is an important parameter to ensure the microbiological stability of a raw material. The higher the moisture content, the greater the risk of microbial growth, which leads to changes in structure and quality. In starches extracted from sorghum varieties, the percentage of this parameter was less than 6 %; Arrazola-Paternina *et al.* (2020) analyzed starches isolated from yellow and purple sweet potatoes (*Ipomoea batatas*) and found a higher moisture content (10.9 %) than that recorded in this study. The results suggest that there is less risk of microbial attack, and thus the structural stability of the starch is maintained for a longer period of time.

For protein content, sorghum starch var. Mazatlan-16 had the highest value (0.72 %). This may be due to the presence of insoluble type proteins associated with starch granules that were not completely isolated during the extraction process (Kaur *et al.*, 2018); however, the content found is lower than that reported for corn (0.88 %) (Ahmad *et al.*, 1999). Although the proteins present in the starch granule are bound to the internal matrix by hydrogen and disulfide bonds, they can be entirely isolated by using an alkaline solution during starch soaking (Contreras-Pérez *et al.*, 2018). On the other hand, the presence of lipids in the sorghum starches analyzed was 0.60 to 0.69 %

Table 1. Proximal chemical composition (%) of starch extracted from two varieties of white grain sorghum.

Variety	Moisture	Protein	Ash	Fat	Raw fiber	Carbohydrates
Mazatlán-16	5.47±0.04a	0.72±0.09a	0.22±0.06a	0.69±0.01a	2.67±0.06a	90.62±0.21b
RB-Paloma	4.04±0.1b	0.58±0.05b	0.17±0.04a	0.60±0.19a	1.01±0.19b	93.54±0.09a

a,b Different letters in the same column indicate statistical differences ($p \leq 0.05$).

(Table 1), higher than that reported in yam (*Dioscorea* spp.) (0.1 to 0.42 %) and maize (*Zea mays*) (0.20 %) (Elmi-Sharlina *et al.*, 2016). The crude fiber content was higher than that reported for corn starch (0.24 %) (Ahmad *et al.*, 1999).

The ash content was also determined, as starches must contain less than 0.5 % ash for industrial use. This criterion was met by isolates of both white sorghum varieties (0.17 to 0.22 %) (Table 1). Yam starch had a higher ash content (0.88 %) than sorghum starch (Elmi-Sharlina *et al.*, 2016). Differences in the proximal content of sorghum starch compared to other sources could be related to its origin, isolation and growing conditions (Elmi-Sharlina *et al.*, 2016). The low protein and fiber content suggests that an adequate starch extraction process was performed, which is important as the presence of these components in high concentrations interferes with the thermal properties and potential uses of starch in food (Kumar *et al.*, 2019).

Thermal properties

Starch isolated from the RB-Paloma variety presented a higher index ($p \leq 0.05$) of water absorption (IAA) (Table 2); starches with higher water absorption have larger granule sizes and the presence of hydrophilic groups, which together increase water retention (Martinez *et al.*, 2015). In Italy, white sorghum starch with an IAA of 89 % was reported (Giuberti *et al.*, 2019), which is lower than the value found in this study. The IAA is a measure of the degradation of intra- and intermolecular hydrogen bonds in starch, which lead to the formation of hydroxyl groups that react with the water molecules present (Ye *et al.*, 2018).

Swelling capacity is a useful measure to evaluate the water absorption capacity and expansion power of the starch granule, as well as fractional exudation in relation to temperature and time. Swelling is directly related to amylopectin content; long chains of this polysaccharide increase this property (Li and Yeh, 2001). The results show that the RB-Paloma variety has a higher swelling power ($p \leq 0.05$). In both starches, this property increases as temperature rises (Table 3), obtaining a higher malleability of the starch molecule.

In contrast to the aforementioned, amylose has a lower swelling power since it absorbs less water than amylopectin, allowing for slow swelling while maintaining

Table 2. Water absorption index (IAA) of starches from Mazatlan-16 and RB Paloma varieties.

Variety	IAA [†] (%)
Maztlán-16	129±04b
RB-Paloma	167±13a

[†] The mean and standard deviation (±) of three replicates.
a,b Different letters in the same column indicate statistical differences ($p \leq 0.05$).

Table 3. Swelling capacity (g g^{-1}) of starches isolated from white sorghum grain at different temperatures.

Variety	1 h (40 °C)	2 h (50 °C)	3 h (60 °C)	4 h (70 °C)
Mazatlán-16	2.44±0.3a	2.53±0.3a	2.87±0.02b	3.85±0.47b
Paloma-RB	1.96±0.3b	2.45±0.3a	3.54±0.0a	4.65±0.23a

a,b Different letters in the same column indicate statistical differences ($p \leq 0.05$).

viscosity (Contreras-Pérez *et al.*, 2018). With the results obtained, it is suggested that Mazatlan-16 variety starch has a higher amylopectin content which facilitates higher water entrapment in the granule (Ye *et al.*, 2018).

Regarding viscosity, it was found that the maximum temperature for the isolated sorghum starch varieties was 81 °C for RB-Paloma and 89 °C for Mazatlan-16 (Figure 1). The rapid viscosity analyzer (RVA) determines the temperature and swelling time of starch granules. When the heating stage begins, there is an increase in viscosity due to the swelling of the starch granules, the breaking of hydrogen bonds, and progressive hydration (Montoya *et al.*, 2012).

The biochemical characteristics of starch, such as amylose and amylopectin content, influence viscosity and gelatinization properties, as these are compounds present in cereals that determine their final use in baking or food manufacturing. Therefore, it is important to determine the conditions of granule breakage and retrogradation for their effect on viscosity, as they are closely related to texture and stability (Contreras-Pérez *et al.*, 2018; Ye *et al.*, 2018). Cereal starches tend to be defined by a high amylose

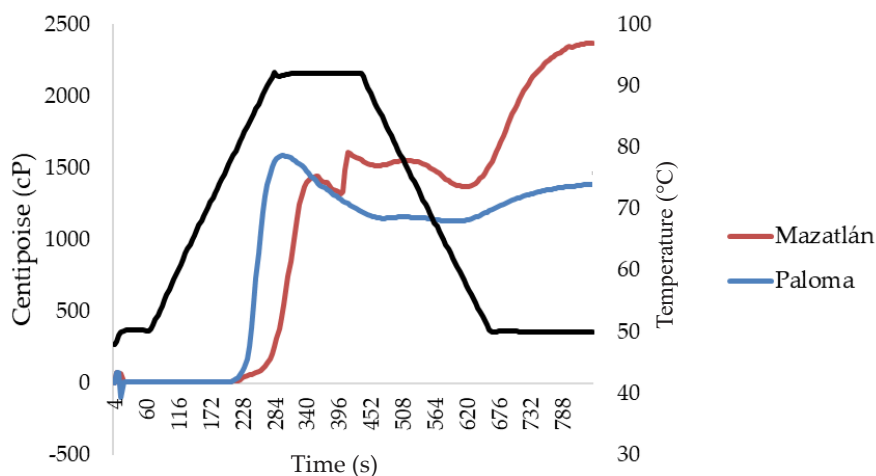


Figure 1. Viscosity properties of starch paste isolated from white sorghum grain Mazatlan-16 and RB-Paloma varieties.

content, which limits the properties of amylopectin due to the formation of helical complexes with other lipid molecules; this results in low viscosity and an opaque paste as temperature increases (Srichuwong, 2017).

Regarding the gelatinization capacity of the two-sorghum starch isolate varieties, it was found that the initial temperature ranged from 67 to 68 °C, and the final temperature from 79 to 80 °C (Table 4). Ehtiati *et al.* (2017) reported for dual-purpose sorghums (lines KDFGS1, KDFGS6, KDFGS9, and KDFGS20) initial temperature properties of 67 °C, peak temperature of 72 °C, and final temperature of 77 °C, indicating that the RB-Paloma variety is within the normal range for sorghum granules. These starch properties could be attributed to the relative crystallinity and amylase content of the

Table 4. Gelatinization capacity of white sorghum starches.

Variety	Ti [†]	Tp [‡]	Tf [§]	I [¶]
Mazatlán-16	68.99±0.6a	75.28±0.4a	80.52±0.7a	11.53±0.47
RB-Paloma	67.09±0.7b	72.48±0.03b	79.46±0.3b	12.37±0.34

[†]Ti: initial temperature; [‡]Tp: peak temperature; [§]Tf: final temperature; [¶]I: temperature interval. a,b Different letters in the same column indicate statistical differences ($p \leq 0.05$).

grain. The values found are comparable to those found in sorghum starch sold in Rome, Italy, with an initial and peak temperature of 66.6 and 71.5 °C, respectively (Giuberti *et al.*, 2019).

The thermal properties of starches are related to granule size, fractures and amylose content; in addition, gelatinization is affected by the presence of proteins, salts or fats in the starch (Donmez *et al.*, 2021). Although the Mazatlan-16 variety has a higher water absorption capacity, its protein, fiber and fat content interfere with its gelatinization capacity. It is known that at higher gelatinization temperatures, there is a higher degree of ordering in the starch granule, requiring a higher cooking temperature if applied to food (Salgado-Ordosgoitia *et al.*, 2019).

The results obtained in this study (Table 4) are consistent with what has been reported in isolated corn grain starch, with initial temperatures ranging from 65 to 67 °C, peak temperatures between 70 and 71 °C, and final temperatures at 75 and 77.75 °C (Paraginski *et al.*, 2018). Therefore, the starches obtained from the two sorghum varieties can be used in the production of pasta (with low gelatinization temperatures), extruded foods (high gelatinization temperatures), and industrial fermentations (Donmez *et al.*, 2021).

Structural properties

In the DRX analysis, the Mazatlán-16 variety reported peaks at 2θ of 17.91, 20.17, 23.40 and 26.83 °, while the RB-Paloma variety showed a pattern with peaks at 2θ of 17.91, 20, 23 and 26.76 °; the peaks presented in the diffractogram correspond to the

crystalline pattern type A (Guo *et al.*, 2019) (Figure 2). The results found are similar to those reported for corn starch; Navarro-Cortez *et al.* (2016) found the presence of an A-type structure in corn starches and observed signals at 15, 18 and 22 °.

Type A starch is constituted of a compressed double helix of amylose and amylopectin, with homogeneous internal strengths, making it more resistant to enzymatic attack (Alves de Melo-Neto *et al.*, 2017). It has been suggested that because sorghum has higher resistant starch content than corn, it can be used as a functional compound with various benefits to the human health (Giuberti *et al.*, 2019). The mechanical force generated during the milling process has been reported to fade hydrogen bonds, which have the ability to generate bonds in the side chains of the groups present in amylopectin, causing crystallinity to decrease (Li *et al.*, 2020); nonetheless, this was not observed in the starches analyzed in this study as the milling was adequate.

After performing the FTIR analysis of the two starch moieties, a broad peak between 3600 and 3300 cm^{-1} was found, indicating the presence of a stretching hydroxyl group (Figure 3). The starch peaks had values between 3000 and 2800 cm^{-1} (Table 5), which is attributed to the stretching of the -CH group of the glucose unit (Kaur *et al.*, 2018). The presence of water is essential for the maintenance of the structure and its molecular regeneration. The two varieties showed a band at 1656 cm^{-1} caused by the starch molecule (Jagadeesan *et al.*, 2020), where bound water can be found forming hydrogen bonds in the crystal structure and free water responsible for the hydration of the starch molecule.

In a study by Jafari *et al.* (2017) with sorghum from Iran, the presence of an amide group in the region 1600 to 1700 cm^{-1} was observed, which may be due to the presence of proteins. A similar peak is observed in the starch of the Mazatlan-16 variety, which coincides with a higher protein content (0.72 %) obtained from this variety compared to RB-Paloma (0.58 %). The starch analyzed in this study had peaks from 1460 to 1371

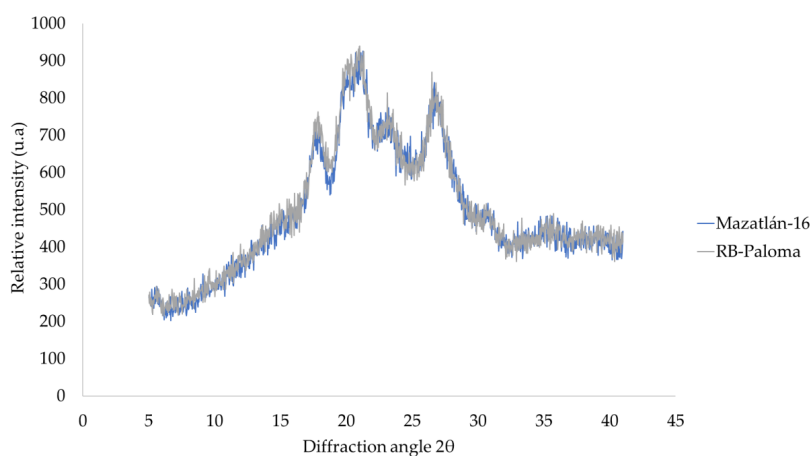


Figure 2. Diffractograms of starch extracted from white sorghum varieties Mazatlan-16 and RB-Paloma.

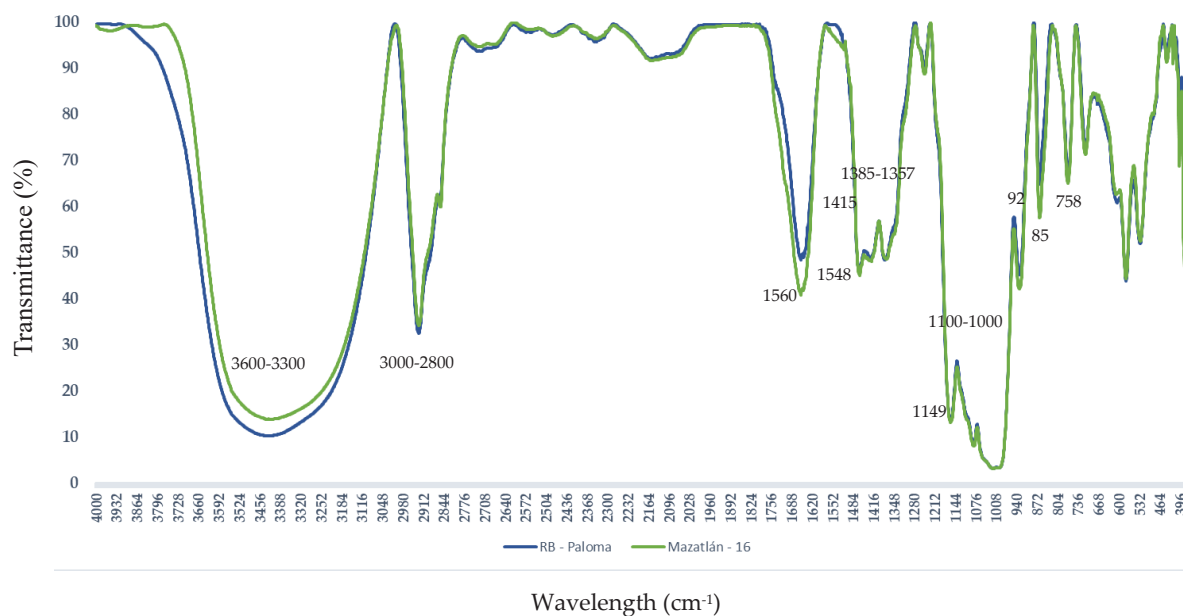


Figure 3. Infrared spectrum of starch isolated from white sorghum varieties Mazatlan-16 and RB-Paloma in FTIR analysis.

Table 5. Functional groups present in starch extracted from the two varieties of white sorghum grain.

Functional group	Wave number (μm)	Mazatlán-16	RB-Paloma
O-H (stretching)	3600-3300	3415	3424
C-H (stretching)	3000-2800	2928, 2854	2926
H-O-H	1650	1656	1656
CH ₂	1458	1460	1460
CH ₂	1415	1421	1421
C-H	1385-1357	1371	1377
C-O-C	1149	1158	1158
C-O	1100-1000	1081,1017	1081,1017
C-O-C	920, 856, 758	929, 862, 768	929, 862, 768

cm⁻¹, as well as peaks at 1158 cm⁻¹, which are related to the stretching vibration of the CH and COH groups (Kaur *et al.*, 2018). These findings, combined with DRX analysis, confirmed the presence of a type A starch, which is typical of cereals, and indicate that the extraction process was adequate and that the polysaccharide’s crystalline structure of the was not harmed.

CONCLUSIONS

The starch obtained was of sufficient purity for industrial use, as demonstrated by its low content of protein, fiber, ash, and fat, confirming the suitability of the extraction procedure used. The starch of the two white sorghum varieties showed high water absorption capacity and high swelling power. X-ray analysis and Fourier transform infrared spectroscopy confirmed the crystalline structure of a type A starch, which is common in cereals and has an adequate amylose content. Therefore, the starch obtained from Mazatlan-16 and RB-Paloma varieties has the chemical, thermal and functional properties to be used in the food industry as a thickening agent, a partial substitute for flours in gluten-free pastas, extruded foods, or as an agent for microbial fermentation.

ACKNOWLEDGEMENTS

Our thanks to the Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP- Río Bravo) for the donation of sorghum grains, especially to Dr. Noé Montes García. To the National Council of Science and Technology (CONACyT) for the scholarship granted to Jared Reyes-Gallardo for his master's degree studies.

REFERENCES

- Adebo OA. 2020. African sorghum-based fermented foods: past, current and future prospects. *Nutrients* 12 (4): 1111. <https://doi.org/10.3390/nu12041111>
- Ahmad FB, Williams PA, Doublier JL, Durand S, Buleon A. 1999. Physico-chemical characterization of sago starch. *Carbohydrate Polymers* 38 (4): 361–370. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(98\)00123-4](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(98)00123-4)
- Alves de Melo-Neto B, Souza-Fernandes B, Maria-Fornari Junior CC, Franco M, Ferreira-Bonomo RC, de Almeida PF, Valverde-Pontes K. 2017. Thermal-morphological characterisation of starch from peach-palm (*Bactris gasipaes* Kunth) fruit (Pejibaye). *International Journal of Food Properties* 20 (5): 1007–1015. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1192645>
- Alvis A, Vélez CA, Villada HS, Rada-Mendoza M. 2008. Análisis físico-químico y morfológico de almidones de ñame, yuca y papa y determinación de la viscosidad de las pastas. *Información Tecnológica* 19 (1): 19–28. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642008000100004>
- Arrazola-Paternina G, Murillo-Martínez MF, Alvis-Bermúdez A. 2020. Propiedades físicoquímicas y funcionales del almidón obtenido de dos variedades de batata (*Ipomoea batatas*). *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* 19 (1): 117–127. <https://doi.org/10.18684/bsaa.v19.n1.2021.1471>
- Beta T, Corke H, Rooney LW, Taylor JR. 2001. Starch properties as affected by sorghum grain chemistry. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81 (2): 245–251. [https://doi.org/10.1002/1097-0010\(20010115\)81:2<245::aid-jsfa805>3.0.co;2-s](https://doi.org/10.1002/1097-0010(20010115)81:2<245::aid-jsfa805>3.0.co;2-s)
- Bhagavatula S, Rao PP, Basavaraj G, Nagaraj N. 2013. Sorghum and millet economies in Asia – facts, trends and outlook. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics: Patancheru, AP, India. 80 p.
- Cervini M, Gruppi A, Bassani A, Spigno G, Giuberti G. 2021. Potential application of resistant starch sorghum in gluten-free pasta: nutritional, structural and sensory Evaluations. *Foods* 10 (5): 908. <https://doi.org/10.3390/foods10050908>
- Contreras-Pérez RK, De la Torre-Gutiérrez L, González-Cortés N, Jiménez-Vera R. 2018. Caracterización funcional de almidones de plátano cuadrado (*Musa balbisiana* Colla). *European Scientific Journal* 14 (30): 82. <https://doi.org/10.19044/esj.2018.v14n30p82>
- Donmez D, Pinho L, Patel B, Desam P, Campanella OH. 2021. Characterization of starch-water interactions and their effects on two key functional properties: starch gelatinization and

- retrogradation. *Current Opinion in Food Science* 39: 103–109. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.12.018>
- Dykes L, Rooney LW, Waniska RD, Rooney WL. 2005. Phenolic compounds and antioxidant activity of sorghum grains of varying genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (17): 6813–6818. <https://doi.org/10.1021/jf050419e>
- Ehtiati A, Koocheki A, Shahidi F, Razavi SMA, Majzoobi M. 2017. Pasting, rheological, and retrogradation properties of starches from dual-purpose sorghum lines. *Starch* 69 (7–8): 1600262. <https://doi.org/10.1002/star.201600262>
- Elmi-Sharlina MS, Yaacob WA, Lazim AM, Fazry S, Lim SJ, Abdullah S, Noordin A, Kumaran M. 2016. Physicochemical Properties of Starch from *Dioscorea pyriformis* tubers. *Food Chemistry* 220: 225–232. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.196>
- Giuberti G, Marti A, Gallo A, Grassi S, Spigno G. 2019. Resistant starch from isolated white sorghum starch: functional and physicochemical properties and resistant starch retention after cooking. A comparative study. *Starch* 71 (7–8): 1800194. <https://doi.org/10.1002/star.201800194>
- Gobierno de Tamaulipas. 2020. Agricultura, temas del sector. Secretaría del Desarrollo Rural. Gobierno de Tamaulipas. Ciudad Victoria, México. <https://www.tamaulipas.gob.mx/desarrollorural/temas-del-sector/agricultura> (Recuperado: marzo 2022).
- Guo K, Liu T, Xu A, Zhang L, Bian X, Wei C. 2019. Structural and functional properties of starches from root tubers of white, yellow, and purple sweet potatoes. *Food Hydrocolloids* 89: 829–836. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.11.058>
- Jafari M, Koocheki A, Milani E. 2017. Effect of extrusion cooking on chemical structure, morphology, crystallinity and thermal properties of sorghum flour extrudates. *Journal of Cereal Science* 75: 324–331. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.05.005>
- Jagadeesan S, Govindaraju I, Mazumder N. 2020. An insight into the ultrastructural and physiochemical characterization of potato starch: a review. *American Journal of Potato Research* 97 (5): 464–476. <https://doi.org/10.1007/s12230-020-09798-w>
- Kaur H, Gill BS, Karwasra BL. 2018. *In vitro* digestibility, pasting, and structural properties of starches from different cereals. *International Journal of Food Properties* 21 (1): 70–85. <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1439955>
- Kumar R, Ghoshal G, Goyal M. 2019. Moth bean starch (*Vigna aconitifolia*): isolation, characterization, and development of edible/biodegradable films. *Journal of Food Science and Technology* 56 (11): 4891–4900. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03959-4>
- Li JY, Yeh AI. 2001. Relationships between thermal, rheological characteristics and swelling power for various starches. *Journal of Food Engineering* 50 (3): 141–148. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(00\)00236-3](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(00)00236-3)
- Li N, Guo Y, Zhao S, Kong J, Qiao D, Lin L, Zhang B. 2020. Amylose content and molecular-order stability synergistically affect the digestion rate of indica rice starches. *International Journal of Biological Macromolecules* 144: 373–379. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.095>
- Liu J, Sun L, Xu W, Wang Q, Yu S, Sun J. 2019. Current advances and future perspectives of 3D printing natural-derived biopolymers. *Carbohydrate Polymers* 207: 297–316. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.11.077>
- Martínez P, Málaga A, Betalleluz I, Ibarz A, Velezmoro C. 2015. Caracterización funcional de almidones nativos obtenidos de papas (*Solanum phureja*) nativas peruanas. *Scientia Agropecuaria* 6 (4): 291–301. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2015.04.06>
- Mohamad Yazid NS, Abdullah N, Muhammad N, Matias-Peralta HM. 2018. Application of starch and starch-based products in food industry. *Journal of Science and Technology* 10 (2): 144–174. <https://doi.org/10.30880/jst.2018.10.02.023>
- Montoya J, Giraldo GA, Lucas JC. 2012. Caracterización física de harina de trigo y pan mediante determinación de la viscosidad y la cristalinidad de la pasta. *Vitae* 19 (1): S346–S348.
- Navarro-Cortez RO, Gómez-Aldapa CA, Aguilar-Palazuelos E, Delgado-Licon E, Castro Rosas J, Hernández-Ávila J, Solís-Soto A, Ochoa-Martínez LA, Medrano-Roldán H. 2016. Blue corn (*Zea mays* L.) with added orange (*Citrus sinensis*) fruit bagasse: novel ingredients for extruded snacks. *CyTA - Journal of Food* 14 (2): 349–358. <https://doi.org/10.1080/19476337.2015.1114026>

- Palacios-Fonseca AJ, Castro-Rosas J, Gómez-Aldapa CA, Tovar-Benítez T, Millán-Malo BM, del Real A, Rodríguez-García ME. 2013. Effect of the alkaline and acid treatments on the physicochemical properties of corn starch. *CyTA-Journal of Food* 11 (1), 67–74. <https://doi.org/10.1080/19476337.2012.761651>
- Paraginski RT, Colussi R, Guerra-Dias AR, da Rosa-Zavareze E, Elias MC, Vanier NL. 2018. Physicochemical, pasting, crystallinity, and morphological properties of starches isolated from maize kernels exhibiting different types of defects. *Food Chemistry* 274: 330–336. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.026>
- Salgado-Ordosgoitia RD, Paternina-Contreras AL, Cohen-Manrique CS, Rodríguez-Manrique JA. 2019. Análisis de las curvas de gelatinización de almidones nativos de tres especies de ñame: criollo (*Dioscorea alata*), espino (*Dioscorea rotundata*) y Diamante 22. *Información Tecnológica* 30 (4): 93–102. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642019000400093>
- Srichuwong S, Curti D, Austin S, King R, Lamothe L, Gloria-Hernandez H. 2017. Physicochemical properties and starch digestibility of whole grain sorghums, millet, quinoa and amaranth flours, as affected by starch and non-starch constituents. *Food Chemistry* 233: 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.019>
- Subramanian V, Hosney RC, Bramel-Cox P. 1994. Shear thinning properties of sorghum and corn starches. *Cereal Chemistry* 71 (3): 272–275.
- Tasie MM, Gebreyes BG. 2020. Characterization of nutritional, antinutritional, and mineral contents of thirty-five sorghum varieties grown in Ethiopia. *International Journal of Food Science* 2020: 1–11. <https://doi.org/10.1155/2020/8243617>
- Treviño-Salinas M, Perales-Torres A, Castillo-Ruiz O, Montes-García N, Lizarazo-Ortega C, Navarro-Cortez R, Rodríguez-Castillejos G. 2021. Proximal analysis and profile of fatty acids on six varieties of white grain sorghum with potential use in human consumption. *CyTA Journal of Food* 19 (1): 547–551. <https://doi.org/10.1080/19476337.2021.1928757>
- Udachan IS, Sahoo AK, Hend GM. 2012. Extraction and characterization of sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) starch. *International Food Research Journal* 19 (1): 315–319.
- Wang L, Wang YJ. 2001. Structures and physicochemical properties of acid-thinned corn, potato and rice starches. *Starch* 53 (11): 570–576. [https://doi.org/10.1002/1521-379x\(200111\)53:11<570::aid-star570>3.0.co;2-s](https://doi.org/10.1002/1521-379x(200111)53:11<570::aid-star570>3.0.co;2-s)
- Ye J, Hu X, Luo S, Liu W, Chen J, Zeng Z, Liu C. 2018. Properties of starch after extrusion: a review. *Starch* 70 (11–12): 1700110. <https://doi.org/10.1002/star.201700110>

CARACTERIZACIÓN PROXIMAL, TÉRMICA Y ESTRUCTURAL DE ALMIDÓN EXTRAÍDO DE DOS VARIEDADES DE SORGO BLANCO CULTIVADO EN MÉXICO

Jared Reyes-Gallardo¹, Guadalupe Rodríguez-Castillejos^{1*}, Ricardo Navarro-Cortez², Adriana Perales-Torres¹, San Juana Alemán-Castillo¹, Octelina Castillo-Ruíz¹

¹ Universidad Autónoma de Tamaulipas. Departamento de Tecnología de Alimentos, UAM Reynosa-Aztlán. Calle 16 y Lago de Chapala S/N, Aztlán, Reynosa, Tamaulipas, México. C. P. 88740.

² Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Instituto de Ciencias Agropecuarias. Avenida Universidad km 1, Exhacienda Aquetzalpa, Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México. C. P. 43600.

* Autor para correspondencia: gcastillejos@docentes.uat.edu.mx

RESUMEN

El sorgo (*Sorghum bicolor*) es una fuente de almidón que puede contener taninos cuando se trata de variedades rojas, por lo que los granos blancos son una mejor alternativa. La hipótesis de este estudio fue que el almidón de sorgo blanco cultivado en México tiene las características adecuadas para su uso en la industria. El objetivo fue evaluar las características químicas, térmicas y estructurales de almidón extraído de sorgo blanco var. Mazatlán-16 y var. RB-Paloma. Se determinó el contenido de proteínas, humedad, cenizas, fibra, grasa, el índice de absorción de agua y capacidad de hinchamiento. Para determinar las propiedades térmicas se realizó un análisis de calorimetría y viscosidad; en el caso de las estructurales, espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier y difracción de rayos X. Se realizó un análisis de varianza de una vía y post prueba t de Student ($p \leq 0.05$). El almidón extraído de grano de la variedad Mazatlán-16 tuvo el mayor contenido de humedad (5.47 %), proteínas (0.72 %) y fibra cruda, y no se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en el contenido de cenizas y grasa de ambos almidones. El índice de absorción de agua y poder de hinchamiento fue mayor para el almidón de la variedad RB-Paloma ($p \leq 0.05$). En cuanto a las propiedades térmicas, la temperatura máxima de viscosidad fue de 80.55 y 89 °C para el almidón de RB-Paloma y Mazatlán-16, respectivamente; la temperatura pico de gelatinización fue mayor para Mazatlán-16 (72.28 °C) y mostró diferencias ($p \leq 0.05$) con RB-Paloma. El análisis estructural reveló que los almidones de ambas variedades corresponden con el patrón cristalino tipo A y se encontró la presencia de grupos OH, CH en estiramiento, H₂O y CH₂. Los almidones extraídos de las dos variedades presentaron características adecuadas para ser utilizados en la industria alimentaria como alternativa viable.

Palabras clave: *Sorghum bicolor*, composición química, análisis, aprovechamiento.

INTRODUCCIÓN

El sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) es uno de los cinco cereales más importantes a nivel mundial, pertenece a la familia Poaceae, al igual que el mijo (*Panicum miliaceum*)

Citation: Reyes-Gallardo J, Rodríguez-Castillejos G, Navarro-Cortez R, Perales-Torres A, Alemán-Castillo SJ, Castillo-Ruíz O. 2023. Caracterización proximal, térmica y estructural de almidón extraído de dos variedades de sorgo blanco cultivado en México. *Agrociencia* 57(1): 75-101. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v57i1.2641>

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: June 20, 2022.
Approved: December 20, 2022.
Published in Agrociencia:
February 10, 2023.

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



y el trigo (*Triticum aestivum* L). Este cereal constituye una fuente de alimentación importante en África, de donde es originario, y en Asia, con un consumo *per capita* reportado de 18 y 2.1 kg, respectivamente (Bhagavatula *et al.*, 2013). Existen alrededor de 20 especies de sorgo, donde *S. bicolor* destaca en la alimentación humana al ser usado en productos como tortillas, pastas, galletas, bebidas alcohólicas o papillas (Treviño-Salinas *et al.*, 2021). En México, se utiliza principalmente como alimento de ganado y para la producción de bioetanol; sin embargo, actualmente empiezan a conocerse sus propiedades nutricionales y se ha considerado como sustitución o acompañamiento de otros cereales (Adebo, 2020).

Los granos de sorgo varían de color en dependencia de los compuestos fenólicos y taninos presentes en la testa y el pericarpio. A su vez, esto depende del genotipo y pueden verse granos rojos, canela, negros, violeta, amarillos o blancos (Dykes *et al.*, 2005). A pesar de los efectos benéficos que se han otorgado a estos metabolitos, en concentraciones altas pueden causar irritación de la mucosa gástrica o actuar como compuestos anti nutricionales que reducen la disponibilidad y digestibilidad de carbohidratos, proteínas o minerales (Tasie y Gebreyes, 2020). Por esta razón se prefieren las variedades de sorgo blanco para alimentación humana, al no tener testa.

El sorgo blanco contiene un adecuado nivel de proteínas, lípidos, carbohidratos, cenizas y fibra comparables con el maíz, incluso de ácidos grasos insaturados (Treviño-Salinas *et al.*, 2021). Como todos los cereales, el componente principal es el almidón, el cual constituye una fuente importante de energía y nutrientes en la dieta humana y animal. Sin embargo, este no es el único uso potencial del sorgo grano blanco, ya que se ha reportado que el almidón puede absorber y mantener taninos, en caso de que el grano los contenga (Beta *et al.*, 2001).

El almidón extraído de sorgo blanco puede tener diferentes aplicaciones. Por ejemplo, se ha evaluado la formulación de pastas libres de gluten en las cuales se reemplazó harina de arroz por diferentes porcentajes de almidón de sorgo; los autores reportaron que un 15 % de almidón de sorgo en las pastas dio como resultado una pasta alta en fibra, de lenta digestión, sin afectar las propiedades sensoriales (Cervini *et al.*, 2021). Además del uso en alimentos, el almidón se aprovecha en la industria como agente espesante, emulsionante, como materia prima para bebidas, entre otros. Dichas aplicaciones dependen de la proporción de amilosa y amilopectina, lo cual determina las características estructurales y funcionales del almidón (Mohamad Yazid *et al.*, 2018).

En la década más reciente, las investigaciones apuntan a una gran diversidad de aplicaciones de este polímero, tales como generación de energía, envases, impresión 3D o incluso medicina regenerativa. Para ello se ha propuesto la modificación de los almidones para permitir un número mayor de aplicaciones (Liu *et al.*, 2019). El maíz es la principal fuente de almidón; sin embargo, es importante la búsqueda de nuevas fuentes más económicas y de fácil acceso, tales como residuos de la agroindustria u otros granos. Debido a que el sorgo es un cultivo que puede crecer en ambientes áridos, suelos alcalinos o con poca carga de material orgánica donde el maíz no lo haría, el sorgo blanco representa una alternativa para extracción de almidón nativo.

El grano de sorgo tiene un contenido aproximado de 70 % de almidón, por lo que es una fuente viable de dicho carbohidrato. No obstante, es importante evaluar las características químicas y estructurales para determinar aplicaciones potenciales. El contenido remanente de proteínas, grasa, ceniza y fibra afecta las propiedades de hinchamiento del almidón. Por otro lado, las propiedades estructurales determinan las propiedades térmicas fundamentales en la industria, razón por la cual se debe evaluar la temperatura de gelatinización, de viscosidad y capacidad de absorción de agua (Udachan *et al.*, 2012). La hipótesis de este estudio es que el almidón extraído de sorgo blanco tiene características adecuadas para su uso en la industria alimentaria. Por ello, el objetivo fue evaluar las características estructurales, térmicas y químicas del almidón extraído de dos variedades de sorgo blanco cultivadas en México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

Se utilizaron granos de sorgo blanco de las variedades RB-Paloma y Mazatlán-16, las cuales fueron desarrolladas bajo el programa de “Mejoramiento Genético de Sorgo” del Instituto de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) en el campo experimental Río Bravo (Tamaulipas) y Campo Experimental Valle de Culiacán (Sinaloa). Los granos fueron donados por el INIFAP- Campo experimental Río Bravo, ubicado en la ciudad de Río Bravo, Tamaulipas, México. El suelo agrícola de Río Bravo es xerosol (árido), el clima de esta zona es semiseco y semicálido con lluvia escasa durante el año; la temperatura durante la siembra (abril) y cosecha (agosto) oscila entre 18 y 38 °C (Gobierno de Tamaulipas, 2020).

Obtención y condiciones del almidón a partir de harina de grano de sorgo

Los granos se secaron a 60 °C por 48 h. Para la extracción de almidón, se realizó una molienda en un molino de granos (BI-DTOOL 3000A, China); posteriormente se tamizó con una malla No. 20 (850 mm) seguido de una No. 40 (420 mm). Una vez obtenida la harina se añadió NaOH 0.1 % y se dejó reposar la mezcla por 18 h. La harina húmeda se trituró en una licuadora casera durante dos minutos, la suspensión obtenida se filtró en una malla No. 100 (0.149 mm) seguida de una No. 200 (0.074 mm). El filtrado de la mezcla anterior se lavó con agua destilada hasta obtener un líquido transparente. La suspensión obtenida se centrifugó a 4034 g por 10 minutos (Optima XL-100L Beckman Coulter, EUA) y se descartó el sobrenadante.

El almidón aislado fue neutralizado con HCl 1.0 M hasta alcanzar un pH de 6.5, se lavó tres veces con agua destilada y se centrifugó otra vez bajo las mismas condiciones. Por último, el almidón extraído fue secado en una estufa con recirculación de aire (CE5F ShellLab®, EUA) a 55 °C por 24 h, molido y tamizado nuevamente, y se almacenó a 4 °C en recipientes de plástico sellados herméticamente hasta su análisis proximal, térmico y estructural (Wang y Wang, 2001).

Análisis químico proximal

Para la determinación del contenido proximal del almidón se utilizaron los métodos oficiales de la AACCC (American Association of Cereal Chemists) y todas las determinaciones se hicieron por triplicado: fibra cruda (32-10.01), proteína por método de Kjeldahl (46-13.01), cenizas por combustión (08-03.01), humedad por secado en estufa (44-15.02), y lípidos por método de Soxhlet (30-10.01). El contenido de carbohidratos se determinó por diferencia.

IAA y capacidad de hinchamiento

Para determinar el índice de absorción de agua (IAA) se añadieron 10 mL de agua destilada a 1 g de almidón extraído de la variedad correspondiente, se agitó vigorosamente y se sometió a centrifugación por 15 minutos a 4034 g; el sobrenadante se decantó en una cápsula de porcelana previamente tarada. El IAA se calculó como el peso seco de los sobrenadantes sólidos secos y se reportó como un porcentaje de peso de la muestra original. Los resultados se expresan como porcentaje de gramos de agua retenidos por gramo de muestra.

El poder de hinchamiento se determinó con el método propuesto por Subramanian *et al.* (1994), para ello se utilizaron 100 mg de muestra que se mezclaron con 2 mL de agua destilada; posteriormente, la mezcla se expuso por 4 h a distintas temperaturas (40, 50, 60 y 70 °C). Transcurrido el tiempo, se centrifugó a 8232 g durante 15 minutos, el sobrenadante se decantó y el sedimento húmedo se pesó. El poder de hinchamiento se expresó como la relación entre el peso del sedimento húmedo y el peso inicial del almidón seco. En ambos casos se utilizó una balanza analítica con precisión de 0.0001 g (Denver Instrument P-114.1 Analytical Balance, 110, EUA); los análisis se realizaron por triplicado.

Perfil de viscosidad y gelatinización

Se utilizó un analizador rápido de viscosidad RVA-4500 (Perten Instruments, Australia); los ciclos de calentamiento y enfriamiento se programaron de la manera siguiente: calentamiento a 50 °C durante 1 min, seguido por calentamiento 1.5 °C por minuto hasta alcanzar 95 °C, se mantuvo a esta temperatura por 5 min para después dar un enfriamiento a 50 °C por 7.7 min (Alvis *et al.*, 2008). Los parámetros que se determinaron fueron: la temperatura de primera viscosidad (los valores de viscosidad se reportan en centipois), que refiere al aumento en al menos 25 cp durante un periodo de 20 s; viscosidad de pico (la máxima viscosidad alcanzada); el tiempo pico (tiempo en el que se produjo la viscosidad pico); viscosidad final (viscosidad al terminar la prueba luego del enfriamiento); la descomposición de viscosidad (pico de fuerza de retención de la viscosidad); y la viscosidad en retroceso (viscosidad final – fuerza de retención).

Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Las propiedades térmicas del almidón aislado de sorgo se determinaron con un calorímetro diferencial de barrido DSC 822E (Mettler Toledo, USA) calibrado con estándar

nativo ($T_0 = 156.6\text{ }^\circ\text{C}$, $\Delta H = 28.4\text{ J g}^{-1}$). El almidón se hidrató en agua destilada con una relación 1:4. Después, se tomaron 40 μL y se colocaron en crisoles de aluminio; por último, se evaluaron en el intervalo de temperatura de 30 a 95 $^\circ\text{C}$ con una velocidad de calentamiento de 5 $^\circ\text{C min}^{-1}$ (Palacios-Fonseca *et al.*, 2013).

Difracción de rayos X (XDR)

Los granos de almidón pulverizados fueron empaquetados dentro de una montura de aluminio de 30 \times 30 mm, para obtener los patrones de difracción de rayos X con un equipo Equinox 2000 (Inel, Francia) y el uso del método de Navarro-Cortez *et al.* (2016). El equipo cuenta con una línea de radiación Cu $K\lambda$ (1 a 1.5406 $^\circ$) y una diferencia de potencia de 30 kV con una densidad de corriente de 20 mA. Las muestras empaquetadas registraron un ángulo de difracción para el haz de 2θ de 5 a 35 $^\circ$ con intervalos de 0.1 $^\circ$ por medio de un sondeo de 8 s por grado, así como un tiempo de conteo por paso de 15 minutos.

Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

Las muestras de almidón se pulverizaron con un mortero hasta obtener un tamaño de partícula de 230 μm y se pesaron 2 mg de muestra de cada variedad mezclada con KBr; la mezcla se colocó en una prensa para formar una tableta cristalina, la cual se leyó en un espectrofotómetro (Spectrum 3 FT-IR Spectrometer, Perkin Elmer, Inglaterra). Cada muestra se analizó con 10 exploraciones de 4000 a 400 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} . Se corrigió la línea de base de los espectros y se normalizaron por medio de espectroscopía Spelwin32 – Spectroscopy (Navarro-Cortez *et al.*, 2016).

Todas las determinaciones (químicas, térmicas y estructurales) se realizaron por triplicado y se calcularon la media y desviación estándar. Con el software SPSS versión 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) se realizó un análisis de varianza de una vía, seguido de una *t* de Student ($p \leq 0.05$). Las gráficas se construyeron en Excel 2010 (Microsoft®, EUA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido proximal

Los resultados del análisis proximal del almidón de las variedades RB-Paloma y Mazatlán-16 muestran diferencias ($p \leq 0.05$) en los parámetros de humedad, proteínas, fibra y carbohidratos (Cuadro 1). Estos análisis son una manera de evaluar la pureza

Cuadro 1. Composición química proximal (%) de almidón extraído de dos variedades de sorgo grano blanco.

Variedad	Humedad	Proteína	Cenizas	Grasa	Fibra cruda	Carbohidratos
Mazatlán-16	5.47 \pm 0.04a	0.72 \pm 0.09a	0.22 \pm 0.06a	0.69 \pm 0.01a	2.67 \pm 0.06a	90.62 \pm 0.21b
RB-Paloma	4.04 \pm 0.1b	0.58 \pm 0.05b	0.17 \pm 0.04a	0.60 \pm 0.19a	1.01 \pm 0.19b	93.54 \pm 0.09a

a,b Letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas ($p \leq 0.05$).

del almidón extraído, además de valorar la posible estabilidad; por ejemplo, el contenido de humedad es un parámetro importante para asegurar la estabilidad microbiana de una materia prima. A mayor porcentaje de humedad aumenta el riesgo de crecimiento microbiano, lo que conlleva a cambios en la estructura y calidad. En los almidones extraídos de las variedades de sorgo, el porcentaje de este parámetro fue menor a 6 %; Arrazola-Paternina *et al.* (2020) analizaron almidones aislados de camotes (*Ipomoea batatas*) amarillo y morado, donde encontraron una humedad mayor (10.9 %) a la registrada en nuestro estudio. Los resultados sugieren que existe menor riesgo de ataques microbianos y con ello la estabilidad estructural del almidón se mantiene por más tiempo.

Para el contenido de proteínas, el almidón de sorgo var. Mazatlán-16 tuvo el mayor valor (0.72 %). Esto puede deberse a la presencia de proteínas del tipo insoluble relacionadas con los gránulos de almidón que no fueron aisladas por completo durante el proceso de extracción (Kaur *et al.*, 2018); sin embargo, el contenido encontrado es inferior al reportado para maíz (0.88 %) (Ahmad *et al.*, 1999). Las proteínas presentes en el gránulo de almidón están unidas a la matriz interna por medio de puentes de hidrógeno y disulfuro; sin embargo, estas podrían ser aisladas en su totalidad por medio de una solución alcalina durante el remojo del almidón (Contreras-Pérez *et al.*, 2018). Por otro lado, la presencia de lípidos en los almidones de sorgo analizados fue de 0.60 a 0.69 % (Cuadro 1), superior a lo reportado en ñame (*Dioscorea* spp.) (0.1 a 0.42 %) y maíz (*Zea mays*) (0.20 %) (Elmi-Sharlina *et al.*, 2016). Respecto a la fibra cruda, el contenido fue mayor a lo reportado en almidón de maíz (0.24 %) (Ahmad *et al.*, 1999). Se determinó también el contenido de cenizas, que para su uso en la industria, los almidones deben contener menos de 0.5 %. Los aislados de ambas variedades de sorgo blanco cumplieron con este criterio (0.17 a 0.22 %) (Cuadro 1). En almidón de ñame se reportó un contenido de cenizas mayor al de sorgo (0.88 %) (Elmi-Sharlina *et al.*, 2016). Las diferencias entre el contenido proximal del almidón de sorgo con el de otras fuentes podría estar relacionada con su origen, aislamiento y las condiciones de crecimiento (Elmi-Sharlina *et al.*, 2016). El bajo contenido de proteínas y fibra sugiere que se realizó un proceso de extracción de almidón adecuado, lo cual es importante ya que la presencia de estos componentes en altas concentraciones interfiere con las propiedades térmicas y los potenciales usos del almidón en alimentos (Kumar *et al.*, 2019).

Propiedades térmicas

El almidón aislado de la variedad RB-Paloma presentó un mayor índice ($p \leq 0.05$) de absorción de agua (IAA) (Cuadro 2); los almidones que presentan una mayor absorción de agua tienen un mayor tamaño de gránulo y presencia de grupos hidrofílicos, lo que en conjunto aumenta la retención de agua (Martínez *et al.*, 2015). En almidón de sorgo blanco comercializado en Italia se reportó un IAA de 89 % (Giuberti *et al.*, 2019), valor inferior al encontrado en este estudio. El IAA es una medida de la degradación de puentes de hidrógeno intra e intermoleculares del almidón, los cuales llevan a la formación de grupos hidroxilo que reaccionan con las moléculas de agua presentes (Ye *et al.*, 2018).

Cuadro 2. Índice de absorción de agua (IAA) de almidones de las variedades Mazatlán-16 y RB Paloma.

Variedad	IAA [†] (%)
Maztlán-16	129±04b
RB-Paloma	167±13a

[†] Se muestra el promedio y desviación estándar (\pm) de tres repeticiones. a,b Letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas ($p \leq 0.05$).

La capacidad de hinchamiento es una medida útil para evaluar la capacidad de absorción de agua y el poder de expansión del gránulo de almidón, así como la exudación fraccionada en relación con la temperatura y el tiempo. El hinchamiento se relaciona directamente con el contenido de amilopectina; largas cadenas de este polisacárido dan como resultado un incremento en esta propiedad (Li y Yeh, 2001). Los resultados muestran que la variedad RB-Paloma tiene un mayor poder de hinchamiento ($p \leq 0.05$) y que en ambos almidones aumenta cuando la temperatura asciende (Cuadro 3), obteniendo una maleabilidad mayor de la molécula de almidón.

Contrario a lo antes mencionado, la amilosa se relaciona con un menor poder de hinchamiento, dado que esta molécula absorbe menos agua que la amilopectina, lo cual permite un hinchamiento lento y mantiene la viscosidad (Contreras-Pérez *et al.*, 2018). Con los resultados presentados podría sugerirse que el almidón de la variedad Mazatlán-16 tiene un mayor contenido de amilopectina que facilita un mayor atrapamiento de agua en el gránulo (Ye *et al.*, 2018).

En lo referente a la viscosidad, se encontró que la temperatura máxima para las variedades de almidón aislado de sorgo fue de 81 °C para RB-Paloma, en tanto que para la Mazatlán-16 fue 89 °C (Figura 1). El analizador rápido de viscosidad (RVA) permite identificar la temperatura y el tiempo de hinchamiento de los gránulos de almidón. Cuando inicia la etapa de calentamiento, existe un incremento de la viscosidad debido al hinchamiento de los gránulos de almidón, al rompimiento de los puentes de hidrógeno y a una hidratación progresiva (Montoya *et al.*, 2012).

Las características bioquímicas del almidón, como el contenido de amilosa y amilopectina, influyen en las propiedades de viscosidad y gelatinización, al ser compuestos

Cuadro 3. Capacidad de hinchamiento (g g^{-1}) de los almidones aislados de grano de sorgo blanco a distintas temperaturas.

Variedad	1 h (40 °C)	2 h (50 °C)	3 h (60 °C)	4 h (70 °C)
Mazatlán-16	2.44±0.3a	2.53±0.3a	2.87±0.02b	3.85±0.47b
Paloma-RB	1.96±0.3b	2.45±0.3a	3.54±0.0a	4.65±0.23a

a,b Letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas ($p \leq 0.05$).

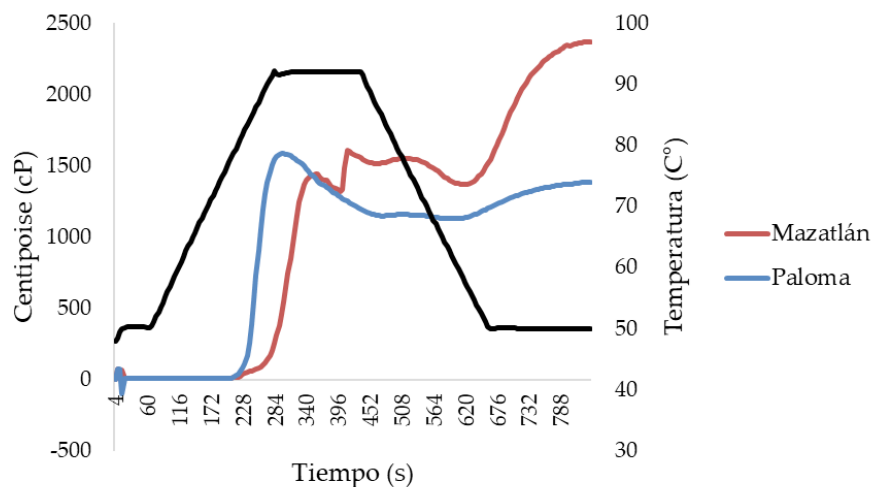


Figura 1. Propiedades de viscosidad de la pasta del almidón aislado de grano de sorgo blanco variedades Mazatlán-16 y RB-Paloma.

presentes en los cereales que determinan su uso final en la panificación o fabricación de productos alimenticios. Por ello, es importante determinar las condiciones del rompimiento y la retrogradación del gránulo por su efecto en la viscosidad, ya que se relacionan en gran medida con la textura y la estabilidad (Contreras-Pérez *et al.*, 2018; Ye *et al.*, 2018). Los almidones procedentes de cereales tienden a ser definidos por el alto contenido de amilosa que limita las propiedades de la amilopectina, debido a la formación de complejos helicoidales con otras moléculas lipídicas; esto conlleva a que al aumentar la temperatura se presente baja viscosidad y una pasta opaca (Srichuwong, 2017).

En cuanto a la capacidad de gelatinización de las dos variedades de almidón aislado de sorgo se encontró que la temperatura inicial oscila entre 67 y 68 °C, y la final entre 79 y 80 °C (Cuadro 4). Ehtiati *et al.* (2017) reportaron para sorgos de doble propósito (líneas KDFGS1, KDFGS6, KDFGS9, y KDFGS20), propiedades de temperatura inicial de 67 °C, temperatura pico de 72 °C y temperatura final de 77 °C, con lo cual se puede

Cuadro 4. Capacidad de gelatinización de los almidones de sorgo blanco.

Variedad	Ti [†]	Tp [‡]	Tf [§]	I [¶]
Mazatlán-16	68.99±0.6a	75.28±0.4a	80.52±0.7a	11.53±0.47
RB-Paloma	67.09±0.7b	72.48±0.03b	79.46±0.3b	12.37±0.34

[†]Ti: temperatura inicial; [‡]Tp: temperatura pico; [§]Tf: temperatura final; [¶]I: Intervalo de temperatura. a,b Letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas ($p \leq 0.05$).

decir que la variedad RB-Paloma se encuentra dentro del intervalo normal para gránulos del sorgo. Estas propiedades del almidón podrían atribuirse a la cristalinidad relativa y al contenido de amilasa del grano. Los valores encontrados también son similares a lo encontrado en almidón de sorgo comercializado en Roma, Italia, con una temperatura inicial y de pico de 66.6 y 71.5 °C, respectivamente (Giuberti *et al.*, 2019). Las propiedades térmicas de los almidones tienen relación con el tamaño del gránulo, las fracturas que presenten y el contenido de amilosa; además, la gelatinización se ve afectada por la presencia de proteínas, sales o grasas en el almidón (Donmez *et al.*, 2021). A pesar de que la variedad Mazatlán-16 tiene una mayor capacidad de absorción de agua, su contenido de proteínas, fibra y grasa interfieren con su capacidad de gelatinización. Se sabe que a mayor temperatura de gelatinización existe un mayor grado de ordenamiento en el gránulo de almidón, requiriendo una mayor temperatura de cocción en caso de aplicarse a un alimento (Salgado-Ordosgoitia *et al.*, 2019). Los resultados encontrados en este estudio (Cuadro 4) coinciden con lo reportado en almidón aislado de grano de maíz con valores de 65 a 67 °C en la temperatura inicial, la temperatura pico entre 70 y 71 °C y temperatura final en 75 y 77.75 °C (Paraginski *et al.*, 2018). Por lo anterior, los almidones de las dos variedades de sorgo obtenidos pueden utilizarse en la fabricación de pastas alimenticias (con temperaturas de gelatinización bajas), alimentos extruidos (temperaturas de gelatinización altas) o bien en fermentaciones industriales (Donmez *et al.*, 2021).

Propiedades estructurales

En el análisis por medio de DRX se observó que la variedad Mazatlán-16 reportó picos a 2θ de 17.91, 20.17, 23.40 y 26.83 °, mientras que la variedad RB-Paloma mostró un patrón con picos en 2θ de 17.91, 20, 23 y 26.76 °; los picos presentados en el difractograma corresponden al patrón cristalino tipo A (Guo *et al.*, 2019) (Figura 2). Los resultados

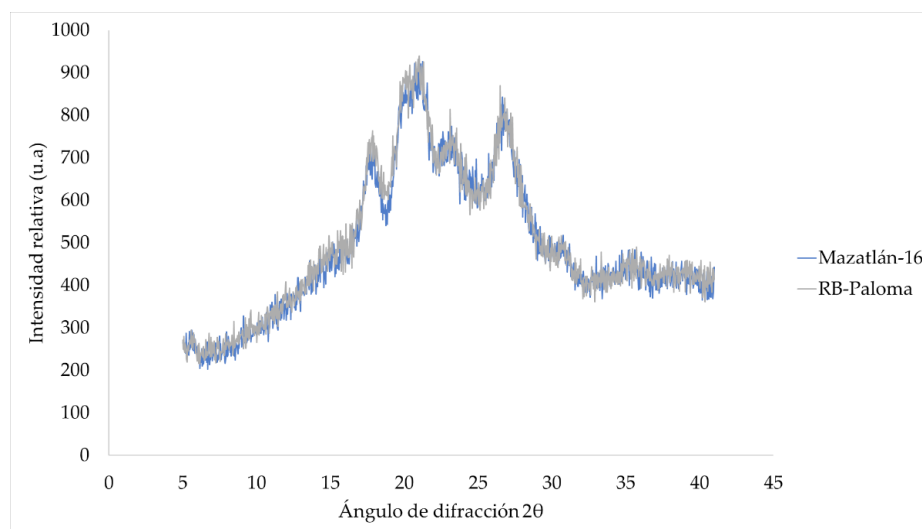


Figura 2. Difractogramas de almidón extraído de sorgo blanco variedades Mazatlán-16 y RB-Paloma.

encontrados son similares a lo reportado para almidón de maíz; Navarro-Cortez *et al.* (2016) encontraron la presencia de una estructura tipo A para almidones de maíz y observaron señales en 15, 18 y 22 °.

El almidón tipo A consiste en una doble hélice comprimida de amilosa y amilopectina, cuyas fuerzas internas están distribuidas homogéneamente, lo que los hace más resistentes al ataque enzimático (Alves de Melo-Neto *et al.*, 2017). Se ha sugerido que el sorgo presenta mayor contenido de almidón resistente que el maíz, por lo que puede utilizarse como compuesto funcional con diversos beneficios a la salud humana (Giuberti *et al.*, 2019). Se ha reportado que, durante el proceso de molienda, la fuerza mecánica generada tiende a desvanecer enlaces de hidrógeno, los cuales tienen la capacidad de generar uniones en las cadenas laterales de los grupos presentes en la amilopectina, lo que ocasiona que la cristalinidad disminuya (Lin *et al.*, 2020); sin embargo, esto no se observó en los almidones analizados en este estudio, al haber sido la molienda adecuada.

En lo que respecta al análisis por FTIR de las dos variedades de almidón, se encontró un pico ancho entre 3600 y 3300 cm^{-1} , lo que indica la presencia de un grupo hidroxilo en estiramiento (Figura 3). Los picos de los almidones obtuvieron valores entre 3000 y 2800 cm^{-1} (Cuadro 5), lo cual se atribuye al estiramiento del grupo -CH de la unidad de glucosa (Kaur *et al.*, 2018). La presencia del agua tiene una importancia para el mantenimiento de la estructura y su regeneración molecular. Las dos variedades presentaron una banda en 1656 cm^{-1} , ocasionada por la molécula de almidón (Jagadeesan *et al.*, 2020), donde se puede encontrar agua ligada que forma puentes de hidrógeno en la estructura cristalina, y agua libre responsable de la hidratación de la molécula de almidón.

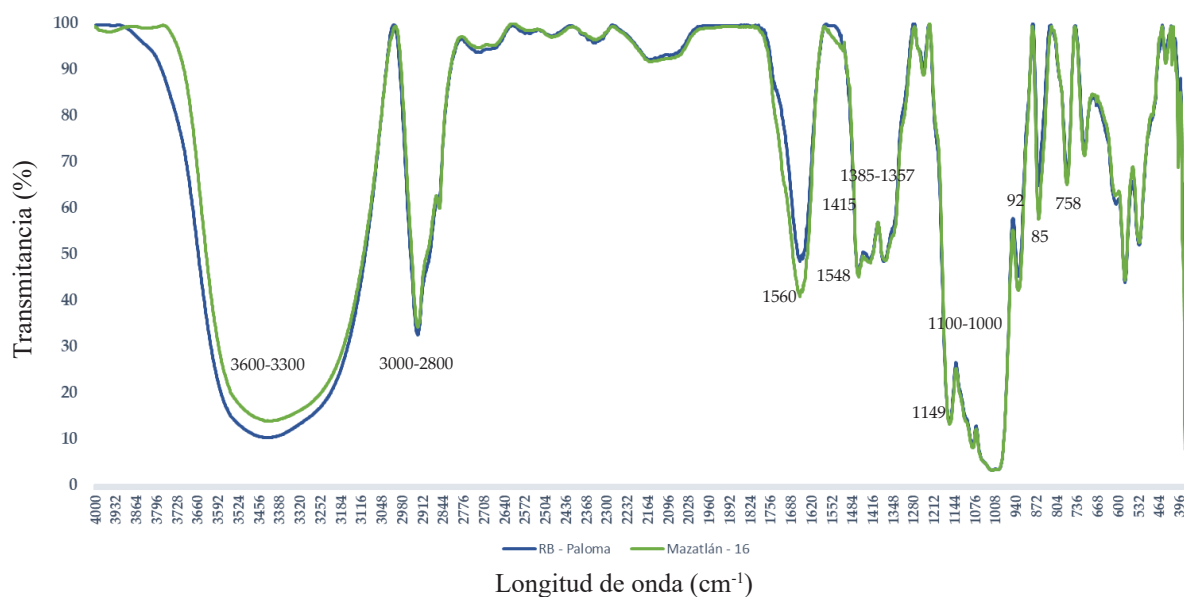


Figura 3. Espectro infrarrojo de almidón aislado de sorgo blanco variedades Mazatlán-16 y RB-Paloma en el análisis FTIR.

Cuadro 5. Grupos funcionales presentes en el almidón extraído de las dos variedades de grano de sorgo blanco.

Grupo funcional	Número de onda (μm)	Mazatlán-16	RB-Paloma
O-H (estiramiento)	3600-3300	3415	3424
C-H (estiramiento)	3000-2800	2928, 2854	2926
H-O-H	1650	1656	1656
CH ₂	1458	1460	1460
CH ₂	1415	1421	1421
C-H	1385-1357	1371	1377
C-O-C	1149	1158	1158
C-O	1100-1000	1081,1017	1081,1017
C-O-C	920, 856, 758	929, 862, 768	929, 862, 768

En un estudio realizado por Jafari *et al.* (2017) con sorgo proveniente de Irán, se observó la presencia de un grupo amida en la región 1600 a 1700 cm⁻¹, que puede deberse a la presencia de proteínas. Un pico similar se observa en el almidón de la variedad Mazatlán-16, lo cual coincide con un mayor contenido de proteínas (0.72 %) obtenido de esta variedad comparado con RB-Paloma (0.58 %). El almidón analizado en este estudio tuvo picos de 1460 a 1371 cm⁻¹, de igual manera se presentaron picos en 1158 cm⁻¹, los cuales se relacionan con la vibración del estiramiento de los grupos CH y COH (Kaur *et al.*, 2018). Estos resultados, junto con el análisis de DRX, confirmaron la presencia de un almidón tipo A, característico de los cereales, y sugieren que el proceso de extracción fue adecuado y que no se dañó la estructura cristalina del polisacárido.

CONCLUSIONES

El almidón obtenido presentó una pureza considerable para utilizarse en la industria, lo cual se demostró por el bajo contenido de proteínas, fibra, cenizas y grasas, lo cual afirma la conveniencia del procedimiento de extracción utilizado. El almidón de las dos variedades de sorgo blanco mostró una alta capacidad de absorción de agua y alto poder de hinchamiento. Los análisis de rayos X y espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier confirmaron la estructura cristalina de un almidón tipo A, común en los cereales, con un adecuado contenido de amilosa. Por lo tanto, el almidón obtenido de las variedades Mazatlán-16 y RB-Paloma tiene las características químicas, térmicas y funcionales para utilizarse en la industria alimentaria como agente espesante, como sustituto parcial de harinas en pastas libres de gluten, alimentos extruidos, o como agente para fermentaciones microbianas.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP- Río Bravo) por la donación de los granos de sorgo, en especial al Dr. Noé Montes García. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para estudios de maestría de Jared Reyes-Gallardo.

REFERENCIAS

- Adebo OA. 2020. African sorghum-based fermented foods: past, current and future prospects. *Nutrients* 12 (4): 1111. <https://doi.org/10.3390/nu12041111>
- Ahmad FB, Williams PA, Doublier JL, Durand S, Buleon A. 1999. Physico-chemical characterization of sago starch. *Carbohydrate Polymers* 38 (4): 361–370. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(98\)00123-4](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(98)00123-4)
- Alves de Melo-Neto B, Souza-Fernandes B, Maria-Fornari Junior CC, Franco M, Ferreira-Bonomo RC, de Almeida PF, Valverde-Pontes K. 2017. Thermal-morphological characterisation of starch from peach-palm (*Bactris gasipaes* Kunth) fruit (Pejibaye). *International Journal of Food Properties* 20 (5): 1007–1015. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1192645>
- Alvis A, Vélez CA, Villada HS, Rada-Mendoza M. 2008. Análisis físico-químico y morfológico de almidones de ñame, yuca y papa y determinación de la viscosidad de las pastas. *Información Tecnológica* 19 (1): 19–28. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642008000100004>
- Arrazola-Paternina G, Murillo-Martínez MF, Alvis-Bermúdez A. 2020. Propiedades fisicoquímicas y funcionales del almidón obtenido de dos variedades de batata (*Ipomoea batatas*). *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* 19 (1): 117–127. <https://doi.org/10.18684/bsaa.v19.n1.2021.1471>
- Beta T, Corke H, Rooney LW, Taylor JR. 2001. Starch properties as affected by sorghum grain chemistry. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81 (2): 245–251. [https://doi.org/10.1002/1097-0010\(20010115\)81:2<245::aid-jsfa805>3.0.co;2-s](https://doi.org/10.1002/1097-0010(20010115)81:2<245::aid-jsfa805>3.0.co;2-s)
- Bhagavatula S, Rao PP, Basavaraj G, Nagaraj N. 2013. Sorghum and millet economies in Asia – facts, trends and outlook. *International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics: Patancheru, AP, India*. 80 p.
- Cervini M, Gruppi A, Bassani A, Spigno G, Giuberti G. 2021. Potential application of resistant starch sorghum in gluten-free pasta: nutritional, structural and sensory Evaluations. *Foods* 10 (5): 908. <https://doi.org/10.3390/foods10050908>
- Contreras-Pérez RK, De la Torre-Gutiérrez L, González-Cortés N, Jiménez-Vera R. 2018. Caracterización funcional de almidones de plátano cuadrado (*Musa balbisiana* Colla). *European Scientific Journal* 14 (30): 82. <https://doi.org/10.19044/esj.2018.v14n30p82>
- Donmez D, Pinho L, Patel B, Desam P, Campanella OH. 2021. Characterization of starch-water interactions and their effects on two key functional properties: starch gelatinization and retrogradation. *Current Opinion in Food Science* 39: 103–109. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.12.018>
- Dykes L, Rooney LW, Waniska RD, Rooney WL. 2005. Phenolic compounds and antioxidant activity of sorghum grains of varying genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (17): 6813–6818. <https://doi.org/10.1021/jf050419e>
- Ehtiati A, Koocheki A, Shahidi F, Razavi SMA, Majzoobi M. 2017. Pasting, rheological, and retrogradation properties of starches from dual-purpose sorghum lines. *Starch* 69 (7–8): 1600262. <https://doi.org/10.1002/star.201600262>
- Elmi-Sharlina MS, Yaacob WA, Lazim AM, Fazry S, Lim SJ, Abdullah S, Noordin A, Kumaran M. 2016. Physicochemical Properties of Starch from *Dioscorea pyriformis* tubers. *Food Chemistry* 220: 225–232. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.196>
- Giuberti G, Marti A, Gallo A, Grassi S, Spigno G. 2019. Resistant starch from isolated white sorghum starch: functional and physicochemical properties and resistant starch retention after cooking. A comparative study. *Starch* 71 (7–8): 1800194. <https://doi.org/10.1002/star.201800194>
- Gobierno de Tamaulipas. 2020. Agricultura, temas del sector. Secretaría del Desarrollo Rural. Gobierno de Tamaulipas. Ciudad Victoria, México. <https://www.tamaulipas.gob.mx/desarrollorural/temas-del-sector/agricultura> (Recuperado: marzo 2022).
- Guo K, Liu T, Xu A, Zhang L, Bian X, Wei C. 2019. Structural and functional properties of starches from root tubers of white, yellow, and purple sweet potatoes. *Food Hydrocolloids* 89: 829–836. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.11.058>
- Jafari M, Koocheki A, Milani E. 2017. Effect of extrusion cooking on chemical structure, morphology, crystallinity and thermal properties of sorghum flour extrudates. *Journal of Cereal Science* 75: 324–331. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.05.005>

- Jagadeesan S, Govindaraju I, Mazumder N. 2020. An insight into the ultrastructural and physicochemical characterization of potato starch: a review. *American Journal of Potato Research* 97 (5): 464–476. <https://doi.org/10.1007/s12230-020-09798-w>
- Kaur H, Gill BS, Karwasra BL. 2018. *In vitro* digestibility, pasting, and structural properties of starches from different cereals. *International Journal of Food Properties* 21 (1): 70–85. <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1439955>
- Kumar R, Ghoshal G, Goyal M. 2019. Moth bean starch (*Vigna aconitifolia*): isolation, characterization, and development of edible/biodegradable films. *Journal of Food Science and Technology* 56 (11): 4891–4900. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03959-4>
- Li JY, Yeh AI. 2001. Relationships between thermal, rheological characteristics and swelling power for various starches. *Journal of Food Engineering* 50 (3): 141–148. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(00\)00236-3](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(00)00236-3)
- Li N, Guo Y, Zhao S, Kong J, Qiao D, Lin L, Zhang B. 2020. Amylose content and molecular-order stability synergistically affect the digestion rate of indica rice starches. *International Journal of Biological Macromolecules* 144: 373–379. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.095>
- Liu J, Sun L, Xu W, Wang Q, Yu S, Sun J. 2019. Current advances and future perspectives of 3D printing natural-derived biopolymers. *Carbohydrate Polymers* 207: 297–316. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.11.077>
- Martínez P, Málaga A, Betaléluz I, Ibarz A, Velezmoro C. 2015. Caracterización funcional de almidones nativos obtenidos de papas (*Solanum phureja*) nativas peruanas. *Scientia Agropecuaria* 6 (4): 291–301. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2015.04.06>
- Mohamad Yazid NS, Abdullah N, Muhammad N, Matias-Peralta HM. 2018. Application of starch and starch-based products in food industry. *Journal of Science and Technology* 10 (2): 144–174. <https://doi.org/10.30880/jst.2018.10.02.023>
- Montoya J, Giraldo GA, Lucas JC. 2012. Caracterización física de harina de trigo y pan mediante determinación de la viscosidad y la cristalinidad de la pasta. *Vitae* 19 (1): S346–S348.
- Navarro-Cortez RO, Gómez-Aldapa CA, Aguilar-Palazuelos E, Delgado-Licon E, Castro Rosas J, Hernández-Ávila J, Solís-Soto A, Ochoa-Martínez LA, Medrano-Roldán H. 2016. Blue corn (*Zea mays* L.) with added orange (*Citrus sinensis*) fruit bagasse: novel ingredients for extruded snacks. *CyTA - Journal of Food* 14 (2): 349–358. <https://doi.org/10.1080/19476337.2015.1114026>
- Palacios-Fonseca AJ, Castro-Rosas J, Gómez-Aldapa CA, Tovar-Benítez T, Millán-Malo BM, del Real A, Rodríguez-García ME. 2013. Effect of the alkaline and acid treatments on the physicochemical properties of corn starch. *CyTA-Journal of Food* 11 (1), 67–74. <https://doi.org/10.1080/19476337.2012.761651>
- Paraginski RT, Colussi R, Guerra-Dias AR, da Rosa-Zavareze E, Elias MC, Vanier NL. 2018. Physicochemical, pasting, crystallinity, and morphological properties of starches isolated from maize kernels exhibiting different types of defects. *Food Chemistry* 274: 330–336. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.026>
- Salgado-Ordosgoitia RD, Paternina-Contreras AL, Cohen-Manrique CS, Rodríguez-Manrique JA. 2019. Análisis de las curvas de gelatinización de almidones nativos de tres especies de ñame: criollo (*Dioscorea alata*), espino (*Dioscorea rotundata*) y Diamante 22. *Información tecnológica* 30 (4): 93–102. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642019000400093>
- Srichuwong S, Curti D, Austin S, King R, Lamothe L, Gloria-Hernandez H. 2017. Physicochemical properties and starch digestibility of whole grain sorghums, millet, quinoa and amaranth flours, as affected by starch and non-starch constituents. *Food Chemistry* 233: 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.019>
- Subramanian V, Hosney RC, Bramel-Cox P. 1994. Shear thinning properties of sorghum and corn starches. *Cereal Chemistry* 71 (3): 272–275.
- Tasie MM, Gebreyes BG. 2020. Characterization of nutritional, antinutritional, and mineral contents of thirty-five sorghum varieties grown in Ethiopia. *International Journal of Food Science* 2020: 1–11. <https://doi.org/10.1155/2020/8243617>
- Treviño-Salinas M, Perales-Torres A, Castillo-Ruiz O, Montes-García N, Lizarazo-Ortega C, Navarro-Cortez R, Rodríguez-Castillejos G. 2021. Proximal analysis and profile of fatty acids

- on six varieties of white grain sorghum with potential use in human consumption. *CyTA Journal of Food* 19 (1): 547–551. <https://doi.org/10.1080/19476337.2021.1928757>
- Udachan IS, Sahoo AK, Hend GM. 2012. Extraction and characterization of sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) starch. *International Food Research Journal* 19 (1): 315–319.
- Wang L, Wang YJ. 2001. Structures and physicochemical properties of acid-thinned corn, potato and rice starches. *Starch* 53 (11): 570–576. [https://doi.org/10.1002/1521-379x\(200111\)53:11<570::aid-star570>3.0.co;2-s](https://doi.org/10.1002/1521-379x(200111)53:11<570::aid-star570>3.0.co;2-s)
- Ye J, Hu X, Luo S, Liu W, Chen J, Zeng Z, Liu C. 2018. Properties of starch after extrusion: a review. *Starch* 70 (11–12): 1700110. <https://doi.org/10.1002/star.201700110>

PROBABILITY OF MORTALITY IN CASUARINA TWO YEARS AFTER THE FIRE AT THE PIEDMONT OF THE TLALOC VOLCANO, STATE OF MEXICO, 2017

María Magdalena Hernández-Rosas¹, Ana Laura Hernández-Leyva¹, Dante Arturo Rodríguez-Trejo^{1*}

¹ Universidad Autónoma Chapingo. División de Ciencias Forestales. Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Texcoco, State of Mexico, Mexico. C. P. 56264.

* Author for correspondence: dantearturo@yahoo.com

ABSTRACT

In 2017, at the foot of the Tlaloc volcano, occurred the largest forest fire in the State of Mexico (2500 ha), with surface and crown (canopy) phases, on plantations of various species and various types of vegetation. Studies on the effects of fires on trees serve to define mortality and whether or not restoration will be required in an affected area. The hypothesis was: the greater the intensity and severity of the fire and the smaller the size of the trees, the greater the probability of mortality. The objective of the study was to establish the fire severity and dasometric variables that influence the probability of both mortality and resprouting in *Casuarina equisetifolia* L. plantations affected by fire. The study was conducted at the Experimental Forestry Station "Las Cruces" (Universidad Autónoma Chapingo, State of Mexico). In 2019, 442 trees (15 sites of 100 m²) were sampled in 50 ha of plantations affected by the fire. Records were made on whether the trees were alive or dead, normal diameter, bark thickness, height, height at the base of the original crown, height of the fire scar on the trunk, height of crown scorch and presence of resprouting. The statistical analysis consisted of logistic regressions, using the Proc Logistic procedure of the SAS program. The average tree mortality was 63 %. The variable that was directly related ($p \leq 0.05$) to the probability of mortality was the height of the scar above the trunk. The dasometric variables inversely related ($p \leq 0.05$) with the probability of mortality were: height, normal diameter and bark thickness. For resprouting probability, there was an inverse relationship ($p \leq 0.05$) with normal diameter, bark thickness and height of scar on the trunk. It is concluded that casuarina is a fire sensitive species.

Keywords: *Casuarina equisetifolia* L., fire effects, fire, mortality, logistic regression, fire severity.

INTRODUCTION

In April 2017, a forest fire occurred on the slopes of the Tlaloc volcano, State of Mexico, which was the most extensive of the year (2500 ha) in the federal entity (Probosque, 2017). The fire lasted for a week and was complex because it affected forest plantations of casuarina (*Casuarina equisetifolia* L.), white cedar (*Callitropsis lusitanica* (Mill.) D.P.Little), eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.), pine (*Pinus pseudostrobus* Lindl) and others, in addition to various types of natural vegetation, such as scrub oak (*Quercus frutex* Trel.), oak forest (with species such as *Quercus deserticola* Trel, *Q.*

Citation: Hernández-Rosas MM, Hernández-Leyva AL, Rodríguez-Trejo DA. 2023. Probability of mortality in casuarina two years after the fire at the piedmont of the Tlaloc volcano, State of Mexico, 2017.

Agrociencia 57(1): 102-131.
<https://doi.org/10.47163/agrociencia.v57i1.2814>

Editor in Chief:

Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: July 28, 2022.

Approved: January 22, 2023.

Published in Agrociencia:

February 27, 2023.

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



laeta Liebm., *Q. crassipes* Bonpl., *Q. rugosa* Née, *Q. laurina* Bonpl. and *Q. castanea* Née), pine forest (with species such as *P. leiophylla* Schltdl. & Cham., for example) oyamel forest (*Abies religiosa* (Kunth) Mirb.) and grassland, among others. Therefore, the forest fuel models were very diverse, including: grassland, undergrowth, shrubland and leaf litter. Likewise, the topography was very diverse, with slopes ranging from flat to greater than 100 %, on northern, southern, eastern or western exposures and with an abundance of gullies. Regarding weather, winds changed direction frequently and sometimes blew at more than 30 km h⁻¹; during the day, the temperature exceeded 30 °C, relative humidity was around 20 % (observations recorded with a portable meteorological kit) and the humidity of fine fuels reached 3 %. The fire had superficial and aerial phases in several areas (the latter in plantations of white cedar, casuarina, eucalyptus and pine; natural vegetation of oak, true fir forest and chaparro oak scrub). Some observations of surface fire behavior were made, recording flame lengths > 4 m and propagation rates > 40 m min⁻¹. Also, in crown fires, flame lengths of up to 15 m were recorded (Figure 1) (personal observations of the third author).

The Mario Avila Experimental Forestry Station (“Las Cruces”), of the Universidad Autónoma Chapingo, summarizes all of the above, since it is located within the area



Figure 1. A) Panoramic view of the 2017 fire at the piedmont of Tlaloc volcano; B) Intense surface phase of fire in the area; C) View of a crown fire in white cedar plantations. Pictures: Dante A. Rodríguez T.

affected by the fire and contains most of the planted species and types of vegetation mentioned above. *Casuarina equisetifolia* is a tree native to Australia and Papua, introduced in Mexico in the first quarter of the last century, for the successful fixation of dunes in Veracruz (Pennington and Sarukhán, 2005), as it has also had success in several countries because it fixes nitrogen and has social, economic and environmental importance (Rojas-Sandoval and Acevedo-Rodríguez, 2021), although it is currently considered invasive, for example, in the Natural Protected Area of Cozumel, where it reduces composition and alters structure in the native vegetation (Zaldívar-Cruz *et al.*, 2022). The species can thrive in a wide range of ecological conditions and has therefore been planted throughout Mexico, mainly in reforestation and dune fixation programs on the Gulf coast; it is also used to form windbreaks and as an ornamental plant. It is a monopodic tree up to 18 m tall and 65 cm in diameter; outer bark fissured, dark brown, with a thickness of 10 to 13 mm; the twigs that bear the leaves (scaly, triangular) are green, the twigs of growth, brown; dioecious species, sometimes monoecious, male flowers in whorls, the female in dense spikes; samaroid fruits, grouped in an ovoid cone that opens as a capsule (Pennington and Sarukhán, 2005).

Regarding the fire ecology of the species, it has been observed that individuals > 8 cm in normal diameter succumb to fire, and that individuals smaller than this diameter survive and resprout from the base, starting from the root crown. It is considered that in sites affected by fire, or outside of them, casuarina can regenerate by seed one or two years after the fire; such seed is transported by wind, animals or water currents (Snyder, 1992).

It is necessary to study fire ecology and the effects of fires in national plantations, with species such as casuarina. As far as could be investigated, this topic has not been addressed in the country with the species of interest despite the extent of this exotic often affected by fire. In fact, globally, conifers have been more studied in this regard than hardwood species (Cansler *et al.*, 2020), such as *Casuarina*. It was hypothesized that the probability of tree mortality is inversely related to tree dimensions (diameter and height) and positively related to the level of fire severity (height of the scar on the trunk). The objective of the study was to establish the fire severity and dasometric variables that influence the probability of mortality and resprouting in *Casuarina equisetifolia* L. plantations affected by fire. Research questions include: Is there a direct or indirect relationship between the probability of mortality and the different explanatory variables considered, and is there a critical size at which mortality and resprouting increase?

MATERIALS AND METHODS

Study area

Las Cruces Experimental Forest Station is located between parallels 19.45° and 19.47° N and meridians 98.83° and 98.80° W, between 2480 and 2640 m altitude; it has 325.75 ha for conservation and restoration, and its main objectives are teaching and research. The *C. equisetifolia* plantations affected during the fire were established for restoration

purposes. Within Las Cruces there are mixed plantations of *Eucalyptus* and *Casuarina* with an area of 102 ha; those of the latter species cover about 50 ha and it is estimated that half of them were affected by the aforementioned fire. This fire occurred during the peak of the 2017 fire season in April.

Field sampling

In the months of September, October and November 2019, stratified random sampling was carried out by qualitatively locating areas with different levels of severity (mortality), by fire, of *C. equisetifolia*. There were 15 sites of 100 m². The sample was 1500 m², which corresponds to a sampling intensity of 0.3%, considered representative in forest inventories (Romahn-de la Vega and Ramírez-Maldonado, 2010). Likewise, based on the number of trees per site of this sample and applying the formula referred to by Torres-Rojo and Magaña-Torres (2001), for estimating sample size in stratified random sampling, considering a value of E = 4 (maximum desired variation in number of trees per site), as well as two strata of density (< 30 trees/site and ≥ 30 trees/site), a sample of 12 was obtained, so that of the present study (15) is appropriate. A total of 442 sample trees were obtained.

Each tree was recorded as to whether it was alive or dead, as well as dasometric variables and fire severity. Among the first are: normal diameter (cm) with a diametric tape, bark thickness (mm) with a bark meter, total height (m) and height to the lowest branch (m), with clinometer or 2 m-length wooden ruler, according to height, crown diameter (m) and distance between trees (m), the last two with a tape measure. From the latter, the following were obtained: height of lethal scorch on the crown (m), height to live foliage (m) and height of burn scar on the trunk (m) with a wooded ruler, and it was also recorded whether there were resprouts at the base of the trunk, on the trunk or on the crown.

As an example of the variability of dimensions captured during sampling, trees were recorded with heights from 2 to 20 m (mean = 9.1 m), normal diameter from 2 to 30 cm (mean = 13.4 cm), bark thickness from 0.2 to 1.2 cm (mean = 0.5 cm) and scar height above the trunk from 0 to 16 m (mean = 3.5 m).

Statistical analysis

The logistic procedure (PROC LOGISTIC) of the SAS program (v. 9.0 for microcomputers) was used to obtain the probability of mortality and resprouting using logistic models based on tree dasometric and fire severity variables. The model has the following general expression (Hosmer *et al.*, 2013):

$$P_m = \frac{1}{1 + e^{-(\alpha_1 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_n X_n)}}$$

P_m = probability of mortality, e = base of natural logarithms ($= 2.7182$), α_1 = constant (intercept), β_1, \dots, β_n = constants associated with the independent variables, X_1, \dots, X_n = independent variables (fire scar height, total height, tree diameter, etc.).

The models were selected when: they were significant in all their explanatory variables, the confidence interval of each of them did not contain the value 1 (which would imply that the odds ratio or probability of occurrence between the probability of non-occurrence was equal to 1), relevant concordance of at least 40 %. Likewise, the Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit test (Hosmer *et al.*, 2013) was performed, with the null hypothesis that the data do not fit a logistic distribution. Therefore, non-significant results ($p > 0.05$) in the test were adequate to consider the model tested as robust. This type of regression was used because the independent variable is binomial (mortality or regrowth), inference is obtained on the relevance and performance of each variable considered, whether it is a positive or negative relationship and provides well-calibrated probabilities (Hosmer *et al.*, 2013).

RESULTS AND DISCUSSION

Mortality probability

A mortality rate of 63% was found in casuarinas two years after the forest fire (Figure 2). Significances of the intercept, variables, confidence intervals for each variable, concordance and goodness-of-fit test of the significant models for the present study are provided (Table 1). The models found and their trends are as follows:

Probability of mortality (P_m) with respect to height (A , m):

$$P_m = \frac{1}{1 + e^{-(1.7762 - 0.1321A)}} \quad (1)$$

The trend indicates that the higher the tree height, the lower the probability of mortality (Figure 3A). In other words, a 5 m tall individual is more likely to die than a 20 m tall individual.

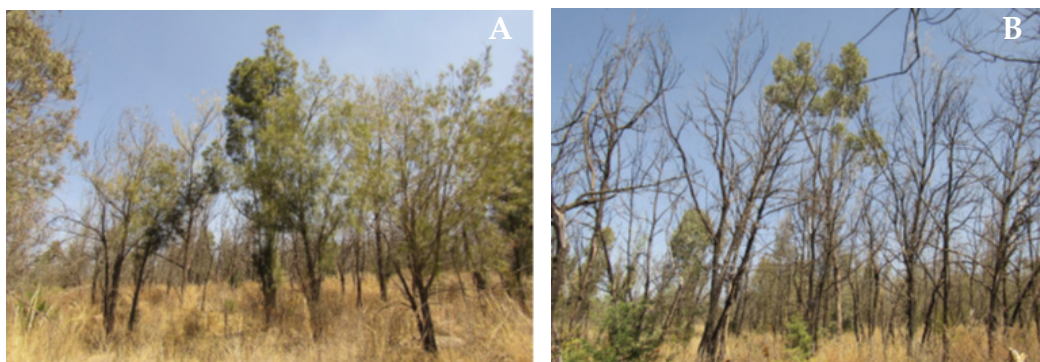


Figure 2. A) Area of moderate severity, with survival of casuarinas; B) zone of high severity, with almost total mortality of casuarinas. In the latter, note in the background that the eucalyptus survived the fire. Pictures: M. Magdalena Hernández R. and Ana L. Leyva V.

Table 1. Significance, confidence interval, concordance and goodness-of-fit test for mortality probability models.

Model	Variables	<i>p</i> intercept	<i>p</i> variable	IC (95%)	C (%)	<i>p</i> BA
1	A	< 0.0001	< 0.0001	0.831 – 0.924	64.0	> 0.05
2	DN	< 0.0001	< 0.0001	0.880 – 0.939	67.2	> 0.05
3	GC	< 0.0001	0.0298	0.159 – 0.910	48.0	> 0.05
4	ACT	0.0004	< 0.0001	1.354 – 1.733	71.6	> 0.05
5	A	< 0.0001	< 0.0001	0.591 – 0.719	88.5	> 0.05
	ACT		< 0.0001	2.051 – 3.334		
6	GC	0.0012	< 0.0001	0.002 – 0.039	82.6	> 0.05
	ACT		< 0.0001	1.775 – 2.663		
7	A	< 0.0001	0.0236	0.764 – 0.981	92.2	> 0.05
	DN		< 0.0001	0.705 – 0.832		
	ACT		< 0.0001	2.581 – 4.752		

IC: confidence interval; C: concordance; BA: goodness-of-fit test; A: total height; DN: normal diameter; GC: bark thickness; ACT: height of the burn scar over the trunk.

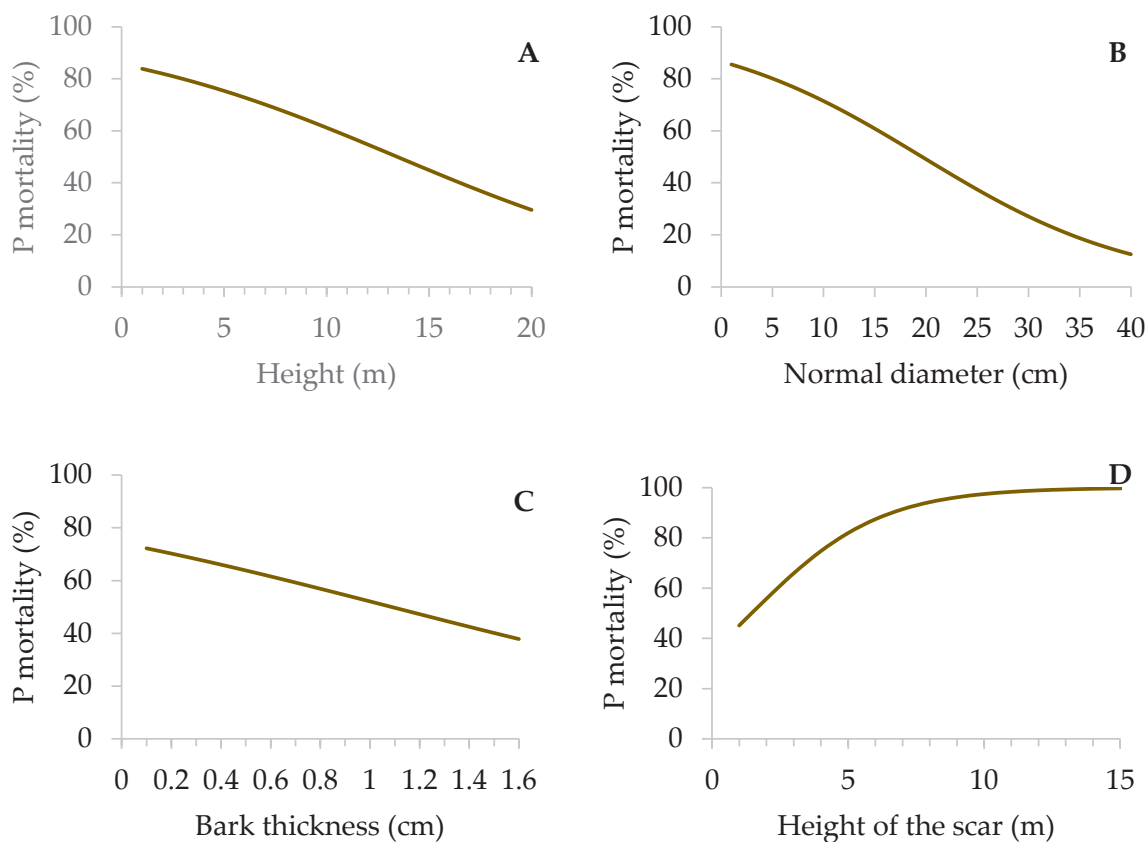


Figure 3. Effect of dasometric variables on the probability of mortality of *Casuarina equisetifolia*. A) height; B) normal diameter; C) bark thickness; D) height of the burn scar on the trunk.

It is clear that a tall, well-developed tree will have lower mortality in forest fires. This trend has been recorded in another relatively fire-sensitive species in the valley of Mexico, the oyamel, *Abies religiosa* (Kunth) Schltdl. & Cham. Six months after a canopy forest fire in southern Mexico City, around 2011, Temiño-Villota *et al.* (2016) obtained logistic models yielding mortality probabilities of 95 % and 38 % for trees with heights of 2 and 20 m, respectively. These probabilities are similar to those obtained for casuarina in the present work, with 82 and 30 %, respectively.

In contrast, in a superficial forest fire in Chiapas, in stands of the fire-adapted species *Pinus oocarpa* Schiede ex Schltdl., with high intensity and severity (1.5 m mean height of burn scar on the trunk) and with mortality of 48.8 %, the mortality probabilities for trees of 2 and 20 m, based on the logistic models of this work (Rodríguez-Trejo *et al.*, 2019), were 80 and 7 %, indicating that in this fire-adapted species, although mortality of juveniles is also high, that of adult trees is significantly lower. In some cases, height is considered as the main attribute that allows tree survival, even more than bark thickness, as Rodríguez-Cubillo *et al.* (2021) report for tree species of the Brazilian savanna (cerrado).

Probability of mortality with respect to normal diameter (DN, cm):

$$Pm = \frac{1}{1 + e^{-(1.8706 - 0.0954DN)}} \quad (2)$$

As with the previous variable, the larger the normal diameter, the lower the probability of post-fire mortality. An individual with a DN of 5 cm is four times more likely to die than an individual with a DN of 40 cm (Figure 3B).

Based on the present work and the sources cited in the previous paragraph, the probability of mortality for trees with 2 and 30 cm of normal diameter was: 84 and 27 % for casuarina, 84 and 76 % for oyamel and 83 and 4 % for *P. oocarpa*. Another species relatively sensitive to fire in semi-arid environments, *Juniperus deppeana* Steud. also showed higher probability of mortality at smaller diameters (Rodríguez-Trejo and Pausas, 2019). In general, trees with larger diameters tend to have thicker bark that protects them by insulating the vascular cambium from the heat of fire (Scott *et al.*, 2014). The probability of mortality for oyamel trees with large diameters, 30 cm, markedly exceeded that of casuarina, while that of pine was very low, showing adaptation to fire and that it tends to have a thicker bark (mean of 11.5 mm for this pine, according to Rodríguez Trejo *et al.* (2019), compared to 5 mm for casuarina). Again, a greater sensitivity to fire is observed for the latter, compared to pine.

Mortality probability with respect to bark thickness (GC, cm):

$$Pm = \frac{1}{1 + e^{-(1.0506 - 0.968GC)}} \quad (3)$$

The greater the bark thickness, the lower the probability of mortality (Figure 3C). A tree with a bark thickness of 0.5 cm is almost twice as likely to die as a tree with a bark thickness of 1.6 cm.

Bark thickness is directly related to normal diameter and the thermal insulation capacity of the bark is a function of the square of the bark thickness (Peterson and Ryan, 1986). Likewise, variability in bark thickness is partly explained by variability in fire regimes, as frequent surface fires select trees towards thick bark (Pausas, 2017). Hence the clear tendency in casuarina to reduce the probability of mortality with greater bark thickness. For example, with 2 mm, the probability of mortality reaches 70 %, but is reduced to 47 % with 12 mm. On the other hand, Madrigal *et al.* (2019) found that the critical bark thickness for *Pinus pinea* L., under which the heat flow rate allows reaching lethal cambium temperatures quickly, is 20 mm. It should be noted that other bark properties also influence its insulation capacity, such as its moisture content, surface structure, and density; however, the property that most influences insulation, is bark thickness, as Wei *et al.* (2019) found for *Quercus mongolica* Fisch. ex. Turcz.

Probability of mortality with respect to the height of the burn scar above the trunk (ACT):

$$P_m = \frac{1}{1 + e^{-(0.6217+0.4264ACT)}} \quad (4)$$

In this case, the trend indicates that the higher the scar height, the higher the probability of tree mortality (Figure 3D). In the relatively fire-sensitive species *Juniperus deppeana*, the same trend was observed (Rodríguez-Trejo and Pausas, 2019).

Mortality probability as a function of total height and burn scar height above the trunk:

$$P_m = \frac{1}{1 + e^{-(2.0022-0.4283A+0.9612ACT)}} \quad (5)$$

Two years after the fire, the probability of mortality of the studied species increases as the height of the scar left by the fire on the trunk increases. Likewise, this tendency is more pronounced as the height of the tree decreases; for trees 5 m tall, the probability of mortality increases significantly even for low values of trunk scar height; for trees 10 m tall, the ratio is almost linear, while for trees 15 m tall, the probability of mortality is low with small values of trunk scar, but it increases strongly from 3.5 m of trunk scar height onwards (Figure 4A).

Mortality probability as a function of bark thickness and height of burn scar on the trunk:

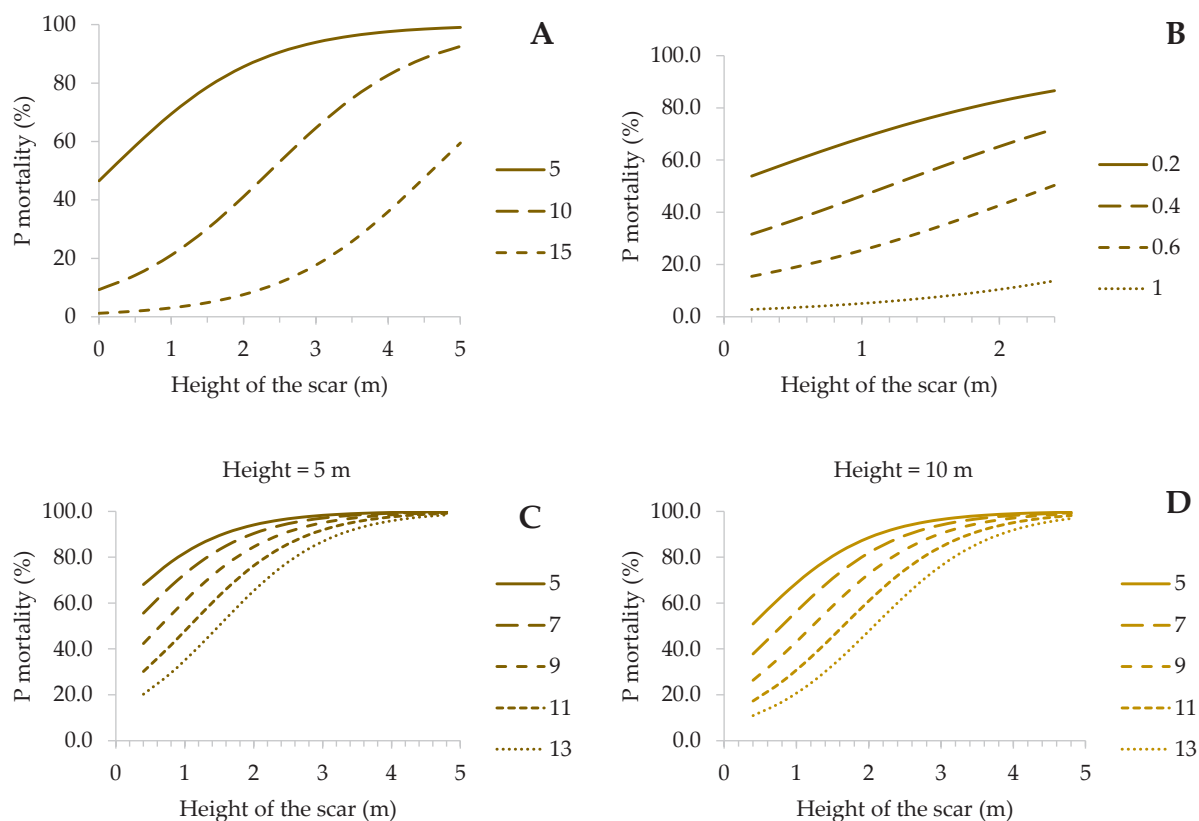


Figure 4. Mortality probability for *C. equisetifolia* with respect to interactions between A) total height and the height of the burn scar on the trunk; B) bark thickness and height of the burn scar on the trunk; C) total height, height of the burn scar on the trunk and normal diameter.

$$P_m = \frac{1}{1 + e^{-(0.924 \cdot 4.6246GC + 0.7766ACT)}} \quad (6)$$

The thinner the bark and the higher the height of the scar, the higher the probability of mortality. Thin bark thicknesses (e.g., 0.2 cm) exhibit high mortality probabilities (as much as 50 %) even with trunk scar heights of only 0.1 m, while thick bark, 1 cm, slightly exceeds 10 % mortality probability even with trunk scar heights of 2.5 m (Figure 4B).

Probability of mortality from total height, normal diameter and height of burn scar on the trunk:

$$P_m = \frac{1}{1 + e^{-(2.3139 \cdot 0.1446A - 0.2665DN + 1.2533ACT)}} \quad (7)$$

The probability of mortality increases as the height of the scar increases over the trunk; similarly, it increases as the diameter is reduced. Such increases in the first variable

are higher in smaller trees (e.g., 5 m tall), with respect to taller trees, 10 m tall, as an example (Figure 4C, left and right plots, respectively).

The fire scar on the trunk is directly related to the flame length of the surface fire, i.e. the intensity of the fire (energy release) and the more intense it is, the greater the severity and mortality (Scott *et al.*, 2014). Based on the average trunk scar height of the burned casuarina plantation, 3.5 m, which denotes a high fire intensity, with flame lengths of at least this dimension (because the wind tends the flame and this is longer than the burn scar remaining on the trunk of the trees), the probability of mortality for this average trunk scar height reaches 70%, very similar to the average mortality (63%) found in this research.

Probability of resprouting

Of the 442 trees sampled, only 12 % showed resprout of some kind (55 trees); of these, 49 % showed basal resprout, 27 % crown resprout and 24 % epicormic resprout. The probability of resprout, two years after the fire, was calculated in general, including the three types of resprout. Significances of the intercept, variables, confidence intervals for each variable, concordance and goodness-of-fit test of the significant models for the present study are provided (Table 2). The following three models were significant.

Table 2. Significance, confidence interval, concordance and goodness-of-fit test for resprouting probability models.

Model	Variables	<i>p</i> intercept	<i>p</i> variable	IC (95%)	C (%)	<i>p</i> BA
8	DN	0.0353	< 0.0001	0.850 - 0.942	65.7	> 0.05
9	GC	0.0103	0.0019	0.027 - 0.442	57.4	> 0.05
10	ACT	< 0.0001	0.0026	0.706 - 0.0929	69.7	> 0.05

IC: confidence interval; C: concordance; BA: goodness-of-fit test; DN: normal diameter; GC: bark thickness; ACT: height of the burn scar over the trunk.

Resprouting probability (Pr) as a function of normal diameter:

$$\text{Pr} = \frac{1}{1 + e^{-(0.6483 - 0.1112\text{DN})}} \quad (8)$$

The probability of resprouting is greater in juveniles than in adults, since the probability of resprouting is reduced as the diameter increases (Figure 5A).

Although there was resprouting in casuarina and it was possible to model it, it is not an intense resprouting, as it occurs in fire-tolerant species. An example of the latter is *Quercus crassifolia*, for which based on the logistic model of Juárez-Bravo *et al.* (2012), for the referred oak, a year and a half after a high intensity and severity, mixed fire, the

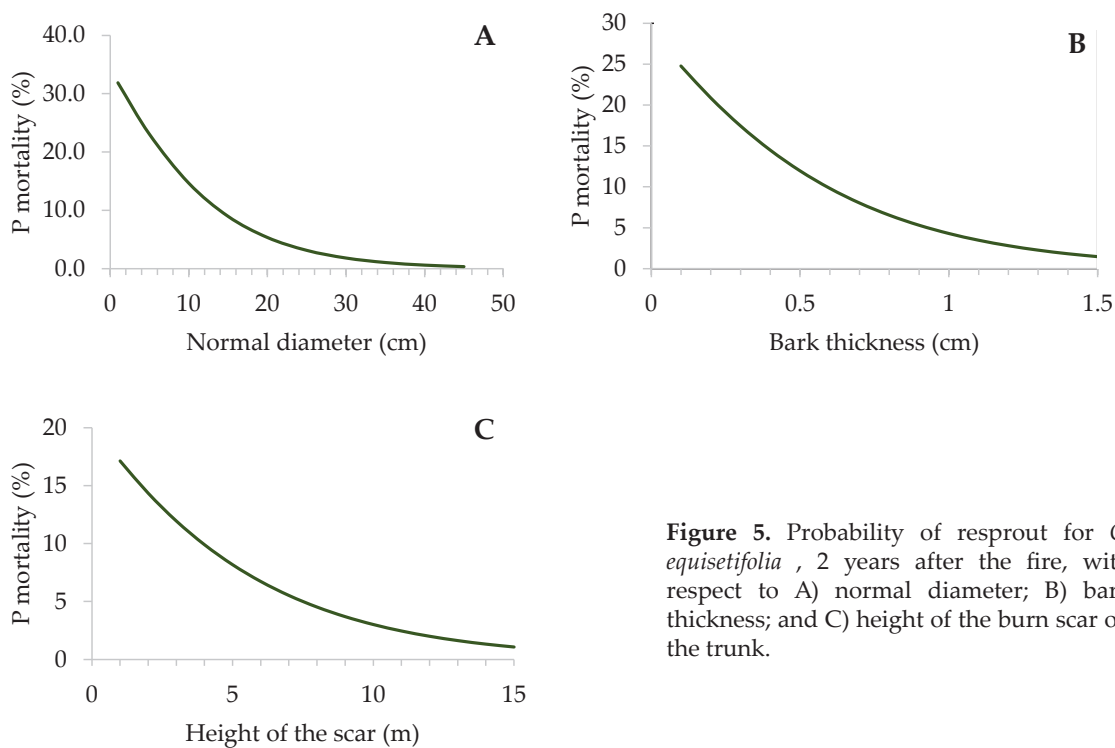


Figure 5. Probability of resprout for *C. equisetifolia*, 2 years after the fire, with respect to A) normal diameter; B) bark thickness; and C) height of the burn scar on the trunk.

probability of resprouting is high, for example 92 % for normal diameters of 13.4 cm and a lethal crown height of 4.5 m; while for casuarina, considering both a similar fire intensity and the same diameter, the probability of resprouting is only 8 %. In the same study area of the present work, Herrera-Ramos *et al.* (2022) report that after a severe fire in plantations of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh, 100 % of the eucalyptus trees showed resprouting, which shows one of the reasons why eucalyptus is considered fire-adapted (Gibson and Hislop, 2021).

Probability of resprouting as a function of bark thickness:

$$Pr = \frac{1}{1 + e^{-(0.8894-2.2148GC)}} \quad (9)$$

The greater the bark thickness, the lower the probability of resprouting (Figure 5B).

Probability of resprout as a function of the height of the burn scar above the trunk:

$$Pr = \frac{1}{1 + e^{-(1.3655-0.2107ACT)}} \quad (10)$$

The results of the present study show that the higher the height of the scar above the trunk, the lower the probability of resprouting (Figure 5C). It has been said that as the

crown of a fire tolerant species is more affected, it tends to resprout better (as long as it is not dead, obviously), because together with part of the crown, more auxins are eliminated, which, present in the buds, inhibit resprouting. Without this physiological limitation, and as there are buds that survive protected by their scales and bark, resprouting occurs. However, in the species studied this response is infrequent, of low probability and not numerous in the trees that show it. On the other hand, the greater resprouting in smaller and younger individuals denotes the greater vigor for vegetative propagation that Davies *et al.* (2017) refer to for young plants and branches. Most of the resprouts were basal (49 %) and were found mainly at the base of trees with dead trunks. Whether resprouting from the base or from buds on the trunk, they are key to tree recovery and ecosystem function. This type of resprouting is considered to be an adaptation to fire in forest ecosystems with high fire frequency, high intensity and on sites with relatively high productivity. These types of species are more resilient to crown fires (Pausas and Keeley, 2017).

However, *C. equisetifolia*, unlike other species that are clearly adapted to fire, although they share the tendency of greater resprouting when young, the higher levels of damage to the trunk or crown promote greater resprouting and, in addition, the proportion of individuals that resprout is much higher. The latter is the case of *Arbutus xalapensis* (89 % of individuals with post-fire resprouting) and *Quercus* spp. (76 %) in the Sierra Norte de Puebla (Gómez-Mendoza and Rodríguez-Trejo, 2021). According to the quantitative results of the present research, *Casuarina equisetifolia*, with thin bark and poor resprouting capacity, is a species that tends to be sensitive to fire, as Snyder (1992) had qualitatively classified it.

In the United States, the mortality of *Casuarina* in plantations has been evaluated. Snyder (1992) reports that in Florida, a forest fire in May killed 60 to 70 % of a *Casuarina* spp. plantation and notes that, through prescribed burning, 90 (almost without resprouting) to 100 % of the *C. equisetifolia* trees (with normal diameters of 13 to 20 cm) are killed. In the present study, mortality was 63%, similar to that of the first study, although lower than that of the second investigation.

While in Australia, within the genus *Casuarina*, there are species that benefit from fire (fire-adapted), there are also those that benefit from fire protection (fire-sensitive) (Bowman, 1998). However, adaptation to fire in several of the former is rather moderate, as is apparently the case of *C. equisetifolia*.

There is paleoecological evidence on how a moderate presence of fire can favor communities with species of the genus *Casuarina*, but when fires become more frequent, the community changes in favor of *Eucalyptus* species, which are more tolerant to fire. On Kangaroo Island, Australia, during the Holocene, there was little fire activity, as shown by evidence of few charcoal accumulations on the ground, which favored the presence of relatively fire-sensitive *C. stricta* Miq. forests. But about 5000 years ago precipitation decreased, fire frequency increased, and such forests were replaced by *Eucalyptus* forests (Kershaw *et al.*, 2002). There is also current evidence of a phenomenon similar to the above. Lunt (1998) notes that Australian forests unburned

for many years, with *E. ovata* Labill., *E. viminalis* Labill. and *E. leucoxydon* F.Muell. were replaced by low forests or thickets of *C. littoralis* Salisb.

CONCLUSIONS

As a result of the high intensity and severity of the fire, mortality was high, 63%, in the casuarina plantations. The probability of mortality was inversely related to tree height, normal diameter and bark thickness, as individual dasometric variables or in different interactions between them, and directly related to the severity variable height of the fire scar on the trunk. In particular, the relevance of bark thickness as a means of thermal insulation to the vascular cambium is corroborated, since the species studied does not have a particularly thick bark. Resprouting was scarce (12 %) and the greatest potential for resprouting was evidenced in young individuals, since the probability of resprouting was inversely related to the variables normal diameter, bark thickness and height of the scar on the trunk. Although it was observed that the species shows some fire resistance (in larger individuals, with low fire severity), as well as some fire tolerance (minimal resprouting), it is rather a fire-sensitive species.

The high mortality in these plantations generated a large accumulation of forest fuels that need to be removed and managed (removed as firewood or logs, accommodated, dispersed, even eliminated by prescribed burning in areas of total mortality) in the affected areas, which for that reason currently have a greater danger of forest fire. Likewise, the areas affected by the fire at lower intensity and severity show that fire management in plantations with adult trees of the species studied should not only focus on fire prevention, but should also use fire (through prescribed burns) infrequently and at low intensity and severity, in order to reduce fire danger. The mortality probability models obtained have a potential utility to help determine a priori, based on the obtained dasonomic and fire severity variables, the areas that will present high mortality and therefore should be reforested or restored (including the removal or settlement of dead materials). It is also possible to determine which areas will have low mortality and which should not be reforested. This can be estimated almost immediately after the fire, using the models of this study.

ACKNOWLEDGMENTS

To the Universidad Autónoma Chapingo for the facilities and support provided for the study.

REFERENCES

- Bowman DMJS. 1998. The impact of aboriginal landscape burning on the Australian biota. *New Phytologist* 140: 385–410.
- Cansler CA, Hood SM, van Mantgem PJ, Varner JM. 2020. A large database supports the use of simple models of post-fire tree mortality for thick-barked conifers, with less support for other species. *Fire Ecology* 16: 1–37. <https://doi.org/10.1186/s42408-020-00082-0>
- Davies F, Geneve R, Wilson S, Hartmann H, Kester D. 2017. 9th ed. Hartmann & Kester Plant Propagation: Principles and Practices. Pearson: USA. 1024 p.
- Gibson RK, Hislop S. 2021. Signs of resilience in resprouting *Eucalyptus* forests, but areas of concern: 1 year of post-fire recovery from Australia's Black Summer of 2019-2020. *International Journal of Wildland Fire* 32 (5): 545–557. <https://doi.org/10.1071/WF21089>

- Gómez-Mendoza F, Rodríguez-Trejo DA. 2021. Fuego, mortalidad y rebrotación en especies forestales de la Sierra Norte de Puebla. *Madera y Bosques* 27 (3): 1–15. e2732148. <https://doi.org/10.21829/myb.2021.2732148>
- Herrera-Ramos C, Rafael-de Jesús A, Rodríguez-Trejo DA, Corona-Ambriz A, Bonilla-Beas R. 2022. Indicadores de rehabilitación ecológica para una reforestación de eucalipto con un bosque de encino como referencia. *Agrociencia* 56 (3): 547–578. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i3.2803>
- Hosmer Jr. DW, Lemeshow S, Sturdivant RW. 2013. *Applied Logistic Regression*. 3rd. ed. Wiley: New York. 528 p.
- Juárez-Bravo JE, Rodríguez-Trejo DA, Myers RL. 2012. Fire tolerance of three tree species in pine–oak forests of Chignahuapan, Puebla, Mexico. *International Journal of Wildland Fire* 21 (7): 873–881. <http://dx.doi.org/10.1071/WF11134>
- Kershaw AP, Clark JS, Gill AM, D’Costa DM. 2002. A history of fire in Australia. *In* *Flammable Australia. The Fire Regimes and Biodiversity of a Continent*; Bradstock RA, Williams JE, Gill AM (eds.). Cambridge University Press: Cambridge, UK., pp. 3–25.
- Lunt ID. 1998. Two hundred years of land use and vegetation change in a remnant coastal Woodland in southern Australia. *Australian Journal of Botany* 46: 629–647.
- Madrigal J, Souto-García J, Calama R, Guijarro M, Picos J, Hernando C. 2019. Resistance of *Pinus pinea* L. bark to fire. *International Journal of Wildland Fire* 28 (5): 342–353. <https://doi.org/10.1071/WF18118>
- Pausas JG. 2017. Bark thickness and fire regime: another twist. *New Phytologist* 213: 13–15. www.newphytologist.com
- Pausas JG, Keeley JE. 2017. Epicormic resprouting in fire-prone ecosystems. *Trends in Plant Science* 22 (12): 1008–1015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2017.08.010>
- Pennington TD, Sarukhán Kermez J. 2005. *Árboles Tropicales de México*. UNAM, FCE: México. 523 p.
- Peterson DL, Ryan KC. 1986. Modeling postfire conifer mortality for long-range planning. *Environmental Management* 10: 797–808.
- Probosque (Protectora de Bosques). 2017. *El Incendio Coatlinchán, Edo. Méx. Probosque (Informe inédito)*.
- Rodríguez-Cubillo D, Pilon NAL, Durigan G. 2021. Tree height is more important than bark thickness, leaf habit or habitat preference to survive fire in the Cerrado of south-east Brazil. *International Journal of Wildland Fire* 30 (11): 899–910. <https://doi.org/10.1071/WF21091>
- Rodríguez-Trejo DA, Pausas JG. 2019. Plant responses to fire in a Mexican arid shrubland. *Fire Ecology* 15 (11): 1–9. <https://doi.org/10.1186/s42408-019-0029-9>
- Rodríguez-Trejo DA, Martínez-Muñoz P, Martínez-Lara PJ. 2019. Efectos del fuego en el arbolado de un bosque tropical de pino y en el de una selva baja caducifolia en Villaflores, Chiapas. *Ciencia Florestal* 29 (3): 1–15. <https://doi.org/10.5902/1980509833952>
- Rojas-Sandoval J, Acevedo-Rodríguez P. 2021. *Casuarina equisetifolia*. *Forestry Compendium*. CABI: Wallingford, UK.
- Romahn-de la Vega CF, Ramírez-Maldonado H. 2010. *Dendrometría*. División de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma Chapingo: Chapingo, Estado de México, México. 294 p.
- Scott AC, Bowman DMJS, Bond WJ, Pyne SJ, Alexander ME. 2014. *Fire on Earth: An Introduction*. Wiley Blackwell: Chichester, UK. 413 p.
- Snyder SA. 1992. *Casuarina* spp. *Fire Effects Information System*. U. S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station, Fire Sciences Laboratory, U. S. A. <https://www.fs.fed.us/database/feis/plants/tree/casspp/all.html> (Recuperado: junio 2022).
- Temiño-Villota S, Rodríguez-Trejo DA, Molina-Terrén D, Ryan KC. 2016. Modelling initial mortality of *Abies religiosa* in a crown fire in Mexico. *Forest Systems* 25 (1): 1–12. <https://doi.org/10.5424/fs/2016251-06887>
- Torres-Rojo, J. M., Magaña-Torres, O. S. 2001. *Evaluación de Plantaciones Forestales*. Limusa, CIDE: México. 449 p.
- Wei R, Yang G, Zhang J, Wang X, Zhou X. 2019. The thermal insulation properties of oak (*Quercus mongolica*) bark and the applicability of steam heating models. *International Journal of Wildland Fire* 28 (12): 969–980. <https://doi.org/10.1071/WF18232>

Zaldívar-Cruz B, Pérez-Ceballos R, Zaldívar-Jiménez A, Canales-Delgadillo J, Endañu-Huerta E, Flores AB, Tun-Garrido J. 2022. Structural and diversity changes in coastal dunes from the Mexican Caribbean: The case of invasive Australian pine (*Casuarina equisetifolia*). *Management of Biological Invasions* 13 (1): 131–146. <https://doi.org/10.3391/mbi.2022.13.1.08>

PROBABILIDAD DE MORTALIDAD EN CASUARINA DOS AÑOS DESPUÉS DEL INCENDIO AL PIE DEL TLÁLOC, ESTADO DE MÉXICO, 2017

María Magdalena Hernández-Rosas¹, Ana Laura Hernández-Leyva¹, Dante Arturo Rodríguez-Trejo^{1*}

¹ Universidad Autónoma Chapingo. División de Ciencias Forestales. Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Texcoco, State of Mexico, Mexico. C. P. 56264.

* Autor para correspondencia: dantearturo@yahoo.com

RESUMEN

Hacia 2017 al pie del volcán Tláloc, ocurrió el mayor incendio forestal de tal año en el Estado de México (2500 ha), con fases superficial y de copa, sobre plantaciones de diversas especies y varios tipos de vegetación. Los estudios sobre efectos de los incendios en árboles sirven para definir mortalidad y si se requerirá realizar restauración o no en un área afectada. La hipótesis fue: a mayor intensidad y severidad del fuego y menores dimensiones del arbolado, mayor su probabilidad de mortalidad. El objetivo del estudio fue establecer las variables de severidad del fuego y dasométricas que influyen en las probabilidades de mortalidad y de rebrotación en plantaciones de *Casuarina equisetifolia* L., afectadas por incendio. El estudio se realizó en la Estación Forestal Experimental "Las Cruces" (Universidad Autónoma Chapingo, Estado de México). En 2019 se muestrearon 442 árboles (15 sitios de 100 m²) en 50 ha de plantaciones afectadas por dicho incendio. Se registró si los árboles estaban vivos o muertos, diámetro normal, grosor de corteza, altura, altura a la base de la copa original, altura de la cicatriz del fuego sobre el tronco, altura de chamuscado de copa y presencia de rebrotación. El análisis estadístico consistió en regresiones logísticas, con el procedimiento Proc Logistic del programa SAS. La mortalidad promedio del arbolado fue 63 %. La variable que se relacionó directamente ($p \leq 0.05$) con la probabilidad de mortalidad fue la altura de la cicatriz sobre el tronco. Las variables dasométricas relacionadas inversamente ($p \leq 0.05$) con dicha probabilidad de mortalidad, fueron: la altura, el diámetro normal y el grosor de corteza. Para probabilidad de rebrotación, hubo relación inversa ($p \leq 0.05$) con diámetro normal, grosor de corteza y altura de cicatriz sobre el tronco. Se concluye que la casuarina es una especie sensible al fuego.

Palabras clave: *Casuarina equisetifolia* L., efectos del fuego, fuego, mortalidad, regresión logística, severidad del fuego.

INTRODUCCIÓN

En abril de 2017 ocurrió un incendio forestal a las faldas del volcán Tláloc, Estado de México, el cual fue el más extenso del año (2500 ha) en la entidad federativa (Probosque, 2017). El incendio duró una semana y fue complejo pues afectó plantaciones forestales de casuarina (*Casuarina equisetifolia* L.), cedro blanco (*Callitropsis lusitanica* (Mill.) D.P.Little), eucalipto (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.), pino (*Pinus pseudostrobus* Lindl) y otros, además de varios tipos de vegetación natural, como matorral de

Citation: Hernández-Rosas MM, Hernández-Leyva AL, Rodríguez-Trejo DA. 2023. Probabilidad de mortalidad en casuarina dos años después del incendio al pie del Tláloc, Estado de México, 2017. *Agrociencia* 57(1): 102-131. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v57i1.2814>

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: July 28, 2022.
Approved: January 22, 2023.
Published in *Agrociencia*:

February 27, 2023.

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



encino chaparro (*Quercus frutex* Trel.), bosque de encino (con especies como *Quercus deserticola* Trel., *Q. laeta* Liebm., *Q. crassipes* Bonpl., *Q. rugosa* Née, *Q. laurina* Bonpl. y *Q. castanea* Née), bosque de pino (con especies como *P. leiophylla* Schltl. & Cham., por ejemplo) bosque de oyamel (*Abies religiosa* (Kunth) Mirb.) y pastizal, entre otros. Por lo anterior, los modelos de combustibles forestales fueron muy diversos, incluyeron: pastizal, sotobosque, matorral y hojarasca. Asimismo, la topografía fue muy variada, con pendientes de planas a mayores de 100 %, sobre exposiciones norte, sur, este u oeste y con abundancia de cañadas. Respecto a tiempo atmosférico, los vientos cambiaban con frecuencia de dirección y en ocasiones soplaban a más de 30 km h⁻¹; de día, la temperatura superó 30 °C, la humedad relativa estaba en torno a 20 % (observaciones registradas con estuche meteorológico portátil) y la humedad de combustibles finos alcanzó 3 %. El incendio tuvo fases superficial, pero también aérea en varias zonas (plantaciones de cedro blanco, casuarina, eucalipto y pino; vegetación natural de encinar, oyametal y matorral de encino chaparro). Se hicieron algunas observaciones de comportamiento del fuego superficial, registrándose longitudes de llama > 4 m y velocidades de propagación > 40 m min⁻¹. Asimismo, en fuegos de copa se registraron longitudes de llama de hasta 15 m (Figura 1) (observaciones personales del tercer autor).



Figura 1. A) Panorámica del incendio de 2017 al pie del Tláloc; B) Fase superficial intensa de incendio en el área; C) Vista de un incendio de copas en plantaciones de cedro blanco. Fotos: Dante A. Rodríguez T.

La Estación Forestal Experimental Mario Ávila (“Las Cruces”), de la Universidad Autónoma Chapingo, sintetiza todo lo expresado anteriormente, pues se encuentra dentro del área afectada por el fuego y contiene la mayor parte de las especies plantadas y tipos de vegetación referidos. *Casuarina equisetifolia* es un árbol originario de Australia y de Papúa, introducido en México en el primer cuarto del siglo pasado, para la fijación de dunas en Veracruz, con éxito (Pennington y Sarukhán, 2005), como lo ha tenido también en diversos países pues fija nitrógeno y cuenta con importancia social, económica y ambiental (Rojas-Sandoval y Acevedo-Rodríguez, 2021), aunque en la actualidad se considera invasora, por ejemplo, en el Área Natural Protegida de Cozumel, donde reduce composición y altera estructura en la vegetación nativa (Zaldívar-Cruz *et al.*, 2022). La especie puede desarrollarse en una amplia gama de condiciones ecológicas y por ello se la ha plantado en todo México, principalmente en programas de reforestación y fijación de dunas en la costa del Golfo; también se le utiliza para formar cortinas rompeviento y como planta de ornato. Es un árbol monopódico de hasta 18 m de altura y 65 cm de diámetro; corteza externa fisurada, pardo oscura, con un grosor de 10 a 13 mm; las ramillas que soportan las hojas (escamosas, triangulares) son verdes, las ramillas de crecimiento, pardas; especie dioica, a veces monoica, flores masculinas en verticilos, las femeninas en espigas densas; frutos samaroides, agrupados en un cono ovoide que abre como cápsula (Pennington y Sarukhán, 2005). Respecto a la ecología del fuego de la especie, se ha observado que individuos > 8 cm de diámetro normal sucumben al fuego, y que los individuos menores a tal diámetro sobreviven y rebrotan de la base, a partir de la corona de la raíz. Se considera que en sitios afectados por el fuego, o fuera de ellos, la casuarina se puede regenerar por semilla uno o dos años luego del incendio; tal semilla es transportada por el viento, animales o por corrientes de agua (Snyder, 1992). Es necesario estudiar la ecología del fuego y los efectos de incendios en las plantaciones nacionales, con especies como la casuarina. Hasta donde se pudo investigar, este tópico no se ha abordado en el país con la especie de interés a pesar de la extensión de esta exótica con frecuencia afectada por el fuego. De hecho, a nivel mundial las coníferas han sido más estudiadas en este sentido que las especies de latifoliadas (Cansler *et al.*, 2020), como *Casuarina*. Se planteó la hipótesis de que la probabilidad de mortalidad en los árboles está inversamente relacionada con las dimensiones (diámetro y altura) y positivamente con el nivel de severidad del fuego (altura de la cicatriz sobre el tronco). El objetivo del estudio fue establecer las variables de severidad del fuego y dasométricas que influyen en las probabilidades de mortalidad y de rebrotación en plantaciones de *Casuarina equisetifolia*, afectadas por incendio. Las preguntas de investigación incluyen: ¿hay una relación directa o indirecta entre la probabilidad de mortalidad y las diferentes variables explicativas consideradas?, ¿hay un tamaño crítico a partir del cual incrementan mortalidad y rebrotación?

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

La Estación Forestal Experimental Las Cruces se ubica entre los paralelos 19.45 ° y 19.47 ° N y los meridianos 98.83 ° y 98.80 ° O, entre 2480 y 2640 m de altitud; cuenta con 325.75 ha, para conservación y restauración, y sus objetivos son de docencia e investigación. Las plantaciones de *C. equisetifolia* afectadas durante el incendio se establecieron con objetivos de restauración. Dentro de las cruces existen plantaciones mixtas de *Eucalyptus* y *Casuarina* con un área de 102 ha; las de esta última especie cubren unas 50 ha y se estima que la mitad de ellas fueron afectadas por el incendio mencionado. Este incendio se presentó durante el pico de la temporada de incendios 2017, en el mes de abril.

Muestreo en campo

En los meses de septiembre, octubre y noviembre de 2019 se realizó un muestreo estratificado aleatorio ubicando cualitativamente áreas con diferentes niveles de severidad (mortalidad), por fuego, de *C. equisetifolia*. Se levantaron 15 sitios de 100 m². La muestra fue de 1500 m², por lo que corresponde a una intensidad de muestreo de 0.3 %, considerada como representativa en inventarios forestales (Romahn-de la Vega y Ramírez-Maldonado, 2010). Asimismo, a partir del número de árboles por sitio de dicha muestra y aplicando la fórmula referida por Torres-Rojo y Magaña-Torres (2001), para estimación de tamaño muestral en muestreos aleatorios estratificados, considerando un valor de $E = 4$ (máxima variación deseada en número de árboles por sitio), así como dos estratos de densidad (< 30 árboles/sitio y ≥ 30 árboles/sitio), se obtuvo una muestra de 12, por lo que la del presente estudio (15) es apropiada. Se obtuvo un total de 442 árboles muestra.

De cada árbol se registró: si estaba vivo o muerto, así como variables dasométricas y de severidad del fuego. Entre las primeras: diámetro normal (cm) con una cinta diamétrica, grosor de corteza (mm) con un medidor de corteza, altura total (m) y altura a la rama más baja (m), con clinómetro o estadal, según la altura, el diámetro de copas (m) y la distancia entre árboles (m), las dos últimas con cinta métrica. De las segundas se obtuvieron: altura de chamuscado letal sobre la copa (m), altura al follaje vivo (m) y altura de cicatriz de quemado sobre el tronco (m) con un estadal, también se registró si había presencia de rebrotes, ya fuera en la base del tronco, en este o en la copa.

Como ejemplo de la variabilidad de dimensiones captadas durante el muestreo, se registraron árboles con alturas de 2 a 20 m (media = 9.1 m), diámetro normal de 2 a 30 cm (media = 13.4 cm), grosor de corteza de 0.2 a 1.2 cm (media = 0.5 cm) y altura de la cicatriz sobre el tronco de 0 a 16 m (media = 3.5 m).

Análisis estadístico

Para obtener la probabilidad de mortalidad, así como la de rebrotación mediante modelos logísticos, a partir de las variables dasométricas de los árboles y de severidad del

fuego, se utilizó el procedimiento logístico (PROC LOGISTIC) del programa SAS (v. 9.0 para microcomputadoras). El modelo tiene la siguiente expresión general (Hosmer *et al.*, 2013):

$$P_m = \frac{1}{1 + e^{-(\alpha_1 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_n X_n)}}$$

P_m = probabilidad de mortalidad, e = base de los logaritmos naturales ($= 2.7182$), α_1 = constante (intercepto), β_1, \dots, β_n = constantes asociadas a las variables independientes, X_1, \dots, X_n = variables independientes (altura de cicatriz del fuego, altura total, diámetro del árbol, etc.).

Los modelos fueron seleccionados cuando: resultaron significativos en todas sus variables explicatorias, el intervalo de confianza de cada una de ellas no contenía la unidad (lo que implicaría que la razón de momios o probabilidad de ocurrencia entre la de no ocurrencia fuese igual a la unidad), concordancia relevante, de por lo menos 40 %. Asimismo, se realizó la prueba de bondad de ajuste de Hosmer-Lemeshow (Hosmer *et al.*, 2013), con la hipótesis nula de que los datos no se ajustan a una distribución logística. Por ello, resultados no significativos ($p > 0.05$) en esta fueron adecuados para considerar que el modelo probado era robusto. Se utilizó este tipo de regresión porque la variable independiente es binomial (mortalidad o rebrotación), se obtiene inferencia sobre la relevancia y desempeño de cada variable considerada, si se trata de una relación positiva o negativa y proporciona probabilidades bien calibradas (Hosmer *et al.*, 2013).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Probabilidad de mortalidad

Se halló una mortalidad de 63 % en las casuarinas, a dos años del incendio forestal (Figura 2). Se proporcionan las significancias del intercepto, variables, intervalos de

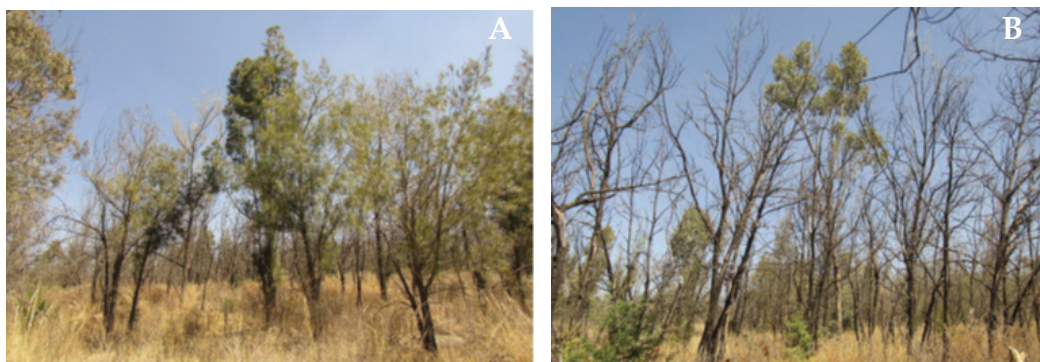


Figura 2. A) Área de severidad moderada, con supervivencia de casuarinas; B) zona de alta severidad, con mortalidad casi total de casuarinas. En esta última, nótese al fondo que los eucaliptos sobrevivieron al fuego. Fotos: M. Magdalena Hernández R. y Ana L. Leyva V.

confianza para cada variable, la concordancia y prueba de bondad de ajuste de los modelos significativos para el presente estudio (Cuadro 1). Los modelos hallados y sus tendencias, son:

Cuadro 1. Significancia, intervalo de confianza, concordancia y prueba de bondad de ajuste para los modelos de probabilidad de mortalidad.

Modelo	VARIABLES	<i>p</i> intercepto	<i>p</i> variable	IC (95%)	C (%)	<i>p</i> BA
1	A	< 0.0001	< 0.0001	0.831 – 0.924	64.0	> 0.05
2	DN	< 0.0001	< 0.0001	0.880 – 0.939	67.2	> 0.05
3	GC	< 0.0001	0.0298	0.159 – 0.910	48.0	> 0.05
4	ACT	0.0004	< 0.0001	1.354 – 1.733	71.6	> 0.05
5	A	< 0.0001	< 0.0001	0.591 – 0.719	88.5	> 0.05
	ACT		< 0.0001	2.051 – 3.334		
6	GC	0.0012	< 0.0001	0.002 – 0.039	82.6	> 0.05
	ACT		< 0.0001	1.775 – 2.663		
7	A	< 0.0001	0.0236	0.764 – 0.981	92.2	> 0.05
	DN		< 0.0001	0.705 – 0.832		
	ACT		< 0.0001	2.581 – 4.752		

IC: intervalo de confianza; C: concordancia; BA: prueba bondad de ajuste; A: altura total; DN: diámetro normal; GC: grosor de corteza; ACT: altura de la cicatriz de quemado sobre el tronco.

Probabilidad de mortalidad (Pm) con respecto a la altura (A, m):

$$P_m = \frac{1}{1 + e^{(1.7762 - 0.1321A)}} \quad (1)$$

La tendencia indica que a mayor altura hay menor probabilidad de mortalidad (Figura 3A). Es decir, que es más probable que muera un individuo de 5 m que otro de 20 m de altura.

Es claro que un árbol alto y desarrollado tendrá menor mortalidad ante incendios forestales. Esta tendencia se ha registrado en otra especie relativamente sensible al fuego en el valle de México, el oyamel, *Abies religiosa* (Kunth) Schltdl. & Cham. Seis meses después de un incendio forestal de copas en el sur de la Ciudad de México, hacia 2011, Temiño-Villota *et al.* (2016) obtuvieron modelos logísticos que arrojan probabilidades de mortalidad de 95 % y 38 % para árboles con alturas de 2 y 20 m, respectivamente. Tales probabilidades son similares a las obtenidas para la casuarina en el presente trabajo, con 82 y 30 %, respectivamente.

Como contraste, en un incendio forestal superficial en Chiapas, en masas de la especie adaptada al fuego *Pinus oocarpa* Schiede ex Schltdl., con intensidad y severidad altas (1.5 m de altura media de cicatriz de quemado sobre el tronco) y con mortalidad de 48.8 %, las probabilidades de mortalidad para árboles de 2 y 20 m, a partir de los

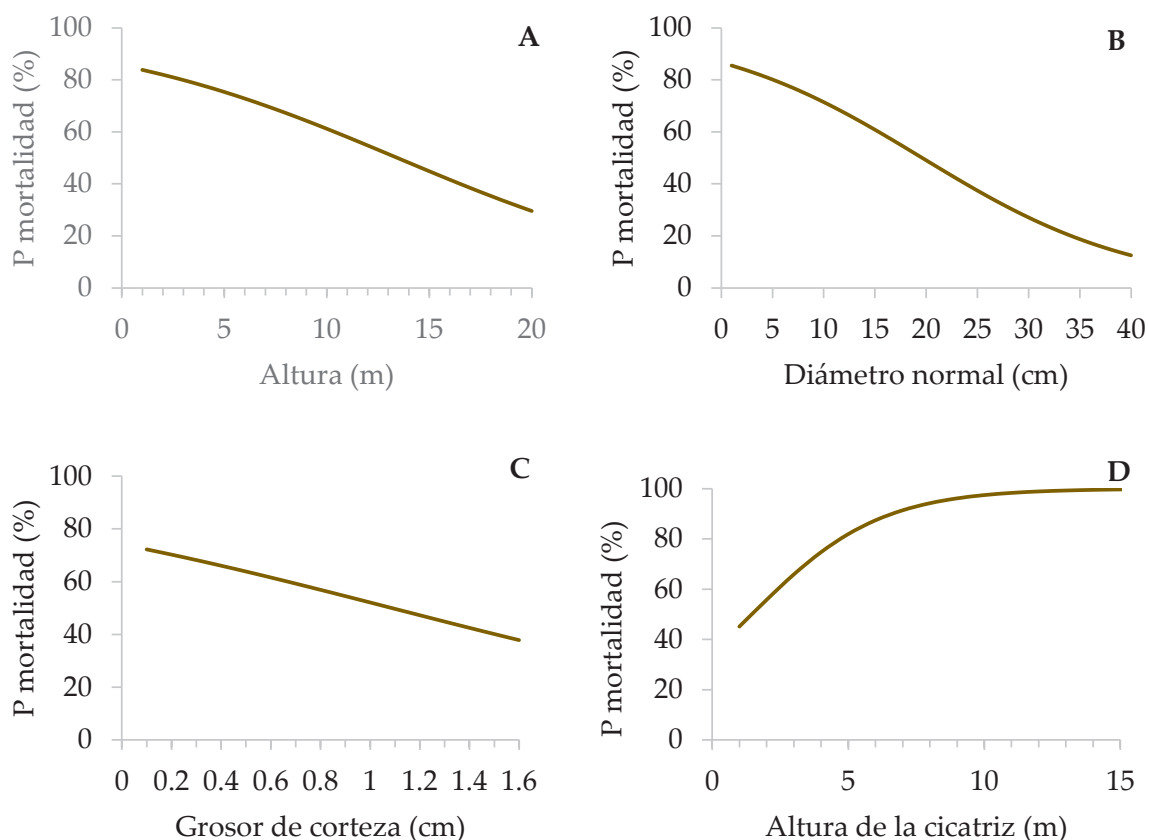


Figura 3. Efecto de variables dasométricas en la probabilidad de mortalidad de *Casuarina equisetifolia*. A) altura; B) diámetro normal; C) grosor de corteza; D) altura de la cicatriz de quemado sobre el tronco.

modelos logísticos de dicho trabajo (Rodríguez-Trejo *et al.*, 2019), fueron 80 y 7 %, denotando que en esta especie adaptada al fuego, si bien la mortalidad de juveniles es elevada también, la de arbolado adulto es marcadamente menor. En algunos casos la altura está considerada como el principal atributo que permite la supervivencia de los árboles, incluso más que el grosor de corteza, como Rodríguez-Cubillo *et al.* (2021) señalan para especies arbóreas de la sabana brasileña (cerrado).

Probabilidad de mortalidad con respecto al diámetro normal (DN, cm):

$$P_m = \frac{1}{1 + e^{-(1.8706 - 0.0954DN)}} \quad (2)$$

Igual que con la variable anterior, a mayor diámetro normal hay una menor probabilidad de mortalidad posterior a un incendio. Un individuo con un DN de 5 cm, tiene cuatro veces más probabilidad de morir que otro de 40 cm de DN (Figura 3B).

Con base en el presente trabajo y en las fuentes citadas en el párrafo anterior, la probabilidad de mortalidad para árboles con 2 y 30 cm de diámetro normal, fue: 84 y 27 % para la casuarina, 84 y 76 % para el oyamel y 83 y 4 % para *P. oocarpa*. Otra especie relativamente sensible al fuego en ambientes semiáridos, *Juniperus deppeana* Steud., también mostró mayor probabilidad de mortalidad a menores diámetros (Rodríguez-Trejo y Pausas, 2019). En general, los árboles con mayor diámetro tienden a contar con una corteza más gruesa que les protege aislando al cambium vascular del calor del fuego (Scott *et al.*, 2014). La probabilidad de mortalidad para oyameles con grandes diámetros, de 30 cm, superó marcadamente a la de la casuarina, en tanto que la del pino fue muy baja, mostrando la adaptación al fuego y que tiende a contar con una corteza más gruesa (media de 11.5 mm para este pino, de acuerdo con Rodríguez-Trejo *et al.* (2019), en comparación con 5 mm para la casuarina). De nueva cuenta se aprecia una mayor sensibilidad al fuego para esta última, en comparación con el pino. Probabilidad de mortalidad con respecto al grosor de corteza (GC, cm):

$$P_m = \frac{1}{1 + e^{-(1.0506 - 0.968GC)}} \quad (3)$$

A mayor grosor de corteza hay una menor probabilidad de mortalidad (Figura 3C). Un árbol con grosor de corteza de 0.5 cm, tiene casi el doble de probabilidad de morir que otro con 1.6 cm en tal variable.

El grosor de corteza está directamente relacionado con el diámetro y la capacidad de aislamiento térmico de la corteza, es función del cuadrado del grosor de esta (Peterson y Ryan, 1986). Asimismo, la variabilidad en grosor de corteza se explica en parte por la variabilidad en regímenes de fuego, pues incendios superficiales frecuentes seleccionan los árboles hacia corteza gruesa (Pausas, 2017). De ahí tan clara la tendencia en la casuarina, de reducción de la probabilidad de mortalidad a mayores grosores de corteza. Por ejemplo, con 2 mm, la probabilidad de mortalidad alcanza 70 %, pero se reduce a 47 % con 12 mm. Por otra parte, Madrigal *et al.* (2019) hallaron que el grosor de corteza crítico para *Pinus pinea* L., bajo el cual la tasa de flujo de calor permite alcanzar temperaturas letales en el cambium con rapidez, es de 20 mm. Cabe destacar que otras propiedades de la corteza también influyen en su capacidad de aislamiento, como su contenido de humedad, su estructura superficial y su densidad; sin embargo, la propiedad que más influye en el aislamiento, es el grosor de la corteza, como Wei *et al.* (2019) hallaron para *Quercus mongolica* Fisch. ex. Turcz.

Probabilidad de mortalidad con respecto a la altura de la cicatriz de quemado sobre el tronco (ACT):

$$P_m = \frac{1}{1 + e^{-(0.6217 + 0.4264ACT)}} \quad (4)$$

En este caso, la tendencia indica que a mayor altura de cicatriz es más alta la probabilidad de mortalidad del árbol (Figura 3D). En la especie relativamente sensible al fuego *Juniperus deppeana*, se observó la misma tendencia (Rodríguez-Trejo y Pausas, 2019).

Probabilidad de mortalidad como función de la altura total y de la altura de la cicatriz de quemado sobre el tronco:

$$P_m = \frac{1}{1 + e^{-(2.0022-0.4283A+0.9612ACT)}} \quad (5)$$

A dos años del incendio, la probabilidad de mortalidad de la especie estudiada incrementa al aumentar la altura de la cicatriz que el fuego dejó sobre el tronco. Asimismo, dicha tendencia es más pronunciada conforme el árbol tiene menor altura; para árboles con 5 m de altura la probabilidad de mortalidad incrementa marcadamente incluso para valores bajos de altura de cicatriz sobre el tronco; para árboles con 10 m de altura la relación es casi lineal, en tanto que para árboles con 15 m de altura, la probabilidad de mortalidad es baja con valores pequeños de cicatriz sobre el tronco, pero a partir de 3.5 m de altura de dicha cicatriz, incrementa fuertemente (Figura 4A).

Probabilidad de mortalidad en función del grosor de corteza y de la altura de la cicatriz de quemado sobre el tronco:

$$P_m = \frac{1}{1 + e^{-(0.924-4.6246GC+0.7766ACT)}} \quad (6)$$

A menor grosor de corteza y a mayor altura de la cicatriz, la probabilidad de mortalidad es más alta. Grosos de corteza delgados (por ejemplo, 0.2 cm) exhiben altas probabilidades de mortalidad (parte del 50 %) incluso con alturas de cicatriz sobre el tronco de solo 0.1 m, en tanto que cortezas gruesas, de 1 cm, superan ligeramente 10 % de probabilidad de mortalidad inclusive con alturas de cicatriz sobre el tronco de 2.5 m (Figura 4B).

Probabilidad de mortalidad a partir de la altura total, el diámetro normal y altura de la cicatriz de quemado sobre el tronco:

$$P_m = \frac{1}{1 + e^{-(2.3139-0.1446A-0.2665DN+1.2533ACT)}} \quad (7)$$

La probabilidad de mortalidad aumenta al incrementar la altura de la cicatriz sobre el tronco; de la misma forma, incrementa al reducirse el diámetro. Tales aumentos en la primera variable son más altos en árboles pequeños (por ejemplo, de 5 m de altura), con respecto a los más altos, de 10 m, como ejemplo (Figura 4C, gráficas izquierda y derecha, respectivamente).

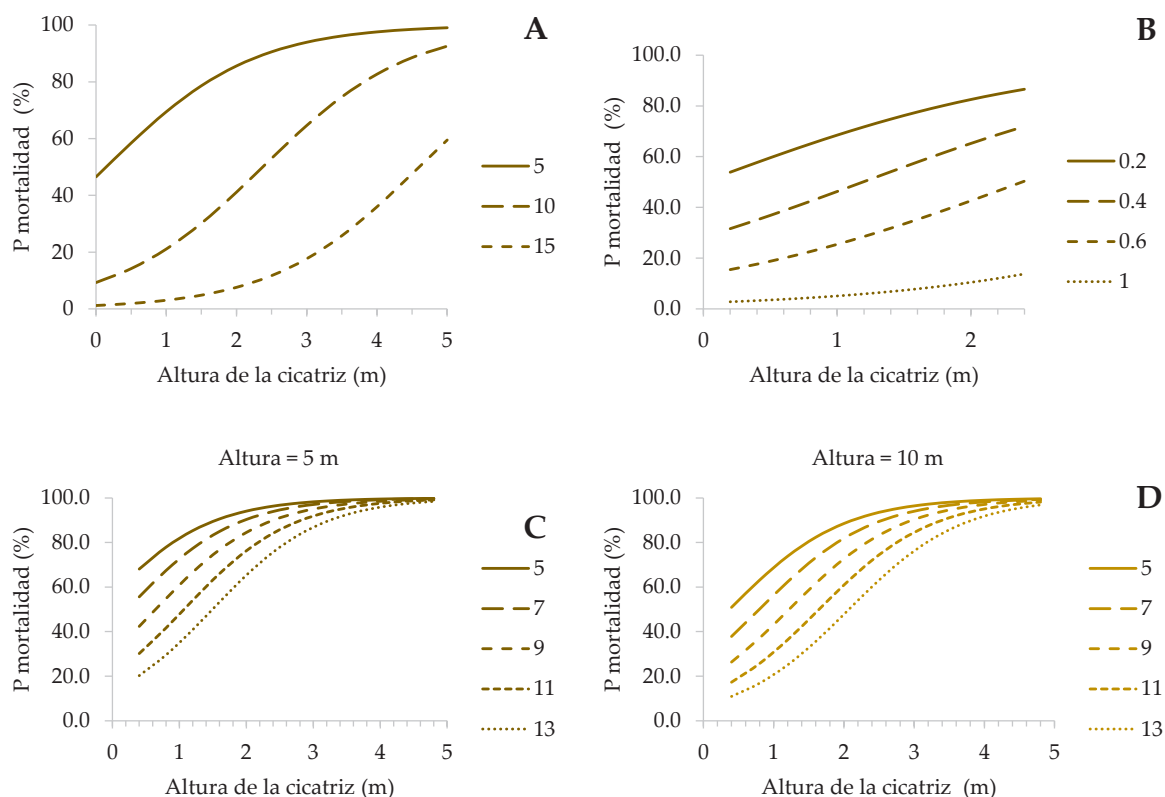


Figura 4. Probabilidad de mortalidad para *C. equisetifolia* con respecto a las interacciones entre A) altura total y la altura de la cicatriz de quemado sobre el tronco; B) grosor de corteza y altura de la cicatriz de quemado sobre el tronco; C) altura total, altura de la cicatriz sobre el tronco y diámetro normal.

La cicatriz del fuego sobre el tronco, guarda relación directa con la longitud de llamas del incendio superficial, es decir con la intensidad del fuego (liberación de energía) y mientras más intenso, normalmente originará mayor severidad y mortalidad (Scott *et al.*, 2014). Partiendo de la altura de cicatriz sobre el tronco promedio en la plantación de casuarina incendiada, 3.5 m, que denota una alta intensidad del fuego, con longitudes de llama de por lo menos tal dimensión (pues el viento tiende a la llama y esta es más larga que la cicatriz de quemado que queda sobre el tronco de los árboles), la probabilidad de mortalidad para dicha altura media de cicatriz sobre el tronco alcanza 70 %, muy semejante a la mortalidad promedio (63 %) hallada en esta investigación.

Probabilidad de rebrotación

De los 442 árboles muestreados, solo 12 % presentaron rebrotes de algún tipo (55 árboles); de los anteriores, 49 % mostraron rebrotes basales, 27 % rebrotes de copa y 24 % rebrotes epicórmicos. La probabilidad de rebrotación, dos años después del incendio, se calculó en general, incluyendo los tres tipos de rebrote. Se dan las significancias

del intercepto, variables, intervalos de confianza para cada variable, la concordancia y prueba de bondad de ajuste de los modelos significativos para el presente estudio (Cuadro 2). Resultaron significativos los tres modelos siguientes.

Cuadro 2. Significancia, intervalo de confianza, concordancia y prueba de bondad de ajuste para los modelos de probabilidad de rebrotación.

Modelo	VARIABLES	<i>p</i> intercepto	<i>p</i> variable	IC (95%)	C (%)	<i>p</i> BA
8	DN	0.0353	< 0.0001	0.850 - 0.942	65.7	> 0.05
9	GC	0.0103	0.0019	0.027 - 0.442	57.4	> 0.05
10	ACT	< 0.0001	0.0026	0.706 - 0.0929	69.7	> 0.05

IC: intervalo de confianza; C: concordancia; BA: prueba bondad de ajuste; DN: diámetro normal; GC: grosor de corteza; ACT: altura de la cicatriz de quemado sobre el tronco.

Probabilidad de rebrotación (Pr) como función del diámetro normal:

$$Pr = \frac{1}{1 + e^{-(0.6483 - 0.1112DN)}} \quad (8)$$

La probabilidad de rebrotación es mayor en juveniles que en adultos, pues al aumentar el diámetro se reduce la referida probabilidad (Figura 5A).

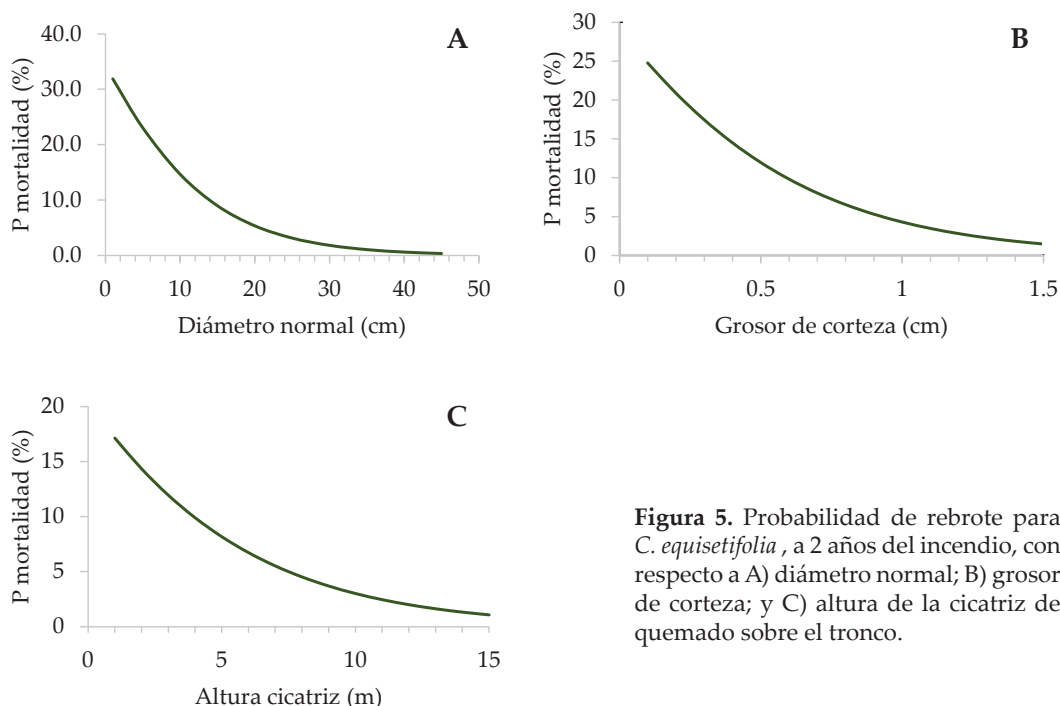


Figura 5. Probabilidad de rebrote para *C. equisetifolia*, a 2 años del incendio, con respecto a A) diámetro normal; B) grosor de corteza; y C) altura de la cicatriz de quemado sobre el tronco.

Aunque hubo rebrotación en la casuarina y fue posible modelarla, no se trata de una intensa rebrotación, como se presenta en especies tolerantes al fuego. Un ejemplo de estas últimas es *Quercus crassifolia*, para la cual con base en el modelo logístico de Juárez-Bravo *et al.* (2012), para el encino referido, un año y medio después de un incendio de alta intensidad y severidad, mixto, la probabilidad de rebrotación es alta, por ejemplo de 92 % para diámetros normales de 13.4 cm y una altura de afectación letal de copas de 4.5 m; en tanto que para la casuarina, considerando tanto una intensidad de fuego similar como el mismo diámetro, tal probabilidad de rebrotación es de solo 8 %. En la misma área de estudio del presente trabajo, Herrera-Ramos *et al.* (2022) refieren que luego de un incendio severo en plantaciones de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh, 100 % de los eucaliptos mostraron rebrotación, lo que deja ver una de las razones por las cuales el eucalipto es considerado adaptado al fuego (Gibson y Hislop, 2021). Probabilidad de rebrote como función del grosor de corteza:

$$\text{Pr} = \frac{1}{1 + e^{-(0.8894 - 2.2148GC)}} \quad (9)$$

A mayor grosor de corteza, menor la probabilidad de rebrotación (Figura 5B). Probabilidad de rebrote como función de la altura de la cicatriz de quemado sobre el tronco:

$$\text{Pr} = \frac{1}{1 + e^{-(1.3655 - 0.2107ACT)}} \quad (10)$$

Los resultados del presente trabajo muestran que a mayor altura de la cicatriz sobre el tronco, fue menor la probabilidad de rebrotación (Figura 5C). Se ha comentado que en la medida que la copa de una especie tolerante al fuego es más afectada, tiende a rebrotar mejor (siempre que no resulte muerta, obviamente), pues junto con parte de la copa se eliminan más auxinas que, presentes en las yemas, inhiben la rebrotación. Sin dicha limitante fisiológica, y como hay yemas que sobreviven protegidas por sus escamas y por la corteza, se presenta la rebrotación. No obstante, en la especie estudiada esta respuesta es poco frecuente, de baja probabilidad y no es numerosa en los árboles que la muestran. Por otra parte, la mayor rebrotación en individuos más pequeños y jóvenes, denota el mayor vigor para la propagación vegetativa que Davies *et al.* (2017) refieren para las plantas y ramas jóvenes. La mayoría de los rebrotes fueron basales (49 %) y se encontraron principalmente en la base de árboles con el tronco muerto. Sean rebrotes de la base o a partir de yemas en el tronco, resultan clave para la recuperación del arbolado y función del ecosistema. Se considera que este tipo de rebrotación es una adaptación al fuego en ecosistemas forestales con alta frecuencia del fuego, alta intensidad y en sitios con relativamente alta productividad. Este tipo de especies son más resilientes a incendios de copa (Pausas y Keeley, 2017).

No obstante, *C. equisetifolia*, a diferencia de otras especies que sí están claramente adaptadas al fuego, aunque comparten la tendencia de mayor rebrotación cuando jóvenes,

los mayores niveles de afectación sobre el tronco o de copas promueven una mayor rebrotación y, además, es mucho más elevada la proporción de individuos que rebrotan. Este último es el caso de *Arbutus xalapensis* (89 % de individuos con rebrotación post-fuego) y de *Quercus* spp. (76 %) en la Sierra Norte de Puebla (Gómez-Mendoza y Rodríguez-Trejo, 2021). Conforme a los resultados cuantitativos de la presente investigación, *Casuarina equisetifolia*, con corteza delgada y pobre capacidad para rebrotar, es una especie tendiente a sensible al fuego, como la había ubicado cualitativamente Snyder (1992).

En Estados Unidos se ha evaluado la mortalidad de *Casuarina* en plantaciones. Snyder (1992) reporta que en Florida un incendio forestal en mayo mató entre 60 a 70 % de una plantación de *Casuarina* spp. y señala que, mediante quemas prescritas, se mata de 90 (casi sin rebrotación) a 100 % de los árboles de *C. equisetifolia* (con diámetros normales de 13 a 20 cm). En el presente estudio se obtuvo una mortalidad de 63 %, similar a la del primer estudio, aunque menor a la de la segunda investigación.

Si bien en Australia, dentro del género *Casuarina*, existen especies que se benefician con el fuego (adaptadas a este), también las hay que se benefician de la protección ante incendios (sensibles al fuego) (Bowman, 1998). No obstante, la adaptación al fuego en varias de las primeras es más bien moderada, como al parecer es el caso de *C. equisetifolia*.

Existe evidencia paleoecológica sobre cómo una presencia moderada del fuego puede favorecer comunidades con especies del género *Casuarina*, pero cuando los incendios se hacen más frecuentes, la comunidad cambia en favor de especies de *Eucalyptus*, más tolerantes al fuego. En la Isla Canguro, Australia, durante el Holoceno, hubo poca actividad de incendios, como muestra la evidencia de pocas acumulaciones de carbón vegetal en el suelo, lo cual favoreció la presencia de bosques de *C. stricta* Miq., relativamente sensible al fuego. Pero hace unos 5000 años la precipitación se redujo, aumentó la frecuencia de incendios, y tales bosques fueron sustituidos por otros de *Eucalyptus* (Kershaw *et al.*, 2002). También existe evidencia actual de un fenómeno similar al anterior. Lunt (1998) señala que bosques australianos no quemados durante muchos años, con *E. ovata* Labill., *E. viminalis* Labill. y *E. leucoxylon* F.Muell., fueron sustituidos por bosques bajos o matorrales de *C. littoralis* Salisb.

CONCLUSIONES

Como resultado de la afectación por un incendio de altas intensidad y severidad, la mortalidad fue alta, de 63 %, en las plantaciones de casuarina. La probabilidad de mortalidad estuvo inversamente relacionada con la altura, el diámetro normal y el grosor de corteza de los árboles, como variables dasométricas individuales o en diferentes interacciones entre ellas, y directamente relacionada con la variable de severidad altura de la cicatriz del fuego sobre el tronco. Se corrobora en particular la relevancia del grosor de corteza como medio de aislamiento térmico al cambium vascular, pues la especie estudiada no presenta una corteza particularmente gruesa. La rebrotación fue escasa (12 %) y se evidenció el mayor poder para ello en individuos

jóvenes, pues la probabilidad de rebrotación estuvo inversamente relacionada con las variables diámetro normal, grosor de corteza y altura de la cicatriz sobre el tronco. Aunque se observó que la especie muestra cierta resistencia al fuego (en individuos de mayor porte, con fuego de baja severidad), así como un poco de tolerancia al fuego (mínima rebrotación), más bien se trata de una especie sensible al fuego. La alta mortalidad en estas plantaciones generó una gran acumulación de combustibles forestales que es necesario remover y manejar (remover como leña o troncos, acomodar, dispersar, incluso eliminar mediante quemas prescritas en áreas de mortalidad total) en las zonas afectadas, que por ese motivo actualmente tienen mayor peligro de incendio forestal. Asimismo, las zonas del incendio con afectación a menores intensidad y severidad, dejan ver que el manejo del fuego en plantaciones con árboles adultos de la especie estudiada debe no solo enfocarse a la prevención de incendios, sino utilizar el fuego (mediante quemas prescritas) con poca frecuencia y a bajas intensidad y severidad, para reducir peligro de incendio. Los modelos de probabilidad de mortalidad obtenidos tienen utilidad potencial para ayudar a determinar a priori, con base en las variables dasonómicas y de severidad del fuego obtenidas, las zonas que presentarán elevada mortalidad y que por ende deberán ser reforestadas o restauradas (incluyendo la remoción o acomodo de los materiales muertos). También se puede determinar qué áreas tendrán poca mortalidad y que no deberán ser reforestadas. Lo anterior se puede estimar prácticamente apenas pasado el fuego, utilizando los modelos del presente estudio.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Chapingo por las facilidades y apoyos brindados para la realización del estudio.

REFERENCIAS

- Bowman DMJS. 1998. The impact of aboriginal landscape burning on the Australian biota. *New Phytologist* 140: 385–410.
- Cansler CA, Hood SM, van Mantgem PJ, Varner JM. 2020. A large database supports the use of simple models of post-fire tree mortality for thick-barked conifers, with less support for other species. *Fire Ecology* 16: 1–37. <https://doi.org/10.1186/s42408-020-00082-0>
- Davies F, Geneve R, Wilson S, Hartmann H, Kester D. 2017. 9th ed. *Hartmann & Kester Plant Propagation: Principles and Practices*. Pearson: USA. 1024 p.
- Gibson RK, Hislop S. 2021. Signs of resilience in resprouting *Eucalyptus* forests, but areas of concern: 1 year of post-fire recovery from Australia's Black Summer of 2019-2020. *International Journal of Wildland Fire* 32 (5): 545–557. <https://doi.org/10.1071/WF21089>
- Gómez-Mendoza F, Rodríguez-Trejo DA. 2021. Fuego, mortalidad y rebrotación en especies forestales de la Sierra Norte de Puebla. *Madera y Bosques* 27 (3): 1–15. e2732148. <https://doi.org/10.21829/myb.2021.2732148>
- Herrera-Ramos C, Rafael-de Jesús A, Rodríguez-Trejo DA, Corona-Ambriz A, Bonilla-Beas R. 2022. Indicadores de rehabilitación ecológica para una reforestación de eucalipto con un bosque de encino como referencia. *Agrociencia* 56 (3): 547–578. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i3.2803>
- Hosmer Jr. DW, Lemeshow S, Sturdivant RW. 2013. *Applied Logistic Regression*. 3rd. ed. Wiley: New York. 528 p.
- Juárez-Bravo JE, Rodríguez-Trejo DA, Myers RL. 2012. Fire tolerance of three tree species in

- pine-oak forests of Chignahuapan, Puebla, Mexico. *International Journal of Wildland Fire* 21 (7): 873–881. <http://dx.doi.org/10.1071/WF11134>
- Kershaw AP, Clark JS, Gill AM, D'Costa DM. 2002. A history of fire in Australia. *In* *Flammable Australia. The Fire Regimes and Biodiversity of a Continent*; Bradstock RA, Williams JE, Gill AM (eds.). Cambridge University Press: Cambridge, U. K., pp. 3–25.
- Lunt ID. 1998. Two hundred years of land use and vegetation change in a remnant coastal Woodland in southern Australia. *Australian Journal of Botany* 46: 629–647.
- Madrigal J, Souto-García J, Calama R, Guijarro M, Picos J, Hernando C. 2019. Resistance of *Pinus pinea* L. bark to fire. *International Journal of Wildland Fire* 28 (5): 342–353. <https://doi.org/10.1071/WF18118>
- Pausas JG. 2017. Bark thickness and fire regime: another twist. *New Phytologist* 213: 13–15. www.newphytologist.com
- Pausas JG, Keeley JE. 2017. Epicormic resprouting in fire-prone ecosystems. *Trends in Plant Science* 22 (12): 1008–1015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2017.08.010>
- Pennington TD, Sarukhán Kermez J. 2005. *Árboles Tropicales de México*. UNAM, FCE: México. 523 p.
- Peterson DL, Ryan KC. 1986. Modeling postfire conifer mortality for long-range planning. *Environmental Management* 10: 797–808.
- Probosque (Protectora de Bosques). 2017. *El Incendio Coatlinchán, Edo. Méx. Probosque (Informe inédito)*.
- Rodríguez-Cubillo D, Pilon NAL, Durigan G. 2021. Tree height is more important than bark thickness, leaf habit or habitat preference to survive fire in the Cerrado of south-east Brazil. *International Journal of Wildland Fire* 30 (11): 899–910. <https://doi.org/10.1071/WF21091>
- Rodríguez-Trejo DA, Pausas JG. 2019. Plant responses to fire in a Mexican arid shrubland. *Fire Ecology* 15 (11): 1–9. <https://doi.org/10.1186/s42408-019-0029-9>
- Rodríguez-Trejo DA, Martínez-Muñoz P, Martínez-Lara PJ. 2019. Efectos del fuego en el arbolado de un bosque tropical de pino y en el de una selva baja caducifolia en Villaflores, Chiapas. *Ciencia Florestal* 29 (3): 1–15. <https://doi.org/10.5902/1980509833952>
- Rojas-Sandoval J, Acevedo-Rodríguez P. 2021. *Casuarina equisetifolia*. *Forestry Compendium*. CABI: Wallingford, U.K.
- Romahn-de la Vega CF, Ramírez-Maldonado H. 2010. *Dendrometría*. División de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma Chapingo: Chapingo, Estado de México, México. 294 p.
- Scott AC, Bowman DMJS, Bond WJ, Pyne SJ, Alexander ME. 2014. *Fire on Earth: An Introduction*. Wiley Blackwell: Chichester, UK. 413 p.
- Snyder SA. 1992. *Casuarina* spp. *Fire Effects Information System*. U. S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station, Fire Sciences Laboratory, U. S. A. <https://www.fs.fed.us/database/feis/plants/tree/casspp/all.html> (Recuperado: junio 2022).
- Temiño-Villota S, Rodríguez-Trejo DA, Molina-Terrén D, Ryan KC. 2016. Modelling initial mortality of *Abies religiosa* in a crown fire in Mexico. *Forest Systems* 25 (1): 1–12. <https://doi.org/10.5424/fs/2016251-06887>
- Torres-Rojo, J. M., Magaña-Torres, O. S. 2001. *Evaluación de Plantaciones Forestales*. Limusa, CIDE: México. 449 p.
- Wei R, Yang G, Zhang J, Wang X, Zhou X. 2019. The thermal insulation properties of oak (*Quercus mongolica*) bark and the applicability of steam heating models. *International Journal of Wildland Fire* 28 (12): 969–980. <https://doi.org/10.1071/WF18232>
- Zaldívar-Cruz B, Pérez-Ceballos R, Zaldívar-Jiménez A, Canales-Delgadillo J, Endañu-Huerta E, Flores AB, Tun-Garrido J. 2022. Structural and diversity changes in coastal dunes from the Mexican Caribbean: The case of invasive Australian pine (*Casuarina equisetifolia*). *Management of Biological Invasions* 13 (1): 131–146. <https://doi.org/10.3391/mbi.2022.13.1.08>

PREBIOTIC, *Bacillus subtilis* AND POTASSIUM PHOSPHITE ON ANTHRACNOSIS SEVERITY AND POST HARVEST QUALITY IN 'MÉNDEZ' AVOCADO

Elizeth Vizcaíno-Ríos, Alfredo López-Jiménez*, Daniel Téliz-Ortiz¹, Crescenciano Saucedo-Veloz

Colegio de Posgraduados. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, State of Mexico, Mexico. C. P. 56264.

* Author for correspondence: lopezja@colpos.mx

ABSTRACT

Several factors affect the quality and safety of avocado (*Persea americana* Mill.) fruit during the production process, such as the agronomic management and climate. The objective of this research was to evaluate how foliar treatments affected postharvest control of anthracnose (*Colletotrichum* spp.) in two 'Méndez' avocado growing areas, Ziracuaretiro (ZI) and Salvador Escalante (SE), Michoacán, Mexico. Foliar sprays were used in the following treatments: 1) conventional management (CM) based on the technician's experience; 2) integrated management (IM) including *Bacillus subtilis*, a prebiotic (BioKakimu®), and potassium phosphite; and 3) absolute control without foliar sprays. The effects of the treatments were evaluated on fruit harvested at physiological maturity while taking into account the severity of post-harvest anthracnose and fruit quality up to consumption maturity. During the evaluation period, disease damage was less than 10 % of the fruit surface in all three treatments. However, IM treatment delayed maturation time by 12.4 days in ZI and 10.6 days in SE. Fruits of the IM treatment lost less weight in ZI (7.6 %) than in SE (8.48 %) at eating maturity. Fruit firmness in ZI was higher in the IM and control treatments, while there were no differences in SE. The fruits in ZI and SE showed a decreasing color index profile for the three treatments. It is concluded that the phytopathogenic fungus in 'Méndez' was not exposed to weather conditions favorable for its development for an extended period of time, given that the first anthracnose alerts were emitted when the fruits were harvested. The crop management method did not result in an increase in the nutrient concentration of the fruit mesocarp.

Keywords: *Colletotrichum*, *Persea americana* Mill., Phi.

INTRODUCTION

The *Colletotrichum* genus contains several species of phytopathogenic fungi of great economic and sanitary importance, causing considerable losses due to fruit lesions during storage and marketing (Udayanga *et al.*, 2013). *Colletotrichum* infection occurs in avocado fruit (*Persea amaeicana* Mill.) on horticultural orchard trees prior to harvest when the conidium germinates and forms appressoria (Bruce da Silva and Michereff, 2013). However, due to quiescence of the pathogen, the disease becomes important during postharvest. Economic losses caused by to this fungus can amount up to 20 % of

Citation: Vizcaíno-Ríos E, López-Jiménez A, Téliz-Ortiz D, Saucedo-Veloz C. 2023. Prebiotic, *Bacillus subtilis* and potassium phosphite on anthracnosis severity and post harvest quality in 'Méndez' avocado.

Agrociencia 57(1): 132-149.
<https://doi.org/10.47163/agrociencia.v57i1.2342>

Editor in Chief:
 Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: May 12, 2021.
 Approved: January 05, 2023.
Published in Agrociencia:
 February 27, 2023.

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



the total fruit production (Tapia-Rodríguez *et al.*, 2020). Currently, chemical fungicides are used to control *Colletotrichum* species. However, their indiscriminate use represent a risk to human health (Gupta, 2017), environmental damage (Dong *et al.*, 2013), and fungal resistance development (Fisher *et al.*, 2018).

Due to the above, an adequate and effective management of this disease can be carried out through the use of antagonistic microorganisms that inhibit the growth of phytopathogens. Several antagonistic bacteria that secrete lytic enzymes are able to dissolve the fungal cell wall, resulting in fungal pathogen predatory activity (Xu *et al.*, 2014). On the other hand, prebiotics are gaining popularity because they stimulate the antagonistic action of microbiota and may help control anthracnose while reducing the use of chemical pesticides (Guardado-Valdivia *et al.*, 2018). Organisms found on avocado tree leaves have been associated to anthracnose control, such as *Wickerhamomyces anomalus* or *Candida intermedia* (Campos-Martínez *et al.*, 2016). Oligosaccharides are a type of prebiotic substance, their main function is to serve as a source of energy to the antagonistic microorganisms group. There are preliminary studies on the use of prebiotics for the control of *Colletotrichum* in tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.), using prebiotics and potassium fertilization to the soil, obtaining satisfactory results (Luengas-Gómez *et al.*, 2012).

The use of potassium phosphite as an inducer of induced resistance (IR), which is a natural mechanism developed by plants to increase their resistance level to biotic or abiotic stresses, has become relevant (Machinandarena *et al.*, 2012). Many of the published works with phosphite are related to the control of oomycetes, and in some of them, there was an effective control of other fruit and vegetable crop pathogens, such as *Colletotrichum* spp. (Ogoshi *et al.*, 2013; Costa *et al.*, 2018). However, so far there has been no report on avocado.

Systemic fungicides are effective for disease control; however, active ingredients for disease management in avocado are limited. Therefore, the objective of this research was to determine the effect of a prebiotic, *Bacillus subtilis*, and potassium phosphite, as well as climatic conditions, on anthracnose control and postharvest quality of 'Méndez' avocado.

MATERIALS AND METHODS

The research was conducted out in two commercial 'Méndez' avocado orchards in the state of Michoacán, Mexico: orchard one, located in the municipality of Ziracuaretiro (ZI), at an average altitude of 1389 m; and orchard two, in the town of Jujucato, municipality of Salvador Escalante (SE), at an average altitude of 2070 m. The ZI orchard consisted of 18-year-old trees, and the SE orchard was composed of 10-year-old trees, both with the cv. 'Méndez' grafted on rootstocks originating from the Mexican race seed. They were established under a rectangular frame planting system with a row and tree spacing of 9 x 7 m, respectively. Agronomic management in both orchards included: chemical and organic fertilization, weeding, pest and disease control, and pruning. Micro-sprinkler irrigation was used from January to May.

Weather conditions

Climate data for precipitation (PP), temperature (T) and relative humidity (RH) for 2019 and 2020 were consulted in the iMetos 3.3 weather service (www.fieldclimate.com).

Treatments and experimental design

The pre-harvest treatments for *Colletotrichum* spp. Control were as follows: 1) conventional management (CM), according to the list of recommended pesticides for avocado cultivation (APEAM, 2014), which includes chemical control of pests and diseases by using foliar sprays; 2) integrated management (IM), by the application of foliar sprays of the following commercial products in the concentrations recommended by the manufacturer: 1 mL BioKakimu[®] L⁻¹, 1 g Fungifree[®] L⁻¹, 1 mL Nutri-Phite Magnum[®] L⁻¹, and the surfactant adherent Inex[®] (2 mL L⁻¹) were added at 15 to 20 day intervals from February to August in ZI and February to September in SE, for a total of 7 and 11 applications, respectively, pest control was carried out with chemical pesticides; and 3) absolute control. A completely randomized design was used with 4 homogeneous experimental units per treatment consisting of nine trees. From each treatment, avocado fruits were harvested at physiological maturity (26 and 29 % dry matter in ZI and SE, respectively). Subsequently, they were stored until consumption maturity under ambient conditions.

Post-harvest evaluation

For each treatment, 100 fruits were harvested from the four experimental units for evaluation of each variable. Anthracnose severity was evaluated in a sample of 20 fruits according to a hedonic scale: light damage (LD) when less than 10 % of the fruit surface had symptoms, such as dark lesions and rot; moderate damage (MD) when 10–20 % of the fruit surface was damaged; severe damage (SD), more than 20 % of the fruit surface had symptoms; and severe damage (SD) when more than 20 % of the fruit surface had symptoms.

Weight loss (differences in weight at consumption maturity with respect to the initial weight corresponding to physiological maturity) was measured daily with a digital scale on 10 fruits per treatment and expressed as a percentage. Mesocarp firmness was determined with a Chatillon texturometer (Wagner Force Five model FDV-30, Greenwich, USA) with a 7 mm conical probe at two opposite points of the equatorial zone of five fruits every two days and reported in Newtons (N). Exocarp color (EC) was measured in 10 fruits (the same used to evaluate weight loss) with a Hunter Lab reflection colorimeter, model D25 (Reston, VA, USA), by using the CIE Lab system to determine the values L*, a* and b* to calculate the color index ($IC = -10a^* b^*/L^*$) (Zarazúa-Escobar *et al.*, 2005). The concentrations of P, K, Ca, and Mg were determined in four fruits as described by Alcántar-González and Sandoval-Villa (1999). The N concentration was determined by distillation of the sample and titration with sulfuric acid.

Statistical analysis

Analyses of variance were performed for the studied variables and treatment means were compared with Tukey's test ($p \leq 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

In both municipalities, the rainy season began in May; there was more PP in SE (1666 mm) than in ZI (1263 mm), concentrated between July and October. Regarding T, in ZI the average maximum and minimum of the hottest (May and June) and coldest (January and February) months were 20, 21 and 15, 16 °C, respectively; in SE, the average maximum and minimum of the same months were 17.5, 17.4, and 12.7, 14 °C, respectively. September was the month with the highest RH in ZI and SE (91.35 and 93.16 % monthly average, respectively).

Regarding anthracnose damage on avocado fruit in both orchards, this was predominantly light, with less than 10 % of the fruit surface showing symptoms in the three treatments ($p \leq 0.05$), so the low incidence of the disease is ruled out as an effect of treatments. This study confirmed that both T and PP, as well as the monthly RH, are important factors in the incidence of anthracnose. The absence of MD and SD in 'Méndez' fruit could be attributed to the fruit not being exposed long enough to environmental conditions that favored the development of the fungus.

Tapia-Rodríguez *et al.* (2020) mentioned that temperature, precipitation and monthly relative humidity are factors of great importance in the incidence of anthracnose. According to Bruce da Silva and Michereff (2013), the disease is severe with temperatures ranging from 24 to 28 °C and high relative humidity, which could explain the LD found in the fruits from both locations. One explanation for the post-harvest LD of anthracnose in the three treatments is the orchard background, which included fertigation practices, pruning, weed control, chemical and biological pest and disease control, and chemical and organic fertilization; these are orchards typified as highly technical (Ramírez-Legarreta and Jacobo-Cuéllar, 2002).

Many of the causes of postharvest quality impairment and physiological disorders are often attributed to preharvest handling (Ferguson *et al.*, 1999), which explains the quality and control of postharvest anthracnose in fruit from the orchard under study. Another reason for the predominantly light post-harvest anthracnose damage observed is that the fruits were not exposed for an extended period of time to weather conditions conducive to the development of the fungus, as the first anthracnose prediction alerts were issued in early June and the fruits were harvested in July and September in ZI and SE, respectively. Ávila-Quezada *et al.* (2002) mentioned that favorable environmental conditions are required during at least 4 hours for infection by *Colletotrichum gloesporioides* to occur.

At eating maturity, weight and firmness loss in SE were greater in the three treatments than in ZI (Tables 1 and 2); thus, the higher the dry matter (DM) percentage and the higher the altitude, the greater the weight and firmness loss, and the lower the durability. According to López-López and Cajuste-Bontemps (1999), physiological

Table 1. Weight loss of ‘Méndez’ avocado fruit from two commercial orchards (Ziracuaretiro (ZI) and Salvador Escalante (SE), Michoacán, Mexico), harvested and stored at room temperature (24±2 and 22±2 °C, respectively) until consumption maturity under conventional management, integrated management and no applications (control).

Treatment	Day									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ZI										
CM	0	0.8±0.1a	1.8±0.3a	2.6±0.5ab	3.7±0.7a	4.6±0.9a	5.4±1.1a	6.6±1.3a	7.4±1.6a	8.5±1.8a
IM	0	0.7±0.1b	1.5±0.2b	2.3±0.3b	3.2±0.4a	4.1±0.5a	4.8±0.7a	5.8±0.8a	6.6±0.9a	7.6±0.0a
Control	0	0.8±0.1a	1.9±0.3a	2.8±0.4a	3.8±0.5a	4.8±0.7a	5.7±0.7a	6.9±0.8a	7.8±0.9a	8.9±1.0a
SE										
CM	0	1.2±0.2a	2.6±0.2a	4.1±0.3a	5.4±0.4a	8.4±0.8a	10.0±1.0a			
IM	0	1.0±0.2a	2.1±0.3b	3.2±0.4b	4.2±0.5b	6.4±1.0b	7.5±1.1b			
Control	0	1.3±0.3a	2.7±0.5a	4.3±0.7a	5.7±1.0a	8.4±1.4a	8.7±0.5ab			

a,b Means with different letters on each evaluation day and orchard indicate statistical difference (Tukey; $p \leq 0.05$); n = 4. CM: conventional management; IM: integrated management. Means ± standard deviation.

Table 2. Firmness of ‘Méndez’ avocado fruit from two commercial orchards (Ziracuaretiro (ZI) and Salvador Escalante (SE), Michoacán, Mexico), harvested and stored at room temperature (24±2 and 22±2 °C, respectively) until consumption maturity under conventional management, integrated management and no applications (control).

Treatment	Day				
	2	4	6	8	9
ZI					
CM	17.5±0.2a	15.5±0.4b	12.2±0.7a	10.5±0.3b	8.3±0.3b
IM	17.4±0.2a	16.8±0.5a	12.4±0.7a	12.0±0.7a	9.6±0.7a
Control	16.3±0.4b	15.8±0.6b	11.5±0.7a	10.4±0.5b	9.4±0.3a
SE					
CM	17.7±0.5a	15.3±0.1a	12.3±0.5a	0.3±0.2a	
IM	18.5±0.7a	15.4±0.4a	12.6±0.5a	0.7±0.7a	
Control	15.8±0.3b	14.8±0.3a	12.2±0.5a	0.1±0.2a	

a,b Means with different letters on each evaluation day and orchard indicate statistical difference (Tukey; $p \leq 0.05$); n = 4. CM: conventional management; IM: integrated management. Means ± standard deviation.

weight loss is associated with flowering and altitude, with medium and high altitudes (1700 and 2100 m) and advanced flowering reporting higher values. These results differ from those reported by Fischer *et al.* (2019), who concluded that fruits produced at higher altitudes (2580 m) have greater weight, showing less weight loss and firmness in postharvest. Weight loss and dehydration during storage and ripening determine the shelf life and quality of ripe avocados (Escobar *et al.*, 2019).

Avocado firmness correlates well with maturity, decreasing gradually from harvest to a smooth flesh texture (Uarrotta *et al.*, 2020). Even though the weight loss in SE was

greater than in ZI, the fruits of each treatment at maturity for consumption presented an external and internal appearance that was free of damage, and there were no fruits with dehydration symptoms. The data obtained for the external color variable (CI) show that at the time of harvest, fruits from SE had higher values than those from ZI. Fruits with a higher chromatic value also had a higher oil content (Table 3). These ZI results match those reported by Rosas-Flores *et al.* (2016) who found a decrease in IC in the exocarp of avocado fruit cv. 'Méndez' during ripening, from 37.06 to 2.17. There was no significant effect of treatments on the 'Méndez' avocado exocarp color ($p \leq 0.05$).

Table 3. Color index of 'Méndez' avocado fruit from two commercial orchards (Ziracuaretiro (ZI) and Salvador Escalante (SE), Michoacán, Mexico), harvested and stored at room temperature (24±2 and 22±2 °C, respectively) until consumption maturity under conventional management, integrated management and no applications (control).

Treatment	Day						
	1	2	3	4	5	6	7
ZI							
CM	32.2±3.7a	30.3±5.9a	28.2±4.3a	22.7±2.4a	18.4±1.6a	15.2±2.9a	13.3±3.3a
IM	34.4±2.6a	29.5±4.9a	23.9±4.6a	17.6±3.1b	14.2±2.1b	13.9±2.8a	10.5±2.3a
Control	35.4±1.9a	31.8±3.5a	24.5±2.1a	21.4±2.9ab	17.3±4.4ab	12.4±2.5a	11.4±4.1a
SE							
CM	46.7±6.7a	43.7±5.1a	43.4±3.5a	40.6±6.2a	38.3±2.4a	34.9±3.1a	31.2±2.6a
IM	42.6±5.3a	41.0±5.7a	39.2±4.6a	38.1±4.5a	34.1±5.5ab	31.4±5.4a	30.0±2.6a
Control	41.0±0.9a	40.9±2.6a	38.7±0.6a	34.6±6.7a	30.6±6.9b	9.1±4.5b	6.4±4.5b

a,b Means with different letters on each evaluation day and orchard indicate statistical difference (Tukey; $p \leq 0.05$); n = 4. CM: conventional management; IM: integrated management. Means ± standard deviation.

The nutritional analysis of the mesocarp of ZI fruits (Table 4) shows that the IM treatment had a higher concentration of P (0.24 %) compared to the CM and control treatments (0.19 and 0.17 %, respectively). This difference may be attributed to the application of potassium phosphite; however, in the SE location, this response was not present, although it presented higher concentrations of Ca and Mg. Salazar-García *et al.* (2019) indicate that, in addition to the type of management and avocado cultivar, there are many factors that could be responsible for the nutrient concentration per treatment and per orchard. On the other hand, K concentrations were low and medium for N, P, Ca, and Mg at both locations. With the exception of K, the concentrations of N, P, Ca, and Mg in the fruit are similar to those reported for the cv. 'Méndez' by Salazar-García *et al.* (2021).

Table 4. Macronutrient concentration (dry matter) in the mesocarp of ‘Méndez’ avocado fruit from two commercial orchards (Ziracuaretiro (ZI) and Salvador Escalante (SE), Michoacán, Mexico), under conventional management (CM), integrated management (IM) and without applications (control).

Location	Treatment	N				
		P	(%) K	Ca	Mg	
ZI	CM	1.13±0.08a	0.19±0.00b	0.70±0.40a	0.09±0.00b	0.08±0.00b
	IM	1.27±0.18a	0.24±0.01a	0.68±0.08a	0.08±0.00b	0.09±0.00a
	Control	1.12±0.1a	0.17±0.00b	0.58±0.03a	0.10±0.00a	0.07±0.00b
SE	CM	0.84±0.08a	0.16±0.00ab	0.58±0.04a	0.09±0.00c	0.07±0.00b
	IM	0.71±0.18b	0.12±0.01b	0.50±0.08b	0.11±0.00a	0.08±0.00a
	Control	0.70±0.1b	0.18±0.00a	0.55±0.03a	0.10±0.00b	0.07±0.00b

a,b Means with different letters in each nutrient and orchard indicate statistical difference (Tukey; $p \leq 0.05$); n = 4. CM: conventional management; IM: integrated management. Means ± standard deviation.

CONCLUSIONS

The ‘Méndez’ avocado fruit did not show anthracnose damage because fruit development coincided with the dry season and was harvested before being exposed to anthracnose damage. It is convenient to include other locations, agricultural cycles and times of the year where climatic conditions are more conducive to disease development.

Fruits with a high dry matter content and harvested at higher altitude showed greater weight loss and decreased firmness. Fruits from both locations showed a decreasing color index profile. The type of crop management had no effect on the nutrient concentration of the fruit mesocarp.

REFERENCES

- Alcántar-González G, Sandoval-Villa M. 1999. Manual de análisis químico de tejido vegetal. Guía de muestreo, preparación, análisis e interpretación. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo A. C.: Chapingo, México. 156 p.
- APEAM (Asociación de Productores y Exportadores de aguacate de México). 2014. Listado de plaguicidas recomendados para el cultivo del aguacate. Uruapan, México. <http://www.apeamac.com> (Retrieved: January 2019).
- Ávila-Quezada GD, Téliz-Ortiz D, González-Hernández H, Vaquera-Huerta H, Tijerina-Chávez L, Johansen-Naime R, Mojica-Guzmán A. 2002. Dinámica espacio-temporal de la roña (*Elsinoe perseae*), el daño asociado a trips y antracnosis (*Glomerella cingulata*) del aguacate en Michoacán, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 20 (1): 77–87.
- Bruce da Silva CF, Michereff SJ. 2013. Biology of *Colletotrichum* spp. and epidemiology of anthracnose in tropical fruit trees. *Revista Caatinga* 26 (4): 130–138.
- Campos-Martínez A, Velázquez-del Valle MG, Flores-Moctezuma HE, Suárez-Rodríguez R, Ramírez-Trujillo JA, Hernández-Lauzardo AN. 2016. Antagonistic yeasts with potential to control *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. and *Colletotrichum acutatum* J.H. Simmonds on avocado fruits. *Crop Protection* 89: 101–104. <https://doi.org/10.1016/j.cpro.2016.07.001>
- Costa BHG, de Resende ML, Monteiro ACA, Ribeiro Júnior PM, Botelho DM dos S, da Silva BM. 2018. Potassium phosphites in the protection of common bean plants against anthracnose and biochemical defence responses. *Journal of Phytopathology* 166 (2): 95–102. <https://doi.org/10.1017/S0950268817000500>

- org/10.1111/jph.12665
- Dong F, Li J, Chankvetadze B, Cheng Y, Xu J, Liu X, Li Y, Chen X, Bertucci C, Tedesco D, Zanasi R, Zheng Y. 2013. Chiral triazole fungicide difenoconazole: Absolute stereochemistry, stereoselective bioactivity, aquatic toxicity, and environmental behavior in vegetables and soil. *Environmental Science and Technology* 47 (7): 3386–3394. <https://doi.org/10.1021/es304982m>
- Escobar JV, Rodríguez P, Cortes M, Correa G. 2019. Influencia de la materia seca como índice de madurez de cosecha y tiempo de almacenamiento en frío sobre la calidad del aguacate cv. Hass producido en la región del Trópico Alto. *Información Tecnológica* 30 (3): 199–210. <https://doi.org/10.4067/s0718-07642019000300199>
- Ferguson, I, Volz R, Woolf A. 1999. Preharvest factors affecting physiological disorders of fruit. *Postharvest Biology and Technology* 15 (3): 255–262. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(98\)00089-1](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(98)00089-1)
- Fischer G, Camacho-Tamayo JH, Parra-Coronado A. 2019. Influencia de las condiciones climáticas de cultivo en la calidad en cosecha y en el comportamiento postcosecha de frutos de Feijoa. *Revista Tecnología en Marcha* 32 (8): 86–92.
- Fisher MC, Hawkins NJ, Sanglard D, Gurr SJ. 2018. Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security. *Science* 360 (6390): 739–742. <https://doi.org/10.1126/science.aap7999>
- Guardado-Valdivia L, Tovar-Pérez E, Chacón-López A, López-García U, Gutiérrez-Martínez P, Stoll PA, Aguilera S. 2018. Identification and characterization of a new *Bacillus atrophaeus* strain B5 as biocontrol agent of postharvest anthracnose disease in soursop (*Annona muricata*) and avocado (*Persea americana*). *Microbiological Research* 210: 26–32. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.01.007>
- Gupta PK. 2017. Herbicides and fungicides. In *Reproductive and Developmental Toxicology*, Gupta RC. (ed.). Academic Press: Cambridge, MA, USA, pp: 657–679.
- López-López L, Cajuste-Bontemps JF. 1999. Comportamiento postcosecha de fruta de aguacate cv. Hass con base en la altitud de producción y tipo de floración. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 5: 365–371.
- Luengas-Gómez CA, Roa-Vásquez MD, Orrego-Vásquez JD. 2012. Evaluation of a prebiotic and potassium for the control of anthracnose in the tree tomato. *Agronomía Colombiana* 30 (2): 230–235.
- Machinandiarena MF, Lobato MC, Feldman ML, Daleo GR, Andreu AB. 2012. Potassium phosphite primes defense responses in potato against *Phytophthora infestans*. *Journal of Plant Physiology* 169 (14): 1417–1424. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2012.05.005>
- Ogoshi C, de Abreu MS, da Silva BM, Neto HS, Ribeiro Junior OM, de Resende MLV. 2013. Potassium phosphite: A promising product in the management of diseases caused by *Colletotrichum gloeosporioides* in coffee plants. *Biosciencia Journal* 29 (1): 1558–1565.
- Ramírez-Legarreta MR, Jacobo-Cuéllar JL. 2002. Impacto ambiental del uso de plaguicidas en huertos de manzano del noroeste de Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 20 (2): 168–173.
- Rosas-Flores N, Saucedo-Veloz C, García-Osorio C, Saucedo-Reyes D. 2016. Producción de etileno y cambios asociados a la maduración de frutos de aguacate ‘Hass’ y ‘Carmen Hass’. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 17 (1): 24–29.
- Salazar-García S, Álvarez-Bravo A, Ibarra-Estrada ME, Mellado-Vázquez A. 2019. Accumulation of nutrients during the development of ‘Méndez’ avocado fruit. *Terra Latinoamericana* 37 (4): 469–478. <https://doi.org/10.28940/terra.v37i4.547>
- Salazar-García S, Mellado-Vázquez A, Ibarra-Estrada ME, Herrera-González JA, Álvarez-Bravo A. 2021. Remoción de nutrimentos por frutos de aguacate Méndez. *Revista Fitotecnia Mexicana* 44 (2): 151–159.
- Tapia-Rodríguez A, Ramírez-Dávila JF, Salgado-Siclán ML, Castañeda-Vildózola Á, Maldonado-Zamora FI, Lara-Díaz AV. 2020. Distribución espacial de antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) en aguacate en el Estado de México, México. *Revista Argentina de Microbiología* 52 (1): 72–81. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.07.004>
- Uarrotta VG, Hernandez I, Ponce-Guequen E, Vidal-Cruz J, Fuentealba C, Defilippi BG, Lindh

- V, Zulueta C, Chirinos R, Campos D, Pedreschi R. 2020. Unravelling factors associated with 'blackspot' disorder in stored Hass avocado (*Persea americana* Mill) fruit. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 95 (6): 804–815. <https://doi.org/10.1080/14620316.2020.1763860>
- Udayanga D, Manamgoda DS, Liu X, Chukeatirote E, Hyde KD. 2013. What are the common anthracnose pathogens of tropical fruits? *Fungal Diversity* 61 (1): 165–179. <https://doi.org/10.1007/s13225-013-0257-2>
- Xu SJ, Hong SJ, Choi W, Kim BS. 2014. Antifungal activity of *Paenibacillus kribbensis* strain T-9 isolated from soils against several plant pathogenic fungi. *Plant Pathology Journal* 30 (1): 102–108. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.05.2013.0052>
- Zarazúa-Escobar JA, Martínez-Damián MT, Colinas-León MT, Barrientos-Priego AF, Aguilar-Melchor JJ. 2005. Frigoconservación y atmósferas modificadas en frutos de aguacate mínimamente procesado. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 11 (1): 143–148.

PREBIÓTICO, *Bacillus subtilis* Y FOSFITO DE POTASIO EN LA SEVERIDAD DE ANTRACNOSIS Y CALIDAD POSCOSECHA EN AGUACATE 'MÉNDEZ'

Elizeth Vizcaíno-Ríos, Alfredo López-Jiménez*, Daniel Téliz-Ortiz¹, Crescenciano Saucedo-Veloz

Colegio de Posgraduados. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, State of Mexico, Mexico. C. P. 56264.

* Autor para correspondencia: lopezja@colpos.mx

RESUMEN

Diferentes factores afectan la calidad e inocuidad de los frutos de aguacate (*Persea americana* Mill.) durante el proceso productivo, entre ellos están el manejo agronómico y el clima. El objetivo de esta investigación fue evaluar los efectos de tratamientos foliares en el control de antracnosis (*Colletotrichum* spp.) en poscosecha en dos zonas productoras de aguacate 'Méndez', Ziracuaretiro (ZI) y Salvador Escalante (SE), Michoacán, México. Los tratamientos consistieron en aspersiones foliares: 1) manejo convencional (MC), de acuerdo con la experiencia del técnico; 2) manejo integrado (MI), incluyó un prebiótico (BioKakimu®), *Bacillus subtilis*, y fosfito de potasio; y 3) testigo absoluto, sin aspersiones foliares. El efecto de los tratamientos se evaluó en frutos cosechados en madurez fisiológica considerando la severidad de antracnosis poscosecha, y calidad de los frutos hasta madurez de consumo. El daño de la enfermedad fue menor al 10 % de la superficie de los frutos en el periodo de la evaluación en los tres tratamientos. Sin embargo, el tiempo de maduración se retrasó con el tratamiento MI en 12.4 días en ZI y 10.6 días en SE. Los frutos del tratamiento MI perdieron menos peso en ZI (7.6 %) que en SE (8.48 %) al llegar a madurez de consumo. La firmeza de los frutos en ZI fue superior en los tratamientos MI y testigo, mientras que en SE no hubo diferencias. Los frutos de los tres tratamientos en ZI y SE presentaron un perfil de índice de color con tendencia a la disminución. Se concluye que, en 'Méndez' el hongo fitopatógeno no estuvo expuesto por un tiempo prolongado a condiciones meteorológicas propicias para su desarrollo, dado que cuando los frutos fueron cosechados se emitieron las primeras alertas de pronóstico de antracnosis. El tipo de manejo de cultivo no implicó un incremento en la concentración nutrimental del mesocarpio del fruto.

Palabras clave: *Colletotrichum*, *Persea americana* Mill., Phi.

INTRODUCCIÓN

El género *Colletotrichum* incluye diversas especies de hongos fitopatógenos de gran importancia económica y sanitaria, ya que ocasiona pérdidas considerables por lesiones en frutos durante su almacenaje y comercialización (Udayanga *et al.*, 2013). En frutos de aguacate (*Persea americana* Mill.) en los árboles de huertas hortícolas previo a la cosecha, la infección por *Colletotrichum* ocurre cuando el conidio del patógeno ger-

Citation: Vizcaíno-Ríos E, López-Jiménez A, Téliz-Ortiz D, Saucedo-Veloz C. 2023. Prebiótico, *Bacillus subtilis* y fosfito de potasio en la severidad de antracnosis y calidad poscosecha en aguacate 'Méndez'. *Agrociencia* 57(1): 132-149. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v57i1.2342>

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: May 12, 2021.
Approved: January 05, 2023.
Published in Agrociencia:
February 27, 2023.

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



mina y forma apresorios (Bruce da Silva y Michereff, 2013). Sin embargo, la enfermedad se vuelve importante durante la poscosecha debido a la quiescencia que presenta el patógeno. Las pérdidas económicas a causa de este hongo pueden ser hasta el 20 % de la producción total de este fruto (Tapia-Rodríguez *et al.*, 2020). En la actualidad, el control de las especies del género *Colletotrichum*, comúnmente se realiza mediante fungicidas químicos. Sin embargo, el uso indiscriminado de éstos representa un riesgo a la salud humana (Gupta, 2017), daños al ambiente (Dong *et al.*, 2013) y los hongos desarrollan resistencia (Fisher *et al.*, 2018).

Debido a lo anterior se puede realizar un manejo adecuado y efectivo de esta enfermedad con el uso de microorganismos antagonistas que inhiban el crecimiento de fitopatógenos. Varias bacterias antagónicas que secretan enzimas líticas son capaces de disolver la pared celular fúngica, resultando tener actividad depredadora de patógenos fúngicos (Xu *et al.*, 2014). Por otra parte, los prebióticos están ganando gran interés debido a que estimulan la acción antagónica de la microbiota y pueden ayudar a controlar la antracnosis y a reducir el uso de pesticidas químicos (Guardado-Valdivia *et al.*, 2018). Se han reportado organismos presentes en las hojas del árbol de aguacate asociados con el control de antracnosis, como *Wickerhamomyces anomalus* o *Candida intermedia* (Campos-Martínez *et al.*, 2016). Los oligosacáridos son parte de este grupo de sustancias conocidas como prebióticos, su principal función es servir como fuente de energía al conjunto de microorganismos antagónicos. Por otro lado, existen estudios incipientes del uso de prebióticos para el control de *Colletotrichum* en tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.), utilizando prebióticos y fertilización con potasio al suelo, obteniendo resultados satisfactorios (Luengas-Gómez *et al.*, 2012).

Asimismo, el uso de fosfito de potasio como inductor de resistencia inducida (RI), el cual consiste en un mecanismo natural desarrollado por las plantas para aumentar su nivel de resistencia sobre un estrés biótico o abióticos, ha adquirido relevancia (Machinandiarena *et al.*, 2012). Muchos de los trabajos con fosfito publicados se relacionan con el control de oomycetes; y en algunos de éstos se tuvo un control eficiente en otros patógenos de cultivos frutícolas y hortícolas, como son *Colletotrichum* spp. (Ogoshi *et al.*, 2013; Costa *et al.*, 2018). Sin embargo, hasta el momento no hay reporte en aguacate. Los fungicidas sistémicos son eficientes para el control de la enfermedad; sin embargo, los ingredientes activos para el manejo de dicha enfermedad en el aguacate son limitados. Por tanto, el objetivo de esta investigación fue determinar la influencia de un prebiótico, de *Bacillus subtilis* y fosfito de potasio, así como de las condiciones climáticas en el control de antracnosis y la calidad poscosecha del aguacate 'Méndez'.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en dos huertos comerciales de aguacate 'Méndez' en el estado de Michoacán, México: el huerto uno, ubicado en el municipio de Ziracuaretiro (ZI), a una altitud promedio de 1389 m; y el huerto dos está en la localidad de Jujucato, municipio de Salvador Escalante (SE), a una altitud promedio de 2070 m. El huerto de ZI lo conforman árboles de 18 años y el huerto de SE árboles de 10 años de edad,

ambos con el cv. 'Méndez' injertada sobre portainjertos originados de semilla de la raza mexicana. Establecidos bajo un sistema de plantación marco rectangular, con una distancia entre hileras y árboles de 9 x 7 m, respectivamente. El manejo agronómico en ambos huertos incluyó: fertilización química, orgánica, deshierbes, control de plagas, enfermedades y podas. El riego fue por microaspersión, desde enero a mayo.

Condiciones climáticas

Los datos climáticos de precipitación (PP), temperatura (T) y humedad relativa (HR) de 2019 y 2020 fueron consultados en el servicio meteorológico iMetos 3.3 (www.fiel-dclimate.com).

Tratamientos y diseño experimental

Los tratamientos precosecha de productos para el control de *Colletotrichum* spp., fueron: 1) manejo convencional (MC, de acuerdo con el listado de plaguicidas recomendados para el cultivo del aguacate (APEAM, 2014), incluye control químico de plagas y enfermedades, mediante aspersiones foliares; 2) manejo integrado (MI), aspersiones foliares de los siguientes productos comerciales en las concentraciones recomendadas por el fabricante: 1 mL BioKakimu® L⁻¹, 1 g Fungifree® L⁻¹ y 1 mL Nutri-Phite Magnum® L⁻¹ y se adicionó el adherente surfactante Inex® (2 mL L⁻¹) a intervalos de 15 a 20 días durante los meses de febrero a agosto en ZI y de febrero a septiembre en SE, en total 7 y 11 aplicaciones, respectivamente, el control de plagas se realizó con pesticidas químicos; y 3) testigo absoluto. Se empleó un diseño completamente al azar con 4 unidades experimentales homogéneas por tratamiento constituidas por nueve árboles. De cada tratamiento se cosecharon frutos de aguacate en madurez fisiológica (26 y 29 % de materia seca en ZI y SE, respectivamente). Posteriormente se almacenaron hasta madurez de consumo en condiciones ambientales.

Evaluación postcosecha

Por cada tratamiento se cosecharon 100 frutos de las cuatro unidades experimentales los cuales se repartieron para la evaluación de cada variable. La severidad de antracnosis se evaluó en una muestra de 20 frutos, de acuerdo con una escala hedónica, donde: daño ligero (DL), menos del 10 % de la superficie del fruto tenía síntomas, tales como lesiones oscuras y pudrición; daño moderado (DM), entre el 10–20 % de la superficie del fruto tenía daños; y daño severo (DS), más del 20 % de la superficie del fruto tuvo síntomas. La pérdida de peso (diferencias de peso a madurez de consumo respecto al peso inicial correspondiente a madurez fisiológica), se registró diariamente con una balanza digital en 10 frutos por tratamiento y expresando los resultados en porcentaje. La firmeza del mesocarpio se determinó con un texturómetro Chatillón (Wagner Force Five modelo FDV-30, Greenwich, USA) con puntal cónico de 7 mm, en dos puntos opuestos de la zona ecuatorial de cinco frutos cada dos días y reportando los datos en Newtons (N).

El color del exocarpio (CE) se midió en 10 frutos (los mismo usados para evaluar la pérdida de peso) con un colorímetro de reflexión Hunter Lab, modelo D25 (Reston,

Virginia, USA,)), aplicando el sistema CIE Lab, para determinar los valores L^* , a^* y b^* ; los cuales se usaron para calcular el índice de color ($IC = 10a^*b^*/L^*$) (Zarazúa-Escobar *et al.*, 2005). La determinación de las concentraciones de P, K, Ca y Mg se realizó en cuatro frutos, de acuerdo con lo descrito por Alcántar-González y Sandoval-Villa (1999). La concentración de N se determinó mediante destilación de la muestra y titulación con ácido sulfúrico.

Análisis estadístico

Se realizaron análisis de varianza de las variables en estudio y las medias de tratamientos se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los dos municipios, el periodo de lluvias inició en mayo, en SE se presentó mayor PP (1666 mm) que en ZI (1263 mm), concentrada entre julio-octubre. Respecto a la T, en ZI las máximas y mínimas promedio de los meses más calientes (mayo y junio) y fríos (enero y febrero), fueron 20, 21 y 15, 16 °C, respectivamente; y en SE las máximas y mínimas promedio de los mismos meses, fueron 17.5, 17.4 y 12.7, 14 °C, respectivamente. Septiembre fue el mes de mayor HR en ZI y SE (91.35 y 93.16 % promedio mensual, respectivamente).

Respecto al daño de antracnosis en los frutos de aguacate de ambos huertos éste fue predominantemente ligero, menos del 10 % de la superficie del fruto tuvo síntomas, en los tres tratamientos ($p \leq 0.05$), por lo que se descarta que la baja incidencia de la enfermedad sea un efecto de tratamientos. En este estudio se pudo corroborar que tanto la T como la PP y la HR mensual son factores de gran importancia en la incidencia de antracnosis. La ausencia de DM y DS en los frutos 'Méndez' pudo deberse a que el fruto no estuvo expuesto el tiempo suficiente a las condiciones ambientales que favorecieran el desarrollo del hongo.

Tapia-Rodríguez *et al.* (2020) mencionan que la temperatura, la precipitación y la humedad relativa mensual son factores de gran importancia en la incidencia de la antracnosis. De acuerdo con Bruce da Silva y Michereff (2013) la enfermedad es severa con temperaturas de 24 a 28 °C y alta humedad relativa, lo que podría explicar el DL encontrado en los frutos de las dos localidades. Una explicación al DL poscosecha de antracnosis en los tres tratamientos tiene que ver con los antecedentes de los huertos, donde se incluían prácticas de fertirriego, podas, control de maleza, control químico y biológico de plagas y enfermedades, fertilización química y orgánica; se trata de huertos tipificados como de alta tecnificación (Ramírez-Legarreta y Jacobo-Cuéllar, 2002). Muchas de las causas de afectaciones de calidad poscosecha y desórdenes fisiológicos suelen ser atribuidos al manejo precosecha (Ferguson *et al.*, 1999); lo cual explica la calidad y control de antracnosis poscosecha en frutos del huerto de estudio. Otra razón por la que se observó daño predominantemente ligero de antracnosis poscosecha, es que los frutos no estuvieron expuestos por un tiempo prolongado a las condiciones meteorológicas propicias para el desarrollo del hongo, ya que las primeras alertas de

predicción de antracnosis se presentaron a inicios de junio y se cosechó en julio y septiembre en ZI y SE, respectivamente. Ávila-Quezada *et al.* (2002) mencionan que se requieren las condiciones ambientales favorables por 4 h continuas para que la infección por *Colletotrichum gloeosporioides* ocurra.

En SE, la pérdida de peso y firmeza fue mayor en los tres tratamientos al llegar a madurez de consumo, que en ZI (Cuadros 1 y 2); por lo que a mayor porcentaje de materia seca (MS) y mayor altitud, los frutos presentaron más pérdida de peso y de firmeza, y menos durabilidad. De acuerdo con López-López y Cajuste-Bontemps (1999),

Cuadro 1. Pérdida de peso de frutos de aguacate ‘Méndez’ de dos huertos comerciales (Ziracuaretiro (ZI) y Salvador Escalante (SE), Michoacán, México), cosechados y almacenados a temperatura ambiente (24±2 y 22±2 °C, respectivamente) hasta madurez de consumo con manejo convencional, manejo integrado y sin aplicaciones (testigo).

Tratamiento	Día									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ZI										
CM	0	0.8±0.1a	1.8±0.3a	2.6±0.5ab	3.7±0.7a	4.6±0.9a	5.4±1.1a	6.6±1.3a	7.4±1.6a	8.5±1.8a
IM	0	0.7±0.1b	1.5±0.2b	2.3±0.3b	3.2±0.4a	4.1±0.5a	4.8±0.7a	5.8±0.8a	6.6±0.9a	7.6±0.0a
Testigo	0	0.8±0.1a	1.9±0.3a	2.8±0.4a	3.8±0.5a	4.8±0.7a	5.7±0.7a	6.9±0.8a	7.8±0.9a	8.9±1.0a
SE										
CM	0	1.2±0.2a	2.6±0.2a	4.1±0.3a	5.4±0.4a	8.4±0.8a	10.0±1.0a			
IM	0	1.0±0.2a	2.1±0.3b	3.2±0.4b	4.2±0.5b	6.4±1.0b	7.5±1.1b			
Testigo	0	1.3±0.3a	2.7±0.5a	4.3±0.7a	5.7±1.0a	8.4±1.4a	8.7±0.5ab			

a,b Medias con letras distintas en cada día de evaluación y huerto indican diferencia estadística (Tukey; $p \leq 0.05$); n = 4. MC: manejo convencional; MI: manejo integrado. Medias ± desviación estándar.

Cuadro 2. Firmeza de frutos de aguacate ‘Méndez’ de dos huertos comerciales (Ziracuaretiro (ZI) y Salvador Escalante (SE), Michoacán, México), cosechados y almacenados a temperatura ambiente (24±2 y 22±2 °C, respectivamente) hasta madurez de consumo con manejo convencional, manejo integrado y sin aplicaciones (testigo).

Tratamiento	Día				
	2	4	6	8	9
ZI					
CM	17.5±0.2a	15.5±0.4b	12.2±0.7a	10.5±0.3b	8.3±0.3b
IM	17.4±0.2a	16.8±0.5a	12.4±0.7a	12.0±0.7a	9.6±0.7a
Testigo	16.3±0.4b	15.8±0.6b	11.5±0.7a	10.4±0.5b	9.4±0.3a
SE					
CM	17.7±0.5a	15.3±0.1a	12.3±0.5a	0.3±0.2a	
IM	18.5±0.7a	15.4±0.4a	12.6±0.5a	0.7±0.7a	
Testigo	15.8±0.3b	14.8±0.3a	12.2±0.5a	0.1±0.2a	

a,b Medias con letras distintas en cada día de evaluación y huerto, indican diferencia estadística (Tukey; $p \leq 0.05$); n = 4. MC: manejo convencional; MI: manejo integrado. Medias ± desviación estándar.

la pérdida fisiológica de peso se asocia con el tipo de floración y la altitud, siendo las altitudes media y alta (1700 y 2100 m), de floración aventajada, las que reportan valores mayores. Estos resultados difieren de los señalados por Fischer *et al.* (2019) quienes infieren que los frutos producidos a altitud mayor (2580 m) tienen mayor peso, presentando en poscosecha menor pérdida de peso y firmeza. La pérdida de peso y deshidratación durante el almacenamiento y la maduración, determinan la vida útil y calidad del aguacate maduro (Escobar *et al.*, 2019).

La firmeza se correlaciona bien con la madurez del aguacate, está disminuye progresivamente desde la cosecha hasta una textura suave de la pulpa (Uarrota *et al.*, 2020). Aun cuando la pérdida de peso en SE fue mayor que en ZI, los frutos de cada uno de los tratamientos en madurez de consumo, presentaron una apariencia externa e interna sin daños y además no hubo frutos con síntomas de deshidratación. Los datos obtenidos de la variable color externo (IC) muestran que al momento del corte los frutos provenientes de SE presentaron valores más altos que en ZI, es decir, frutos con un mayor valor cromático, los cuales también tuvieron un mayor contenido de aceite (Cuadro 3). Estos resultados de ZI coinciden con los reportados por Rosas-Flores *et al.* (2016) quienes obtuvieron una disminución del IC en el exocarpio de frutos de aguacate cv. 'Méndez' de 37.06 a 2.17, durante la maduración. No se detectó efecto significativo de tratamientos en el color del exocarpio del aguacate 'Méndez' ($p \leq 0.05$). El análisis nutrimental del mesocarpio de los frutos de ZI (Cuadro 4) muestra que con el tratamiento MI hubo mayor concentración de P (0.24 %) en comparación a los tratamientos MC y testigo (0.19 y 0.17 %, respectivamente), esta diferencia puede ser atribuible a la aplicación del fosfito de potasio; sin embargo, en la localidad de SE esta respuesta no se presentó, aunque sí tuvo mayores concentraciones de Ca y Mg. Salazar-García *et al.* (2019) indica que además del tipo de manejo, existen muchos factores

Cuadro 3. Índice de color de frutos de aguacate 'Méndez' de dos huertos comerciales (Ziracuaretiro (ZI) y Salvador Escalante (SE), Michoacán, México), cosechados y almacenados a temperatura ambiente (24 ± 2 y 22 ± 2 °C, respectivamente) hasta madurez de consumo con manejo convencional, manejo integrado y sin aplicaciones (testigo).

Tratamiento	Día						
	1	2	3	4	5	6	7
ZI							
CM	32.2±3.7a	30.3±5.9a	28.2±4.3a	22.7±2.4a	18.4±1.6a	15.2±2.9a	13.3±3.3a
IM	34.4±2.6a	29.5±4.9a	23.9±4.6a	17.6±3.1b	14.2±2.1b	13.9±2.8a	10.5±2.3a
Testigo	35.4±1.9a	31.8±3.5a	24.5±2.1a	21.4±2.9ab	17.3±4.4ab	12.4±2.5a	11.4±4.1a
SE							
CM	46.7±6.7a	43.7±5.1a	43.4±3.5a	40.6±6.2a	38.3±2.4a	34.9±3.1a	31.2±2.6a
IM	42.6±5.3a	41.0±5.7a	39.2±4.6a	38.1±4.5a	34.1±5.5ab	31.4±5.4a	30.0±2.6a
Testigo	41.0±0.9a	40.9±2.6a	38.7±0.6a	34.6±6.7a	30.6±6.9b	9.1±4.5b	6.4±4.5b

a,b Medias con letras distintas en cada día de evaluación y huerto, indican diferencia estadística (Tukey; $p \leq 0.05$); n = 4. MC: manejo convencional; MI: manejo integrado. Medias ± desviación estándar.

Cuadro 4. Concentración de macronutrientes (materia seca) en el mesocarpio de frutos de aguacate ‘Méndez’ de dos huertos comerciales (Ziracuaretiro (ZI) y Salvador Escalante (SE), Michoacán, México), con manejo convencional, manejo integrado y sin aplicaciones (testigo).

Localidad	Tratamiento	(%)				
		N	P	K	Ca	Mg
ZI	MC	1.13±0.08a	0.19±0.00b	0.70±0.40a	0.09±0.00b	0.08±0.00b
	MI	1.27±0.18a	0.24±0.01a	0.68±0.08a	0.08±0.00b	0.09±0.00a
	Testigo	1.12±0.1a	0.17±0.00b	0.58±0.03a	0.10±0.00a	0.07±0.00b
SE	MC	0.84±0.08a	0.16±0.00ab	0.58±0.04a	0.09±0.00c	0.07±0.00b
	MI	0.71±0.18b	0.12±0.01b	0.50±0.08b	0.11±0.00a	0.08±0.00a
	Testigo	0.70±0.1b	0.18±0.00a	0.55±0.03a	0.10±0.00b	0.07±0.00b

a,b Medias con letras distintas en cada nutrimento y huerto, indican diferencia estadística (Tukey; $p \leq 0.05$); n = 4. MC: manejo convencional; MI: manejo integrado. Medias \pm desviación estándar.

que podrían ser responsables de la concentración nutrimental por tratamiento y por huerto además del cultivar de aguacate. Por otro lado, la concentración de K resultó ser baja y media para N, P, Ca y Mg en ambas localidades. Con excepción del K las concentraciones de N, P, Ca, y Mg en el fruto son semejantes a los reportados para el cv. ‘Méndez’ por Salazar-García *et al.* (2021).

CONCLUSIONES

Los frutos de aguacate ‘Méndez’ no presentaron daño de antracnosis, debido a que el desarrollo del fruto coincidió con la época de estiaje y fue cosechado antes de estar expuesto a las condiciones propicias para el desarrollo del hongo. Sin embargo, es conveniente realizar más estudios de los tratamientos que incluyan otras localidades, ciclos agrícolas y en períodos del año en donde las condiciones climáticas sean más para el desarrollo de la enfermedad.

En los frutos se observó que aquellos con porcentaje de materia seca elevado y mayor altitud presentaron pérdida de peso mayor y disminuyó la firmeza. Los frutos en ambas localidades mostraron un perfil de índice de color con tendencia a la disminución. El tipo de manejo de cultivo no implicó un incremento en la concentración nutrimental del mesocarpio del fruto.

REFERENCIAS

- Alcántar-González G, Sandoval-Villa M. 1999. Manual de análisis químico de tejido vegetal. Guía de muestreo, preparación, análisis e interpretación. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo A. C.: Chapingo, México. 156 p.
- APEAM (Asociación de Productores y Exportadores de aguacate de México). 2014. Listado de plaguicidas recomendado para el cultivo del aguacate. Uruapan, México. <http://www.apeamac.com> (Recuperado: enero 2019).
- Ávila-Quezada GD, Téliz-Ortiz D, González-Hernández H, Vaquera-Huerta H, Tijerina-Chávez L, Johansen-Naime R, Mojica-Guzmán A. 2002. Dinámica espacio-temporal de la roña (*El-sinoe perseae*), el daño asociado a trips y antracnosis (*Glomerella cingulata*) del aguacate en Michoacán, México. Revista Mexicana de Fitopatología 20 (1): 77–87.

- Bruce da Silva CF, Michereff SJ. 2013. Biology of *Colletotrichum* spp. and epidemiology of anthracnose in tropical fruit trees. *Revista Caatinga* 26 (4): 130–138.
- Campos-Martínez A, Velázquez-del Valle MG, Flores-Moctezuma HE, Suárez-Rodríguez R, Ramírez-Trujillo JA, Hernández-Lauzardo AN. 2016. Antagonistic yeasts with potential to control *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. and *Colletotrichum acutatum* J.H. Simmonds on avocado fruits. *Crop Protection* 89: 101–104. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.07.001>
- Costa BHG, de Resende ML, Monteiro ACA, Ribeiro Júnior PM, Botelho DM dos S, da Silva BM. 2018. Potassium phosphites in the protection of common bean plants against anthracnose and biochemical defence responses. *Journal of Phytopathology* 166 (2): 95–102. <https://doi.org/10.1111/jph.12665>
- Dong F, Li J, Chankvetadze B, Cheng Y, Xu J, Liu X, Li Y, Chen X, Bertucci C, Tedesco D, Zanasi R, Zheng Y. 2013. Chiral triazole fungicide difenoconazole: Absolute stereochemistry, stereoselective bioactivity, aquatic toxicity, and environmental behavior in vegetables and soil. *Environmental Science and Technology* 47 (7): 3386–3394. <https://doi.org/10.1021/es304982m>
- Escobar JV, Rodríguez P, Cortes M, Correa G. 2019. Influencia de la materia seca como índice de madurez de cosecha y tiempo de almacenamiento en frío sobre la calidad del aguacate cv. Hass producido en la región del Trópico Alto. *Información Tecnológica* 30 (3): 199–210. <https://doi.org/10.4067/s0718-07642019000300199>
- Ferguson, I, Volz R, Woolf A. 1999. Preharvest factors affecting physiological disorders of fruit. *Postharvest Biology and Technology* 15 (3): 255–262. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(98\)00089-1](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(98)00089-1)
- Fischer G, Camacho-Tamayo JH, Parra-Coronado A. 2019. Influencia de las condiciones climáticas de cultivo en la calidad en cosecha y en el comportamiento postcosecha de frutos de Feijoa. *Revista Tecnología en Marcha* 32 (8): 86–92.
- Fisher MC, Hawkins NJ, Sanglard D, Gurr SJ. 2018. Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security. *Science* 360 (6390): 739–742. <https://doi.org/10.1126/science.aap7999>
- Guardado-Valdivia L, Tovar-Pérez E, Chacón-López A, López-García U, Gutiérrez-Martínez P, Stoll PA, Aguilera S. 2018. Identification and characterization of a new *Bacillus atrophaeus* strain B5 as biocontrol agent of postharvest anthracnose disease in soursop (*Annona muricata*) and avocado (*Persea americana*). *Microbiological Research* 210: 26–32. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.01.007>
- Gupta PK. 2017. Herbicides and fungicides. In *Reproductive and Developmental Toxicology*, Gupta RC. (ed.). Academic Press: Cambridge, MA, USA, pp: 657–679.
- López-López L, Cajuste-Bontemps JF. 1999. Comportamiento postcosecha de fruta de aguacate cv. Hass con base en la altitud de producción y tipo de floración. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 5: 365–371.
- Luengas-Gómez CA, Roa-Vásquez MD, Orrego-Vásquez JD. 2012. Evaluation of a prebiotic and potassium for the control of anthracnose in the tree tomato. *Agronomía Colombiana* 30 (2): 230–235.
- Machinandiarena MF, Lobato MC, Feldman ML, Daleo GR, Andreu AB. 2012. Potassium phosphite primes defense responses in potato against *Phytophthora infestans*. *Journal of Plant Physiology* 169 (14): 1417–1424. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2012.05.005>
- Ogoshi C, de Abreu MS, da Silva BM, Neto HS, Ribeiro Junior OM, de Resende MLV. 2013. Potassium phosphite: A promising product in the management of diseases caused by *Colletotrichum gloeosporioides* in coffee plants. *Biosciencia Journal* 29 (1): 1558–1565.
- Ramírez-Legarreta MR, Jacobo-Cuéllar JL. 2002. Impacto ambiental del uso de plaguicidas en huertos de manzano del noroeste de Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 20 (2): 168–173.
- Rosas-Flores N, Saucedo-Veloz C, García-Osorio C, Saucedo-Reyes D. 2016. Producción de etileno y cambios asociados a la maduración de frutos de aguacate 'Hass' y 'Carmen Hass'. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 17 (1): 24–29.

- Salazar-García S, Álvarez-Bravo A, Ibarra-Estrada ME, Mellado-Vázquez A. 2019. Accumulation of nutrients during the development of 'Méndez' avocado fruit. *Terra Latinoamericana* 37 (4): 469–478. <https://doi.org/10.28940/terra.v37i4.547>
- Salazar-García S, Mellado-Vázquez A, Ibarra-Estrada ME, Herrera-González JA, Álvarez-Bravo A. 2021. Remoción de nutrimentos por frutos de aguacate Méndez. *Revista Fitotecnia Mexicana* 44 (2): 151–159.
- Tapia-Rodríguez A, Ramírez-Dávila JF, Salgado-Siclán ML, Castañeda-Vildózola Á, Maldonado-Zamora FI, Lara-Díaz AV. 2020. Distribución espacial de antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) en aguacate en el Estado de México, México. *Revista Argentina de Microbiología* 52 (1): 72–81. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.07.004>
- Uarrota VG, Hernandez I, Ponce-Guequen E, Vidal-Cruz J, Fuentealba C, Defilippi BG, Lindh V, Zulueta C, Chirinos R, Campos D, Pedreschi R. 2020. Unravelling factors associated with 'blackspot' disorder in stored Hass avocado (*Persea americana* Mill) fruit. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 95 (6): 804–815. <https://doi.org/10.1080/14620316.2020.1763860>
- Udayanga D, Manamgoda DS, Liu X, Chukeatirote E, Hyde KD. 2013. What are the common anthracnose pathogens of tropical fruits? *Fungal Diversity* 61 (1): 165–179. <https://doi.org/10.1007/s13225-013-0257-2>
- Xu SJ, Hong SJ, Choi W, Kim BS. 2014. Antifungal activity of *Paenibacillus kribbensis* strain T-9 isolated from soils against several plant pathogenic fungi. *Plant Pathology Journal* 30 (1): 102–108. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.05.2013.0052>
- Zarazúa-Escobar JA, Martínez-Damián MT, Colinas-León MT, Barrientos-Priego AF, Aguilar-Melchor JJ. 2005. Frigoconservación y atmósferas modificadas en frutos de aguacate mínimamente procesado. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 11 (1): 143–148.

DESCRIPTIVE STUDY OF THE CAPACITY OF SIX HILLSIDE SOIL MANAGEMENT SYSTEMS IN THE CONTROL OF SURFACE RUNOFF

Rigoberto Zetina-Lezama, Sergio Uribe-Gómez, Ángel Capetillo-Burela*, Néstor Francisco-Nicolás, Cármen Aridaí Hernández-Estrada, Marco Antonio Reynolds-Chávez

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Cotaxtla. Carretera Veracruz-Córdoba km 34.5, Medellín de Bravo, Veracruz, México. C. P. 94270.

*Author for correspondence: capetillo.angel@inifap.gob.mx

ABSTRACT

On tropical hillsides, torrential rains cause surface runoff that removes soil particles, nutrients and agro-inputs. This process limits soil fertility, agrosystem productivity and the rural economy. A descriptive study was conducted on a hillside in Los Tuxtlas, Veracruz, Mexico, to study water runoff and its runoff coefficients in four modalities of the “milpa intercropped with fruit trees” (MIAF) system, traditional and zero tillage, under rainfed conditions. The systems were established with a systematic design of treatments, without repetitions, between 2003 and 2011: 1) Milpa intercropped in chicozapote (*Manilkara zapota*), with sediment filter and minimum tillage (MIAF-CH-CF-LM); 2) Milpa intercropped with Persian lemon (*Citrus x latifolia*), with sediment filter and minimum tillage (MIAF-L-CF-LM); 3) Milpa intercropped in carambolo (*Averrhoa carambola*), with sediment filter and minimum tillage (MIAF-C-CF-LM); 4) Milpa intercropped in carambolo, without sediment filter and zero tillage (MIAF-C-SF-L0); 5) Zero tillage with crop residue distribution over the surface (L0); and 6) Minimum tillage with crop residue burning and tracking (LM-QR). From August 2016 to February 2018, a 50 m² runoff lot was installed in each system. Surface runoff was measured every 24 h; runoff sheet and runoff coefficient. The MIAF system reduced surface runoff by 46.13 % with respect to that obtained in LM-QR. The MIAF systems with sediment filter and zero tillage without filter presented similar runoff and runoff coefficient values. The MIAF-CH-CF-LM system recorded the lowest runoff value among systems with tillage and filter. The L0 system showed the lowest volume and runoff coefficient.

Keywords: Zero tillage, MIAF, erosion, chicozapote, lemon, carambolo.

INTRODUCTION

Surface runoff is one of the main factors that give rise to the physical and chemical degradation of agricultural soils through erosion (Díaz-Padilla *et al.*, 2012). The climatic pressure typical of tropical regions exposes hillside areas to a degradation process that soon limits their fertility and seriously affects the productivity of agricultural systems. This problem limits current and potential land use and is of utmost importance in countries located in the tropics, as producers insist on colonizing marginal areas located on steep slopes.

Citation: Zetina-Lezama R, Uribe-Gómez S, Capetillo-Burela A, Francisco-Nicolás N, Hernández-Estrada CA, Reynolds-Chávez MA. 2023. Descriptive study of the capacity of six hillside soil management systems in the control of surface runoff.

Agrociencia 57(1): 150-176. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v57i1.2408>

Editor in Chief:

Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: July 27, 2021.

Approved: December 01, 2022.

Published in Agrociencia:

January 30, 2023.

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



Authors such as Bolaños-González *et al.* (2016) and Porta-Casanellas *et al.* (2014) mention that about 64 % of the Mexican territory is exposed to a process of extreme erosion. In the region of Los Tuxtlas, Veracruz, an agricultural area of 61 160 ha was recorded (SIAP, 2018), of which more than 50% was found located in areas with steep slopes in the municipalities of Catemaco, San Andrés and Santiago Tuxtla. In the same year, in these three municipalities, the most important crop was maize (*Zea mays* L.) with an area of more than 44 000 ha, established in two crop cycles (SIAP, 2020). In the Tuxtlas, plantings are normally established in small production units, with low or no use of external inputs, in marginal or restrictive agroecosystems for agriculture (Bermeo *et al.*, 2014). In Nayarit, Mexico, in regions similar to Los Tuxtlas, surface runoff levels lead to erosion rates that exceed allowable limits (Nájera-González *et al.*, 2016). This leads to a rapid loss of topsoil and increases the risk that the crop will be affected by drought to the extent of making a hillside unproductive (Camas-Gómez *et al.*, 2012).

Apart from the benefits that conservation agriculture has demonstrated in agricultural soils (Friedrich *et al.*, 2012; Cadena-Iñiguez *et al.*, 2018), some research (Martínez-Esponda *et al.*, 2016; Turrent-Fernández *et al.*, 2017) considers this technology to be poorly functional in small production units located in hillside areas. Turrent-Fernández *et al.* (2017) proposed as a more suitable alternative to the MIAF system as “it is more compatible with traditional agriculture and its resources, particularly with its native seeds and self-production”; it also reduces surface runoff. For this reason, it is important to evaluate and compare crop management systems that can be implemented in hillside areas of tropical regions, in order to identify those that allow the conservation of water and soil resources, to make these agricultural areas profitable and sustainable.

The objective of this work was to evaluate, by means of a descriptive study, the capacity of four modalities of the MIAF system, the local tillage system and the zero tillage system, to control, under natural precipitation conditions, water runoff caused by surface runoff on a hillside cultivated with corn and fruit species in the Los Tuxtlas Region, Veracruz, Mexico. It is proposed that under the climate and soil conditions that occur in that region, the sediment filters used in the MIAF system reduce surface runoff with respect to the values observed in the traditional system that includes residue burning and minimum soil tillage.

MATERIALS AND METHODS

The study was conducted during the period from 2016 to 2018, in a plot with moderate slope less than 20 %, representative of the hillside agroecosystem, in the region of Los Tuxtlas. The site is located in the locality of Axochío, in San Andres Tuxtla, Veracruz, Mexico (18° 20' 0.5" N, 95° 17' 57.7" W), at an altitude of 60 m with an AW0 climate, mean annual precipitation of 1720.6 mm and a mean temperature of 27.0 °C (de la Vega-Leinert *et al.*, 2018). The soil is a cambisol with vertic properties of clay loam texture, poor in macronutrients, organic matter and slightly acid pH (6.4).

The systems studied were installed in the field starting in 2003 with a systematic design of treatments, without repetitions, in a total area of 10,000 m². In 2003, the following treatments were established: 1) Milpa intercropped with chicozapote (*Manilkara zapota*), with sediment filter and minimum tillage (MIAF-CH-CF-LM); and in 2011, 2) Milpa intercropped with Persian lemon (*Citrus x latifolia*), with sediment filter and minimum tillage (MIAF-L-CF-LM); 3) Milpa intercropped with carambolo (*Averrhoa carambola*), with sediment filter and minimum tillage (MIAF-C-CF-LM); and 4) Milpa intercropped with carambolo, without sediment filter and zero tillage (MIAF-C-SF-L0). In addition, treatments 5) Zero tillage with distribution of crop residues over the surface (Lo) and 6) Minimum tillage with burning of crop residues and a trace (LM-QR) were included.

To reduce compaction of the arable layer, all treatments, except 4 and 5, were plowed once a year, with a single pass of heavy harrowing, during the month of May before the onset of the rainy season. In treatments 1, 2 and 3 the sediment filter was formed with the stubble or pruning products of the fruit trees placed horizontally intertwined in the tree trunks. In 4 and 5, the soil was not plowed at any time and the entire corn stubble produced in the spring-summer and fall-winter cycles was left in the field. In all MIAF systems, the tree canopy was adjusted by pruning to one-third of the total area and the corn crop to the remaining two-thirds. Soil preparation for planting and weed control was done with systemic herbicides (Glyphosate and 2,4-D amine) and desiccants (Paraquat); whereas, in treatment 6, preparation was done by burning crop residues at the end of the crop year and rototilling the soil with a heavy harrow at the beginning of the rainy season.

To evaluate surface runoff in each of the six treatments, a runoff lot (LE) of 2 m wide by 25 m long (50 m²), delimited with 20 cm high galvanized zinc sheeting of 22 caliber (0.8 mm), was installed on the slope. The LE discharged downstream into a screen connected to a triangular section with a sloped floor, which was covered with a canvas, as this area was not included in the LE. This section was connected to a 5.08 cm diameter polyduct, which was buried 20 cm deep to convey runoff to a battery of three 100 L capacity collection tanks (Figure 1). The first tank collected a runoff sample, of which one fifth was sent to a second tank, which captured another sample and sent one eleventh to a third tank.

From August 2016 to April 2017 and July 2017 to February 2018, rainfall data were collected, in the morning, every 24 h, with a pair of 70 mm plastic rain gauges, one located at the top of the hillside and the other at the bottom of the experimental site. The data obtained were grouped by rainfall events and accumulated monthly rainfall. After each rainfall event, the runoff height in the tanks was measured, with which the volume (L) was calculated, the runoff volume (mm) and the runoff coefficient (%) was determined by dividing the runoff volume by the daily precipitation. The volume of water lost in each system was calculated as the cumulative sum of the amount of rainfall lost through surface runoff in each of the systems evaluated. Furthermore, the corresponding percentage was calculated in relation to the rainfall that occurred from August 2016 to April 2017 and from July 2017 to February 2018.

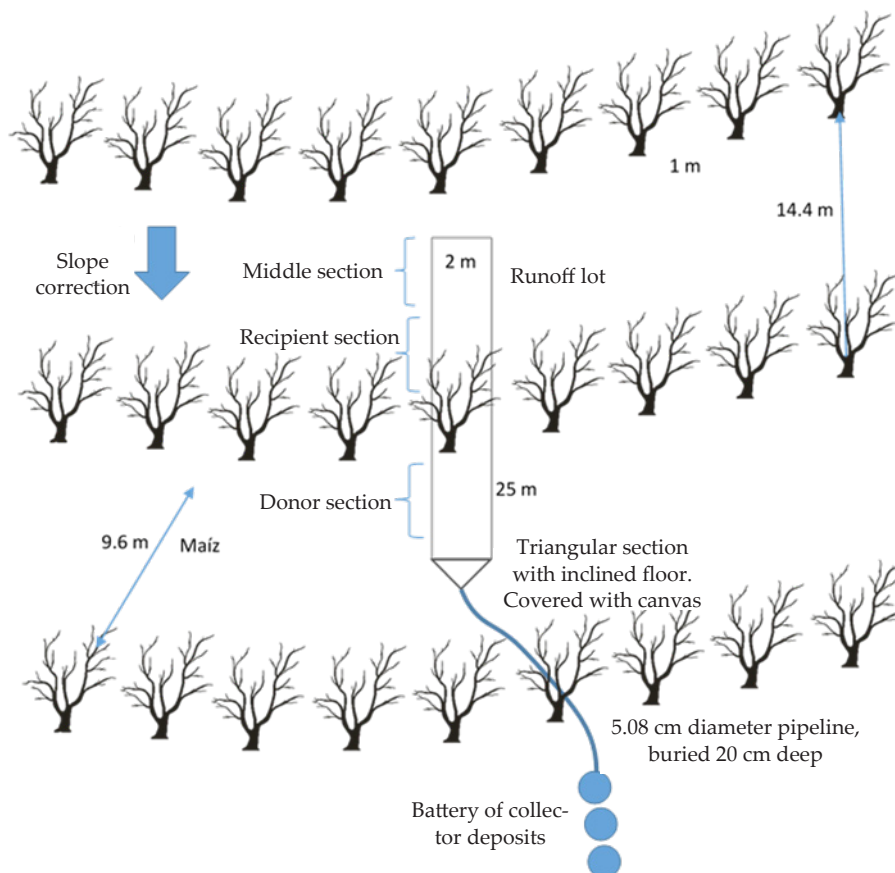


Figure 1. Location of the runoff lot in each of the six management systems studied in hillside soils of the Los Tuxtlas region, Veracruz, Mexico.

The data obtained were concentrated in a spreadsheet to obtain the necessary centralization and dispersion statistics and to be able to describe the capacity of each of the six systems evaluated in the control of surface runoff.

RESULTS AND DISCUSSION

Surface runoff 2016-17 (Q)

In the monthly summary of surface runoff occurred during the period from August 2016 to April 2017, it can be corroborated that the most important surface runoff volumes occurred during the months of August, September and October, coinciding with the wettest months of the year (Figure 2).

Other runoff events of lesser intensity occurred in November, December, March and April. In all cases, the highest Q values occurred in the LM-QR treatment and the lowest in the systems that included zero tillage and distribution of crop residues over the soil surface. The highest value of surface runoff (143.9 mm) was recorded in the

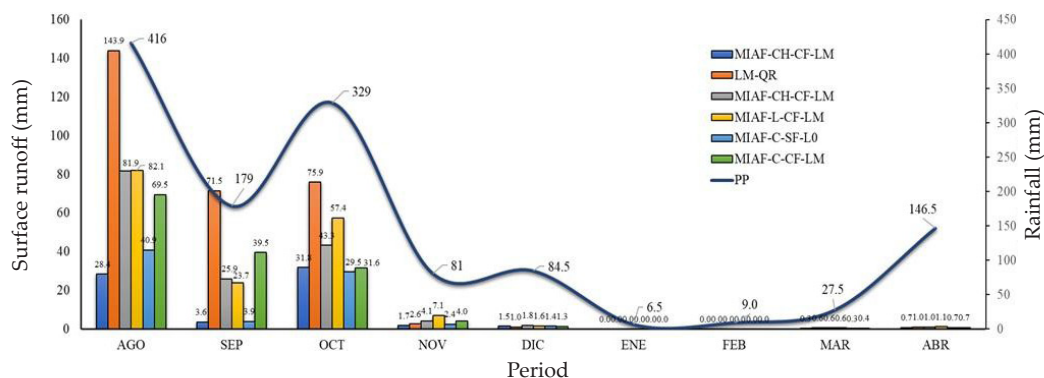


Figure 2. Rainfall and surface runoff recorded at the experimental site from August 2016 to April 2017, in six management systems established on hillside soils in the town of Axochio, municipality of San Andrés Tuxtla, Veracruz, Mexico. L0: Zero tillage with crop residues on the surface; LM-QR: Burning of crop residues and a trace; MIAF-CH-CF-LM: Milpa intercropped in Persian lemon, with filter and a trace; MIAF-L-CF-LM: Milpa interspersed in chicozapote, with filter and a trace; MIAF-C-SF-L0: Milpa intercropped in carambolo, without filter and zero tillage; MIAF-C-CF-LM: Milpa intercropped in carambolo, with a filter and a tracing.

LM-QR treatment during August, the wettest month of the year, with 13 rainy days, of which 11 (84.61 %) resulted in surface runoff of different magnitudes.

In August, on all occasions when rainfall greater than 5 mm occurred, surface runoff was recorded in all management systems. At that time of the year, the corn grown in these plots was in the early flowering stage, so part of the soil surface was not protected by the crop. In October, with a record of 20 rainy days, of which 14 (70 %) caused surface runoff; the crop, close to harvest, and weeds reduced surface runoff.

The runoff sheets recorded during this period ranged from 67.9 to 296.5 mm in the L0 and LM-QR treatments, respectively. On average, the management systems that included the MIAF system had 53% less runoff (139.5 vs. 296.5 mm) than that recorded in the LM-QR treatment equivalent to the traditional maize cropping system in the Los Tuxtlas region (Figure 3). According to González-Cervantes *et al.* (2006), although surface runoff depends on factors such as soil moisture, soil compaction, topography and vegetation cover, the amount and intensity of rainfall is a determining factor, as observed during the first study cycle.

Zero tillage systems stand out for their low runoff values: Lo (67.9 mm) and MIAF-C-SF-L0 (79 mm) since in both cases there was no sediment filter. In these systems, it was observed that crop residues intercepted rainfall before impacting the soil, reduced surface runoff, increased the infiltration rate and consequently reduced soil erosion by interfering with runoff over the entire surface of the land. Similar experiences, related to lower runoff sheet, have been reported in various parts of the world (Llanes-Hernández *et al.*, 2015; Vettorello *et al.*, 2017).

The three MIAF systems with filter that were evaluated presented similar surface runoff values (158.5, 173.6 and 147 mm); their average value was 159.7 mm, which

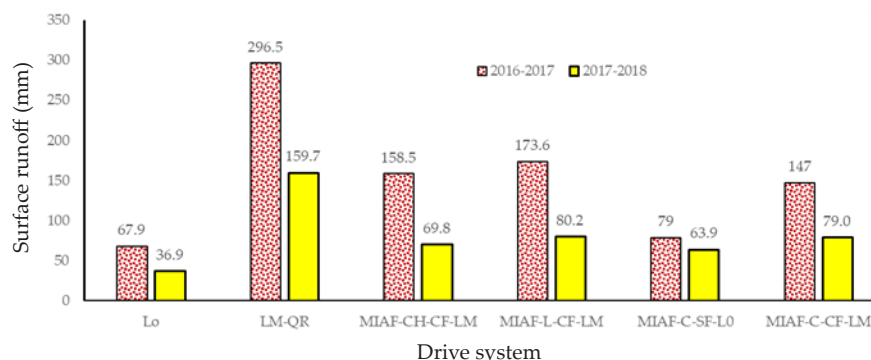


Figure 3. Total surface runoff occurred in the cycle from August 2016 to April 2017 and June 2017 to February 2018 in six management systems established on hillside soils in the town of Axochío, municipality of San Andrés Tuxtla, Veracruz, Mexico. L0: Zero tillage with crop residues on the surface; LM-QR: Burning of crop residues and a trace; MIAF-CH-CF-LM: Milpa intercropped in Persian lemon, with filter and a trace; MIAF-L-CF-LM: Milpa interspersed in chicozapote, with filter and a trace; MIAF-C-SF-L0: Milpa intercropped in carambolo, without filter and zero tillage; MIAF-C-CF-LM: Milpa intercropped in carambolo, with a filter and a tracing.

was 136.8 mm less than that recorded in the LM-QR treatment; that is, the traditional management system recorded a runoff volume that was 85.6 % greater than those observed in the MIAF system.

The total runoff volume (79.01 mm) observed in the MIAF-C-SF-Lo system was 50.2, 54.5 and 46.26 % lower than the MIAF-CH-CF-LM, MIAF-L-CF-LM and MIAF-C-CF-LM treatments, respectively (Table 1). As mentioned in previous paragraphs, the total runoff volume recorded in the MIAF-C-SF-L0 treatment was only comparable to that recorded in the L0 treatment (67.9 mm). Similar results, although not as convincing,

Table 1. Rainwater loss (%) by surface runoff, in reference to the precipitation occurred, from August 2016 to April 2017, in six crop management systems established on hillside soils in the Los Tuxtlas region, Veracruz, Mexico.

Variable	Management system					
	L0	LM-QR	MIAF-CH-CF-LM	MIAF-L-CF-LM	MIAF-C-SF-L0	MIAF-C-CF-L0
Accumulated precipitation (mm)	1204.5	1204.5	1204.5	1204.5	1204.5	1204.5
Lost sheet (mm)	67.9	296.5	158.52	173.61	79.01	147.0
Runoff [†]	5.64	24.62	13.16	14.41	6.56	12.2

[†] Percentage of runoff with respect to the total volume of rainfall; L0: Zero tillage with crop residues on the surface; LM-QR: Burning of crop residues and a trace; MIAF-CH-CF-LM: Milpa intercropped in Persian lemon, with filter and a trace; MIAF-L-CF-LM: Milpa interspersed in chicozapote, with filter and a trace; MIAF-C-SF-L0: Milpa intercropped in carambolo, without filter and zero tillage; MIAF-C-CF-LM: Milpa intercropped in carambolo, with a filter and a tracing.

were reported by Camas-Gómez *et al.* (2012) by studying the benefits of the Living Wall Terrace system in a fluvisol with a loamy texture, located on a hillside with a 9 % slope, in the Fraylesca region, Chiapas, Mexico.

The results indicate that in the LM-QR system about 25 % of the rainfall was lost, while in the treatments that included the MIAF system, rainwater loss by surface runoff ranged from 12.2 % in the MIAF-C-CF-L0 system to 14.41 % in the MIAF-L-CF-LM system. The lowest percentages of rainwater loss were 5.64 % in the L0 system and 6.56 % in the MIAF-C-SF-L0 system; in both treatments the soil was not rototilled and crop residues were spread on the soil surface. The LM-QR system recorded a water loss percentage of 24.62 %, which was 120 % higher than the average of the treatments that included the MIAF system (11.58 %).

Runoff coefficient

The lowest coefficients were recorded in the treatments that included zero tillage (L0:0.0341 and MIAF-C-SF-L0: 0.0394) while the highest (0.16) occurred in the LM-QR system (Table 2).

The values obtained in this study for the maize systems with conservation tillage (L0) and MIAF were lower than those observed by Camas-Gómez *et al.* (2012) in a Typic haplustepts with a slope > 30 % and a mean annual precipitation of 1457 mm. Although the topographic and climatic conditions were similar to those recorded in this work, the existing discrepancies in the L0 system (18.6 vs. 3.4) may be attributed to the fact that Camas-Gómez *et al.* (2012) left only 30 % of maize stubble residues (1.3 Mg

Table 2. Runoff coefficients observed in the cycle from August 2016 to April 2017 and July 2017 to February 2018, in six management systems established on hillside soils in the town of Axochío, municipality of San Andres Tuxtla, Veracruz, Mexico.

Managment systems	Observation period	
	August 2016-April 2017	July 2017-February 2018
MIAF-CH-CF-LM	0.084	0.024
MIAF-L-CF-LM	0.097	0.022
MIAF-C-CF-LM	0.112	0.026
MIAF-C-SF-L0	0.039	0.023
LM-QR	0.160	0.069
L0	0.034	0.015
Average MIAF [†]	0.083	0.024
SD	0.031	0.002

L0: Zero tillage with crop residues on the surface; LM-QR: Burning of crop residues and a trace; MIAF-CH-CF-LM: Milpa intercropped in Persian lemon, with filter and a trace; MIAF-L-CF-LM: Milpa interspersed in chicozapote, with filter and a trace; MIAF-C-SF-L0: Milpa intercropped in carambolo, without filter and zero tillage; MIAF-C-CF-LM: Milpa intercropped in carambolo, with a filter and a tracing. [†]Includes MIAF systems with filter and trace; SD= Standard deviation.

ha⁻¹), which, according to FAO (2000) and Velázquez *et al.* (2002) it may be insufficient to protect the soil from loosening and removal, resulting in a longer exposure time to erosive agents.

Surface runoff 2017-18 (Q)

For this agricultural cycle, the most important surface runoff volumes occurred during September and October; these coincided with the wettest months of the year, which denotes a broad relationship in the levels of precipitation and surface runoff, which generally has a potential and polynomial behavior (Núñez-López *et al.*, 2014). Other rainfall events of lower intensity occurred in July and November, resulting in lower runoff levels (Figure 4). Unlike the 2016 cycle, in 2017, August was a dry month and consequently with low surface runoff volume (Q). As in 2016, in all cases the highest Q values occurred in the LM-QR system and the lowest in the systems that included zero tillage and distribution of crop residues over the soil surface (L0 and MIAF-C-SF-L0). The two highest surface runoff values (67.1 and 63.5 mm) were recorded in the LM-QR system in September and October, respectively. It is worth mentioning that both were the two wettest months of the year, and that a total of 33 rainy days occurred during this period, of which 24 (72.7%) resulted in surface runoff of different magnitudes. In July, precipitation levels greater than 4 mm caused surface runoff in the six management systems studied. At this time of the year, the corn grown in these plots was in the vegetative stage of development, so the soil surface was not yet fully protected by the crop. In dry soil conditions (September), there was surface runoff only on days with rainfall greater than 14 mm; at this time of the year the maize, at

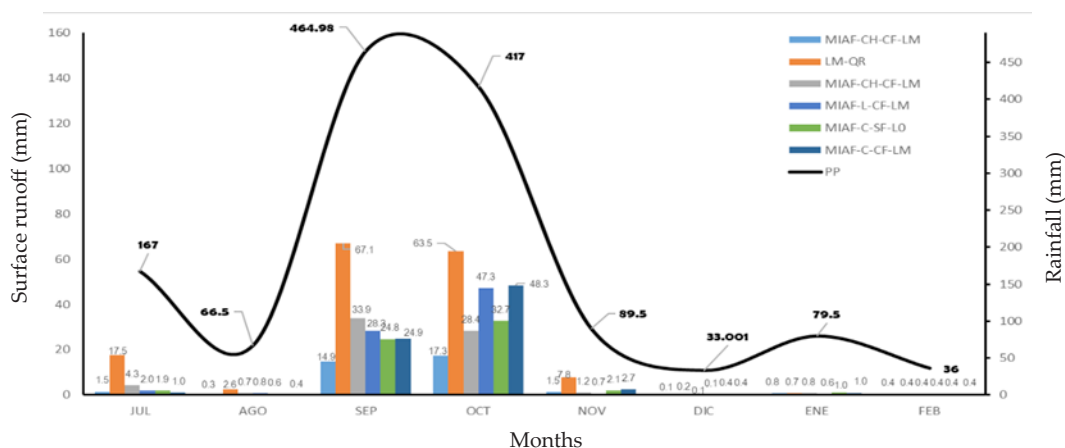


Figure 4. Surface runoff occurred monthly in the cycle from August 2016 to April 2017, in six management systems established on hillside soils in the town of Axochio, municipality of San Andres Tuxtla, Veracruz, Mexico. L0; Zero tillage with crop residues on the surface; LM-QR: Burning of crop residues and a trace; MIAF-CH-CF-LM: Milpa intercropped in Persian lemon, with filter and a trace; MIAF-L-CF-LM: Milpa interspersed in chicozapote, with filter and a trace; MIAF-C-SF-L0: Milpa intercropped in carambolo, without filter and zero tillage; MIAF-C-CF-LM: Milpa intercropped in carambolo, with a filter and a tracing.

the grain filling stage, and the weeds present between the rows reduced the impact of rainfall and surface runoff.

Total surface runoff sheets recorded in the July 2017 to February 2018 cycle ranged from 36.9 to 159.7 mm in the L0 and LM-QR treatments, respectively (Figure 3). For this case, the trend observed in the 2017-18 cycle was preserved. The management systems that included the MIAF system with filter and minimum tillage presented a runoff sheet that varied from 69.8 to 80.2 mm, with a mean 52.2 % lower (76.3 vs. 159 mm) than that registered in the LM-QR treatment, equivalent to the traditional maize cultivation system used in the hillside areas of the Los Tuxtlas region. The difference observed between these treatments is practically the same as that recorded for the 2016-17 cycle (53.0 %).

As was the case in the 2016-17 cycle, the two zero-tillage systems stand out for their low runoff values: L0 (36.9 mm) and MIAF-C-SF L0 (63.9 mm), where the sediment filter was not included and crop residues were placed on the soil surface. The importance of organic residues in the process of reducing surface runoff was discussed in previous pages and technically supported by the work of Llanes-Hernández *et al.* (2015) and Vettorello *et al.* (2019).

During 2017, the total runoff volume recorded in the MIAF-C-SF-L0 system, was slightly lower than that obtained in 2016 (63.9 vs. 79.0 mm); however, in 2017, the absolute differences of this treatment with respect to the other three MIAF systems evaluated were appreciably lower with values of 8.45, 20.32, 19.11 % for the MIAF-CH-CF-LM, MIAF-L-CF-LM and MIAF-C-CF-LM systems, respectively. Although 2017 was a wetter year than 2016, the difference between the mean of the three MIAF systems with filter and minimum tillage with respect to the value obtained in the MIAF system without filter and zero tillage was much lower (15.96 vs. 50.32 %); if this trend is maintained, it is feasible to hypothesize that, in the long term, it may be the same to spread crop residues on the soil surface as to concentrate these residues in a sediment filter.

Regarding the volume of water lost by surface runoff in each of the six management systems, and the percentage of water loss with respect to the total rainfall occurred from July 2017 to February 2018, the results indicate that in the LM-QR system, 11.8 % of the rainfall occurred, while in the treatments that included the MIAF system the rainwater loss by surface runoff ranged from 4.7 % (MIAF-C-SF-L0) to 5.9 % (MIAF-L-CF-LM). The lowest percentages of rainwater loss were 2.7 % in the L0 system and 4.7 % in the MIAF-C-SF-L0 system; in both systems the soil was not disturbed and crop residues were spread on the soil surface (Table 3).

Runoff coefficient

For this cycle also the lowest coefficients were recorded in the treatments that included zero tillage (L0 = 0.015 and MIAF-C-SF-L0 = 0.023) while the highest (0.069) was in the LM-QR treatment (Table 2). The values obtained in this cycle for the L0 (0.015) and MIAF (mean: 0.024) were also lower than those observed (0.186 and 0.12, respectively)

Table 3. Rainwater loss (%) by surface runoff, with reference to the precipitation occurred, from July 2017 to February 2018, in six crop management systems established on hillside soils in the Los Tuxtlas region, Veracruz, Mexico.

Variable	Management system					
	L0	LM-QR	MIAF-CH-CF-LM	MIAF-L-CF-LM	MIAF-C-SF-L0	MIAF-C-CF-L0
Accumulated precipitation (mm)	1353.5	1353.5	1353.5	1353.5	1353.5	1353.5
Lost sheet (mm)	36.9	159.7	69.8	80.2	63.9	79.0
Runoff (%) [†]	2.7	11.8	5.2	5.9	4.7	5.8

[†]Percentage of runoff with respect to the total volume of rainfall; L0: Zero tillage with crop residues on the surface; LM-QR: Burning of crop residues and a trace; MIAF-CH-CF-LM: Milpa intercropped in Persian lemon, with filter and a trace; MIAF-L-CF-LM: Milpa interspersed in chicozapote, with filter and a trace; MIAF-C-SF-L0: Milpa intercropped in carambolo, without filter and zero tillage; MIAF-C-CF-LM: Milpa intercropped in carambolo, with a filter and a tracing.

by Camas-Gómez *et al.* (2012) in a Typic haplustepts with a slope > 30 % and a mean annual precipitation of 1457 mm. Although the topographic and climatic conditions were similar, the existing discrepancies in the L0 system (0.186 vs. 0.015) may also be due, as cited previously, to the fact that Camas-Gómez *et al.* (2012) left only 30 % maize stubble residue (1.3 Mg ha⁻¹) on the soil surface.

Joint analysis of the 2016-17 and 2017-18 cycles.

Although the management systems and cropping patterns were the same in the two agricultural years studied, the distribution, amount and intensity of rainfall varied slightly. For this reason, the values observed in each of the six management systems for the surface runoff and runoff coefficient variables may vary from one year to another; however, patterns of behavior are expected to indicate the trend followed by both variables in each of the treatments.

According to the results presented in Table 4, if we take as a reference the traditional management system, with reduced tillage and burning of crop residues, per hectare, the MIAF system decreased the volume of surface runoff 46.13 % by reducing the volume of water runoff from 228.1 (±96.8) to 118.02 (±59.0) mm; that is, under the conditions in which the experiment was conducted, in an agricultural year (PV + OI), the MIAF system was able to infiltrate the soil and consequently retain within the agrosystem up to 110 L of water per square meter. This increased water capture is an important factor in areas where annual rainfed crops are established due to the current trend of climate change that implies lower humidity and higher temperatures. The fact that the MIAF significantly reduces surface runoff indicates that the system is capable of contributing to a substantial reduction in erosion processes, nutrient runoff and agrochemical molecule leakage. Furthermore, by reducing the surface

Table 4. Average values obtained in the six management systems for the variables volume and runoff coefficient in the 2017 and 2018 cycles in hillside soils cultivated with corn in the region of Los Tuxtlas, Veracruz, Mexico.

Management system	Surface runoff			Runoff coefficient		
	2016	2017	mean	2016	2017	Mean
L0	67.9	36.9	52.4	0.034	0.015	0.024
LM-QR	296.5	159.7	228.1	0.160	0.069	0.114
MIAF-CH-CF-LM	158.5	69.8	114.2	0.083	0.023	0.053
MIAF-L-CF-LM	173.6	80.2	126.9	0.096	0.021	0.059
MIAF-C-SF-L0	79.0	63.9	71.4	0.039	0.023	0.031
MIAF-CF-LM	147.0	79.0	113.0	0.112	0.026	0.069
Mean [†]	159.7	76.3	118.0	0.097	0.023	0.060

L0: Zero tillage with crop residues on the surface; LM-QR: Burning of crop residues and a trace; MIAF-CH-CF-LM: Milpa intercropped in Persian lemon, with filter and a trace; MIAF-L-CF-LM: Milpa interspersed in chicozapote, with filter and a trace; MIAF-C-SF-L0: Milpa intercropped in carambolo, without filter and zero tillage; MIAF-C-CF-LM: Milpa intercropped in carambolo, with filter and one tracer; [†]Includes MIAF systems with filter and one tracer.

runoff process, the water infiltration process is proportionally increased, which favors crop development, the reserve of subway aquifers and the development of soil fauna (Regüés-Muñoz *et al.*, 2012).

Similarly, runoff coefficients imply losses of 6.0 % (± 5.0) in the MIAF system, while in the Traditional System losses can total up to 11.47 % (± 6.0) of the total rainfall that caused runoff. In this case, the lower runoff values in the MIAF system should be attributed to the presence of the sediment filter placed in the row of fruit trees, while the higher values observed in the traditional system (LM-QR) are justified by the lack of soil protection against the erosive effect of rainfall, since in this system all crop residues and weeds were burned.

The characteristic of the MIAF system of retaining a greater amount of moisture in the sediment filter, located upstream of the row of fruit trees, gives rise to a zone of high microbiological activity, with high mineralization rates, rich in nutrients and organic matter; this zone, in the mid-term, will have the capacity to allow the development of vigorous trees with a high productive capacity. Two years after its implementation, the L0 system, with distribution of crop residues on the soil surface, stands out as the treatment with the lowest average runoff volume (54.4 mm; ± 21.9) and the lowest runoff coefficient (2.4 %; ± 1.0). A similar, but greater, behavior was also observed in the MIAF-C-SF-L0 system, which has a similar management system, although it was implemented more than 7 years ago, which could justify a greater compaction of the topsoil and therefore greater surface runoff.

Between the MIAF systems that included the sediment filter and zero soil tillage, no differences were found in the averages of both variables (Table 4). Among the three treatments studied, the lowest value (5.3 %; ± 4.0) corresponded to the MIAF-CH-CF-

LM, which is possibly due to greater stability of the system since it is seven years older than the other MIAF systems included in the trial.

CONCLUSIONS

The milpa system intercropped with fruit trees reduced surface runoff by 46.13% with respect to the runoff values obtained in the traditional system with minimum tillage and burning of crop residues. Between the systems that included the sediment filter and zero soil tillage, no differences were found in average surface runoff and runoff coefficient. Of the three systems of milpa intercropped with fruit trees with tillage and sediment filter, the lowest value corresponded to the system with chicozapote, filter and minimum tillage. The zero tillage system with crop residue distribution on the soil surface had the lowest runoff volume and runoff coefficient.

REFERENCES

- Bermeo A, Couturier S, Galeana-Pizaña M. 2014. Conservation of traditional smallholder cultivation systems in indigenous territories: Mapping land availability for milpa cultivation in the Huasteca Poblana, Mexico. *Applied Geography* 53: 299–310. <https://doi.org/10.1016/j.apgeog.2014.06.003>
- Bolaños-González MA, Paz-Pellat F, Cruz Gaistardo CO, Argumedo Espinoza JA, Romero Benítez VM, de la Cruz Cabrera JC. 2016. Mapa de erosión de los suelos de México y posibles implicaciones en el almacenamiento de carbono orgánico del suelo. *Terra Latinoamericana* 34 (3): 271–288.
- Cadena-Iñiguez P, Camas-Gómez R, López-Báez W, López-Gómez H del C, González-Cifuentes JH. 2018. El MIAF, una alternativa viable para laderas en áreas marginadas del sureste de México: caso de estudio en Chiapas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 9 (7): 1351–1361. <https://doi.org/10.29312/remexca.v9i7.1670>
- Camas-Gómez R, Turrent-Fernández A, Cortes-Flores JI, Livera-Muñoz M, González-Estrada A, Villar-Sánchez B, López-Martínez J, Espinoza-Paz N, Cadena-Iñiguez P. 2012. Erosión del suelo, escurrimiento y pérdida de nitrógeno y fósforo en laderas bajo diferentes sistemas de manejo en Chiapas, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 3 (2): 231–243. <https://doi.org/10.29312/remexca.v3i2.1459>
- de la Vega-Leinert A, Brenner L, Stoll-Kleemann S. 2018. El café de sombra: ¿una alternativa viable para campesinos en regiones marginadas? El caso de la reserva de la biosfera Los Tuxtlas, México. *In: Conocimiento, ambiente y poder. Perspectivas desde la ecología política. El Colegio de San Luis, A.C.: San Luis Potosí, México*, pp: 235–25. https://www.researchgate.net/publication/337021584_El_cafe_de_sombra_una_alternativa_viable_para_campesinos_en_regiones_marginadas_El_caso_de_la_reserva_de_la_biosfera_Los_Tuxtlas_Mexico (Recuperado: junio 2021).
- Díaz-Padilla G, Sánchez-Cohen I, Guajardo-Panes R, Barbosa-Moreno F, Gómez-Cárdenas M, Uribe-Bernal J. 2012. Modelación espacial de la producción de agua superficial de lluvia en la zona sur del estado de Puebla, México. *Tecnología y Ciencias del Agua* 3: 69–84.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación). 2000. Manual de prácticas integradas de manejo y conservación de suelo. Boletín de tierras y agua de la FAO No. 8. Roma, Italia. <https://www.midagri.gob.pe/portal/download/pdf/ais-2015/manual-pract-integradas.pdf> (Recuperado: junio 2021).
- Friedrich T, Derpsch R, Kassam A. 2012. Overview of the Global Spread of Conservation Agriculture. *Field Actions Science Reports* 2012 (6): 1941.
- González-Cervantes G, Estrada-Ávalos J, González-Barrios JL, Cueto-Wong JA, Sánchez-Cohen I, Castillo-Santillán G. 2006. Análisis de los factores que afectan la relación precipitación-escurrimiento en una zona semiárida del norte de México. *Terra Latinoamericana* 24 (3): 337–345.

- Llanes-Hernández JM, Cabrera-Carcedo E, de la Nuez-Hernández E. 2015. Influencia de la agricultura de conservación sobre el suelo y el cultivo del tabaco en San Juan y Martínez, Cuba. *Revista Avances* 17 (4): 318–326.
- Martínez-Esponda FX, Benítez-Keinrad M, Ramos-Pedruza-Ceballos X, García Maning G, Bracamontes Nájera L, Vázquez Quesada B. 2016. Informe sobre la pertinencia de biocultural de la legislación mexicana y su política pública para el campo. El caso del programa “modernización sustentable de la agricultura tradicional (MasAgro). Centro Mexicano de Derecho Ambiental, A.C.: México. <https://www.cemda.org.mx/publicaciones-y-estudios-del-cemda/informe-sobre-la-pertinencia-biocultural-de-la-legislacion-mexicana-y-su-politica-publica-para-el-campo/> (Recuperado: julio 2021).
- Nájera-González O, Bojórquez-Serrano JI, Flores-Vilchez F, Murray-Núñez RM, González-García-Sancho A. 2016. Water erosion risk and soil loss estimation in volcanic geomorphological landscapes of Mexico. *Cultivos Tropicales* 37 (2): 45–55. <http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.1.3942.5527>
- Núñez-López D, Treviño-Garza EJ, Reyes-Gómez VM, Muñoz-Robles CA, Aguirre-Calderón OA, Jiménez-Pérez J. 2014. Uso de modelos de regresión para interpolar espacialmente la precipitación media mensual en la cuenca del río Conchos. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 5 (2): 201–213. <https://doi.org/10.29312/remexca.v5i2.960>
- Porta-Casanellas J, López-Acevedo M, Poch-Claret RM. 2014. *Edafología uso y protección de suelos* (4a edición). Mundi-Prensa: Madrid, España. 624 p.
- Regüés-Muñoz P, Serrano-Muela MP, Nadal-Romero E, Lana-Renaul N. 2012. Análisis de la variabilidad temporal de la infiltración en un gradiente de degradación de usos del suelo en el Pirineo Central. *Cuaternario y Geomorfología* 26 (2): 9–28.
- SIAP (Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2018. Estadísticas de la producción Agrícola 2016. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. México. <https://datos.gob.mx/busca/dataset/estadistica-de-la-produccion-agricola> (Recuperado: abril 2021).
- SIAP (Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2020. Estadísticas de la producción Agrícola 2020. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. México. http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/ResumenProducto.do (Recuperado: abril 2021).
- Turrent-Fernández A, Cortés-Flores JI, Espinosa-Calderón A, Hernández-Romero E, Camas-Gómez R, Torres-Zambrano JP, Zambada Martínez A. 2017. MasAgro o MIAF ¿Cuál es la opción para modernizar sustentablemente la agricultura tradicional de México? *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 8 (5): 1169–1185. <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i5.116>
- Velázquez GJJ, Salinas GJR, Potter KN, Gallardo VM, Caballero HF, Díaz MP. 2002. Cantidad, cobertura y descomposición de residuos de maíz sobre el suelo. *Terra Latinoamericana* 20 (2): 171–182.
- Vettorello CI, Clemente JP, Esmoriz GF, Díaz CC, Cotorás DA, Molina L, Cotés L. 2017. Prácticas de conservación para la reducción de inundaciones. *AUGM DOMUS* 5: 37–52.

ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA CAPACIDAD DE SEIS SISTEMAS DE MANEJO DE SUELOS DE LADERA EN EL CONTROL DEL ESCURRIMIENTO SUPERFICIAL

Rigoberto Zetina-Lezama, Sergio Uribe-Gómez, Ángel Capetillo-Burela*, Néstor Francisco-Nicolás, Cármen Aridaí Hernández-Estrada, Marco Antonio Reynolds-Chávez

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Cotaxtla. Carretera Veracruz-Córdoba km 34.5, Medellín de Bravo, Veracruz, México. C. P. 94270.

*Autor para correspondencia: capetillo.angel@inifap.gob.mx

RESUMEN

En las laderas tropicales las lluvias torrenciales propician escurrimientos superficiales que remueven partículas de suelo, nutrientes y agroinsumos. Este proceso limita la fertilidad edáfica, la productividad del agrosistema y la economía campesina. Para estudiar las fugas de agua por escurrimiento superficial y sus coeficientes de escurrimiento, en cuatro modalidades del sistema “milpa intercalada en árboles frutales” (MIAF), tradicional y labranza cero, en condiciones de temporal, se realizó un estudio descriptivo en una ladera de Los Tuxtlas, Veracruz, México. Los sistemas fueron establecidos con un diseño sistemático de tratamientos, sin repeticiones, entre 2003 y 2011: 1) Milpa intercalada en chicozapote (*Manilkara zapota*), con filtro de sedimentos y labranza mínima (MIAF-CH-CF-LM); 2) Milpa intercalada con limón persa (*Citrus x latifolia*), con filtro de sedimentos y labranza mínima (MIAF-L-CF-LM); 3) Milpa intercalada en carambolo (*Averrhoa carambola*), con filtro de sedimentos y labranza mínima (MIAF-C-CF-LM); 4) Milpa intercalada en carambolo, sin filtro de sedimentos y labranza cero (MIAF-C-SF-L0); 5) Labranza cero con distribución de los residuos de cosecha sobre la superficie (L0); y 6) Labranza mínima con quema de residuos de cosecha y rastreo (LM-QR). De agosto de 2016 a febrero de 2018, en cada sistema se instaló un lote de escurrimiento de 50 m². Se midió el escurrimiento superficial cada 24 h; lámina escurrida y coeficiente de escurrimiento. El sistema MIAF redujo 46.13 % el escurrimiento superficial respecto al obtenido en LM-QR. Los sistemas MIAF con filtro de sedimentos y labranza cero sin filtro presentaron valores similares de escurrimiento y coeficiente de escurrimiento. El sistema MIAF-CH-CF-LM registró el menor valor de escurrimiento entre sistemas con labranza y filtro. El sistema L0 mostró el volumen y coeficiente de escurrimiento más bajo.

Palabras clave: Labranza cero, MIAF, erosión, chicozapote, limón, carambolo.

INTRODUCCIÓN

El escurrimiento superficial es uno de los principales factores que dan origen a la degradación física y química de los suelos agrícolas a través de la erosión (Díaz-Padilla

Citation: Zetina-Lezama R, Uribe-Gómez S, Capetillo-Burela A, Francisco-Nicolás N, Hernández-Estrada CA, Reynolds-Chávez MA. 2023. Estudio descriptivo de la capacidad de seis sistemas de manejo de suelos de ladera en el control del escurrimiento superficial. *Agrociencia* 57(1): 150-176. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v57i1.2408>

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: July 27, 2021.
Approved: December 01, 2022.
Published in Agrociencia:
January 30, 2023.

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



et al., 2012). La presión climática propia de las regiones tropicales expone a las áreas de ladera a un proceso de degradación que en poco tiempo limita su fertilidad y afecta seriamente la productividad de los sistemas agrícolas. Este problema limita el uso actual y potencial del suelo y es de suma importancia en los países ubicados en los trópicos, ya que los productores insisten en colonizar áreas marginales ubicadas en laderas con pendientes pronunciadas.

Autores como Bolaños-González *et al.* (2016) y Porta-Casanellas *et al.* (2014) mencionan que cerca del 64 % del territorio mexicano está expuesto a un proceso de erosión extrema. En la región de Los Tuxtlas, Veracruz, se registró una superficie agrícola de 61 160 ha (SIAP, 2018), de la cual más del 50 % se encontró ubicada en áreas con pendiente pronunciada en los municipios de Catemaco, San Andrés y Santiago Tuxtla. En ese mismo año, en estos tres municipios, el cultivo más importante fue el maíz (*Zea mays* L.) con una superficie mayor a las 44 000 ha, establecidas en dos ciclos de cultivo (SIAP, 2020). En los Tuxtlas, las siembras normalmente se establecen en pequeñas unidades de producción, con bajo o nulo uso de insumos externos, en agroecosistemas marginales o restrictivos para la agricultura (Bermeo *et al.*, 2014). En Nayarit, México, en regiones similares a Los Tuxtlas, los niveles de escurrimiento superficial conducen a tasas de erosión que rebasan los límites permisibles (Nájera-González *et al.*, 2016). Esto conlleva a una pérdida rápida de la capa arable y aumenta el riesgo de que el cultivo sea afectado por la sequía hasta el grado de hacer improductiva a una ladera (Camas-Gómez *et al.*, 2012).

Al margen de los beneficios que ha demostrado la agricultura de conservación en los suelos agrícolas (Friedrich *et al.*, 2012; Cadena-Iñiguez *et al.*, 2018), algunas investigaciones (Martínez-Esponda *et al.*, 2016; Turrent-Fernández *et al.*, 2017) consideran que esta tecnología es poco funcional en las pequeñas unidades de producción ubicadas en zonas de laderas. Turrent-Fernández *et al.* (2017) propusieron como una alternativa más adecuada al sistema MIAF ya que “es más compatible con la agricultura tradicional y con sus recursos, particularmente con sus semillas nativas y su autoproducción”; además reduce el escurrimiento superficial. Por esta razón, es importante evaluar y comparar sistemas de manejo de cultivos que puedan implementarse en áreas de ladera de las regiones tropicales, con el fin de identificar aquellos que permitan conservar los recursos de agua y suelo, para hacer rentables y sustentables estas áreas agrícolas. El objetivo del presente trabajo fue evaluar, mediante un estudio descriptivo, la capacidad de cuatro modalidades del sistema MIAF, el sistema local de labranza y el sistema labranza cero, para controlar en condiciones de precipitación natural, las fugas de agua ocasionadas por el escurrimiento superficial en una ladera cultivada con maíz y especies frutales en la Región de Los Tuxtlas, Veracruz, México. Se propone que bajo las condiciones de clima y suelo que ocurren en dicha región, los filtros de sedimentos que se utilizan en el sistema MIAF reducen el escurrimiento superficial respecto a los valores observados en el sistema tradicional que incluye la quema de residuos y la labranza mínima del suelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó durante el periodo de 2016 a 2018, en un terreno con pendiente moderada menor a 20 %, representativo del agroecosistema de laderas, en la región de Los Tuxtlas. El sitio está ubicado en la localidad de Axochío, en San Andrés Tuxtla, Veracruz, México (18° 20' 0.5" N, 95° 17' 57.7" O), a una altitud de 60 m con un clima AW0, precipitación media anual de 1720.6 mm y una temperatura media de 27.0 °C (de la Vega-Leinert *et al.*, 2018). El suelo es un cambisol con propiedades vérticas de textura franco-arcillosa, pobre en macronutrientes, materia orgánica y pH ligeramente ácido (6.4).

Los sistemas estudiados fueron instalados en campo a partir de 2003 con un diseño sistemático de tratamientos, sin repeticiones, en un área total de 10 000 m². En el 2003 se estableció el tratamiento 1) Milpa intercalada en chicozapote (*Manilkara zapota*), con filtro de sedimentos y labranza mínima (MIAF-CH-CF-LM); y en 2011 los tratamientos 2) Milpa intercalada con limón persa (*Citrus x latifolia*), con filtro de sedimentos y labranza mínima (MIAF-L-CF-LM); 3) Milpa intercalada en carambolo (*Averrhoa carambola*), con filtro de sedimentos y labranza mínima (MIAF-C-CF-LM); y 4) Milpa intercalada en carambolo, sin filtro de sedimentos y labranza cero (MIAF-C-SF-L0). Además, se incluyeron los tratamientos 5) Labranza cero con distribución de los residuos de cosecha sobre la superficie (Lo) y 6) Labranza mínima con quema de residuos de cosecha y un rastreo (LM-QR).

Para reducir la compactación de la capa arable, todos los tratamientos, excepto el 4 y 5, se roturaron una vez al año, con un solo paso de rastra pesada, durante el mes de mayo antes del inicio de la temporada de lluvias. En los tratamientos 1, 2 y 3 el filtro de sedimentos fue formado con el rastrojo o productos de la poda de los árboles frutales colocados horizontalmente entrelazados en los troncos de los árboles. En el 4 y 5, el suelo no fue roturado en ningún momento y se dejó en el campo la totalidad del rastrojo de maíz producido en los ciclos primavera-verano y otoño-invierno. En todos los sistemas MIAF, la copa de los árboles fue ajustada mediante poda a una tercera parte del total de la superficie y el cultivo de maíz a las dos terceras partes restantes. La preparación del suelo para la siembra y el control de arvenses se realizó con herbicidas sistémicos (Glifosato y 2,4-D amina) y desecantes (Paraquat); mientras que, en el tratamiento 6, la preparación se realizó mediante la quema de los residuos de cosecha al final del año agrícola y la roturación del suelo con una rastra pesada al inicio de la temporada de lluvias.

Para evaluar el escurrimiento superficial en cada uno de los seis tratamientos se instaló, a favor de la pendiente, un lote de escurrimiento (LE) de 2 m de ancho por 25 m de longitud (50 m²), delimitados con lámina de zinc galvanizada calibre 22 (0.8 mm) de 20 cm de altura. Los LE descargaron aguas abajo en una malla conectada a una sección triangular con piso inclinado, el cual se tapó con una lona, ya que esta área no quedó comprendida en el LE. Esta sección se conectó a un poliducto de 5.08 cm diámetro, el cual se enterró a 20 cm de profundidad para conducir el escurrimiento a una batería de tres depósitos colectores con capacidad de 100 L (Figura 1). El primer depósito

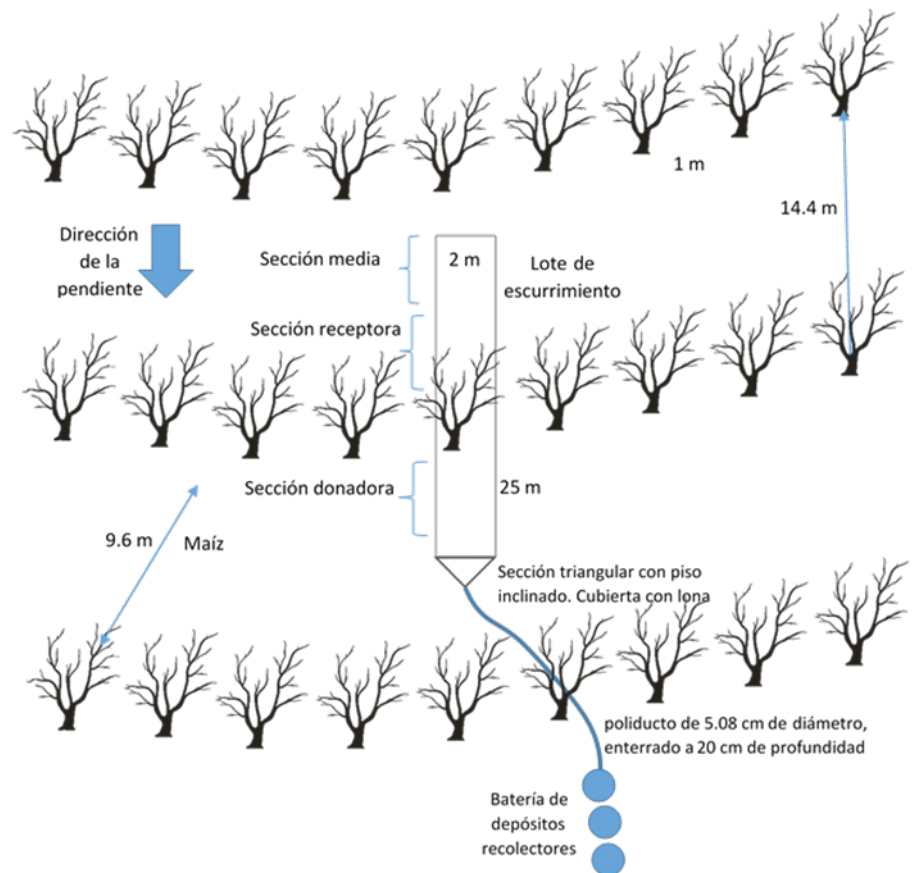


Figura 1. Ubicación del lote de escurrimiento en cada uno de los seis sistemas de manejo estudiados en suelos de ladera de la región de Los Tuxtlas, Veracruz, México.

colectó una muestra de escurrimiento, de la que se envió una quinta parte a un segundo depósito, el cual capturó otra muestra y envió una onceava parte a un tercer depósito. De agosto de 2016 a abril de 2017 y julio de 2017 a febrero de 2018 se tomaron los datos de precipitación pluvial, por la mañana, cada 24 h, con un par de pluviómetros de plástico de 70 mm, uno ubicado en la parte alta de la ladera y otro en la parte baja del sitio experimental. Los datos obtenidos fueron agrupados por eventos de lluvia y lámina mensual acumulada. Después de cada evento de lluvia se midió la altura del escurrimiento en los depósitos, con la cual se calculó el volumen (L), la lámina escurrida (mm) y se determinó el coeficiente de escurrimiento (%), con la división de la lámina escurrida entre la precipitación diaria. El volumen de agua perdido en cada sistema se calculó mediante la suma acumulada de las láminas de lluvia que se perdieron por escurrimiento superficial en cada uno de los sistemas evaluados. Además, se calculó el porcentaje correspondiente en relación con la precipitación pluvial ocurrida de agosto de 2016 al mes de abril de 2017 y de julio de 2017 a febrero de 2018.

Los datos obtenidos se concentraron en una hoja de cálculo para obtener los estadísticos de centralización y dispersión necesarios y poder describir la capacidad de cada uno de los seis sistemas evaluados en el control del escurrimiento superficial.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Escorrimento superficial 2016-17 (Q)

En el resumen mensual de los escurrimientos superficiales ocurridos durante el periodo de agosto de 2016 a abril de 2017, se puede corroborar que los volúmenes de escurrimiento superficial más importantes ocurrieron durante los meses de agosto, septiembre y octubre, coincidiendo con los meses más lluviosos del año (Figura 2).

Otros eventos de escurrimiento de menor intensidad se presentaron en noviembre, diciembre, marzo y abril. En todos los casos, los valores más altos de Q ocurrieron en el tratamiento LM-QR y los más bajos en los sistemas que incluyeron labranza cero y la distribución de los residuos de cosecha sobre la superficie del suelo. El valor más alto de escurrimiento superficial (143.9 mm) se registró en el tratamiento LM-QR durante agosto, mes más lluvioso del año, en el cual se presentaron 13 días con lluvia, de los cuales 11 (84.61 %) dieron lugar a escurrimientos superficiales de diferentes magnitudes.

En agosto, en todas las ocasiones en que se presentó una lluvia mayor a 5 mm, se registró escurrimiento superficial en todos los sistemas de manejo. En esa época del año, el maíz cultivado en estas parcelas se encontraba en la etapa de inicio de floración, por lo que, una parte de la superficie del suelo no estaba protegida por el cultivo. En octubre, con un registro de 20 días con lluvia, de los cuales 14 (70 %) provocaron escurrimiento

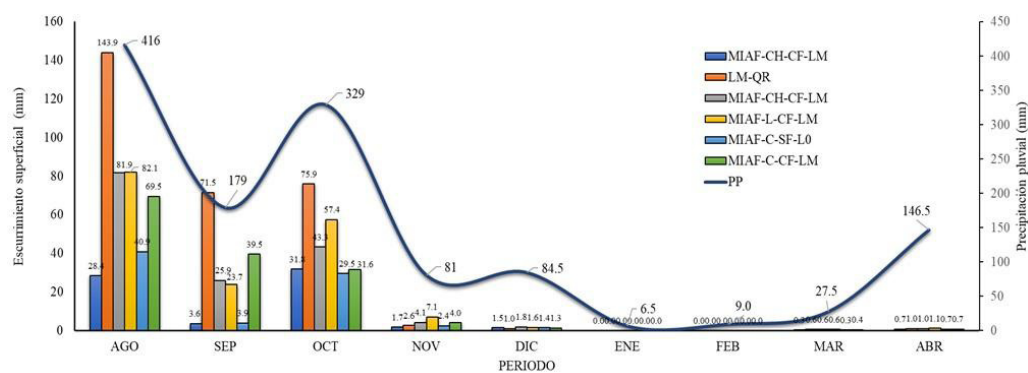


Figura 2. Precipitación pluvial y escurrimiento superficial registradas en el sitio experimental de agosto de 2016 a abril de 2017, en seis sistemas de manejo establecidos en suelos de ladera de la localidad de Axochío, municipio de San Andrés Tuxtla, Veracruz, México. L0: Labranza cero con residuos de cosecha sobre la superficie; LM-QR: Quema de residuos de cosecha y un rastreo; MIAF-CH-CF-LM: Milpa intercalada en limón persa, con filtro y un rastreo; MIAF-L-CF-LM: Milpa intercalada en chichzapote, con filtro y un rastreo; MIAF-C-SF-L0: Milpa intercalada en carambolo, sin filtro y labranza cero; MIAF-C-CF-LM: Milpa intercalada en carambolo, con filtro y un rastreo.

superficial; el cultivo, próximo a la cosecha, y las arvenses redujeron el escurrimiento superficial.

Las láminas de escurrimiento registradas en este periodo variaron en un rango de 67.9 a 296.5 mm en los tratamientos L0 y LM-QR, respectivamente. En promedio, los sistemas de manejo que incluyeron el sistema MIAF presentaron una lámina de escurrimiento 53 % menor (139.5 vs. 296.5 mm) que la registrada en el tratamiento con LM-QR equivalente al sistema tradicional de cultivo de maíz de la región de Los Tuxtlas (Figura 3). De acuerdo con González-Cervantes *et al.* (2006), aunque el escurrimiento superficial depende de factores como la humedad edáfica, el nivel de compactación del suelo, topografía y la cobertura vegetal, la cantidad e intensidad de la lluvia es un factor determinante, tal y como se observó durante el primer ciclo de estudio.

Sobresalen por sus valores bajos de escurrimiento los sistemas con labranza cero: L0 (67.9 mm) y MIAF-C-SF-L0 (79 mm) ya que en ambos casos no hubo filtro de sedimentos. En estos sistemas se observó que los residuos de cosecha interceptaron la lluvia antes de impactarse con el suelo, redujeron el escurrimiento superficial, incrementaron el índice de infiltración y en consecuencia disminuyeron la erosión del suelo al interferir el escurrimiento en toda la superficie del terreno. Experiencias similares, relacionadas con una menor lámina de escorrentía, han sido reportadas en diversas partes del mundo (Llanes-Hernández *et al.*, 2015; Vettorello *et al.*, 2017).

Los tres sistemas MIAF con filtro que fueron evaluados presentaron valores similares de escurrimiento superficial (158.5, 173.6 y 147 mm); su valor promedio fue de 159.7 mm, el cual fue 136.8 mm menor que el registrado en el tratamiento con LM-QR; es decir, el sistema de manejo tradicional registró un volumen de escurrimiento que fue 85.6 % mayor que los observados en el sistema MIAF.

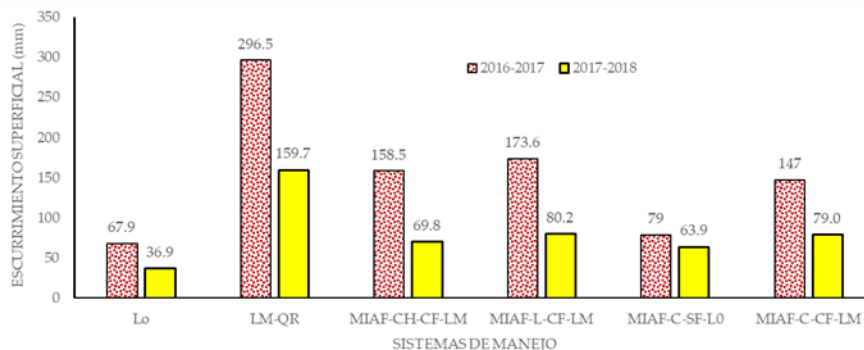


Figura 3. Escurrimiento superficial total ocurrido en el ciclo de agosto de 2016 a abril de 2017 y junio de 2017 a febrero de 2018 en seis sistemas de manejo establecido en suelos de ladera de la localidad de Axochío, municipio de San Andrés Tuxtla, Veracruz, México. L0: Labranza cero con residuos de cosecha sobre la superficie; LM-QR: Quema de residuos de cosecha y un rastreo; MIAF-CH-CF-LM: Milpa intercalada en limón persa, con filtro y un rastreo; MIAF-L-CF-LM: Milpa intercalada en chicozapote, con filtro y un rastreo; MIAF-C-SF-L0: Milpa intercalada en carambolo, sin filtro y labranza cero; MIAF-C-CF-LM: Milpa intercalada en carambolo, con filtro y un rastreo.

El volumen total de escurrimiento (79.01 mm) observado en el sistema MIAF-C-SF-L0, fue 50.2, 54.5 y 46.26 % menor que los tratamientos MIAF-CH-CF-LM, MIAF-L-CF-LM y MIAF-C-CF-LM, respectivamente (Cuadro 1). Como se citó en párrafos anteriores, el volumen de escurrimiento total registrado en el tratamiento MIAF-C-SF-L0 sólo fue equiparable al registrado en el tratamiento L0 (67.9 mm). Resultados similares, aunque no tan contundentes, fueron mencionados por Camas-Gómez *et al.* (2012) al estudiar las bondades del sistema de Terrazas de Muro Vivo en un fluvisol de textura franca, ubicada en una ladera con 9 % de pendiente, en la región de la Fraylesca, Chiapas, México.

Los resultados indican que en el sistema LM-QR se perdió cerca del 25 % de la precipitación ocurrida, mientras que en los tratamientos que incluyeron el sistema MIAF la pérdida de agua de lluvia por escurrimiento superficial osciló entre un 12.2 % en el sistema MIAF-C-CF-L0 a un 14.41 % en el sistema MIAF-L-CF-LM. Los menores porcentajes de pérdida de agua de lluvia fueron de 5.64 % en el sistema L0 y 6.56 % en el sistema MIAF-C-SF-L0; en ambos tratamientos no se roturó el suelo y se esparcieron los residuos de cosecha sobre la superficie del suelo. El sistema LM-QR registró un porcentaje de pérdida agua de 24.62 %, que fue 120 % mayor que el promedio de los tratamientos que incluyeron el sistema MIAF (11.58 %).

Coefficiente de escurrimiento

Los coeficientes más bajos se registraron en los tratamientos que incluyeron la labranza cero (L0:0.0341 y MIAF-C-SF-L0: 0.0394) mientras que el más alto (0.16) se presentó en el sistema LM-QR (Cuadro 2).

Los valores obtenidos en este estudio para los sistemas maíz con labranza de conservación (L0) y MIAF resultaron menores que los observados por Camas-Gómez *et al.* (2012) en un Typic haplustepts con una pendiente > 30 % y una precipitación media

Cuadro 1. Pérdida de agua de lluvia (%) por escurrimiento superficial, en referencia a la precipitación ocurrida, de agosto de 2016 a abril de 2017, en seis sistemas de manejo de cultivo establecidos en suelos de laderas de la región de Los Tuxtlas, Veracruz, México.

Variable	Sistema de manejo					
	L0	LM-QR	MIAF-CH-CF-LM	MIAF-L-CF-LM	MIAF-C-SF-L0	MIAF-C-CF-L0
Precipitación acumulada (mm)	1204.5	1204.5	1204.5	1204.5	1204.5	1204.5
Lamina perdida (mm)	67.9	296.5	158.52	173.61	79.01	147.0
Escurrimiento [†]	5.64	24.62	13.16	14.41	6.56	12.2

[†] Porcentaje de escurrimiento respecto al volumen total de lluvia ocurrida; L0: Labranza cero con residuos de cosecha sobre la superficie; LM-QR: Quema de residuos de cosecha y un rastreo; MIAF-CH-CF-LM: Milpa intercalada en limón persa, con filtro y un rastreo; MIAF-L-CF-LM: Milpa intercalada en chicozapote, con filtro y un rastreo; MIAF-C-SF-L0: Milpa intercalada en carambolo, sin filtro y labranza cero; MIAF-C-CF-LM: Milpa intercalada en carambolo, con filtro y un rastreo.

Table 2. Coeficientes de escurrimiento observados en el ciclo de agosto de 2016 a abril de 2017 y julio de 2017 a febrero de 2018, en seis sistemas de manejo establecidos en suelos de ladera de la localidad de Axochío, municipio de San Andrés Tuxtla, Veracruz, México.

Sistemas de manejo	Periodo de observación	
	Agosto 2016-abril 2017	Julio 2017-febrero 2018
MIAF-CH-CF-LM	0.084	0.024
MIAF-L-CF-LM	0.097	0.022
MIAF-C-CF-LM	0.112	0.026
MIAF-C-SF-L0	0.039	0.023
LM-QR	0.160	0.069
L0	0.034	0.015
Promedio MIAF [†]	0.083	0.024
SD	0.031	0.002

L0: Labranza cero con residuos de cosecha sobre la superficie; LM-QR: Quema de residuos de cosecha y un rastreo; MIAF-CH-CF-LM: Milpa intercalada en limón persa, con filtro y un rastreo; MIAF-L-CF-LM: Milpa intercalada en chicozapote, con filtro y un rastreo; MIAF-C-SF-L0: Milpa intercalada en carambolo, sin filtro y labranza cero; MIAF-C-CF-LM: Milpa intercalada en carambolo, con filtro y un rastreo. [†]Incluye los sistemas MIAF con filtro y un rastreo; SD= Desviación estándar.

anual de 1457 mm. Aunque las condiciones topográficas y climáticas fueron similares a las que se registraron en este trabajo, las discrepancias existentes en el sistema L0 (18.6 vs. 3.4) puede atribuirse a que Camas-Gómez *et al.* (2012) sólo dejaron un 30 % de residuos de rastrojo de maíz (1.3 Mg ha⁻¹), lo cual, según la FAO (2000) y Velázquez *et al.* (2002) puede resultar insuficiente para proteger el suelo del desprendimiento y remoción, resultando en un mayor tiempo de exposición a los agentes erosivos.

Escurrimiento superficial 2017-18 (Q)

Para este ciclo agrícola, los volúmenes de escurrimiento superficial más importantes ocurrieron durante septiembre y octubre; estos coincidieron con los meses más lluviosos del año, lo que denota una amplia relación en los niveles de precipitación y de escurrimiento superficial, misma que generalmente guarda un comportamiento potencial y polinomial (Núñez-López *et al.*, 2014). En julio y noviembre se presentaron otros eventos de lluvia de menor intensidad que dieron lugar a niveles más bajos de escurrimiento (Figura 4). A diferencia del ciclo 2016, en 2017, agosto fue un mes seco y consecuentemente con bajo volumen de escurrimientos superficiales (Q). Al igual que en 2016, en todos los casos los valores más altos de Q ocurrieron en el sistema LM-QR y los más bajos en los sistemas que incluyeron labranza cero y la distribución de los residuos de cosecha sobre la superficie del suelo (L0 y MIAF-C-SF-L0).

Los dos valores más altos de escurrimiento superficial (67.1 y 63.5 mm) se registraron en el sistema LM-QR en septiembre y octubre, respectivamente. Cabe mencionar que ambos fueron los dos meses más lluviosos del año, y que en este periodo ocurrieron

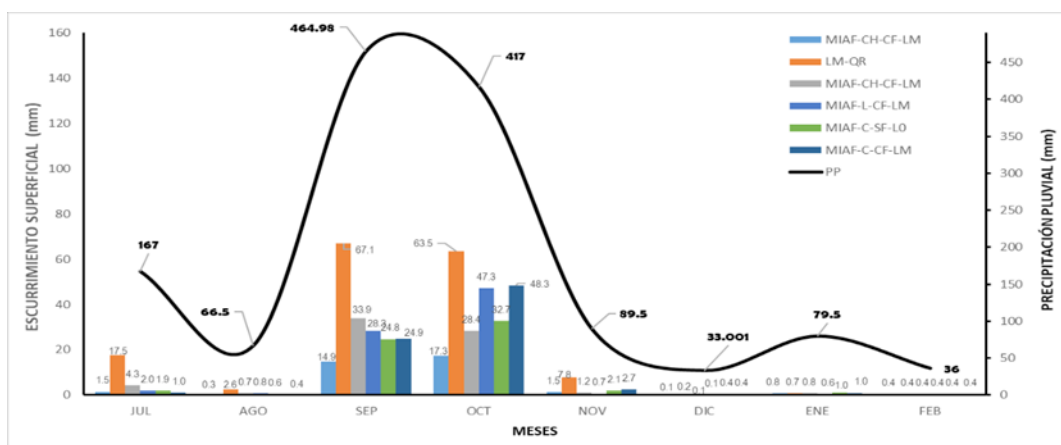


Figura 4. Escurrimiento superficial ocurrido mensualmente en el ciclo de agosto de 2016 a abril de 2017, en seis sistemas de manejo establecidos en suelos de ladera de la localidad de Axochío, municipio de San Andrés Tuxtla, Veracruz, México. L0; Labranza cero con residuos de cosecha sobre la superficie; LM-QR: Quema de residuos de cosecha y un rastreo; MIAF-CH-CF-LM: Milpa intercalada en limón persa, con filtro y un rastreo; MIAF-L-CF-LM: Milpa intercalada en chicozapote, con filtro y un rastreo; MIAF-C-SF-L0: Milpa intercalada en carambolo, sin filtro y labranza cero; MIAF-C-CF-LM: Milpa intercalada en carambolo, con filtro y un rastreo.

un total de 33 días con lluvia, de los cuales 24 (72.7 %) dieron lugar a escurrimientos superficiales de diferentes magnitudes.

En julio, niveles de precipitación mayores a 4 mm provocaron un escurrimiento superficial en los seis sistemas de manejo estudiados. En esta época del año el maíz cultivado en estas parcelas se encontraba en la etapa de desarrollo vegetativo, por lo que la superficie del suelo aún no se encontraba plenamente protegida por el cultivo. En condiciones de suelo seco (septiembre), sólo en los días en que se registraron lluvias mayores a 14 mm hubo escurrimiento superficial; en esta época del año el maíz, en etapa de llenado de grano, y la maleza presente entre los surcos redujeron el impacto de las lluvias y el escurrimiento superficial.

Las láminas de escurrimiento superficial total registradas en el ciclo de julio de 2017 a febrero de 2018 variaron en un rango de 36.9 a 159.7 mm en los tratamientos L0 y LM-QR, respectivamente (Figura 3). Para este caso se conservó la tendencia observada en el ciclo 2017-18. Los sistemas de manejo que incluyeron el sistema MIAF con filtro y labranza mínima presentaron una lámina de escurrimiento que varió de 69.8 a 80.2 mm, con una media 52.2 % menor (76.3 vs. 159 mm) que la registrada en el tratamiento LM-QR, equivalente al sistema tradicional de cultivo de maíz que se utiliza en las áreas de ladera de la región de Los Tuxtlas. La diferencia observada entre estos tratamientos es prácticamente la misma que se registró para el ciclo 2016-17 (53.0 %).

De la misma manera que sucedió en el ciclo 2016-17, sobresalen por sus valores bajos de escurrimiento los dos sistemas con labranza cero: L0 (36.9 mm) y MIAF-C-SF L0 (63.9 mm), donde no se incluyó el filtro de sedimentos y los residuos de cosecha se co-

locaron sobre la superficie del suelo. La importancia que tienen los residuos orgánicos en el proceso de reducción del escurrimiento superficial fue discutida en páginas anteriores y soportadas técnicamente por los trabajos de Llanes-Hernández *et al.* (2015) y Vettorello *et al.* (2019).

Durante 2017, el volumen total de escurrimiento registrado en el sistema MIAF-C-SF-L0, fue ligeramente menor que el obtenido en 2016 (63.9 vs. 79.0 mm); sin embargo, en 2017, las diferencias absolutas de este tratamiento con respecto a los otros tres sistemas MIAF evaluados fueron sensiblemente menores con valores de 8.45, 20.32, 19.11 % para los sistemas MIAF- CH-CF-LM, MIAF-L-CF-LM y MIAF-C-CF-LM, respectivamente. Aunque 2017 fue un año más lluvioso que 2016, la diferencia entre la media de los tres sistemas MIAF con filtro y labranza mínima con respecto al valor obtenido en el sistema MIAF sin filtro y labranza cero fue mucho menor (15.96 vs. 50.32 %); de conservarse esta tendencia, es factible hipotetizar que, en el largo plazo, puede resultar lo mismo esparcir los residuos de cosecha sobre la superficie del suelo que concentrar estos residuos en un filtro de sedimentos.

En cuanto al volumen de agua perdido por escurrimiento superficial en cada uno de los seis sistemas de manejo, y el porcentaje de pérdida de agua respecto al total de la precipitación pluvial ocurrida de julio de 2017 a febrero de 2018, los resultados indican que en el sistema LM-QR se perdió 11.8 % de la precipitación ocurrida, mientras que en los tratamientos que incluyeron el sistema MIAF la pérdida de agua de lluvia por escurrimiento superficial osciló entre un 4.7 % (MIAF-C-SF-L0) y 5.9 % (MIAF-L-CF-LM). Los menores porcentajes de pérdida de agua de lluvia fueron de 2.7 % en el sistema L0 y 4.7 % en el sistema MIAF-C-SF-L0; en ambos sistemas no se removió el suelo y se esparcieron los residuos de cosecha sobre la superficie del terreno (Cuadro 3).

Cuadro 3. Pérdida de agua de lluvia (%) por escurrimiento superficial, con referencia a la precipitación ocurrida, de julio de 2017 a febrero de 2018, en seis sistemas de manejo de cultivo establecidos en suelos de laderas de la región de Los Tuxtlas, Veracruz, México.

Variable	Sistema de manejo					
	L0	LM-QR	MIAF-CH-CF-LM	MIAF-L-CF-LM	MIAF-C-SF-L0	MIAF-C-CF-L0
Precipitación acumulada (mm)	1353.5	1353.5	1353.5	1353.5	1353.5	1353.5
Lamina perdida (mm)	36.9	159.7	69.8	80.2	63.9	79.0
Escurrecimiento (%) [†]	2.7	11.8	5.2	5.9	4.7	5.8

[†]Porcentaje de escurrimiento respecto al volumen total de lluvia ocurrida; L0: Labranza cero con residuos de cosecha sobre la superficie; LM-QR: Quema de residuos de cosecha y un rastreo; MIAF-CH-CF-LM: Milpa intercalada en limón persa, con filtro y un rastreo; MIAF-L-CF-LM: Milpa intercalada en chicozapote, con filtro y un rastreo; MIAF-C-SF-L0: Milpa intercalada en carambolo, sin filtro y labranza cero; MIAF-C-CF-LM: Milpa intercalada en carambolo, con filtro y un rastreo.

Coeficiente de escurrimiento

Para este ciclo también los coeficientes más bajos se registraron en los tratamientos que incluyeron la labranza cero (L0 = 0.015 y MIAF-C-SF-L0 = 0.023) mientras que el más alto (0.069) se presentó en el tratamiento LM-QR (Cuadro 2). Los valores obtenidos en este ciclo para los sistemas L0 (0.015) y MIAF (media: 0.024) también resultaron menores que los observados (0.186 y 0.12, respectivamente) por Camas-Gómez *et al.* (2012) en un Typic haplustepts con una pendiente > 30 % y una precipitación media anual de 1457 mm. Aunque las condiciones topográficas y climáticas fueron similares, las discrepancias existentes en el sistema L0 (0.186 vs. 0.015) también pueden deberse, tal y como se citó con anterioridad, a que Camas-Gómez *et al.* (2012) dejaron sólo un 30 % de residuos de rastrojo de maíz (1.3 Mg ha⁻¹) en la superficie del suelo.

Análisis conjunto de los ciclos 2016-17 y 2017-18

Aunque los sistemas de manejo y los patrones de cultivo fueron los mismos en los dos años agrícolas estudiados, la distribución, cantidad e intensidad de las lluvias variaron ligeramente. Por esta razón los valores observados en cada uno de los seis sistemas de manejo para las variables escurrimiento superficial y coeficiente de escurrimiento pueden variar de un año para otro; sin embargo, se esperan patrones de comportamiento que indiquen la tendencia que siguen ambas variables en cada uno de los tratamientos.

De acuerdo con los resultados que se presentan en el Cuadro 4, si se toma como referencia al sistema de manejo tradicional, con labranza reducida y quema de residuos de cosecha, por hectárea, el sistema MIAF disminuyó el volumen de escurrimiento superficial 46.13 % al reducir el volumen de agua escurrido de 228.1 (± 96.8) a 118.02 (± 59.0) mm; es decir, bajo las condiciones en que se condujo el experimento, en un año

Cuadro 4. Valores promedio obtenidos en los seis sistemas de manejo para las variables volumen y coeficiente de escurrimiento en los ciclos 2017 y 2018 en suelos de laderas cultivados con maíz en la región de Los Tuxtlas, Veracruz, México.

Sistema de manejo	Eskurrimiento superficial			Coeficiente de escurrimiento		
	2016	2017	media	2016	2017	media
L0	67.9	36.9	52.4	0.034	0.015	0.024
LM-QR	296.5	159.7	228.1	0.160	0.069	0.114
MIAF-CH-CF-LM	158.5	69.8	114.2	0.083	0.023	0.053
MIAF-L-CF-LM	173.6	80.2	126.9	0.096	0.021	0.059
MIAF-C-SF-L0	79.0	63.9	71.4	0.039	0.023	0.031
MIAF-CF-LM	147.0	79.0	113.0	0.112	0.026	0.069
Media [†]	159.7	76.3	118.0	0.097	0.023	0.060

L0: Labranza cero con residuos de cosecha sobre la superficie; LM-QR: Quema de residuos de cosecha y un rastreo; MIAF-CH-CF-LM: Milpa intercalada en limón persa, con filtro y un rastreo; MIAF-L-CF-LM: Milpa intercalada en chicozapote, con filtro y un rastreo; MIAF-C-SF-L0: Milpa intercalada en carambolo, sin filtro y labranza cero; MIAF-C-CF-LM: Milpa intercalada en carambolo, con filtro y un rastreo; [†]Incluye los sistemas MIAF con filtro y un rastreo.

agrícola (PV + OI), el sistema MIAF fue capaz de infiltrar en el suelo y consecuentemente retener dentro del agrosistema hasta 110 L de agua por metro cuadrado. Esta mayor captura de agua es un factor importante en áreas donde se establecen cultivos anuales de temporal debido a la tendencia actual de cambio climático que implica menor humedad y una mayor temperatura.

El hecho de que el MIAF disminuya de manera considerable el escurrimiento superficial indica que el sistema es capaz de contribuir a reducir de manera sustancial los procesos de erosión, fugas de nutrientes y de moléculas de agroquímicos. Además, al reducirse el proceso de escurrimiento superficial se incrementa proporcionalmente el proceso de infiltración del agua que favorece el desarrollo de los cultivos, la reserva de los mantos acuíferos subterráneos y el desarrollo de la fauna del suelo (Regüés-Muñoz *et al.*, 2012).

De igual forma los coeficientes de escurrimiento implican pérdidas de 6.0 % (± 5.0) en el sistema MIAF, mientras que en el Sistema Tradicional las pérdidas pueden llegar a totalizar hasta el 11.47 % (± 6.0) del total de las lluvias que causaron escurrimiento. En este caso los valores más bajos de escurrimiento en el sistema MIAF deben ser atribuidas a la presencia del filtro de sedimentos colocado en la hilera de los árboles frutales; mientras que los valores más altos observados en el sistema tradicional (LM-QR) se justifican por la falta de protección del suelo ante el efecto erosivo de las lluvias, ya que en este sistema todos los residuos de cosecha y maleza fueron quemados.

La característica del sistema MIAF de retener una mayor cantidad de humedad en el filtro de sedimentos, ubicado aguas arriba de la hilera de los árboles frutales, da lugar a una zona de alta actividad microbiológica, con altas tasas de mineralización, rica en nutrientes y materia orgánica; esta zona, en el mediano plazo, tendrá la capacidad para permitir el desarrollo de árboles vigorosos y de alta capacidad productiva. A dos años después de su implementación, el sistema L0, con distribución de los residuos de cosecha sobre la superficie del suelo, sobresale como el tratamiento con el menor promedio de volumen de escurrimiento (54.4 mm; ± 21.9) y el coeficiente de escurrimiento más bajo (2.4 %; ± 1.0). Un comportamiento similar, pero mayor, se observó también en el sistema MIAF-C-SF-L0 que guarda un sistema de manejo similar, aunque con más de 7 años de haber sido implementado, lo que podría justificar una mayor compactación de la capa superficial del suelo y por ende un mayor escurrimiento superficial.

Entre los sistemas MIAF que incluyeron el filtro de sedimentos y labranza cero del suelo, no se encontraron diferencias en los promedios de ambas variables (Cuadro 4). Entre los tres tratamientos estudiados, el valor más bajo (5.3 %; ± 4.0) correspondió al MIAF-CH-CF-LM, lo que posiblemente se deba a una mayor estabilidad del sistema ya que éste tiene siete años más de antigüedad que los otros sistemas MIAF incluidos en el ensayo.

CONCLUSIONES

El sistema de milpa intercalada con árboles frutales redujo el escurrimiento superficial en un 46.13% respecto a los valores de escurrimiento obtenidos en el sistema tradicional con labranza mínima y quema de residuos de cosecha. Entre los sistemas que

incluyeron el filtro de sedimentos y labranza cero del suelo, no se encontraron diferencias en los promedios de escurrimiento superficial y coeficiente de escurrimiento. De los tres sistemas de milpa intercalada en árboles frutales con labranza y filtro de sedimentos el valor más bajo correspondió al sistema con chicozapote, filtro y labranza mínima. El sistema labranza cero con distribución de los residuos de cosecha sobre la superficie del suelo, presentó el volumen de escurrimiento y coeficiente de escurrimiento más bajo.

REFERENCIAS

- Bermeo A, Couturier S, Galeana-Pizaña M. 2014. Conservation of traditional smallholder cultivation systems in indigenous territories: Mapping land availability for milpa cultivation in the Huasteca Poblana, Mexico. *Applied Geography* 53: 299–310. <https://doi.org/10.1016/j.apgeog.2014.06.003>
- Bolaños-González MA, Paz-Pellat F, Cruz Gaistardo CO, Argumedo Espinoza JA, Romero Benítez VM, de la Cruz Cabrera JC. 2016. Mapa de erosión de los suelos de México y posibles implicaciones en el almacenamiento de carbono orgánico del suelo. *Terra Latinoamericana* 34 (3): 271–288.
- Cadena-Iñiguez P, Camas-Gómez R, López-Báez W, López-Gómez H del C, González-Cifuentes JH. 2018. El MIAF, una alternativa viable para laderas en áreas marginadas del sureste de México: caso de estudio en Chiapas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 9 (7): 1351–1361. <https://doi.org/10.29312/remexca.v9i7.1670>
- Camas-Gómez R, Turrent-Fernández A, Cortes-Flores JI, Livera-Muñoz M, González-Estrada A, Villar-Sánchez B, López-Martínez J, Espinoza-Paz N, Cadena-Iñiguez P. 2012. Erosión del suelo, escurrimiento y pérdida de nitrógeno y fósforo en laderas bajo diferentes sistemas de manejo en Chiapas, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 3 (2): 231–243. <https://doi.org/10.29312/remexca.v3i2.1459>
- de la Vega-Leinert A, Brenner L, Stoll-Kleemann S. 2018. El café de sombra: ¿una alternativa viable para campesinos en regiones marginadas? El caso de la reserva de la biosfera Los Tuxtlas, México. *In: Conocimiento, ambiente y poder. Perspectivas desde la ecología política*. El Colegio de San Luis, A.C.: San Luis Potosí, México, pp: 235–25. https://www.researchgate.net/publication/337021584_El_cafe_de_sombra_una_alternativa_viable_para_campesinos_en_regiones_marginadas_El_caso_de_la_reserva_de_la_biosfera_Los_Tuxtlas_Mexico (Recuperado: junio 2021).
- Díaz-Padilla G, Sánchez-Cohen I, Guajardo-Panes R, Barbosa-Moreno F, Gómez-Cárdenas M, Uribe-Bernal J. 2012. Modelación espacial de la producción de agua superficial de lluvia en la zona sur del estado de Puebla, México. *Tecnología y Ciencias del Agua* 3: 69–84.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación). 2000. Manual de prácticas integradas de manejo y conservación de suelo. Boletín de tierras y agua de la FAO No. 8. Roma, Italia. <https://www.midagri.gob.pe/portal/download/pdf/ais-2015/manual-pract-integradas.pdf> (Recuperado: junio 2021).
- Friedrich T, Derpsch R, Kassam A. 2012. Overview of the Global Spread of Conservation Agriculture. *Field Actions Science Reports* 2012 (6): 1941.
- González-Cervantes G, Estrada-Ávalos J, González-Barrios JL, Cueto-Wong JA, Sánchez-Cohen I, Castillo-Santillán G. 2006. Análisis de los factores que afectan la relación precipitación-escurrimiento en una zona semiárida del norte de México. *Terra Latinoamericana* 24 (3): 337–345.
- Llanes-Hernández JM, Cabrera-Carcedo E, de la Nuez-Hernández E. 2015. Influencia de la agricultura de conservación sobre el suelo y el cultivo del tabaco en San Juan y Martínez, Cuba. *Revista Avances* 17 (4): 318–326.
- Martínez-Esponda FX, Benítez-Keinrad M, Ramos-Pedruza-Ceballos X, García Maning G, Bramontes Nájera L, Vázquez Quesada B. 2016. Informe sobre la pertinencia de biocultural de la legislación mexicana y su política pública para el campo. El caso del programa “modernización sustentable de la agricultura tradicional (MasAgro). Centro Mexicano de Derecho

- Ambiental, A.C.: México. <https://www.cemda.org.mx/publicaciones-y-estudios-del-cemda/informe-sobre-la-pertinencia-biocultural-de-la-legislacion-mexicana-y-su-politica-publica-para-el-campo/> (Recuperado: julio 2021).
- Nájera-González O, Bojórquez-Serrano JI, Flores-Vilchez F, Murray-Núñez RM, González-García-Sancho A. 2016. Water erosion risk and soil loss estimation in volcanic geomorphological landscapes of Mexico. *Cultivos Tropicales* 37 (2): 45–55. <http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.1.3942.5527>
- Núñez-López D, Treviño-Garza EJ, Reyes-Gómez VM, Muñoz-Robles CA, Aguirre-Calderón OA, Jiménez-Pérez J. 2014. Uso de modelos de regresión para interpolar espacialmente la precipitación media mensual en la cuenca del río Conchos. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 5 (2): 201–213. <https://doi.org/10.29312/remexca.v5i2.960>
- Porta-Casanellas J, López-Acevedo M, Poch-Claret RM. 2014. *Edafología uso y protección de suelos* (4a edición). Mundi-Prensa: Madrid, España. 624 p.
- Regüés-Muñoz P, Serrano-Muela MP, Nadal-Romero E, Lana-Renaul N. 2012. Análisis de la variabilidad temporal de la infiltración en un gradiente de degradación de usos del suelo en el Pirineo Central. *Cuaternario y Geomorfología* 26 (2): 9–28.
- SIAP (Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2018. Estadísticas de la producción Agrícola 2016. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. México. <https://datos.gob.mx/busca/dataset/estadistica-de-la-produccion-agricola> (Recuperado: abril 2021).
- SIAP (Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2020. Estadísticas de la producción Agrícola 2020. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. México. http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/ResumenProducto.do (Recuperado: abril 2021).
- Turrent-Fernández A, Cortés-Flores JI, Espinosa-Calderón A, Hernández-Romero E, Camas-Gómez R, Torres-Zambrano JP, Zambada Martínez A. 2017. MasAgro o MIAF ¿Cuál es la opción para modernizar sustentablemente la agricultura tradicional de México? *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 8 (5): 1169–1185. <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i5.116>
- Velázquez GJJ, Salinas GJR, Potter KN, Gallardo VM, Caballero HF, Díaz MP. 2002. Cantidad, cobertura y descomposición de residuos de maíz sobre el suelo. *Terra Latinoamericana* 20 (2): 171–182.
- Vettorello CI, Clemente JP, Esmoriz GF, Díaz CC, Cotorás DA, Molina L, Cotés L. 2017. Prácticas de conservación para la reducción de inundaciones. *AUGM DOMUS* 5: 37–52.

ARTIFICIAL NEURAL NETWORK MODELS FOR PREDICTION OF STANDARDIZED PRECIPITATION INDEX IN CENTRAL MEXICO

Rafael Magallanes-Quintanar¹, Carlos Eric Galván-Tejada¹, Jorge Issac Galván-Tejada¹, Santiago de Jesús Méndez-Gallegos², Fidel Blanco-Macías³, Ricardo David Valdez-Cepeda^{3*}

¹ Universidad Autónoma de Zacatecas. Unidad Académica de Ingeniería Eléctrica. Av. Ramón López Velarde No. 801, Centro, Zacatecas, Zacatecas, México. C. P. 98000.

² Colegio de Posgraduados Campus San Luis Potosí. Iturbide No. 73, Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí, México. C. P. 78600.

³ Universidad Autónoma Chapingo. Centro Regional Universitario Centro Norte. Cruz del Sur No. 100, Col. Constelación, El Orito, Zacatecas, Zacatecas, México. C. P. 98085.

* Author for correspondence: vacrida@hotmail.com

ABSTRACT

Globally, an increase in the occurrence of droughts may be due to the effects of climate change on rainfall patterns. Drought prediction based on historical rainfall behavior can be very useful in sectors where water is a critical element, such as rain-fed agriculture. Therefore, drought classification and characterization based on drought index prediction models could aid in mitigating their negative effects in such water-sensitive sectors. The primary goal of this paper was to test a Multilayer Perceptron Artificial Neural Network as a model to forecast the monthly Standardized Precipitation Index in north-central México using rainfall data from the 1964–2014 period. The model was obtained using the Hyperbolic Tangent activation function and the optimization method from the Adaptive Moment Estimation algorithm. The model used a 26-12-1 network architecture with 4 weights and 365 trainable parameters. The scatter plot analysis between predicted and observed Standardized Precipitation Index values for the test dataset resulted in a Coefficient of Determination between 0.84 and 0.88. Based on quantitative statistics averaged across the test set, the Artificial Network Model performed substantially well in predicting the Standardized Precipitation Index at the four studied regions. This was confirmed by an all-region average value of the performance statistics Mean Absolute Error (0.081), Mean Square Error (0.014) and the Coefficient of Determination (0.867). We conclude that the Artificial Network models developed and tested in this research provided adequate monthly Standardized Precipitation Index skills for the analyzed stations in the studied territory.

Key words: Drought, rainfall, artificial intelligence, SPI.

INTRODUCTION

The vulnerability of human activities to extreme events such as floods and droughts due to changes in rainfall distribution and intensity is an important research topic (Kharin *et al.*, 2007; Angheluță and Badea, 2015). A meteorological drought occurs when the observed precipitation is less than the long-term average (Choubin *et al.*, 2016). Droughts have a significant negative effect because they reduce freshwater

Citation: Magallanes-Quintanar R, Galván-Tejada CE, Galván-Tejada JI, Méndez-Gallegos S de J, Blanco-Macías F, Valdez-Cepeda RD. 2023. Artificial neural network models for prediction of standardized precipitation index in central Mexico. *Agrociencia* 57(1): 177-207. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v57i1.2655>

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: March 02, 2022.
Approved: December 30, 2022.
Published in Agrociencia:
February 10, 2023.

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



flows, which has a great impact on water resource planning and management (Ali *et al.*, 2017). There have been numerous approaches proposed to estimate droughts. Drought indices are some of the most extensively used methods. McKee *et al.* (1993) developed the Standardized Precipitation Index (SPI) to categorize observed rainfall as a standardized deviation from a rainfall probability distribution function.

In recent years, SPI has been used as a method for climatic zone classification and as a drought indicator, allowing for comparisons to be made in space and time (Naresh Kumar *et al.*, 2009). Because this index only uses records of precipitation data over time, it has a significant advantage over other indices due to its ease of calculation and temporal flexibility. Mahfouz *et al.* (2016) found that SPI has the potential to be used for monitoring drought conditions in forestry and agriculture in Lebanon. Giddings *et al.* (2005) used SPI to establish dynamically consistent precipitation zones throughout Mexico. However, SPI can be used to define much smaller and more detailed areas. Magallanes-Quintanar *et al.* (2019) used it to organize monthly time series from the state of Zacatecas in Mexico into small groups with similar regional precipitation regimes. The current trends suggest less than median precipitation across the state of Zacatecas. Nevertheless, SPI forecasts for the near future have been little studied, so they remain practically unknown. This type of information could be essential to adjust the activities of the inhabitants based on planned drought adaptation strategies.

Recently, models have also been developed not only for assessment but also drought forecasting. Although, historically, time series of meteorological variables such as monthly precipitation and temperature have been extensively modeled using linear techniques such as autoregressive moving average (ARMA) and seasonal autoregressive integrated moving average (SARIMA), it should be noted that the use of artificial intelligence (AI) models has shown good performance and accuracy in drought forecasting. A neural network is an information processing method which determines patterns from data in an adaptive manner (Ali *et al.*, 2017).

Specifically, much research in recent years has focused in the use of Artificial Neural Network (ANN) models as a useful data-driven tool for drought index forecasting. Ozger *et al.* (2011) developed a wavelet fuzzy logic model to estimate a Drought Severity Index. The SPI was predicted using an ARIMA model and matched to machine learning approaches such as ANNs by Belayneh *et al.* (2014). Masinde (2014) used a blend of ANN and Effective Drought Index as a drought forecasting approach. Deo and Şahin (2015) analyzed the feasibility of the ANN as a data-driven model to forecast the monthly SPI. Choubin *et al.* (2016) applied several data-driven techniques to predict SPI. Ali *et al.* (2017) used a multilayer perceptron neural network algorithm for drought forecasting and Soh *et al.* (2018) worked with a Wavelet-ARIMA-ANN model and the latest Wavelet-Adaptive Neuro-Fuzzy Inference System model to predict the SPI.

Since Multilayer Perceptron neural network model (MLP) is one of the leading types of ANN's methods for modeling hydrological data (Ali *et al.*, 2017), the approach in this study was to develop a MLP Network model over a 50-year period (1964–2014) in

central Mexico, aiming to: (a) predict regional Standardized Precipitation Index, and (b) forecast regional Standardized Precipitation Index for 12 months (near future).

MATERIALS AND METHODS

Precipitation data

The regional time series of Standardized Precipitation Index assessed by Magallanes-Quintanar *et al.* (2019) were obtained from a database of long-term records (50 years, 1964–2014) of monthly precipitation acquired at 31 weather stations located within the territory of the Mexican state of Zacatecas (Figure 1). The database was provided by the Mexican National Water Commission (CONAGUA). All datasets were inspected for missing values and outliers.

Standardized Precipitation Index

McKee *et al.* (1993) defined the Standardized Precipitation Index (SPI) as the number of standard deviations that observed cumulative precipitation deviates from the climatological mean. The SPI was developed mainly for specifying and monitoring droughts. As presented by Koudahe *et al.* (2017), the SPI is computed as follows: A gamma function using monthly rainfall data is defined as:

$$g(x) = \frac{1}{\beta^\alpha \Gamma(\alpha)} x^{\alpha-1} e^{-\frac{x}{\beta}}$$

for $x > 0$.

The density probability function $g(x)$, has α as a shape parameter ($\alpha > 0$), β as a scale parameter ($\beta > 0$), and

$$\Gamma(\alpha) = \int_0^\alpha y^{\alpha-1} e^{-y} dy$$

where $\Gamma(\alpha)$ is the gamma function.

The parameters α and β are calculated by means of:

$$\alpha = \frac{1}{4A} \left(1 + \sqrt{1 + \frac{4A}{3}} \right)$$

$$\beta = \frac{x}{\alpha}$$

$$A = \ln(\bar{x}) - \frac{\sum \ln(\bar{x})}{n}$$



Figure 1. Study region of the Zacatecas state territory in Mexico and the location of weather stations.

where n is the number of rainfall observations and \bar{x} is the arithmetic mean over a time scale. A cumulative probability $G(x)$ of an observed volume of rainfall per each month and time scale (if α and β estimators were used to integrate the probability density function with respect to x) is calculated as follows:

$$G(x) = \int_0^x g(x) dx = \frac{1}{\beta^{\bar{\alpha}} \Gamma(\bar{\alpha})} \int_0^x x^{\bar{\alpha}} e^{-\frac{x}{\beta}} dx$$

When substituting t for $\frac{x}{\beta}$ in the preceding equation, the result is the incomplete gamma function:

$$G(x) = \frac{1}{\Gamma(\bar{\alpha})} \int_0^x t^{\bar{\alpha}-1} e^{-t} dt$$

Nevertheless, the gamma distribution function is undefined for $x = 0$ and $q = P(x = 0) > 0$; where $P(x = 0)$ is the probability of zero precipitation. Thus, the actual probability of non-exceedance $H(x)$ should be calculated as follows (Edwards and McKee, 1997; Usman *et al.*, 2014):

$$H(x) = q + (1 - q)G(x)$$

Where $H(x)$ is the actual probability of non-exceedance and q the probability of $x = 0$. If m is the number of zeros in a rainfall time series sample of size n , then q is assessed as:

$$q = \frac{m}{n}$$

Lastly, to calculate the SPI, the cumulative probability distribution $H(x)$ is standardized to a normal variable $Z \sim N(0,1)$. The SPI results can be interpreted as wet or drought periods as pointed out by McKee *et al.* (1993).

Several time scales can be used to calculate the SPI, with changes in rainfall affecting different aspects of the hydrological cycle (Koudahe *et al.*, 2017). As pointed out by Caloiero (2017), the 6-month SPI describes droughts that affect plant life and agriculture, whereas the 12-month SPI describes droughts that can affect water supplies/reserves. In this study, we evaluated the SPI on a 12-month time scale.

Due to the difficulty of manually calculating the SPI, several computer programs have been developed to solve this task. One of the most widely used programs is the one developed by the United States National Drought Mitigation Centre. The program 'SPIGenerator' is freely available at <http://drought.unl.edu/droughtmonitoring/SPI/SPIProgram.aspx>. In this research we used the R system 4.0.2 (R Core Team, 2020)

and the 'SPEI' package (Beguería and Vicente-Serrano, 2013) for SPI estimation. Both are freely available at the Comprehensive R Archive Network (<https://www.cran.r-project.org/>).

The interannual comparison for SPI estimated values at timescale of 12 months for each region are shown (Figure 2).

Neural Network Forecasting

The Artificial Neural Network (ANN) models can identify the nonlinear relationships between the input and output data using computational paradigms that attempt to represent the brain neural connections (McCulloch and Pits, 1943). To forecast climatological time series, ANN models have been used successfully. Among them, the Multilayer Perceptron (MLP) Network is one of the most widely used ANN approaches to model hydrological information (Wang *et al.*, 2006; Ali *et al.*, 2017). It has been proven that ANN could be a more efficient alternative than traditional methods for modeling time-series with non-linear behavior (Farajzadeh *et al.*, 2014).

A simple artificial neural network is the feed-forward neural network. In this kind of ANN, the information is processed in one direction through the hidden nodes and does not form a cycle. The structure of the feedforward neural network includes, at least, the input layer and the number of features or variables. The first includes the neurons that receive the inputs and transmit the information to the hidden layers. The second includes the number of features or variables that must equal the number of neurons

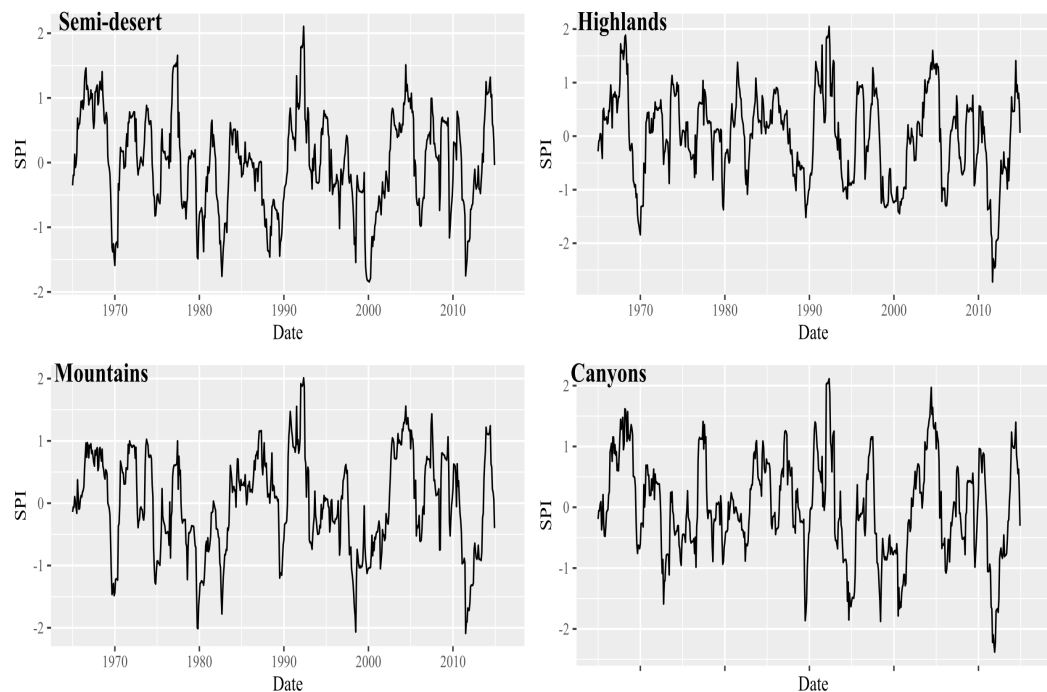


Figure 2. Regional SPI time-series at 12-month timescale for the Zacatecas state territory.

in this layer. The hidden layers are positioned between the input and output layers, they may contain a significant number of neurons which apply transformations to the input information before passing it to the next layer. As the network is trained, the weights are renewed to be more predictive. The neuron weights refer to the strength or amplitude of a connection between an input and a neuron. The forecasted feature or variable that depends on the type of examined model is represented by the output layer.

Typically, the data processing through a feed-forward network (Figure 3) follows the next steps:

1. Multiplication of weights and inputs: The inputs are multiplied by the designated weight values.
2. Adding the biases: The result of the previous phase is added to their respective biases and the modified inputs are then summed up to acquire a single value.
3. Activation: An activation function introduces non-linear properties in the hidden layer and transfer the result to the output layer. It is called an activation/transfer function because it controls the inception at which a neuron is triggered and the strength of the output data.
4. Output signal: The weighted sum achieved in the previous phase is turned into an output signal.

In the MLP model, we suppose that there are n layers. The first layer is the input layer and the last one (n_{th}) is the output layer. Hence, the hidden layers go from 2 to $n-1$ layers. In this model, the neuron is the main processing unit which calculates the weighted sum of its input signals. As explained by Deo and Şahin (2015), a single neuron may be described by:

$$u_k = \sum_{j=1}^m w_k x_j$$

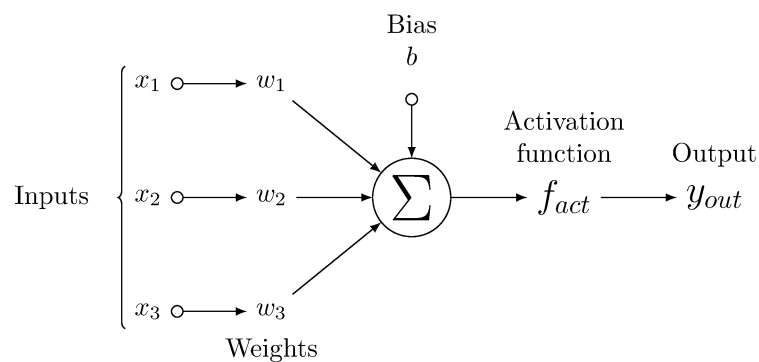


Figure 3. Neural networking pipeline diagram.

where x_1 to x_m are the input signals, and w_{k1} to w_{km} are the synaptic weights of the k neuron. The output signal of the neuron is defined as:

$$y_k = f(u_k + b_k)$$

where u_k is the linear combination output from input signals, b_k is the bias and f the activation function that could be (among others): binary step, linear, sigmoid, hyperbolic tangent, SoftMax, rectified linear unit, exponential linear units, and swish (Sharma *et al.*, 2020).

Generally, neural networks have at least only one input layer and one output layer, but the number of hidden layers may differ; the selection of these variables is domain-specific or varies on the problem (Ali *et al.*, 2017). Furthermore, the internal structure (inputs and hidden units) and the layout of those ANN's units are difficult to elucidate and are often established using a trial-and-error approach or established in advance from prior experience.

After the selection of variables or features, the development of a MLP starts with the training, testing, and validation of the neural network with the aim of learning. It is possible to fine-tune the network after this step by varying the architecture after this step. Once the network architecture is established, the model can be tested and verified. The final step is model forecasting.

The Python programming language is widely used in science and data analysis. Moreover, Keras and Tensor flow are approachable and highly-productive interfaces for solving machine learning problems. In this research we used the Python language version 3.85 (Python Software Foundation, <https://www.python.org/>) and Google's open-source machine learning framework 'TensorFlow' (Abadi *et al.*, 2016). In addition, we used the high-level neural network API 'Keras' (Chollet, 2015) for fitting an ANN to 4 regional times-series (Semi-desert, Highlands, Mountains and Canyons) of SPI yielded by Magallanes-Quintanar *et al.* (2019) to forecast the SPI-12 index values in each region. Simulations were performed on an AMD Ryzen 7 processor running at 2.3 GHz.

The first 40 years of data (80 %) for each regional SPI-12 time-series (1965–2004) were used as a training dataset for the model prior to implementing the architecture model. After the selection of the appropriate parameters, SPI values were validated or tested using the remaining 20 % of data (2005–2014). As previously stated, the architecture model was determined through trial-and-error. In our case, we considered the works of Deo and Şahin (2015) and Ali *et al.* (2017) to set the MLP layout. The neural network training by means of Keras-Tensor Flow was specified to use a sequential model with Hyperbolic Tangent as activation function and Adaptive Moment Estimation as optimizer algorithm (Kingma and Ba, 2015). Additionally, we selected 1000 epochs as hyperparameter of gradient descent to control the number of passes through the time-series dataset.

The algorithm can train the network in any difficult and complex situation and offers early stopping to prevent overfitting. When evaluating ANN models, accuracy metrics or performance measures are used for comparison models. Among several performance measures or metrics, in the present research, we used the Mean Absolute Error (MAE), the Mean Square Error (MSE), and the Coefficient of Determination (R^2).

$$MAE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |(SPI_{p_i} - SPI_{o_i})|$$

$$MSE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (SPI_{p_i} - SPI_{o_i})^2$$

MAE is a measure of the average deviation of the predicted values from the corresponding observed values and can provide information on long term performance of the models; the lower MAE, the better is the long-term model prediction. MSE is a measure of the difference between the observed and calculated values; the lower the MSE, the more accurate the prediction is (Jierula *et al.*, 2021). The last metric evaluation was the R^2 as efficiency criterion representing the percentage of the initial uncertainty explained by the model. A good model should have a lower MSE and MAE, both indicate low-accumulated errors; then, the best fit between observed and calculated values, which is unlikely to occur, would have $MSE=0$ and $R^2=1$.

Furthermore, to assess the prediction error (PE) of the model, the difference between the observed and predicted SPI values was used (Chapra and Canale, 2006):

$$PE = SPI_{o_i} - SPI_{p_i}$$

Because the MLP model encapsulates the inner characteristics of a complex process, it is possible to predict future values after defining the features or variables, establishing the model and their parameters, training and validating the model. To that end, a 12-month database was built to make SPI-12 variable predictions.

RESULTS AND DISCUSSION

The training process resulted in a 26-13-1 network architecture with 4 weights and a total of 365 trainable parameters. The above architecture includes a dense layer with shape (none, 1, 26) with 338 parameters, a flatten layer with shape (none, 26) with 0 parameters and a dense, 1 layer with shape (none, 1) with 27 parameters. The established architecture was in line with the works of Deo and Şahin (2015) who chose an architecture 18-43-1 and Ali *et al.* (2017) who selected an architecture of 30-8-1.

The ANN SPI-12 observed and predicted values for Semi-desert, Highlands, Mountains and Canyon regions are shown (Figure 4). In general, the estimated MSE

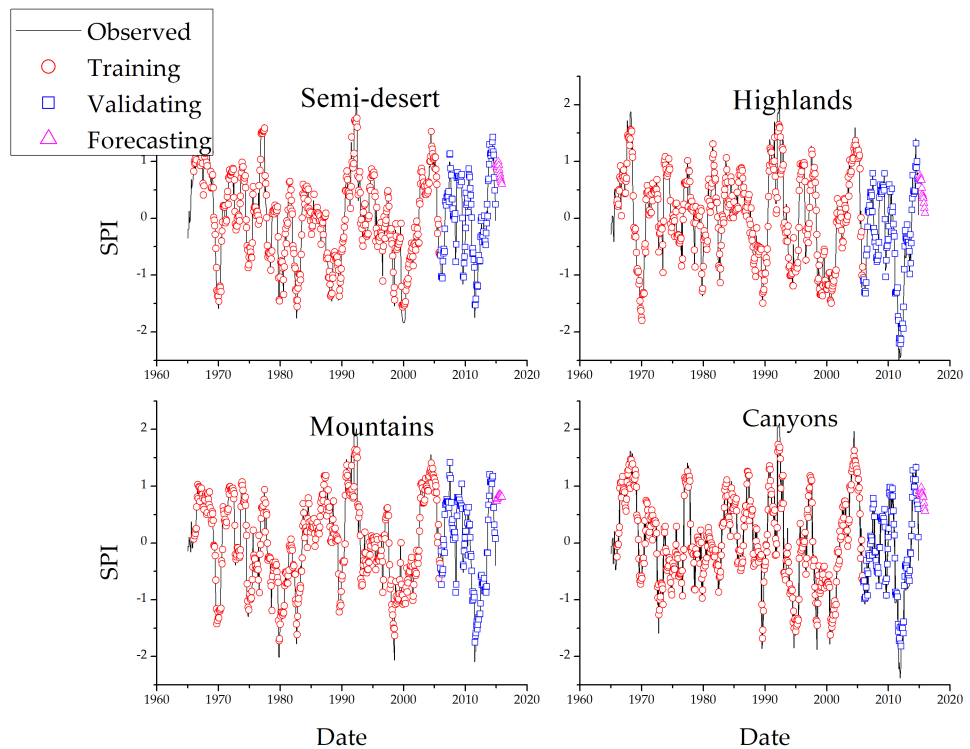


Figure 4. Observed and predicted regional SPI time-series for the Zacatecas state territory.

and MAE values were low (Table 1). Those results indicate that the 4 regional SPI model's performance were adequately accurate.

The performance of ANN models was evaluated using a scatter plot (Figure 5) and linear regression statistics for all four regions during the validation period (2005-2014) (Table 2). For the optimal ANN models at each region, y -intercepts (β_0) oscillated between 0.003 (Highlands region) and 0.034 (Canyons region), and the gradient of the linear fit (β_1) ranged from 0.84 (Canyons region) to 0.93 (Semi-desert region). The

Table 1. Quantitative measures of the ANN performance in validation phase for regional SPI time series for the Zacatecas State, Mexico.

Region	MSE	MAE
Semi-desert	0.015	0.082
Highlands	0.013	0.078
Mountains	0.014	0.071
Canyons	0.015	0.083

Key measures: Mean Square Error (MSE) and Mean Absolute Error (MAE).

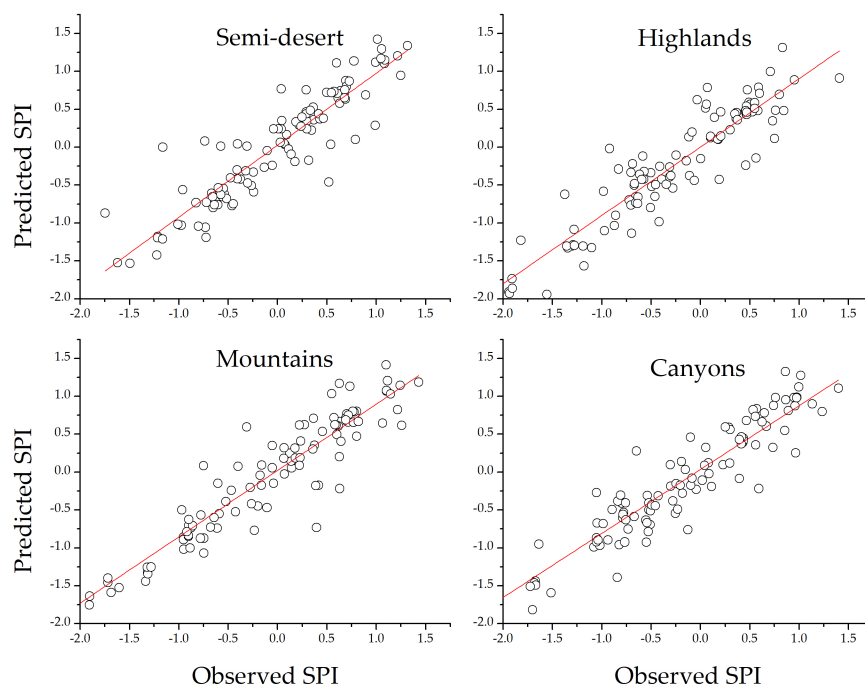


Figure 5. Correlation between the original SPI values and the predicted ANN SPI values during the validating period for regional SPI time series for the Zacatecas State, Mexico.

Table 2. Assessment of ANN model performance based on linear regression formula ($SPI_p = \beta_0 + \beta_1 SPI_o$) of observed SPI values (SPI_o) and predicted SPI values (SPI_p) during the validating period for regional SPI time series for the Zacatecas state, Mexico.

Region	β_0	β_1	R^2	R
Semi-desert	0.013	0.931	0.843	0.918
Highlands	0.003	0.902	0.879	0.938
Mountains	0.021	0.866	0.861	0.933
Canyons	0.034	0.844	0.878	0.937

correlation coefficient (r) stretched between 0.91 (Semi-desert region) and 0.93 (Canyons region). Hence, models indicated high correspondence between the predicted and the observed SPI values.

Overall, there was good visual concordance among the observed and the predicted SPI values over the 108 months during the validation period (Figure 5). This was consistent with the results pointed out by summarized statistics of the scatter plot between the predicted and the observed SPI values (Table 2). To infer the overall prediction skill of the ANN model, a contrast of its performance was achieved using the performance statistics for all months within the validation dataset by means of the MSE, MAE, and R^2 (Tables 1 and 2).

Evidence suggests that the best ANN model predictions correspond to the Highlands regions. The smallest values of both MAE (≈ 0.078) and MSE (≈ 0.013), as well as the highest R^2 (0.879), were associated to this region. The Mountains regions had the second performance, followed by the Semi-desert and Canyons regions. Moreover, the higher values of MAE and MSE correspond to the ANN model prediction for the Canyons regions.

Overall, the ANN models demonstrated good prediction skill for all study regions. The probability under normal distribution of prediction error representing under-predictions ($PE < 0$) and over-predictions ($PE > 0$) by the ANN models is shown (Table 3). In general, the under-prediction values were higher than the over-prediction values for all regions. This implies that ANN models under-predicted the SPI for all regions, with the Canyons region having the largest difference with a probability of 59.34 % and the Semi-desert region having the smallest difference with a probability of 51.71 %. On the other hand, the minimum probability value of over-prediction with 40.66 % was found for the Canyons and the maximum probability value of over-prediction error was found for the Semi-desert with 48.29 %.

Table 3. Probability under normal distribution of prediction error (PE) for observed SPI values (SPIo) and the predicted SPI values (SPIp) during the validating period for regional SPI time series for the state of Zacatecas, Mexico.

Region	PE < 0	PE > 0
Semi-desert	0.517	0.483
Highlands	0.550	0.450
Mountains	0.535	0.465
Canyons	0.593	0.407

Notably, neural networks have demonstrated to be extremely useful methods for empirically forecasting hydrological variables (Daliakopoulos *et al.*, 2005; Farajzadeh *et al.*, 2014). Our results are comparable with those of Deo and Şahin (2015), Ali *et al.* (2017) and Soh *et al.* (2018) who used the ANN model to forecast the monthly standardized precipitation index. Moreover, our results lend support to those of Giddings *et al.* (2005) because our approach allows for derivation of smaller and detailed regional zones in Mexico by means of the SPI.

CONCLUSIONS

Recently, drought prediction is a challenging issue in hydrology, water resources management, and rainfed agriculture, among other fields, due to the negative impacts of droughts on human activities related to water use. Multilayer perceptron models were used to predict the values of four monthly Standardized Precipitation Index (SPI) time series from the Mexican Zacatecas State. The models were trained and tested using the regional SPI time series and the output variables were the predicted by the SPI's.

After trial and error, the best network architecture was a combination of 26-13-1 as the input-hidden-output neurons based on smallest MSE and largest coefficient of determination for each region. A good agreement between observed and predicted SPI values using the scatter plot analysis and their corresponding model for each region. ANN models performed very well in predicting regional SPI values in terms of quantitative statistics over the test set.

In general, the developed and tested ANN models reflect satisfactory prediction skills of the monthly Standardized Precipitation Index for the four regional time series studied. Our study used ANN models by optimizing hidden neurons, activation functions, and several combinations of training and testing algorithms. Although our research is focused on the study of SPI-12, it is possible to use the entire framework to study SPI at different time scales. In the context of climate change, drought forecast by using ANN models as a framework in future studies would be beneficial to generate useful information for decision making. In addition, future works should evaluate a variety of input parameters besides the SPI observed values to assess the effects of different network architectures.

REFERENCES

- Abadi M, Barham P, Chen J, Chen Z, Davis A, Dean J, Zheng X. 2016. Tensorflow: A system for large-scale machine learning. *In* 12th symposium on operating systems design and implementation (OSDI 16). USENIX: Savannah, GA, USA, pp: 265–283. <https://www.usenix.org/system/files/conference/osdi16/osdi16-abadi.pdf> (Retrieved: December 2021).
- Ali Z, Hussain I, Faisal M, Nazir HM, Hussain T, Shad MY, Hussain Gani S. 2017. Forecasting drought using multilayer perceptron artificial neural network model. *Advances in Meteorology* 2017: 1–9. <https://doi.org/10.1155/2017/5681308>
- Anghelută PS, Badea CG. 2015. The water resources in the context of climate change produced by the greenhouse gases. *University of Oradea, Faculty of Economics* 1 (2): 637–643.
- Beguera S, Vicente-Serrano SM. 2013. SPEI: Calculation of the standardized precipitation-evapotranspiration index. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. <https://www.cran.r-project.org/> (Retrieved: December 2021).
- Belayneh A, Adamowski J, Khalil B, Ozga-Zielinski B. 2014. Long-term SPI drought forecasting in the Awash River Basin in Ethiopia using wavelet neural network and wavelet support vector regression models. *Journal of Hydrology* 508: 418–429. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2013.10.052>
- Caloiero T. 2017. Drought analysis in New Zealand using the standardized precipitation index. *Environmental Earth Sciences* 76 (16): 1–13. <https://doi.org/10.1007/s12665-017-6909-x>
- Chapra SC, Canale RP. 2006. *Numerical methods for engineers*. McGraw-Hill Higher Education: Boston, MA, USA. 987 p.
- Chollet F. 2015. Keras. GitHub. <https://github.com/fchollet/keras> (Retrieved: December 2021).
- Choubin B, Malekian A, Golshan M. 2016. Application of several data-driven techniques to predict a standardized precipitation index. *Atmósfera* 29 (2): 121–128. <https://doi.org/10.20937/ATM.2016.29.02.02>
- Daliakopoulos IN, Coulibaly P, Tsanis IK. 2005. Groundwater level forecasting using artificial neural networks. *Journal of Hydrology* 309 (1–4): 229–240. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2004.12.001>
- Deo RC, Şahin M. 2015. Application of the artificial neural network model for prediction of monthly standardized precipitation and evapotranspiration index using hydrometeorological parameters and climate indices in eastern Australia. *Atmospheric Research* 161: 65–81. <https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2015.03.018>

- Edwards DC, McKee TB. 1997. Characteristics of 20th century drought in the United States at multiple time scales. *Climatology Report No. 7-2. Atmospheric Paper No. 634.* 152-155. Colorado State University, Department of Atmospheric Science: Fort Collins, CO, USA. <https://mountainscholar.org/handle/10217/170176>. (Retrieved: December 2021).
- Farajzadeh J, Fard AF, Lotfi S. 2014. Modeling of monthly rainfall and runoff of Urmia lake basin using “feed-forward neural network” and “time series analysis” model. *Water Resources and Industry* 7: 38-48. <https://doi.org/10.1016/j.wri.2014.10.003>
- Giddings L, Soto M, Rutherford B, Maarouf A. 2005. Standardized precipitation index zones for Mexico. *Atmósfera* 18 (1): 33–56.
- Jierula A, Wang S, Oh TM, Wang P. 2021. Study on accuracy metrics for evaluating the predictions of damage locations in deep piles using artificial neural networks with acoustic emission data. *Applied Sciences* 11 (5): 2314. <https://doi.org/10.3390/app11052314>
- Kingma DP, Ba JL. 2015. Adam: A method for stochastic optimization. *In Third International Conference on Learning Representations ICLR, 2015.* Cornell University Press: Ithaca, NY, USA, pp: 1–15. <https://doi.org/10.48550/arXiv.1412.6980>
- Kharin VV, Zwiers FW, Zhang X, Hegerl GC. 2007. Changes in temperature and precipitation extremes in the IPCC ensemble of global coupled model simulations. *Journal of Climate* 20 (8): 1419–1444. <https://doi.org/10.1175/JCLI4066.1>
- Koudahe K, Kayode AJ, Samson AO, Adebola AA, Djaman K. 2017. Trend analysis in Standardized Precipitation Index and Standardized Anomaly Index in the context of climate change in Southern Togo. *Atmospheric and Climate Sciences* 7 (4): 401–423. <https://doi.org/10.4236/acs.2017.74030>
- McCulloch WS, Pitts W. 1943. A logical calculus of the ideas immanent in nervous activity. *The Bulletin of Mathematical Biophysics* 5 (4): 115–133.
- Magallanes-Quintanar R, Blanco-Macías F, Galván-Tejada EC, Galván-Tejada JI, Márquez-Madrid M, Valdez-Cepeda RD. 2019. Negative regional Standardized Precipitation Index trends prevail in the Mexico’s state of Zacatecas. *Terra Latinoamericana* 37 (4): 487–499. <http://dx.doi.org/10.28940/terra.v37i4.563>
- Mahfouz P, Mitri G, Jazi M, Karam F. 2016. Investigating the temporal variability of the standardized precipitation index in Lebanon. *Climate* 4 (2): 27. <https://doi.org/10.3390/cli4020027>
- Masinde M. 2014. Artificial neural networks models for predicting effective drought index: factoring effects of rainfall variability. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change* 19 (8): 1139–1162. <https://doi.org/10.1007/s11027-013-9464-0>
- McKee TB, Doesken NJ, Kleist J. 1993. The relationship of drought frequency and duration to time scales. *In Proceedings of the 8th Conference on Applied Climatology, American Meteorological Society: Boston, MA, USA,* pp. 179–183.
- Naresh Kumar M, Murthy CS, Sessa Sai MVR, Roy PS. 2009. On the use of Standardized Precipitation Index (SPI) for drought intensity assessment. *Meteorological Applications* 16 (3): 381–389. <https://doi.org/10.1002/met.136>
- Ozger M, Mishra AK, Singh VP. 2011. Estimating Palmer Drought Severity Index using a wavelet fuzzy logic model based on meteorological variables. *International Journal of Climatology* 31 (13): 2021–2032. <http://dx.doi.org/10.1002/joc.2215>
- R Core Team. 2020. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.cran.r-project.org/> (Retrieved: December 2021).
- Sharma S, Sharma S, Anidhya A. 2020. Activation functions in neural networks. *International Journal of Engineering Applied Sciences and Technology* 6 (12): 310–316. <http://dx.doi.org/10.33564/IJEAST.2020.v04i12.054>
- Soh YW, Koo CH, Huang YF, Fung KF. 2018. Application of artificial intelligence models for the prediction of standardized precipitation evapotranspiration index (SPEI) at Langat River Basin, Malaysia. *Computers and Electronics in Agriculture* 144: 164–173. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2017.12.002>

- Usman SU, Abdulhamid AI, Sawa BA, Kibon AU, Yusuf YO. 2014. An assessment of temporal variability of drought in Katsina using standardized precipitation index. *International Journal of Humanities, Arts, Medicine and Sciences* 2 (7): 33–40.
- Wang W, Van Gelder PH, Vrijling JK, Ma J. 2006. Forecasting daily streamflow using hybrid ANN models. *Journal of Hydrology* 324 (1–4): 383–399. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2005.09.032>

MODELOS DE REDES NEURONALES ARTIFICIALES PARA PRONOSTICAR EL ÍNDICE ESTANDARIZADO DE PRECIPITACIÓN EN EL CENTRO DE MÉXICO

Rafael Magallanes-Quintanar¹, Carlos Eric Galván-Tejada¹, Jorge Issac Galván-Tejada¹, Santiago de Jesús Méndez-Gallegos², Fidel Blanco-Macías³, Ricardo David Valdez-Cepeda^{3*}

¹ Universidad Autónoma de Zacatecas. Unidad Académica de Ingeniería Eléctrica. Av. Ramón López Velarde No. 801, Centro, Zacatecas, Zacatecas, México. C. P. 98000.

² Colegio de Posgraduados Campus San Luis Potosí. Iturbide No. 73, Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí, México. C. P. 78600.

³ Universidad Autónoma Chapingo. Centro Regional Universitario Centro Norte. Cruz del Sur No. 100, Col. Constelación, El Orito, Zacatecas, Zacatecas, México. C. P. 98085.

* Autor para correspondencia: vacrida@hotmail.com

RESUMEN

El efecto del cambio climático en los patrones de precipitación puede ser la causa del aumento de la frecuencia de sequías a nivel mundial. Su pronóstico, con base en el comportamiento histórico de las precipitaciones, puede ser útil en aquellos sectores para los que el agua es un elemento crítico (por ejemplo, la agricultura de temporal). La clasificación y caracterización de las sequías, con base en los modelos de pronóstico del índice de sequía, podría ayudar a mitigar sus efectos negativos en los sectores que dependen del agua. El objetivo principal de este documento fue evaluar un modelo de red neuronal artificial con un perceptrón multicapa para pronosticar el Índice Estandarizado de Precipitación en la región centro-norte de México, utilizando la información de las precipitaciones para el período 1964–2014. El modelo se obtuvo utilizando la función de activación de la tangente hiperbólica y el método de optimización del algoritmo de estimación adaptativa del momento. El modelo utilizó una arquitectura de red de 26-12-1, con 4 pesos y 365 parámetros entrenables. El análisis del diagrama de dispersión entre los valores pronosticados y observados del Índice Estandarizado de Precipitación para el conjunto de datos de pruebas dio como resultado un Coeficiente de Determinación de entre 0.84 y 0.88. Con base en el promedio de las estadísticas cuantitativas del conjunto de pruebas, el modelo de red artificial fue capaz de pronosticar con bastante éxito el Índice Estandarizado de Precipitación en las cuatro regiones de estudio. Este resultado se confirmó con el valor promedio para todas las regiones de las estadísticas de desempeño del Error Medio Absoluto (0.081), Error Cuadrático Medio (0.014) y el Coeficiente de Determinación (0.867). La conclusión es que los modelos de Redes Neuronales Artificiales, desarrollados y evaluados en esta investigación, demostraron tener la capacidad de proporcionar un Índice Estandarizado de Precipitación mensual adecuado para el análisis de las estaciones del territorio estudiado.

Palabras clave: sequía, precipitación, inteligencia artificial, IEP.

Citation: Magallanes-Quintanar R, Galván-Tejada CE, Galván-Tejada JI, Méndez-Gallegos S de J, Blanco-Macías F, Valdez-Cepeda RD. 2023. Modelos de redes neuronales artificiales para pronosticar el índice estandarizado de precipitación en el centro de México.

Agrociencia 57(1): 177-207.
<https://doi.org/10.47163/agrociencia.v57i1.2655>

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: March 02, 2022.
Approved: December 30, 2022.
Published in Agrociencia:
February 10, 2023.

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



INTRODUCCIÓN

La vulnerabilidad de las actividades humanas ante eventos extremos tales como inundaciones y sequías, resultado de los cambios en la distribución e intensidad de las lluvias, es un tema de investigación de gran importancia (Kharin *et al.*, 2007; Anghelutã y Badea, 2015). Una sequía meteorológica ocurre cuando las precipitaciones son menores que el promedio a largo plazo (Choubin *et al.*, 2016). Las sequías tienen un importante efecto negativo debido a la reducción de los flujos de agua dulce, lo que tiene un gran impacto en la planificación y el manejo de los recursos hídricos (Ali *et al.*, 2017). Varios enfoques para estimar las sequías se han utilizado; los índices de sequía son los métodos más utilizados. McKee *et al.* (1993) desarrollaron el Índice Estandarizado de Precipitación (IEP) para categorizar la lluvia observada como una desviación estandarizada de la función de distribución de probabilidad de precipitación.

En años recientes, el IEP se ha utilizado como método para la clasificación de zonas climáticas y como indicador de sequía, lo cual ha permitido realizar comparaciones espaciales y temporales (Naresh Kumar *et al.*, 2009). Debido a que este índice solo utiliza registros de los datos de precipitaciones a lo largo del tiempo, resulta fácil de calcular y brinda flexibilidad temporal, lo cual representa una ventaja significativa respecto de otros índices. Mahfouz *et al.* (2016) encontraron que el IEP tiene potencial para ser utilizado en el monitoreo de las condiciones de sequía en la silvicultura y agricultura en Líbano. Giddings *et al.* (2005) utilizaron el IEP para establecer zonas de precipitación dinámicamente consistentes a lo largo y ancho de México. No obstante, el IEP puede ser utilizado para definir áreas mucho más pequeñas y detalladas. Magallanes-Quintanar *et al.* (2019) lo utilizaron para agrupar las series temporales mensuales del estado de Zacatecas, México, en grupos pequeños con regímenes similares de precipitación. Las tendencias actuales sugieren que la precipitación media en el estado de Zacatecas es menor a la esperada. Sin embargo, los pronósticos del IEP han sido poco estudiados, por lo que se consideran prácticamente desconocidos. Este tipo de información podría ser fundamental para ajustar las actividades de los habitantes con base en estrategias planificadas de adaptación a la sequía.

En fechas recientes, se han desarrollado modelos no solo para evaluar, sino también para pronosticar sequías. Aunque históricamente las series temporales de variables climatológicas, tales como las precipitaciones y temperaturas mensuales, han sido ampliamente modeladas utilizando técnicas lineales como el modelo autorregresivo de media móvil (ARMA) y el modelo autorregresivo integrado de media móvil (SARIMA), es importante notar que la inteligencia artificial (IA) ha tenido un buen desempeño y precisión en los pronósticos de sequías. Una red neuronal es un método de procesamiento de información que determina patrones a partir de datos de manera adaptativa (Ali *et al.*, 2017).

Específicamente, gran parte de la investigación en los últimos años se ha centrado en el uso de modelos de red neuronal artificial (RNA) como una herramienta útil, basada en datos, para el pronóstico del índice de la severidad de la sequía. Ozger *et al.* (2011) desarrollaron un modelo de lógica difusa con ondículas para estimar el Índice de la Severidad de la Sequía. Belayneh *et al.* (2014) pronosticaron el IEP utilizando un modelo ARIMA, el cual combinaron con un enfoque de aprendizaje automático (como la RNA). Masinde (2014) utilizó una mezcla de la RNA y del Índice de Sequía Efectivo como enfoque para el pronóstico de las sequías. Deo y Şahin (2015) analizaron la viabilidad de la RNA como un modelo basado en datos para pronosticar el IEP mensual. Choubin *et al.* (2016) aplicaron diferentes técnicas basadas en datos para predecir el IEP. Ali *et al.* (2017) utilizaron un algoritmo de la red neuronal artificial con perceptrón multicapa (RNAPM) para pronosticar sequías, mientras que Soh *et al.* (2018) trabajaron con un modelo ARIMA-RNA con ondículas y el modelo más reciente del Sistema de Interferencia Neuro-Difusa Adaptativo con Ondículas para predecir el IEP.

Dado que el modelo de la red neuronal artificial con preceptor multicapa (MPM) es uno de los principales tipos de métodos RNA utilizados para el modelado de información hidrológica (Ali *et al.*, 2017), el enfoque de este estudio fue perfilar el desarrollo de un MPM durante un período de 50 años (1964–2014) en la región central de México. Los objetivos fueron: (a) determinar el pronóstico regional del Índice Estandarizado de Precipitación; y (b) determinar el pronóstico regional del Índice Estandarizado de Precipitación para 12 meses (futuro cercano).

MATERIALES Y MÉTODOS

Datos de las precipitaciones

La serie temporal regional del Índice Estandarizado de Precipitación evaluada por Magallanes-Quintanar *et al.* (2019) se obtuvo a partir de la base de datos de los registros a largo plazo (50 años, 1964–2014) de las precipitaciones mensuales. La información se recabó en 31 estaciones meteorológicas ubicadas dentro del territorio del estado de Zacatecas, México (Figura 1). La Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) proporcionó la base de datos. Todos los conjuntos de datos fueron inspeccionados en búsqueda de valores faltantes y atípicos.

Índice Estandarizado de Precipitación

McKee *et al.* (1993) definieron el Índice Estandarizado de Precipitación (IEP) como la cantidad de desviaciones estándar que la precipitación acumulada observada se desvía de la media climatológica. El IEP se desarrolló principalmente para especificar y monitorear sequías. De acuerdo con Koudahe *et al.* (2017), el IEP se calcula de la siguiente manera:

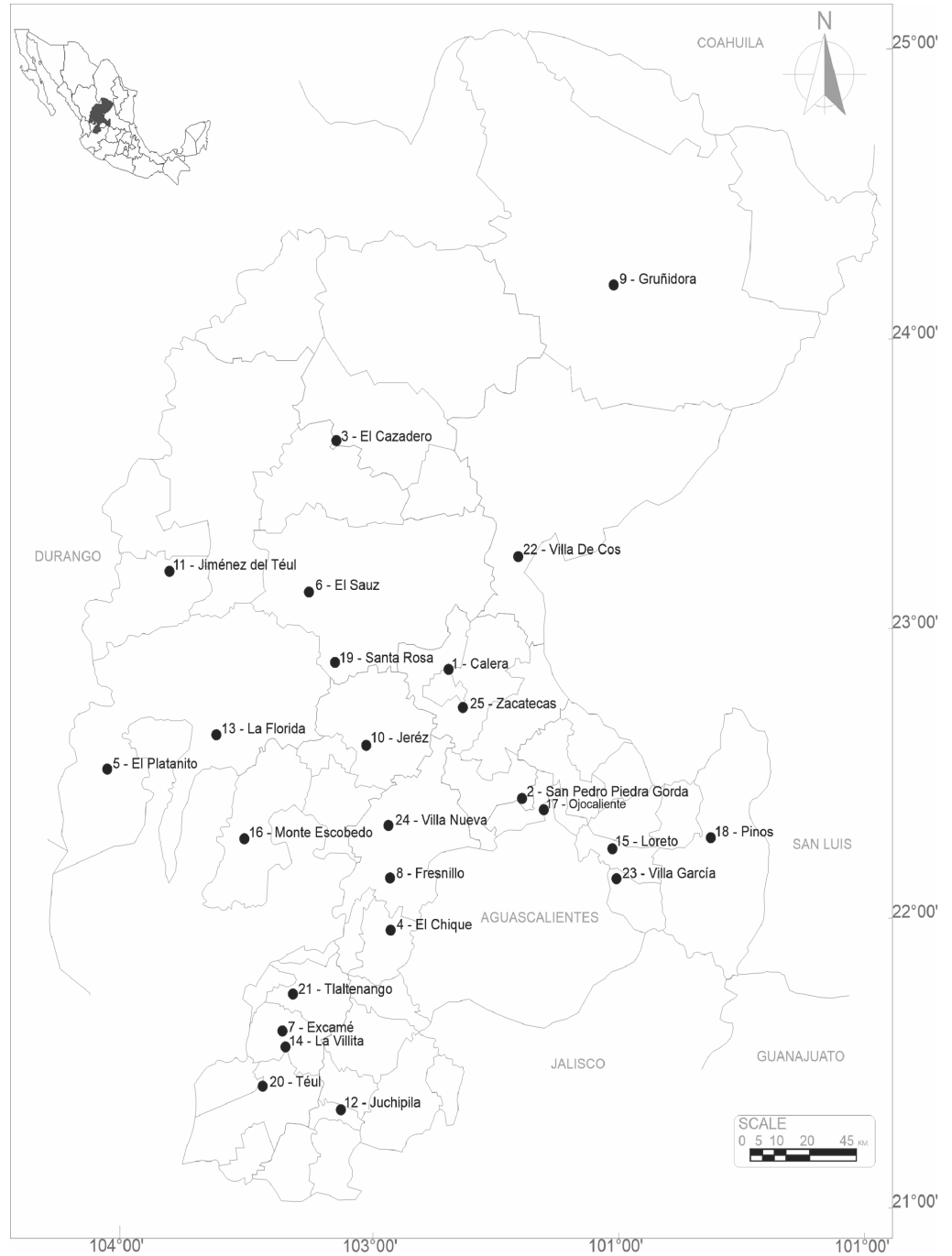


Figura 1. Región de estudio en el territorio del estado de Zacatecas, México, y ubicación de las estaciones meteorológicas.

Una función gamma que utiliza los datos mensuales de precipitación se define como:

$$g(x) = \frac{1}{\beta^\alpha \Gamma(\alpha)} x^{\alpha-1} e^{-\frac{x}{\beta}}$$

para $x > 0$.

La función de densidad de probabilidad $g(x)$, tiene a α como parámetro de forma ($\alpha > 0$) y a β como parámetro de la escala ($\beta > 0$), y

$$\Gamma(\alpha) = \int_0^\alpha y^{\alpha-1} e^{-y} dy$$

donde $\Gamma(\alpha)$ es la función gamma.

Los parámetros α y β se calculan de la siguiente manera:

$$\alpha = \frac{1}{4A} \left(1 + \sqrt{1 + \frac{4A}{3}} \right)$$

$$\beta = \frac{x}{\alpha}$$

$$A = \ln(\bar{x}) - \frac{\sum \ln(\bar{x})}{n}$$

donde n es la cantidad de observaciones de precipitaciones y \bar{x} es el promedio aritmético sobre la escala temporal. Si los estimadores α y β se utilizan para integrar la función de densidad de probabilidad con respecto a x , la probabilidad acumulativa $G(x)$ de un volumen observado de precipitación por mes y escala temporal se calcula de la siguiente manera:

$$G(x) = \int_0^x g(x) dx = \frac{1}{\beta^\alpha \Gamma(\alpha)} \int_0^x x^{\alpha-1} e^{-\frac{x}{\beta}} dx$$

Al substituir t por $\frac{x}{\beta}$ en la ecuación anterior, se obtiene una función gamma incompleta:

$$G(x) = \frac{1}{\Gamma(\alpha)} \int_0^{\frac{x}{\beta}} t^{\alpha-1} e^{-t} dt$$

Sin embargo, la función de distribución gamma está indeterminada para $x = 0$ y $q = P(x = 0) > 0$; donde $P(x = 0)$ es la probabilidad de precipitación cero. Por lo tanto, la probabilidad real de no-excedencia $H(x)$ debería calcularse de la siguiente manera (Edwards y McKee, 1997; Usman *et al.*, 2014):

$$H(x) = q + (1 - q)G(x)$$

Donde $H(x)$ es la probabilidad real de no-excedencia y q es la probabilidad de $x = 0$. Si m es la cantidad de ceros en una muestra de tamaño n de la serie temporal de precipitaciones, entonces q se evalúa de la siguiente manera:

$$q = \frac{m}{n}$$

Finalmente, para calcular el IEP, la distribución de la probabilidad acumulativa $H(x)$ es estandarizada a la variable normal $Z \sim N(0,1)$. Los resultados del IEP pueden ser interpretados como períodos húmedos o secos, como lo señalan McKee *et al.* (1993).

Varias escalas temporales pueden ser utilizadas para calcular el IEP, con cambios en las precipitaciones que afectan diferentes aspectos del ciclo hidrológico (Koudahe *et al.*, 2017). Cómo lo señaló Caloiero (2017), el IEP de 6 meses describe sequías que afectan la vida de las plantas y la agricultura, mientras que el IEP de 12 meses describe las sequías que afectan los suministros/reservas de agua. En este estudio, se evaluó el IEP con una escala temporal de 12 meses. Debido a la dificultad que conlleva calcular manualmente el IEP, se desarrollaron varios programas de computación para realizar esta tarea. Uno de los programas más utilizados con este fin fue desarrollado por el Centro de Mitigación de Sequías de Estados Unidos. El programa SPIGenerator se encuentra disponible, de manera gratuita, en: <http://drought.unl.edu/droughtmonitoring/SPI/SPIProgram.aspx>. En este estudio, el IEP fue estimado por medio del programa R system 4.0.2 (R Core Team, 2020) y el paquete SPEI (Beguería y Vicente-Serrano, 2013). Ambos programas se encuentran disponibles, de manera gratuita, en Comprehensive R Archive Network (<https://www.cran.r-project.org/>).

La comparación interanual de los valores estimados del IEP, en una escala temporal de 12 meses para cada región, es mostrada en la Figura 2.

Pronóstico de la red neuronal

Los modelos de la Red Neuronal Artificial (RNA) pueden identificar relaciones no lineales entre los datos de entrada y de salida, utilizando paradigmas computacionales que intentan representar las conexiones neuronales del cerebro (McCulloch y Pits, 1943). Los modelos RNA han tenido éxito al pronosticar

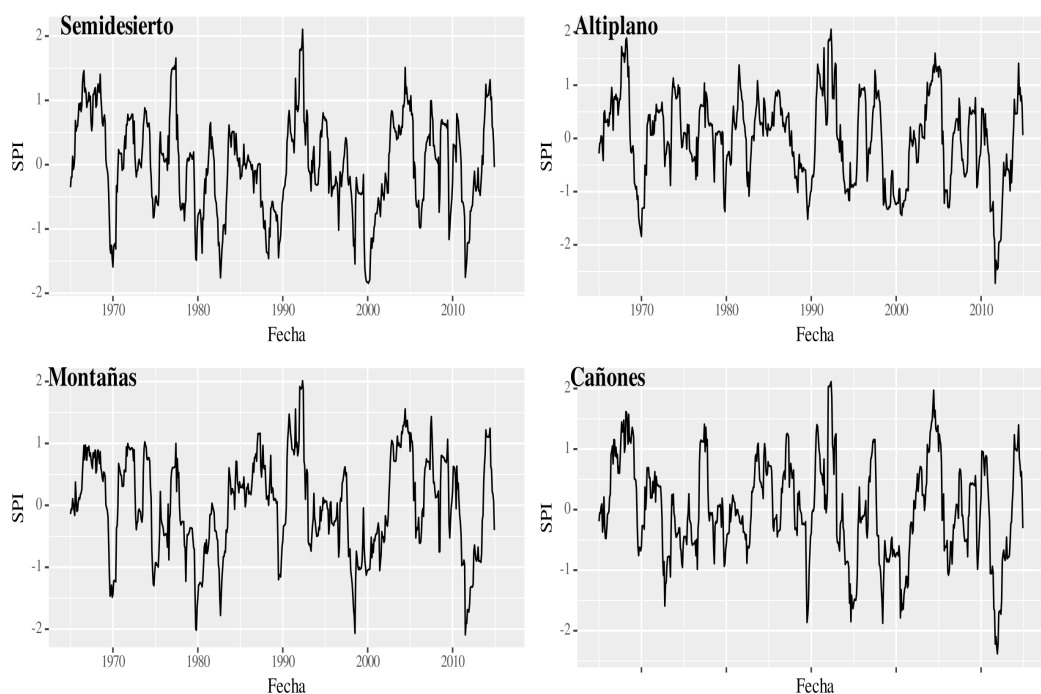


Figura 2. Serie temporal del IEP regional, en una escala temporal de 12 meses, para el territorio del estado de Zacatecas.

series temporales climatológicas. Entre ellos, la red del Perceptrón Multicapa (PM) es uno de los enfoques RNA más utilizados para modelar la información hidrológica (Wang *et al.*, 2006; Ali *et al.*, 2017). La RNA ha probado ser una alternativa más eficiente que los métodos tradicionales para modelar series temporales de comportamiento no lineal (Farajzadeh *et al.*, 2014).

Una red neuronal artificial simple es la red neuronal de alimentación directa. En esta clase de RNA, la información es procesada en una dirección por medio de nodos escondidos, sin formar un ciclo. La estructura de la red neuronal de alimentación directa incluye, al menos, la capa de entrada y la cantidad de características o variables. La primera incluye las neuronas que reciben las entradas y transmiten la información hacia las capas ocultas. La segunda incluye la cantidad de características o variables que deben igualar la cantidad de neuronas de esta capa. Las capas ocultas se encuentran entre las capas de entrada y salida; éstas pueden contener una cantidad importante de neuronas que transforman la información de entrada antes de enviarla a la siguiente capa. Conforme la red es entrenada, los pesos se renuevan para aumentar su capacidad de hacer pronósticos. El peso de las neuronas hace referencia a la fuerza o amplitud de la conexión entre la entrada y la neurona. La característica o variable pronosticada que depende del tipo de modelo examinado es representada por la capa de salida.

De manera típica, el procesamiento de datos por medio de una red de alimentación directa (Figura 3) sigue los siguientes pasos:

1. Multiplicación de pesos y entradas: Las entradas se multiplican por los valores de peso designados.
2. Suma de los sesgos: El resultado de la fase previa se suma a sus respectivos sesgos. A continuación, las entradas modificadas se suman para obtener un solo valor.
3. Activación: Una función de activación introduce propiedades no lineales a la capa oculta y transfiere el resultado a la capa de salida. Se llama función de activación/transferencia porque controla el comienzo (momento en el cual una neurona se dispara) y la fuerza de la información de salida.
4. Señal de salida: El resultado de la suma del peso de la fase anterior se convierte en la señal de salida.

En el MPM, se supone que existen n capas. La primera capa es la capa de entrada y la última (*enésima*) es la capa de salida. Por lo tanto, las capas ocultas van de la capa 2 a la capa $n-1$. En este modelo, la neurona es la unidad principal de procesamiento, la cual calcula la suma ponderada de sus señales de entrada. Tal y como lo explican Deo y Şahin (2015), una sola neurona puede ser descrita por medio de la siguiente fórmula:

$$u_k = \sum_{j=1}^m w_k x_j$$

donde las señales de salida van de x_1 a x_m y los pesos sinápticos de la neurona k de w_{k1} a w_{km} . La señal de salida de la neurona se define como:

$$y_k = f(u_k + b_k)$$

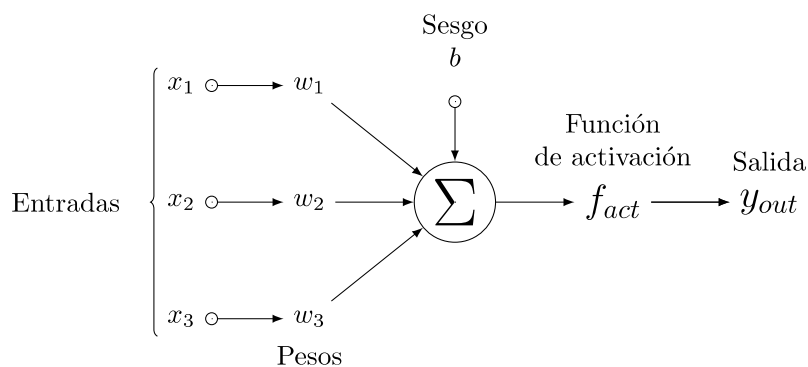


Figura 3. Diagrama de flujo de la red neuronal.

donde u_k es la salida de combinación lineal de las señales de entrada, b_k es el sesgo y f es la función de activación que, entre otras, podría ser: paso binario, linear, sigmoideo, tangente hiperbólica, SoftMax, unidad lineal rectificadora, unidades lineales exponenciales y swish (Sharma *et al.*, 2020).

En general, las redes neuronales tienen al menos una capa de entrada y una capa de salida, aunque el número de capas ocultas puede diferir; la selección de dichas variables es específica para cada dominio o varía de acuerdo con el problema (Ali *et al.*, 2017). Aún más, resulta difícil elucidar la estructura interna (unidades de entrada y ocultas) y la distribución de estas unidades de la RNA; suelen establecerse utilizando un enfoque de prueba y error o se establecen por adelantado, a partir de la experiencia previa.

Después de seleccionar las variables o características, el desarrollo de un MPM comienza con el entrenamiento, prueba y validación de la red neuronal para lograr el aprendizaje. Una vez que se ha establecido la arquitectura de la red, es posible probar y verificar el modelo. El último paso es elaborar un pronóstico modelo.

El lenguaje de programación Python es de uso extendido en el ámbito científico y en el análisis de datos. Además, Keras y TensorFlow son interfaces accesibles y sumamente productivas para la solución de problemas de aprendizaje automático. En esta investigación, se utilizó la versión 3.85 del lenguaje Python (Python Software Foundation, <https://www.python.org/>) y el marco de aprendizaje automático de código abierto TensorFlow de Google (Abadi *et al.*, 2016). Además, se utilizó la API de red neuronal de alto nivel Keras (Chollet, 2015) para adaptar una RNA a las cuatro series temporales regionales del IEP obtenido por Magallanes-Quintanar *et al.* (2019) para pronosticar los valores del IEP-12 para cada región (semidesierto, altiplano, montañas y cañones). Los simulacros se llevaron a cabo con un procesador AMD Ryzen 7 a 2.3 GHz. Antes de poner en práctica el modelo arquitectónico, el 80 % de los datos de las series temporales (1965–2004) del IEP-12 de cada región fueron utilizados como conjunto de datos para el entrenamiento del modelo. Tras seleccionar los parámetros adecuados, se validaron o pusieron a prueba los valores del IEP, utilizando el 20 % restante de los datos (2005–2014). Como se mencionó con anterioridad, el modelo arquitectónico se determinó por medio de prueba y error. En este caso, se tomaron en consideración los trabajos de Deo y Şahin (2015) y Ali *et al.* (2017), para establecer la distribución del MPM. El entrenamiento de la red neuronal por medio de las API Keras y TensorFlow fue especificado para utilizar un modelo secuencial, con la tangente hiperbólica como función de activación y con la estimación adaptativa del momento como algoritmo de optimización (Kingma y Ba, 2015). Además, se seleccionaron 1,000 *epochs* (ciclos) como hiperparámetro de descenso del gradiente para controlar el número de pases a través del conjunto de datos de series temporales.

El algoritmo puede entrenar a la red para cualquier situación difícil o compleja y permite la interrupción temprana para evitar el sobreajuste. Al evaluar los modelos de la RNA, se utilizan métricas de precisión o medidas de desempeño para los modelos comparativos. En la presente investigación, se utilizaron varias medidas o métricas de desempeño, incluyendo el error absoluto medio (EAM), el error cuadrático medio (ECM) y el coeficiente de determinación (R^2).

$$MAE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |(SPI_{p_i} - SPI_{o_i})|$$

$$MSE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (SPI_{p_i} - SPI_{o_i})^2$$

El EAM es una medida de la desviación promedio de los valores pronosticados a partir de los valores observados correspondientes y puede proporcionar información sobre el desempeño a largo plazo de los modelos; entre más bajo sea el EAM, mejor es el pronóstico a largo plazo del modelo. ECM es una medida de la diferencia entre los valores observados y los valores calculados; entre menor sea el ECM, más preciso será el pronóstico (Jierula *et al.*, 2021). La última evaluación métrica fue el R^2 como criterio de eficiencia que representa el porcentaje de incertidumbre inicial que explica el modelo. Un buen modelo debe tener valores pequeños de ECM y EAM, ya que ambos indican un número bajo de errores acumulados; por lo tanto, el mejor ajuste entre los valores observados y los valores calculados (algo que es poco probable que ocurra) sería un $ECM=0$ y $R^2=1$.

Además, se utilizó la diferencia entre los valores observados y pronosticados del IEP para evaluar el error de pronóstico (EP) del modelo (Chapra y Canale, 2006).

$$PE = SPI_{o_i} - SPI_{p_i}$$

Dado que el MPM incluye las características internas de un proceso complejo, es posible pronosticar valores futuros una vez que se han definido las características o variables, que se ha establecido el modelo y sus parámetros y que se ha entrenado y validado el modelo. Con ese fin, se desarrolló una base de datos de 12 meses para pronosticar las variables del IEP-12.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El proceso de entrenamiento dio como resultado una arquitectura de redes 26-13-1, con 4 pesos y un total de 365 parámetros entrenables. Dicha arquitectura

incluye una capa densa con forma (ninguna, 1, 26) con 338 parámetros, una capa plana con forma (ninguna, 26) con 0 parámetros y una capa densa con forma (ninguna, 1, 26) con 27 parámetros. La arquitectura establecida concuerda con los trabajos de Deo y Şahin (2015), quienes escogieron una arquitectura 18-43-1 y Ali *et al.* (2017), quienes seleccionaron una arquitectura 30-8-1. Los valores observados y pronosticados del IEP-12 según la RNA se muestran para las regiones semidesértica, altiplano, de montaña y de cañones (Figura 4). En general, los valores estimados del ECM y del EAM fueron bajos (Cuadro 1). De acuerdo con dichos resultados, el desempeño de los 4 modelos regionales del IEP logró una precisión adecuada. El desempeño de los modelos de la RNA fue evaluado por medio de un diagrama de dispersión (Figura 5) y de estadísticas de regresión lineal para las cuatro regiones, durante el período de validación (2005–2014) (Cuadro 2). En el caso de los modelos de la RNA óptimos para cada región, el punto de intersección y (β_0) osciló entre 0.003 (región de las tierras altas) y 0.034 (región de los cañones), y la pendiente (β_1) osciló entre 0.84 (región de los cañones) y 0.93 (región semidesértica). El coeficiente de correlación (r) varió de 0.1 (región semidesértica) a 0.93 (región de los cañones). Por lo tanto, los modelos indicaron un

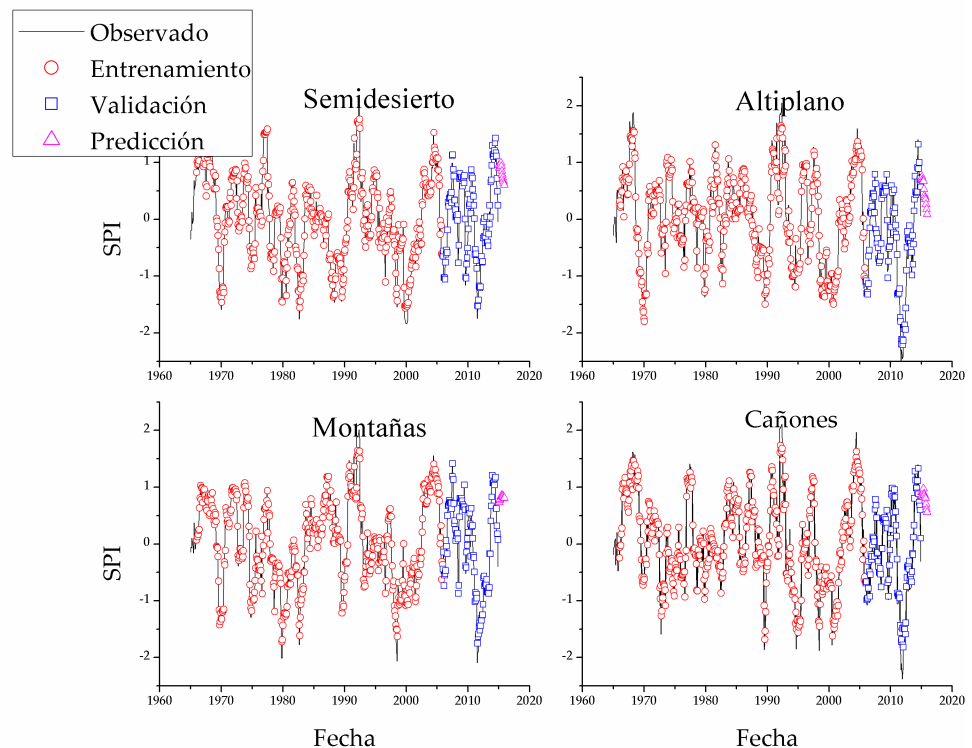


Figura 4. Series temporales del IEP regionales observadas y pronosticadas para el territorio del estado de Zacatecas, México.

Cuadro 1. Medición cuantitativa del desempeño de la RNA durante la fase de validación de las series temporales regionales del IEP para el estado de Zacatecas, México.

Región	ECM	EAM
Semidesértica	0.015	0.082
Tierras altas	0.013	0.078
Montañas	0.014	0.071
Cañones	0.015	0.083

Mediciones clave: Error cuadrático medio (ECM) y error absoluto medio (EAM).

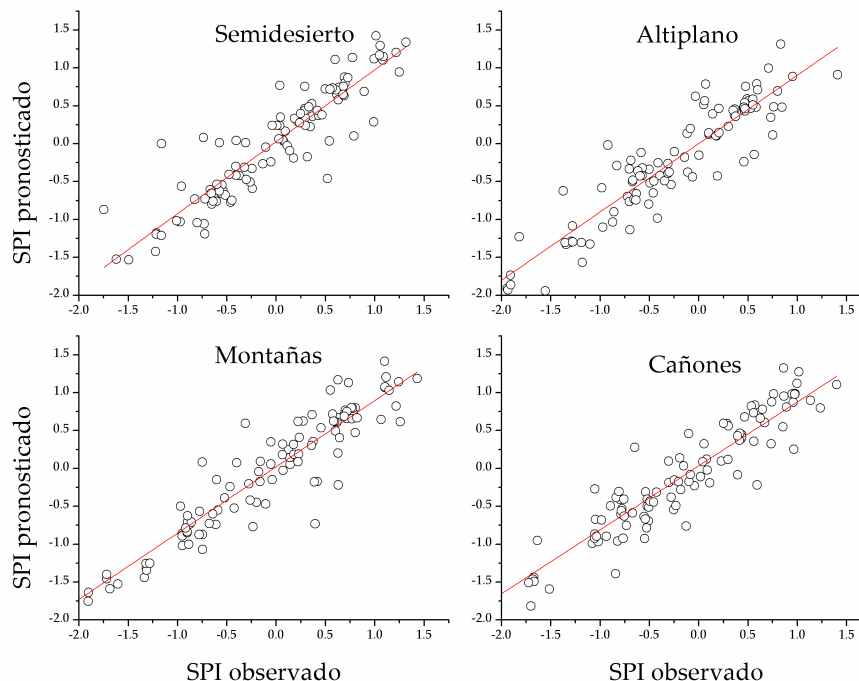


Figura 5. Correlación entre los valores originales del IEP y los valores del IEP pronosticados por la RNA, durante el período de validación de las series temporales regionales para el IEP en el estado de Zacatecas, México.

alto nivel de correspondencia entre los valores pronosticados y observados del IEP.

En general, se registró una buena concordancia visual entre los valores observados y pronosticados del IEP durante los 108 meses que duró el período de validación (Figura 5). Este resultado fue coherente con los resultados señalados por el resumen estadístico del diagrama de dispersión entre los valores pronosticados y observados del IEP (Cuadro 2). Para inferir la capacidad

Cuadro 2. Evaluación del desempeño del modelo de la RNA, con base en la fórmula de regresión ($IEP_p = \beta_0 + \beta_1 IEP_o$) para los valores observados del IEP (IEP_o) y los valores pronosticados del IEP (IEP_p), durante el período de validación de las series temporales regionales del IEP para el estado de Zacatecas, México.

Región	β_0	β_1	R ²	R
Semidesértica	0.013	0.931	0.843	0.918
Tierras altas	0.003	0.902	0.879	0.938
Montañas	0.021	0.866	0.861	0.933
Cañones	0.034	0.844	0.878	0.937

general de pronóstico del modelo de la RNA, se contrastó su desempeño con el ECM, EAM y R², utilizando las estadísticas de desempeño para todos los meses incluidos dentro del conjunto de datos de validación (Cuadro 1 y 2).

Las pruebas sugieren que los mejores pronósticos del modelo de la RNA corresponden a la región del altiplano. Los menores valores, tanto del EAM (≈ 0.078) como del ECM (≈ 0.013), así como los mayores valores de R² (0.879), fueron registrados en esta región. El segundo mejor desempeño se registró en la región de las montañas, seguido por la región semidesértica y la región de los cañones. Además, los valores más altos del EAM y el ECM corresponden al pronóstico del modelo de la RNA para la región de los cañones.

En general, los modelos de la RNA demostraron contar con una buena capacidad de pronóstico para todas las regiones estudiadas. La probabilidad de que la distribución normal del error de pronóstico represente subestimaciones ($EP < 0$) y sobreestimaciones ($EP > 0$) para los modelos de la RNA se aprecia en la Cuadro 3. En general, los valores de subestimación fueran mayores que los valores de sobreestimación en todas las regiones. Por una parte, esto implica que los pronósticos de los modelos de la RNA subestimaron los IEP para todas las regiones. La región de los cañones registró la mayor diferencia con una probabilidad de 59.34 %, mientras que la región semidesértica registró la menor

Cuadro 3. Probabilidad considerando la distribución normal del error de predicción (EP) para los valores observados del IEP (IEP_o) y los valores pronosticados del IEP (IEP_p), durante el período de validación de las series temporales regionales del IEP para el estado de Zacatecas, México.

Región	EP < 0	EP > 0
Semidesértica	0.517	0.483
Tierras altas	0.550	0.450
Montañas	0.535	0.465
Cañones	0.593	0.407

diferencia, con una probabilidad de 51.71 %. Por otra parte, el valor mínimo de probabilidad de sobreestimación (40.6 %) se registró en la región de los cañones y el valor máximo de probabilidad de sobreestimación (48.29 %) se registró en la región semidesértica.

De manera notoria, las redes neuronales han demostrado ser métodos sumamente útiles para pronosticar de manera empírica las variables hidrológicas (Daliakopoulos *et al.*, 2005; Farajzadeh *et al.*, 2014). Nuestros resultados pueden ser comparados con los de Deo y Şahin (2015), Ali *et al.* (2017) y Soh *et al.* (2018), quienes utilizaron el modelo de la RNA para pronosticar el índice estandarizado mensual de precipitación. Asimismo, nuestros resultados respaldan los de Giddings *et al.* (2005), ya que nuestro enfoque permite derivar regiones más pequeñas y detalladas de México por medio del IEP.

CONCLUSIONES

En fechas recientes, el pronóstico de sequías se ha convertido en un tema apremiante en materia de hidrología, gestión de los recursos hídricos y agricultura de temporal, entre otros campos, como consecuencia de su impacto negativo en las actividades humanas relacionadas con el uso del agua. Perceptrones multicapas se usaron para predecir el valor de cuatro series temporales mensuales para el Índice Estandarizado de Precipitación (IEP) para el estado mexicano de Zacatecas. Los modelos fueron entrenados y sometidos a pruebas utilizando las series temporales regionales del IEP y los pronósticos de las variables de salida fueron realizados con base en dicho índice.

Después de una serie de pruebas y errores, se determinó que la mejor arquitectura de red fue la combinación 26-13-1 (neuronas de entrada, ocultas y de salida), con base en el menor error cuadrático medio (ECM) y el mayor coeficiente de determinación para cada región. Una buena concordancia entre los valores observados y pronosticados del IEP se encontró utilizando un análisis de diagrama de dispersión y el modelo correspondiente para cada región. Los modelos de la RNA pronosticaron con gran precisión los valores regionales de los IEP, en términos de las estadísticas cuantitativas respecto del conjunto de prueba.

En general, los modelos de la RNA que fueron desarrollados y sometidos a prueba reflejan la capacidad del Índice Estandarizado de Precipitación para obtener pronósticos satisfactorios respecto de las cuatro series temporales regionales estudiadas. Utilizando modelos de la RNA se optimizaron neuronas ocultas, funciones de activación y varias combinaciones de algoritmos de entrenamiento y de prueba. Aunque nuestra investigación se enfocó en el estudio del IEP-12, es posible utilizar la totalidad del marco para estudiar el IEP a diferentes escalas temporales. En el contexto del cambio climático, el pronóstico de las sequías por medio del modelo de la RNA (utilizado como un marco para estudios futuros) permitiría obtener información útil para la toma de

decisiones. Asimismo, investigaciones futuras deberían evaluar diversos parámetros de entrada, además de los valores observados del IEP, con el objetivo de evaluar los efectos de diferentes arquitecturas de red.

REFERENCIAS

- Abadi M, Barham P, Chen J, Chen Z, Davis A, Dean J, Zheng X. 2016. Tensorflow: A system for large-scale machine learning. *In* 12th symposium on operating systems design and implementation (OSDI 16). USENIX: Savannah, GA, USA, pp: 265–283. <https://www.usenix.org/system/files/conference/osdi16/osdi16-abadi.pdf> (Recuperado: diciembre 2021).
- Ali Z, Hussain I, Faisal M, Nazir HM, Hussain T, Shad MY, Hussain Gani S. 2017. Forecasting drought using multilayer perceptron artificial neural network model. *Advances in Meteorology* 2017: 1–9. <https://doi.org/10.1155/2017/5681308>
- Anghelutã PS, Badea CG. 2015. The water resources in the context of climate change produced by the greenhouse gases. *University of Oradea, Faculty of Economics* 1 (2): 637–643.
- Beguera S, Vicente-Serrano SM. 2013. SPEI: Calculation of the standardized precipitation- evapotranspiration index. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. <https://www.cran.r-project.org/> (Recuperado: diciembre 2021).
- Belayneh A, Adamowski J, Khalil B, Ozga-Zielinski B. 2014. Long-term SPI drought forecasting in the Awash River Basin in Ethiopia using wavelet neural network and wavelet support vector regression models. *Journal of Hydrology* 508: 418–429. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2013.10.052>
- Caloiero T. 2017. Drought analysis in New Zealand using the standardized precipitation index. *Environmental Earth Sciences* 76 (16): 1–13. <https://doi.org/10.1007/s12665-017-6909-x>
- Chapra SC, Canale RP. 2006. Numerical methods for engineers. McGraw-Hill Higher Education: Boston, MA, USA. 987 p.
- Chollet F. 2015. Keras. GitHub. <https://github.com/fchollet/keras> (Recuperado: diciembre 2021).
- Choubin B, Malekian A, Golshan M. 2016. Application of several data-driven techniques to predict a standardized precipitation index. *Atmósfera* 29 (2): 121–128. <https://doi.org/10.20937/ATM.2016.29.02.02>
- Daliakopoulos IN, Coulibaly P, Tsanis IK. 2005. Groundwater level forecasting using artificial neural networks. *Journal of Hydrology* 309 (1–4): 229–240. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2004.12.001>
- Deo RC, Şahin M. 2015. Application of the artificial neural network model for prediction of monthly standardized precipitation and evapotranspiration index using hydrometeorological parameters and climate indices in eastern Australia. *Atmospheric Research* 161: 65–81. <https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2015.03.018>
- Edwards DC, McKee TB. 1997. Characteristics of 20th century drought in the United States at multiple time scales. *Climatology Report No. 7-2. Atmospheric Paper No. 634. 152-155. Colorado State University, Department of Atmospheric Science: Fort Collins, CO, USA.* <https://mountainscholar.org/handle/10217/170176>. (Recuperado: diciembre 2021).
- Farajzadeh J, Fard AF, Lotfi S. 2014. Modeling of monthly rainfall and runoff of Urmia lake basin using “feed-forward neural network” and “time series analysis” model. *Water Resources and Industry* 7: 38-48. <https://doi.org/10.1016/j.wri.2014.10.003>
- Giddings L, Soto M, Rutherford B, Maarouf A. 2005. Standardized precipitation index zones for Mexico. *Atmósfera* 18 (1): 33–56.
- Jierula A, Wang S, Oh TM, Wang P. 2021. Study on accuracy metrics for evaluating the predictions of damage locations in deep piles using artificial neural networks with acoustic emission data. *Applied Sciences* 11 (5): 2314. <https://doi.org/10.3390/app11052314>
- Kingma DP, Ba JL. 2015. Adam: A method for stochastic optimization. *In* Third International Conference on Learning Representations ICLR, 2015. Cornell University Press: Ithaca, NY, USA, pp: 1–15. <https://doi.org/10.48550/arXiv.1412.6980>
- Kharin VV, Zwiers FW, Zhang X, Hegerl GC. 2007. Changes in temperature and precipitation extremes in the IPCC ensemble of global coupled model simulations. *Journal of Climate* 20 (8): 1419–1444. <https://doi.org/10.1175/JCLI4066.1>

- Koudahe K, Kayode AJ, Samson AO, Adebola AA, Djaman K. 2017. Trend analysis in Standardized Precipitation Index and Standardized Anomaly Index in the context of climate change in Southern Togo. *Atmospheric and Climate Sciences* 7 (4): 401–423. <https://doi.org/10.4236/acs.2017.74030>
- McCulloch WS, Pitts W. 1943. A logical calculus of the ideas immanent in nervous activity. *The Bulletin of Mathematical Biophysics* 5 (4): 115–133.
- Magallanes-Quintanar R, Blanco-Macías F, Galván-Tejada EC, Galván-Tejada JI, Márquez-Madrid M, Valdez-Cepeda RD. 2019. Negative regional Standardized Precipitation Index trends prevail in the Mexico's state of Zacatecas. *Terra Latinoamericana* 37 (4): 487–499. <http://dx.doi.org/10.28940/terra.v37i4.563>
- Mahfouz P, Mitri G, Jazi M, Karam F. 2016. Investigating the temporal variability of the standardized precipitation index in Lebanon. *Climate* 4 (2): 27. <https://doi.org/10.3390/cli4020027>
- Masinde M. 2014. Artificial neural networks models for predicting effective drought index: factoring effects of rainfall variability. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change* 19 (8): 1139–1162. <https://doi.org/10.1007/s11027-013-9464-0>
- McKee TB, Doesken NJ, Kleist J. 1993. The relationship of drought frequency and duration to time scales. *In* Proceedings of the 8th Conference on Applied Climatology, American Meteorological Society: Boston, MA, USA, pp. 179–183.
- Naresh Kumar M, Murthy CS, Sessa Sai MVR, Roy PS. 2009. On the use of Standardized Precipitation Index (SPI) for drought intensity assessment. *Meteorological Applications* 16 (3): 381–389. <https://doi.org/10.1002/met.136>
- Ozger M, Mishra AK, Singh VP. 2011. Estimating Palmer Drought Severity Index using a wavelet fuzzy logic model based on meteorological variables. *International Journal of Climatology* 31 (13): 2021–2032. <http://dx.doi.org/10.1002/joc.2215>
- R Core Team. 2020. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.cran.r-project.org/> (Recuperado: diciembre 2021).
- Sharma S, Sharma S, Anidhya A. 2020. Activation functions in neural networks. *International Journal of Engineering Applied Sciences and Technology* 6 (12): 310–316. <http://dx.doi.org/10.33564/IJEAST.2020.v04i12.054>
- Soh YW, Koo CH, Huang YF, Fung KF. 2018. Application of artificial intelligence models for the prediction of standardized precipitation evapotranspiration index (SPEI) at Langat River Basin, Malaysia. *Computers and Electronics in Agriculture* 144: 164–173. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2017.12.002>
- Usman SU, Abdulhamid AI, Sawa BA, Kibon AU, Yusuf YO. 2014. An assessment of temporal variability of drought in Katsina using standardized precipitation index. *International Journal of Humanities, Arts, Medicine and Sciences* 2 (7): 33–40.
- Wang W, Van Gelder PH, Vrijling JK, Ma J. 2006. Forecasting daily streamflow using hybrid ANN models. *Journal of Hydrology* 324 (1–4): 383–399. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2005.09.032>



Agrociencia

VOLUMEN 57, NÚMERO 1 | 1 DE ENERO - 15 DE FEBRERO, 2023 | MÉXICO