

Agrociencia

Volumen 55, Número 6

16 de agosto - 30 de septiembre, 2021



Dr. Francisco Alfonso Larqué Saavedra
Investigador Nacional Emérito
CONACYT



SADER

SECRETARÍA DE AGRICULTURA
Y DESARROLLO RURAL

MÉXICO



DIRECTORIO

DIRECTOR DE AGROCIENCIA

Said Infante Gil

SUBDIRECTORA DE AGROCIENCIA

Ana Rita Román Jiménez

CONSEJO EDITORIAL INTERNACIONAL

Roger Austin (**Inglaterra**)

José Sarukhán Kermez (**México**)

Barry C. Arnold (**EUA**)

COMITÉ ASESOR EDITORIAL INTERNO

Jorge Alvarado López

Jorge D. Etchevers Barra

Víctor A. González Hernández

Leopoldo E. Mendoza Onofre

José A. Villaseñor Alva

RESPONSABLES DE LA EDICIÓN

Said Infante Gil

Ana Rita Román Jiménez

FORMACIÓN, DISEÑO Y MAQUETACIÓN

L. Brenda Espejel Lagunas

COSECHADOR DE METADATOS

Moises Quintana Arévalo

APOYO

Belem M. Villegas Contreras

Yolanda Feroso Meraz

Oscar Vieyra Durán

DERECHOS DE AUTOR Y DERECHOS CONEXOS, **Volumen 55, número 6, 16 de agosto - 30 de septiembre, 2021**, Agrociencia es una publicación sesquimensual editada por el Colegio de Postgraduados. Carretera México- Texcoco, Km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México. CP 56230. Tel. 5959284427. www.colpos.mx. Editor responsable: **Dr. Said Infante Gil**. Reservas de Derechos al Uso Exclusivo 04-2021-031913431800-203. ISSN: 1405-3195. eISSN: 2521-9766, otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Responsable de la última actualización de este número, Dr. Said Infante Gil. Fecha de última modificación, **30 de septiembre del 2021**.

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

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

Oficinas Centrales:

DIRECTOR DE AGROCIENCIA

Guerrero #9, Esquina Avenida Hidalgo.

56220. San Luis Huexotla. Texcoco, Estado de México

Apartado Postal 56

56230, Suc. Chapingo, Estado de México

Teléfono: 595 92 84427

agrociencia@colpos.mx

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

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

Portada: Dr. Francisco Alfonso Larqué Saavedra



SADER

SECRETARÍA DE AGRICULTURA
Y DESARROLLO RURAL

CONTENIDO ❖ CONTENTS

Volumen 55

16 de agosto - 30 de septiembre, 2021

Número 6

Agua-Suelo-Clima ⇌ Water-Soil-Climate

VARIABILIDAD EN CARACTERÍSTICAS MORFO-FISIOLÓGICAS DEL FRIJOL COMÚN BAJO SEQUÍA TERMINAL ⇌ VARIABILITY IN MORPHO-PHYSIOLOGICAL TRAITS OF COMMON BEAN UNDER TERMINAL DROUGHT

Celia Selene **Romero-Félix**, Cándido **López-Castañeda**, Josué **Kohashi-Shibata**, Carlos Gustavo **Martínez-Rueda**, Salvador **Miranda-Colín**, Víctor Heber **Aguilar-Rincón** 471

Ciencia de los Alimentos ⇌ Food Science

TORTILLAS MADE WITH EXTRUDED FLOURS OF BLUE MAIZE AND CHÍA SEEDS AS AN NUTRITIOUS AND NUTRACEUTICAL FOOD OPTION ⇌ TORTILLAS PREPARADAS CON HARINAS EXTRUIDAS DE MAÍZ AZUL Y SEMILLAS DE CHÍA COMO UNA OPCIÓN DE ALIMENTO NUTRITIVO Y NUTRACÉUTICO

Jorge Rodolfo **León-Murillo**, Roberto **Gutiérrez-Dorado**, Rosalía **Reynoso-Camacho**, Jorge **Milán-Carrillo**, Janitzio Xiomara Korina **Perales-Sánchez**, Edith Oliva **Cuevas-Rodríguez**, Cuauhtémoc **Reyes-Moreno** 487

Fitociencia ⇌ Crop Science

EFFECTOS GENÉTICOS Y AMBIENTALES DE LA PROLIFICIDAD EN RELACIÓN CON EL RENDIMIENTO DE GRANO EN MAÍZ ⇌ GENETIC AND ENVIRONMENTAL EFFECTS OF PROLIFICACY IN RELATION TO MAIZE YIELD

Miguel Ángel **Tafolla-Rodríguez**, Froylán **Rincón-Sánchez**, Norma Angélica **Ruiz-Torres**, Francisco Javier **Sánchez-Ramírez**, Juan Manuel **Martínez-Reyna**, Adalberto **Benavides-Mendoza** 507

COMPARACIÓN DE CUBIERTAS DE INVERNADEROS EN RELACIÓN CON CRECIMIENTO Y RENDIMIENTO DE TOMATE ⇌ GREENHOUSE COVER COMPARISON ON TOMATO GROWTH AND YIELD

Alejandro **Zermeño-González**, Pedro Octavio **Kau-Pérez**, Juan Plutarco **Munguía-López**, Homero **Ramírez-Rodríguez**, Martín **Cadena-Zapata** 523

Recursos Naturales Renovables ⇌ Natural Renewable Resources

DETERMINATION OF THE CONSERVATION STATUS OF THE “*ESCAMOLERA*” ANT (*Liometopum apiculatum* MAYR) IN MEXICO BY THE SPECIES RISK ASSESSEMENT METHODOLOGY – MER ⇌ DETERMINACIÓN DEL ESTADO DE CONSERVACIÓN DE LA HORMIGA “*ESCAMOLERA*” (*Liometopum apiculatum* MAYR) EN MÉXICO POR EL MÉTODO DE EVALUACIÓN DE RIESGO – MER

Mauricio **Berumen-Jiménez**, Ricardo David **Valdez-Cepeda**, Santiago de Jesús **Méndez-Gallegos**, Jorge **Cadena-Íñiguez**, Alfredo **Esparza-Orozco**, Luis Antonio **Tarango-Arámbula** 539

CALIDAD DE PÉLETS A PARTIR DE BIOMASA DE OCHO ESPECIES DENDROENERGÉTICAS DE CRECIMIENTO RÁPIDO ⇌ PELLET QUALITY FROM BIOMASS OF EIGHT FAST-GROWING DENDROENERGETIC SPECIES

Julio César **Ríos-Saucedo**, Rigoberto **Rosales-Serna**, Rafael **Jiménez-Ocampo**, Pablo Alfredo **Domínguez-Martínez**, Artemio **Carrillo-Parra**, Luis Manuel **Valenzuela-Nuñez** 557

VARIABILIDAD EN CARACTERÍSTICAS MORFO-FISIOLÓGICAS DEL FRIJOL COMÚN BAJO SEQUÍA TERMINAL

VARIABILITY IN MORPHO-PHYSIOLOGICAL TRAITS OF COMMON BEAN UNDER TERMINAL DROUGHT

Celia Selene **Romero-Félix**^{1*}, Cándido **López-Castañeda**², Josué **Kohashi-Shibata**³, Carlos Gustavo **Martínez-Rueda**⁴, Salvador **Miranda-Colín**², Víctor Heber **Aguilar-Rincón**²

¹Recursos Genéticos y Productividad-Fisiología Vegetal, ²Recursos Genéticos y Productividad-Genética, ³Botánica. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. Montecillo, 56230 México. (celiaromero82@hotmail.com). ⁴Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma del Estado de México. El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca. 50200 México.

RESUMEN

La sequía terminal causa reducciones severas en la acumulación de materia seca y desarrollo del dosel vegetal del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la sequía terminal en la expansión del área foliar (AF), acumulación de peso seco en la parte aérea (PSPA) y raíces (PSR), y eficiencia transpiratoria (ET) en condiciones controladas. La hipótesis fue que la sequía terminal disminuye acumulación de biomasa en parte aérea, pero aumenta peso de raíz y eficiencia transpiratoria. En un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones en riego (R) y tres en sequía terminal (S) se incluyeron 12 genotipos. Una dosis de fertilización de 80-40-00 se utilizó. La condición de sequía terminal disminuyó el AF 17-24%, 40-59% y 63-79% en la floración, periodo de llenado de la semilla y madurez fisiológica (MF). La S también redujo 33 y 26% el PSPA y la biomasa total de la planta (BM), mientras el peso seco total de raíces (PSTR), cociente raíz/parte aérea y la ET fueron 53, 67 y 58% mayores en sequía que en riego. La proporción mayor de raíces se produjo en el estrato de 0-20 cm (R=50.6% y S=54.7%). El PSR disminuyó en los estratos inferiores del suelo: 20-40 (R=29.5%; S=26.4%), 40-60 (R=14.1%; S=11.9%), 60-80 (R=5.8%; S=5.2%) y 80-100 cm (sólo en S=1.8%). Las variedades FM M38, FM Sol y FM RMC mostraron un comportamiento mejor en la mayoría de los caracteres evaluados en las plantas. Por lo tanto, se pueden utilizar como líneas parentales en programas de fitomejoramiento.

ABSTRACT

Terminal drought leads to severe reductions in the dry matter and development of the canopy of common bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). The aim of this study was to determine the effect of terminal drought on the expansion of the foliar area (AF), the accumulation of dry weight in the aerial section (PSPA) and roots (PSR), and transpiratory efficiency (ET) under controlled conditions. The hypothesis was that terminal drought reduces the accumulation of the biomass in the above ground section (shoot) but increases the root weight and transpiratory efficiency. In a random complete block design with three repetitions in irrigation (R) and three under terminal drought (S), 12 genotypes were included. One 80-40-00 dose of fertilization was used. The terminal drought condition reduced AF 17-24%, 40-59% and 63-79% in flowering, seed-filling period and physiological maturity (MF). The S also reduced PSPA and total plant biomass (BM) by 33 and 26%, whereas the total dry weight of roots (PSTR), the root/shoot ratio and ET were 53, 67 and 58% higher in drought than in irrigation. The highest proportion of roots was produced in the 0-20 cm layer (R=50.6% y S=54.7%). PSR decreased in the lower levels of the soil: 20-40 (R=29.5%; S=26.4%), 40-60 (R=14.1%; S=11.9%), 60-80 (R=5.8%; S=5.2%) and 80-100 cm (only in S=1.8%). Varieties FM M38, FM Sol and FM RMC showed a better behaviour in most of the traits evaluated in plants. Therefore, they can be used as parental lines in plant breeding programs.

Key words: *Phaseolus vulgaris*, foliar area, transpiration efficiency, shoot dry weight, root dry weight, total biomass.

* Autor para correspondencia ♦ Author for correspondence.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8336-447X>

Recibido: abril, 2020. Aprobado: septiembre, 2021.

Publicado en *Agrociencia* 55: 471-485. 2021.

Palabras clave: *Phaseolus vulgaris*, área foliar, eficiencia transpiratoria, peso seco de la parte aérea, peso seco de raíces, biomasa total.

INTRODUCCIÓN

La sequía terminal reduce severamente el crecimiento y la expansión del área foliar del frijol, sobre todo cuando coincide con las etapas de floración y llenado de la semilla del frijol común. El efecto del déficit hídrico del suelo en la planta puede mitigarse, si el genotipo posee caracteres de tolerancia a sequía terminal y patrones de uso de la humedad que le permitan mantener la actividad fisiológica y el estatus hídrico del área fotosintética. El patrón de extracción de agua contribuye a la determinación del rendimiento en cultivos con limitaciones de humedad edáfica, en particular en aquellos de hábito indeterminado como el frijol común. En esta especie el mantenimiento de la transpiración y la fijación de CO₂ durante el periodo de llenado de la semilla son cruciales para el rendimiento (Zaman-Allah *et al.*, 2011).

La disminución en el alargamiento de los órganos del dosel de la planta en un suelo en proceso de sequía puede tener su origen en una reducción de la capacidad de absorción de agua y la disminución en la tasa de producción de células. La reducción en el crecimiento del área foliar puede ocurrir sin cambios en el estatus hídrico o la conductancia estomática de la hoja (Munns y Sharp, 1993). La reducción en el potencial de turgencia causa pérdida de humedad en el tejido foliar y afecta de modo directo algunos procesos fisiológicos y morfológicos como expansión de hojas, conductancia estomática y tasa de fotosíntesis (Riboldi *et al.*, 2016). El déficit hídrico del suelo inicia efectos negativos sobre los procesos de transpiración y fotosíntesis, relaciones hídricas, desarrollo del área foliar, floración, diferenciación y establecimiento de los órganos reproductores, cuando el suelo alcanza un punto crítico en el contenido hídrico. En frijol común, incluso antes de alcanzar el porcentaje de marchitamiento permanente (PMP) en un suelo. Este punto crítico puede variar en dependencia de los procesos de crecimiento y desarrollo, porque la velocidad de la actividad de la planta disminuye de manera considerable (Pang *et al.*, 2017).

A nivel del sistema radical, la respuesta de la planta al estrés por sequía puede diferir entre especies

INTRODUCTION

Terminal drought drastically reduces the growth and expansion of the foliar area of common bean plants, particularly when it coincides with the stages of flowering and seed filling of the common bean. The effect of the water deficit in the soil on the plant may be mitigated if the genotype has traits for tolerance to terminal drought and patterns of water use that can help it to maintain physiological activity and the water status of the photosynthetic area. The water extraction pattern contributes to yield determination in crops with limitations in soil humidity, particularly those with undetermined habits, such as the common bean. In this species, the maintenance of transpiration and CO₂ fixation during the period of the seed filling are crucial for yield (Zaman-Allah *et al.*, 2011).

The reduction in the elongation of the above ground organs of the plant in a drought process may be due to a reduction in the capacity of water absorption and the reduction in the cell production rate. The reduction in the growth of the foliar area may take place without changes in the water status or the stomatal conductance of the leaf (Munns and Sharp, 1993). A decrease in the turgor pressure causes losses in water content in the foliar tissue and directly affects some physiological and morphological processes such as leaf expansion, stomatal conductance and photosynthesis rate (Riboldi *et al.*, 2016). The deficit in soil humidity triggers negative effects on the processes of transpiration and photosynthesis; hydric relations; development of the foliar area; flowering and differentiation; and establishment of reproductive organs when the soil reaches a critical scarce point in the water content. In the common bean, this takes place even before reaching the permanent wilting point (PMP) in the soil. This critical point may vary, depending on the growth and development processes, since the speed of the activities of the plant drops considerably (Pang *et al.*, 2017).

In terms of the root system, the response of the plant to stress may differ among species (Lynch, 2013) and within species (López-Hernández *et al.*, 2018). Drought resistance is related to root growth traits and the above ground organs in the plant. Drought-resistant genotypes in common bean develop vigorous and deep root systems, improved

(Lynch, 2013) y dentro de especies (López-Hernández *et al.*, 2018). La resistencia a sequía se relaciona con los caracteres de crecimiento de las raíces y los órganos aéreos de la planta; los genotipos resistentes a sequía en frijol común desarrollan sistemas radicales vigorosos y profundos, mejor crecimiento de la parte aérea con índice de cosecha alto, cantidad mayor de semillas e incremento en la capacidad de movilización de asimilados a las vainas y las semillas (Polania *et al.*, 2017a). También se relacionan con porcentaje mayor de vainas normales y aumentos en peso seco y en la proporción raíz:parte aérea de las plantas (Sofi *et al.*, 2019). Otros caracteres de las raíces relacionados con la resistencia a sequía en frijol son diámetro de raíz mayor para absorción de agua y raíces más finas para adquisición mayor de nitrógeno (Barrios-Gómez *et al.*, 2014; Polania *et al.*, 2017b).

La eficiencia en el uso del agua expresada como relación entre materia seca y agua evapotranspirada o como eficiencia transpiratoria ($\text{MS g kg}^{-1} \text{H}_2\text{O}$) es otro de los caracteres genéticos y fisiológicos centrales en la resistencia a la sequía en frijol común. Desde el punto de vista de la eficiencia de la planta al utilizar el agua para acumular materia seca en sus órganos, las variedades se pueden agrupar como ‘ahorradoras’ o ‘gastadoras’ de agua. Las plantas consideradas como ahorradoras tienen ventajas en los ambientes más secos y se caracterizan por producir sistemas de raíces someros y raíces finas abundantes. También son precoces y tienen eficiencia alta en el uso del agua, transpiración reducida y desarrollo del dosel vegetal limitado con alta capacidad de movilización de asimilados desde las vainas a las semillas. En cambio, las variedades clasificadas como gastadoras de agua tienen sistemas radicales vigorosos y profundos con crecimiento rápido y raíces gruesas. Además, son precoces con efectividad alta en el uso del agua, transpiración moderada, desarrollo rápido del dosel vegetal, una proporción moderada fuente/demanda y movilización alta de asimilados de las vainas a la formación de las semillas y su crecimiento (Sofi *et al.*, 2019).

Las tecnologías de fenotipado actuales permiten mejorar caracteres de tolerancia a sequía en raíces y órganos aéreos de forma rápida; así como combinar alelos múltiples nuevos en germoplasma para ambientes de estrés hídrico específicos. Los caracteres de las plantas se evalúan de manera simultánea y no destructiva con mediciones automatizadas semilla a

growth of the shoot section with a high harvest index, a greater number of seeds, and an increase in the ability to mobilize assimilates to pods and seeds (Polania *et al.*, 2017a). It is also related to a greater percentage of normal pods and increase in the dry weight and the root/shoot ratio of the plants (Sofi *et al.*, 2019). Other traits of the roots related to drought resistance in common bean plants are a larger root diameter for the absorption of water and finer roots for a higher nitrogen uptake (Barrios-Gómez *et al.*, 2014; Polania *et al.*, 2017b).

Water use efficiency (WUE), expressed as the ratio between dry matter and evapotranspiration water or as transpiration efficiency ($\text{MS g kg}^{-1} \text{H}_2\text{O}$), is another of the main genetic and physiological traits in drought resistance in common bean. Regarding plants efficiency, using water to accumulate dry matter in their organs, some varieties can be grouped as either water ‘savers’ or ‘luxury users’. Plants considered savers have advantages in the driest environments and are characterized for producing shallow root systems and thin, abundant roots. They are also precocious and have a high-WUE, reduced transpiration, and a limited canopy development with a high ability to mobilize assimilates from the pods to the seeds. On the other hand, the varieties classified as water luxury users have vigorous and deep root systems with a rapid growth and thick roots. In addition, they are precocious, with a high-WUE, moderate transpiration, a rapid canopy growth, a moderate source:demand ratio and a high mobility of assimilates from the pods to the formation of seeds and their growth (Sofi *et al.*, 2019).

Current phenotyping technologies help to quickly improve traits of tolerance to drought in roots and above ground organs, as well as to combine multiple new alleles in germplasm for specific water stress environments. Plant traits are evaluated simultaneously and non-destructively with automatized measurements seed to seed (Tracy *et al.*, 2020). Based on the hypothesis that terminal drought reduces the accumulation of shoot biomass but increases root dry weight and transpiration efficiency, the aim of this study was to evaluate variability in the development of foliar area, dry weight accumulation in shoot and roots, and transpiration efficiency in a group of varieties of common bean plants under controlled irrigation and drought conditions.

semilla (Tracy *et al.*, 2020). Con base en la hipótesis de que la sequía terminal reduce acumulación de biomasa en parte aérea, pero aumenta peso de raíz y eficiencia transpiratoria; el objetivo de este estudio fue evaluar variabilidad en desarrollo del área foliar, acumulación de peso seco en la parte aérea y raíces, y eficiencia transpiratoria en un grupo de variedades de frijol común bajo condiciones controladas de riego y sequía.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio experimental

Un experimento en tubos de PVC se estableció en condiciones de intemperie en el Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, México (19° 21' N, 98° 55' O; altitud 2250 m) durante el ciclo primavera-verano 2014. Los tubos de PVC se mantuvieron bajo una cubierta de polietileno colocada a una altura de 2.5 m para evitar la entrada de lluvia.

Material genético

El germoplasma utilizado incluyó ocho variedades comerciales de frijol del tipo 'Flor de Mayo', obtenidas por el INIFAP para áreas de temporal y suelos con humedad favorable en la región del Altiplano Mexicano (Acosta-Gallegos *et al.*, 2014). Tres variedades de frijol negro colectadas en la región sur del estado de Veracruz (Morales-Rivera *et al.*, 2015) y una variedad de frijol nativo colectada en el estado de Michoacán (Barrios-Gómez *et al.*, 2014). Todas las variedades fueron de hábito de crecimiento indeterminado tipo III (Cuadro 1).

Diseño experimental y tratamientos

El experimento tuvo dos tratamientos de humedad edáfica: riego (R) con aplicación de agua desde la siembra hasta la madurez fisiológica y sequía terminal (S), donde la aplicación de agua se suspendió desde los 45 días después de la siembra (dds) hasta la maduración de las plantas. Las variedades se analizaron en diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones en R y tres repeticiones en S. La unidad experimental consistió en una planta individual crecida en un tubo de PVC de 10 cm de diámetro y 1 m de alto con una bolsa de plástico de las mismas dimensiones en su interior. Un tubo con sustrato sin planta se incluyó como testigo en cada repetición. El sustrato utilizado fue un suelo de textura franco-arenosa (63:27:9.8%, arena:limo:arcilla), capacidad de campo (CC = 41.6%) y porcentaje de marchitamiento permanente (PMP = 28.2%). La siembra se hizo en 12

MATERIALS AND METHODS

Experimental site

An experiment was established in PVC tubes in the open in the Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Mexico (19° 21' N, 98° 55' O; altitude 2250 m) during the 2014 Spring-Summer cycle. The PVC tubes were kept under a polyethylene cover placed at a height of 2.5 m to avoid additional water uptake from rainfall.

Genetic material

The germplasm used included eight commercial varieties of 'Flor de Mayo' common bean, obtained by the INIFAP for rainy areas and soils with a favourable humidity condition in the Mexican Highlands (Acosta-Gallegos *et al.*, 2014). Three black common bean varieties were gathered in the southern area of the state of Veracruz (Morales-Rivera *et al.*, 2015) and a native bean variety was gathered in the state of Michoacán (Barrios-Gómez *et al.*, 2014). All varieties had a habit of type III undetermined growth (Table 1).

Experimental design and treatments

The experiment had two soil humidity treatments: irrigation (R) with the application of water from planting until physiological maturity, and terminal drought (S), where the application of water was suspended since 45th day after sowing (das) until the maturation of plants. The varieties were analysed in a complete random blocks design with three replicates in R and three replicates in S. The experimental unit consisted of an individual plant grown in a PVC tube with 10cm diameter and 1m height, with a plastic bag of the same dimensions inside it. A tube with a substrate without a plant was included as a control in each repetition. The substrate used was a loamy-sandy soil (63:27:9.8%, sand:lime:clay), field capacity (CC = 41.6%) and a percentage of permanent wilting (PMP = 28.2%). Planting was carried out on April 12, 2014, with the application of 40 kg ha⁻¹ of N and 40 kg ha⁻¹ of P; urea and triple superphosphate were used as sources of N and P. On 35th das, a second application of nitrogen was performed (40-0-0). The soil was sterilized with Furadan® (Carbofuran) and Quatz IV® (Sulfosuccinate) in doses of 1 mL per PVC tube, before sowing. Nugor® (Dimetoate) was applied in doses of 1 L ha⁻¹ at 23 and 30 das for the control of whitefly (*Bemisia tabaci*).

Measured variables

The data of all the variables determined were recorded as averages per plant. The foliar area was measured (AF, cm²) in

Cuadro 1. Material genético (variedades de frijol común) utilizado en el experimento.
Table 1. Genetic material (varieties of *Phaseolus vulgaris*) used in the experiment.

Variedad	Año de liberación o colecta	Días a floración	Rendimiento de semilla (g m ⁻²)
Flor de Mayo Anita	2002	44-62	301 [‡]
Flor de Mayo Corregidora	2000	56	210 [‡]
Flor de Mayo 2000	2001	45-50	210 [‡]
Flor de Mayo M38	1994	50-57	97 [†]
Flor de Mayo Sol	1996	45-51	87 [†]
Flor de Mayo Bajío	1989	45-47	83 [†]
Flor de Mayo Noura	2006	47-50	76 [†]
Flor de Mayo RMC	1981	44-55	75 [†]
Negro Veracruz	2012	37	116 [†]
Negro Cotaxtla 91	2012	37	110 [†]
Criollo San Andrés	2012	36	113 [†]
Michoacán 128	1974	47-53	95 [†]

[†]Rendimiento de semilla obtenido en condiciones de campo en seco, en el municipio de Juan Rodríguez Clara, Veracruz (Morales-Rivera *et al.*, 2015); [‡]Rendimiento de semilla obtenido en promedio de riego y seco en Montecillo, Texcoco, estado de México (Barrios-Gómez *et al.*, 2010). ♦ [†]Seed yield obtained under rainfed conditions in the municipal area of Juan Rodríguez Clara, Veracruz (Morales-Rivera *et al.*, 2015); [‡] Seed yield obtained under average irrigation and rainfed condition in Montecillo, Texcoco, Mexico (Barrios-Gómez *et al.*, 2010).

abril 2014 con la aplicación de 40 kg ha⁻¹ de N y 40 kg ha⁻¹ de P; se utilizó urea y superfosfato de calcio triple como las fuentes de N y P. A los 35 dds se hizo una segunda aplicación de nitrógeno (40-0-0). El suelo se esterilizó con Furadan® (Carbofuran) y Quatz IV® (Sulfosuccinato) en dosis de 1 mL por tubo de PVC, antes de la siembra. Nugor® (Dimetoato) se aplicó en dosis de 1 L ha⁻¹ a los 23 y 30 dds para el control de mosquita blanca (*Bemisia tabaci*).

Variables medidas

Los datos de todas las variables determinadas se registraron como promedios por planta. El área foliar se midió (AF, cm²) en las hojas simples y los foliolos de las hojas trifolioladas completamente expandidas en el vástago y en las ramas en alargamiento, al multiplicar el largo (cm) × ancho (cm) × 0.62 cada 5d, desde los 18 hasta los 88 dds (Barrios-Gómez *et al.*, 2014). Días a floración (DF) se determinó cuando la planta mostró la primera flor abierta; días a madurez fisiológica (DMF) se consideró cuando el 90% de las vainas presentes en la planta adquirieron el color paja característico de la variedad. Peso seco de la parte aérea (PSPA, g) fue la suma de la materia seca acumulada en los órganos aéreos vegetativos (tallo, peciolos, foliolos y ramas) y reproductores (botones, flores y vainas) al final del ciclo biológico de la planta. Peso seco total de raíces (PSTR, g) se obtuvo al separar las raíces

the simple leaves and the leaflets of the completely expanded trifoliolate leaves in the shoot and the branches in elongation by multiplying the length (cm) × width (cm) × 0.62 every 5d, from 18 until 88 das (Barrios-Gómez *et al.*, 2014). Days to flowering (DF) were determined when plants showed their first open flower; days to physiological maturity (DMF) were considered when 90% of the pods in plants displayed the hay-colour typical of the variety. Shoot dry weight (PSPA, g) was the sum of the dry matter accumulated in the vegetative above ground organs (stem, petioles, leaflets and branches) and reproductive organs (buttons, flowers and pods) at the end of the biological cycle of the plant. Total root dry weight (PSTR, g) was obtained by separating the roots present in the different soil levels (0-20, 20-40, 40-60, 60-80 and 80-100 cm) and drying them in a stove (RIOSSA™) at 70 °C for 48 h. The total plant biomass (BM, g) was calculated as the sum of the PSPA and the PSTR (BM=PSPA+PSTR). Finally, the transpiration efficiency to produce total plant biomass (ET_{BM}) was estimated from the total biomass as a gram of dry matter per kilogram of water (MS g kg⁻¹ H₂O) transpired by the plant during the cycle.

Water content in the soil

In all tubes, we determined the initial weight at CC (PICC) after the excess water finished draining out of the base of each

presentes en los diferentes estratos de suelo (0-20, 20-40, 40-60, 60-80 y 80-100 cm) y secarlas en una estufa (RIOSSA®) a 70 °C durante 48 h. Biomasa total de la planta (BM, g) se calculó como la suma de PSPA y PSTR (BM=PSPA+PSTR). Por último, la eficiencia transpiratoria para producir biomasa total de la planta (ET_{BM}) se estimó a partir de la biomasa total, como gramo de materia seca por kilogramo de agua ($MS\ g\ kg^{-1}\ H_2O$) transpirada por la planta durante el ciclo.

Contenido de humedad en el suelo

En todos los tubos se determinó el peso inicial a CC (PICC) una vez que cesó el drenaje del exceso de humedad en la base de cada tubo. El contenido de humedad edáfica se registró de manera sistemática cada tercer día para calcular la cantidad de agua perdida por evapotranspiración (E_T) y sus fracciones, transpiración de la planta (T) y evaporación directa del suelo (E_S) debajo de la planta (López-Avendaño *et al.*, 2019). La cantidad de humedad perdida por E_T en cada intervalo de medición se recuperó al agregar una cantidad equivalente de agua después de cada pesaje. En R la aplicación de agua se hizo de la misma forma de la siembra a la madurez fisiológica y se mantuvo el contenido de humedad del suelo cercano a CC, mientras en S, la aplicación de agua se suspendió desde los 45 dds (inicio de la floración) hasta que las plantas completaron su ciclo biológico (Figura 1).

La E_T en cada tubo se obtuvo como la diferencia entre el PICC y el peso actual del tubo (Pa), registrado en cada fecha de

tubo. The soil humidity content was recorded systematically every three days to calculate the amount of water lost by evapotranspiration (E_T) and its fractions, plant transpiration (T) and direct soil evaporation (E_S) (López-Avendaño *et al.*, 2019). The water content loss by E_T in each measurement interval was recovered by adding an equivalent amount of water after each time weighing. In R, water was applied in the same way from planting to physiological maturity, and the soil humidity content was maintained near to CC, whereas in S, the application was suspended at 45 das (beginning of flowering) until the plants completed their biological cycle (Figure 1).

The E_T in each tube was obtained as the difference between the PICC and the current weight of the tube (Pa) registered in each measurement date ($E_T = PICC - Pa$). The T_p was calculated as the difference between E_T and E_S ($T_p = E_T - E_S$). E_S was estimated as the water loss by the direct soil evapotranspiration in the tube without plants. The total T_p per plant in R and S was calculated by adding the T_p values obtained during the experiment. The soil water content in S began decreasing at 45 das, and it reached levels below PMP starting at 70 das and until the physiological maturity of plants, which caused a very severe water deficit (Figure 1).

Air temperature

The data for maximum and minimum air temperatures (°C) during the experiment were recorded daily, using a maximum

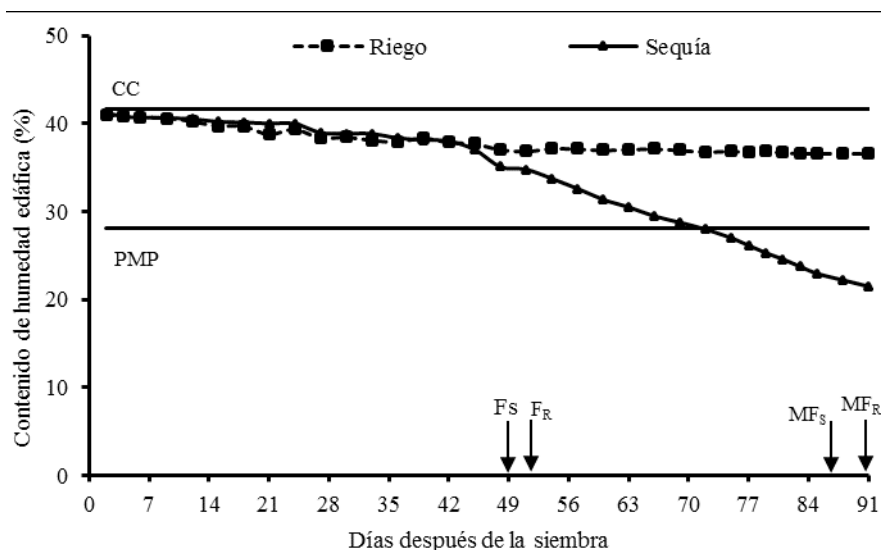


Figura 1. Media de contenido de humedad en el suelo en promedio de 12 variedades de frijol en riego y sequía. CC: capacidad de campo; PMP: punto de marchitamiento permanente; F_S: días a floración en sequía; F_R: días a floración en riego; MF_R: días a madurez fisiológica en riego; MF_S: días a madurez fisiológica en sequía.

Figure 1. Mean of soil water content of 12 common bean varieties under irrigation and drought. CC: field capacity; PMP: permanent wilting point; F_S: days to flowering in drought; F_R: days to flowering in irrigation; MF_R: days to physiological maturity in irrigation; MF_S: days to physiological maturity in drought.

medición ($E_T = \text{PICC} - P_a$). La T_p se calculó como la diferencia entre E_T y E_S ($T_p = E_T - E_S$). E_S se estimó como la cantidad de agua perdida por evaporación directa del suelo en los tubos sin planta. La T_p total por planta en R y S se calculó al sumar los valores de T_p obtenidos durante el experimento. El contenido de humedad edáfica en S empezó a disminuir a partir de los 45 dds, y alcanzó niveles inferiores al PMP a partir de los 70 dds y hasta la madurez fisiológica de las plantas, lo cual causó un déficit hídrico terminal muy severo (Figura 1).

Temperatura del aire

Los datos de temperatura (°C) máxima y mínima del aire durante el experimento se registraron diariamente, con un termómetro de columna de mercurio de máxima y mínima (Taylor®) colocado a una altura de 1.8 m junto a las plantas. La temperatura máxima promedio varió entre 25 y 40 °C y la temperatura mínima fluctuó de 7 a 13 °C con una tendencia a aumentar después de la floración.

Análisis estadístico

El análisis de varianza se realizó con el programa estadístico SAS®, v. 9.1 para Windows (SAS Institute, Inc., 2009) en forma combinada R y S como serie de experimentos ($Y_{ijk} = m + NH_i + G_j + NHG_{ij} + B_{(j)} + E_{ijk}$), para determinar las diferencias entre los tratamientos de humedad del suelo (H), genotipos (G), y la interacción G×H. La prueba de Tukey, basada en la diferencia significativa honesta (DSH Tukey, $p \leq 0.05$) se utilizó para la comparación múltiple de medias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Desarrollo del área foliar

El área foliar fue similar en R y en S, desde la emergencia de las plántulas hasta los 43 dds, período en el cual, el contenido de humedad en el suelo fue favorable para el crecimiento en ambos R y S. Una vez iniciado el tratamiento S (45 dds) se observó que la expansión del área foliar mostró disminución significativa conforme transcurrió el tiempo. Las reducciones mayores ocurrieron en las etapas de floración [49 dds (17%) a 53 dds (24%)], formación de la semilla [53 a 83 dds (40, 56, 52, 49 y 59%) y madurez fisiológica [88 a 95 dds (63 y 79%)] (Figura 2). El mantenimiento de la expansión del área foliar en condiciones de déficit hídrico es un mecanismo de resistencia a sequía. Polania *et al.* (2016) determinaron

and minimum mercury column thermometer (Taylor™), placed at a height of 1.8 m beside the plants. The average maximum temperature varied between 25 and 40 °C and the minimum temperature ranged from 7 and 13 °C tending to increase after flowering.

Statistical analysis

The analysis of variance was performed with SAS® v. 9.1 for Windows (SAS Institute, Inc., 2009) combining R and S as a series of experiments ($Y_{ijk} = m + NH_i + G_j + NHG_{ij} + B_{(j)} + E_{ijk}$) to determine the differences among treatments of soil water content (H), genotypes (G) and the G×H interaction. The Tukey's test based on the honest significant difference (DSH, $p \leq 0.05$) was used to the multiple comparison of means.

RESULTS AND DISCUSSION

Development of the foliar area

Foliar areas were similar in R and S, from seedling emergence up to 43 das, and in this period the soil water content was favourable for growth in both R and S. After treatment S began (45 das), the expansion of the foliar area showed significant decrease along time. Greater decreases occurred in the stages of flowering [49 das (17%) to 53 das (24%)], seed formation [53 to 83 das (40, 56, 52, 49 and 59%)] and physiological maturity [88 to 95 das (63 and 79%)] (Figure 2). Sustaining the foliar area expansion under water deficiency conditions is a drought resistance mechanism. Polania *et al.* (2016) determined that the drought tolerant common bean genotypes combined a high biomass accumulation in the canopy with greater seed yield under conditions of water stress and they observed a positive strong correlation between these plant traits under irrigation ($r = 0.39$, $p \leq 0.05$) and drought ($r = 0.59$, $p \leq 0.05$).

In R, significant differences were found among varieties from the beginning of foliar area measurements of (18 das) up to 68 das; differences were later found among genotypes at 78 and 83 das. The varieties FM M38 Negro Veracruz and Negro Cotaxtla 91 displayed a greater foliar area from 18 to 68 das. In addition, the varieties FM Sol, FM RMC, FM Anita, FM Noura, FM 2000, Michoacán 128, FM Bajío, FM Coregidora and Criollo San Andrés displayed a similar foliar area to FM M38, Negro Veracruz and Negro Cotaxtla 91 at 23, 53 and 63 das;

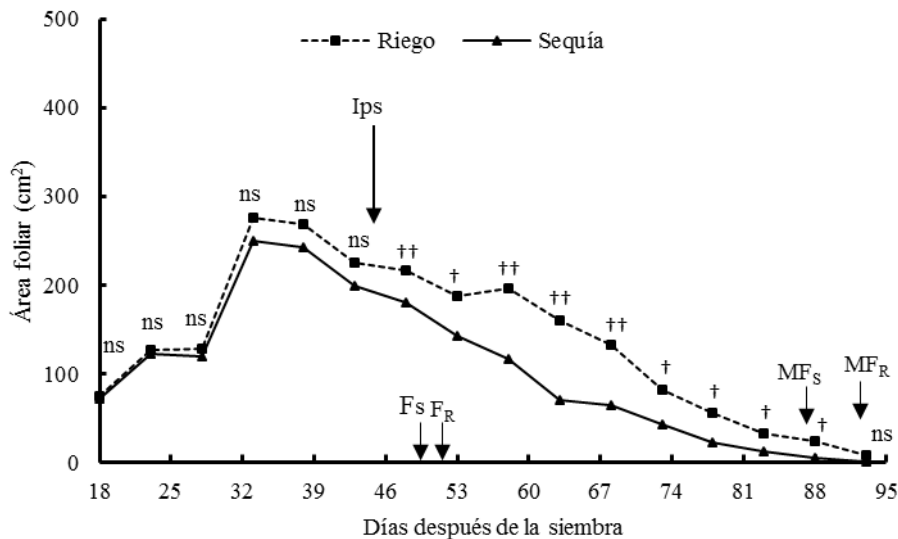


Figura 2. Desarrollo del área foliar de 12 variedades de frijol en riego y sequía. Ciclo primavera-verano 2014. Montecillo, Texcoco, México. Las flechas indican los días a floración (F) y madurez fisiológica (MF). †($p \leq 0.01$); ††($p \leq 0.05$); no significativo.

Figure 2. Development of foliar area of 12 varieties of common bean plants in irrigation and drought. 2014 Spring-Summer cycle. Montecillo, Texcoco, Mexico. Arrows indicate days to flowering (F) and physiological maturity (MF). † $p \leq 0.01$; †† $p \leq 0.05$; ns, not significant.

que los genotipos de frijol común tolerantes a sequía combinaron acumulación de biomasa alta en el dosel vegetal con rendimiento de semilla alto en condiciones de estrés hídrico y observaron correlación positiva alta entre estos caracteres de la planta en riego ($r = 0.39$, $p \leq 0.05$) y sequía ($r = 0.59$, $p \leq 0.05$).

En R se observaron diferencias significativas entre variedades desde el inicio de las mediciones del área foliar (18 dds) hasta los 68 dds; después se detectaron diferencias entre genotipos en 78 y 83 dds. Las variedades FM M38 Negro Veracruz y Negro Cotaxtla 91 mostraron área foliar mayor de los 18 a los 68 dds. Además, las variedades FM Sol, FM RMC, FM Anita, FM Noura, FM 2000, Michoacán 128, FM Bajío, FM Corregidora y Criollo San Andrés exhibieron un área foliar similar a FM M38, Negro Veracruz y Negro Cotaxtla 91 a los 23, 53 y 63 dds; 18, 53, 63, 76 y 83 dds; 83 dds; 53, 58 y 63 dds; 18, 56, 63 y 83 dds; 18, 63 y 83 dds; 63, 73 y 83 dds; 23, 43, 53 y 63 dds; y 33, 38, 43, 48, 53 y 58 dds (Figura 3A). En condición de sequía y riego se detectaron diferencias significativas en el área foliar entre variedades de los 18 a 68 dds, con reducción severa en la expansión del área foliar en sequía durante el curso del tiempo en comparación con riego. Las variedades FM M38, Negro Veracruz y Negro Cotaxtla 91 exhibieron expansión mayor del área foliar cada 5d de 28 a 68 dds;

18, 53, 63, 76 and 83 das; 83 das; 53, 58 and 63 das; 18, 56, 63 and 83 das; 18, 63 and 83 das; 63, 73 and 83 das; 23, 43, 53 and 63 das; and 33, 38, 43, 48, 53 and 58 das (Figure 3A).

In the drought (S) and irrigation (R) conditions, significant differences were found in the foliar area between varieties from 18 to 68 das, with a severe reduction in the foliar area expansion under drought in time in comparison with irrigation. Varieties FM M38, Negro Veracruz and Negro Cotaxtla 91 displayed a greater expansion of the foliar area every 5d between 28 and 68 das; 18-28, 33-53 and 78 das; and from 18 to 78 das. In addition, genotypes FM Sol, FM RMC, FM Anita, FM Noura, FM 2000, Michoacán 128, FM Bajío, FM Corregidora and Criollo San Andrés displayed higher values of foliar expansion every 10d from 38 to 78 das; 38-68 das; 53-83 das; 48-73 das; 18, 53-78 das; 38 and 53-78 das; 53, 63 and 68 das; and 38-78 das (Figure 3B). The development of the foliar area is very important for the productivity of the plant, because as the moisture availability is reduced in the soil from the beginning of flowering and the formation of pods, vegetative growth, seed yield and water use efficiency are also reduced (Pang *et al.*, 2017). Varieties FM M38, Negro Veracruz and Negro Cotaxtla 91 maintained high foliar area values during water stress

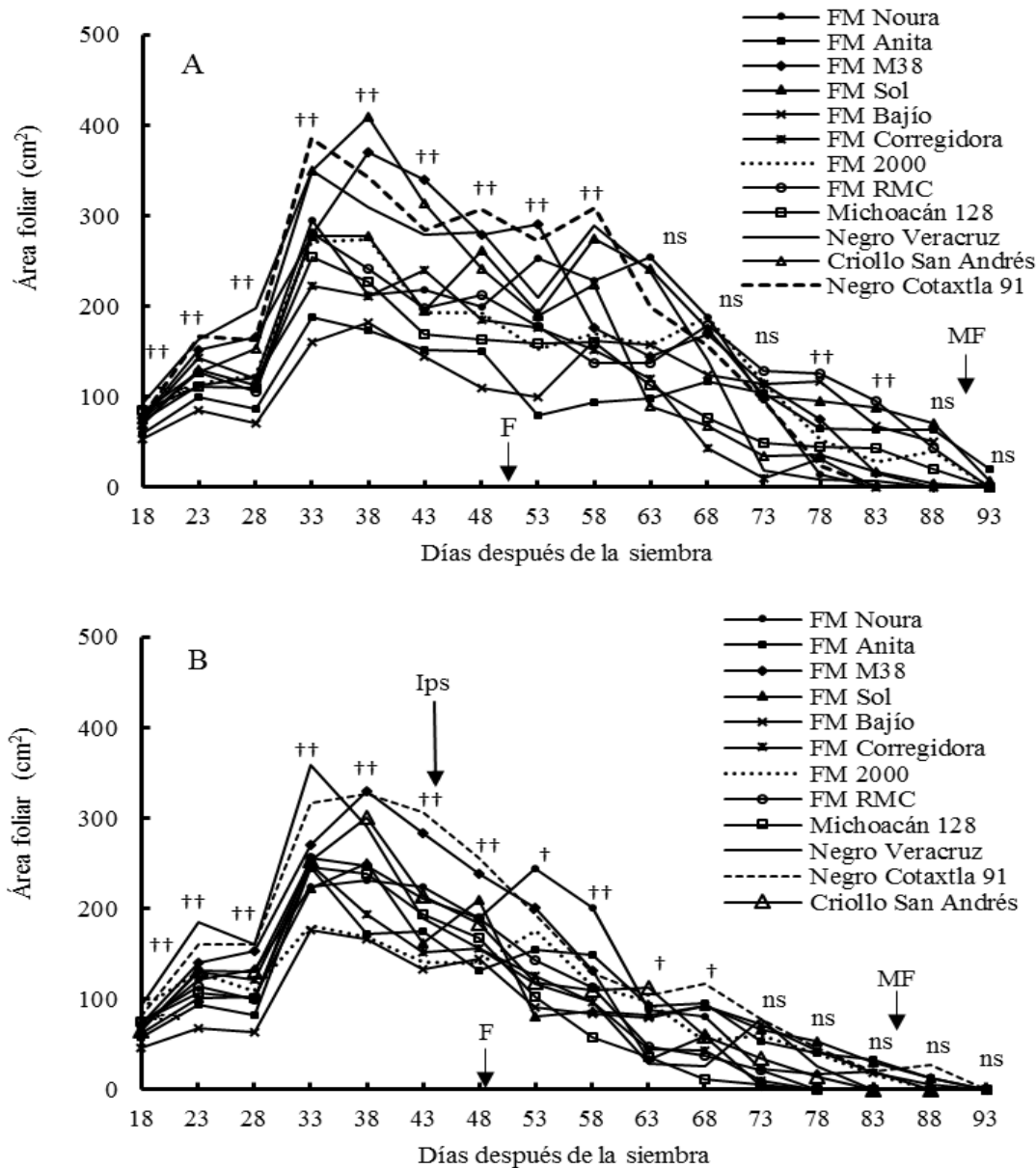


Figura 3. Desarrollo del área foliar de 12 variedades de frijol en riego (A) y sequía (B). Ciclo primavera-verano 2014. Montecillo, Texcoco, México. Las flechas indican los días a floración (F) y madurez fisiológica (MF). †($p \leq 0.01$); ††($p \leq 0.05$); no significativo: ns.

Figure 3. Development of the foliar area of 12 varieties of common bean in irrigation (A) and drought (B). 2014 Spring-Summer cycle. Montecillo, Texcoco, Mexico. Arrows indicate days to flowering (F) and physiological maturity (MF). † $p \leq 0.01$; †† $p \leq 0.05$; ns, not significant.

18-28, 33-53 y en 78 dds; y de 18-78 dds. Además, los genotipos FM Sol, FM RMC, FM Anita, FM Noura, FM 2000, Michoacán 128, FM Bajío, FM Corregidora y Criollo San Andrés mostraron valores altos de expansión foliar cada 10d de 38-78 dds;

and this helped them to maintain transpiration rate and vegetative growth, combined with the ability to mobilize photoassimilates from the vegetative structures to pods and seed production (Polania *et al.*, 2017a).

68 dds; 53-83 dds; 48-73 dds; 18, 53-78 dds; 38 y 53-78 dds; 53, 63 y 68 dds; y 38-78 dds (Figura 3B). El desarrollo del área foliar es muy importante para la productividad de la planta, porque al reducirse la disponibilidad de humedad en el suelo desde el inicio de la floración y la formación de las vainas, disminuye el crecimiento vegetativo, el rendimiento de semilla y la eficiencia en el uso del agua (Pang *et al.*, 2017). Las variedades FM M38, Negro Veracruz y Negro Cotaxtla 91 mantuvieron valores altos de área foliar durante el estrés hídrico y esto les permitió mantener tasa de transpiración y crecimiento vegetativo combinado con la habilidad para movilizar fotoasimilados de las estructuras vegetativas a las vainas y a la producción de semilla (Polania *et al.*, 2017a).

Características de crecimiento de las raíces

En promedio, el peso seco total de raíces de las 12 variedades de frijol en S fue 53% mayor que en R. El peso seco de raíces en S fue mayor que en R en todos los estratos del suelo y la proporción mayor de peso seco de raíces se observó en el estrato 0-20 cm en R (50.6%) y S (54.7%). El peso seco de raíces disminuyó en los estratos inferiores en los dos tratamientos de humedad edáfica: 20-40 (R = 29.5%; S = 26.4%), 40-60 (R = 14.1%; S = 11.9%) y 60-80 cm (R = 5.8%; S = 5.2%). En el estrato de 80-100 cm sólo se observó la presencia de raíces en S (1.8%) (Figura 4).

Characteristics of root growth

On average total roots dry weight of the 12 varieties was 53% higher in S than in R. The dry weight of the roots in S was higher than in R in all soil levels and the highest proportion of root dry weight was observed in the level 0-20 cm in R (50.6%) and S (54.7%). Root dry weight decreased in the lower levels in both treatments of soil moisture: 20-40 (R = 29.5%; S = 26.4%), 40-60 (R = 14.1%; S = 11.9%) and 60-80 cm (R = 5.8%; S = 5.2%). In the 80-100 cm level, the presence of roots was only found in S (1.8%) (Figure 4). Mohamed *et al.* (2005) determined that two common bean lines exposed to drought accumulated 80% more dry matter and had roots 30 cm longer than irrigated plants. In addition, plants developed more fibrous roots in the level between 40 and 50 cm and had a higher root/shoot ratio.

In R, the varieties FM RMC and Negro Veracruz showed a higher total root dry weight than the other varieties. The varieties FM RMC, Negro Veracruz, Negro Cotaxtla 91 and Criollo San Andrés; FM RMC and Negro Veracruz; FM RMC and Negro Veracruz; FM RMC and Michoacán 128 displayed a higher dry weight of roots than the rest of the varieties in the levels 0-20; 20-40; 40-60; and 60-80 cm; no roots were found in the 80-100 cm level (Table 2).

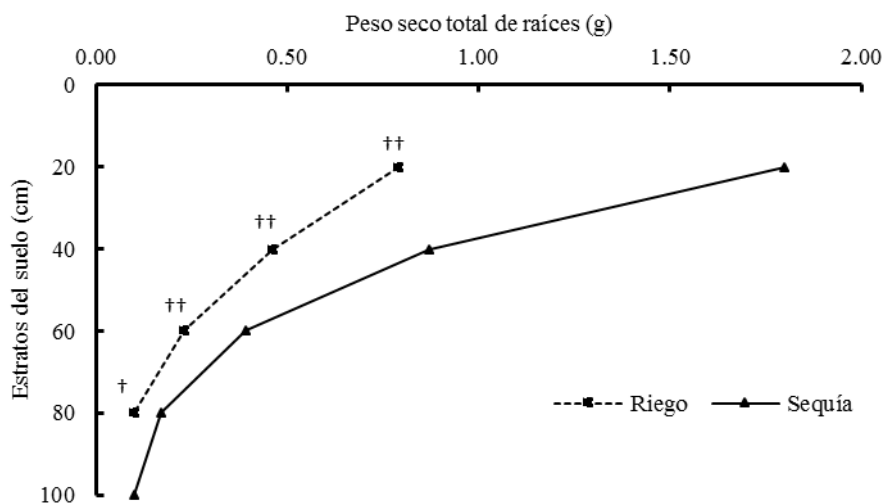


Figura 4. Media de peso seco de raíces de 12 variedades de frijol en riego y sequía. Ciclo primavera-verano 2014. Montecillo, Texcoco, México. † $p \leq 0.01$; †† $p \leq 0.05$.

Figure 4. Mean dry weight of roots in 12 common bean varieties in irrigation and drought. 2014 Spring-Summer cycle. Montecillo, Texcoco, Mexico. † $p \leq 0.01$; †† $p \leq 0.05$.

Mohamed *et al.* (2005) determinaron que dos líneas de frijol común sometidas a sequía acumularon 80% mayor cantidad de materia seca y 30 cm mayor longitud de raíces que las plantas conducidas en riego. Además, las plantas desarrollaron más raíces fibrosas en el estrato de 40 a 50 cm y tuvieron cociente raíz/parte aérea mayor.

En R las variedades FM RMC y Negro Veracruz mostraron mayor peso seco total de raíces que las otras variedades. Las variedades FM RMC, Negro Veracruz, Negro Cotaxtla 91 y Criollo San Andrés; FM RMC y Negro Veracruz; FM RMC y Negro Veracruz; FM RMC y Michoacán 128 exhibieron peso seco de raíces mayor que las demás variedades en los estratos 0-20; 20-40; 40-60; y 60-80 cm; en el estrato de 80-100 cm no se detectó la presencia de raíces (Cuadro 2).

En S la variabilidad en el peso seco total y el peso seco de raíces en los diferentes estratos del suelo fue mayor y las raíces alcanzaron mayor profundidad de suelo que en R. Los genotipos FM M38, FM Sol, FM RMC, FM 2000, Negro Cotaxtla 91 y Criollo San Andrés produjeron mayor peso seco total que las otras variedades. Los genotipos FM M38, FM Sol, FM RMC, FM 2000, FM Anita, Negro Cotaxtla 91, Criollo San Andrés, FM Noura, y Negro Veracruz y acumularon mayor peso seco de raíces que las otras variedades en todos los estratos (Cuadro 2).

El valor mayor en peso seco total y peso seco de raíces de la variedad FM M38 en estratos distintos del suelo en R y S, resultó importante para incrementar la capacidad de absorción de agua y nutrientes para la fotosíntesis y la formación del rendimiento y sus componentes en la planta (Tracy *et al.*, 2020). Así mismo, mayor biomasa puede ser importante para lograr eficiencia en el uso del agua mayor, al aumentar la ganancia de carbono cuando mejora la bioquímica fotosintética y la respuesta de la planta; o a través de una mayor conductancia del mesófilo (Condon, 2020).

Eficiencia transpiratoria y materia seca de raíces

En R el peso seco de la parte aérea y la biomasa total de la planta fueron 33 y 26% mayores que en S, mientras el cociente raíz/parte aérea y la eficiencia transpiratoria para producir biomasa total en la planta fueron 67 y 58% mayores en S que en R (Cuadro 3). Los incrementos en asignación y acumulación de

In S, the variability in the total dry weight and the dry weight of roots in the different levels of the ground was greater and roots reached a greater soil depth than in R. Genotypes FM M38, FM Sol, FM RMC, FM 2000, Negro Cotaxtla 91 and Criollo San Andrés produced a greater total dry weight than the other varieties. Genotypes FM M38, FM Sol, FM RMC, FM 2000, FM Anita, Negro Cotaxtla 91, Criollo San Andrés, FM Noura, y Negro Veracruz accumulated more dry weight in the roots than the other varieties in all depths (Table 2).

The highest value for total dry weight and root dry weight of the variety FM M38 in different soil levels in R and S was important to increase water and nutrient uptake ability for photosynthesis, yield and yield components in the plant (Tracy *et al.*, 2020). Likewise, they may be important to achieve a greater water use efficiency by increasing carbon gain when photosynthetic biochemistry improves as well as the response of the plant; or through a greater conductance in the mesophyll (Condon, 2020).

Transpiration efficiency and partition of dry matter in roots

In R, shoot dry weight and the total biomass of the plant were 33 and 26% higher than in S, whereas the root/shoot ratio and the transpiration efficiency to produce total biomass in the plant were 67 and 58% higher in S than in R (Table 3). Increases in partition and accumulation for root dry weight, shoot dry weight, total biomass and water use efficiency in common beans have also been found in other studies. In some of them, drought tolerant lines displayed greater vigour in root growth under dry conditions in greenhouse and a greater seed yield under water stress conditions in the field (Polania *et al.*, 2017b).

In R, genotypes FM M38, FM Sol and FM RMC; Negro Veracruz and Criollo San Andrés; and FM M38, FM Sol, Negro Veracruz and Negro Cotaxtla 91 produced more shoot dry weight, total biomass; transpiration efficiency; and root/shoot ratio than the other varieties. In drought conditions, this was also the case for FM Corregidora and FM 2000 (Table 4).

A group of recombinant common bean lines under irrigation and soil water stress also displayed greater resistance to drought, above ground biomass, mobilization of assimilates to the pods, seeds and

Cuadro 2. Peso seco total y peso seco de raíces en diferentes estratos del suelo de 12 variedades de frijol en riego y sequía. Ciclo primavera-verano 2014. Montecillo, Texcoco, México.
Table 2. Total dry weight and root dry weight at different soil levels in 12 common bean varieties in irrigation and drought. 2014 Spring-Summer cycle. Montecillo, Texcoco, Mexico.

Variedades	PSTR (g)	Peso seco (g)				
		0-20 cm	20-40 cm	40-60 cm	60-80 cm	80-100 cm
Riego						
FM M38	1.4	0.80	0.44	0.11	-	-
FM Sol	1.6	0.84	0.54	0.25	-	-
FM RMC	2.4	1.10	0.74	0.48	0.14	-
FM Anita	1.1	0.54	0.40	0.20	-	-
FM Noura	0.9	0.50	0.26	0.15	-	-
FM 2000	1.6	0.86	0.51	0.18	0.06	-
Negro Veracruz	2.3	1.20	0.67	0.45	-	-
Michoacán 128	1.2	0.55	0.40	0.17	0.13	-
FM Bajío	1.1	0.56	0.31	0.22	-	-
FM Corregidora	1.1	0.66	0.32	0.15	-	-
Negro Cotaxtla 91	1.4	0.91	0.42	0.05	-	-
Criollo San Andrés	1.8	0.97	0.51	0.28	0.05	-
Media general	1.5	0.79	0.46	0.22	0.09	-
DSH ($p \leq 0.05$)	0.4	0.29	0.11	0.17	0.05	-
Sequía						
FM M38	4.1	2.22	1.30	0.33	0.22	-
FM Sol	3.7	2.30	0.74	0.42	0.16	0.06
FM RMC	3.9	2.30	1.19	0.24	0.16	-
FM Anita	2.7	1.30	0.94	0.25	0.17	0.02
FM Noura	3	1.46	0.81	0.36	0.29	0.09
FM 2000	3.7	2.62	0.56	0.30	0.24	0.04
Negro Veracruz	3.1	1.66	0.84	0.39	0.24	-
Michoacán 128	2.6	1.20	0.81	0.37	0.16	-
FM Bajío	2.7	1.54	0.72	0.42	0.06	-
FM Corregidora	2.3	1.44	0.54	0.33	0.03	-
Negro Cotaxtla 91	3.5	1.81	1.04	0.48	0.15	0.16
Criollo San Andrés	3.7	1.76	0.98	0.77	0.19	0.04
Media general	3.2	1.80	0.87	0.39	0.17	0.06
DSH ($p \leq 0.05$)	0.8	0.65	0.39	0.27	0.12	0.04

PSTR: Peso seco total de raíces. ♦ PSTR: Total dry weight of roots.

Cuadro 3. Asignación de materia seca a parte aérea y raíces, biomasa total y eficiencia transpiratoria, de 12 variedades de frijol en riego y sequía. Ciclo primavera-verano 2014. Montecillo, Texcoco, México.

Table 3. Partition of dry matter to shoot and roots, total biomass and transpiration efficiency of 12 common bean varieties in irrigation and drought. 2014 Spring-Summer cycle. Montecillo, Texcoco, Mexico.

Nivel de humedad edáfica	PSPA (g)	BM (g)	CR/PA	ET _{BM} (MS g kg ⁻¹ H ₂ O)
Riego	27	28.5	0.06	3.5
Sequía	18	21.2	0.18	8.3
DSH ($p \leq 0.05$)	1	1	0.01	0.4

PSPA: Peso seco de la parte aérea; BM: Biomasa total de la planta; CR/PA: Cociente raíz/Parte aérea; ET_{BM} = Eficiencia transpiratoria para producir biomasa total de la planta. ♦ PSPA: shoot dry weight; BM: total biomass; CR/PA: root/shoot ratio; ET_{BM} = transpiration efficiency to produce total biomass.

peso seco en las raíces, peso seco de la parte aérea, biomasa total y eficiencia en el uso del agua en frijol común bajo sequía, también se ha observado en otros estudios. En algunos de ellos, las líneas tolerantes a sequía mostraron vigor mayor en el crecimiento de las raíces en condiciones de sequía en invernadero y rendimiento mayor de semilla bajo condiciones de estrés hídrico en campo (Polania *et al.*, 2017b).

En R los genotipos FM M38, FM Sol y FM RMC; Negro Veracruz y Criollo San Andrés; y FM M38, FM Sol, Negro Veracruz y Negro Cotaxtla 91 produjeron mayor peso seco de la parte aérea, biomasa total; eficiencia transpiratoria y cociente raíz/parte aérea que las otras variedades. En sequía, a estas variedades se agregaron FM Corregidora y FM 2000 (Cuadro 4).

Un grupo de líneas recombinantes de frijol común bajo condiciones de riego y déficit hídrico del suelo, también mostraron mayor resistencia a sequía, biomasa aérea, asignación de asimilados a las vainas, semillas y raíces, y eficiencia en el uso del agua al desarrollar mayor densidad y profundidad de raíces (Polania *et al.* 2017a).

La exploración de caracteres morfológicos y fisiológicos determinantes en la expresión del crecimiento de los órganos aéreos y subterráneos, procesos de desarrollo de la planta, y rendimiento y sus fracciones en ambientes contrastantes de humedad del suelo, pueden ayudar a identificar los factores clave para el mejoramiento bajo condiciones de estrés. Así mismo, esta técnica de fenotipado puede ayudar a una selección de caracteres más rápida en la raíz y parte aérea de las plantas, al combinar por selección alelos múltiples de germoplasma sobresaliente para ambientes específicos con estrés (Tracy *et al.*, 2020).

CONCLUSIONES

El déficit hídrico terminal del suelo disminuyó expansión del área foliar, peso seco de la parte aérea y biomasa total. El desarrollo del área foliar fue el carácter morfológico y fisiológico más afectado por la sequía, seguido por peso seco de la parte aérea y biomasa total.

La deficiencia hídrica del suelo aumentó el peso seco total de raíces y el cociente raíz/parte aérea respecto a la condición en riego. La proporción mayor de peso seco de raíces se presentó en el estrato de 0-20 cm y el peso seco de raíces en sequía fue mayor que en riego en todos los estratos del suelo.

roots, and water use efficiency by developing a higher density and root depth (Polania *et al.* 2017a).

To explore those determining morphological and physiological traits in the expression of the growth of above- and underground organs, plant development processes, yield and its fractions in contrasting soil water conditions may help to identify those key factors for breeding improvement under stress conditions. Likewise, this phenotyping technique may help to faster selection for traits in the roots and canopy of plants; combining by selection multiple alleles of outstanding germplasm for specific stress environments (Tracy *et al.*, 2020).

CONCLUSIONS

The terminal water deficit in soil reduced the foliar area expansion, canopy dry weight and total biomass. The development of foliar area was the morphological and physiological trait most affected by drought, followed by canopy dry weight and total biomass.

The water deficit in soil increased the total root dry weight and the root/shoot ratio compared to the irrigation condition. The highest proportion of root dry weight was observed at the 0-20 cm soil level and root dry weight in drought was higher than in irrigation at all the soil levels.

Drought increased transpiration efficiency to produce total biomass in the plant. The most productive genotypes and those with traits evaluated for drought resistance can be used as commercial varieties in rainfed and irrigation agriculture systems with water deficit, or as parental lines in yield improvement programs for common bean.

—End of the English version—

---*---

La sequía aumentó la eficiencia transpiratoria para producir biomasa total en la planta. Los genotipos más productivos y con las características evaluadas para resistencia a sequía, pueden utilizarse como variedades comerciales en los sistemas agrícolas de riego y secano con problemas de déficit hídrico, o como líneas parentales en los programas de mejoramiento del rendimiento de frijol.

Cuadro 4. Peso seco de la parte aérea, biomasa total, cociente raíz/parte aérea y eficiencia transpiratoria de 12 variedades de frijol en riego y sequía. Ciclo primavera-verano 2014. Montecillo, Texcoco, México.

Table 4. Shoot dry weight, total biomass, root/shoot ratio, and transpiration efficiency of 12 common bean varieties in irrigation and drought. 2014 Spring-Summer cycle. Montecillo, Texcoco, Mexico.

Variedades	PSPA (g)	BM (g)	CR/PA	ET _{BM} (g de MS kg H ₂ O ⁻¹)
Riego				
FM M38	33	34.6	0.04	4.1
FM Sol	35	36.8	0.05	3.9
FM RMC	32	34.3	0.07	3.8
FM Anita	27	27.9	0.04	3.3
FM Noura	26	26.6	0.04	3.5
FM 2000	28	29.5	0.06	3.6
Negro Veracruz	26	28.3	0.09	4.5
Michoacán 128	25	26	0.05	3
FM Bajío	22	23.2	0.05	3.1
FM Corregidora	23	24.2	0.05	2.9
Negro Cotaxtla 91	22	23.3	0.06	4.1
Criollo San Andrés	23	24.3	0.08	2.8
Media general	27	28	0.06	3.5
DSH (p≤0.05)	4	4.2	0.01	0.6
Sequía				
FM M38	20	23.9	0.21	7.1
FM Sol	21	25.2	0.17	7.5
FM RMC	21	24.9	0.19	10.6
FM Anita	18	20.7	0.15	6.1
FM Noura	18	21.4	0.16	6.7
FM 2000	16	19.4	0.24	7.3
Negro Veracruz	17	20.6	0.18	11.3
Michoacán 128	20	22.1	0.13	7.6
FM Bajío	17	19.4	0.16	6.1
FM Corregidora	18	20.8	0.13	13.2
Negro Cotaxtla 91	17	20.9	0.2	11.7
Criollo San Andrés	13	17.1	0.29	5.9
Media general	18	21.3	0.18	8.3
DSH (p≤0.05)	3	2.2	0.07	1.9

PSPA: Peso seco de la parte aérea; BM: Biomasa total de la planta; CR/PA: Cociente raíz/Parte aérea; ET_{BM}: Eficiencia transpiratoria para producir biomasa total de la planta. ♦ PSPA: shoot dry weight; BM: total biomass; CR/PA: root/shoot ratio; ET_{BM}: transpiration efficiency to produce total biomass.

LITERATURA CITADA

- Acosta-Gallegos, J. A., Y. Jiménez-Hernández, V. Montero-Tavera, B. M. Sánchez García y S. H. Guzmán-Maldonado. 2014. Junio León, nueva variedad de frijol para riego y temporal el Altiplano y la Mesa Central de México. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 7: 1369-1374. <https://doi.org/10.21640/ns.v10i21.1596>
- Barrios-Gómez, E. J., C. López-Castañeda, J. Kohashi-Shibata, J. A. Acosta-Gallegos, S. Miranda-Colín, y N. Mayek-Pérez. 2010. Rendimiento de semilla y sus componentes en frijol Flor de Mayo en el centro de México. *Agrociencia* 44: 481-489.
- Barrios-Gómez, E. J., C. López-Castañeda, J. Kohashi-Shibata, J. A. Acosta Gallegos, S. Miranda-Colín, N. Mayek-Pérez, y J. Kanul-Ku. 2014. Morfología del embrión en frijol y su comparación entre razas Durango y Jalisco. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 5: 965-978.
- Condon, A. G. 2020. Drying times: plant traits to improve crop water use efficiency and yield. *J. Exp. Bot.* 71: 2239-2252. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa002>

- López-Avendaño, J. E., J. C. Rodríguez, J. A. Martínez-Gallardo, T. Díaz-Valdez, y R. Lizárraga-Jiménez. 2019. Uso de cintilómetro para estimar la evapotranspiración de sorgo (*Sorghum bicolor* L.) y sus componentes. *In: Duran-Hernández, D., O. T. Camacho, O. Grimaldo-Juárez, D. González-Mendoza, C. Ceceña-Durán, L. Cervantes-Díaz, C. Y. Michel-López, y C. Ruíz-Alvarado (eds.) Compendio Científico en Ciencias Agrícolas y Biotecnología. XXI Congreso Internacional de Ciencias Agrícolas. OmniaScience, Terrassa, Barcelona. 240 p.* <https://doi.org/10.3926/XXICICA-vol1>
- López-Hernández, M. B., C. López-Castañeda, J. Kohashi-Shibata, S. Miranda-Colín, E. J. Barrios-Gómez, y C.G. Martínez-Rueda. 2018. Rendimiento de grano y sus componentes, y densidad de raíces en arroz bajo riego y secano. *Agrociencia* 52: 563-580.
- Lynch, J. P. 2013. Steep, cheap and deep: an ideotype to optimize water and N acquisition by maize root systems. *Ann. Bot.* 112: 347-357. <https://doi.org/10.1093/aob/mcs293>
- Mohamed, F., M. Mohamed, N. Schmitz-Eiberger, Keutgen, and G. Noga. 2005. Comparative drought postponing and tolerance potentials of two tepary bean lines in relation to seed yield. *Afr. Crop Sci. J.* 13: 49-60. DOI: 10.4314/ACSJ.V13I1.27903
- Morales-Rivera, A., C. López-Castañeda, J. Kohashi-Shibata, S. Miranda-Colín, y A. García-Esteva. 2015. Comparación de los componentes del rendimiento en variedades de frijol en condiciones de acidez y humedad residual del suelo en el sur de Veracruz. *Terra* 33: 309-319.
- Munns, R., and R. E. Sharp. 1993. Involvement of abscisic acid in controlling plant growth in soils at low water potential. *Aust. J. Plant Physiol.* 20: 425-437.
- Pang, J., N. C. Turner, T. Khan, Y. L. Du, J. L. Xiong, T. D. Colmer, R. Devilla, K. Stefanova, and K. H. M. Siddique. 2017. Response of chickpea (*Cicer arietinum* L.) to terminal drought: leaf stomatal conductance, pod abscisic acid concentration and seed set. *J. Exp. Bot.* 68: 1973-1985. DOI: 10.1093/jxb/erw153
- Polania, J. A., Ch. Poschenrieder, S. Beebe, and I. M. Rao. 2016. Effective use of water and increased dry matter partitioned to grain contribute to yield of common bean improved for drought resistance. *Front. Plant Sci.* 7: 660. DOI: 10.3389/fpls.2016.00660
- Polania, J., I. M. Rao, C. Cajiao, M. Grajales, M. Rivera, F. Velasquez, B. Raatz, and S. E. Beebe. 2017a. Shoot and root traits contribute to drought resistance in recombinant inbred lines of MD 23-24 × SEA 5 of common bean. *Front. Plant Sci.* 8: 296. DOI: 10.3389/fpls.2017.00296
- Polania, J., C. Poschenrieder, I. Rao, and S. Beebe. 2017b. Root traits and their potential links to plant ideotypes to improve drought resistance in common bean. *Theor. Exp. Plant Physiol.* 29: 143-154. DOI: 10.1007/s40626-017-0090-1
- Riboldi, L. B., R. F. Oliveira, and L. R. Angelocci. 2016. Leaf turgor pressure in maize plants under water stress. *Aust. J. Crop Sci.* 10: 878-886. doi.org/10.21475/ajcs.2016.10.06.p7602
- SAS Institute, Inc. 2009. The SAS System Guide. SAS release 9.1 for Windows. SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA https://www.sas.com/es_mx/software/stat.html (Consultado: junio, 2016).
- Sofi, P. A., A. Ara, M. Gull, and K. Rehman. 2019. Canopy temperature depression as an effective physiological trait for drought screening. DOI: 10.5772/intechopen.85966
- Tracy, S. R., K. A. Nagel, J. A. Postma, H. Fassbender, A. Wasson, and M. Watt. 2020. Crop improvement from phenotyping roots: Highlights reveal expanding opportunities. *Trends Plant Sci.* 25: 105-118. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2019.10.015>
- Zaman-Allah, M., D. M. Jenkinson, and V. Vadez. 2011. A conservative pattern of water use, rather than deep or profuse rooting, is critical for the terminal drought tolerance of chickpea. *J. Exp. Bot.* 62: 4239-4252. DOI: 10.1093/jxb/err139

TORTILLAS MADE WITH EXTRUDED FLOURS OF BLUE MAIZE AND CHÍA SEEDS AS AN NUTRITIOUS AND NUTRACEUTICAL FOOD OPTION

TORTILLAS PREPARADAS CON HARINAS EXTRUIDAS DE MAÍZ AZUL Y SEMILLAS DE CHÍA COMO UNA OPCIÓN DE ALIMENTO NUTRITIVO Y NUTRACÉUTICO

Jorge Rodolfo León-Murillo¹, Roberto Gutiérrez-Dorado^{1,2}, Rosalía Reynoso-Camacho³, Jorge Milán-Carrillo^{1,2}, Janitzio Xiomara Korina Perales-Sánchez^{1,2}, Edith Oliva Cuevas-Rodríguez^{1,2}, Cuauhtémoc Reyes-Moreno^{1,2*}

¹Programa Regional de Posgrado en Biotecnología, Facultad de Ciencias Químico-Biológicas (FCQB), Universidad Autónoma de Sinaloa (UAS), Cd Universitaria, AP 1354, Culiacán, Sinaloa. 80000 México. ²Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos, FCQB-UAS, Ciudad Universitaria, AP 1354, Culiacán, Sinaloa. 80000 México. (creyes@uas.edu.mx). ³Programa de Posgrado en Alimentos del Centro de la República (PROPAC), Universidad Autónoma de Querétaro. Apdo. Postal 184, Cerro de las Campanas s/n, Colonia Las Campanas. Querétaro, Querétaro. 76010 México.

ABSTRACT

Tortillas with adequate nutrients and phytochemicals as a recommended option may improve health in older adults. In this research tortillas were prepared with native blue maize (*Zea mays* L.) and chía (*Salvia hispanica*) seeds processed by alkaline extrusion. The hypothesis was that alkaline extrusion would generate flours of both seeds with improved nutraceutical and nutritional characteristics compared to traditional products. The aim was then to evaluate extruded defatted chía flour addition on nutritional and nutraceutical properties of tortillas made with extruded native blue maize flour. Tortillas were prepared with a mixture 75% extruded blue maize flour +25% extruded defatted chía flour. Other tortillas from 100% extruded blue maize flour and commercial lime-cooked maize flour (Blue MASECA®) were used as control and reference. Nutritional, antioxidant, antihypertensive and hypoglycaemic properties of tortillas were evaluated *in vitro*. A completely randomized experimental design with one factor (type of tortilla) was used for data analysis. Tortillas added with extruded chía flour had higher protein, dietary fibre, essential amino acid (EAA) profile, *in vitro* protein digestibility (IVPD), and calculated protein efficiency ratio (C-PER) than control and reference tortillas. Tortillas with addition of extruded chía flour also had better antioxidant activity [oxygen radical absorbance capacity, (ORAC) 18006 vs 15531 Trolox equivalent, (TE) μmol per 100g of dry weight, (DW) sample], and better antihypertensive [(ACE) angiotensin-

RESUMEN

Tortillas con nutrientes y fitoquímicos adecuados pueden ser opción para mejorar la salud de los adultos mayores. En esta investigación se preparó tortillas con harinas de maíz azul nativo (*Zea mays* L.) y chía (*Salvia hispanica*) procesadas por extrusión alcalina. La hipótesis fue que la extrusión alcalina generaría harinas con características nutraceuticas y nutricionales mejores respecto al producto tradicional. El objetivo fue evaluar la adición de harina de chía desgrasada extruida sobre propiedades nutricionales y nutraceuticas de tortillas elaboradas con harina de maíz azul nativo extruido. Estas tortillas se prepararon con una mezcla 75% de harina de maíz azul extruido +25% de harina de chía desgrasada extruida. Como control y referencia se utilizaron otras tortillas hechas con 100% de harina de maíz azul extruido y harina comercial de maíz cocido con cal (MASECA® azul). Propiedades nutricionales, antioxidantes, antihypertensivas e hipoglucemiantes de las tortillas se evaluaron *in vitro*. Para analizar los datos se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado con un factor (tipo de tortilla). Las tortillas con adición de harina de chía extruida presentaron valores mayores de contenido de proteínas, contenido de fibra dietética, perfil de aminoácidos esenciales (EAA), digestibilidad proteínica *in vitro* (IVPD) y relación de eficiencia proteínica calculada (C-PER) que las tortillas de control y de referencia. Las tortillas con adición de harina de chía extruida también presentaron mejor actividad antioxidante [capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC), equivalentes de Trolox (TE) 18006 vs 15531 μmol por 100g de muestra en (DW) peso seco], potencial antihypertensivo [inhibición de la enzima convertidora de angiotensina, (ACE) $\text{IC}_{50}=0.47$ vs. 0.65 mg de extracto mL^{-1}] e hipoglucemiante ($\text{IC}_{50}=20.07$ frente a 25.81 mg de extracto mL^{-1} para la inhibición de la α -amilasa,

* Author for correspondence ♦ Autor para correspondencia.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4384-1286>.

Received: December, 2020. Approved: September, 2021.

Published in *Agrociencia* 55: 487-506. 2021.

converting enzyme inhibition, $IC_{50}=0.47$ vs 0.65 extract mg mL^{-1}] and hypoglycaemic ($IC_{50}=20.07$ vs 25.81 extract mg mL^{-1} to α -amylase inhibition, and $IC_{50}=16.25$ vs 19.69 extract mg mL^{-1} to α -glucosidase inhibition) potential than tortillas from 100% extruded blue maize flour. The use of extruded chía flour and blue maize flour allowed obtaining tortillas with enhanced nutritional, antioxidant, antihypertensive, and hypoglycaemic properties. The extrusion process consumes few water volumes without generating polluting effluents. An appropriate public policy in Mexico may promote these tortillas to be used to fight against malnutrition, and to reduce incidences of chronic degenerative diseases such as hypertension or diabetes.

Key words: maize tortillas, *Salvia hispanica*, older adults, alkaline extrusion, nutritional, nutraceutical.

INTRODUCTION

In México, based on the 2018 Encuesta Nacional de la Dinámica Demográfica (ENADID), there are 15.4 million older adults (OA) (60 years and older) in the country (INEGI, 2019). The increment in the population of OA has caused accumulation of some chronic degenerative diseases such as cardiovascular diseases, type 2 diabetes, hypertension, cancer, among others (Prince *et al.*, 2015). Older adults experience changes in body composition related to age; one of the consequences of aging is that your muscles gradually weaken. The most severe cases are referred to as age-related sarcopenia, which is one of the main causes of frailty, bone fractures, and reduced quality of life among OA. Eating more protein is one of the best ways to reduce age-related muscle deterioration and prevent sarcopenia (Hida *et al.*, 2014).

In México, the main food product based on maize is the tortilla. The national population consume 1400 million tortillas per day. One of the main limitations in tortillas is the lack of lysine (León-López *et al.*, 2019). Tortillas are an excellent vehicle to enhance nutrition options for maize consumers, including OA. Maize kernels provide macronutrients (proteins, starch, dietary fibres, lipids) and micronutrients (vitamins, minerals). White and yellow maize are the most used for making tortillas, but in some regions blue maize is also used. Blue maize derived products have received increased attention due to their potential health benefits, as antioxidant, antimutagenic, anti-inflammatory, hypoglycemic.

e $IC_{50}=16.25$ vs. 19.69 mg de extracto mL^{-1} para la inhibición de la α -glucosidasa) mejor que las tortillas de 100% harina de maíz azul extruido. El uso de harinas extruidas de chía y maíz azul permitió obtener tortillas con propiedades nutricionales, antioxidantes, antihipertensivas e hipoglucemiantes mejoradas. El proceso de extrusión consume volúmenes de agua menores sin generar efluentes contaminantes. Una política pública adecuada en México puede promover el uso de estas tortillas para combatir la desnutrición y reducir la incidencia de enfermedades crónico-degenerativas como hipertensión o diabetes.

Palabras clave: tortillas de maíz, *Salvia hispanica*, adultos mayores, extrusión alcalina, nutricional, nutracéutico.

INTRODUCCIÓN

En México, con base en la Encuesta Nacional de la Dinámica Demográfica (ENADID) 2018, existen 15.4 millones de adultos mayores (OA) (60 años y más) en el país (INEGI, 2019). El incremento en la población de OA ha provocado la acumulación de algunas enfermedades crónico-degenerativas como las cardiovasculares, la diabetes tipo 2, la hipertensión, el cáncer, entre otras (Prince *et al.*, 2015). Los adultos mayores experimentan cambios en la composición corporal relacionados con la edad; una de las consecuencias del envejecimiento es que sus músculos se debilitan gradualmente. Los casos más graves se denominan sarcopenia relacionada con la edad que es una de las principales causas de fragilidad, fracturas óseas y reducción de la calidad de vida entre los OA. El consumo de más proteínas es una de las mejores maneras de reducir el deterioro muscular relacionado con la edad y prevenir la sarcopenia (Hida *et al.*, 2014).

En México, el principal producto alimenticio a base de maíz es la tortilla. La población nacional consume 1400 millones de tortillas al día. Una de las principales limitaciones en las tortillas es la falta de lisina (León-López *et al.*, 2019). Las tortillas son un vehículo excelente para mejorar las opciones nutricionales de los consumidores de maíz, incluidos los OA. Los granos de maíz proporcionan macronutrientes (proteínas, almidón, fibra dietética, lípidos) y micronutrientes (vitaminas, minerales). Los maíces blanco y amarillo son los más utilizados para hacer tortillas, pero en algunas regiones también se utiliza el maíz azul. Los productos derivados del maíz azul

Also, hypocholesterolaemic, antiatherosclerosis, anti-obesogenic, antiaging, anticancer; mainly due to the presence of compounds such as phenolic acids and anthocyanins (Serna-Saldívar *et al.*, 2013).

Salvia hispanica L. (Chía) is native to Mesoamerica; in 3500 B.C.E was used by Mayas and Aztecs as food and medicine (Orona-Tamayo *et al.*, 2016). Chía seeds dry weight (DW), contain approximately 15-25% protein, and 29-34% fat. Chía lipids possess almost 35-64% linolenic acid (ω -3), and 17-35% linoleic acid (ω -6) (León-López *et al.*, 2019). Chía seeds are a source of antioxidants due to the presence of some polyphenols as phenolic acids, flavonoids, or isoflavones (Orona-Tamayo *et al.*, 2016). Several biological activities, among them anti-inflammatory, antioxidant, antihypertensive, hypoglycaemic, which help to prevent cardiovascular diseases, or cancer are associated with dietary polyphenols (Orona-Tamayo *et al.*, 2016).

Extrusion cooking uses high-temperature and pressure, and high-shear conditions in a short period result in molecular transformation and chemical reactions within the extruded products. Extrusion improves starch and protein digestibility and increases the retention of bioactive compounds and soluble dietary fibre (Reyes-Moreno *et al.*, 2018). Under the hypothesis that alkaline extrusion would generate flours of seeds of *Z. mays* and *S. hispanica* with improved nutraceutical y nutritional characteristics compared to the traditional product; the aim of this study was to evaluate extruded defatted chía flour addition on nutritional and nutraceutical properties of tortillas made from extruded native blue maize flour.

MATERIALS AND METHODS

Functional seeds used

Whole lots of native blue maize and black chía seeds were acquired in the "Rafael Buelna" market, which is located on the Hermenegildo Galeana St., in the first square of Culiacán Rosales, Sinaloa, México.

Production of extruded native blue maize (ECBMF) and defatted chía (EDCF) flours

For the production of extruded blue maize and defatted chía flours, some optimized processing conditions pertaining our

han recibido atención mayor debido a sus beneficios potenciales para la salud, como antioxidante, antimutagénico, antiinflamatorio, hipoglucemiante. También como, hipocolesterolémico, antiaterosclerótico, anti-obesogénico, antienvjecimiento, anticancerígeno, debido a la presencia de compuestos como ácidos fenólicos y antocianinas (Serna-Saldívar *et al.*, 2013).

La chía (*Salvia hispanica* L.) es originaria de Mesoamérica; en el año 3500 a.EC. mayas y aztecas la utilizaban como alimento y medicina (Orona-Tamayo *et al.*, 2016). Las semillas de chía en peso seco (DW), contienen aproximadamente 15-25% de proteína y 29-34% de grasa. Los lípidos de la chía poseen casi un 35-64% de ácido linoléico (ω -3), y un 17-35% de ácido linoleico (ω -6) (León-López *et al.*, 2019). Las semillas de chía son una fuente de antioxidantes debido a la presencia de algunos polifenoles como ácidos fenólicos, flavonoles o isoflavonas (Orona-Tamayo *et al.*, 2016). Diversas actividades biológicas, entre ellas antiinflamatoria, antioxidante, antihipertensiva, hipoglucemiante, las cuales ayudan a prevenir enfermedades cardiovasculares o cáncer, están asociadas con los polifenoles en la dieta (Orona-Tamayo *et al.*, 2016).

La cocción por extrusión utiliza temperatura alta y presión, y condiciones de alto cizallamiento en un período corto dando como resultado transformación molecular y reacciones químicas dentro de los productos extruidos. La extrusión mejora la digestibilidad del almidón y la proteína y aumenta la retención de compuestos bioactivos y fibra dietética soluble (Reyes-Moreno *et al.*, 2018). Bajo la hipótesis de que la extrusión alcalina generaría harinas de semillas de *Z. mays* y *S. hispanica* con características nutraceuticas y nutricionales mejores respecto al producto tradicionales mejores respecto al producto tradicional, el objetivo de este estudio fue evaluar la adición de harina de chía desgrasada extruida sobre las propiedades nutricionales y nutraceuticas de tortillas elaboradas con harina de maíz azul nativo extruido.

MATERIALES Y MÉTODOS

Semillas funcionales utilizadas

Lotes de maíz azul nativo y semillas de chía negra se adquirieron en el mercado "Rafael Buelna" que se encuentra en la calle Hermenegildo Galeana, en la plaza principal de Culiacán Rosales, Sinaloa, México.

laboratory were used (Milán-Carrillo *et al.*, 2006; León-López *et al.*, 2019). Chía seeds were defatted using an oil press machine (model DL-ZYJ05). Batches of 500g of seeds native blue maize or defatted chía were ground in a domestic blender to obtain fine powder and grits that passed through a US40 (0.425 mm) screening mesh but were retained over a US200 (0.074 mm) screening mesh. The grits were mixed with lime (0.21g per100g grits) and water to achieve a water content of 28g per 100g of wet grits. All lots were packed and stored at 4 °C for 12 h. Before extrusion, the grits were tempered (25 °C).

The extrusion procedures were carried out on a single screw laboratory extruder Model 20 DN (CW Brabender Instruments, Inc, NJ, USA). The extruder optimal operation conditions for seeds (Extrusion temperature, ET and screw speed, SS) were for native blue maize, ET=85 °C at SS=240 rpm (Milán-Carrillo *et al.*, 2006); and for defatted chía: ET=147 °C at SS=237 rpm (León-López *et al.*, 2019). Extrudate material was cooled, equilibrated at environmental conditions, milled to pass through a US80 screening mesh and packed. Extruded native blue maize and defatted chía flours were stored at 4 °C.

Quality evaluation of tortillas

Tortillas were prepared from the flour mixture 75% extruded blue maize flour+25% extruded defatted chía flour, this proportion of flours was chosen based on a preliminary study (León-López *et al.*, 2019). Also, tortillas from 100% ECBMF and commercial lime-cooked maize flour (Blue MASECA®) were used as control and reference. The reference MASECA® product is the commercial contemporary version of *nixtamal*, which is an ancient Mexican product. It is obtained cooking maize kernels in water and lime, then ground to make dough for tortillas.

The tortillas were prepared with water at 30 °C until obtaining an adequate consistency. Tortillas puffing was evaluated throughout their cooking using a 1 to 3 scale: 1=no puffing, 2=intermediate puffing, and 3=complete puffing (Milán-Carrillo *et al.*, 2006). The tortilla rollability was performed 30 min after preparation. Tortillas rolled in a glass stick of 2.54 cm of diameter, and the degree of breakage of tortilla surface (0-100%) indicated the rollability (1-5) based on the Bedolla and Rooney's scale as it follows: 0%=1, 25%=2, 50%=3, 75%=4 and 100%=5 (Milán-Carrillo *et al.*, 2006).

For sensory evaluation of tortillas, squared pieces pre-heated at 45 °C were presented in one plate to taste. The testing panel (120 panellists; ages ranging between 18-62 y) were habitual tortilla consumers who assessed flavour, odour, colour, texture, and general acceptance. The panellists were asked to indicate their degree of liking or disliking using a 9-category hedonic scale (1= extremely disliking to 9= extremely liking). Samples of tortillas

Producción de harinas extruidas de maíz azul nativo (ECBMF) y de chía desgrasada (EDCF)

Para la producción de harinas extruidas de maíz azul y de chía desgrasada se utilizaron condiciones de proceso optimizadas propias de nuestro laboratorio (Milán-Carrillo *et al.*, 2006; León-López *et al.*, 2019). Las semillas de chía se desgrasaron primero con una máquina de prensado de aceite (modelo DL-ZYJ05). Lotes de 500 g de semillas de maíz azul nativo o de chía desgrasada se colocaron en una licuadora doméstica para obtener sémola, la cual se pasó por una malla de cribado US40 (0.425 mm) y se retuvo sobre una malla de cribado US200 (0.074 mm), junto con polvo fino. La sémola se mezcló con cal (0.21 g por 100 g de sémola) y agua para conseguir un contenido de agua de 28 g por 100 g de sémola húmeda. Todos los lotes se envasaron y se almacenaron a 4 °C durante 12 h. Antes de la extrusión, la sémola se atemperó (25 °C).

Los procedimientos de extrusión se llevaron a cabo en un extrusor de laboratorio de un solo tornillo Modelo 20 DN (CW Brabender Instruments, Inc, NJ, USA). Las condiciones óptimas de operación del extrusor para las semillas (temperatura de extrusión, ET y velocidad del tornillo, SS) fueron para el maíz azul nativo, ET=85 °C a SS=240 rpm (Milán-Carrillo *et al.*, 2006); y para la chía desgrasada, ET=147 °C a SS=237 rpm (León-López *et al.*, 2019). El material extruido se dejó enfriar, equilibrar en condiciones ambientales; se molió para pasar por una malla de cribado US80 y se envasó. Las harinas extruidas de maíz azul nativo y de chía desgrasada se almacenaron a 4 °C.

Evaluación de la calidad de las tortillas

Las tortillas se elaboraron a partir de la mezcla de harinas 75% harina de maíz azul extruido+25% harina de chía desgrasada extruida; la proporción se eligió con base en un estudio preliminar (León-López *et al.*, 2019). También se utilizaron tortillas de 100% ECBMF y harina comercial de maíz cocido con cal (MASECA® azul) como control y referencia. El producto MASECA® de referencia es la versión comercial contemporánea del *nixtamal*, el cual es un producto mexicano ancestral que se obtiene al cocer granos de maíz en agua con cal, y luego se muele para hacer masa para tortillas.

Las tortillas se prepararon con agua a 30 °C hasta obtener una consistencia adecuada. El inflado de las tortillas se evaluó durante la cocción con una escala de 1 a 3; 1=sin inflado, 2=inflado intermedio y 3=inflado completo (Milán-Carrillo *et al.*, 2006). La característica de enrollado ("rolabilidad") de la tortilla se realizó 30 min después de su elaboración. Las tortillas se enrollaron en una varilla de cristal de 2.54 cm de diámetro, y el grado de rotura de la superficie de la tortilla (0-100%) indicó la

were dried and milled to pass through a US80 screening mesh to determine chemical composition, nutritional and nutraceutical properties; then packed in plastic bags.

Chemical composition, soluble and insoluble dietary fibre (SDF-IDF)

The following methods of the AOAC (2012) were used to evaluate proximate composition: Moisture (925.09B): drying at 130 °C; lipids (method 920.39C): defatting in a Soxhlet apparatus with petroleum ether; protein (method 960.52): micro-Kjeldahl (Nx6.25); soluble and insoluble dietary fibre (method 985.29): enzymatic-gravimetric method for total dietary fibre.

Nutritional properties: essential amino acid (EAA), *in vitro* protein digestibility (IVPD), chemical score (CS), and calculated protein efficiency ratio (C-PER)

The EAA composition was determined using an analytical scale (4.6×250 mm) hypersil ODS C18 column (SGE, Dandenong, Australia) kept at 38 °C and connected to a high-performance liquid chromatography (HPLC) system (GBC, Dandenong, Australia). HPLC equipped with a fluorescence detector >LC 5100 set respectively at 270 and 316 nm for excitation and emission. Tryptophan was detected at 280 nm with an ultraviolet detector (León-López *et al.*, 2019). The IVPD was quantified using a multi-enzyme system (Rathod and Annapure, 2016) with little modifications. The chemical score (CS) was calculated as $CS = (\text{Content of the most limiting EAA}/\text{REAAAR}) \times 100$; where EAA=essential amino acid and REAAAR=recommended amino acid requirements for children (3-years-old and older) and adults (FAO, 2013). C-PER (calculated protein efficiency ratio) was calculated based on the IVPD and the EAA composition of the sample as it is summarized by the AOAC (2012). All determinations were carried out in triplicate.

Extraction of free and bound phytochemical compounds

The extraction of free and bound phenolics was done according to the method described by Mora-Rochín *et al.* (2010). The solvents used to the extraction of free and bound phytochemical compounds were respectively 80% chilled ethanol and ethyl acetate. All extractions were performed by triplicate.

Antioxidant activity (AoxA) and total phenolic content (TPC)

The 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazolline-6-sulfonic acid), ABTS assay was performed diluting free and bound extracts with ethanol. Aliquots of 20 μL of each dilution were taken

rolabilidad (1-5) con base en la escala de Bedolla y Rooney, como sigue 0%=1, 25%=2, 50%=3, 75%=4 y 100%=5 (Milán-Carrillo *et al.*, 2006).

Para la evaluación sensorial de las tortillas, se presentó a los panelistas trozos cuadrados de tortilla en un plato, precalentados a 45 °C para su degustación. El panel de evaluadores (120 panelistas; edades entre 18 y 62 años) eran consumidores habituales de tortillas que evaluaron el sabor, el olor, el color, la textura y la aceptación general. A los panelistas se pidió que indicaran su grado de agrado o desagrado en una escala hedónica de 9 categorías (1= extremadamente desagradable a 9= extremadamente agradable). Las muestras de tortillas se secaron y se molieron para que pasaran por una malla de cribado US80 para determinar la composición química y las propiedades nutricionales y nutraceuticas; después se envasaron en bolsas de plástico.

Composición química, fibra dietética soluble e insoluble (SDF-IDF)

Para evaluar la composición proximal se utilizaron métodos de la AOAC (2012). Humedad (925.09B): secado a 130 °C; lípidos (método 920.39C): desengrasado en un aparato Soxhlet con éter de petróleo; proteínas (método 960.52): micro-Kjeldahl (Nx6.25); fibra dietética soluble e insoluble (método 985.29): método enzimático-gravimétrico para la fibra dietética total.

Propiedades nutricionales: aminoácidos esenciales (EAA), digestibilidad proteínica *in vitro* (IVPD), calificación química (CS) y relación de eficiencia proteínica calculada (C-PER)

La composición de EAA se determinó con una columna hypersil ODS C18 de escala analítica (4.6×250 mm) (SGE, Dandenong, Australia) mantenida a 38 °C y conectada a un sistema de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (GBC, Dandenong, Australia). El HPLC estaba equipado con un detector de fluorescencia >LC 5100 con ajustes respectivos a 270 y 316 nm para excitación y emisión. El triptófano se detectó a 280 nm con un detector ultravioleta (León-López *et al.*, 2019). La IVPD se cuantificó con el uso de un sistema multi enzimático (Rathod y Annapure, 2016) con modificaciones. La calificación química (CS) se calculó como $CS = (\text{Contenido más limitante de EAA}/\text{REAAAR}) \times 100$; donde EAA= aminoácido esencial y REAAAR= requerimientos de aminoácidos recomendados para niños a partir de los 3 años y adultos (FAO, 2013). El C-PER (relación de eficiencia proteínica calculada) se calculó en base al IVPD y a la composición de EAA de la muestra tal y como lo resume la AOAC (2012). Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

and mixed with 2.0 mL of diluted radical cation ABTS⁺; 6 min later the absorbance was determined at 734 nm in a UV-visible spectrophotometer (GENESYS 10UV, Thermo electron, Inc, Madison, WI, USA). The oxygen radical absorbance capacity - ORAC assay was done, diluting free and bound phenolic extracts in 75 mM phosphate buffer (pH 7.4). Aliquots of 25 μ L of diluted extracts mixed with 150 mL of fluorescein (0.1 mM) and 25 μ L of the peroxy radical 2,2-azobis(2-amidopropane dihydrochloride, AAPH (200 mM). After 30 min, fluorescence (485 nm for excitation and 538 nm for emission) was measured at 37 °C and 2 min intervals for 60 min, using a Synergy microplate reader (SynergyTM HT Multi-Detection, BioTek, Inc., Winooski, VT).

The results of ABTS and ORAC assays were expressed as [Trolox equivalent, TE μ mol per 100g of dry weight, DW sample]. The TPC of free and bound extracts was determined using 20 mL of appropriate dilutions of extracts, oxidized with 180 mL of Folin-Ciocalteu reagent. After 20 min, the resulting blue color's absorbance was measured at 750 nm. TPC was reported as Gallic acid equivalent, GAE mg per 100 g of dry weight, DW sample. All measurements were carried out in triplicate.

Antihypertensive potential (IC₅₀)

The ACE (angiotensin-converting enzyme) inhibitory activity in total phenolic extracts (sum of free and bound phenolic extracts) was determined using the Dojindo ACE Kit-WST test kit (Dojindo Laboratories, Kumamoto, Japan). This method is based on an indicator colorimetric detection after a redox reaction. The absorbance (Abs) at 450 nm was measured using a Microplate Reader (SynergyTM HT Multi-Detection, BioTek, Inc., Winooski, VT, USA). The IC₅₀ (concentration of phenolic extract that caused an inhibition of 50% in the ACE activity) values were calculated from different concentrations of the phenolic extracts and ACE inhibitory activity values using the Prism v5 software (GraphPad Prism) (León-López *et al.*, 2019).

Hypoglycaemic potential [α -amylase and α -glucosidase inhibition activities]

The inhibitory activity of total phenolic extracts (sum of free and bound phenolic extracts) against α -amylase was determined by the colorimetric measurement of maltose released after stopping the starch reaction and α -amylase with 3,5-dinitrosalicylic acid (Kazeem *et al.*, 2013). The inhibitory activity of these extracts against α -glucosidase was determined by measuring the formation of p-nitrophenol by α -glucosidase

Extracción de compuestos fitoquímicos libres y ligados

La extracción de los fenoles libres y ligados se llevó a cabo de acuerdo con el método descrito por Mora-Rochín *et al.* (2010). Los disolventes utilizados para la extracción de los compuestos fitoquímicos libres y ligados fueron respectivamente etanol refrigerado al 80% y acetato de etilo. Todas las extracciones se realizaron por triplicado.

Actividad antioxidante (AoxA) y contenido de fenólicos totales (TPC)

El ensayo del ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico), ABTS, se realizó por dilución de extractos libres y ligados con etanol. Alícuotas de 20 μ L se tomaron de cada dilución y se mezclaron con 2.0 mL del catión radical ABTS⁺ diluido y 6 min después se determinó la absorbancia a 734 nm en un espectrofotómetro UV-visible (GENESYS 10UV, Thermo electron, Inc, Madison, WI, USA). El ensayo de capacidad de absorción de radicales de oxígeno, ORAC, se llevó a cabo con la dilución de los extractos fenólicos libres y ligados en tampón de fosfatos 75 mM (pH 7.4). Alícuotas de 25 μ L de extractos diluidos se mezclaron con 150 mL de fluoresceína (0.1 mM) y 25 μ L del radical peróxido 2,2-azobis(2-amidopropano dihidrocloruro, AAPH (200 mM). Después de 30 min, se midió la fluorescencia (485 nm para excitación y 538 nm para emisión) a 37 °C en intervalos de 2 minutos durante 60 minutos, por medio de un lector de microplacas Synergy (SynergyTM HT Multi-Detection, BioTek, Inc., Winooski, VT).

Los resultados de los ensayos ABTS y ORAC se expresaron como [equivalentes de Trolox (TE) en μ mol por 100g de muestra en peso seco (DW)]. El TPC de los extractos libres y ligados se determinó por 20 mL de diluciones apropiadas de los extractos, oxidados con 180 mL de reactivo Folin-Ciocalteu. Después de 20 minutos, se midió la absorbancia del color azul resultante a 750 nm. El TPC se reportó como equivalente de ácido gálico, GAE mg por 100 g de muestra en peso seco, DW. Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

Potencial antihypertensivo (IC₅₀)

La actividad inhibidora de la ACE (enzima convertidora de angiotensina) en los extractos fenólicos totales (suma de los extractos fenólicos libres y ligados) se determinó con el kit de prueba Dojindo ACE Kit-WST (Dojindo Laboratories, Kumamoto, Japón). Este método se basa en una detección colorimétrica del indicador tras una reacción redox. La absorbancia (Abs) a 450 nm se midió a través de un lector de microplacas (SynergyTM HT Multi-Detection, BioTek, Inc., Winooski, VT, USA). Los valores

after reacting with p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (PNP) (Kazeem *et al.*, 2013). The α -amylase and α -glucosidase inhibition percentages were calculated using the following equations:

α -amylase inhibition (%)=

$$[(A_{540} \text{ control} - A_{540} \text{ extract}) / (A_{540} \text{ control})] \times 100$$

α -glucosidase inhibition (%)=

$$[(A_{405} \text{ control} - A_{405} \text{ extract}) / (A_{405} \text{ control})] \times 100$$

IC₅₀ values (%) were calculated from the plots of inhibition percentage *vs.* concentration of phenolic extract using the Prism v5 software (GraphPad Prism).

Statistical analyses

Data on the chemical composition, nutritional properties, antioxidant activity, phenolic compounds content, and nutraceutical properties of flours and tortillas were subjected to one-way analysis of variance (ANOVA) followed by the multiple mean comparison test (Tukey, $p \leq 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

Nutritional and nutraceutical properties of extruded blue maize and defatted chía flours

Chemical composition and nutritional properties

The protein content (% dry weight, DW) of extruded native blue maize and defatted chía flours was 10.05 and 31.57%. The lipid content of extruded grain flours ranged from 5.88 to 6.08%, DW; the extruded defatted chía flour had the lowest value. This flour had higher mineral content than extruded blue maize flour (5.22 *vs.* 1.69%, DW). The dietary fibre content varied from 12.78%, DW (extruded blue maize flour) to 48.50%, DW (extruded defatted chía flour). In both flours, the highest dietary fibre corresponded to the insoluble dietary fibre fraction whose content ranged from 10.70%, DW (extruded blue maize flour) to 40.49%, DW (extruded defatted chía flour), a similar behaviour to the corresponding unprocessed grains. While extrusion did not show significant changes ($p > 0.05$) in protein content between unprocessed grains and extruded grains.

However, a small decrease in lipid content was found associated with the extrusion process conditions used (extrusion temperature, screw speed, pressure, high-shear force), causing complex

of IC₅₀ (concentración de extracto fenólico que provocó una inhibición del 50% en la actividad de la ACE) se calcularon a partir de concentraciones diferentes de los extractos fenólicos y de los valores de actividad inhibitoria de la ACE con el programa Prism v5 (GraphPad Prism) (León-López *et al.*, 2019).

Potencial hipoglucemiante [actividades de inhibición de la α -amilasa y la α -glucosidasa]

La actividad inhibitoria de los extractos fenólicos totales (suma de los extractos fenólicos libres y ligados) contra la α -amilasa se determinó mediante la medición colorimétrica de la maltosa liberada tras detener la reacción del almidón y de la α -amilasa con ácido 3,5-dinitrosalicílico (Kazeem *et al.*, 2013). La actividad inhibitoria de estos extractos contra la α -glucosidasa se determinó al medir la formación de p-nitrofenol por parte de la α -glucosidasa tras reaccionar con el p-nitrofenil- α -D-glucopiranosido (PNP) (Kazeem *et al.*, 2013). Los porcentajes de inhibición de la α -amilasa y la α -glucosidasa se calcularon por medio de las ecuaciones siguientes:

α -inhibición de la amilasa (%)=

$$[(A_{540} \text{ control} - A_{540} \text{ extracto}) / (A_{540} \text{ control})] \times 100$$

α -inhibición de la glucosidasa (%)=

$$[(A_{405} \text{ control} - A_{405} \text{ extracto}) / (A_{405} \text{ control})] \times 100$$

Los valores IC₅₀ (%) se calcularon a partir de los gráficos del porcentaje de inhibición *vs.* la concentración del extracto fenólico, con el uso del programa Prism v5 (GraphPad Prism).

Análisis estadísticos

Los datos sobre la composición química, las propiedades nutricionales, la actividad antioxidante, el contenido de compuestos fenólicos, y las propiedades nutraceuticas de harinas y tortillas se sometieron a un análisis de varianza de una vía (ANOVA) seguido de la prueba de comparación múltiple de medias (Tukey, $p \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Propiedades nutricionales y nutraceuticas de las harinas extruidas de maíz azul y de chía desgrasada

Composición química y propiedades nutricionales

El contenido de proteínas (% peso seco, DW) de las harinas extruidas de maíz azul nativo y de chía desgrasada fue de 10.05 y 31.57%. El contenido en

formation between lipids and other macromolecules (starch), making its extraction difficult and causing an apparent decrease in the lipid content in the samples (Félix-Medina *et al.*, 2020). Also, minerals and insoluble fibre experienced an increase in both seeds after the extrusion process. This mineral increase may be due to the addition of lime during the conditioning of both flours (Mora-Rochín *et al.*, 2010; León-López *et al.*, 2019). While the increase in insoluble dietary fibre content can be attributed to the formation of materials (protein-polysaccharide complexes) resistant to enzymatic degradation that are generated during the heating-cooling cycles that occur during extrusion (Félix-Medina *et al.*, 2020).

In general, the EAA content in both extruded seed flours were higher than those of the pattern suggested by FAO (2013) for the requirement of EAA for children (3-years-old and older) and adults (Table 1). In both processed seed flours Lys showed to be a limiting EAA. The extrusion process caused a small decrease in the EAA content of both seed flours (data comparison to unprocessed seeds are not

lípido de las harinas de semillas extruidas osciló entre el 5.88 y el 6.08%, DW; la harina de chía desgrasada extruida tuvo el valor más bajo. Esta harina tenía un mayor contenido en minerales que la harina de maíz azul extruido (5.22 frente a 1.69%, DW). El contenido de fibra dietética varió entre el 12.78%, DW (harina de maíz azul extruido) y el 48.50%, DW (harina de chía desgrasada extruida). En ambas harinas, la mayor cantidad de fibra dietética correspondió a la fracción de fibra dietética insoluble, cuyo contenido osciló entre el 10.70%, DW (harina de maíz azul extruido) y el 40.49%, DW (harina de chía desgrasada extruida), un comportamiento similar al de los correspondientes granos sin procesar. Mientras que la extrusión no mostró cambios significativos ($p > 0.05$) en el contenido de proteínas entre los granos sin procesar y los granos extruidos.

Sin embargo, se encontró una disminución pequeña en el contenido de lípidos, asociada con las condiciones del proceso de extrusión utilizadas (temperatura de extrusión, velocidad del tornillo, presión, fuerza de cizallamiento). Esto provocó la formación

Table 1. Nutritional properties of commercial *nixtamal* blue maize flour (blue MASECA™), and extruded native blue maize and defatted chia flours.

Cuadro 1. Propiedades nutricionales de la harina de maíz azul nixtamalizada comercial (MASECA® azul), y de las harinas extruidas de maíz azul nativo y de chía desgrasada.

Property	Blue MASECA™	Extruded blue maize flour	Extruded defatted chia flour	FAO†
EAA‡ (g per 100g protein)				
His	2.66±0.04b	3.23±0.02a	2.07±0.03c	1.60
Ile	2.93±0.02b	2.71±0.05c	3.31±0.08a	3.00
Leu	12.96±0.08a	8.01±0.04b	6.08±0.15c	6.10
Lys	2.96±0.03c	3.73±0.05b	4.72±0.13a	4.80
Met+Cys	3.82±0.06b	5.60±0.04a	2.53±0.07c	2.30
Phe+Tyr	7.69±0.04a	6.52±0.06b	5.11±0.13c	4.10
Thr	2.89±0.03b	2.95±0.03a	2.61±0.08c	2.50
Trp	0.51±0.03c	0.61±0.02b	1.60±0.05a	0.66
Val	4.62±0.04b	5.76±0.05a	4.37±0.09c	4.00
Total	41.04	39.12	32.40	29.06
EAA Chemical score				
Limitant AAE	Lys	Lys	Lys	
IVPD§ (%)	72.01±0.10c	77.32±0.12b	85.09±0.12a	
C-PER ^b	1.13±0.02c	1.69±0.04b	2.19±0.03a	

^{a,b} Means with different letter per row are statistically different (Tukey, $p \leq 0.05$) [†]EAA requirements for children (3 years and older), and adults according to FAO (2013); [‡]EAA = Essential amino acid(s); [§]IVPD = *In vitro* protein digestibility (%); ^bC-PER = Calculated protein efficiency ratio. [•] ^{a,b} Letras diferentes por fila indican diferencia estadística (Tukey, $p \leq 0.05$) [†]EAA requerimientos para niños (a partir de 3 años) y adultos de acuerdo con FAO (2013); [‡]EAA = aminoácido esencial (es); [§]IVPD = digestibilidad proteínica *in vitro* (%); ^bC-PER = relación de eficiencia proteínica calculada.

shown). It has been reported that the loss of some EAA is directly proportional to the intensity of the extrusion conditions (temperature, screw speed, moisture content), where screw speed variable is that with the greatest impact. Also, it is due to the Maillard reaction, where amino group of lysine reacts with the reducing sugar (Félix-Medina *et al.*, 2021). The *in vitro* protein digestibility (IVPD) of extruded seed flours was 77.32 - 85.09% (Table 1). The extrusion process caused an increase in both blue maize and defatted chía.

During the extrusion, the protein digestibility of seeds increased due to the destruction of anti-nutritional factors (mainly enzymatic inhibitors) and protein denaturation. That is a consequence of the applied conditions (temperature, humidity, and cutting forces) (León-López *et al.*, 2019). The C-PER value of extruded seed flours was 1.69, and 2.19 in blue maize and defatted chía, respectively (Table 1). The nutritional parameter C-PER was determined using the IVPD and EAA values of the flours. Despite the extrusion process caused a slight decrease in the content of essential amino acids, the C-PER value improved, due to the increase in the IVPD values of the samples.

Antioxidant activity (AoxA) and total phenolic content (TPC)

The AoxA, evaluated by ORAC methodology, of both extruded grain flours was 15773 (blue maize) and 25905 (defatted chía) TE μmol per 100 g DW sample (Table 2). The AoxA of the extruded grain flours, evaluated by ABTS methodology, showed a similar tendency. The TPC of extruded grain flours ranged from 307.62 to 645.50 GAE mg per 100 g DW sample; the flour of extruded blue maize had the lowest value. The application of the extrusion process at optimal conditions producing extruded seed flours increased the AoxA, as it was evaluated by ORAC and ABTS procedures when compared to unprocessed seeds.

This increase in AoxA could result from the release of antioxidant phenolic compounds during the extrusion process, oxidation preventing of phenolic compounds in the extruded product by enzymatic inactivation during the processing, and the presence of Maillard reaction products (Félix-Medina *et al.*, 2020). Regarding the TPC of extruded blue maize

de complejos entre los lípidos y otras macromoléculas (almidón), dificultó su extracción y causó una disminución aparente del contenido de lípidos en las muestras (Félix-Medina *et al.*, 2020). Además, los minerales y la fibra insoluble experimentaron un incremento en ambas semillas tras el proceso de extrusión. Este aumento de minerales puede deberse a la adición de cal durante el acondicionamiento de ambas harinas (Mora-Rochín *et al.*, 2010; León-López *et al.*, 2019). Mientras que el aumento del contenido de fibra dietética insoluble puede atribuirse a la formación de materiales resistentes (complejos proteína-polisacárido) a la degradación enzimática que se generan durante los ciclos de calentamiento-enfriamiento que se producen durante la extrusión (Félix-Medina *et al.*, 2020).

En general, el contenido de EAA en ambas harinas de semillas extruidas fue superior a los del patrón sugerido por la FAO (2013) para el requerimiento de EAA para niños (3 años y más) y adultos (Cuadro 1). En ambas harinas de semillas procesadas la Lys resultó un EAA limitante. El proceso de extrusión causó una pequeña disminución en el contenido de EAA de las harinas de ambas semillas (no se muestran los datos de comparación con semillas sin procesar). La pérdida de algunos EAA se ha reportado que es directamente proporcional a la intensidad de las condiciones de extrusión (temperatura, velocidad del tornillo, contenido de humedad); la variable de la velocidad del tornillo es la que tiene el impacto mayor. También se debe a la reacción de Maillard, donde el grupo amino de la lisina reacciona con el azúcar reductor (Félix-Medina *et al.*, 2021). La digestibilidad proteínica *in vitro* (IVPD) de las harinas de semillas extruidas fue del 77.32 - 85.09% (Cuadro 1). El proceso de extrusión provocó un aumento tanto en el maíz azul como en la chía desgrasada.

Durante la extrusión, la digestibilidad proteínica de las semillas aumentó debido a la destrucción de los factores anti nutricionales (inhibidores enzimáticos principalmente) y a la desnaturalización de las proteínas. Esto es consecuencia de las condiciones aplicadas (temperatura, humedad y fuerzas de corte) (León-López *et al.*, 2019). El valor C-PER de las harinas de semillas extruidas fue de 1.69 y 2.19 para el maíz azul y la chía desgrasada, respectivamente (Cuadro 1). El parámetro nutricional C-PER se determinó a partir de los valores de IVPD y EAA de las harinas. A pesar de que el proceso de extrusión provocó una ligera dis-

Table 2. Antioxidant activity, total phenolic content, and antihypertensive and hypoglycemic potentials of commercial nixtamal blue maize flour (Blue MASECA®), and extruded flours of native blue maize and defatted chia seeds.**Cuadro 2. Actividad antioxidante, contenido de fenólicos totales y potencial antihipertensivo e hipoglucemiante de la harina de maíz azul nixtamalizada comercial (MASECA® azul) y de las harinas extruidas de maíz azul nativo y chía desgrasada.**

Property	Blue MASECA™	Extruded blue maize flour	Extruded defatted chia flour
ORAC antioxidant activity†			
Free phenolics	2146±72c	3159±101b	10335±222a
Bound phenolics	10239±342c	12614±510b	15570±414a
Total	12385±489c	15773±597b	25905±607a
ABTS antioxidant activity†			
Free phenolics	935±44c	1306±65b	4511±203a
Bound phenolics	2970±167c	3950±148b	12360±477a
Total	3905±132c	5256±177b	16871±698a
Phenolic compounds‡			
Free phenolics	65.07±1.10c	68.01±2.36b	289.10±5.09a
Bound phenolics	147.29±2.49c	239.71±4.01b	356.40±7.12a
Total	212.36±3.14c	307.72±4.69b	645.50±14.2a
ACE inhibition (IC ₅₀)§	2.35±0.06a	0.51±0.03b	0.38±0.02c
α-amylase inhibition (IC ₅₀)§	30.01±1.42a	27.06±1.03b	3.98±0.17c
α-glucosidase inhibition (IC ₅₀)§	21.03±1.31a	19.02±1.01b	5.01±0.23c

^{ab} Means with different letter in the same row are statistically different (Tukey, $p \leq 0.05$); [†]Trolox equivalents, TE μmol per 100 g DW sample; [‡]Gallic acid equivalents, GAE mg per 100 g DW sample; [§] extract mg mL⁻¹. [♦] ^{ab} Letras diferentes por fila indican diferencia estadística (Tukey, $p \leq 0.05$); [†] μmol equivalentes de Trolox, TE, por 100 g de muestra DW; [‡]mg equivalentes de ácido gálico, GAE, por 100 g de muestra DW; [§]mg de extracto mL⁻¹.

flour for tortillas, there are no reports in the literature. However, the content of these compounds fell within the range reported for unprocessed blue maize (142-320 GAE mg per 100 g DW sample) (Serna-Saldívar *et al.*, 2013, Mora-Rochín *et al.*, 2010). While, the content of total phenolic compounds in extruded chia flour was similar to that reported by León-López *et al.* (2019). Also, TPC increased ($p \leq 0.05$) during the preparation of extruded seed flours.

The bound phenolic compounds were the main fraction responsible for improving TPC (Table 2). This increase in TPC may be accountable for the improvement in AoxA of extruded seed flours. The extrusion process increases the phenolic compounds content due to the destruction of cell walls and the release of phenolic compounds. The formation of Maillard reaction products also was quantified as phenolic compounds (Félix-Medina *et al.*, 2020). Félix-Medina *et al.*, (2021) stated that the extrusion process conditions (humidity, temperature, screw speed) have a crucial impact on the levels of bioactive

minución del contenido de aminoácidos esenciales, el valor de C-PER mejoró, debido al aumento de los valores de IVPD de las muestras.

Actividad antioxidante (AoxA) y contenido de fenólicos totales (TPC)

La AoxA evaluada con ORAC de las dos harinas de semillas extruidas fue 15773 (maíz azul) y 25905 (chía desgrasada) μmol TE por 100 g de muestra DW (Cuadro 2). La AoxA de las harinas de semillas extruidas evaluada por ABTS mostró una tendencia similar. El TPC de las harinas de semillas extruidas osciló entre 307.62 y 645.50 mg de GAE por 100 g de muestra DW; la harina de maíz azul extruido tuvo el valor más bajo. La aplicación del proceso de extrusión en condiciones óptimas para la producción de harinas de granos extruidos incrementó la AoxA, tal y como se evaluó mediante los procedimientos ORAC y ABTS en comparación con semillas sin procesar.

compounds (phenolic acids, flavonoids) by releasing, degrading or composition.

Antihypertensive [inhibition of the angiotensin-converting enzyme (ACE)] and hypoglycaemic [inhibition of α -amylase and α -glucosidase] potentials

The antihypertensive potential is defined as IC_{50} [the (extract mg mL⁻¹) concentration required to produce 50% inhibition in the activity of ACE]. The phenolic compounds extracted from flours of extruded blue maize and extruded defatted chía had improved (lower value) IC_{50} [0.51 and 0.38 extract mg mL⁻¹, respectively (Table 2)] than unprocessed seeds. The improvement of IC_{50} value during the extrusion process of blue maize and defatted chía seeds could occur by releasing and forming bioactive compounds (phenolic compounds and Maillard reaction products) with antihypertensive potential (León-López *et al.*, 2019). The ACE inhibitory potential of extruded chía flour, better than that of extruded blue maize flour, may be due to the difference in the type of phenolic compounds present in those flours.

Phenolic compounds (phenolic acids, flavonoids, tannins, stilbenes) inhibit the *in vitro* ACE activity. The degree of inhibition of the ACE activity depends on the absorption and metabolism of those compounds and their action mode related to the class (subclass) and the structure of the phenolic compound used (Al-Shukor *et al.*, 2013). Phenolic compounds present in extruded seed flours and obtained by the extrusion process at optimal conditions may be used as functional food supplements or natural medicines to treat hypertension.

The hypoglycaemic potential is defined as IC_{50} [the concentration (extract mg mL⁻¹) required to produce inhibition of 50% of the activity of α -amylase or α -glucosidase enzymes]. Extruded defatted chía flour showed better (lower IC_{50} value) hypoglycaemic potential (α -amylase, IC_{50} =3.98 mg/mL, α -glucosidase, IC_{50} =5.01 extract mg mL⁻¹) than extruded blue maize flour (α -amylase, IC_{50} =27.06 extract mg mL⁻¹, α -glucosidase, IC_{50} =19.02 extract mg mL⁻¹) (Table 2). The commercial *nixtamal* maize flour had potential hypoglycaemic (Blue MASECA®: α -amylase, IC_{50} =30.01 extract mg mL⁻¹, α -glucosidase, IC_{50} =21.03 extract mg mL⁻¹) slightly lower than extruded blue maize flour.

Este aumento en AoxA podría ser resultado de la liberación de compuestos fenólicos antioxidantes durante el proceso de extrusión, la prevención de la oxidación de los compuestos fenólicos en el producto extruido por inactivación enzimática durante el procesamiento y la presencia de productos de la reacción de Maillard (Félix-Medina *et al.*, 2020). En cuanto al TPC de la harina de maíz azul extruido para tortillas, no existe información en la literatura. Sin embargo, el contenido de estos compuestos estuvo dentro del intervalo reportado para maíz azul sin procesar (142-320 mg de GAE por 100 g de muestra DW) (Serna-Saldívar *et al.*, 2013, Mora-Rochín *et al.*, 2010). Mientras que el contenido de compuestos fenólicos totales en la harina de chía extruida fue similar al notificado por León-López *et al.*, (2019). Así mismo, el TPC aumentó ($p \leq 0.05$) durante la preparación de las harinas de semillas extruidas.

Los compuestos fenólicos ligados fueron la principal fracción responsable de la mejora del TPC (Cuadro 2). Este aumento del TPC puede ser responsable de la mejora de la AoxA de las harinas de semillas extruidas. El proceso de extrusión aumenta el contenido de compuestos fenólicos debido a la destrucción de las paredes celulares y la liberación de compuestos fenólicos. La formación de productos de la reacción de Maillard también se cuantificó como compuestos fenólicos (Félix-Medina *et al.*, 2020). Félix-Medina *et al.*, (2021) afirmaron que las condiciones del proceso de extrusión (humedad, temperatura, velocidad del tornillo) tienen un impacto crucial en los niveles de compuestos bioactivos (ácidos fenólicos, flavonoides) por liberación, degradación o composición.

Potencial antihipertensivo [inhibición de la enzima convertidora de angiotensina (ACE)] e hipoglucemiante [inhibición de la α -amilasa y la α -glucosidasa].

El potencial antihipertensivo se define como IC_{50} [la concentración (mg de extracto mL⁻¹) necesaria para producir una inhibición del 50% en la actividad de la ACE]. Los compuestos fenólicos extraídos de las harinas de maíz azul extruido y de chía desgrasada extruida presentaron un mejor (menor valor) de IC_{50} [0.51 y 0.38 mg de extracto mL⁻¹, respectivamente (Cuadro 2)] que las semillas sin procesar. La mejora en el valor IC_{50} durante el proceso de extrusión de las semillas de maíz azul y chía desgrasada pudo producirse por la liberación y formación de compuestos

These results suggest that extruded defatted chía flour is a great source of strong natural inhibitors for α -amylase and α -glucosidase enzymes. All the above information about the high antioxidant, antihypertensive and hypoglycaemic potential of extruded defatted chía flour may help with its effective utilization as a functional food ingredient for promoting health.

Nutritional, nutraceutical, technological, and sensory properties of tortillas made from extruded flours of blue maize and defatted chía

Chemical composition and nutritional properties

Tortillas made with the flour mixture from extruded blue maize and defatted chía had higher proteins (15.38 *vs* 10.11%, DW), lipids (6.01 *vs* 5.70%, DW), minerals (2.58 *vs* 1.68%, DW), total dietary fibre (21.57 *vs* 10.84%, DW), soluble dietary fibre (3.54 *vs* 1.75%, DW), and insoluble dietary fibre (18.03 *vs* 9.09%, DW) than tortillas prepared with 100% extruded blue maize flour. Tortillas from Blue MASECA® had 8.09, 2.35, 1.53, 8.75, 0.83, and 7.92%, DW, for proteins, lipids, minerals, and total, soluble and insoluble dietary fibre.

Adding extruded chía flour to tortillas also improved lysine (4.10 *vs* 3.69 g per 100g protein) and tryptophan (0.86 *vs* 0.59 g per 100g protein) compared to tortillas of 100% extruded blue maize flour (Table 3); maize is deficient in these essential amino acids. Furthermore, the tortillas with extruded chía flour addition had higher IVPD (84.01 *vs* 77.01%) and C-PER (2.11 *vs* 1.66) in comparison with tortillas produced with 100% extruded blue maize flour. Tortillas from Blue MASECA® had the lowest values of lysine (2.98 g per 100g protein), tryptophan (0.52 g per 100g protein), IVPD (75.82%), and C-PER (1.14) (Table 3). The Academy of Nutrition and Dietetics (AND) recommend increasing consumption of whole grains, legumes, nuts, and fruits and vegetables. Dietary fibre is associated with a risk reduction of type 2 diabetes, cardiovascular disease, and select cancer types (Dahl and Stewart, 2015).

Rendón-Villalobos *et al.* (2012) evaluated the effects of chía powder supplementation on the physicochemical, sensory characteristics and starch digestibility in tortillas. They used composite flours containing 5, 10, 15, and 20% of chía seed flour

bioactivos (compuestos fenólicos y productos de la reacción de Maillard) con potencial antihipertensivo (León-López *et al.*, 2019). El potencial inhibitor de la ACE de la harina de chía extruida, mejor que el de la harina de maíz azul extruido puede deberse a la diferencia en el tipo de compuestos fenólicos presentes en estas harinas.

Los compuestos fenólicos (ácidos fenólicos, flavonoides, taninos, estilbenos) inhiben la actividad de la ACE *in vitro*. El grado de inhibición de la actividad de la ACE depende de la absorción y el metabolismo de estos compuestos y su modo de acción relacionado con la clase (subclase) y la estructura del compuesto fenólico utilizado (Al-Shukor *et al.*, 2013). Los compuestos fenólicos presentes en las harinas de semillas extruidas obtenidos a través del proceso de extrusión en condiciones óptimas se pueden usar como complementos alimenticios funcionales o medicamentos naturales para tratar la hipertensión.

El potencial hipoglucemiante se define como IC₅₀ [la concentración (mg de extracto mL⁻¹) necesaria para producir la inhibición del 50% de la actividad de las enzimas α -amilasa o α -glucosidasa]. La harina de chía desgrasada extruida mostró un mejor potencial hipoglucemiante (α -amilasa, IC₅₀=3.98 mg de extracto mL⁻¹, α -glucosidasa, IC₅₀=5.01 mg de extracto mL⁻¹) que la harina de maíz azul extruido (α -amilasa, IC₅₀= 27.06 mg de extracto mL⁻¹, α -glucosidasa, IC₅₀=19.02 mg de extracto mL⁻¹) (Cuadro 2). La harina comercial de maíz nixtamalizado tuvo un potencial hipoglucemiante (MASECA® azul: α -amilasa, IC₅₀=30.01 mg de extracto mL⁻¹, α -glucosidasa, IC₅₀=21.03 mg de extracto mL⁻¹) ligeramente inferior al de la harina de maíz azul extruido.

Estos resultados sugieren que la harina de chía desgrasada extruida es una gran fuente de inhibidores naturales de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa. Toda la información anterior sobre el alto potencial antioxidante, antihipertensivo e hipoglucemiante de la harina de chía desgrasada extruida puede ayudar a su uso efectivo como ingrediente alimentario funcional para promover la salud.

Propiedades nutricionales, nutraceuticas, tecnologicas y sensoriales de las tortillas elaboradas con harinas extruidas de maíz azul y de chía desgrasada

Composición química y propiedades nutricionales

Las tortillas elaboradas con la mezcla de harinas extruidas de maíz azul y chía desgrasada tenían más

Table 3. Nutritional properties of tortillas from commercial nixtamal blue maize flour, extruded native blue maize flour, and mixture of extruded blue maize and defatted chia flours.**Cuadro 3. Propiedades nutricionales de las tortillas elaboradas con harina de maíz azul nixtamalizada comercial (MASECA® azul), harina extruida de maíz azul nativo y mezcla de harinas extruidas de maíz azul y chía desgrasada.**

Property	Blue MASECA™	Extruded blue maize flour	Extruded blue maize flour + extruded chia flour†	FAO‡
EAA§ (g per 100g protein)				
His	2.69±0.02c	3.17±0.04a	2.94±0.04b	1.60
Ile	2.85±0.03a	2.74±0.03b	2.89±0.08a	3.00
Leu	12.59±0.20a	7.79±0.17b	7.63±0.13b	6.10
Lys	2.98±0.04c	3.69±0.05b	4.10±0.08a	4.80
Met+Cys	3.48±0.11b	3.59±0.13b	4.83±0.12a	2.30
Phe+Tyr	7.63±0.10b	8.77±0.14a	6.17±0.13c	4.10
Thr	2.75±0.06b	2.70±0.07b	2.87±0.07a	2.50
Trp	0.52±0.03c	0.59±0.02b	0.86±0.03a	0.66
Val	5.41±0.12b	5.53±0.10b	5.41±0.14b	4.00
Total	40.90	38.57	37.70	29.06
Chemical score	0.62	0.76	0.85	
Limitant EAA	Lys	Lys	Lys	
IVPD (%)	75.82±1.16c	77.01±1.30b	84.01±1.42a	
C-PER ^b	1.14±0.05c	1.66±0.06b	2.11±0.05a	

^{ab} Means with different letter in the same row are statistically different (Tukey, $p \leq 0.05$); [†]FTOA elaborated with the mixture [75% ECBMF + 25% EDCF (extruded defatted chia flour)]; [‡]Essential amino acids requirements for children (3y and older), and adults according to FAO (2013); [§]EAA = Essential amino acid; [¶]C-PER=Calculated protein efficiency ratio. ♦ ^{ab} Letras diferentes por fila indican diferencia estadística (Tukey, $p \leq 0.05$); [†]FTOA elaborado con la mezcla [75% ECBMF + 25% EDCF (harina de chía desgrasada extruida)]; [‡]Requerimientos de aminoácidos esenciales para niños (a partir de 3 años) y adultos de acuerdo con FAO (2013); [§]EAA = aminoácidos esenciales; [¶]C-PER= relación de eficiencia proteínica calculada.

and maize, since chía seeds generally contain more proteins than cereals. In agreement with this research, those authors reported that nutritionally, all chía tortillas had higher ($p \leq 0.05$) levels of protein, lipids, and total dietary fibre than the control. They also observed that reduced enzymatic starch hydrolysis rate, and predicted glycaemic index recorded in tortilla supplemented with chía seed, indicated slow digestion features. In the end, they stated that due to increased total dietary fibre, lower digestion, and predicted glycaemic index values, tortilla supplemented with chía seed can be considered a nutraceutical food.

Unlike Rendón-Villalobos *et al.* (2012), in this research it was decided to process chía by alkaline extrusion (adding 0.21% lime during extrusion processing) to produce chía flour lime-cooked by extrusion. Alkaline extrusion cooking is a continuous process that uses a combination of high temperature, pressure and high-shear in a short period of time,

proteínas (15.38 *vs* 10.11%, DW), lípidos (6.01 *vs* 5.70%, DW), minerales (2.58 *vs* 1.68%, DW), fibra dietética total (21.57 *vs* 10.84%, DW), fibra dietética soluble (3.54 *vs* 1.75%, DW) y fibra dietética insoluble (18.03 *vs* 9.09%, DW) que las tortillas elaboradas con 100% harina de maíz azul extruido. Las tortillas elaboradas con MASECA® azul tuvieron 8.09, 2.35, 1.53, 8.75, 0.83, y 7.92%, DW, de proteínas, lípidos, minerales, y fibra dietética total, soluble e insoluble.

La adición de harina de chía extruida a las tortillas también mejoró la lisina (4.10 *vs* 3.69 g por 100 g de proteína) y el triptófano (0.86 *vs* 0.59 g por 100 g de proteína) respecto a las tortillas de harina de maíz azul extruido al 100% (Cuadro 3); estos aminoácidos esenciales son deficientes en el maíz. Además, las tortillas con adición de harina de chía extruida tuvieron IVPD mayor (84.01 *vs* 77.01%) y C-PER (2.11 *vs* 1.66) en comparación con las tortillas producidas con harina de maíz azul extruido al 100%. Las tortillas

which causes many beneficial biochemical changes compared to raw seeds (Reyes-Moreno *et al.*, 2018).

Those changes mainly are protein denaturation improving protein bioavailability; starch gelatinization which improves physicochemical and techno-functional properties; retrogradation of gelatinized starch, increasing resistant starch content; lipid modification by interaction with starch, which improves formation of resistant starch; microorganism and enzyme inactivation increasing shelf life; reduction of antinutritional compounds, enhancing bioavailability of proteins and minerals; formation of volatile flavour components which improves acceptance; and increased dietary fibre and resistant starch making greater beneficial effects on health.

During extrusion there is a high retention of nutrients and bioactive compounds (Reyes-Moreno *et al.*, 2018). Due to all the positive effects of extrusion, extruded products have a high microbiological, nutritional and nutraceutical quality. In addition, using lime during maize and chía extrusion improves calcium content of the extruded product, as well as the alkaline flavour characteristic of *nixtamal* products such as tortillas.

Antioxidant activity and antihypertensive potential

Tortillas from flour mixture of extruded blue maize and defatted chía had higher antioxidant activity (ORAC: 18006 *vs.* 15531 TE mmol per 100 g sample, DW), and better antihypertensive (0.47 *vs.* 0.65 extract mg mL⁻¹) potential than tortillas from 100% extruded blue maize flour due to concentration effect by the addition of extruded chía defatted flour that has higher antioxidant activity and phenolic compounds content (Table 4). Tortillas from Blue MASECA® showed AoxA (ORAC)=12129 TE μmol per 100 g sample DW, and antihypertensive potential of IC₅₀=2.22 extract mg mL⁻¹ (Table 4). The addition of extruded chía defatted flour to tortillas of extruded blue maize flour improved the nutraceutical properties in those tortillas.

Sánchez-Madrigal *et al.* (2014) developed tortilla chips with high antioxidants from extruded and lime-cooked blue maize flours prepared with different sources of calcium. They reported that tortillas made by extrusion had higher AoxA and TPC than tortillas

de MASECA® azul tuvieron los valores más bajos de lisina (2.98 g por 100g de proteína), triptófano (0.52 g por 100g de proteína), IVPD (75.82%) y C-PER (1.14) (Cuadro 3). La Academia de Nutrición y Dietética (AND) recomienda aumentar el consumo de cereales integrales, leguminosas, frutos secos y frutas y verduras. La fibra dietética se asocia con una reducción del riesgo de diabetes tipo 2, enfermedades cardiovasculares y determinados tipos de cáncer (Dahl y Stewart, 2015).

Rendón-Villalobos *et al.* (2012) evaluaron los efectos de la suplementación con harina de chía sobre las características fisicoquímicas y sensoriales de las tortillas y la digestibilidad del almidón; utilizaron harinas compuestas que contenían 5, 10, 15 y 20% de harina de semillas de chía y harina de maíz, ya que las semillas de chía en general contienen más proteínas que los cereales. En concordancia con esta investigación, aquellos autores señalaron que, en el aspecto nutricional, todas las tortillas con chía tenían niveles más altos ($p \leq 0.05$) de proteína, lípidos y fibra dietética total que el control. Además, observaron que la reducción en la tasa de hidrólisis enzimática del almidón, y el índice glucémico previsto que se registraron en tortilla adicionada con semillas de chía, indicaba características de digestión lenta. Por último señalaron que debido al aumento de la fibra dietética total, a la digestión menor y a los valores estimados de índice glucémico, la tortilla adicionada con semillas de chía se puede considerar un alimento nutracéutico.

A diferencia de Rendón-Villalobos *et al.* (2012), en esta investigación decidimos procesar la chía por extrusión alcalina (con adición de 0.21% de cal durante el proceso de extrusión) para producir harina de chía cocida por extrusión alcalina. La cocción por extrusión alcalina es un proceso continuo que utiliza una combinación de temperatura alta, presión y cizallamiento en un período de tiempo corto, lo cual causa muchos cambios bioquímicos benéficos respecto a las semillas crudas (Reyes-Moreno *et al.*, 2018).

Los cambios principales son desnaturalización de las proteínas lo cual mejora la biodisponibilidad; gelatinización del almidón, lo cual mejora propiedades fisicoquímicas y tecno funcionales; retrogradación del almidón gelatinizado para aumentar contenido de almidón resistente; modificación de los lípidos, cuya interacción con el almidón mejora la formación de almidón resistente; inactivación de microorganismos y enzimas con aumento de su vida útil;

Table 4. Nutraceutical, sensory, and technological properties of tortillas from commercial *nixtamal* blue maize flour (Blue MASECA™), extruded native blue maize flour, and mixture of extruded flours of blue maize and defatted chia.**Cuadro 4. Propiedades nutraceuticas, sensoriales y tecnologicas de las tortillas de harina de maíz azul nixtamalizada comercial (MASECA® azul); de harina extruida de maíz azul nativo y de la mezcla de harinas extruidas de maíz azul y chíá desgrasada.**

Property	Blue MASECA™	Extruded blue maize flour	Extruded blue maize flour + extruded chia flour†
Nutraceutical			
AoxA [‡] (ORAC)	12129±611c	15531±578b	18006±704a
Antihypertensive potential			
ACE inhibition (IC ₅₀) [§]	2.22±0.11a	0.65±0.02b	0.47±0.02c
Hypoglycemic potential			
α -amylase inhibition (IC ₅₀) [§]	29.09±1.38a	25.81±1.02b	20.07±0.74c
α -glucosidase inhibition (IC ₅₀) [§]	21.34±0.93a	19.57±1.01b	16.25±0.83c
Sensory/Technological			
Global acceptability [¶]	8.43±1.68a	8.25±1.49a	8.34±1.23a
Color	8.41 ± 0.31a	8.15 ± 0.25b	7.22 ± 0.58b
Flavor	8.50 ± 0.25a	8.22 ± 0.44b	7.60 ± 0.87b
Texture	8.41 ± 0.35a	8.21 ± 0.23a	7.71 ± 0.88b
Puffing	2.92±0.28a	2.96±0.21a	3.00±0.00a
Rollability	2.00±0.00a	2.08±0.28a	1.08±0.28b

^{ab} Means with different letter in the same row are statistically different (Tukey, $p \leq 0.05$); [‡]75% extruded blue maize flour + 25% extruded defatted chia flour; [‡]Trolox equivalents, TE μmol per 100 g DW sample; [§]extract mg mL⁻¹; [¶]Degree of liking or disliking using a 9-category hedonic scale (1 = extremely disliking to 9 = extremely liking). \diamond ^{ab} Letras diferentes por fila indican diferencia estadística (Tukey, $p \leq 0.05$); [‡]75% de harina de maíz azul extruido + 25% de harina de chíá desgrasada extruida; [§] μmol equivalentes de Trolox, TE, por 100 g de muestra, DW; [¶]mg de extracto mL⁻¹; [¶]Grado de agrado o desagradado mediante una escala hedónica de 9 categorías (1 = extremadamente desagradable a 9 = extremadamente agradable).

prepared by lime-cooking. Those authors attributed the observed phenomenon to the short-time thermal extrusion that minimized the damage of phenolic compounds in the flour and caused destruction of the cell walls, releasing phenolic compounds from their native matrix. Whereas the lime-cooking process caused physical loss of the pericarp and leached phenolics into the cooking liquor, resulting in lower phenolic content in *nixtamal* flour; a controlled extrusion-cooking technology may be used to develop foods with functional potential. As it would allow the retention or increase of phenolic compounds related to antioxidant activity in a higher proportion than traditional *nixtamal* lime-cooking (Mora-Rochín *et al.*, 2010).

León-López *et al.* (2019) reported that tortillas from a mixture of commercial *nixtamal* white maize flour (MASECA®) and extruded defatted chia flour had higher AoxA (12499 *vs.* 5985 TE μmol per 100 g, DW) and better antihypertensive potential (IC₅₀=0.67 extract mg mL⁻¹) than MASECA® tortillas,

reducción de compuestos anti-nutricionales, lo cual mejora la biodisponibilidad de proteínas y minerales; formación de componentes volátiles de sabor que mejora aceptación; y aumento de la fibra dietética y el almidón resistente, con efectos benéficos mayores sobre la salud.

Durante la extrusión se produce gran retención de nutrimentos y compuestos bioactivos (Reyes-Moreno *et al.*, 2018). Debido a todos los efectos positivos de la extrusión, los productos extruidos tienen una calidad microbiológica, nutricional y nutraceutica alta. Además, el uso de cal durante la extrusión de maíz y chíá mejora el contenido de calcio del producto extruido, así como el sabor alcalino característico de los productos *nixtamalizados*.

Actividad antioxidante y potencial antihipertensivo

Las tortillas procedentes de la mezcla de harinas extruidas de maíz azul y chíá desgrasada presentaron

in them AoxA was not detected. They concluded that the addition of chía to maize flour improved nutraceutical properties of the maize tortilla; and reported that extruded defatted chía flour had high nutraceutical potential due to a high antioxidant and antihypertensive value. As the extruded chía flour was processed from unextruded but defatted chía flour, they reported as well that the releasing and composition of bioactive compounds (phenolic compounds and Maillard reaction products) with antioxidant and antihypertensive potential could occur during extrusion.

Phenolic compounds (phenolic acids, flavonoids, tannins, stilbenes) can inhibit the *in vitro* ACE activity (Al-Shukor *et al.*, 2013). In literature there are reported some hypotheses on the mechanisms of inhibition of phenolic compounds on ACE: competitive inhibition, by the structure of phenols that alter their function by agglutination; non-competitive inhibition, both substrate and inhibitor bind to the enzyme simultaneously and reversibly; metal sequestration, ACE is a Zn^{2+} -dependent metalloproteinase and phenolic compounds can chelate non-specific metals exhibiting an ACE inhibitory effect; the interactions between phenols and the disulphide bridges (oxidized cysteines) that reside on the surface of the ACE, causing slight modifications in the structure of the ACE (Al-Shukor *et al.*, 2013).

Hypoglycaemic potential

α -amylase inhibition. In recent years, natural sources of α -amylase inhibitors have received much interest due to the search for an alternative to synthetic enzyme inhibitors such as acarbose, metformin, and orlistat, which have been found to exhibit adverse effects, mild efficacy and can cause gastrointestinal distress as a side effect (Oyedemi *et al.*, 2017). Certain plant phenolics can partially inhibit the activity of α -amylase enzyme and hence demonstrated therapeutic benefits such as hypoglycaemic effect and are therefore useful in the dietary management of Type II diabetes (Kazeem *et al.*, 2013; Oyedemi *et al.*, 2017).

Tortillas of extruded blue maize flour with addition of extruded defatted chía flour had an α -amylase inhibition better than tortillas from 100% extruded blue maize flour (IC_{50} =20.07 *vs.* 25.81 extract mg

una actividad antioxidante mayor (ORAC: 18006 *vs.* 15531 μ mol TE por 100 g de muestra, DW), y un potencial antihipertensivo mejor (0.47 *vs.* 0.65 mg de extracto mL^{-1}) que las tortillas procedentes de harina de maíz azul extruido al 100%, debido al efecto de concentración por adición de harina de chía desgrasada extruida que tiene mayor actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos (Cuadro 4). Las tortillas de MASECA® azul mostraron AoxA (ORAC)=12129 μ mol TE por 100 g de muestra DW, y un potencial antihipertensivo de IC_{50} =2.22 mg de extracto mL^{-1} (Cuadro 4). La adición de harina de chía desgrasada extruida a tortillas de harina de maíz azul extruido mejoró las propiedades nutraceuticas en dichas tortillas.

Sánchez-Madrugal *et al.* (2014) desarrollaron totopos con contenido de antioxidantes alto a partir de harinas de maíz azul extruido y cocido con cal, preparadas con fuentes de calcio diferentes. Esos autores indicaron que las tortillas elaboradas por extrusión tenían AoxA y TPC mayor que las tortillas elaboradas por cocción con cal y atribuyeron el fenómeno observado a la extrusión térmica de duración corta que minimizó el daño de los compuestos fenólicos de la harina y provocó la destrucción de las paredes celulares y liberó los compuestos fenólicos de su matriz nativa. Mientras que, el proceso de cocción con cal provocó la pérdida física del pericarpio y la lixiviación de los fenoles en el licor de cocción y redujo el contenido fenólico en la harina de nixtamal; la tecnología de cocción por extrusión controlada puede utilizarse para desarrollar alimentos con potencial funcional. Ya que permitiría retener o aumentar los compuestos fenólicos relacionados con la actividad antioxidante en proporción mayor que la cocción tradicional del nixtamal con cal (Mora-Rochín *et al.*, 2010).

León-López *et al.* (2019) encontraron que las tortillas de una mezcla de harina comercial de nixtamal de maíz blanco (MASECA®) y harina de chía desgrasada extruida tenían AoxA (12499 *vs.* 5985 μ mol TE por 100 g, DW) mayor y potencial antihipertensivo mejor (IC_{50} =0.67 mg de extracto mL^{-1}) que las tortillas MASECA® en las cuales no se detectó AoxA. Entonces concluyeron que la adición de chía a la harina de maíz mejoraba las propiedades nutraceuticas de la tortilla de maíz; e informaron que la harina de chía desgrasada extruida tenía un potencial nutraceutico alto debido a valores altos antioxidante y antihipertensivo. Como a partir de la harina de chía

mL⁻¹) (Table 4). The addition of chía to maize flour improves the hypoglycaemic potential of the maize tortilla. The high hypoglycaemic potential of extruded defatted chía flour may be due to the high α -amylase inhibition value of unprocessed defatted chía flour from extruded flour was obtained. As well as the releasing phenolic compounds and forming Maillard reaction products with hypoglycaemic potential by extrusion processing. Phenolic compounds can bind to reactive sites of the α -amylase enzyme and alter its catalytic effects (Kazeem *et al.*, 2013; Oyedemi *et al.*, 2017).

α -glucosidase inhibition. The effective management of diabetes mellitus, especially non-insulin-dependent Type II diabetes, involves preventing the excessive rise of the blood glucose level by inhibiting the digestive starch enzymes. The α -glucosidase, which is a membrane-bound enzyme located in the epithelium of the small intestines, catalyses the cleavage of glucose from disaccharides for subsequent absorption. Earlier studies reported that the retardation of the α -glucosidase enzyme by inhibitors would be one of the most effective ways to control Type II diabetes (Kazeem *et al.*, 2013).

Tortillas from flour mixture of extruded blue maize and defatted chía had better α -glucosidase inhibition than tortillas from 100% extruded blue maize flour (IC_{50} =16.25 *vs.* 19.69 extract mg mL⁻¹) (Table 4). The addition of chía to maize flour improved the hypoglycaemic properties of the maize tortilla. The phenolic compounds present in extruded defatted chía would be mainly responsible for the increased α -glucosidase enzyme inhibitory potential of those tortillas. Proença *et al.* (2017) reported strong inhibition of α -glucosidase by phenolic compounds such as flavonoids. α -glucosidase inhibitors are one of the effective classes of antidiabetic therapeutics capable of ameliorating hyper-glycemia especially postprandial hyperglycaemia over α -amylase inhibitors.

Bhatia *et al.* (2019) reported that α -glucosidase inhibition occurs by a competitive type of inhibition, docked into the binding site of the protein. Also, the hypoglycaemic effect would be related to non-covalent interactions between polyphenols and enzymes. This interaction may happen due to hydroxyl and galloyl groups present in the molecular structure of polyphenols. Thus, making phenolics

desgrasada sin procesar se preparó la harina extruida, esos autores indicaron también que la liberación y los cambios en la composición de compuestos bioactivos (compuestos fenólicos y productos de la reacción de Maillard) con potencial antioxidante y antihipertensivo pudo ocurrir durante la extrusión.

Los compuestos fenólicos (ácidos fenólicos, flavonoides, taninos, estilbenos) pueden inhibir la actividad de la ACE *in vitro* (Al-Shukor *et al.*, 2013). En la literatura, se consignan algunas hipótesis acerca de mecanismos de inhibición de los compuestos fenólicos sobre la ACE: inhibición competitiva, por la estructura de los fenoles que alteran su función por aglutinación; inhibición no competitiva, tanto el sustrato como el inhibidor se unen a la enzima de forma simultánea y reversible; secuestro de metales, la ACE es una metaloproteinasa dependiente de Zn²⁺ y los compuestos fenólicos pueden quelar metales no específicos y mostrar un efecto inhibidor de la ACE; las interacciones entre los fenoles y los puentes disulfuro (cisteínas oxidadas) que residen en la superficie de la ACE, lo cual provocó modificaciones ligeras en la estructura de la ACE (Al-Shukor *et al.*, 2013).

Potencial hipoglucemiante

Inhibición de la α -amilasa. En años recientes, las fuentes naturales de inhibidores de la α -amilasa han recibido mucho interés debido a la búsqueda de una alternativa a los inhibidores sintéticos de la enzima, como la acarbosa, la metformina y la tetrahidro-lipostatina, que se ha descubierto que presentan efectos adversos, una eficacia leve y pueden causar malestar gastrointestinal como efecto secundario (Oyedemi *et al.*, 2017). Ciertos fenólicos de plantas pueden inhibir parcialmente la actividad de la enzima α -amilasa y por lo tanto han demostrado beneficios terapéuticos como el efecto hipoglucemiante; de manera que son útiles en la gestión dietética de la diabetes tipo II (Kazeem *et al.*, 2013; Oyedemi *et al.*, 2017).

Las tortillas de harina de maíz azul extruido con adición de harina de chía desgrasada extruida tuvieron una inhibición de la α -amilasa mejor que las tortillas de harina de maíz azul extruido al 100% (IC_{50} =20.07 *vs.* 25.81 mg de extracto mL⁻¹) (Cuadro 4). La adición de chía a la harina de maíz mejora el potencial hipoglucemiante de la tortilla de maíz. El potencial hipoglucemiante alto de la harina de chía desgrasada extruida puede deberse al valor alto de inhibición de

capable of forming hydrogen bonds with the polar groups of enzymes. Also, enzymes included hydrophobic amino acids and galloyl groups which show hydrophobicity in polyphenols, making possible that polyphenols bind to enzymes through hydrophobic association. The galloyl group can play an important role in interacting with α -amylase and α -glucosidase; its position in the molecules affecting the efficiency of those enzymes (Ali-Asgar, 2012).

CONCLUSIONS

Extruded defatted chía flour added to dough of extruded native blue maize flour enhanced tortillas improving nutritional, antioxidant, antihypertensive, and hypoglycaemic potential and they were still sensorially acceptable. Tortillas added with extruded defatted chía flour had higher values of protein, dietary fibre, *in vitro* protein digestibility, and calculated protein efficiency ratio.

Alkaline extrusion generated flours of native blue maize and defatted chía seeds with improved nutraceutical y nutritional characteristics compared to the traditional product. Thus, enhanced tortillas are an advisable option for the nutrition of older adults.

In the alkaline extrusion process a small volume of water was used that did not generate polluting effluents. This product may become a valuable staple, useful against malnutrition and chronic degenerative diseases in Mexico.

ACKNOWLEDGMENTS

To the Mexican Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), Convocatoria 2019 - Ciencia de Frontera (Grupal) for the funds supporting this research (ID Number: 263352). To Programa de Fomento y Apoyo a Proyectos de Investigación (PROFAPI) under the Universidad Autónoma de Sinaloa, for supplementary funds.

LITERATURE CITED

- Al-Shukor, N., J., Van-Camp, G.B. González, D. Staljanssens, K. Struijs, M.J. Zotti, K. Raes, and G. Smagghe. 2013. Angiotensin-converting enzyme inhibitory effects by plant phenolic compounds: a study of structure-activity relationships. *J. Agr. Food Chem.* 61:11832–11839.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2012. Methods: 925.09B, 920.39 C, 960.52, and 985.29. Latimer Jr., G.W. (ed). *Official Methods of Analysis of*

la α -amilasa de la harina de chía desgrasada sin procesar a partir de la cual se obtuvo la harina extruida. Así como, a la liberación de compuestos fenólicos y la formación de productos de reacción de Maillard con potencial hipoglucemiante por el procesamiento de extrusión. Los compuestos fenólicos pueden unirse a sitios reactivos de la enzima α -amilasa y alterar sus efectos catalíticos (Kazeem *et al.*, 2013; Oyedemi *et al.*, 2017).

Inhibición de la α -glucosidasa. El tratamiento eficaz de la diabetes mellitus, en especial de la diabetes no insulino dependiente tipo II, consiste en prevenir el aumento excesivo del nivel de glucosa en sangre por medio de la inhibición de las enzimas digestivas del almidón. La α -glucosidasa, la cual es una enzima unida a la membrana y localizada en el epitelio del intestino delgado, cataliza la separación de la glucosa de los disacáridos para su posterior absorción. Estudios previos informaron que el retraso de la actividad de la enzima α -glucosidasa por inhibidores sería una de las formas más eficaces de controlar la diabetes tipo II (Kazeem *et al.*, 2013).

Las tortillas de la mezcla de harinas extruidas de maíz azul y chía desgrasada tuvieron una mejor inhibición de la α -glucosidasa que las tortillas de harina de maíz azul extruido al 100% (IC_{50} =16.25 vs. 19.69 mg de extracto mL^{-1}) (Cuadro 4). La adición de chía a la harina de maíz mejoró las propiedades hipoglucemiantes de la tortilla de maíz. La presencia de los compuestos fenólicos en la chía desgrasada extruida pudo ser la causa principal del mayor potencial inhibidor de la enzima α -glucosidasa de esas tortillas. Proença *et al.* (2017) informaron sobre la inhibición fuerte de la α -glucosidasa por compuestos fenólicos como los flavonoides. Los inhibidores de la α -glucosidasa son una de las clases eficaces de terapéutica antidiabética capaces de mejorar la hiperglucemia; en especial la hiperglucemia postprandial por encima de los inhibidores de la α -amilasa.

Bhatia *et al.* (2019) informaron que la inhibición de la α -glucosidasa se produce por un tipo de inhibición competitiva, acoplada al sitio de unión de la proteína. Además, el efecto hipoglucémico estaría relacionado con las interacciones no covalentes entre los polifenoles y las enzimas. Esta interacción puede producirse debido a los grupos hidroxilo y galóilo presentes en la estructura molecular de los polifenoles. De este modo, los fenoles son capaces de formar enlaces de hidrógeno con los grupos polares de las enzimas.

- the Association of Official Analytical Chemists. AOAC INTERNATIONAL. 19th Ed. Gaithersburg, MD, USA. 2 vols. + ills. ISBN: 0935584838 / 9780935584837.
- Bhatia, A., B. Singh, R. Arora, and S. Arora. 2019. *In vitro* evaluation of the α -glucosidase inhibitory potential of methanolic extracts of traditionally used antidiabetic plants. *BMC Complement Altern. Med.* 19: 74.
- Dahl, W.J., and M.L. Stewart. 2015. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Health implications of dietary fibre. *J. Acad. Nutr. Diet.* 115:1861-1870.
- FAO (United Nations Food and Agriculture Organization). 2013. Dietary Protein Quality Evaluation in Human Nutrition: Report of an FAO Expert Consultation. FAO Food and Nutrition Paper 92. FAO. Rome, Italy. 66 p.
- Félix-Medina, J.V., J. Montes-Ávila, C. Reyes-Moreno, J. X. K. Perales-Sánchez, M.A. Gómez-Favela, E. Aguilar-Palazuelos, and R. Gutiérrez-Dorado. 2020. Second-generation snacks with high nutritional and antioxidant value produced by an optimized extrusion process from corn/common bean flours mixtures. *LWT – Food Sci. Technol.* 124:109172.
- Félix-Medina, J.V., R. Gutiérrez-Dorado, J.A. López-Valenzuela, G. López-Ángulo, M.F. Quintero-Soto, J.X.K. Perales-Sánchez, and J. Montes-Ávila. 2021. Nutritional, antioxidant and phytochemical characterization of healthy ready-to-eat expanded snack produced from maize/common bean mixture by extrusion. *LWT – Food Sci. Technol.* 142:111053.
- Hida, T., A. Harada, S. Imagama, and N. Ishiguro. 2014. Managing sarcopenia and its related-fractures to improve quality of life in geriatric populations. *Aging. Dis.* 5:226-237.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). 2019. Comunicado de Prensa Núm. 475/19. 30- sep-2019. 9 p. https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2019/edad2019_Nal.pdf (Retrieved: March 2021).
- Kazeem, M.I., J.O. Adamson, and I.A. Ogunwande. 2013. Modes of inhibition of α -amylase and α -glucosidase by aqueous extract of *Morinda lucida* Benth leaf. *Biomed Res. Int.* Article ID 527570. 6 p.
- León-López, L., C. Reyes-Moreno, A.H. Ley-Osuna, J.X.K. Perales-Sánchez, J. Milán-Carrillo, E.O. Cuevas-Rodríguez, and R. Gutiérrez-Dorado. 2019. Improvement of nutritional and nutraceutical value of nixtamalized maize tortillas by addition of extruded chia flour. *Biocencia XXI* 3: 56-66.
- Milán-Carrillo, J., R. Gutiérrez-Dorado, J.X.K. Perales-Sánchez, E.O. Cuevas-Rodríguez, B. Ramírez-Wong, and C. Reyes-Moreno. 2006. The optimization of the extrusion process when using maize flour with a modified amino acid profile for making tortillas. *Int. J. Food Sci.* 41:727-736.
- Mora-Rochín, S., J.A. Gutiérrez-Urbe, S.O. Serna-Saldívar, P. Sánchez-Peña, C. Reyes-Moreno, and J. Milán-Carrillo. 2010. Phenolic content and antioxidant activity of tortillas produced from pigmented maize processed by conventional nixtamalization or extrusion cooking. *J. Cereal Sci.* 52:502-508.
- Orona-Tamayo, D., M.E. Valverde, and O. Paredes-López. 2016. Chia - The New Golden Seed for the 21st Century: Nutraceutical Properties and Technological Uses. *In: Nadathyr, S. (ed.) Sustainable Protein Sources.* Elsevier. Amsterdam, The Netherlands. pp: 265-281.
- Además, las enzimas incluyen aminoácidos hidrofóbicos y grupos galoílo que muestran hidrofobicidad en los polifenoles y logran que los polifenoles se unan a las enzimas por medio de una asociación hidrofóbica. El grupo galoílo puede desempeñar un papel importante en la interacción con la α -amilasa y la α -glucosidasa; su posición en las moléculas afecta a la eficacia de dichas enzimas (Ali-Asgar, 2012).

CONCLUSIONES

La harina de chía desgrasada extruida añadida a la masa de harina de maíz azul criollo extruido mejoró el potencial nutricional, antioxidante, antihipertensivo e hipoglucemiante de las tortillas, y conservaron su aceptabilidad sensorial. Las tortillas a las cuales se añadió harina de chía desgrasada extruida tuvieron valores más altos de proteína, fibra dietética, digestibilidad proteínica *in vitro*, y relación de eficiencia proteínica calculada.

La extrusión alcalina generó harinas de maíz azul criollo y de semillas de chía desgrasadas con características nutraceuticas y nutricionales mejoradas respecto al producto tradicional. Por lo tanto, las tortillas mejoradas son una opción aconsejable para la nutrición de los adultos mayores.

En el proceso de extrusión alcalina se utilizó un volumen de agua pequeño que no generó efluentes contaminantes. Este producto se puede convertir en un valioso alimento básico, útil contra la desnutrición y las enfermedades crónicas degenerativas en México.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), Convocatoria 2019 - Ciencia de Frontera (Grupal) por los fondos que apoyaron esta investigación (Número de ID: 263352). Al Programa de Fomento y Apoyo a Proyectos de Investigación (PROFAPI) de la Universidad Autónoma de Sinaloa, por los fondos complementarios.

—End of the English version—

---*---

- Oyedemi S.O., B.O. Oyedemi, I.I. Ijeh, P.E. Ohanyerem, R.M. Coopoosamy, and O.A. Aiyegoro. 2017. Alpha-amylase inhibition and antioxidative capacity of some antidiabetic plants used by the traditional healers in Southeastern Nigeria. *Sci. World J.* article ID 3592491.
- Prince, M.J., F. Wu, Y. Guo, L.M. Gutiérrez-Robledo, M. O'Donnell, R. Sullivan, and S. Yusuf. 2015. The burden of disease in older people and implications for health policy and practice. *Lancet* 385:549–562.
- Proença, C., M. Freitas, D. Ribeiro, E.F.T. Oliveira, J.L.C. Sousa, S.M. Tomé, M.J. Ramos, A.M.S. Silva, P.A. Fernandes, and E. Fernandes. 2017. α -Glucosidase inhibition by flavonoids: an *in vitro* and *in silico* structure–activity relationship study. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 32: 1216–1228.
- Rathod, R.P., and U.S. Annature. 2016. Effect of extrusion process on antinutritional factors and protein and starch digestibility of lentil splits. *LWT - Food Sci. Technol.* 66:114-123.
- Rendón-Villalobos, R., A. Ortiz-Sánchez, J. Solorza-Feria, and C.A. Trujillo-Hernández. 2012. Formulation, physicochemical, nutritional, and sensorial evaluation of corn tortillas supplemented with chía seed (*Salvia hispanica* L.). *Czech J. Food Sci.* 30:118–125.
- Reyes-Moreno, C., P.C. Reyes-Fernández, E.O. Cuevas-Rodríguez, J. Milán-Carrillo, and S. Mora-Rochín. 2018. Changes in nutritional properties and bioactive compounds in cereals during extrusion cooking. *In: Zahid-Qamar, S.* (ed.) *Extrusion of Metals, Polymers, and Food Products*. London, UK. IntechOpen, pp. 103-124. DOI: 10.5772/intechopen.68753.
- Sánchez-Madrigal, M.A., A. Quintero-Ramos, F. Martínez-Bustos, C.O. Meléndez-Pizarro, M.G. Ruiz-Gutiérrez. 2014. Effect of different calcium sources on the antioxidant stability of tortilla chips from extruded and nixtamalized blue corn (*Zea mays* L.) flours. *Food Sci. Technol.* 34:143-149.
- Serna-Saldívar, S.O., J.A. Gutiérrez-Urbe, S. Mora-Rochin, and S. García-Lara. 2013. Nutraceutical potential of native maize and changes during traditional and extrusion processing. *Rev. Fitotec. Mex.* 36:295-304.

EFFECTOS GENÉTICOS Y AMBIENTALES DE LA PROLIFICIDAD EN RELACIÓN CON EL RENDIMIENTO DE GRANO EN MAÍZ

GENETIC AND ENVIRONMENTAL EFFECTS OF PROLIFICACY IN RELATION TO MAIZE YIELD

Miguel Ángel **Tafolla-Rodríguez**¹, Froylán **Rincón-Sánchez**², Norma Angélica **Ruiz-Torres**³, Francisco Javier **Sánchez-Ramírez**², Juan Manuel **Martínez-Reyna**², Adalberto **Benavides-Mendoza**⁴

¹Maestría en Ciencias, Fitomejoramiento, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN). ²Departamento de Fitomejoramiento, ⁴Departamento de Horticultura. UAAAN. Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista. Saltillo, Coahuila. 25315 México. (frincon@uaan.edu.mx). ³Centro de Capacitación y Desarrollo de Tecnología de Semillas (CCDTS). UAAAN.

RESUMEN

En maíz el número de mazorcas por planta o prolificidad es un componente de rendimiento de importancia en las variedades adaptadas a las condiciones de temporal o secano. El objetivo de este estudio fueron analizar la interacción genotipo × ambiente en la expresión de la prolificidad y estimar los efectos genéticos y su relación con el rendimiento de grano en maíz. Cuatro líneas se incluyeron, dos seleccionadas para prolificidad y dos no prolíficas. Cruzas directas y recíprocas se realizaron entre una línea prolífica con una no prolífica, y en cada caso, se obtuvieron retrocruzamientos hacia ambos progenitores y F₂ respectivas. En este estudio se consideró la prolificidad (PRO), la asincronía de floración (ASI) y el rendimiento de grano (REND). La interacción genotipo × ambiente (IGA) se analizó y por cada cruce y sus generaciones filiales, se estimó la heterosis y efectos genéticos aditivos, dominancia y epistáticos. Acerca de PRO y REND se encontró que dependen de las condiciones ambientales, con valores medios de 5.53 y 3.53 Mg ha⁻¹ y de 1.25 y 1.10 en el rendimiento y prolificidad en las dos localidades contrastantes. La prolificidad interactuó con el ambiente en proporciones similares al rendimiento de grano, en tanto que, la heredabilidad de la prolificidad fue superior al rendimiento de grano con valores de 0.63 *vs.* 0.41. La estimación de heterosis depende de las cruces específicas y alcanzó valores promedio respectivos de -13 y 186% en prolificidad y rendimiento. Efectos genéticos aditivos determinaron la expresión de la prolificidad y la asincronía de floración; en tanto que el efecto de dominancia determinó el rendimiento de grano. En las cruces, cuando la línea prolífica se utilizó como

ABSTRACT

The number of ears per plant or prolificacy is an important yield component in maize varieties adapted to rainfed conditions. The objective of this study was to analyse the genotype × environment interaction in the expression of prolificacy and to estimate genetic effects and their relationship with grain yield in maize. Four lines were included, two selected for prolificacy and two non-prolific. Direct and reciprocal crosses were made between a prolific and a non-prolific line; in each case, backcrosses to both parents and respective F₂ were obtained. Prolificacy (PRO), flowering asynchrony (ASI) and grain yield (REND) were considered in this study. The genotype × environment interaction (IGA) was analysed. For each cross and respective filial generations, heterosis and additive genetic effects, dominance and epistatic effects were estimated. PRO and REND were found to depend on environmental conditions, with mean values of 5.53 and 3.53 Mg ha⁻¹ and 1.25 and 1.10 for yield and prolificacy in the two contrasting locations. Prolificacy interacted with environment in similar proportions to grain yield, while heritability for prolificacy was higher than for grain yield with values 0.63 *vs.* 0.41. The heterosis estimate depends on the specific crosses and it reached respective average values of -13 and 186% in prolificacy and yield. Additive genetic effects determined the expression of prolificacy and flowering asynchrony, while the dominance effect determined grain yield. In the crosses, when the prolific line was used as the male parent, epistatic additive × dominance effects were present in flowering asynchrony, prolificacy and grain yield.

Key words: *Zea mays* L., genotype × environment interaction, means of filial generations, heterosis, heritability.

* Autor para correspondencia ♦ Author for correspondence.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1457-0605>

Recibido: marzo, 2021. Aprobado: agosto, 2021.

Publicado en *Agrociencia* 55: 507-521. 2021.

progenitor masculino, se presentaron efectos epistáticos aditivo \times dominancia en la asincronía de floración, prolificidad y rendimiento de grano.

Palabras clave: *Zea mays* L., interacción genotipo \times ambiente, medias de generaciones filiales, heterosis, heredabilidad.

INTRODUCCIÓN

En el cultivo de maíz (*Zea mays* L.), una planta prolífica es aquella que desarrolla más de una mazorca en el tallo principal. El número de mazorcas por planta o índice de prolificidad es un componente de rendimiento de interés en las variedades de maíz adaptadas a las condiciones de temporal o secano. El número de mazorcas por planta en maíz es un carácter con valores de herencia promedio de 0.39. De Leon *et al.* (2005) observaron un grado de determinación genética o heredabilidad en sentido amplio de 0.88 para este carácter. Ya que de manera positiva e indirecta la prolificidad se relaciona con el rendimiento de grano, puede funcionar como un indicador claro de la tolerancia a sequía (Maafi *et al.*, 2021).

En mejora genética para incrementar el número de mazorcas por planta después de 20 ciclos de selección, Maita y Coors (1996) encontraron una respuesta de 3.3% por ciclo, y una correlación positiva ($p \leq 0.05$) con el rendimiento de grano por planta de $r=0.71$. Esos autores también señalaron que al analizar líneas endogámicas relacionadas con sus generaciones filiales F_1 , F_2 y retrocruzas, los efectos genéticos aditivos fueron significativos para el número de mazorcas por planta. Baretta *et al.* (2016) obtuvieron valores positivos aunque medianos de correlación fenotípica ($r=0.35$) y genética ($r=0.43$) entre prolificidad y rendimiento de grano en maíz.

Al-Naggar *et al.* (2012) encontraron efectos de dominancia en el número de mazorcas por planta, aunque estos variaron de dominancia completa en progenitores prolíficos en densidad de población baja a dominancia completa en progenitores no prolíficos con densidad de población alta. Prakash *et al.* (2019) observaron un patrón de herencia cuantitativa de la prolificidad con prevalencia de efectos epistáticos, en particular dominancia \times dominancia, aunque también observaron efectos de interacción aditivo \times aditivo y aditivo \times dominancia. Otros autores indican que la prolificidad en maíz es un carácter heredable,

INTRODUCTION

In maize crop (*Zea mays* L.), a prolific plant is one that develops more than one ear on the main stalk. The number of ears per plant or prolificacy index is a yield component of interest in maize varieties adapted to rainfed conditions. The number of ears per plant in maize is a trait with average heritability values of 0.39. De Leon *et al.* (2005) observed a degree of genetic determination or heritability in a broad sense of 0.88 for this trait. Since, in a positive and indirect way prolificacy is related to grain yield, it may be a clear indicator of drought tolerance (Maafi *et al.*, 2021).

In genetic improvement, after increasing the number of ears per plant during 20 cycles of selection, Maita and Coors (1996) found a response of 3.3% per cycle, and a positive and significant correlation ($p \leq 0.05$) with grain yield per plant of $r=0.71$. These authors also stated that when inbred lines related to their filial F_1 , F_2 and backcross generation were analysed, additive genetic effects were significant for the number of ears per plant. Baretta *et al.* (2016) found positive but medium phenotypic ($r=0.35$) and genotypic ($r=0.43$) correlation values between prolificacy and grain yield.

Al-Naggar *et al.* (2012) found dominance effects on the number of ears per plant, although these ranged from complete dominance in prolific parents at low population density to complete dominance in nonprolific parents at high population density. Prakash *et al.* (2019) observed a quantitative inheritance pattern of prolificacy with prevalence of epistatic effects, particularly dominance \times dominance, although they also observed additive \times additive, and additive \times dominance interaction effects. Other authors indicate that prolificacy in maize is a heritable character determined by additive genetic effects and high heritability values; thus, prolificacy rate can be increased through modified mass selection (Sukto *et al.*, 2021).

Under the hypothesis that the analysis and estimation of genetic and interaction effects between maize lines selected for prolificacy would allow the identification of genotypes capable of increasing productivity in selection schemes; the objective of the study was to analyse the genotype \times environment interaction in the expression of prolificacy, and to estimate genetic effects in relation to grain yield in maize.

determinado por efectos genéticos aditivos y valores de heredabilidad altos, gracias a lo cual se puede incrementar el índice de prolificidad a través de la selección masal modificada (Sukto *et al.*, 2021).

Bajo la hipótesis de que el análisis y la estimación de efectos genéticos y de interacción entre líneas de maíz seleccionadas hacia prolificidad permitirá identificar genotipos capaces de incrementar productividad en esquemas de selección. El objetivo del estudio fue analizar la interacción genotipo \times ambiente en la expresión de la prolificidad, para estimar efectos genéticos en relación con el rendimiento de grano en maíz.

MATERIALES Y MÉTODOS

En la investigación se incluyeron cuatro líneas de maíz: dos seleccionadas para prolificidad, Línea 2 (L2) y Línea 3 (L3) derivadas de la variedad JAGUAN y dos de la variedad VAN210, Línea 4 (L4) y Línea 5 (L5) identificadas como no prolíficas. En el ciclo primavera-verano 2017, se realizaron cruza F_1 directas y recíprocas entre una línea prolífica con una no prolífica: L2 \times L4, L2 \times L5, L3 \times L4, L3 \times L5. Además de las cruza simples se realizaron cruza de la progenie F_1 con cada uno de los progenitores para crear retrocruza (RCP₁ y RCP₂), y por autofecundaciones en la F_1 , se obtuvieron las poblaciones F_2 para cada combinación genética.

La evaluación agronómica del material experimental se estableció en el ciclo primavera-verano 2018, en dos localidades contrastantes y dos fechas de siembra dentro de cada localidad: El Mezquite, Galeana, N.L. (25° 05' N; 100° 42' W, altitud 1890 m) y en General Cepeda, Coahuila (25° 22' N; 100° 28' W, altitud 1450 m) en condiciones de riego. En cada localidad, se estableció un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones (bloques) por fecha de siembra. La unidad experimental consistió en un surco de 4 m de largo, con un espaciado de 0.85 m entre surcos y de 0.20 m entre plantas, con una población estimada de 58.8 mil plantas ha⁻¹.

Las dos fechas de siembra por localidad se analizaron como ambientes. En la localidad El Mezquite (MEZ1 y MEZ2) la siembra se realizó 5 y 16 de junio 2018; en General Cepeda (GC1 y GC2) se realizó 30 de junio y 17 de julio 2018. En este estudio se analizó el número de mazorcas por planta promedio o prolificidad (PRO); la asincronía de floración (ASI), determinada por la diferencia entre días al 50% de floración masculina y días al 50% de floración femenina; y el rendimiento de grano expresado en Mega gramos (toneladas) por hectárea (Mg ha⁻¹) con 15% de humedad.

Un ANDEVA se realizó seguido de la comparación múltiple de medias de Tukey ($p \leq 0.05$) y correlación simple de Pearson (r)

MATERIALS AND METHODS

Four maize lines were included in the research: two selected for prolificacy, Line 2 (L2) and Line 3 (L3) derived from the JAGUAN variety and two from the VAN210 variety, Line 4 (L4) and Line 5 (L5) identified as non-prolific. In the spring-summer 2017 cycle, direct and reciprocal F_1 crosses were made between a prolific line with a non-prolific line: L2 \times L4, L2 \times L5, L3 \times L4, L3 \times L5. In addition to the single crosses, F_1 progenies were crossed with each of the parents to generate backcrosses (RCP₁ and RCP₂), and by self-fertilization in F_1 , F_2 populations were obtained for each genetic combination.

The agronomic evaluation of the experimental material was established in the spring-summer 2018 cycle, in two contrasting locations and two sowing dates within each location: El Mezquite, Galeana, N.L. (25° 05' N; 100° 42' W, altitude 1890 m) and in General Cepeda, Coahuila (25° 22' N; 100° 28' W, altitude 1450 m) under irrigated conditions. In each location, a randomized complete block design with three replications (blocks) per sowing date was established. The experimental unit consisted of a 4 m long furrow, with spacing of 0.85m between rows and 0.20m between plants, with an estimated population of 58.8 thousand plants ha⁻¹.

The two sowing dates per location were analysed as environments. At El Mezquite (MEZ1 and MEZ2) sowing was made on June 5 and 16, 2018; at General Cepeda (GC1 and GC2) were sown on June 30 and July 17, 2018. In this study they were analysed, the average number of ears per plant or prolificacy (PRO); flowering asynchrony (ASI), determined by the difference between days at 50% male flowering and days at 50% female flowering; and grain yield expressed in Megagrams (tons) per hectare (Mg ha⁻¹) with 15% moisture.

An ANOVA was performed, followed by the Tukey's test for multiple comparison of means ($p \leq 0.05$) and Pearson's simple correlation (r) with the GLM procedure of SAS® (SAS Institute Inc., 2018). For the comparison of genotype means, the decision criteria were established, as defined by mean plus one ($\mu + EE$) and two times the standard error of the mean ($\mu + 2EE$). The environments (MEZ1, MEZ2, GC1 and GC2) were used to perform scatter plot analysis of genotype \times environment interaction (IGA) based on principal component analysis (PCA), which was obtained with the GGEbiplot model (Yan, 2014, Yan y J. Frégeau-Reid, 2018).

Heterosis (h) was estimated between the combinations of lines (y_i, y_j) based on the performance of the crosses (y_{ij}) in relation to the average performance of the parents: ($h = y_{ij} - 0.5 (y_i + y_j)$) (Kiyoy and Kusolwa, 2017). Genetic effects were estimated for each of the variables studied by taking into account the six filial generations obtained by each of the genetic combinations in direct and reciprocal crosses: the two parents

con el procedimiento GLM de SAS® (SAS Institute Inc., 2018). Para la comparación de medias de los genotipos se establecieron dos criterios de decisión definidos por media más uno ($\mu+EE$) y dos veces el error estándar de la media ($\mu+2EE$). Los ambientes (MEZ1, MEZ2, GC1 y GC2) se utilizaron para realizar análisis gráfico de dispersión de la interacción genotipo×ambiente (IGA) con base en análisis de componentes principales (ACP), el cual se obtuvo con el modelo GGEbiplot (Yan, 2014; Yan y J. Frégeau-Reid, 2018).

La heterosis (h) se estimó entre las combinaciones de líneas (y_i, y_j) con base en el comportamiento de las cruzas (y_{ij}) en relación con el comportamiento promedio de los progenitores ($h=y_{ij} - 0.5 (y_i + y_j)$) (Kiyyo y Kusolwa, 2017). Los efectos genéticos se estimaron en cada una de las variables estudiadas al tomar en cuenta las seis generaciones filiales obtenidas por cada una de las combinaciones genéticas en cruce directa y recíproca: los dos progenitores (P_1, P_2), la cruce simple (F_1), la F_2 , y las retrocruzas (RCP_1 y RCP_2). El modelo de Hayman (1958) se utilizó para estimar los efectos aditivos (a), dominancia (d), y los efectos epistáticos aditivo×aditivo (aa), aditivo×dominancia (ad) y dominancia×dominancia (dd).

La expresión del modelo es $y=Xb + e$, y la estimación de los parámetros se obtiene con la solución de las ecuaciones normales: $\hat{b} = (X'X)^{-1}X'y$, y la varianza de los estimadores con:

$$V(\hat{b}) = (X' E^{-1} X)^{-1};$$

donde:

y : es el vector de las medias de generaciones filiales,

X : es la matriz de coeficientes,

\hat{b} : es el vector de estimadores del modelo,

E : la matriz diagonal de las varianzas de las medias.

Para cada una de las combinaciones de cruzas y sus generaciones filiales, en la versión de cruzas directas y recíprocas, la estimación de los efectos genéticos se obtuvo a través de un análisis de regresión utilizando el procedimiento GLM de SAS® (SAS Institute Inc., 2018).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de varianza

Los 36 genotipos representantes de las generaciones filiales y los caracteres en estudio evaluados en 2018 presentaron variación significativa (Cuadro 1).

Diferencias significativas ($p \leq 0.01$) se encontraron entre ambientes, genotipos y la interacción genotipo×ambiente (IGA) en el número de mazorcas

(P_1, P_2), the single cross (F_1), the F_2 , and the backcrosses (RCP_1 and RCP_2). The model by Hayman (1958) was used to estimate additive (a), dominance (d), and epistatic additive×additive (aa), additive×dominance (ad), and dominance×dominance (dd) effects.

Linear model expression is $y=Xb + e$, and the estimation of the parameters is obtained with the solution of the normal equations: $\hat{b} = (X'X)^{-1}X'y$, and the variance of the estimators with:

$$V(\hat{b}) = (X' E^{-1} X)^{-1};$$

where:

y : is the vector of the means of the filial generations,

X : the coefficient matrix,

\hat{b} : is the vector of estimators of the model,

E : the diagonal matrix of the variances of the means.

For each of the combinations of crosses and their filial generations, in the version of direct and reciprocal crosses, the estimation of the genetic effects was obtained through a regression analysis using the GLM procedure of SAS® (SAS Institute Inc., 2018).

RESULTS AND DISCUSSION

Analysis of variance

The 36 genotypes representing the filial generations and the traits under study evaluated in 2018 showed significant variation (Table 1).

Significant differences ($p \leq 0.01$) were found among environments, genotypes and the genotype×environment interaction (IGA) in the number of ears per plant (PRO) and grain yield (REND); in the flowering asynchrony (ASI), difference ($p \leq 0.01$) was only found among the studied genotypes. That was explained by the variation among genotypes, represented by six filial generations, from four combinations of crosses between lines of different genetic origin and by differences in the prolificacy index. The variation among environments is due to the combination of two sowing dates within two contrasting locations; in addition, the genotypes responded differently to these environments due to genetic interaction effects.

Based on the sum of squares ratio (Table 1), genotype effects explained 62.5% in PRO compared to 41.3 and 38.1% of REND and ASI. Of the traits

Cuadro 1. Análisis de varianza de los caracteres evaluados en dos localidades contrastantes (El Mezquite, N.L. y General Cepeda, Coahuila), México en 2018.
Table 1. Analysis of variance of traits evaluated at two contrasting locations (El Mezquite, N.L. and General Cepeda, Coahuila) Mexico, in 2018.

FV	ASI (d)				PRO			REND (Mg ha ⁻¹)		
	GL	SC	%	CM	SC	%	CM	SC	%	CM
Ambientes (Amb)	3	8.2	0.7	2.7	2.9	9.0	0.96 [‡]	685.9	36.6	228.6 [‡]
Bloques / Amb	8	36.9	3.3	4.6 [‡]	0.2	0.5	0.02	17.7	0.9	2.2 [‡]
Genotipos (Gen)	35	420.9	38.1	12.0 [‡]	20.1	62.5	0.57 [‡]	772.7	41.3	22.1 [‡]
Gen × Amb	105	204.2	18.5	1.9	3.3	10.2	0.03 [‡]	153.3	8.2	1.5 [‡]
Error	280	434.4	39.3	1.6	5.7	17.8	0.02	242.3	12.9	0.9
Total	431	1104.6			32.1			1871.9		
	CV (%)			147.4			12.17			20.5

[‡]p≤0.05 y [‡]p≤0.01, probabilidad de diferencia estadística; FV, fuentes de variación; GL, grados de libertad; SC y CM, suma de cuadrados y cuadrados medios; ASI, asincronía de floración; PRO, número de mazorcas por planta; REND, rendimiento de grano; CV, coeficiente de variación. [‡]p≤0.05 and [‡]p≤0.01, statistical difference; FV, sources of variation; GL, degrees of freedom; SC and CM, sum of squares and mean squares; ASI, flowering asynchrony; PRO, number of ears per plant; REND, grain yield; CV, variation coefficient.

por planta (PRO) y rendimiento de grano (REND); en la asincronía de floración (ASI) sólo se encontró diferencia (p≤0.01) entre los genotipos en estudio. Lo anterior se explica por la variación entre los genotipos, representados por seis generaciones filiales, a partir de cuatro combinaciones de cruza entre líneas de origen genético diferente y por diferencias en el índice de prolificidad. La variación entre los ambientes se debe a la combinación de dos fechas de siembra dentro de dos localidades contrastantes; además, los genotipos respondieron de manera diferente a estos ambientes por efectos de la interacción genética.

Con base en la proporción de la suma de cuadrados (Cuadro 1), los efectos de genotipos explicaron el 62.5% en PRO comparado con 41.3 y 38.1% de REND y ASI. De los caracteres en estudio, los efectos de la interacción genotipo×ambiente (IGA) fueron superiores (%) en ASI (18.5), seguidos de PRO (10.2) y REND (8.2). De acuerdo con estos resultados IGA en REND y PRO fue similar, a pesar de que la proporción de la suma de cuadrados de los genotipos fue superior en PRO comparado con REND (62.5 vs. 41.3%), lo cual explica la contribución genética en relación con la variación fenotípica o heredabilidad en sentido amplio de los dos caracteres.

De Leon *et al.* (2005) calcularon un coeficiente de 0.88 en la relación de la varianza genética respecto a la varianza fenotípica, lo cual indica la aportación genética en el carácter de prolificidad. En ensayos

under study, genotype×environment interaction (IGA) effects were higher (%) in ASI (18.5), followed by PRO (10.2) and REND (8.2). According to these results IGA in REND and PRO was similar, despite the sum of squares ratio on genotypes was higher in PRO compared to REND (62.5 vs. 41.3%). This explains the genetic contribution in relation to phenotypic variation or heritability in a broad sense for the two traits.

De Leon *et al.* (2005) calculated a coefficient of 0.88 in the ratio of genetic variance to phenotypic variance, which indicates the genetic contribution in the prolificacy trait. In trials under drought stress condition, Ali *et al.* (2017) found variation in genetic contribution based on broad sense heritability estimates, with values between 0.46 and 0.63, and between 0.98 and 0.99 for number of ears per plant and grain yield. In this study, the combination location×sowing date (evaluation environments) had a greater effect (36.64%) on grain yield, in relation to 9.01 and 0.74% for prolificacy and flowering asynchrony; which indicates the relative pressure of environmental conditions on the studied variables.

Under the conditions of this study, the environments at El Mezquite (MEZ1 and MEZ2) were considered favourable environments compared to those at General Cepeda (GC1 and GC2), due to differences in climatic conditions, altitude, and the presence of water stress in the two sowing dates at

bajo condición de estrés por sequía, Ali *et al.* (2017) encontraron variación en la contribución genética con base en estimaciones de heredabilidad en sentido amplio, con valores entre 0.46 y 0.63, y entre 0.98 y 0.99 para número de mazorcas por planta y rendimiento de grano. En este estudio, la combinación localidad×fecha de siembra (ambientes de evaluación) tuvo efecto mayor (36.64%) sobre el rendimiento de grano, en relación con 9.01 y 0.74% de la prolificidad y asincronía de floración; lo cual indica la presión relativa de las condiciones ambientales sobre las variables estudiadas.

En las condiciones de este estudio, los ambientes de El Mezquite (MEZ1 y MEZ2) se consideraron ambientes favorables en relación con aquellos en la localidad de General Cepeda (GC1 y GC2), debido a diferencias en las condiciones climáticas, de altitud y a la presencia de estrés hídrico en las dos fechas de siembra en la localidad de General Cepeda. Lo anterior se expresó en un gradiente en la disminución del número de mazorcas por planta y en el rendimiento de grano entre los ambientes (fechas de siembra) en cada localidad.

Los valores medios de rendimiento fueron 5.53 y 3.53 Mg ha⁻¹ y 1.25 y 1.10 mazorcas por planta para las localidades El Mezquite y General Cepeda. Lo anterior indica una respuesta relativa en la expresión de la prolificidad y el rendimiento de grano debido a las diferencias de las condiciones del ambiente en las dos localidades de estudio. Una asociación positiva ($p \leq 0.05$) se ha observado entre el índice de prolificidad y el rendimiento de grano con una correlación de $r=0.71$ (Maita y Coors, 1996).

Comportamiento promedio

Los valores medios se obtuvieron de las generaciones filiales de las cuatro combinaciones de cruza entre plantas prolíficas y no prolíficas para los caracteres de estudio (Cuadro 2). Con base en los criterios establecidos para decisión ($\mu+EE$, $\mu+2EE$), todas las cruza simples y cuatro retrocruzas hacia los progenitores prolíficos fueron superiores en el rendimiento de grano. En el número de mazorcas por planta (PRO), con excepción de la cruza 3x5 y su recíproca, en siete de las 16 retrocruzas (43.8%) hacia los progenitores prolíficos y las dos líneas prolíficas (L2 y L3) se encontró diferencia significativa respecto a la media general de la prolificidad.

General Cepeda. That was expressed as a decreasing gradient in the number of ears per plant, and in grain yield between the environments (sowing dates) at each of the two locations.

Mean yield values were 5.53 and 3.53 Mg ha⁻¹ and 1.25 and 1.10 ears per plant at El Mezquite and General Cepeda. This indicates a relative response in the expression of prolificacy and grain yield due to differences in environmental conditions at the two study locations. A positive association ($p \leq 0.05$) between prolificacy index and grain yield has been reported with a significant correlation of $r=0.71$ (Maita and Coors, 1996).

Average performance

Mean values were obtained from the filial generations of the four combinations of crosses between prolific and non-prolific plants for the traits under study (Table 2). Based on the established decision criteria ($\mu+EE$, $\mu+2EE$), all single crosses and four backcrosses to the prolific parents were superior when compared for grain yield. In the number of ears per plant (PRO), with the exception of the 3x5 cross and its reciprocal, in seven out of the 16 backcrosses (43.8%) to the prolific parents and the two prolific lines (L2 and L3), a significant difference was found respect to the general mean of prolificacy.

Results confirmed that the lines identified as prolific (L2 and L3) are consistent in the average expression of prolificacy with values of 1.64 and 1.78 ears per plant compared to the non-prolific lines, with values of 0.97 and 0.84 ears per plant in Line 4 and Line 5 (Table 2). Likewise, the prolific lines showed higher yield potential (3.23 and 3.05 Mg ha⁻¹), compared to the non-prolific lines with yields of 1.56 and 1.04 Mg ha⁻¹.

Lines from two different populations were identified as prolific (L2 and L3) and non-prolific (L4 and L5). Genetic divergence between the two groups of lines could be verified with the expression in grain yield (REND) and number of ears per plant (PRO) (Table 2). However, there was no evidence of statistical difference between direct and reciprocal crosses in REND and PRO, indicating no maternal effect between prolific and non-prolific lines. After progenies between prolific with non-prolific lines, higher yield values were determined by backcrosses to prolific parents, except the (3x5)×5 backcross. This

Con los resultados se confirmó que las líneas identificadas como prolíficas (L2 y L3) son consistentes en la expresión promedio de la prolificidad con valores de 1.64 y 1.78 mazorcas por cada planta en comparación con las líneas no prolíficas, con valores de 0.97 y 0.84 mazorcas por planta en las Líneas 4 y 5 (Cuadro 2). Asimismo, las líneas prolíficas mostraron potencial de rendimiento mayor (3.23 y 3.05 Mg ha⁻¹), comparadas con las líneas no prolíficas con rendimientos de 1.56 y 1.04 Mg ha⁻¹.

Las líneas provenientes de dos poblaciones diferentes se identificaron como prolíficas (L2 y L3) y no prolíficas (L4 y L5). La divergencia genética entre los dos grupos de líneas pudo verificarse con la expresión en rendimiento de grano (REND) y número de mazorcas por planta (PRO) (Cuadro 2). Sin embargo, no se encontró evidencia de diferencia estadística entre cruza directa y recíprocas en REND y PRO, lo cual señala ausencia de efecto materno entre las líneas prolíficas con no prolíficas. Después de las progenies entre las líneas prolíficas con no prolíficas, los valores de rendimiento superiores se determinaron por las retrocruzas hacia los progenitores prolíficos, excepto la retrocruza (3×5)×5. Lo anterior indica que genotipos con índices superiores en el número de mazorcas por planta contribuyeron al rendimiento de grano en forma significativa como Ali *et al.* (2017) señalaron. En los genotipos con rendimientos superiores (Cuadro 2), la asincronía de floración (ASI) en general, fue aceptable excepto en la cruza 3×5 y 2×5 y la retrocruza (3×5)×5, con valores significativos respectivos de 1.75, 1.50 y 1.75. En contrario, los progenitores no prolíficos y las retrocruzas hacia las líneas no prolíficas mostraron los valores más altos de este carácter. En maíz, la asincronía de floración (ASI) es un carácter asociado con el rendimiento de grano. Aunque en condiciones de sequía, Ngugi *et al.* (2013) encontraron correlación ($p \leq 0.05$) de la asincronía de floración con el peso de grano ($r=0.76$) y senescencia de la hoja ($r=0.86$), pero no con el rendimiento. Noor *et al.* (2013) no hallaron correlación de la asincronía de floración con el rendimiento de grano; pero estimaron valores medios de heredabilidad (0.48) para ese carácter. Por lo tanto, en agricultura de temporal o bajo condiciones de estrés, lo deseable es que ASI sea cercana a cero o incluso, con valores negativos.

Cuadro 2. Rendimiento y los caracteres estudiados a través de las dos localidades (El Mezquite, N.L. y General Cepeda, Coahuila), México en 2018.

Table 2. Yield and traits studied across the two locations (El Mezquite, N.L. and General Cepeda, Coahuila) Mexico, in 2018.

Genotipos	REND (Mg ha ⁻¹)	Prolificidad	ASI (d)
4×3	7.09 [‡]	1.20	-0.75
3×5	6.62 [‡]	1.27 [‡]	1.75 [‡]
3×4	6.53 [‡]	1.06	1.17
2×4	6.46 [‡]	1.15	0.08
5×3	6.19 [‡]	1.21 [†]	-0.33
5×2	6.07 [‡]	1.14	0.33
4×2	6.00 [‡]	1.00	-0.08
2×5	5.67 [‡]	1.06	1.50 [†]
(5×3) ×3	5.57 [‡]	1.52 [‡]	-0.17
(2×5) ×2	5.44 [‡]	1.43 [‡]	1.00
(3×4) ×3	5.36 [‡]	1.46 [‡]	1.00
(2×4) ×2	5.14 [‡]	1.34 [‡]	0.17
(4×3) ×3	5.02 [†]	1.39 [‡]	-1.42 [†]
(3×5) ×5	4.97 [†]	1.52 [‡]	1.17
(5×2) ×2	4.93 [†]	1.34 [‡]	-0.50
(4×2) ×2	4.79	1.22 [†]	-0.67
(3×5) ×3	4.53	1.10	1.75 [‡]
(4×3) ×4	4.28	0.96	0.92
(3×4) ×4	4.25	1.03	2.42 [‡]
(5×3) ×5	4.14	0.99	0.67
3×4F2	4.11	1.13	1.17
5×3F2	4.04	1.15	0.25
(4×2) ×4	4.01	0.95	1.75 [‡]
(2×5) ×5	3.99	0.96	2.00 [‡]
(2×4) ×4	3.98	0.96	1.33 [†]
2×5F2	3.96	1.14	1.17
2×4F2	3.74	1.02	1.00
4×2F2	3.70	1.02	0.58
(5×2) ×5	3.67	0.98	1.92 [‡]
3×5F2	3.45	1.19	1.58 [‡]
4×3F2	3.34	1.00	-0.33
2	3.23	1.64 [‡]	1.67 [‡]
5×2F2	3.09	1.10	0.08
3	3.05	1.78 [‡]	1.25 [†]
4	1.56	0.97	1.83 [‡]
5	1.04	0.84	3.17 [‡]
Media	4.53	1.17	0.84
EE	0.27	0.04	0.37

EE, Error estándar de la media. [†] $\mu+EE$ y [‡] $\mu+2EE$, diferencia en los genotipos superiores. [‡] EE, standard error of the mean. [†] $m+EE$ and [‡] $\mu+2EE$, difference in higher genotypes

Análisis de correlación

Con base en el análisis de correlación, en este estudio se encontró una asociación negativa y significativa ($p \leq 0.01$) entre la asincronía de floración (ASI) con número de mazorcas por planta (PRO, $r = -0.16$) y rendimiento de grano (REND, $r = -0.24$); así como una relación positiva ($p \leq 0.01$) entre PRO y REND ($r = 0.36$). También, en el análisis de correlación realizado con pares de medias para carácter×ambiente (carácter×fecha de siembra en localidad). Una asociación positiva y significativa ($p \leq 0.01$) se encontró dentro de carácter×ambiente, lo cual indica un comportamiento consistente de la expresión de los caracteres dentro de ambientes. Los resultados de la asociación entre caracteres×fechas de siembra en localidades×genotipos se representaron de manera gráfica con GGEbiplot (Figura 1).

GGEbiplot genera una dispersión gráfica con base en el análisis de componentes principales (ACP), en la cual se visualiza la información de los genotipos (G) y la interacción genotipo×ambiente (GE). La dimensión de los vectores a partir del origen indica la variación asociada con el carácter. El coseno del ángulo entre ellos se aproxima al coeficiente de correlación, e indica el grado de asociación entre variables. Un ángulo menor a 30° indica una relación muy estrecha, en tanto que un ángulo cercano a 90° indica una relación independiente; un ángulo de 180° representa una asociación negativa (Yang, 2014). Cada genotipo proyecta un vector a partir del origen, en forma similar a las combinaciones entre caracteres. Por tanto, la relación entre los genotipos por fechas de siembra en localidad para cada carácter se determina por una ubicación particular en el cuadrante (Yan y Fréreau-Reid, 2018).

Los dos componentes principales (PC1 y PC2) en conjunto explican el 69.2% de la variación total acumulada en los valores medios de los caracteres evaluados por genotipo y genotipo×ambiente (Figura 1). De acuerdo con la proyección y ángulos de los vectores, REND se asoció negativamente con ASI × ambientes; y hubo correlación positiva entre PRO × ambientes y REND × ambientes, aunque no existió correlación entre PRO_G2 con REN_G2 y REN_M2. La asociación de los caracteres (Figura 1) parece inconsistente con los coeficientes de correlación reportados, debido a que en el análisis de correlación se consideró el 100% de la variación. Mientras que el

indica que genotipos con índices más altos en el número de espigas por planta contribuyeron significativamente al rendimiento de grano como se declaró por Ali *et al.* (2017).

En los genotipos con mayores rendimientos (Tabla 2), la floración asincrónica (ASI) fue en general aceptable, excepto los 3×5 y 2×5 cruces, y el $(3 \times 5) \times 5$ backcross, con respectivos valores significativos 1.75, 1.50 y 1.75. En contraste, los padres no prolíficos y los backcrosses a líneas no prolíficas mostraron los valores más altos para este rasgo. En el maíz, la floración asincrónica (ASI) es un carácter asociado con el rendimiento de grano. Sin embargo, bajo condiciones de sequía Ngugi *et al.* (2013) encontró correlación ($p \leq 0.05$) de la floración asincrónica con el peso del grano ($r = 0.76$) y la senescencia ($r = 0.86$), pero no correlación con el rendimiento de grano. Noor *et al.* (2013) reportó no correlación de la floración asincrónica con el rendimiento de grano, pero estimó valores de heredabilidad promedio (0.48) para ese carácter. Por lo tanto, en la agricultura irrigada o al sembrar bajo condiciones de estrés, es deseable que los valores de ASI estén cercanos a cero o incluso negativos.

Correlación análisis

Basado en el análisis de correlación, una asociación negativa y significativa ($p \leq 0.01$) se encontró entre la floración asincrónica (ASI) con el número de espigas por planta (PRO, $r = -0.16$) y el rendimiento de grano (REND, $r = -0.24$), y una relación positiva ($p \leq 0.01$) entre PRO y REND ($r = 0.36$). El análisis de correlación dentro de pares de medias para rasgo×ambiente (rasgo×fecha de siembra en localidad) también se realizó. Una asociación positiva y significativa ($p \leq 0.01$) se encontró dentro de rasgo×ambiente, indicando un desempeño consistente de la expresión del rasgo dentro de ambientes. Los resultados de la asociación entre rasgos×fechas de siembra en localidades×genotipos se representaron con GGEbiplot (Figura 1).

GGEbiplot genera un gráfico de dispersión basado en el análisis de componentes principales (PCA), en el cual se muestra la información de los genotipos (G) y la interacción genotipo×ambiente (GE). La magnitud del vector desde el origen indica la variación asociada con el rasgo. El coseno del ángulo entre ellos se aproxima al coeficiente de correlación, e indica el grado de asociación entre variables. Un ángulo menor a 30° indica una relación muy estrecha, un ángulo cercano a 90° indica una relación independiente; un ángulo de

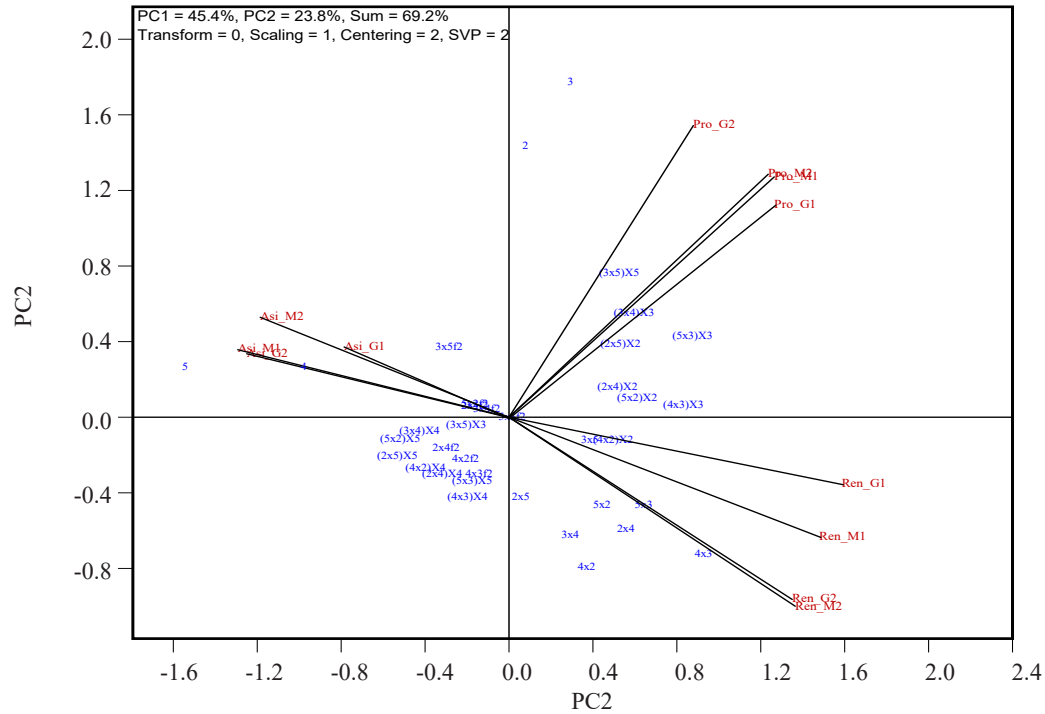


Figura 1. Representación gráfica por ACP de la interacción genotipo×ambiente para los caracteres evaluados. Caracteres ASI (asincronía de floración), PRO (prolificidad) y REN (rendimiento de grano); M1, M2, indicadores de los ambientes en la localidad El Mezquite; G1 y G2, los ambientes en la localidad de General Cepeda; PC1, PC2, los dos componentes principales analizados con GGEBiplot.

Figure 1. Scatter plot by PCA of the genotype×environment interaction for the evaluated traits. ASI (flowering asynchrony), PRO (prolificacy) and REN (grain yield); M1, M2, indicators of the environments at the El Mezquite location; G1 and G2, the environments at the General Cepeda location; PC1, PC2, the two principal components analysed on GGEBiplot.

ACP en la Figura 1, sólo explicó el 69.2% de dicha variación. Además, el análisis con GGEBiplot sólo considera la información debida a genotipo (G) e interacción genotipo×ambiente (GE).

En la dispersión de los genotipos, las cruza simples correlacionaron con el rendimiento de grano (Figura 1, cuarto cuadrante). En un gradiente en sentido opuesto se localizó al grupo de genotipos representados por las F_2 y las retrocruzas hacia los progenitores no prolíficos. En la parte intermedia entre esos dos grupos de genotipos se encontró al grupo de retrocruzas hacia el progenitor prolífico, pero con una correlación estrecha con la prolificidad en los ambientes de evaluación (fechas de siembra) localizados en el primer cuadrante. Estas asociaciones son congruentes con las medias de rendimiento y prolificidad (Cuadro 2), y con las diferencias entre las líneas prolíficas (L2, L3) con rendimiento superior asociadas

180° represents a negative association (Yang, 2014). Each genotype projects a vector from the origin, similar to the combinations between traits. Therefore, the relationship among genotypes and sowing dates per location for traits is determined by a particular point location in the quadrants (Yan and Fréreau-Reid, 2018).

The two principal components (PC1 and PC2) together explained 69.2% of the total cumulative variation in the mean values of evaluated traits by genotypes and genotype×environment (Figure 1). According to the projection and angles of the vectors, REN was negatively associated with ASI × environments; and there was a positive correlation between PRO × environments and REN × environments, although there was no correlation between Pro_G2 with Ren_G2 or Ren_M2. The association of traits (Figure 1) appeared inconsistent

con la prolificidad (primer cuadrante); mientras que las no prolíficas (L4, L5) se asociaron con las de rendimiento menor (segundo cuadrante).

En este estudio se encontró correlación ($p \leq 0.01$) baja entre el número de mazorcas por planta y el rendimiento de grano ($r=0.36$), lo cual difiere con el patrón general de asociación entre estos dos caracteres. En el proceso de selección para prolificidad, Maita y Coors (1996) encontraron una correlación positiva y significativa ($p \leq 0.05$) con el rendimiento de grano por planta, $r = 0.71$. Baretta *et al.* (2016) obtuvieron valores directos en la estimación de la correlación fenotípica ($r=0.35$) y genética ($r=0.43$) entre el número de mazorcas por planta y el rendimiento de grano. En condiciones de estrés por sequía, Ali *et al.* (2017) indicaron que el número de mazorcas por planta contribuyó ($p \leq 0.05$) al rendimiento del grano con valores estimados de correlación fenotípica ($r=0.82$) y genética ($r=0.98$). La correlación baja encontrada en este estudio entre esos dos caracteres se atribuye a que en las combinaciones genéticas analizadas participó una línea prolífica con otra no prolífica, lo cual se manifestó en las generaciones filiales asociadas con cada cruce.

Heterosis

Los valores de heterosis se estimaron para las cruces directas y recíprocas entre líneas prolíficas con no prolíficas, por localidad y análisis combinado, para todos los caracteres en estudio (Cuadro 3).

En el análisis entre cruces directas y recíprocas, sólo se encontró diferencia ($p \leq 0.01$) entre los dos grupos en la asincronía de floración (ASI), como una aportación del progenitor prolífico en la F_1 lo cual se tradujo en una reducción en los valores medios en la cruce recíproca donde intervino una línea prolífica (L2 y L3) como progenitor masculino. Este patrón fue consistente tanto en las dos localidades como en el análisis combinado (Cuadro 3).

Respecto al número de mazorcas por planta o prolificidad (PRO), en dos de las cuatro cruces (2×5 y 3×4) se encontró un incremento en la progenie F_1 , al usar una línea prolífica (L2, L3) como progenitor masculino. Estos valores fueron superiores en la localidad considerada como favorable (El Mezquite), y la respuesta fue consistente en las dos localidades y en los valores medios a través de localidades. En todos los casos, los valores de heterosis fueron negativos por lo que se infiere una expresión en la respuesta

with the reported correlation coefficients, because in the correlation analysis 100% of the variation was considered. Whereas the PCA analysis included in Figure 1, explained only 69.2% of the variation. The analysis on GGEbiplot represents only the variation due to genotype (G) and the genotype \times environment (GE) interaction.

In the scatter analysis of genotypes, single crosses correlated with grain yield (Figure 1, fourth quadrant). In a gradient in the opposite direction, it was located the group of genotypes represented by F_2 and backcrosses to non-prolific parents. In the intermediate portion between those two groups of genotypes, the group of backcrosses to the prolific parent was found, but with a close correlation with prolificacy in the evaluation environments (sowing dates) located at the first quadrant. These associations are congruent with the means of yield and prolificacy (Table 2), and with the differences between prolific lines (L2, L3) with higher yield associated with prolificacy (first quadrant). Whilst non-prolific lines (L4, L5) were associated with lower yield (second quadrant).

In this study, a low correlation ($p \leq 0.01$) was found between the number of ears per plant and grain yield ($r=0.36$), which differs from the general pattern of association between these two traits. In the selection process for prolificacy, Maita and Coors (1996) found a positive and significant ($p \leq 0.05$) correlation with grain yield per plant, $r=0.71$. Baretta *et al.* (2016) obtained mean and positive values in the estimation of phenotypic ($r=0.35$) and genetic ($r=0.43$), correlation between the number of ears per plant and grain yield. Under drought stress condition, Ali *et al.* (2017) indicated that the number of ears per plant contributed ($p \leq 0.05$) to grain yield with estimated values for phenotypic ($r=0.82$) and genetic ($r=0.98$) correlation. The low correlation found in this study between these two traits is attributed to the fact that in the genetic combinations analysed, a prolific line participated with a non-prolific line, which it was manifested in the filial generations associated with each cross.

Heterosis

Heterosis values were estimated for direct and reciprocal crosses between prolific and non-prolific lines, by location and combined analysis, for all traits under study (Table 3).

Cuadro 3. Estimación de heterosis en combinaciones de cruzas directas y recíprocas entre líneas prolíficas con no prolíficas evaluadas en 2018.**Table 3. Estimated heterosis in combinations of direct and reciprocal crosses between prolific with non-prolific lines evaluated in 2018.**

Cruza	ASI				PRO				REND			
	i ^o	j	F ₁	h	i	j	F ₁	h	i	j	F ₁	h
General Cepeda, Coah.												
2×4 [§]	2.00	1.50	0.17	-1.58 [†]	1.49	0.94	1.06	-0.16 [†]	2.76	1.59	5.17	3.00 [§]
4×2	1.50	2.00	0.67	-1.08	0.94	1.49	0.97	-0.25 [§]	1.59	2.76	5.18	3.01 [§]
2×5	2.00	2.67	1.00	-1.33 [†]	1.49	0.78	1.03	-0.11	2.76	0.78	4.74	2.97 [§]
5×2	2.67	2.00	0.67	-1.67 [§]	0.78	1.49	1.09	-0.05	0.78	2.76	4.73	2.96 [§]
3×4	1.50	1.50	1.50	0.00	1.67	0.94	1.04	-0.27 [§]	2.90	1.59	5.32	3.08 [§]
4×3	1.50	1.50	-0.17	-1.67 [§]	0.94	1.67	1.06	-0.24 [§]	1.59	2.90	5.78	3.54 [§]
3×5	1.50	2.67	2.17	0.08	1.67	0.78	1.14	-0.09	2.90	0.78	4.75	2.91 [§]
5×3	2.67	1.50	-0.33	-2.42 [§]	0.78	1.67	1.09	-0.13	0.78	2.90	4.65	2.81 [§]
El Mezquite, Galeana, N. L.												
2×4	1.33	2.17	0.00	-1.75 [§]	1.79	1.01	1.24	-0.16 [†]	3.71	1.53	7.75	5.13 [§]
4×2	2.17	1.33	-0.83	-2.58 [§]	1.01	1.79	1.04	-0.36 [§]	1.53	3.71	6.82	4.20 [§]
2×5	1.33	3.67	2.00	-0.50	1.79	0.90	1.10	-0.25 [§]	3.71	1.30	6.60	4.10 [§]
5×2	3.67	1.33	0.00	-2.50 [§]	0.90	1.79	1.20	-0.15 [†]	1.30	3.71	7.41	4.90 [§]
3×4	1.00	2.17	0.83	-0.75	1.89	1.01	1.09	-0.36 [§]	3.19	1.53	7.74	5.38 [§]
4×3	2.17	1.00	-1.33	-2.92 [§]	1.01	1.89	1.34	-0.11	1.53	3.19	8.41	6.04 [§]
3×5	1.00	3.67	1.33	-1.00	1.89	0.90	1.40	0.00	3.19	1.30	8.50	6.25 [§]
5×3	3.67	1.00	-0.33	-2.67 [§]	0.90	1.89	1.32	-0.08	1.30	3.19	7.73	5.49 [§]
Análisis combinado												
2×4	1.67	1.83	0.08	-1.67 [§]	1.64	0.97	1.15	-0.16 [§]	3.23	1.56	6.46	4.07 [§]
4×2	1.83	1.67	-0.08	-1.83 [§]	0.97	1.64	1.00	-0.31 [§]	1.56	3.23	6.00	3.61 [§]
2×5	1.67	3.17	1.50	-0.92 [†]	1.64	0.84	1.06	-0.18 [§]	3.23	1.04	5.67	3.54 [§]
5×2	3.17	1.67	0.33	-2.08 [§]	0.84	1.64	1.14	-0.10	1.04	3.23	6.07	3.93 [§]
3×4	1.25	1.83	1.17	-0.37	1.78	0.97	1.06	-0.31 [§]	3.05	1.56	6.53	4.23 [§]
4×3	1.83	1.25	-0.75	-2.29 [§]	0.97	1.78	1.20	-0.17 [§]	1.56	3.05	7.09	4.79 [§]
3×5	1.25	3.17	1.75	-0.46	1.78	0.84	1.27	-0.04	3.05	1.04	6.62	4.58 [§]
5×3	3.17	1.25	-0.33	-2.54 [§]	0.84	1.78	1.21	-0.10 [†]	1.04	3.05	6.19	4.15 [§]

[†]p≤0.05 y [§]p≤0.01 probabilidad de diferencia estadística; ASI, Asincronía de floración (d); PRO, número de mazorcas por planta promedio o prolificidad; REND, rendimiento de grano (Mg ha⁻¹); ^oi, progenitor femenino; j, progenitor masculino, F₁, progenie en primera generación; h, heterosis; [§]Líneas 2 y 3 identificadas como prolíficas, líneas 4 y 5, no prolíficas. [†]p≤0.05 y [§]p≤0.01 statistical difference; ASI, flowering asynchrony (d); PRO, average number of ears per plant or prolificacy; REND, grain yield (Mg ha⁻¹); ^oi, female parent; j, male parent; F₁, progeny in first generation; h, heterosis; [§]cross lines 2 and 3, identified as prolific; 4 and 5, non-prolific.

de efectos aditivos, con una estimación de heterosis promedio de la prolificidad de -13.0%.

Para el rendimiento de grano (REND) en todos los casos los valores de heterosis fueron positivos lo cual se explica por una expresión debida a efectos de dominancia. Similar a lo ocurrido en PRO, con las cruzas 2×5 y 3×4 los valores de heterosis fueron superiores cuando la línea prolífica se usó como progenitor masculino. Estos valores fueron superiores en la localidad considerada como favorable (El Mezquite), en la cual se alcanzó una estimación promedio

In the analysis between direct and reciprocal crosses, only difference (p≤0.01) was found between the two groups in flowering asynchrony (ASI), as a contribution of the prolific parent in F₁ that resulted in a reduction in mean values in the reciprocal cross where a prolific line (L2 and L3) intervened as male parent. This pattern was as consistent in the two locations as in the combined analysis (Table 3).

Regarding the number of ears per plant or prolificacy (PRO), in two of the four crosses (2×5 and 3×4) an increase was found in the F₁ progeny, when

de heterosis del 186% para REND. La heterosis con base en el promedio de los progenitores depende de la divergencia genética de los progenitores y de efectos de dominancia direccional, además es específica a una cruce en particular. Pavlov *et al.* (2016) obtuvieron correlación positiva ($p \leq 0.05$) entre distancia genética y aptitud combinatoria general para rendimiento de grano en maíz ($r=0.53$), y entre distancia genética y heterosis ($r=0.57$).

En este estudio los valores de heterosis de la prolificidad y rendimiento de grano dependieron de las combinaciones genéticas al analizar la respuesta de las cruces 2×5 y 3×4, comparadas con las cruces 2×4 y 3×5 (Cuadro 3). Los valores estimados de heterosis para la prolificidad (promedio -13%) fueron negativos. Lo anterior contrasta con los resultados de Prakash *et al.* (2019) quienes mencionaron valores de heterosis en la prolificidad con base en el promedio de los progenitores que oscilaron entre 25.4 y 34.2%, lo cual atribuyeron a efectos de dominancia parcial. No obstante, Al-Naggar *et al.* (2012) indicaron que las estimaciones de heterosis en la prolificidad y el rendimiento del grano se redujeron en condiciones de densidad de población baja, y señalaron que incluso pueden desaparecer en densidades altas.

Efectos genéticos

La relación de los vectores de los caracteres por ambiente (Figura 1) indicó la variación de las localidades×fechas de siembra, y la interacción genotipo×ambiente. Con base en esta respuesta y en la consistencia en las estimaciones de heterosis (Cuadro 3), se decidió realizar el análisis genético de las generaciones filiales de los caracteres en estudio a través de los ambientes de evaluación (Cuadro 4).

En esta etapa del estudio se realizó cruce entre líneas prolíficas (L2 y L3) y líneas identificadas como no prolíficas (L4 y L5). En todos los casos a la cruce con la línea prolífica utilizada como progenitor femenino se la consideró como cruce directa, y cuando se utilizó como progenitor masculino se denominó cruce recíproca. El número de mazorcas por planta (prolificidad) estuvo definido por efectos aditivos ($p \leq 0.01$), y por efectos epistáticos aditivo×dominancia, cuando la línea prolífica se utilizó como progenitor masculino en todas las combinaciones de cruces (Cuadro 4). El rendimiento de grano, en todas las combinaciones de cruces estuvo dado por efectos de dominancia

a prolífica line (L2, L3) was used as the male parent. These values were higher in the location considered as favourable (El Mezquite), and the response was consistent in the two locations and in the mean values across locations. In all cases, heterosis values were negative, thus an expression of additive effects was inferred in the response, with an average heterosis estimate for prolificacy of -13.0%.

For grain yield (REND) in all cases, heterosis values were positive which is explained by an expression due to dominance effects. Similar to PRO, in the 2×5 and 3×4 crosses heterosis values were higher when the prolific line was used as the male parent. These values were higher in the location considered as favourable (El Mezquite), an average heterosis value of 186% was estimated in REND. Heterosis based on the average of the parents depends on the genetic divergence of the parental lines, on the directional dominance effects, and it is specific to a particular cross. Pavlov *et al.* (2016) obtained a positive correlation ($p \leq 0.05$) between genetic distance and general combining ability for grain yield in maize ($r=0.53$), and also between genetic distance and heterosis ($r=0.57$).

In this study, heterosis values for prolificacy and grain yield depended on genetic combinations, when the response of 2×5 and 3×4 crosses was analysed and compared to 2×4 and 3×5 crosses (Table 3). The estimated heterosis values for prolificacy (average -13%) were negative. This is opposite to the results of Prakash *et al.* (2019) who mentioned heterosis values for prolificacy based on parental average ranging from 25.4 to 34.2%, which authors attributed to partial dominance effects. Nevertheless, Al-Naggar *et al.* (2012) indicated that estimates of heterosis in prolificacy and grain yield under low population density conditions were reduced. Those authors stated that they may even disappear at high densities.

Genetic effects

The relationship of trait vectors per environments (Figure 1) indicated the variation of traits due to locations×sowing dates, and the genotype×environment interaction. Based on this response and the consistency in heterosis estimates (Table 3), it was decided to perform the genetic analysis of the filial generations of the traits under study across evaluation environments (Table 4).

Cuadro 4. Efectos genéticos de las cruzas directas y recíprocas entre líneas prolíficas y no prolíficas para los caracteres en estudio en la evaluación en 2018.**Table 4. Genetic effects of direct and reciprocal crosses between prolific and nonprolific lines for the traits under study as evaluated in 2018.**

Combinación genética	m^{\S}	a	d	aa	ad	dd
Asincronía de floración						
2×4	1.000 [§]	-1.167 [†]	-2.667	-1.000	-1.083	1.667
4×2	0.583	-2.417 [§]	-2.000	-0.167	-2.500 [§]	1.333
2×5	1.167 [§]	-1.000	0.417	1.333	-0.250	0.500
5×2	0.083	-2.417 [§]	0.417	2.500	-3.167 [§]	0.167
3×4	1.167 [§]	-1.417 [†]	1.792	2.167	-1.125	-3.583
4×3	-0.333	-2.333 [§]	-1.958	0.333	-2.625 [§]	2.250
3×5	1.583 [§]	0.583	-0.958	-0.500	1.542 [†]	2.583
5×3	0.250	-0.833	-2.542	0.000	-1.792 [§]	2.750
Prolificidad						
2×4	1.022 [§]	0.380 [§]	0.343	0.500 [†]	0.044	-0.175
4×2	1.018 [§]	0.279 [§]	-0.035	0.270	0.614 [§]	0.007
2×5	1.139 [§]	0.470 [§]	0.051	0.230	0.068	-0.406
5×2	1.100 [§]	0.365 [§]	0.133	0.231	0.766 [§]	-0.092
3×4	1.134 [§]	0.436 [§]	0.138	0.449	0.034	-0.552
4×3	1.001 [§]	0.433 [§]	0.516	0.689 [†]	0.836 [§]	-0.228
3×5	1.194 [§]	-0.418 [§]	0.409	0.452	-0.887 [§]	-0.530
5×3	1.151 [§]	0.530 [§]	0.325	0.428	0.999 [§]	-0.431
Rendimiento de grano						
2×4	3.744 [§]	1.154	7.334 [§]	3.269	0.317	-3.799
4×2	3.704 [§]	0.783	6.383 [§]	2.778	1.620 [§]	-3.578
2×5	3.960 [§]	1.448	6.551 [†]	3.016	0.352	-6.252
5×2	3.088 [§]	1.258 [†]	8.776 [§]	4.842 [†]	2.354 [§]	-5.619 [†]
3×4	4.106 [§]	1.114 [†]	7.030 [§]	2.801	0.370	-4.358
4×3	3.343 [§]	0.746	10.023 [§]	5.231 [†]	1.490 [†]	-5.042
3×5	3.452 [§]	-0.440	9.756 [§]	5.177 [†]	-1.443 [†]	-6.827 [†]
5×3	4.036 [§]	1.425 [†]	7.422 [§]	3.275	2.427 [§]	-6.223

[†] $p \leq 0.05$, [§] $p \leq 0.01$ probabilidad estadística significativa; [§]Media y efectos genéticos, a = aditivos, d = dominancia, y efectos epistáticos, aa = aditivo×aditivo, ad = aditivo×dominancia, dd = dominancia×dominancia. ♦ [†] $p \leq 0.05$, [§] $p \leq 0.01$ statistical difference; [§]Mean and genetic effects, a = additive, d = dominance, and epistatic effects, aa = additive×additive, ad = additive×dominance, dd = dominance×dominance.

($p \leq 0.01$), excepto en la cruce 2×5 ($p \leq 0.05$). Similar a la prolificidad, se presentaron efectos epistáticos significativos ($p \leq 0.01$) aditivo×dominancia sólo cuando la línea prolífica se utilizó como progenitor masculino.

En el caso de la asincronía de floración (ASI), aunque no existió un patrón claro en la expresión, en general se notó tendencia de efectos aditivos, excepto en las cruces 3×5 y 5×3. Sin embargo, cuando la línea prolífica se utilizó como progenitor masculino, similar a la expresión de la prolificidad y el rendimiento de grano, se presentaron los efectos epistáticos aditivo×dominancia. Es decir, cuando los genes

At this stage of the study, crosses between prolific lines (L2 and L3) with lines identified as non-prolific (L4 and L5) were made. In all cases, the cross with the prolific line used as female parent was considered as a direct cross, and when the prolific line was used as male parent, it was called a reciprocal cross. The number of ears per plant (prolificacy) was defined by additive effects ($p \leq 0.01$), and by epistatic additive×dominance effects, when the prolific line was used as male parent in all cross combinations (Table 4). Grain yield, in all cross combinations was given by dominance effects ($p \leq 0.01$), except the 2×5 cross ($p \leq 0.05$). Similar to prolificacy, significant

para esos caracteres los aportó el progenitor masculino, la contribución por parte de los efectos epistáticos aditivo×dominancia predominó en la expresión de prolificidad, rendimiento de grano y asincronía de floración. Sorrells *et al.* (1979) encontraron que los efectos genéticos aditivos fueron significativos para el número de mazorcas por planta en maíz, similar a los resultados de este estudio.

Sin embargo, esto contrastó con los resultados de Al-Naggar *et al.* (2012) quienes encontraron que la expresión de la prolificidad estuvo determinada por efectos de dominancia, a los cuales afectan la combinación del carácter prolífico en los progenitores y la densidad de población. También Prakash *et al.* (2019) señalaron en la prolificidad la presencia de efectos epistáticos, en particular dominancia×dominancia. En rendimiento de grano, la importancia de los efectos de dominancia resaltó a partir de los efectos epistáticos aditivo×aditivo y aditivo×dominancia. Además de los efectos aditivos y de dominancia, Azizi *et al.* (2006) observaron la expresión de efectos epistáticos aditivo×aditivo y aditivo×dominancia en dependencia del tipo de cruce, y afectados por la densidad de población.

En este estudio, la prolificidad estuvo determinada por efectos genéticos aditivos y el rendimiento de grano por efectos de dominancia. Estos resultados fueron congruentes con la estimación de heterosis en las cruces específicas, y consistentes en el análisis por localidad y dentro de localidades evaluadas. La presencia de efectos epistáticos aditivo×dominancia cuando el progenitor prolífico se utilizó como progenitor masculino, sugiere que en el proceso de selección este carácter debe estar presente en ambos progenitores para lograr una respuesta genética mayor.

CONCLUSIONES

La prolificidad interactuó con el ambiente en proporciones similares al rendimiento de grano. Mientras que la contribución genética de la prolificidad o heredabilidad fue superior al rendimiento de grano con valores de 0.63 *vs.* 0.41, lo que puede contribuir con una respuesta genética mayor en programas de selección.

La expresión de la prolificidad y la asincronía de floración estuvo determinada por efectos genéticos aditivos, en tanto que el rendimiento de grano, por efectos de dominancia. En las combinaciones genéticas estudiadas, cuando la línea prolífica se utilizó

($p \leq 0.01$) additive×dominance epistatic effects were present only when the prolific line was used as the male parent.

In the case of flowering asynchrony (ASI), although there was no clear pattern in expression, a general trend of additive effects was noticed, except the 3×5 and 5×3 crosses. However, when the prolific line was used as the male parent, similar to the expression of prolificacy and grain yield, additive×dominance epistatic effects were present. That is, when genes for these traits were contributed by the male parent, the contribution of epistatic additive×dominance effects predominated in the expression of prolificacy, grain yield and flowering asynchrony. Sorrells *et al.* (1979) found that additive genetic effects were significant for the number of ears per plant in maize, similar to the results of this study.

However, this contrasted with the results of Al-Naggar *et al.* (2012) who found that the expression of prolificacy was determined by dominance effects, which are affected by the combination of prolific trait in parents and by the population density. Also, Prakash *et al.* (2019) indicated on prolificacy the presence of epistatic effects, in particular dominance×dominance. In grain yield, the importance of dominance effects was highlighted from additive×additive and additive×dominance epistatic effects. In addition to additive and dominance effects, Azizi *et al.* (2006) observed the expression of additive×additive and additive×dominance epistatic effects depending on the type of cross and affected by population density.

In this study, prolificacy was determined by additive genetic effects and grain yield by dominance effects. These results agreed with the estimation of heterosis for the specific crosses, and they were consistent in the analysis by location and within evaluated locations. The presence of additive epistatic×dominance effects when the prolific parent was used as the male parent suggests that prolificacy must be present in both parents in the selection process to achieve a higher genetic response.

CONCLUSIONS

Prolificacy interacted with the environment in similar proportions to grain yield. While the genetic contribution of prolificacy or heritability was higher than grain yield with values of 0.63 *vs.* 0.41, which may contribute to a higher genetic response in selection programs.

como progenitor masculino (cruza recíproca) se presentaron efectos epistáticos aditivo×dominancia en la asincronía de floración, prolificidad y rendimiento de grano.

LITERATURA CITADA

- Al-Naggar, A.M.M., R. Shabana, A.M. Rabie. 2012. Inheritance of maize prolificacy under high plant density. *Egypt. J. Plant Breed.* 16: 1 – 27. DOI: 10.12816/0003929.
- Ali F., M. Ahsan, Q. Ali, N. Kanwal. 2017. Phenotypic stability of *Zea mays* grain yield and its attributing traits under drought stress. *Front. Plant Sci.* 8:1397. DOI: 10.3389/fpls.2017.01397.
- Azizi F., A. M. Rezai, and G. Saeidi. 2006. Generation mean analysis to estimate genetic parameters for different traits in two crosses of corn inbred lines at three planting densities. *J. Agric. Sci. Technol.* 8: 153-169. Corpus ID: 86325198.
- Baretta D., M. Nardino, I. R. Carvalho, R. Nornberg, V. Q. de Souza, V. A. Konflanz, A. Costa de Oliveira, and L. C. da Maia. 2016. Path analysis for morphological characters and grain yield of maize hybrids. DOI: 10.21475/ajcs.2016.10.12.p7707
- De Leon, N., J. G. Coors, S. M. Kaeppler. 2005. Genetic control of prolificacy and related traits in the Golden Glow maize population: I. Phenotypic evaluation. *Crop Sci.* 45: 1361-1369. <https://doi.org/10.2135/cropsci2003.0486>
- Hayman, B. I. 1958. The separation of epistatic from additive and dominance variation in generation means. *Heredity.* 12: 371-390. <https://doi.org/10.1038/hdy.1958.36>
- Kiyyo J. G., and P. M. Kusolwa. 2017. Estimation of heterosis and combining ability in maize (*Zea mays* L.) for maize lethal necrosis (MLN) disease. *J. Plant Breed. Crop Sci.* 9: 144-150. DOI: 10.5897/JPBCS2017.0657
- Maafi O., P. Revilla, L. Alvarez-Iglesias, R. A. Malvar, A. Djemel. 2021. Adaptation assessment of drought tolerance in maize populations from the Sahara in both shores of the Mediterranean Sea. *Euphytica.* 217: 172. DOI: 10.1007/s10681-021-02902-z
- Maita R., and J. G. Coors. 1996. Twenty cycles of biparental mass selection for prolificacy in the open-pollinated maize population Golden Glow. *Crop Sci.* 36:1527-1532. <https://doi.org/10.2135/cropsci1996.0011183X003600060021x>
- Ngugi K., J. Cheserek, C. Muchira, and G. Chemining'wa. 2013. Anthesis to Silking Interval Usefulness in Developing Drought Tolerant Maize. *J. Renew. Agric.* 1: 84-90. <https://doi.org/10.12966/jra.08.03.2013>
- The expression of prolificacy and flowering asynchrony was determined by additive genetic effects, while grain yield was determined by dominance effects. In the genetic combinations studied, when the prolific line was used as the male parent (reciprocal cross) there were epistatic additive×dominance effects on flowering asynchrony, prolificacy and grain yield.

—End of the English version—



- Noor M., D. Shahwar, H. Rahman, H. Ullah, F. Ali, M. Iqbal, I.A. Shah, and I. Ullah. 2013. Change in heritability estimates due to half-sib family selection in the maize variety Pahari. <https://doi.org/10.4238/2013.January.16.1>
- Pavlov J., N. Delic, T. Živanovic, D. Ristic, Z. Čamddzija, M. Stevanovic, and M. Tolimir. 2016. Relationship between genetic distance, specific combining abilities and heterosis in maize (*Zea mays* L.). *Genetika* 48: 165-172.
- Prakash, N.R., R. U. Zunjare, V. Muthusamy, G. Chand, M. C. Kamboj, J. S. Bhat, F. Hossain. 2019. Genetic analysis of prolificacy in “Sikkim Primitive”—A prolific maize (*Zea mays*) landrace of North-Eastern Himalaya. <https://doi.org/10.1111/pbr.12736>.
- SAS Institute Inc. 2018. SAS/STAT® 15.1 User's Guide. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA. 198 p.
- Sorrells, M. E., J. H. Lonquist, and R. E. Harris. 1979. Inheritance of prolificacy in maize. *Crop Sci.* 19: 301-306. <https://doi.org/10.2135/cropsci1979.0011183X001900030005x>
- Sukto S., K. Lomthaisong, J. Sanitchon, S. Chankaew, S. Falab, T. Lübberstedt, K. Lertrat, and K. Suriharn. 2021. Breeding for prolificacy, total carotenoids, and resistance to downy mildew in small-ear waxy corn by modified mass selection. *Agronomy* <https://doi.org/10.3390/agronomy11091793>.
- Yan W. 2014. *Crop variety trials: data management and analysis.* John Wiley & Sons, Ltd. The Atrium, Southern Gate. Chichester, West Sussex. PO19 8SQ UK. 351 p.
- Yan W., and J. Frégeau-Reid. 2018. Genotype by yield*trait (GYT) biplot: a novel approach for genotype selection based on multiple traits. *Sci. Rep.* 8:8242. DOI:10.1038/s41598-018-26688-8 2

COMPARACIÓN DE CUBIERTAS DE INVERNADEROS EN RELACIÓN CON CRECIMIENTO Y RENDIMIENTO DE TOMATE

GREENHOUSE COVER COMPARISON ON TOMATO GROWTH AND YIELD

Alejandro **Zermeño-González**^{1*}, Pedro Octavio **Kau-Pérez**¹, Juan Plutarco **Munguía-López**²,
Homero **Ramírez-Rodríguez**³, Martín **Cadena-Zapata**⁴

¹Departamento de Riego, ³Departamento de Horticultura, ⁴Departamento de Maquinaria Agrícola. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, Saltillo, Coahuila. 25315 México. (azermenog@hotmail.com), ²Centro de Investigación en Química Aplicada, Boulevard Enrique Reyna 140, Colonia San José de los Cerritos, Saltillo, Coahuila. 25194 México.

RESUMEN

El cultivo en invernadero permite obtener rendimientos mayores que los obtenidos a campo abierto, debido a un control mejor del ambiente. Bajo la hipótesis de que el color y las características del material de cubierta en invernadero de tipo túnel para producción de tomate afectan la transmisión de la radiación solar recibida por las plantas y por lo tanto crecimiento y rendimiento; el objetivo del estudio fue evaluar intensidad y distribución espectral de la radiación solar transmitida (Photosynthetic active radiation, PAR) a través de cuatro cubiertas de invernadero con características físicas y color diferentes, sobre contenido relativo de clorofila, tasa de fotosíntesis, crecimiento y rendimiento de un cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). Para medir la intensidad de la radiación solar (400 a 700 nm) transmitida por cada cubierta se hizo la instalación de sensores quantum en el interior de invernaderos de tipo túnel; se determinó con un espectro radiómetro la característica espectral en la misma banda de radiación solar. El efecto de las cubiertas se analizó con un diseño completamente al azar con las repeticiones por tratamiento dentro de cada invernadero. Las plantas en los túneles con cubiertas de polietileno difuso de alta densidad de pigmentación roja y azul recibieron menos radiación solar en la banda de 400 a 700 nm de longitud de onda. Además, la radiación de 400 a 550 nm recibida por las plantas en el invernadero con cubierta de pigmentación roja fue mucho menor que la recibida por plantas bajo otras cubiertas. Las plantas en el invernadero con cubierta de polietileno azul recibieron menos radiación solar de la amplitud 600 a 700 nm. Esto no afectó el contenido de clorofila ni la

ABSTRACT

Greenhouse cultivation allows higher yields than those obtained in the open field, due to better control of the environment. The hypothesis was that the colour and characteristics of the greenhouse cover material for tomato production affect the transmission of solar radiation received by the plants, and therefore growth and yield. The objective was to evaluate the intensity and spectral distribution of transmitted solar radiation (Photosynthetic active radiation, PAR) through four greenhouse covers with different physical characteristics and colour, on relative chlorophyll content, photosynthesis rate, growth and yield of a tomato crop (*Solanum lycopersicum* L.). To measure the intensity of solar radiation (400 to 700 nm) transmitted by each cover, quantum sensors were installed inside tunnel-type greenhouses; the spectral characteristic in the same solar radiation band was determined with a spectroradiometer. The effect of the covers was analysed with a completely randomized blocks design with treatment replicates within each tunnel greenhouse. Plants in greenhouses with red and blue diffuse high-density polyethylene covers received less solar radiation in the 400 to 700 nm wavelength band. Also, the radiation of 400 to 550 nm received by the plants in the greenhouse with the red cover was much lower than that received by plants under other covers. The plants in the blue polyethylene covered greenhouse received less solar radiation in the interval 600 to 700 nm. This did not affect the chlorophyll content nor the carbon dioxide assimilation rate. However, there was a significant increase ($p \leq 0.05$) in plant height, but with a smaller stem diameter. As well as there was a higher yield, expressed in number of fruits per plant, weight and larger fruit size in plants under polyethylene tunnels with red and blue pigmentation.

* Autor para correspondencia ♦ Author for correspondence.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4137-9638>

Recibido: abril, 2020. Aprobado: septiembre, 2021.

Publicado en *Agrociencia* 55: 523-538. 2021.

tasa de asimilación de bióxido de carbono; sin embargo, hubo incremento significativo ($p \leq 0.05$) en altura de planta, pero con diámetro de tallo menor. Así como un rendimiento mayor, expresado en número de frutos por planta, peso y tamaño mayor de fruto en las plantas bajo túneles de polietileno con pigmentación roja y azul.

Palabras clave: productividad de hortalizas, invernadero tipo túnel, cubierta de polietileno, radiación solar, pigmentación, *Solanum lycopersicum*.

INTRODUCCIÓN

El uso de plásticos con materiales y características diferentes puede reducir las limitaciones que el ambiente impone al establecimiento y desarrollo de cultivos en invernadero. La agricultura protegida ha tenido un gran desarrollo en México y el mundo, gracias a las ventajas que proporciona en comparación con la agricultura a cielo abierto; por un control ambiental mejor, eficiencia del agua y rendimiento mayores por unidad de superficie (González *et al.*, 2017). El uso de plásticos ha mejorado los métodos de producción agrícola con aplicaciones diferentes en forma de películas para acolchado, micro túneles, túneles e invernaderos (García-Enciso *et al.*, 2015). Las películas de polietileno son las cubiertas de uso más común debido a su flexibilidad y propiedades absorbentes de la radiación infrarroja, lo cual confiere funcionamiento mejor en condiciones ambientales diferentes (Rizo, 2015).

La radiación que incide de manera directa sobre el dosel vegetal es un factor importante que influye en crecimiento y desarrollo de las plantas. Por ello los materiales de cobertura deben tener transmisividad alta en el espectro de la radiación fotosintéticamente activa (PAR, 400 a 700 nm). Los materiales que en apariencia proporcionan mayor difusividad de la radiación solar transmitida al interior del invernadero son los que tienen un aspecto blanco lechoso; como las películas de polietileno, la fibra de vidrio y las cubiertas de revestimiento de invernadero de doble pared. El uso de cubiertas de invernadero de color y características diferentes modifica la intensidad y calidad de la radiación que reciben las plantas (Holcman y Sentelhas, 2012) lo cual afecta el crecimiento y rendimiento.

En un cultivo de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* L.) Ramos-López *et al.* (2017) observaron transmisividad mayor de la radiación fotosintéticamente

Key words: vegetable productivity, greenhouse tunnel, polyethylene cover, solar radiation, pigmentation, *Solanum lycopersicum*.

INTRODUCTION

The use of plastics with different materials and characteristics can reduce the limitations that the environment imposes on the establishment and development of greenhouse crops. Protected agriculture has experienced great development in Mexico and the world due to the advantages it provides compared to agriculture in the open field; because of a better environmental control, higher water efficiency, and higher yield per area unit (González *et al.*, 2017). The use of plastics has improved agricultural production methods with different applications in the form of mulch films, micro tunnels, tunnels and greenhouses (García-Enciso *et al.*, 2015). Polyethylene films are the most commonly used covers due to their flexibility and infrared radiation absorbing properties, which confers better performance in different environmental conditions (Rizo, 2015).

The incident radiation on the plant canopy is an important factor that influences the growth and development of plants. Therefore, the covering materials must have high transmissivity in the spectrum of photosynthetically active radiation (PAR, 400 to 700 nm). The materials that appear providing greater diffusivity of solar radiation transmitted into the greenhouse are those with a milky white appearance; such as polyethylene films, fiberglass, and double-walled greenhouse cladding covers. The use of greenhouse covers of different colours and characteristics modifies the intensity and quality of the radiation received by the plants (Holcman and Sentelhas, 2012), which affects the growth and yield.

In a shell tomato crop (*Physalis ixocarpa* L.) Ramos-López *et al.* (2017) observed a higher transmissivity of the photosynthetically active radiation (PAR) under a transparent cover, which resulted in a higher fruit yield compared to the PAR transmitted under a white cover. In tomato plants (*Solanum lycopersicum* L.) cv. Maximka, stem elongation, chlorophyll content and fruit yield were higher in greenhouses covered with red and yellow polyethylene films than under a colourless or blue cover (Gmizo *et al.*, 2012).

The tomato, native of South America and domesticated in Mexico, is an important horticultural

activa (PAR) bajo una cubierta transparente que dio como resultado rendimiento de fruto mayor, respecto a la PAR transmitida en una cubierta de color blanco. En plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cv. Maximka la elongación del tallo, el contenido de clorofila y rendimiento del fruto fue mayor en invernaderos cubiertos con películas de polietileno de color rojo y amarillo que bajo cubierta incolora o de color azul (Gmizo *et al.*, 2012).

El tomate, originario de Sudamérica y domesticado en México, es un cultivo hortícola importante en el mundo debido a los beneficios económicos que genera su comercialización (Délices *et al.*, 2019). En 2018 la producción mundial de tomate fue 182.56 millones de toneladas (Mega gramos, Mg) (Statista, 2020). China e India son los principales productores, México ocupa el noveno lugar mundial con una producción de 4.5 millones de Mg. México es el exportador principal de tomate en el mundo; contribuyó con 24.1% de las exportaciones totales en 2018 (ITC-TRADEMAP, 2019). En 2019 los principales estados productores de tomate en México fueron Michoacán, Durango, Coahuila y Baja California con 63 931 Mg (Forbes, 2020). En el país se tienen más de 51 179 ha de agricultura protegida, de las cuales 12 694 ha son invernaderos y 38 486 ha corresponden a malla sombra y macro túnel.

El tomate es el cultivo principal en México cuya producción (21%) ocurre bajo invernadero (TecnoAgro, 2020). Con estos antecedentes se planteó la hipótesis de que el color y las características del material de cubierta de invernadero para producción de tomate afecta la radiación recibida por las plantas; el objetivo de este estudio fue evaluar intensidad y distribución espectral de la radiación solar transmitida a través de cuatro cubiertas de invernadero con características físicas y color diferentes, sobre contenido relativo de clorofila, tasa de fotosíntesis, crecimiento y rendimiento de un cultivo de tomate.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del área de estudio

El estudio se realizó en la propiedad denominada rancho Nueva Rosita, Cedral, San Luis Potosí, México (23° 51' 9" N, 100° 41' 26" O; altitud 1750 m), el clima que predomina en la localidad es seco-templado, con temperatura media anual de 16.8 °C y precipitación media anual de 420 mm (INAFED, 2018).

crop in the world due to the economic benefits generated by its commercialization (Délices *et al.*, 2019). In 2018 worldwide tomato production was 182.56 million tons (Mega grams, Mg) (Statista, 2020). China and India are the main producers; Mexico ranks ninth in the world with a production of 4.5 million Mg. Mexico is the leading tomato exporter in the world that contributed 24.1% of total exports in 2018 (ITC-TRADEMAP, 2019). In 2019, the main tomato producing states in Mexico were Michoacán, Durango, Coahuila and Baja California with 63 931 Mg (Forbes, 2020). The country has more than 51 179 ha of protected agriculture, out of which 12.694 ha are greenhouses and 38 486 ha correspond to shade mesh and macro tunnel.

Tomato is the main crop in Mexico, whose production (21%) occurs in greenhouse (TecnoAgro, 2020). With this background, the hypothesis was that the colour and characteristics of the greenhouse cover material for tomato production affect the radiation received by the plants. The objective of this study was to evaluate the intensity and spectral distribution of solar radiation transmitted through four greenhouse covers with different physical characteristics and colour, on the relative chlorophyll content, photosynthesis rate, growth and yield of a tomato crop.

MATERIALS AND METHODS

Description of the study area

The study established in the property 'Rancho Nueva Rosita', Cedral, San Luis Potosí, Mexico (23° 51' 9" N, 100° 41' 26" W; altitude 1750 m), the climate is mostly dry-temperate, with an average annual temperature of 16.8 °C, and an average annual rainfall of 420 mm (INAFED, 2018).

Greenhouse cover features

Four oval-shaped 21×8×5.5 m (length × width × height) greenhouses were built, each one separated by 12 m in north-south orientation, with the door on the north side. Four diffuse high-density polyethylene covers with 70% transmissivity, 85% diffusivity and 180 µm thickness were evaluated. One of the tunnels was covered with milky white polyethylene of a commercial type (0.94 g cm⁻³); another one with polyethylene from a formulation designed and patented by the Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA)

Características de las cubiertas de invernaderos

Cuatro invernaderos de forma ovalada se construyeron de 21×8×5.5 m (longitud × amplitud × altura) con 12 m de separación, en orientación norte-sur y con puerta en el lado norte. En ellos se evaluaron cuatro películas de polietileno difuso de alta densidad con 70% de transmisividad, 85% de difusión y un espesor de 180 µm. Uno de los túneles se cubrió con polietileno de tipo comercial (0.94 g cm⁻³) color blanco lechoso; otra con polietileno de una formulación diseñada y patentada por el Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA) con propiedades de termorregulación. Y cada una de las restantes con un tipo de cubierta también formulada por el CIQA, con pigmentación de color rojo o azul. Las películas se elaboraron con base en la formulación de aditivos de la Patente Mexicana No. 311701 desarrollada por el CIQA, con aditivos para reflectancia mayor de radiación de onda corta, lo cual permite la salida de la radiación infra roja.

Establecimiento del cultivo

Para el estudio se estableció un cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) de crecimiento indeterminado, híbrido Cedral 2012 (Zeraim Gadera-Syngental, Inc). Las plantas se trasplantaron 15d después de germinación (15 julio, 2018) en bolsas de plástico (Cocopeat, 9L de capacidad) rellenas con sustrato hidropónico de musgo y fibra de coco. Las bolsas se establecieron en un arreglo de triangular separadas 50 cm. Dos franjas de plantas se establecieron separadas 3m respecto al centro en cada invernadero (61 plantas por línea). Las plantas se fertilizaron y regaron con un sistema de fertirriego por goteo con cinco riegos diarios de solución nutritiva (el estándar para el cultivo de tomate sin suelo) en un tiempo promedio de 13 min.

Instrumentación y mediciones

La característica espectral de la radiación solar fotosintéticamente activa, (PAR, 400 - 700 nm) que incidió y se transmitió a través de cada cubierta se determinó con un espectroradiómetro (modelo PS-100, Apogge Inst., Logan, Utah, USA). La medición se realizó en condiciones de cielo despejado al medio día (20-30 julio, 2018) con el sensor orientado primero hacia el zenit y después con el sensor colocado debajo de cada cubierta.

La PAR incidente y transmitida bajo cada cubierta se midió con los sensores quantum (modelo SQ-512, Apogge Inst., Logan, Utah, USA) colocados en campo abierto y bajo el centro de cada túnel (a 1.20 m sobre la superficie del suelo). Cada sensor se conectó a un concentrador electrónico de datos (modelo CR1000, Campbell, Sci., Logan, Utah, USA), el cual registra

with thermoregulatory properties. And each of the others with a type of cover also formulated by CIQA, with red or blue pigmentation. The covers were made based on the additive formulation of Mexican Patent No. 311701 developed by CIQA, with additives for greater reflectance of the short-wave radiation, which allows the exit of infrared radiation.

Establishing the crop

For the study, a tomato crop (*Solanum lycopersicum* L.) of indeterminate growth, hybrid Cedral 2012 (Zeraim Gadera-Syngental, Inc) was established. Tomato transplant was made 15d after germination (July 15, 2018) in plastic bags (Cocopeat, 9L capacity) filled with hydroponic substrate of moss and coconut fibre. The bags were set up in a triangular arrangement, 50 cm apart. Two plant strips were established 3m apart from the centre in each greenhouse (61 plants per line). The plants were fertilized and watered with a drip fertigation system, with five daily irrigations of nutrient solution (the hydroponic tomato crop standard) for a 13 min average time.

Instrumentation and measurements

The spectral characteristic of the photosynthetically active solar radiation (PAR, 400-700 nm) incident and transmitted through each cover was determined with a spectroradiometer (model PS-100, Apogge Inst., Logan, Utah, USA). Measurement was carried out in clear sky conditions at noon (July 20-30, 2018) with the sensor oriented first towards the zenith, and then with the sensor positioned under each cover.

Incident and transmitted PAR under each cover was measured with quantum sensors (model SQ-512, Apogge Inst., Logan, Utah, USA) placed in the open field and under the centre of each tunnel (at 1.20 m above the ground surface). Each sensor was connected to a datalogger (model CR1000, Campbell, Sci., Logan, Utah, USA), which records measurements per second, obtaining averages every 30 min. Data recording was made continuously during the growth cycle of the crop (August 10 to December 7, 2018).

Air temperature was measured with temperature sensors installed inside each tunnel (Therm 107, Campbell, Sci., Logan, Utah, USA). Air temperature in the open field was determined with a temperature and relative humidity probe (model HC2S3, Campbell, Sci., Logan, Utah). These sensors were also connected to the CR1000 datalogger to record readings every second and 30-min averages.

Plant growth and fruit yield

Once every 15d during the crop growth cycle, the relative chlorophyll content of the leaves was measured with a portable

mediciones por segundo, con obtención de promedios cada 30 min. El registro se hizo en forma continua durante el ciclo de crecimiento del cultivo (10 agosto a 7 diciembre, 2018).

La temperatura del aire se midió con sensores de temperatura instalados dentro de cada túnel (Therm 107, Campbell, Sci., Logan, Utah, USA). La temperatura del aire a campo abierto se determinó con una sonda de temperatura y humedad relativa (modelo HC2S3, Campbell, Sci., Logan, Utah). Estos sensores también se conectaron al concentrador electrónico de datos CR1000 para registrar lecturas cada segundo y sus promedios cada 30 min.

Crecimiento de las plantas y rendimiento de fruto

Una vez cada 15d durante el ciclo de crecimiento del cultivo, el contenido relativo de clorofila de las hojas se midió con un medidor portátil de clorofila, SPAD 502 plus (Minolta, Japan), las tasas de fotosíntesis neta y de transpiración foliar con un medidor portátil de fotosíntesis LI-6800 (LI-COR, Nebraska, USA); y la temperatura foliar con un termómetro infrarrojo MI-220 (Apogee, Inst., Logan, Utah, USA). También se midió la altura de las plantas (flexómetro) y diámetro del tallo (vernier digital). En la cosecha se determinó el número de frutos por planta, número de frutos cosechados, diámetro (vernier digital) y peso (báscula digital) promedio de fruto y el rendimiento total (peso total de frutos cosechados) por planta.

Análisis estadísticos

El efecto de la radiación transmitida en cada túnel en la temperatura foliar, contenido de clorofila, tasa de fotosíntesis, transpiración foliar, altura de plantas y parámetros del rendimiento se determinó con un diseño completamente al azar de cuatro tratamientos (cubierta de cada túnel) con cuatro muestras aleatorias cada una de cuatro plantas, 16 plantas evaluadas por tratamiento (túnel), para un total de 64 unidades experimentales. La comparación múltiple de medias de tratamientos se realizó con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Característica espectral de la radiación transmitida a través de las cubiertas

La radiación solar fotosintéticamente activa (PAR, en la banda de longitud de onda 400-700 nm) transmitida a través de la cubierta patentada por el CIQA - Centro de Investigación en Química Aplicada (PAR_ciqa) fue muy similar a la observada en la

chlorophyll meter, SPAD 502 plus (Minolta, Japan); the rates of net photosynthesis and foliar transpiration were estimated with a portable photosynthesis meter LI-6800 (LI-COR, Nebraska, USA); and the leaf temperature with an infrared thermometer MI-220 (Apogee, Inst., Logan, Utah, USA). Plant height (flex metre) and stem diameter (digital Vernier) were also measured. At harvest, the number of fruits per plant, harvested fruits, diameter (digital Vernier) and average weight (digital scale) of the fruit, and yield (total weight of harvested fruits) per plant were determined.

Statistical analysis

The effect of the radiation transmitted in each tunnel on leaf temperature, chlorophyll content, photosynthesis rate, leaf transpiration, plant height and yield parameters was determined in a completely randomized design of four treatments (cover of each greenhouse), with four randomized samples each one of four plants, 16 plants evaluated per treatment (greenhouse), for a total of 64 experimental units. The multiple comparison of treatment means was obtained with the Tukey's test ($p \leq 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

Spectral characteristic of the radiation transmitted through the covers

The photosynthetically active solar radiation (PAR, in the wavelength band 400 - 700 nm) transmitted through the cover patented by CIQA - Centro de Investigación en Química Aplicada (PAR_ciqa) was very similar to that observed in the commercial cover made of diffuse high-density polyethylene (PAR_comer) (Figure 1). The peak of the highest transmissivity (thousands of spectroradiometer units) of both covers occurred at 555 nm, similar to the peak of the incident solar radiation. The two covers allowed a higher transmissivity in the whole band (400 to 700 nm) than those of diffuse blue and red polyethylene. The highest transmissivity peak of the blue polyethylene was located between 500 and 525 nm, but from 400 to 500 nm the transmissivity was very similar in the commercial version covers and those of the CIQA patent. While the radiation in the 600 to 700 nm band was the lowest transmissivity of all the covers (Figure 1).

The red polyethylene cover allowed the lowest PAR transmissivity of all covers in the 400 to 575 nm band. But it increased rapidly from that wavelength

cubierta comercial de polietileno difuso de alta densidad (PAR_comer) (Figura 1). El pico de mayor transmisividad (miles de unidades de espectro radiómetro) de ambas cubiertas ocurrió en 555 nm, similar al pico de la radiación solar incidente. Las dos cubiertas permitieron transmisividad en toda la banda (400 a 700 nm) mayor que las de polietileno difuso de color azul y rojo. El pico de transmisividad mayor del polietileno azul se ubicó entre 500 y 525 nm, pero de 400 a 500 nm la transmisividad fue muy similar en las cubiertas de versión comercial y las de patente CIQA. Mientras que la radiación en la banda de 600 a 700 nm fue la de menor transmisividad de todas las cubiertas (Figura 1).

La cubierta de polietileno rojo (red) permitió la transmisividad de PAR más baja de todas las cubiertas en la banda de 400 a 575 nm. No obstante, se incrementó rápidamente a partir de esa longitud de onda hasta los 700 nm y fue mayor que la del polietileno de color azul (blue), aunque muy similar a la de las otras cubiertas. (Figura 1).

to 700 nm, and was greater than that under blue polyethylene, although very similar to that of the other covers. (Figure 1).

The commercial high-density diffuse polyethylene cover transmitted 56.98% of the PAR and was very similar to that transmitted by the CIQA patent cover with 59.10% (Table 1). In the other two covers, transmissivity was much lower, 31.4% under blue colour, and 24.91% under red. These transmissivities are much lower than those observed in covers made of other materials. For example, Fuina *et al.* (2016) found that the PAR transmissivity of transparent rigid plastic greenhouse covers of the polycarbonate, polymethylmethacrylate and polyethylene terephthalate type was up to 80%; while the transmissivity under the blue polycarbonate cover was approximately 50%. According to the studies by Schettini *et al.* (2011), the coefficient of transmissivity to PAR radiation in a diffuse low-density polyethylene cover (200 μm) was higher than that of photo-selective green covers.

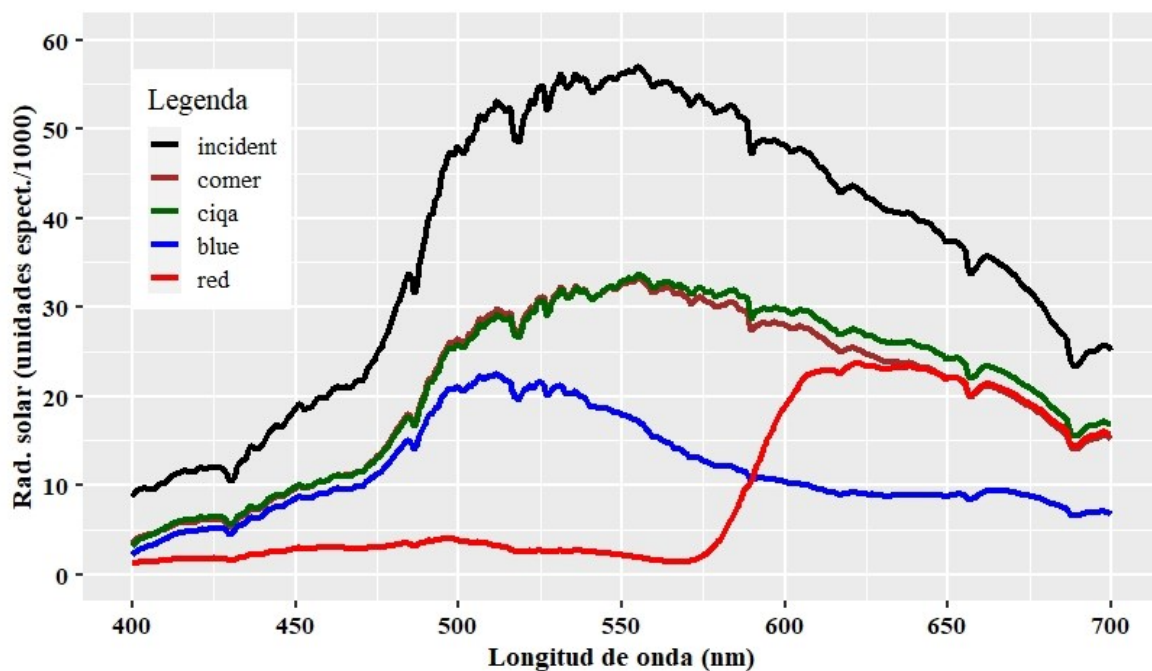


Figura 1. Radiación solar incidente (PAR, en la banda de 400 a 700 nm) y transmitida a través de las cubiertas de polietileno difuso de alta densidad de tipo comercial (comer) y con propiedad de termorregulación de patente CIQA (ciqa) con pigmentación azul (blue) y roja (red).

Figure 1. Incident and transmitted solar radiation (PAR, in the 400 to 700 nm band) through the covers of diffuse high-density polyethylene of commercial type (comer), and with thermoregulation property of CIQA patent (ciqa), of blue pigmentation (blue) and red pigmentation (red).

La cubierta comercial de polietileno difuso de alta densidad transmitió 56.98% de la PAR y fue muy parecida a la transmitida por la cubierta de patente CIQA con 59.10% (Cuadro 1). En las otras dos cubiertas la transmisividad fue mucho menor, 31.4% bajo color azul y 24.91% bajo color rojo. Estas transmisividades son mucho menores que las observadas en cubiertas de otros materiales. Por ejemplo, Fuina *et al.* (2016) encontraron que la transmisividad a la PAR de las cubiertas transparentes de plástico rígido para invernadero de tipo policarbonato, polimetilmetacrilato y tereftalato de polietileno fue de hasta 80%; mientras que la transmisividad bajo cubierta de policarbonato azul fue 50% aproximado. Según los estudios de Schettini *et al.* (2011) el coeficiente de transmisividad a la radiación PAR en una película de polietileno difuso de densidad baja (200 μm) fue mayor que el de las cubiertas foto selectivas de color verde.

Para la radiación en la banda 400 a 550 nm, bajo las cubiertas de versión comercial y de patente CIQA, se observó la misma transmisividad 54.91 y 54.49% de la PAR incidente en dicha banda (Cuadro 1). Bajo la cubierta CIQA de color azul la transmisividad de PAR fue 41.03% y en la CIQA de color rojo solo fue 8.43%. En la amplitud 550 a 700 nm, la cubierta de patente CIQA tuvo transmisividad (62.53%) mayor que la radiación incidente, seguida por la de versión comercial (58.54%), la de color rojo 37.8% y la que presentó transmisividad menor fue la cubierta de patente CIQA de color azul (24.38%). La diferencia en la característica espectral de la PAR transmitida por

For radiation in the 400 to 550 nm band, under the commercial version and the CIQA patent cover, the same transmissivity 54.91 and 54.49% of the incident PAR in the same band was observed (Table 1). Under the blue CIQA cover, the PAR transmissivity was 41.03%, while in the red CIQA it was only 8.43%. In the 550 to 700 nm amplitude, the CIQA patent cover had higher transmissivity (62.53%) of the incident radiation, followed by the commercial version (58.54%), the red one, 37.8%, and the one with the lowest transmissivity was the CIQA blue cover (24.38%). The difference in the spectral characteristic of the PAR transmitted by each cover can impact plant growth and yield.

Solar radiation transmitted through the covers

The CIQA patent polyethylene had higher transmissivity to incident solar radiation in the band of photosynthetically active radiation at daytime (8:00 a.m. to 8:00 p.m.), and during the crop growth cycle. The diffuse polyethylene of the commercial type ranked second, and later in a smaller amount, the diffuse polyethylene CIQA blue and the CIQA red, with very little difference between the two (Figure 2).

In the early hours of the day (between 8:00 and 10:00 h) and late in the afternoon (after 18:00 h) transmissivity was very similar under the four covers evaluated. While between 13:00 and 15:00 h, we observed the highest incidence of PAR and the highest difference in transmissivity between the different

Cuadro 1. Transmisividad (%) de la radiación fotosintéticamente activa (PAR) en cuatro diferentes cubiertas de invernaderos, en tres amplitudes de band.

Table 1. Transmissivity (%) of photosynthetically active radiation (PAR) in four different greenhouse covers, in three bandwidth.

Cubierta	400 a 700 nm	(PAR) 400 a 550 nm	550 a 700 nm
Polietileno difuso comercial	56.98	54.91	58.54
Polietileno difuso patente CIQA	59.10	54.49	62.53
Polietileno difuso CIQA color azul	31.49	41.03	24.38
Polietileno difuso CIQA color rojo	24.91	8.43	37.18

cada cubierta pueden impactar en el crecimiento y rendimiento de las plantas.

Radiación solar transmitida por las cubiertas

El polietileno de patente CIQA tuvo transmisividad mayor a la radiación solar incidente, en la banda de la radiación fotosintéticamente activa en horas del día (8:00 a 20:00 h), durante el ciclo de crecimiento del cultivo. En segundo lugar, el polietileno difuso de tipo comercial, y después en cantidad menor, el polietileno difuso CIQA de color azul y el CIQA de color rojo, con muy poca diferencia entre los estos dos (Figura 2).

En las primeras horas del día (entre 8:00 y 10:00 h) y las últimas de la tarde (después de las 18:00 h) la transmisividad fue muy similar bajo las cuatro cubiertas

covers (Figure 2). In this regard, Romero-Gómez *et al.* (2012) showed that the PAR transmissivity of a milky-white high-density polyethylene cover was higher than that observed under photo-selective polyethylene (green).

Leaf and air temperature inside greenhouses

The differences in the solar radiation transmitted in each polyethylene cover had little effect on the air temperature inside the greenhouses (Table 2). The maximum difference in average daily temperature between the covers was 0.56 °C during the crop growth cycle. Other unmeasured factors could influence the general internal temperature response of the greenhouses, although the experimental conditions were homogenized. During the cultivation cycle, the

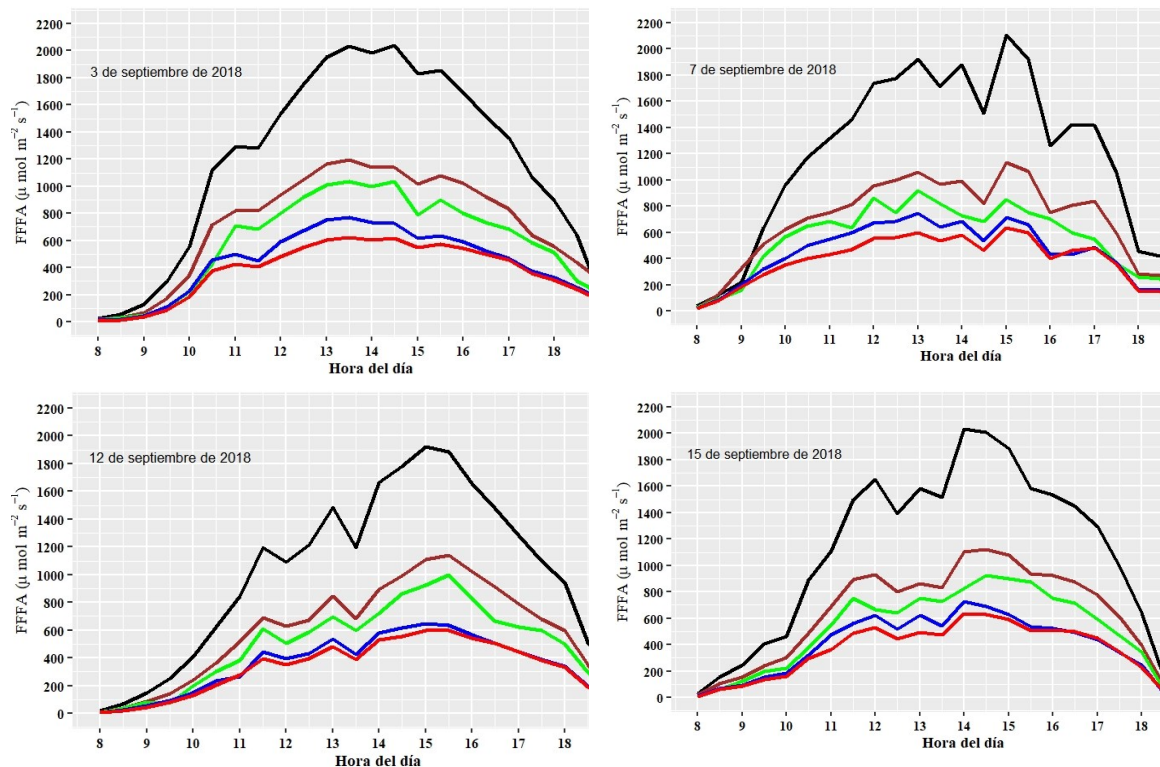


Figura 2. Flujo de fotones fotosintéticamente activos (FFFA) incidente (línea negra) y transmitido en la cubierta de polietileno difuso de patente CIQA (línea café), polietileno difuso de tipo comercial (línea verde), polietileno con propiedad de termorregulación de patente CIQA de color azul (línea azul) y polietileno de patente CIQA de color rojo (línea roja) durante horas del día en cuatro fechas del ciclo de crecimiento del cultivo de tomate.

Figure 2. Photosynthetically active photon flux (FFFA) incident (black line), and transmitted in the cover of CIQA patent diffuse polyethylene (brown line), commercial diffuse polyethylene (green line), CIQA patent with thermoregulation property blue polyethylene (blue line), and red (red line), during hours of the day at four dates of the growth cycle of tomato plants.

evaluadas. Mientras que entre las 13:00 y las 15:00 h se observó la incidencia mayor de PAR y la diferencia mayor en transmisividad entre las diferentes cubiertas (Figura 2). Al respecto, Romero-Gómez *et al.* (2012) mostraron que la transmisividad a la PAR de una película de polietileno de densidad alta de color blanco lechoso fue mayor que la observada bajo polietileno foto selectivo (color verde).

Temperatura foliar y del aire dentro de los invernaderos

Las diferencias en la radiación solar transmitida en cada cubierta de polietileno tuvieron poco efecto en la temperatura del aire al interior de los invernaderos (Cuadro 2). La diferencia máxima en temperatura promedio diaria entre las cubiertas fue 0.56 °C durante el ciclo de crecimiento del cultivo. Otros factores no medidos pudieron influir en la respuesta general de la temperatura interna de los túneles, aunque las condiciones experimentales se homogenizaron. Durante el ciclo del cultivo, la diferencia entre la temperatura promedio diaria a cielo abierto y en el interior de los túneles con cubierta de polietileno difuso con patente CIQA fue 3.57 °C bajo cubierta color rojo, 3.38 °C bajo color blanco, 3.09 °C bajo color azul, y de 3.01 °C bajo polietileno de tipo comercial. Estas diferencias de temperatura son menores a las reportadas por otros estudios.

Por ejemplo, Arcidiacono *et al.* (2006) registraron la temperatura dentro de un invernadero con una cubierta de película foto selectiva roja (EVA

difference between the daily average temperature in the open field and inside the tunnels with diffuse polyethylene cover with CIQA patent was 3.57 °C under red cover, 3.38 °C under white cover, 3.09 °C under blue, and 3.01 °C under commercial type polyethylene. These temperature differences are less than those reported by other studies.

For example, Arcidiacono *et al.* (2006) recorded the temperature inside a greenhouse with a red photo-selective film cover (150 μm EVA), and it was 12.2 °C higher than the temperature in the open field; while under a milky white diffuse polyethylene cover it was 8.8 °C higher. The material and colour of the greenhouse cover influence the temperature inside. Saleh *et al.* (2003) found that the highest air temperature in the greenhouse under a red polyethylene cover was 43.53 °C, while under other cover colours a lower highest temperature was recorded; specifically, under yellow-greenish (41.91 °C), under blue polyethylene (40.76 °C), and under violet cover (39.76 °C). However, Atilgan *et al.* (2019) observed the same highest air temperature inside greenhouses with transparent, red and blue polyethylene covers.

Inside the greenhouses, the foliar temperature of the plants under the CIQA diffuse polyethylene red cover was higher than under the CIQA-patent covers, and also higher than those covered with commercial plastic (Tukey, $p \leq 0.05$). However, the leaf temperature was the same between the plants under blue and red CIQA-patent polyethylene (Figure 3).

Cuadro 2. Temperatura promedio diaria del aire (°C) a campo abierto y en el interior invernaderos con cubierta de color diferente, durante el ciclo de crecimiento del cultivo de tomate.

Table 2. Average daily air temperature (°C) in the open field and inside greenhouses with different coloured covers, during the growth cycle of a tomato crop.

Fecha	Campo abierto	Polietileno difuso comercial	Polietileno difuso patente CIQA	Polietileno difuso CIQA color rojo	Polietileno difuso CIQA color azul
15 ago – 1 sep	21.43	26.33	26.65	26.15	25.53
1 - 20 sep	20.25	20.67	24.49	24.65	24.37
20 sep - 9 oct	19.73	23.35	23.07	23.04	22.71
9 -16 oct	20.16	22.93	22.34	22.88	22.50
16 - 26 oct	18.01	21.16	20.97	21.42	20.90
26 oct - 9 nov	17.10	19.78	19.41	19.93	19.18
9 - 21 nov	12.23	16.07	16.07	16.19	15.86
21 nov - 7 dic	13.8	16.5	16.7	17.0	16.4
Total (promedio)	17.84	20.85	21.22	21.41	20.93

de 150 μm) y fue 12.2 °C mayor que la temperatura a cielo abierto; mientras que bajo una cubierta de polietileno difuso de color blanco lechoso fue 8.8 °C mayor. El material y color de la cubierta de los invernaderos influye la temperatura en el interior. Saleh *et al.* (2003) encontraron que la temperatura máxima del aire en invernadero bajo cubierta de polietileno rojo fue 43.53 °C, mientras que bajo otros colores de cubierta se registró temperatura máxima menor, bajo color amarillo-verdoso (41.91 °C), bajo polietileno azul (40.76 °C) y bajo color violeta (39.76 °C). Sin embargo, Atilgan *et al.* (2019) observaron la misma temperatura máxima del aire dentro de invernaderos con cubiertas de polietileno transparente, color rojo y azul.

En el interior de los invernaderos, la temperatura foliar de las plantas bajo cubierta de polietileno difuso CIQA de color rojo fue mayor que bajo la cubierta de patente CIQA y también mayor que bajo la cubierta con plástico comercial (Tukey, $p \leq 0.05$). No obstante, la temperatura foliar fue igual entre las plantas bajo polietileno CIQA de color azul y rojo (Figura 3).

La temperatura foliar mayor en plantas bajo cubierta de polietileno CIQA de color rojo estuvo en proporción directa con la temperatura máxima del aire dentro de ese invernadero (Cuadro 2); en el cual se registró también la tasa de transpiración foliar menor (Figura 4). Al disminuir la tasa de transpiración, la temperatura foliar tiende a incrementarse (Soto-Bravo, 2018). Un follaje expuesto a una temperatura mayor en el interior de un invernadero puede incrementar la temperatura del aire, debido al aumento de la emisión de radiación infrarroja por el follaje de las plantas. Por ejemplo, un aumento de 0.25 a partir de 25 °C en el follaje de un cultivo en invernadero incrementa la emisión de radiación infrarroja en 1.43 W m^{-2} ; si esta radiación la absorbe una capa de aire de 3 m de altura, el incremento total aproximado de la temperatura del aire es 1.82 °C en 6 h.

Soto-Bravo (2018) observó en condiciones de riego oportuno que la temperatura foliar de plantas de tomate Cherry cv. Super Suncherry y de pimiento morrón (*Capsicum annuum* híbrido Polaris) fue 6.5 y 7.3 °C menor que la temperatura del aire (32.9 °C) al medio día. Pero, en plantas bajo estrés hídrico, la temperatura foliar fue 4 y 6 °C mayor que la temperatura del aire en el invernadero de cada cultivo. Esto se debió a que la reducción de la tasa de transpiración

The highest leaf temperature in plants under red CIQA polyethylene cover was in direct proportion to the maximum air temperature inside that greenhouse (Table 2); in which the lowest foliar transpiration rate was also recorded (Figure 4). As the transpiration rate decreases, the leaf temperature tends to increase (Soto-Bravo, 2018). A foliage exposed to a higher temperature inside a greenhouse can increase the air temperature due to the increase in the emission of infrared radiation by the plant foliage. For example, an increase of 0.25 from 25 °C in the foliage of a greenhouse crop increases the emission of infrared radiation by 1.43 W m^{-2} . If this radiation is absorbed by a layer of air 3 m high, the approximate total increase in air temperature is 1.82 °C in 6 h.

Soto-Bravo (2018) observed, under timely irrigation conditions, that the leaf temperature of

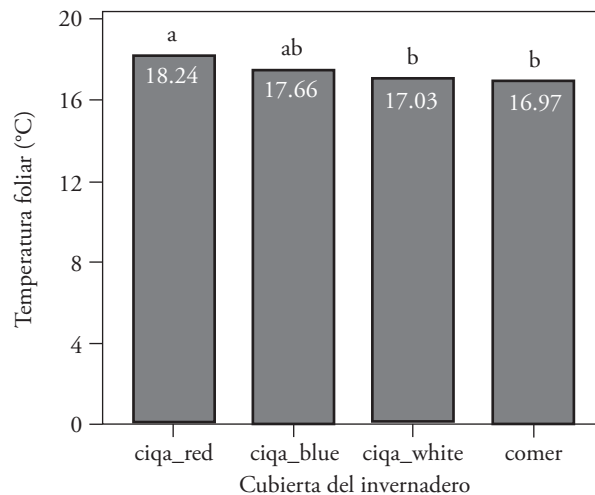


Figura 3. Temperatura foliar (°C) de plantas de tomate (híbrido Cedral) en invernaderos con cubierta de polietileno difuso de densidad alta; de tipo comercial (comer), blanco con propiedades de termorregulación de patente CIQA (ciqa_white), con color azul (ciqa_blue) y con color rojo (ciqa_red). Medias con la misma literal son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).

Figure 3. Leaf temperature (°C) of tomato plants (Cedral hybrid) in greenhouses with a diffuse high-density polyethylene cover; commercial type (comer), CIQA patent white with thermoregulation properties (ciqa_white), blue (ciqa_blue) and red (ciqa_red). Means with different letter indicate statistical difference (Tukey, $p \leq 0.05$).

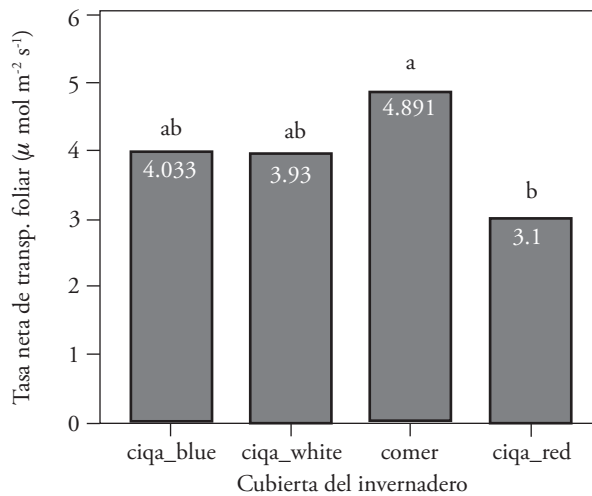
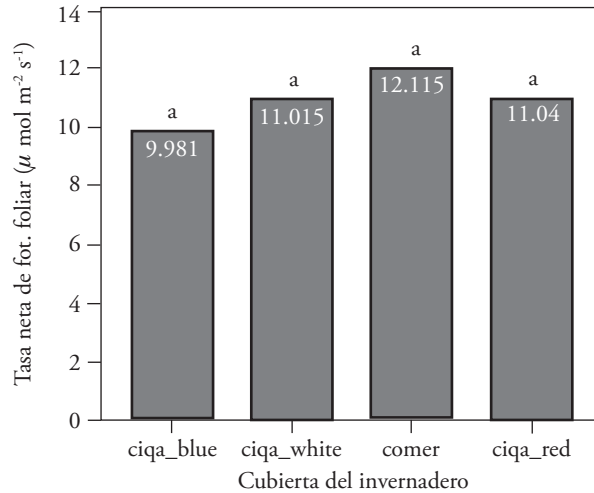
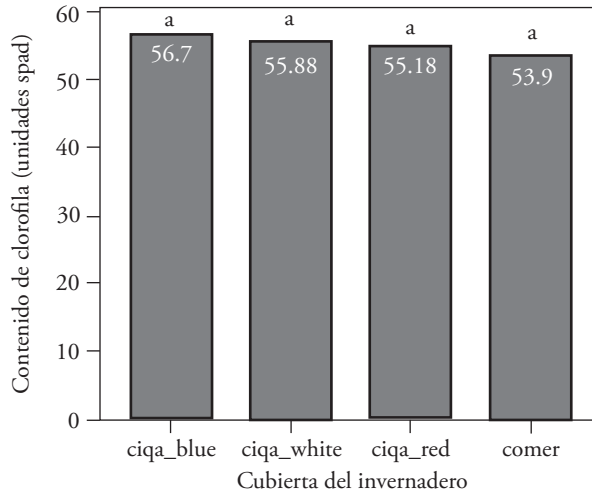


Figura 4. Contenido relativo de clorofila, tasa neta de fotosíntesis foliar, y de transpiración de hojas de tomate híbrido Cedral, crecidas en invernadero bajo cubiertas de polietileno difuso; de tipo comercial (comer), con propiedades de termorregulación de patente CIQA (ciqa_white), formulaciones CIQA de color azul (ciqa_azul) y rojo (ciqa_rojo). Medias con literal distinta indican diferencias estadística (Tukey, $p \leq 0.05$).

Figure 4. Relative chlorophyll content, photosynthesis net rate in leaves, and transpiration of Cedral hybrid tomato leaves, growing in a greenhouse under diffuse polyethylene covers; commercial type (comer), CIQA patent with thermoregulation properties (ciqa_white), blue (ciqa_blue) and red (ciqa_red) CIQA formulations. Means with different letter indicate statistical difference (Tukey, $p \leq 0.05$).

limitó el enfriamiento por transpiración en las hojas. La temperatura foliar de plantas cultivadas en invernadero también depende de las propiedades espectrales de la cubierta. Samaniego-Cruz *et al.* (2002) observaron que la temperatura foliar de plantas de tomate (cv. Floradade) y de pimiento morrón (cv. Capistrano) bajo cubiertas de polietileno con aditivos reflejantes de radiación solar y absorbentes de radiación infrarroja, fue 0.5 y 1.5 °C menor que la temperatura foliar de plantas similares bajo cubierta de polietileno comercial.

Contenido de clorofila, tasa neta de fotosíntesis y transpiración foliar

Las diferencias en la distribución porcentual de la radiación solar que se transmitió, en intervalos diferentes de longitud de onda de la PAR bajo cada

Cherry tomato plants cv. Super Suncherry and bell pepper (*Capsicum annuum* hybrid Polaris) was 6.5 and 7.3 °C lower than air temperature (32.9 °C) at noon. But, in plants under water stress, the leaf temperature was 4 and 6 °C higher than the air temperature in the greenhouse of each crop. This was because the reduction in the transpiration rate limited cooling by the transpiration of the leaves. The leaf temperature of greenhouse-grown plants also depends on the spectral properties of the cover. Samaniego-Cruz *et al.* (2002) observed that the leaf temperature of tomato plants (cv. Floradade) and bell pepper (cv. Capistrano) under polyethylene covers with additives reflecting solar radiation and absorbers of infrared radiation was 0.5 and 1.5 °C lower than the leaf temperature of similar plants under a commercial polyethylene cover.

cubierta de invernadero (Cuadro 1), y magnitudes diferentes de la radiación transmitida durante el ciclo de crecimiento del cultivo (Figura 2), no hubo efecto significativo en el contenido relativo de clorofila (Tukey, $p>0.05$) de las hojas (Figura 4), ni en la tasa neta de fotosíntesis (Tukey, $p>0.05$) (Figura 4) de las plantas. Es decir que éstas tuvieron la capacidad de producir y conservar la misma cantidad de clorofila bajo magnitud y característica espectral diferente de la radiación recibida bajo cubiertas distintas; así como para mantener equivalente la tasa neta de fotosíntesis.

En otros géneros y especies vegetales se han obtenido resultados diferentes. En plantas Ramo de novia (*Saxifraga stolonifera*), He *et al.* (2017) observaron que la tasa neta de fotosíntesis fue igual bajo una cubierta de polietileno de color blanco que en la de color rojo, y ambas fueron mayores a la observada en las plantas bajo el polietileno de color azul. Plántulas de pepino (*Cucumis sativus*) que se desarrollaron bajo luz roja y azul tuvieron menores contenidos de clorofila y tasas netas de asimilación de bióxido de carbono, que las plantas desarrolladas bajo luz blanca (Su *et al.*, 2014).

Las plantas bajo la cubierta de polietileno difuso de color rojo recibieron menos radiación y alcanzaron tasa menor de transpiración foliar (Figura 4). Las plantas que crecieron bajo la cubierta de polietileno difuso de tipo comercial expresaron tasa mayor de transpiración foliar (Figura 4) (Tukey, $p\leq 0.05$); una mayor tasa de transpiración foliar puede ocasionar un efecto de enfriamiento (Soto, 2018) que puede reducir la temperatura del aire. La temperatura del aire dentro del invernadero con cubierta de polietileno difuso de alta densidad (versión comercial) fue menor que la observada bajo las otras cubiertas (Cuadro 2).

Crecimiento y rendimiento de las plantas

Las características espectrales de la radiación transmitida en cada cubierta de invernadero (Figura 1) y sus consecuencias en FFFA (Figura 2), afectó la altura y diámetro del tallo de las plantas (Tukey, $p\leq 0.05$) (Figura 5). Las plantas que crecieron bajo el polietileno difuso de colores rojo o azul presentaron altura mayor, pero con diámetro de tallo menor (Tukey, $p\leq 0.05$). Esto probablemente se debió a una radiación solar menor recibida en la banda de 400 a

Chlorophyll content, net photosynthesis rate, and foliar transpiration

The differences in the percentage distribution of the solar radiation transmitted in different intervals of the PAR wavelength under each greenhouse cover (Table 1), and the different magnitudes of the radiation transmitted during the crop growth cycle (Figure 2) had no significant effect on the relative chlorophyll content (Tukey, $p>0.05$) of the leaves (Figure 4), nor on the net photosynthesis rate (Tukey, $p>0.05$) (Figure 4) of the plants. In other words, they had the capacity to produce and conserve the same amount of chlorophyll under different magnitude and spectral characteristics of the radiation received under the different covers; as well as to keep the net photosynthesis rate equivalent.

In other vegetal species, different results have been obtained. In plants of *Saxifraga stolonifera*, He *et al.* (2017) observed that the net photosynthesis rate was the same under a white polyethylene cover as in a red one, and both were higher than that observed in plants under the blue polyethylene. Cucumber (*Cucumis sativus*) seedlings that grew under red and blue light had lower chlorophyll content and net carbon dioxide assimilation rates than plants grown under white light (Su *et al.*, 2014).

The plants under the red diffuse polyethylene cover received less radiation and reached a lower rate of foliar transpiration (Figure 4). The plants that grew under the cover of diffuse polyethylene of a commercial type expressed a higher rate of foliar transpiration (Figure 4) (Tukey, $p\leq 0.05$); a higher rate of foliar transpiration can cause a cooling effect (Soto, 2018) that can reduce air temperature. The air temperature inside the greenhouse with a diffuse high-density polyethylene cover (commercial version) was lower than that observed under the other covers (Table 2).

Plant growth and yield

The spectral characteristics of the radiation transmitted in each greenhouse cover (Figure 1), and its consequences on FFFA (Figure 2) affected the height and diameter of the plant stems (Tukey, $p\leq 0.05$) (Figure 5). The plants that grew under the red or blue diffuse polyethylene were taller, but with

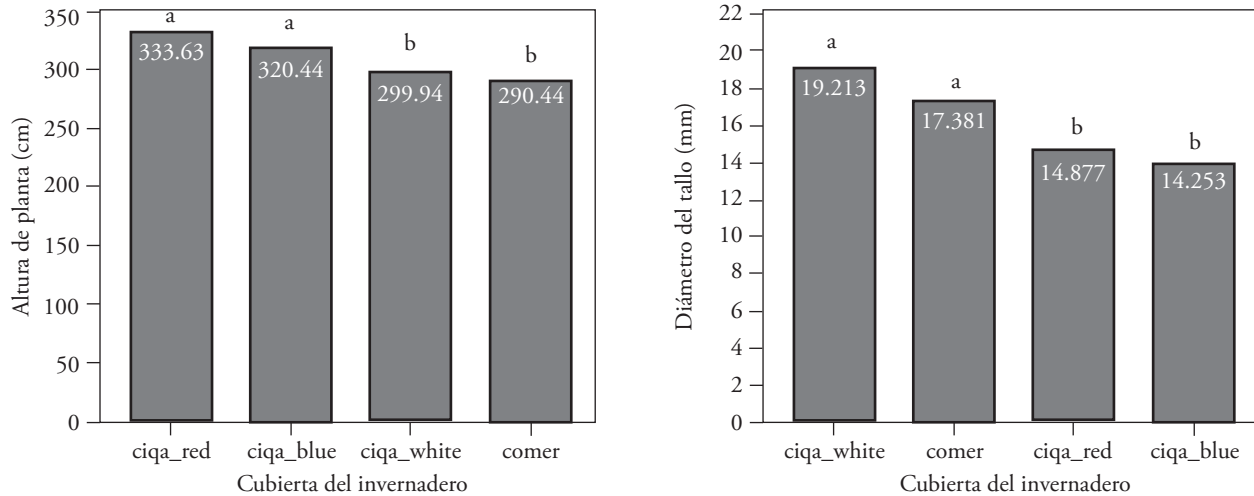


Figura 5. Altura de plantas y diámetro de tallo de tomate (híbrido Cedral), crecidas en invernadero bajo cubiertas de polietileno difuso; de tipo comercial (comer), con propiedades de termorregulación de patente CIQA (ciqa_white), formulaciones CIQA de color azul (ciqa_azul) y rojo (ciqa_rojo). Medias con literal distinta indican diferencia estadística (Tukey, $p \leq 0.05$).

Figure 5. Tomato plant height and stem diameter (Cedral hybrid), growing in greenhouse under diffuse polyethylene covers; commercial type (comer), CIQA patent with thermoregulation properties (ciqa_white), blue (ciqa_blue) and red (ciqa_red) CIQA formulations. Means with different letter indicate statistical difference (Tukey, $p \leq 0.05$).

550 nm, en comparación con las plantas que crecieron bajo cubierta de polietileno difuso de color rojo (Figura 1). En cambio, las plantas cultivadas bajo cubierta de polietileno difuso de color azul recibieron radiación menor en la banda de 550 a 700 nm (Figura 1). A estos cambios en radiación incidente en las plantas de tomates se atribuyó la elongación del tallo que produjo plantas más altas y delgadas. Delgado-Tobón *et al.* (2020) también observaron una reducción del diámetro del tallo de las plantas de tomate bajo películas de polietileno con pigmentación roja o azul, comparadas con plantas bajo cubiertas de polietileno blanco o transparente.

El rendimiento de fruto por planta en plantas que crecieron bajo cubiertas de polietileno difuso de color rojo y azul fue mayor (Tukey, $p \leq 0.05$) que el obtenido bajo las cubiertas de polietileno comercial y de patente CIQA debido a la formación de un número mayor de frutos (Tukey, $p \leq 0.05$) con peso y diámetro mayor (Cuadro 3) en ambos tratamientos. Las plantas cultivadas bajo el polietileno de tipo comercial produjeron número menor de frutos cosechados (Tukey, $p \leq 0.05$), mientras que en aquellas cultivadas bajo el polietileno de patente CIQA se registró el peso promedio menor de fruto (Tukey, $p \leq 0.05$).

a smaller stem diameter (Tukey, $p \leq 0.05$). This was probably due to a lower solar radiation received in the 400 to 550 nm band, compared to the plants that grew under a cover of diffuse red polyethylene (Figure 1). In contrast, plants grown under a blue diffuse polyethylene cover received less radiation in the 550 to 700 nm band (Figure 1). These changes in incident radiation in tomato plants were assumed as responsible for the elongation of the stem that produced taller and thinner plants. Delgado-Tobón *et al.* (2020) also observed a reduction in the stem diameter of tomato plants under red or blue polyethylene covers, compared to plants under white or transparent polyethylene covers.

The fruit yield per plant in those that grew under covers of diffuse red and blue polyethylene was higher (Tukey, $p \leq 0.05$) than that obtained under covers of commercial and CIQA patent polyethylene due to the formation of more fruits (Tukey, $p \leq 0.05$), with greater weight and diameter (Table 3) in both treatments. Plants grown under the commercial type polyethylene produced a smaller number of harvested fruits (Tukey, $p \leq 0.05$), and in those grown under the CIQA patent polyethylene, the average fruit weight recorded was lower (Tukey, $p \leq 0.05$).

Cuadro 3. Características del rendimiento de fruto en plantas de tomate (híbrido Cedral) cultivado en invernaderos con cubiertas de polietileno difuso de color y propiedad diferente en El Cedral, San Luis, Potosí, México.

Table 3. Characteristics of fruit yield in tomato plants (Cedral hybrid) grown in greenhouses with diffuse polyethylene covers of different colour and property in El Cedral, San Luis, Potosí, Mexico.

Polietileno del invernadero	Frutos cosechados	Diámetro promedio del fruto (mm)	Peso promedio por fruto (g)	Rendimiento por planta (g)
Rojo	13.63 ab	66.64 a	189.01 a	2447.17 a
Azul	13.31 ab	68.25 a	200.92 a	2499.65 a
CIQA	16.89 a	55.07 c	116.88 c	1445.40 b
comercial	11.56 b	60.65 b	149.20 b	1577.17 b

Medias con literal distinta en las columnas son diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$). ♦ Means with different letter by column are different (Tukey, $p \leq 0.05$).

El mayor rendimiento de frutos de las plantas que crecieron en los invernaderos cubiertos con polietileno difuso de color rojo o azul es probable que se debió a una menor proporción de radiación solar recibida por las plantas, o a su calidad distinta. La radiación en la banda de 400 a 550 nm (en el invernadero con polietileno rojo) y en la banda de 550 a 700 nm (en el invernadero con polietileno azul) pudo estimular a las plantas a destinar más fotosintatos al crecimiento y desarrollo de los frutos. Aunque esto no pudo comprobarse en el estudio, existen observaciones de rendimientos mayores en plantas cultivadas bajo cubiertas plásticas de colores y características diferentes. Por ejemplo, Joon-Kook *et al.* (2013) observó mayor rendimiento de tomate var. Superdoterang Seminis bajo películas de polietileno de color azul y de combinación azul y rojo; aunque el rendimiento bajo la película de polietileno de color rojo fue menor, los frutos fueron de mayor tamaño.

CONCLUSIONES

Las cubiertas de polietileno difuso de alta densidad de pigmentación azul y rojo permitieron la transmisión de menor radiación solar en la banda de 400-700 nm de longitud de onda para las plantas; menor que las cubiertas de polietileno difuso de tipo comercial y de patente CIQA.

La proporción de la radiación del segmento de banda 400-550 nm recibida por las plantas bajo el invernadero con cubierta de color rojo fue mucho menor que la recibida bajo otras cubiertas. Las plantas en el invernadero con cubierta de polietileno de color

The higher fruit yield of the plants that grew in the greenhouses covered with diffuse red or blue polyethylene was likely due to a lower proportion of solar radiation received by the plants, or to their different quality. Radiation in the 400 to 550 nm band (in the red polyethylene greenhouse) and in the 550 to 700 nm band (in the blue polyethylene greenhouse) could stimulate the plants to allocate more photosynthates to the growth and development of the fruits. Although this could not be verified in the study, there are observations of higher yields in plants grown under plastic covers of different colours and characteristics. For example, Joon-Kook *et al.* (2013) observed a higher yield of tomato var. Superdoterang Seminis under blue and blue and red combination polyethylene covers; although the yield under the red polyethylene cover was fewer, the fruits were larger.

CONCLUSIONS

The blue and red high-density diffuse polyethylene covers allowed the transmission of less solar radiation in the 400-700 nm wavelength band for the plants; less than the CIQA patent and commercial type diffuse polyethylene covers.

The radiation proportion of the 400-550 nm band segment received by the plants under the red cover greenhouse was much lower than that received under other covers. Plants in the blue polyethylene-covered greenhouse received less solar radiation in the 600-700 nm band segment. There was no effect on chlorophyll content or net carbon dioxide assimilation rate under covers whose colour was

azul recibieron menor radiación solar del segmento de banda 600-700 nm.

No hubo efectos en el contenido de clorofila ni la tasa de asimilación neta de bióxido de carbono bajo las cubiertas de color distinto al blanco. Sin embargo, sí existió efecto significativo en las dimensiones de las plantas; se obtuvo producción de plantas más altas y delgadas, con rendimiento mayor de frutos por planta, y también frutos de tamaño y peso mayor.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), y al Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), por el financiamiento y apoyo recibidos para la realización de este proyecto.

LITERATURA CITADA

- Arcidiacono, C., A. D'Emilio, R. Mazzarella, and C. Leonardi. 2006. Covering materials to improve greenhouse microclimate during summer in hot climates. *Acta Horticulturae* 719: 247-254.
- Atilgan, A., A. Yücel, H. Aktaş, and F. Tunçbilek. 2019. Investigation of heating and cooling degree-hour values in greenhouses with different color cover materials: the case of lettuce plant. *Infrastructure Ecol. Rural A.* 1: 235-252.
- Delgado-Tobón, A. E., W. A. Aperador-Chaparro, and R. G. García-Cáceres. 2020. Effect of modified greenhouse covers on the development of plants of *Lycopersicon esculentum* Mill. *DYNA* 87: 91-97.
- Délices, G., O. R. Leyva-Ovalle, R. Núñez-Pastrana, R. Gámez-Pastrana, P. Andrés-Meza, R. Serna-Lagunes, and C. Mota-Vargas. 2019. Biogeografía del tomate *Solanum lycopersicum* var. cerasiforme (Solanaceae) en su centro de origen (sur de América) y de domesticación (México). *Rev. Biol. Tropical* 67: 1023-1036.
- Forbes. 2020. Productores mexicanos de jitomate en EU. <https://www.forbes.com.mx/> (Consultado: abril 2020).
- Fuina, S., G. C. Marano, G. Puglisi, D. De Tommasi, and G. Scarascia-Mugnozza. 2016. Thermo-mechanical response of rigid plastic laminates for greenhouse covering. *J. Agric. Engin.* 47: 157-163.
- García-Enciso, E. L., M. De La Rosa-Ibarra, M. R. Quezada-Martin, y M. A. Arellano-García. 2015. Efecto de una película plástica modificada en aspectos agronómicos del cultivo de tomate (*Solanum Lycopersicum* L.). *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 11: 2105-2113.
- Gmizo, G., I. Alsina, and L. Dubova. 2012. The effect of colour plastic films on the growth, yield and plant pigment content of tomatoes. *Acta Horticulturae* 952: 217-224.
- González, M. H., N. A. Rodríguez-Muñoz, J. Escobedo-Bretado, y I. Martín- Domínguez. 2017. Diseño y simulación de un invernadero asistido con energía renovable para Durango. *Innovación sistemática* 1: 33-45.
- different to white. However, there was a significant effect on the dimensions of the plants; as taller and thinner plants were obtained, with a higher yield of fruits per plant, and also fruits of greater size and weight.

ACKNOWLEDGEMENTS

To the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), and Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), for funds and support granted to this study.

—End of the English version—



- He, A.N., C. W. She, X. J. Wu, S. H. Li, and M. C. Zeng. 2017. Effect of light quality on photosynthesis and contents of active ingredients *saxifraga stolonifera* curt. *Pakistan J. Botany* 49: 2181-2187.
- Holcman, E., y P. C. Sentelhas. 2012. Microclimate under different shading screens in greenhouses cultivated with bromeliads. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 16: 858-863.
- ITC-TRADEMAP (International Trade Center – TRADEMAP). 2019. Estadísticas del comercio para el desarrollo internacional de las empresas, datos comerciales mensuales, trimestrales y anuales. <https://www.trademap.org/Index.aspx> (Consultado: agosto 2019).
- INAFED (Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal). 2018. Información de Municipios del estado de San Luis Potosí. <http://siglo.inafed.gob.mx/enciclopedia/EMM24sanluispotosi/municipios/municipios.html> (Consultado: septiembre 2019).
- Joon-Kook, K., P. Kyoung-Sub, C. Hyo-Gil, L. Sun-Yi, K. Bekhzod, H. Mi.Ran, and K. Nam-Jun. 2013. Growth and Developmental Characteristics of Lettuce, Tomato and Melon Grown under Spectrum Conversion Greenhouse Films. *J. Agric. & Life Sci.* 47: 57-63.
- Ramos-López, B. I., G. A. Martínez-Gutiérrez, I. Morales, C. Escamirosa-Tinoco y A. Pérez-Herrera. 2017. Consumo de agua y rendimiento de tomate de cáscara bajo diferentes cubiertas de invernaderos. *Horticultura Brasileira* 35: 265-270.
- Rizo, E. 2015. Distintos tipos de cubiertas para invernaderos. *Hortalizas*. <https://www.hortalizas.com/horticultura-protege/protegete/>. (Consultado: octubre 2019).
- Romero-Gámez, M., E. M. Suárez-Rey, N. Castilla, and T. Soriano. 2012. Evaluation of global, photosynthetically active radiation and diffuse radiation transmission of agricultural screens. *Spanish J. Agric. Research* 10:306-313.
- Saleh, S. M., M. A. Medany, U. A. El-Behiry, and A. F. Abu-Hadid. 2003. Effect of Polyethylene Colour on the Growth and Production of Cucumber (*Cucumis sativus*) Under Greenhouses during Autumn Season. *Acta Horticulturae* 608: 259-265.

- Samaniego-Cruz, E., M. R. Quezada-Martin, M. De la rosa-Ibarra, J. Munguía-López, A. Benavides-Mendoza, y L. Ibarra-Jiménez. 2002. Producción de plántulas de tomate y pimiento con cubiertas de polietileno reflejante para disminuir la temperatura en invernadero. *Agrociencia* 36: 305-318.
- Schettini, E., F. R. De Salvador, G. Scarascia-Mugnozza, and G. Vox. 2011. Radiometric properties of photoselective and photoluminescent greenhouse plastic films and their effects on peach and cherry tree growth. *The J. Hort. Sci. and Biotech.* 86: 79-83.
- Soto-Bravo, F. 2018. Parámetros para el manejo del agua en tomate y chile dulce hidropónico bajo invernadero. *Agronomía Costarricense* 42:59-73.
- Statista. 2020. Volumen de tomates frescos producidos al año en el mundo en 2012 y 2019. <https://es.statista.com/estadisticas/529413/produccion-de-tomates-frescos-en-el-mundo/>. (Consultado: abril 2020).
- Su, N., Q. Wu, Z. Shen, K. Xia, and J. Cui. 2014. Effects of light quality on the chloroplastic (*sic.*) ultrastructure and photosynthetic characteristics of cucumber seedlings. *Plant Growth Reg.* 73:227-235.
- TecnoAgro. 2020. Avances tecnológicos y agrícolas. Agricultura protegida en México. <https://tecnoagro.com.mx/no.-134/agricultura-protegida-en-mexico>. (Consultado: abril 2020).

DETERMINATION OF THE CONSERVATION STATUS OF THE “*ESCAMOLERA*” ANT (*Liometopum apiculatum* MAYR) IN MEXICO BY THE SPECIES RISK ASSESSEMENT METHODOLOGY – MER

DETERMINACIÓN DEL ESTADO DE CONSERVACIÓN DE LA HORMIGA “*ESCAMOLERA*” (*Liometopum apiculatum* MAYR) EN MÉXICO POR EL MÉTODO DE EVALUACIÓN DE RIESGO – MER

Mauricio Berumen-Jiménez¹, Ricardo David Valdez-Cepeda², Santiago de Jesús Méndez-Gallegos¹, Jorge Cadena-Íñiguez¹, Alfredo Esparza-Orozco¹, Luis Antonio Tarango-Arámbula^{1*}

¹Innovación en Manejo de Recursos Naturales. Colegio de Postgraduados. Campus San Luis Potosí. Iturbide No. 73, Colonia Centro, Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí, 78620 México. (ltarango@colpos.mx). ²Universidad Autónoma Chapingo. Centro Regional Universitario Centro Norte, km 5.5 Carretera Zacatecas-Guadalajara, El Orito, Zacatecas, Zacatecas. 98060 México.

ABSTRACT

The larvae and pupae of *Liometopum apiculatum*, an ant species known as “escamolera” (*Lap*), are valued for their flavour and nutritional value. Currently demand at restaurants trade, high price and other factors have threatened their populations. However, in Mexico there is no risk assessment for this species. Therefore, information was compiled to evaluate the conservation status of *L. apiculatum*. The species Risk Assessment Methodology (MER) of Appendix I in the Mexican Standard NOM-059-SEMARNAT-2010 determines the risk category of a species based on scores of four criteria and places a species as “Extinct in the wild, subject to special protection, threatened or in danger of extinction”. In this study, the related scores were, for Criterion A (taxon distributional area), 3 points (restricted distribution); Criterion B (habitat status regarding its natural development), 1 point (apt, or not limiting); Criterion C (biological vulnerability), 1 point (low vulnerability); and criterion D (impact of human activity on the taxon) scored 3 points (medium impact). The sum of the scores of the four MER criteria indicated that *Lap* (the *escamolera* ant) should be placed in the category of Subject to special protection (SSP). This information shall be used to design management and conservation policies for edible insects in Mexico.

RESUMEN

Las larvas y pupas de *Liometopum apiculatum*, una especie de hormiga conocida como escamolera (*Lap*), se valoran por su sabor y valor nutricional. En la actualidad, la demanda en restaurantes, precios altos y otros factores han amenazado a sus poblaciones; sin embargo, en México no existe una evaluación de riesgo para *Lap*. Por lo tanto, se recopiló información para evaluar el estado de conservación de *L. apiculatum*. El Método de Evaluación de Riesgo (MER) del Apéndice I en la Norma Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 determina la categoría de riesgo de una especie con base en puntajes de cuatro criterios y la coloca como “Extinta en el medio silvestre, Sujeta a protección especial, Amenazada o en peligro de extinción”. En este estudio los puntajes fueron para el Criterio A (área de distribución del taxón), 3 puntos (distribución restringida); Criterio B (estado del hábitat respecto a su desarrollo natural), 1 punto (apto o no limitante); Criterio C (vulnerabilidad biológica), 1 punto (vulnerabilidad baja); y el criterio D (impacto de la actividad humana en el taxón) 3 puntos (impacto medio). La suma de los puntajes de los cuatro criterios del MER indicó que *Lap* (la hormiga escamolera) debería incluirse en la categoría de Sujeta a protección especial (SSP). Esta información se puede utilizar para diseñar políticas de manejo y conservación de insectos comestibles en México.

Palabras clave: *Liometopum apiculatum*; conservación; *Formicidae*; insectos comestibles; Método de Evaluación de Riesgo (MER); vulnerabilidad biológica.

* Author for correspondence ♦ Autor para correspondencia.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7662-1319>

Received: September, 2020. Approved: September, 2021.

Published in *Agrociencia* 55: 539-555. 2021.

Key words: *Liometopum apiculatum*; conservation; *Formicidae*; edible insects; Mexican Species Risk Assessment Methodology (MER); biological vulnerability.

INTRODUCTION

The environment is being threatened by anthropogenic activities. The continuous loss of biodiversity, ecosystem fragmentation and species extinction are the greatest threats to the world's biota (Martínez-Meyer *et al.*, 2014). Edible insects are rich in protein and seasonally harvested and consumed. In Mexico, eight species of ants are consumed, among them *Myrmecocystus* spp., *Pogonomyrmes* spp., *Atta cephalotes*, *Atta mexicana*, *Atta texana* (Lara-Juarez *et al.*, 2015) and the escamolera ant *Liometopum apiculatum* (*Lap*). Larvae and pupae of the breeding caste (called "escamoles") of *Lap* are used as food source since pre-Columbian times.

During March and April, they are gathered and provide income for families in the rural arid and semi-arid regions of Mexico (Tarango-Arámbula, 2012). However, the current high demand of escamoles have increased and in many regions of Mexico *Lap* is overexploited (Tarango-Arámbula, 2012). Likewise, continue use conversion of the *Lap* habitat for livestock and agricultural activities (Cruz-Labana *et al.*, 2014; Lara-Juárez *et al.*, 2015), poor management of the colonies and their nests, the lack of norms for the sustainable use of edible insects, and their increasing demand, cause a cumulative negative impact on their populations and habitats (Tarango-Arámbula, 2012).

Species loss has initiated efforts to conduct species risk assessments in order to design conservation strategies (Sánchez *et al.*, 2007). As an example, the International Union for Conservation of Nature (IUCN) collects information to assess the conservation status of species based on various criteria and categories (IUCN, 2012). Although criteria used to assess the risk level of a species by the IUCN are internationally recognized, their application to assess conservation status of many species of Mexican wildlife is difficult; particularly for insects. Due to the aforementioned, the Species Risk Assessment Methodology called Método de Evaluación del Riesgo de extinción de las especies silvestres en México (MER) was developed by Sánchez *et al.* (2007) and

INTRODUCCIÓN

Las actividades antropogénicas amenazan al ambiente. La pérdida continua de biodiversidad, la fragmentación de los ecosistemas y la extinción de especies son las mayores amenazas para la biota mundial (Martínez-Meyer *et al.*, 2014).

Los insectos comestibles son ricos en proteínas, se cosechan y consumen estacionalmente. En México se consumen ocho especies de hormigas, entre ellas *Myrmecocystus* spp., *Pogonomyrmes* spp., *Atta cephalotes*, *Atta mexicana*, *Atta texana* (Lara-Juarez *et al.*, 2015) y la hormiga escamolera *Liometopum apiculatum* (*Lap*).

Las larvas y pupas de la casta reproductora (llamadas escamoles) de *Lap* se utilizan como fuente de alimento desde la época precolombina. Durante marzo y abril se recolectan, comercializan y dan ingresos a las familias de las regiones rurales áridas y semiáridas de México (Tarango-Arámbula, 2012). Sin embargo, la demanda actual de escamoles ha aumentado y en muchas regiones de México *Lap* está sobreexplotada (Tarango-Arámbula, 2012). Asimismo, la conversión continua del hábitat de *Lap* para actividades ganaderas y agrícolas (Cruz-Labana *et al.*, 2014; Lara-Juárez *et al.*, 2015), el mal manejo de las colonias de *Lap* y sus nidos, la falta de normas para el uso sostenible de insectos comestibles y su demanda creciente provocan un impacto negativo acumulativo en sus poblaciones y hábitats (Tarango-Arámbula, 2012).

La pérdida de especies ha llevado a realizar evaluaciones de riesgo para especies con el fin de diseñar estrategias de conservación (Sánchez *et al.*, 2007). Por ejemplo, la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) recopila información para evaluar el estado de conservación de las especies en función de varios criterios y categorías (UICN, 2012). Aunque los criterios utilizados para evaluar el nivel de riesgo de una especie por la UICN se reconocen en escala internacional, su aplicación para evaluar el estado de conservación de muchas especies de la vida silvestre mexicana es difícil; en particular para los insectos. Por lo anterior, Sánchez *et al.* (2007) y SEMARNAT (2010) desarrollaron el Método de Evaluación de Riesgo de extinción de las especies silvestres en México (MER). Este método aporta una evaluación de riesgo específica para cada especie investigada.

MER es parte de la Norma mexicana conocida como Norma Oficial Mexicana (NOM-059-SE-

SEMARNAT (2010). This method renders a specific risk assessment for each target species.

MER is part of the Mexican Standard known as Norma Oficial Mexicana (NOM-059-SEMARNAT-2010) and defines several elements that affect a taxon (species) and its vulnerability (Sánchez-Salas *et al.*, 2013). To evaluate the conservation status of a species, MER takes four criteria into account: Criterion A, taxon distributional area; Criterion B, habitat status regarding its natural development; Criterion C, biological vulnerability; and Criterion D, impact of human activity on the taxon. This assessment places a species in one of the following risk categories: extinct in the wild, subject to special protection, threatened or in danger of extinction (SEMARNAT, 2010).

Nowadays, human impact on populations and habitats of *L. apiculatum* is unknown. Based on the available information on this species, the assumption was that a site-specific application of MER would place this species at least in the category of Subject to special protection (SSP). Thus, the objective of this study was to determine the conservation status of *L. apiculatum* using the species Risk Assessment Methodology MER based on the analysis of geographical and biodiversity databases.

MATERIALS AND METHODS

The conservation status of *L. apiculatum* was determined by revising all information available gathered during August - December 2017 and using the criteria in MER (Table 1).

Criterion A. Taxon distributional area in Mexico

The information regarding the geographic distribution of *L. apiculatum* was obtained from research reports, published articles, and databases available in GBIF (the Global Biodiversity Information Facility, <https://www.gbif.org/>); the UNIBIO (Unidad de Informática para la Biodiversidad (2017), <http://unibio.unam.mx/>); Antmaps (<http://antmaps.org/>); and the REMIB (Red Mundial de Información sobre Biodiversidad, <http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/remibnodosdb.html>).

The distributional area of *L. apiculatum* was calculated by modelling their ecological niche. First, the model was calibrated by delimiting a polygon of the accessible area. That is, the area where the species was assumed to be found or would be found according to current knowledge, the species capacity for

MARNAT-2010) y define elementos diversos que afectan a un taxón (especie) y su vulnerabilidad (Sánchez-Salas *et al.*, 2013). Para evaluar el estado de conservación de una especie, el MER toma en cuenta cuatro criterios: Criterio A, área de distribución del taxón; Criterio B, estado del hábitat respecto a su desarrollo natural; Criterio C, vulnerabilidad biológica; y Criterio D, impacto de la actividad humana en el taxón. Esta evaluación ubica a la especie en una de las siguientes categorías de riesgo: Extinta en estado silvestre, Sujeta a protección especial, Amenazada o En peligro de extinción (SEMARNAT, 2010).

En la actualidad se desconoce el impacto humano sobre las poblaciones y hábitats de *L. apiculatum*. Con base en la información disponible sobre la hormiga escamolera se asumió que la aplicación de MER en un sitio específico colocaría a esta especie, al menos en la categoría de Sujeta a protección especial (SSP). Por ello, el objetivo de este estudio fue determinar el estado de conservación de *L. apiculatum* a través del Método de Evaluación de Riesgo (MER), con en el análisis de bases de datos geográficas y de biodiversidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estado de conservación de *L. apiculatum* se determinó con la revisión de toda la información disponible recopilada durante agosto - diciembre de 2017 y los criterios del MER (Cuadro 1).

Criterio A. Área de distribución del taxón en México

La información sobre la distribución geográfica de *L. apiculatum* se obtuvo de informes de investigación, artículos publicados y bases de datos disponibles en GBIF (Global Biodiversity Information Facility, <https://www.gbif.org/>); de UNIBIO (Unidad de Informática para la Biodiversidad (2017), <http://unibio.unam.mx/>); Antmaps (<http://antmaps.org/>); y de la REMIB (Red Mundial de Información sobre Biodiversidad, <http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/remibnodosdb.html>).

El área de distribución de *L. apiculatum* se calculó a través de la modelación de su nicho ecológico. Primero, el modelo se calibró con la delimitación de un polígono del área accesible. Esto es, el área donde se suponía que se encontraba o se encontraría la especie de acuerdo con el conocimiento actual, la capacidad de dispersión de la especie y aquellas barreras o discontinuidades ambientales que limitan la distribución de la especie. Las áreas en las ecorregiones terrestres del mundo (Peterson, 2001) que

Table 1. Criteria and categories used by the Species Risk Assessment Methodology (MER) to define the conservation status of a species in Mexico (SEMARNAT, 2010).**Cuadro 1. Criterios y categorías utilizadas por el Método de Evaluación de Riesgo (MER) para definir el estado de conservación de especies en México (SEMARNAT, 2010).**

Criterion	Category	Score (points [†])
A. Taxon distributional area in Mexico. The criterion refers to the relative size of the natural area where the taxon is geospatially distributed.	a) Very restricted taxon distribution if it occupies <5%.	4
	b) Restricted taxon distribution, if it occurs over 5 to 15%.	3
	c) Taxon with a medium distribution if it is present over 15 to 40%.	2
	d) Taxon with a wide distribution if it is present in an extension >40%.	1
B. Habitat status of the taxon regarding its natural development. This refers to the present condition of the habitat regarding biotic and abiotic requirements for the development of the taxon.	a) Hostile or highly limiting	3
	b) Intermediate or limiting	2
	c) Apt or little limitation	1
C. Biological vulnerability of the taxon. This criterion refers to the set of factors related to the history or life behaviour of a species that makes it vulnerable (reproductive strategy, demographic parameters, phenology, tolerance intervals, feeding behaviour, genetic variability, rate of recruitment and nursing).	a) High vulnerability	3
	b) Medium vulnerability	2
	c) Low vulnerability	1
D. Impact of human activity on the taxon. This criterion refers to the magnitude of the impact and the trend generated by different activities on the taxon (proximity of human settlements, habitat fragmentation, commercial use, traffic and introduction of exotic species).	a) High impact	4
	b) Medium impact	3
	c) Low impact	2

[†]The sum of the category selected in each criterion, defines the risk level of the species under study: Species subject to special protection (SSP) <10 points; Threatened species (Th) 10-11 points; in danger of extinction (E) 12-14 points. ♦ [†]La suma de la categoría seleccionada en cada criterio define el nivel de riesgo de la especie bajo estudio: especie Sujeta a protección especial (SSP) <10 puntos; especie Amenazada (Th) 10-11 puntos; En peligro de extinción (E) 12-14 puntos.

dispersion, and those barriers or environmental discontinuities that limit species distribution. Areas out of the terrestrial ecoregions of the world (Peterson, 2001) that coincided with records of location and the biological conditions for species distribution as reported for *L. apiculatum* were classified and cropped.

In addition, 19 bioclimatic variables were obtained from Worldclime (Hijmans *et al.*, 2005). To avoid multicollinearity and prediction errors from overfitting the models, the number of variables was reduced with an inflexion factor analysis on the variance with the opensource statistical software R v. 3.6.0 (The R Core Team, 2019). Out of the 19 variables 13 were eliminated and six variables were selected, BI02 (average daily heat range), BI08 (mean temperature of the most humid quarter), BI09

coincidieron con los registros de ubicación y las condiciones biológicas para la distribución de la especie, según lo reportado para *L. apiculatum*, se clasificaron y se obtuvieron polígonos.

Además, se obtuvieron 19 variables bioclimáticas de Worldclime (Hijmans *et al.*, 2005). Para evitar multicolinealidad y errores de predicción por sobreajuste de los modelos, el número de variables se redujo con un análisis del factor de inflexión sobre la varianza con el programa estadístico de código abierto R v. 3.6.0 (The R Core Team, 2019).

De las 19 variables se eliminaron 13 y se seleccionaron seis variables, BI02 (amplitud de calor diario promedio), BI08 (temperatura media del trimestre más húmedo), BI09 (temperatura media del trimestre más seco), BI15 (estacionalidad de la precipitación), BI18 (precipitación en el trimestre más cálido) y BI19 (precipitación en el trimestre más frío).

(mean temperature of the driest quarter), BI15 (precipitation seasonality), BI18 (precipitation in the hottest quarter) and BI19 (precipitation in the coldest quarter). Overfitting of the model due to spatial autocorrelation was reduced by selecting only the presence records of *L. apiculatum* that were separated among them by at least 20 km.

Potential distribution was analysed with the maximum entropy algorithm of the software Maxent v. 3.3.3k (Phillips *et al.*, 2006). A logistic-type output was obtained using a threshold of minimum training presence including the ant records separated by at least 20 km; the remaining records were used to validate the model. The parameters used in the construction were those of the linear, quadratic and threshold functions; 25 replicates were carried out, and the result was set as an average model.

The final model was validated by the ROC (receiver operating characteristic) analysis in the Niche program toolbox. For validation, the points excluded from the analysis of maximum entropy in 500 replicates were used at a confidence interval of 95%. The final map and the distribution area were calculated using QGIS v. 2.18.13 (QGIS Development Team, 2017).

Criterion B. Habitat status of the taxon regarding natural development

To assess this criterion, an analysis of the main physical and biotic factors that affect *L. apiculatum* was included. The following maps were used: I, potential vegetation type; II, climate classification; III, Soil type; IV, land use vegetation change; V, soil degradation (CONABIO, 2017); and VI, areas in the forest restoration map (CONAFOR, 2017). These six thematic maps were overlapped with the potential distributional map defined for the species in Criterion A, and the habitat conditions for the species were evaluated with map algebra, overlaying and reclassifying all the maps under comparison.

Criterion C. Biological vulnerability of the taxon

To evaluate this criterion, *L. apiculatum* population density was considered; along with reproductive habits and reproductive success, feeding, nesting sites, foraging scope, effects of temperature on their activity, symbiosis and predators.

Criterion D. Impact of human activity on the taxon

In order to determine the human demographic impact on *L. apiculatum*, a set of questions was used regarding direct and indirect factors that affect the loss of biodiversity and extinction of species (IUCN, 2012). For determining scores true-false questions were created asking whether 1) *L. apiculatum* has

El sobreajuste del modelo por autocorrelación espacial se redujo con la selección de solo aquellos registros de presencia de *L. apiculatum* que estaban separados entre ellos por al menos 20 km.

La distribución potencial se analizó con el algoritmo de entropía máxima del programa Maxent v. 3.3.3k (Phillips *et al.*, 2006). Una salida de tipo logístico se obtuvo con el uso de un umbral de entrenamiento de presencia mínima que incluyó los registros de la hormiga separados por al menos 20 km; el resto de los registros se utilizó para validar el modelo. Los parámetros utilizados en la construcción fueron los de las funciones lineal, cuadrática y umbral; se realizaron 25 réplicas y el resultado se estableció como un modelo promedio.

El modelo final se validó por análisis ROC (característica operativa del receptor) en la caja de herramientas del programa Niche. Para la validación, los puntos excluidos en 500 repeticiones del análisis de entropía máxima se utilizaron con intervalo de confianza del 95%. El mapa final y el área de distribución se calcularon con QGIS v. 2.18.13 (QGIS Development Team, 2017).

Criterio B. Estado del hábitat del taxón respecto al desarrollo natural

Para evaluar este criterio, se incluyó un análisis de los factores físicos y bióticos principales que afectan a *L. apiculatum*. Los mapas siguientes se utilizaron: I, tipo de vegetación potencial; II, clasificación climática; III, tipo de suelo; IV, cambio de vegetación en el uso de la tierra; V, degradación del suelo (CONABIO, 2017); y VI, áreas en el mapa de restauración forestal (CONAFOR, 2017). Estos seis mapas temáticos se superpusieron con el mapa de distribución potencial definido para la especie en el Criterio A, y las condiciones de hábitat de la especie se evaluaron con álgebra de mapas, con la superposición y reclasificación de todos los mapas comparados.

Criterio C. Vulnerabilidad biológica del taxón

Para evaluar este criterio, se consideró la densidad poblacional de *L. apiculatum*; junto con hábitos reproductivos, éxito reproductivo, alimentación, sitios de anidación, potencial forrajero, efectos de la temperatura en su actividad, simbiosis y depredadores.

Criterio D. Impacto de la actividad humana sobre el taxón

Para determinar el impacto humano sobre *L. apiculatum*, se utilizó una serie de preguntas sobre factores directos e indirectos que inciden en la pérdida de la biodiversidad y extinción de las

lost more than 50% of habitat? 2) *L. apiculatum* is displaced by exotic species? 3) *L. apiculatum* is affected by climate change? 4) *L. apiculatum* is overexploited? 5) *L. apiculatum* has any commercial value? 6) There is any standardized method for raising, managing or exploiting *L. apiculatum* populations? 7) There is any agreement or public policy regulating use or trade? and 8) *L. apiculatum* is a protected species? Scores were assigned as 0 (when there is not any negative effect on the species) or 1 (when there is a negative effect on the species). The sum of the relative scores was then used to determine whether the species was facing a low (1-3), medium (4-6) or high (7-8 points) risk for extinction.

RESULTS AND DISCUSSION

Criterion A. Taxon distributional area in Mexico

The 190 ant record extracted from literature showed that *L. apiculatum* occurs in 24 Mexican states: Aguascalientes, Baja California, Chihuahua, Coahuila, Colima, Durango, México, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Nuevo León, Puebla, Querétaro, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tamaulipas, Tlaxcala, Veracruz, Zacatecas, and Mexico City: (Figure 1). A clear concentration in central Mexico was evident (Figure 2). The number of ant records used to model the potential distribution of *Lap* was adequate, since at least only 20-40 records (Peterson, 2001) are needed to make a good prediction of any species distribution.

especies (UICN, 2012). Para determinar los puntajes se crearon, a través de opción de respuesta verdadero-falso, preguntas acerca de *L. apiculatum* 1) ¿ha perdido más del 50% de su hábitat? 2) ¿sufre desplazo por parte de especies exóticas? 3) ¿la afecta el cambio climático? 4) ¿está sobreexplotada? 5) ¿tiene algún valor comercial? 6) ¿existe algún método estandarizado para criar, manejar o explotar sus poblaciones? 7) ¿existe algún acuerdo o política pública que regule su uso o comercio? y 8) ¿es una especie protegida? El valor para puntaje se asignó como 0 (cuando no existe efecto negativo sobre la especie) o 1 (cuando hay un efecto negativo sobre la especie). La suma de los puntajes relativos se utilizó después para determinar si la especie se enfrentaba a un riesgo de extinción bajo (1-3), medio (4-6) o alto (7-8 puntos).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Criterio A. Área de distribución del taxón en México

Los 190 registros de la hormiga, obtenidos a partir de revisión documental, mostraron que *L. apiculatum* se encuentra en 24 entidades federativas mexicanas: Aguascalientes, Baja California, Chihuahua, Coahuila, Colima, Durango, México, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Nuevo León, Puebla, Querétaro, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tamaulipas, Tlaxcala, Veracruz, Zacatecas y Ciudad de México: (Figura 1). Una concentración clara fue evidente en el centro de México (Figura 2). El número de registros de la hormiga utilizados para modelar la distribución potencial de *Lap*

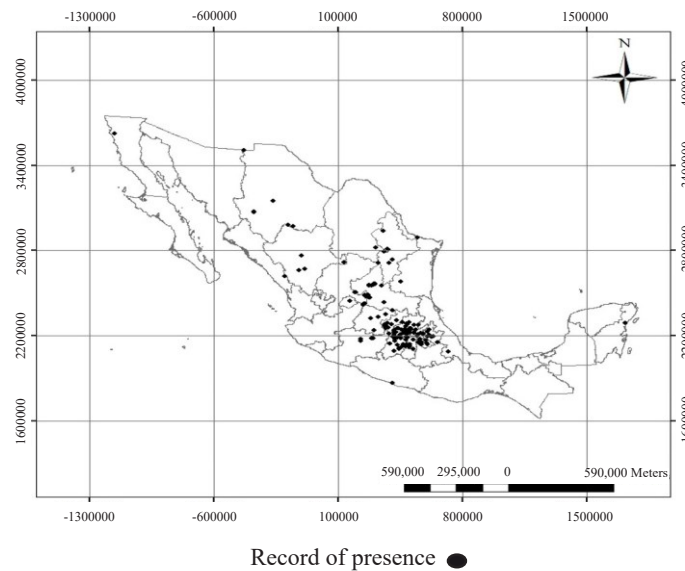


Figure 1. Records of presence for *Liometopum apiculatum* Mayr in Mexico.
Figura 1. Registros de presencia de *Liometopum apiculatum* Mayr en México.

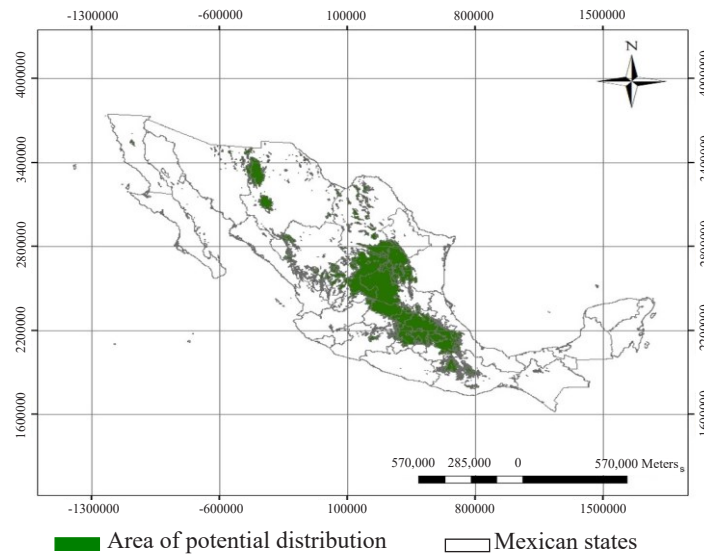


Figure 2. Area of potential distribution of *Liometopum apiculatum* in Mexico calculated through predictive ecological modelling analysis.

Figura 2. Área de distribución potencial de *Liometopum apiculatum* en México calculada por análisis de modelación ecológica predictiva.

The potential distribution generated by the Maxent software produced an (AUC) value of 1.215303 with a standard deviation of 0.13, which indicates the area under the receiver operating characteristic curve, and therefore, a good fit of the model. The potential distributional area delimited by this analysis for *L. apiculatum* (Figure 2) covered an area of 284 518.208 km², 14.5% of the 1 960 189 km² of the national territory (INEGI, 2017). Because *L. apiculatum* actually covers an area between 5-15%, we assigned a score of 3 points to this criterion (restricted taxon distribution) (Table 1).

Criterion B. Habitat status of the taxon regarding its natural development

The overlap of the potential distributional map obtained for the species and the potential vegetation map showed that *L. apiculatum* occurs in xerophilous scrub vegetation communities (Desert Microphyllous scrub, Desert Rosetophyllous scrub, Crasicaulescent scrub), grasslands, pine-oak forest, pinyon forest, tropical evergreen forest and tropical sub-deciduous forest. Also, *L. apiculatum* occurs in elevations from 30 m (UNIBIO, 2017) to 2900 m (Lara-Juárez *et al.*, 2015).

fue adecuado, ya que se necesitan al menos 20-40 registros (Peterson, 2001) para hacer una buena predicción de la distribución de cualquier especie.

La distribución potencial generada por el programa Maxent produjo un valor (AUC) de 1.215303 con una desviación estándar de 0.13, que indica el área bajo la curva de la característica operativa del receptor y, por lo tanto, un buen ajuste del modelo. El área de distribución potencial delimitada por este análisis para *L. apiculatum* (Figura 2) cubrió un área de 284 518.208 km², 14.5% de los 1 960 189 km² del territorio nacional (INEGI, 2017). Debido a que en la realidad *L. apiculatum* cubre un área entre 5-15%, se asignó 3 puntos a este criterio (distribución restringida para el taxón) (Cuadro 1).

Criterio B. Estado del hábitat del taxón respecto a su desarrollo natural

La superposición del mapa de distribución potencial obtenido para la especie y el mapa de vegetación potencial mostró que *L. apiculatum* se encuentra en comunidades de vegetación de matorrales xerófilos (matorral micrófilo desértico, rosetófilo desértico, o crasicaulescente), pastizales, bosques de pino-encino, bosque de piñonero, bosque tropical perenne y bosque

Likewise the overlap of the potential distributional map of *L. apiculatum* and climate classification map showed that *L. apiculatum* is present in diverse climates: BS₀k(x') (arid temperate), BS1kw (semiarid temperate), BS₀hw (arid warm), C(w1) (subhumid temperate), Cb(w₂) (subhumid cool with long cool summer), BS₁hw (semiarid warm), BS₀(h')(x') (arid hot), BWhw (very arid warm), (A)C(w1) (subhumid warm of group C), A(C)w2(w) (subhumid warm), Aw₁(x') (subhumid hot), and C(f) (humid temperate).

Also *L. apiculatum* occupies diverse soil types: feozem, leptosol, regosol, yermosol and xerosol (Lara-Juárez *et al.*, 2015). Based on the overlap of the potential distributional map and the soil type map of Mexico (CONABIO, 2017), the species occurs in 25 soil sub-types: calcareous feozem, calcareous regosol, calcic xerosol, chromic luvisol, distric regosol, eutric cambisol, eutric fluvisol, eutric hitosol, eutric regosol, gypsic xerosol, haplic castañozem, haplic feozem, haplic xerosol, humic acrisol, humic andosol, lithosol, luvisol, luvisol feozem, luvisol xerosol, mollic planosol, ortic luvisol, ortic solonchak, pelic vertisol, rendzina and vertic luvisol.

The analysis of the land use change and vegetation map, Series V (CONABIO, 2017) showed that dryland and irrigated farming, and cultivated grasslands have caused from low to medium levels of land use change in Aguascalientes, Baja California, Chihuahua, Coahuila, Durango, Nuevo León, San Luis Potosí, Sinaloa, Tamaulipas, Zacatecas, Colima, Guerrero, Jalisco, Veracruz and Quintana Roo. In contrast, in the states of Hidalgo, Mexico, Puebla and Tlaxcala, 30 of the 190 ant locations were found near or within sites of high-level transformation caused by human settlement and urban development.

Regarding the soil degradation map (CONABIO, 2017) in most of the areas where *Lap* distributes, the soils are moderately or slightly degraded by agricultural activities or overgrazing. However, in some locations of the states of Hidalgo, Mexico and Nuevo Leon, the soil had been extremely degraded (CONABIO, 2017). The forest restoration map (CONAFOR, 2017) indicated only at three ant locations in the states of Nuevo León, San Luis Potosí and Hidalgo in forest ecosystem there were low and medium degradation. *L. apiculatum* has wide habitat preferences since it is present in diverse types of vegetation, climates and soils. In general, *Lap* occupies areas that have low to medium levels of degradation.

tropical subcaducifolio. Además, *L. apiculatum* se presenta en altitudes desde 30 m (UNIBIO, 2017) hasta 2900 m (Lara-Juárez *et al.*, 2015).

Asimismo, la superposición del mapa de distribución potencial de *L. apiculatum* y el mapa de clasificación climática mostró que *L. apiculatum* está presente en climas diversos: BS₀k (x') (templado árido), BS1kw (templado semiárido), BS₀hw (cálido árido), C (w1) (templado subhúmedo), Cb (w₂) (fresco subhúmedo, con verano largo y fresco), BS₁hw (cálido semiárido), BS₀ (h') (x') (cálido árido) BWhw (cálido muy árido), (A)C(w1) (cálido subhúmedo del grupo C), A(C)w2(w) (cálido subhúmedo), Aw₁ (x') (caliente subhúmedo) y C(f) (templado húmedo).

También *L. apiculatum* ocupa diversos tipos de suelo: feozem, leptosol, regosol, yermosol y xerosol (Lara-Juárez *et al.*, 2015). Con base en la superposición del mapa de distribución potencial y el mapa de tipos de suelo de México (CONABIO, 2017), la especie se presenta en 25 subtipos de suelo: feozem calcáreo, regosol calcáreo, xerosol calcáreo, luvisol crómico, regosol dístico, cambisol eútrico, fluvisol eútrico, hitosol eútrico, regosol eútrico, xerosol gípico, castañozem hápico, feozem hápico, xerosol hápico, acrisol húmico, andosol húmico, litosol, feozem lúvico, xerosol lúvico, planosol mólico, luvisol órtico, solonchak órtico, vertisol pélico, rendzina y luvisol vértico.

El análisis del mapa de cambio de uso de suelo y de vegetación, Serie V (CONABIO, 2017) mostró que la agricultura en secano y regadío, y los pastizales cultivados han provocado cambios de uso de suelo de nivel bajo a medio en Aguascalientes, Baja California, Chihuahua, Coahuila, Durango, Nuevo León, San Luis Potosí, Sinaloa, Tamaulipas, Zacatecas, Colima, Guerrero, Jalisco, Veracruz y Quintana Roo. En contraste, en los estados de Hidalgo, México, Puebla y Tlaxcala, 30 de las 190 locaciones de hormigas se encontraron cerca o dentro de sitios con transformación alta causada por asentamientos humanos y desarrollo urbano.

En relación con el mapa de degradación de suelos (CONABIO, 2017) se observó que en la mayoría de las áreas donde *Lap* se distribuye los suelos se encuentran ligera o moderadamente degradados por actividades agrícolas o sobrepastoreo. Sin embargo, en algunas localidades de los estados de Hidalgo, México y Nuevo León, el suelo ha sido degradado en extremo (CONABIO, 2017). El mapa de restauración forestal (CONAFOR, 2017) indicó que solo

Ultimately, the Land use change and vegetation map, Series V (CONABIO, 2017) showed that 15.8% of *L. apiculatum* locations were near or within areas that have high levels of habitat disturbance. The Soil degradation map (CONABIO, 2017) indicated that only 1.57% of *Lap* locations were found in extreme soil degradation conditions, and the map of Forest restoration zoning (CONAFOR, 2017) showed that also 1.57 % of the ant records were likewise located in areas containing a low or medium forest degradation. For those reasons, the habitat status of *L. apiculatum* (Criterion B) received a score of 1 (apt or little limitation; Table 1).

Criterion C. Biological vulnerability of the taxon

Lap builds colonies and nests in diverse substrates. It occurs under rocks or dead tree trunks and at the base of variety of tree species, such as *Quercus* spp., *Pinus ponderosa*, *Pinus cembroides* (Hoey-Chamberlain *et al.*, 2013), *Agave* sp., *Opuntia* sp., *Yucca* sp., *Prosopis* sp. and *Cylindropuntia* sp. (Cruz-Labana *et al.*, 2014; Lara-Juárez *et al.*, 2015; Rafael-Valdez *et al.*, 2019). It can also nest in glass containers and rubber tires (Hoey-Chamberlain *et al.*, 2013). In xerophytic environments the number of *L. apiculatum* nests per hectare regularly oscillates between 3.8 and 6.67 (Rafael-Valdez *et al.*, 2019).

The density of nests, the abundance of *L. apiculatum* colonies, foraging activity, resting and reproduction are linked to the vegetation cover that provides protection from sunlight. In overgrazed or unfavourable grasslands, *Lap* is not present (Lara-Juárez *et al.*, 2015) or population density is low (1.19 ha⁻¹) (Cruz-Labana *et al.*, 2014). In contrast, in sites with more appropriate plant cover or with moderate levels of disturbance, *Lap* nests increase (11.9-14 ha⁻¹) (Cruz-Labana *et al.*, 2014). Likewise, there is a positive relationship between *Lap* and the density of *Agave salmiana*, *A. crassispina* and the presence of hemipterans. *L. apiculatum* colonies can be monodomic (one nest) (Cruz-Labana *et al.*, 2014; Lara-Juárez *et al.*, 2015) or polydomic (several nests) (Hoey-Chamberlain *et al.*, 2013). The *L. apiculatum* flying female ants, during nuptial flights mate with several males, a process known as polyandric fecundation, which allows greater genetic heterogeneity (Lara-Juárez *et al.*, 2015).

The foraging activity of *Lap* occurs in a wide range of temperatures, from 8 up to 38 °C. However,

en tres ubicaciones de la hormiga en los estados de Nuevo León, San Luis Potosí e Hidalgo, en ecosistema forestal hubo degradación baja y media. *L. apiculatum* tiene preferencias de hábitat amplias ya que está presente en tipos de vegetación, climas y suelos diversos. En general, *Lap* ocupa áreas que tienen niveles de degradación de bajos a medios.

En definitiva, el mapa de Cambio de uso del suelo y vegetación, Serie V (CONABIO, 2017) mostró que el 15.8% de las ubicaciones de *L. apiculatum* estaban cerca o dentro de áreas que tienen niveles de alteración del hábitat altos. El mapa de Degradación del suelo (CONABIO, 2017) indicó que solo el 1.57% de las ubicaciones de *Lap* se encontraron en condiciones extremas de degradación del suelo, y el mapa de Zonificación de restauración forestal (CONAFOR, 2017) mostró que también 1.57% de los registros de hormigas se ubicaron en áreas con una degradación forestal baja o media. Por esas razones, el estado del hábitat de *L. apiculatum* (Criterio B) recibió el puntaje de 1 (apto o con poca limitación; Cuadro 1).

Criterio C. Vulnerabilidad biológica del taxón

Lap construye colonias y anida en sustratos diversos; se encuentra debajo de rocas o troncos de árboles muertos y en la base de una variedad de especies de árboles, como *Quercus* spp., *Pinus ponderosa*, *Pinus cembroides* (Hoey-Chamberlain *et al.*, 2013), *Agave* sp., *Opuntia* sp., *Yucca* sp., *Prosopis* sp. y *Cylindropuntia* sp. (Cruz-Labana *et al.*, 2014; Lara-Juárez *et al.*, 2015; Rafael-Valdez *et al.*, 2019). También puede anidar en recipientes de vidrio y neumáticos de caucho (Hoey-Chamberlain *et al.*, 2013). En ambientes xerofíticos, el número de nidos de *L. apiculatum* por hectárea oscila por lo general entre 3.8 y 6.67 (Rafael-Valdez *et al.*, 2019).

La densidad de los nidos, la abundancia de colonias de *L. apiculatum*, la actividad forrajera, el reposo y la reproducción se relacionan con la cubierta vegetal que las protege de la luz solar. En pastizales sobrepastoreados o en condiciones desfavorables, *Lap* no está presente (Lara-Juárez *et al.*, 2015) o su densidad de población es baja (1.19 ha⁻¹) (Cruz-Labana *et al.*, 2014). Por el contrario, en sitios con una cobertura vegetal mejor o con niveles de perturbación moderados, hay más nidos de hormigas *Lap* (11.9-14 ha⁻¹) (Cruz-Labana *et al.*, 2014). Asimismo, existe una relación positiva entre *Lap* y la densidad del *Agave salmiana*, *A. crassispina* y la presencia de

it could be active at very low temperature. At midday (time of highest temperature and UV radiation), ants of the workers caste cease foraging and they seek refuge under rocks or vegetation (Lara-Juárez *et al.*, 2015). The foraging range of *L. apiculatum* varies between 468 and 709 m², in north-central Mexico and average foraging range is 565.65 m². The longest foraging path recorded is 100 m (Rafael-Valdez *et al.*, 2019). This is relevant since foraging distance and effort depend on the number of paths; when foraging paths increase, foraging distance decreases. For example, colonies with two and six foraging paths have respective average foraging distances of 50.7 and 31.5 m (Rafael-Valdez *et al.*, 2019).

L. apiculatum is omnivorous. Individuals feed on grains, dead insects, crustaceans, molluscs, annelids, carrion and extrafloral nectar (Velasco *et al.*, 2007). *Lap* also feeds on waste from other ants, such as *Pogonomyrmex babatus*, *Camponatus sayi* and *Solenopsis xyloni*. However, their main energy source is the honeydew exuded by hemipterans (Velasco, 2007; Lara-Juárez *et al.*, 2015): coccids (*Saissetia oleae* and *Saissetia* spp.), aphids (*Anoecia cornicola*, *Aphis helianthi*, *Aphis lugentis*, *Aphis solitaria* and *Cinara* sp.), pseudococcid scales (*Dysmicoccus brevipes* and *Dysmicoccus* sp.) or dactylopiid scales (*Crassiococcus* sp. and *Eriococcus* sp.) (Velasco *et al.*, 2007; Lara-Juárez *et al.*, 2015; Hoey-Chamberlain *et al.*, 2013). In arid regions, *Lap* nesting sites are highly correlated with the presence of trees (*Yucca* sp.) and magueyes (*Agave salmiana*) infested by hemipterans (Cruz-Labana *et al.*, 2014; Rafael-Valdez *et al.*, 2019).

Potential predators of *L. apiculatum* are arthropods, such as staphyloid beetles (*Dinardilla liometopi*, *Dinardilla mexicana* and *Sceptobius dispar*) and the cricket *Myrmecophilus* sp. (Lara Juárez *et al.*, 2015). Nevertheless, there are no reports that indicate any significant impact of predators on the colonies of *L. apiculatum*. Human predation, however, when gathering *Lap* breeding caste (the edible *escamol*), causes deterioration to the nest and death of many ants among the workers. But because the nest is large and intricate, the queen ant is kept safe in most cases, or it escapes to another chamber during *escamol* gathering (Lara Juárez *et al.*, 2015). The trabecula (structure where the breeding castes are found and extracted) is the most external and exposed part of the nest. In contrast, the royal chamber is isolated and it is difficult to locate or access. Therefore,

hemípteros. Las colonias de *L. apiculatum* pueden ser monodómicas (un nido) (Cruz-Labana *et al.*, 2014; Lara-Juárez *et al.*, 2015) o polidómicas (varios nidos) (Hoey-Chamberlain *et al.*, 2013). Las hembras de *L. apiculatum* se aparean durante los vuelos nupciales con varios machos, proceso conocido como fecundación poliándrica, la cual permite una heterogeneidad genética mayor (Lara-Juárez *et al.*, 2015).

La actividad forrajera de *Lap* se produce en gran amplitud de temperaturas, desde 8 hasta 38 °C. Sin embargo, podrían estar activas en temperatura muy baja. Al mediodía (hora de mayor temperatura y radiación ultravioleta), las hormigas obreras dejan de consumir alimento y buscan refugio bajo rocas o vegetación (Lara-Juárez *et al.*, 2015). El potencial forrajero de *L. apiculatum* varía entre 468 y 709 m²; en el centro-norte de México el potencial forrajero promedio es 565.65 m². La ruta de consumo más larga registrada es 100 m (Rafael-Valdez *et al.*, 2019). Esto es relevante ya que la distancia y el esfuerzo de alimentación dependen del número de rutas; cuando las rutas de consumo de alimento aumentan, las distancias se reducen. Por ejemplo, las colonias con dos y seis rutas de consumo tienen distancias de consumo promedio respectivas de 50.7 y 31.5 m (Rafael-Valdez *et al.*, 2019).

L. apiculatum es omnívora. Los individuos se alimentan de granos, insectos muertos, crustáceos, moluscos, anélidos, carroña y néctar extra floral (Velasco *et al.*, 2007). *Lap* también se alimenta de los desechos de otras hormigas, como *Pogonomyrmex babatus*, *Camponatus sayi* y *Solenopsis xyloni*. Sin embargo, su fuente de energía principal es la miel exudada por hemípteros (Velasco, 2007; Lara-Juárez *et al.*, 2015): cóccidos (*Saissetia oleae* y *Saissetia* spp.), áfidos (*Anoecia cornicola*, *Aphis helianthi*, *Aphis lugentis*, *Aphis solitaria* y *Cinara* sp.), pseudo cóccidos escamosos (*Dysmicoccus brevipes* y *Dysmicoccus* sp.) o dactilópodos escamosos (*Crassiococcus* sp. y *Eriococcus* sp.) (Velasco *et al.*, 2007; Lara-Juárez *et al.*, 2015; Hoey-Chamberlain *et al.*, 2013). En regiones áridas, los sitios de anidación de *Lap* tienen correlación alta con la presencia de árboles (*Yucca* sp.) y magueyes (*Agave salmiana*) infestados por hemípteros (Cruz-Labana *et al.*, 2014; Rafael-Valdez *et al.*, 2019).

Los depredadores potenciales de *L. apiculatum* son los artrópodos, como los escarabajos estafiloides (*Dinardilla liometopi*, *Dinardilla mexicana* y *Sceptobius dispar*) y el grillo *Myrmecophilus* sp. (Lara Juárez

during the process of gathering only a portion of the nest is affected and the other chambers remain intact, making it easier for the colony to recover (Lara Juárez *et al.*, 2015).

L. apiculatum foraging activities are carried out in a broad temperature range, as they are omnivorous. Main energy source (honeydew) comes from diverse species of hemipterans. It was reported that predators do not have a negative impact on *Lap* populations; nest structure makes it difficult to locate and extract the queen ant during gathering, and thus the colony has greater possibilities of survival. For those reasons, a value of 1 (low biological vulnerability) was assigned to Criterion C (Table 1).

Criterion D. Impact of human activity on the taxon

Nowadays, fragmentation and degradation of habitats by human activities are the main causes of biodiversity loss. Probably no wild species is exempt from the negative impact that humans cause to ecosystems (IUCN, 2012). The evaluation of the human impact on the taxon (Criterion D) placed *L. apiculatum* at a medium impact (4-6 points) (Table 2) and thus the criterion D received a score of 3 points (Table 1).

The sum of the estimated scores assigned to each species Risk Assessment Methodology (MER) criterion was 8: A. Taxon distributional area in Mexico, 3 points; B. Habitat status of the taxon regarding its natural development, 1 point; C. Biological vulnerability, 1 point; and D. Impact of human activity on the taxon (3 points). NOM-059-SEMARNAT-2010 states that when a species obtains a score between 5 and 9, the species should be included in the category Subject to special protection (SSP) (Sánchez *et al.*, 2007). For that reason, we propose that *L. apiculatum* should be included in that category (Table 2).

Although *L. apiculatum* inhabits a wide variety of vegetation types, climates and soils, is thermophilic, reproductively monogynic, and polyandric. The ant is omnivorous and has low biological vulnerability. It is worth to emphasize, though, that this species continuously faces specific habitat threats. For example, the overexploitation of *magueyes* (*Agave* spp.), prickly-pear cactus (*Opuntia* spp.), and yuccas (*Yucca* spp.). Damages to the main nesting structure

et al., 2015). No obstante, no hay reportes que indiquen un impacto significativo de los depredadores sobre las colonias de *L. apiculatum*. Pero la depredación humana, cuando se recolecta la casta reproductora de *Lap* (los escamoles comestibles), provoca el deterioro del nido y la muerte de muchas hormigas obreras. Debido a que el nido es grande e intrincado, la hormiga reina se mantiene a salvo en la mayoría de los casos, o se escapa a otra cámara durante la recolección de escamoles (Lara Juárez *et al.*, 2015). La trabécula (estructura donde se localizan y extraen las castas reproductoras) es la parte más externa y expuesta del nido; en cambio, la cámara real está aislada, y resulta difícil su ubicación o acceso. Por ello, durante el proceso de recolección solo se afecta una porción del nido y las demás cámaras permanecen intactas, lo cual facilita la recuperación de la colonia (Lara Juárez *et al.*, 2015).

Las actividades de consumo de *L. apiculatum* se llevan a cabo en un intervalo de temperaturas amplio, ya que son omnívoras. La fuente de energía principal (miel exudada) proviene de diversas especies de hemípteros. Reportes existen acerca de que los depredadores no tienen un impacto negativo en las poblaciones de *Lap*; la estructura del nido dificulta la localización y extracción de la hormiga reina durante la recolección; por lo tanto, la colonia tiene posibilidades de supervivencia mayores. Por esas razones, se asignó el valor de 1 (baja vulnerabilidad biológica) al Criterio C (Cuadro 1).

Criterio D. Impacto de la actividad humana en el taxón

En la actualidad, la fragmentación y degradación de los hábitats por las actividades humanas son las causas principales de la pérdida de biodiversidad. Probablemente ninguna especie silvestre está exenta del impacto negativo que los humanos causan en los ecosistemas (IUCN, 2012). La evaluación del impacto humano sobre el taxón (Criterio D) colocó a *L. apiculatum* en un impacto medio (4-6 puntos) (Cuadro 2) y, por lo tanto, al criterio D se le asignaron 3 puntos (Cuadro 1).

La suma de los puntajes estimados y asignados a cada criterio del Método de Evaluación de Riesgo (MER) fue 8: A. Área de distribución de taxón en México, 3 puntos; B. Estado de hábitat del taxón respecto a su desarrollo natural, 1 punto; C. Vulnera-

Table 2. Score to determine the demographic impact on *Liometopum apiculatum* in Mexico.
Cuadro 2. Puntaje para determinar el impacto demográfico sobre *Liometopum apiculatum* en México.

Question whether...?	Yes	Not	Evidence	Value
<i>L. apiculatum</i> has lost more than 50% of their habitat		X	Results of this study showed that <i>L. apiculatum</i> (<i>Lap</i>) can inhabit a variety of ecosystems. It locates in areas of low to medium disturbance and has not lost more than 50% of the species habitats.	0
<i>L. apiculatum</i> has been displaced by exotic species		X	There are no scientific reports of <i>L. apiculatum</i> displacement by any other exotic species.	0
<i>L. apiculatum</i> has been affected by climate change	X		The amount of rain and the temperature affect <i>escamoles</i> production. Rain is related to the start of the mating flights and the beginning of new <i>L. apiculatum</i> colonies (Lara-Juárez <i>et al.</i> , 2015).	1
<i>L. apiculatum</i> is overexploited	X		In the state of Hidalgo intermediaries of a Japanese company offered \$250.00 USD (\$5000 MXN) per kg. However, the main problem is the way in which the collectors currently manage the gathering of <i>escamoles</i> . There is a lack of organization, poaching, and clandestine sales; extraction at inappropriate times, collection by inexperienced personnel and poorly covered nests (Tarango-Arámbula and Méndez-Gallegos, 2018). All of which cause excessive gathering and pressure on <i>Lap</i> ant colonies (Lara-Juárez <i>et al.</i> , 2015).	1
<i>L. apiculatum</i> has any commercial value	X		<i>Escamoles</i> since pre-Columbian times have served as food (Ramos-Elorduy and Viejo Montesinos, 2007). Nowadays, due to their flavour, they are sold as a gourmet option in restaurants at Mexico City (Ramos-Elorduy and Viejo Montesinos, 2007; Tarango-Arámbula, 2012).	1
There is any standardized method for raising, managing or exploiting <i>L. apiculatum</i> populations	X		There is a traditional management for the collection of <i>escamoles</i> ; However, such management does not include maintaining the proper nest, let the nests to rest, knowledge of the ant biology, adequate equipment for collection, among other factors (Ramos-Elorduy and Viejo Montesinos, 2007; Tarango-Arámbula, 2012).	1
There is any agreement or public policy regulating ant use or trade	X		Mexico does not have yet any regulation, norm or law on the harvesting of edible insects (Lara Juárez <i>et al.</i> , 2015).	1
<i>L. apiculatum</i> is a protected species	X		<i>Liometopum apiculatum</i> is not included in the Red List (IUCN, 2012) nor in the endangered species list in NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT, 2010).	1

and foraging substrates of *L. apiculatum* affects the establishment of ant colonies. Besides, *magueyes* are used for mezcal production, as livestock forage, or for gathering red (*Comadia redtenbacheri* (H.)) and white worms (*Aegiale hesperiaris* W.). On this regard,

bilidad biológica, 1 punto; y D. Impacto de la actividad humana en el taxón (3 puntos). La NOM-059-SEMARNAT-2010 establece que cuando una especie obtiene un puntaje entre 5 y 9, la especie debe incluirse en la categoría Sujeta a protección especial

Tarango-Arámbula and Mendez-Gallegos (2018) pointed out that during the extraction of red and white worms at least 50 maguey plants are utilized (extracted from the soil) per gatherer a day. These activities among others have ultimately deteriorated *Lap* habitat (Rafael-Valdez *et al.*, 2019).

Also, nest density for the species depends on vegetation type, grassland condition and ground cover (Lara-Juárez *et al.*, 2015). A site with better environmental conditions has higher probability for the establishment of ant colonies. Cruz-Labana *et al.* (2014) reported that the production of *escamoles* and the establishment of ant colonies were negative affected by overgrazing. Also, that the availability of ground cover is important for *Lap* foraging workers during high temperatures. Specifically, the presence of grasses (*Poaceae*) shrubs, herbaceous, and cactus plants in the ant habitat is important (Cruz-Labana *et al.*, 2014; Lara-Juárez *et al.*, 2015).

Overgrazing in north-central areas of Mexico has affected not only grasslands composition, but their capacity to support livestock and has also affected native vertebrates and invertebrate species (Lara-Juárez *et al.*, 2015). Tarango-Arámbula and Mendez-Gallegos (2018) reported that *Lap* nests are overexploited (2 or 3 harvests per season) or they are opened before the eggs reach their larval stage. These authors also mentioned that in some cases experienced collectors do not share their traditional knowledge with young or new collectors on how to harvest the *escamoles* sustainably.

In Mexico, only 49 species of invertebrates were evaluated; three are insects: 1) the dune gadfly (*Brennania belkini* Phillip, 1966); 2) the monarch butterfly (*Danaus plexippus* Linneo, 1758) and 3) the Esperanza swallowtail butterfly (*Papilio esperanza* Beutelspacher, 1975) (SEMARNAT, 2010). These three species represent only 0.14% of the species included in the NOM-059-SEMARNAT-2010. In contrast, 51.03% of vertebrates (n=1330 species) and 37.8% of plants (n=984) have received more attention and protection (SEMARNAT, 2010).

Ants contribute a significant amount of the terrestrial biomass, play important ecological roles, are soil engineers, act as predators, participate in nutrient cycles and regulate plant growth and reproduction. In addition, they are bio-indicators of the ecological impacts of land management (Underwood and Fisher, 2006). This study focused on

(SSP) (Sánchez *et al.*, 2007). Por esta razón este estudio propone que *L. apiculatum* se incluya en esa categoría (Cuadro 2).

Aunque *L. apiculatum* habita en una variedad amplia de tipos de vegetación, climas y suelos; es termófila, monogámica y poliándrica en su reproducción, es omnívora y tiene vulnerabilidad biológica baja; es necesario enfatizar que esta especie enfrenta amenazas específicas continuas en su hábitat. Por ejemplo, la sobreexplotación de magueyes (*Agave* spp.), nopales (*Opuntia* spp.), y yucas (o izotes, *Yucca* spp.). Los daños a la estructura principal de anidación y sustratos para el consumo por parte de *L. apiculatum* afectan el establecimiento de sus colonias. Además, los magueyes se utilizan para la producción de mezcal, como forraje para el ganado o para la recolección de gusano rojo (*Comadia redtenbacheri* (H.) y gusano blanco (*Aegiale hesperiaris* W.). Al respecto, Tarango-Arámbula y Méndez-Gallegos (2018) señalaron que durante la extracción de gusanos rojos y blancos se utilizan al menos 50 plantas de maguey (extraídas del suelo) por recolector al día. Estas actividades entre otras han sin duda deteriorado el hábitat de *Lap* (Rafael-Valdez *et al.*, 2019).

Además, la densidad de nidos de la especie depende del tipo de vegetación, de las condiciones del pastizal y de la cobertura del suelo (Lara-Juárez *et al.*, 2015). Un sitio con condiciones ambientales mejores ofrece más probabilidades de que se establezcan colonias de hormigas. Cruz-Labana *et al.* (2014) documentaron que el sobrepastoreo afecta en forma negativa la producción de *escamoles* y el establecimiento de colonias de hormigas. Además, que la disponibilidad de cobertura del suelo es importante para las hormigas obreras forrajeras durante las temperaturas altas. En específico, la presencia de gramíneas (*Poaceae*), arbustos, herbáceas y cactus en el hábitat de la hormiga es importante (Cruz-Labana *et al.*, 2014; Lara-Juárez *et al.*, 2015).

El sobrepastoreo en las áreas del centro-norte de México ha afectado no solo la composición de los pastizales, sino su capacidad para sustentar el ganado; y también ha afectado a vertebrados e invertebrados nativos (Lara-Juárez *et al.*, 2015). Tarango-Arámbula y Méndez-Gallegos (2018) observaron que los nidos de *Lap* están sobreexplotados (2 o 3 cosechas por temporada) o que éstos se abren antes de que los huevos alcancen su etapa larvaria. Estos autores también mencionaron que en algunos casos los re-

determining the conservation status of *L. apiculatum* and it represents the first evaluation in Mexico of an edible ant species analysed through the species Risk Assessment Methodology (MER). In addition, *Lap* is economically important (Tarango-Arámula and Mendez-Gallegos, 2018) for inhabitants of arid and semi-arid zones of north-central Mexico.

At present, the management and exploitation of wildlife species in Mexico is managed through wildlife management and conservation units (Unidades de manejo para la conservación de la vida silvestre, UMAS) (Sánchez *et al.*, 2007). This management and extraction are made through management plans where monitoring of habitat and populations is mandatory. The addition of *L. apiculatum* to the NOM-059-SEMARNAT-2010 in the category Subject to special protection shall benefit the species and *escamol*-collectors in the long term. Placing a species into this category does not imply that its use is prohibited. On the contrary, its addition sets a guideline for the conservation and sustainable management of *Lap* colonies and nests.

An example of a species in this category and economically important is the bighorn sheep (*Ovis canadensis mexicana*), this subspecies is currently in the category Subject to special protection. But its use has persisted for at least 15 years through adequate monitoring and harvesting rates. The creation of a management system as the one established for the UMAS, based on the issuance of norms and laws, shall protect habitats and colonies of the *escamolera* ant. It will also allow *escamol* collectors to undergo surveillance, monitoring and improving their extraction techniques. However, it should not be forgotten that human population growth is constant. That it demands to produce food more efficiently.

The massive production of edible insects, an alternative protein source, can be carried out with a low ecological impact, high sanitary quality and technological efficiency (Tarango-Arámula and Mendez-Gallegos, 2018). Some proposals from those authors for *L. apiculatum*, along with the organization of *escamol* collectors, are in the first place, the creation of rural companies to collect, process, conserve and sell *escamol* with added value. These companies would sign purchase agreements with the collectors, in order to pay them fair prices, thus contributing to the protection of the species and habitats through implementing technological

colectores experimentados no comparten sus conocimientos tradicionales con los recolectores nuevos o jóvenes sobre cómo cosechar los escamoles de forma sustentable.

En México, solo 49 especies de invertebrados han sido evaluadas; tres son especies de insectos: 1) el tábano de las dunas (*Brennania belkini* Phillip, 1966); 2) la mariposa monarca (*Danaus plexippus* Linneo, 1758) y 3) la mariposa cola de golondrina esperanza (*Papilio esperanza* Beutelspacher, 1975) (SEMARNAT, 2010). Estas tres especies representan sólo 0.14% de las especies incluidas en la NOM-059-SEMARNAT-2010. En contraste, 51.03% de los vertebrados (n=1330 especies) y 37.8% de las plantas (n=984) han recibido mayor atención y protección (SEMARNAT, 2010).

Las hormigas aportan una cantidad significativa de la biomasa terrestre, desempeñan roles ecológicos importantes, son ingenieras del suelo, actúan como depredadoras, participan en los ciclos de nutrientes y regulan el crecimiento y la reproducción de las plantas. Además, son bioindicadores de los impactos ecológicos del manejo de la tierra (Underwood y Fisher, 2006). Este estudio se centró en determinar el estado de conservación de *L. apiculatum* y representa la primera evaluación en México de una especie de hormiga comestible analizada por medio del Método de Evaluación de Riesgo (MER). Además, *Lap* tiene importancia económica (Tarango-Arámula y Méndez-Gallegos, 2018) para habitantes de zonas áridas y semiáridas del centro-norte de México.

En la actualidad, el manejo y explotación de especies silvestres en México se gestiona a través de Unidades de manejo para la conservación de la vida silvestre (UMAS) (Sánchez *et al.*, 2007). Manejo y extracción se realizan a través de planes de manejo donde es obligatorio el seguimiento sistemático del hábitat y las poblaciones. La incorporación de *L. apiculatum* a la NOM-059-SEMARNAT-2010 en la categoría Sujeta a protección especial beneficiará a la especie y a los recolectores de escamoles en el largo plazo. El colocar una especie en esta categoría no implica que su uso esté prohibido. Por el contrario, su adición establece un llamado para la conservación y manejo sustentable de las colonias y nidos de *Lap*.

Un ejemplo de especie en esta categoría y económicamente importante es el borrego cimarrón (*Ovis canadensis mexicana*); esta subespecie se encuentra actualmente en la categoría de Sujeta a protección

management programs in the collection areas. Second, to begin and promote joint work among educational institutions, researchers, and *escamol* collectors. And third, to promote ecotourism and *in situ* consumption of *escamol* to offer collectors an extra income (Tarango-Arámula and Mendez-Gallegos, 2018).

In addition, to conserve edible insects for future generations, Tarango-Arámula and Mendez-Gallegos (2018) recommended to generate knowledge on genetic diversity, life cycles, on potential distribution of insects, and to determine the conservation status of their habitats. It is also necessary to identify more precisely the relationship between the state of their habitats with larval and pupae production, and nest density to construct semi-artificial nests and prepare alternative food substrates for ants, among others (Tarango-Arámula and Mendez-Gallegos, 2018).

It is worth to emphasize that conservation status for *L. apiculatum* may vary with new information for the MER criteria, and by improvements on the accuracy of its application. For example, the estimate of the potential distribution of the species depends on the accuracy of field records, on the validity of the taxonomic classifications and their methods of estimation. Some methods overestimate and others underestimate the distributional range of a species; besides, MER does not describe a specific method to calculate the distributional range of a species (Sánchez *et al.*, 2007). In our study, the potential distributional map was determined with the maximum entropy algorithm, because this algorithm was used in other conservation strategies (Phillips *et al.*, 2006). That model bases its estimations on the coincidence of presence-absence records of a species at a given site, with associated climatic or environmental variables (Peterson, 2001).

Finally, the results of the study on *L. apiculatum* risk assessment may be a national reference to conserve edible insects, the *escamolera* ant in particular. Since it is nutritionally and economically important for inhabitants of many rural communities in arid and semiarid regions of Mexico.

CONCLUSIONS

This is to our knowledge the first report in Mexico determining the conservation status of an edible species of economic importance for rural people of

especial, pero su uso ha persistido durante al menos 15 años a través de seguimiento sistemático y tasas de recolección adecuadas. La creación de un sistema de manejo como el establecido para la UMAS, basado en la emisión de normas y leyes, protegerá los hábitats y colonias de la hormiga escamolera. También permitirá que los recolectores de escamoles sean supervisados y sujetos a seguimiento, con el objeto de mejorar sus técnicas de extracción. Sin embargo, no se debe olvidar que el crecimiento de la población humana es constante y requiere producir alimentos de manera más eficiente.

La producción masiva de insectos comestibles, fuente alternativa de proteínas, se puede realizar con un impacto ecológico bajo, calidad sanitaria alta y eficiencia tecnológica (Tarango-Arámula y Méndez-Gallegos, 2018). Los autores de ese estudio, junto con la organización de recolectores de escamoles, proponen para *L. apiculatum* en primer lugar, la creación de empresas rurales para recolectar, procesar, conservar y comercializar escamoles con valor agregado. Estas empresas firmarían acuerdos de compra con los recolectores, con el fin de pagarles precios justos, y contribuir así con la protección de las especies y hábitats a través de la implementación de programas de manejo tecnológico en las áreas de recolección. En segundo lugar, iniciar y promover el trabajo conjunto entre instituciones educativas, investigadores y recolectores de escamoles. Y tercero, promover el ecoturismo y el consumo *in situ* de escamoles para ofrecer un ingreso extra a los recolectores (Tarango-Arámula y Méndez-Gallegos, 2018).

Además, para conservar insectos comestibles para las generaciones futuras, Tarango-Arámula y Méndez-Gallegos (2018) recomendaron generar conocimientos sobre la diversidad genética, ciclos de vida, distribución potencial de insectos, y determinar el estado de conservación de sus hábitats. También es necesario identificar con precisión mayor la relación entre el estado de sus hábitats y la producción de larvas y pupas; como también la densidad de nidos para construir nidos semi artificiales y preparar sustratos alimenticios alternativos para hormigas, entre otras recomendaciones (Tarango-Arámula y Méndez-Gallegos, 2018).

Cabe destacar que el estado de conservación de *L. apiculatum* puede variar con información nueva para los criterios MER y con mejoras en la precisión en su aplicación. Por ejemplo, la estimación de la distribución

arid and semiarid zones through the species Risk Assessment Methodology (MER) described in the NOM-059-SEMARNAT-2010.

The *escamolera* ant (*Liometopum apiculatum*) is the most widely distributed ant in the country. *L. apiculatum* is found in 24 states, including the rural areas of Mexico City. This species inhabits a wide variety of climates and soils. *L. apiculatum* is thermophilic, reproductively monogynic, and polyandric; omnivorous, with low biological vulnerability.

However, economic and nutritional values of immature stages of the breeding caste (the Mexican *escamoles*), and inadequate collection techniques have caused among other factors, a mismanagement of ant colonies and habitats, mainly in north-central Mexico. The sum of scores for the evaluated criteria was eight (S=8), which indicates that *L. apiculatum* should be included in the category of Species subject to special protection (SSP).

ACKNOWLEDGEMENTS

To the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) for funding this research. To D. Cruz Labana, Ph.D. student at Colegio de Postgraduados for providing *L. apiculatum* presence records. To Ph.D. Raul Valdez, New Mexico State University for providing inputs that significantly improved this manuscript.

LITERATURE CITED

- CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad). 2017. Portal de Geoinformación. Sistema Nacional de Información Sobre Biodiversidad. <http://www.conabio.gob.mx/informacion/gis/> (Retrieved: May 2019).
- CONABIO (Comisión Nacional para el conocimiento y Uso de la Biodiversidad). 2017. Red Mundial de Información sobre Biodiversidad. CONABIO-REMIB. http://www.conabio.gob.mx/remib/doctos/remib_esp.html. (Retrieved: May 2017)
- CONAFOR (Comisión Nacional Forestal). 2017. Zonificación Forestal. <http://www.cnf.gob.mx:8090/snif/portal/zonificacion> (Retrieved: May 2019)
- Cruz-Labana, J. D., L. A. Tarango-Arámbula, J. L. Alcántara-Carbajal, J. Pimentel-López, S. Ugalde-Lezama, G. Ramírez-Valverde, y S. J. Méndez-Gallegos. 2014. Uso de hábitat por la hormiga escamolera (*Liometopum apiculatum* Mayr) en el centro de México. *Agrociencia* 48: 569-582. <http://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v48n6/v48n6a1.pdf>.
- GBFI (The Global Biodiversity Information Facility). 2017. *Liometopum apiculatum* <https://www.gbif.org/es/search?q=liometopum%20apiculatum> (Retrieved: April

potencial de la especie depende de la precisión de los registros de campo, de la validez de las clasificaciones taxonómicas y de sus métodos de estimación. Algunos métodos sobreestiman y otros subestiman la amplitud de distribución de una especie; además, MER no describe un método específico para calcular esa amplitud (Sánchez *et al.*, 2007). En nuestro estudio, el mapa de distribución potencial se determinó con el algoritmo de entropía máxima, debido a que este algoritmo se utilizó en otras estrategias de conservación (Phillips *et al.*, 2006). Ese modelo basa sus estimaciones en la coincidencia de registros de presencia-ausencia de una especie en un sitio determinado, con variables climáticas o ambientales asociadas (Peterson, 2001).

Por último, los resultados del estudio sobre la evaluación del riesgo de *L. apiculatum* pueden ser una referencia nacional para conservar insectos comestibles, en particular la hormiga escamolera. Ya que se trata de una opción nutricional y económica importante para los habitantes de muchas comunidades rurales de las regiones áridas y semiáridas de México.

CONCLUSIONES

Éste es hasta donde sabemos, el primer reporte en México que determina el estado de conservación de una especie de insecto comestible de importancia económica para la población rural de zonas áridas y semiáridas, a través del Método de Evaluación de Riesgo de extinción de especies silvestres en México (MER), descrito en la NOM-059-SEMARNAT-2010.

La hormiga escamolera (*Liometopum apiculatum*) es la hormiga con distribución mayor en el país. *L. apiculatum* se encuentra en 24 estados, la Ciudad de México incluida con sus zonas rurales. Esta especie habita en una variedad amplia de climas y suelos. *L. apiculatum* es termófila, monogínica y poliandrica en su reproducción; omnívora y con vulnerabilidad biológica baja.

Sin embargo, los valores económicos y nutricionales de los estados inmaduros de la casta reproductora (los escamoles mexicanos) y las técnicas de recolección inadecuadas han provocado, entre otros factores, un manejo inadecuado de las colonias y hábitats de hormigas, en especial en la zona centro-norte de México. La suma de puntos de los criterios evaluados fue ocho (S=8), valor que indica que *L. apiculatum*

2017).

Hijmans R. J., S. E. Cameron, J. L. Parra, P. G. Jones, and A. Jarvis. 2005. Very high-resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *Int. J. Climatol.* 25: 1965-1978. https://www.researchgate.net/publication/224839897_Very_high_resolution_interpolated_climate_surfaces_of_global_land_areas. (Retrieved: April 2017).

Hoey-Chamberlain, R., M. K. Rust, and J. H. Klotz. 2013. A review of the biology, ecology and behavior of velvety tree ants of North America. *Sociobiology* 60: 1-10. <https://dx.doi.org/10.13102/sociobiology.v60i1.1-10>.

INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). 2017. Extensión territorial de México. <http://cuentame.inegi.org.mx/territorio/extension/default.aspx?tema=T> (Retrieved: May 2019).

IUCN. 2012. Categorías y Criterios de la Lista Roja de la UICN: Versión 3.1. Segunda edición. Gland, Suiza. 34 p.

Lara-Juárez, P., J. R. Aguirre-Rivera, P. Castillo-Lara, y J. A. Reyes-Agüero. 2015. Biología y aprovechamiento de la hormiga de escamoles, *Liometopum apiculatum* Mayr (Hymenoptera: Formicidae). *Acta Zool. Mex.* 31: 251-264. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0065-17372015000200012.

Martínez-Meyer, E., J. E. Sosa-Escalante, y F. Álvarez. 2014. El estudio de la biodiversidad en México: ¿una ruta con dirección? *Rev. Mex. Biodiversidad* 85: 1-9. <https://dx.doi.org/10.7550/rmb.43248>.

Peterson, A. T., 2001. Predicting species geographic distributions based on ecological niche modeling. *The Condor* 103: 599-605. <https://dx.doi.org/10.1093/condor/103.3.599>.

Phillips, S. J., R. P. Anderson, and R. E. Schapire. 2006. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecol. Model.* 190: 231-259. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2005.03.026>.

QGIS Development Team. 2017. QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. <https://qgis.org>. (Retrieved: April 2017)

R Core Team, 2019. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>. (Retrieved: May 2019).

Rafael-Valdez, J., L. A. Tarango-Arambula, S. Ugalde-Lezama, J. D. Cruz-Labana, F. Clemente-Sánchez, and J. Cadena-Íñiguez. 2019. Foraging amplitude of the escamolera ant (*Liometopum apiculatum* Mayr, Hymenoptera: Formicidae) in a semi-arid area of the Zacatecan highlands. *Rev. Chapingo (Ser. Z. Áridas)* 18: 5-19. https://www.researchgate.net/publication/334497508_Foraging_amplitude_of_the_escamolera_ant_Liometopum_apiculatum_Mayr_Hymenoptera_Formicidae_in_a_semi-arid_area_of_the_Zacatecan_highlands. (Retrieved: June 2017).

Ramos-Elorduy, J., y J. L. Viejo-Montesinos. 2007. Los insectos como alimento humano: Breve ensayo sobre la entomofagia, con especial referencia a México. *Bol. Real Soc. Esp. Hist. Nat. Secc. Biol.* 102: 61-84. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/revista?codigo=4060>

Sánchez, O., R. A. Medellín, A. Aldama, B. Goetsch, J. Soberón, M. Tambutti. 2007. Método de evaluación del riesgo de extinción de las especies silvestres en México (MER). México D.F. 170 p.

debe incluirse en la categoría Sujeta a protección especial (SSP).

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por financiar esta investigación. Al Dr. D. Cruz Labana, estudiante de doctorado en el Colegio de Postgraduados, por proporcionar registros de la presencia de *L. apiculatum*. Al Dr. Raúl Valdez, de la Universidad Estatal de Nuevo México, por la adición de términos significativos para mejorar este manuscrito.

—End of the English version—



Sánchez-Salas, J., G. Muro, E. Estrada-Castillón, y J. A. Alba-Ávila. 2013. El MER: Un instrumento para evaluar el riesgo de extinción de especies en México. *Rev. Chapingo (Ser. Z. Áridas)* 12: 30-35. <https://www.redalyc.org/pdf/4555/455545056006.pdf>.

SEMARNAT (Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010: Protección ambiental. Especies nativas de México de flora y fauna silvestres. Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio. Lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación. 30 diciembre 2010. Sección II. https://dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5173091 (Retrieved: May 2017).

Tarango-Arambula, L., 2012. Los escamoles y su producción en el Altiplano Potosino-Zacatecano. *RESPYN* 4: 139-144. <https://docplayer.es/31164594-Los-escamoles-y-su-produccion-en-el-altiplano-potosino-zacatecano-introduccion.html> (Retrieved: June 2017).

Tarango-Arambula, L. A., y S. J. Méndez-Gallegos. 2018. Insectos comestibles en el centro-norte de México. *In: Quiroz, E., y H. Pradilla R. (Coords.) El Pasado del Futuro Alimentario: Los Alimentos Ancestrales Americanos. Inst. Invest. Dr. José María Luis Mora. Serie: Col. Historia Económica. ISBN 978-607-8611-24-9. pp: 358-380.*

UNIBIO (Unidad de información para la Biodiversidad.) 2017. Colecciones biológicas. <http://unibio.unam.mx/collections/specimens/urn/IBUNAM:CNIN?f=Formicidae&cs=Liometopum+apiculatum>. (Retrieved: May 2017).

Underwood, E. C., and B. L. Fisher. 2006. The role of ants in conservation monitoring: if, when, and how. *Biol. Conserv.* 132: 166-182. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2006.03.022>

Velasco, C., C., M. C. Corona, V. y R. Peña, M. 2007. *Liometopum apiculatum* (Formicidae: Dolichoderinae) y su relación trofobiótica con Hemiptera: Sternorrhyncha en Tlaxco, Tlaxcala, Mexico. *Acta Zool. Mex.* 23: 31-42. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S006517372007000200003&lng=es&nrm=iso.

CALIDAD DE PÉLETS A PARTIR DE BIOMASA DE OCHO ESPECIES DENDROENERGÉTICAS DE CRECIMIENTO RÁPIDO

PELLET QUALITY FROM BIOMASS OF EIGHT FAST-GROWING DENDROENERGETIC SPECIES

Julio César Ríos-Saucedo¹, Rigoberto Rosales-Serna¹, Rafael Jiménez-Ocampo¹, Pablo Alfredo Domínguez-Martínez¹, Artemio Carrillo-Parra², Luis Manuel Valenzuela-Nuñez^{3*}

¹Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias-Campo Experimental Valle del Guadiana. km 4.5, Carretera Durango-El Mezquital, Durango, Durango. México. C.P. 34170. ²Universidad Juárez del Estado de Durango-Instituto de Silvicultura e Industria de la Madera. Boulevard del Guadiana Núm. 501. Ciudad Universitaria. Durango, Durango. México. C.P. 34120. ³Universidad Juárez del Estado de Durango. Facultad de Ciencias Biológicas. Laboratorio de Biología y Ecología Forestal. Avenida Universidad S/N. Fraccionamiento Filadelfia. Gómez Palacio, Durango. C.P. 35010. (luisvn70@hotmail.com)

RESUMEN

La productividad de biomasa en especies de crecimiento rápido es una de las mejores alternativas para la elaboración de biocombustibles dendroenergéticos. Uno de los pretratamientos de la biomasa más importantes es el pelletizado y con esto aumenta el poder calorífico. El objetivo de este estudio fue evaluar la calidad de pélets de ocho especies dendroenergéticas de crecimiento rápido. Las especies evaluadas fueron *Eucalyptus globulus*, *Pinus greggii*, *Populus alba*, *Acacia retinoides*, *Ricinus communis*, *Populus deltoides*, *Pennisetum sp.* y *Salix sp.* El diseño experimental fue completamente aleatorio; las especies analizadas como tratamientos. Con los datos se realizó un ANDEVA y las medias de los tratamientos se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Las variables evaluadas fueron: contenido de humedad (CH), cenizas, material volátil (CV), carbón fijo (CF) y poder calorífico superior (PCS); diámetro, longitud, peso, volumen, densidad a granel (DG) y densidad básica (DP); índice de resistencia, pérdida de biomasa y friabilidad (F). Las diferencias entre especies fueron significativas ($p \leq 0.05$), para todas las variables. Ocho de las nueve especies cumplieron con valores mínimos del PCS (19.2 MJ kg⁻¹ y 20.1 MJ kg⁻¹) requerido en normas internacionales de calidad en pélets (18.0 MJ kg⁻¹). Los pélets de ocho especies mostraron las dimensiones solicitadas en las normas de calidad. Todas las especies presentaron densidad aceptable, con base en la norma internacional. En la densidad básica se observaron valores

ABSTRACT

The productivity of biomass in fast-growing species is one of the best alternatives for the elaboration of dendroenergetic biofuels. One of the most important pre-treatments of the biomass is pelletizing, with which calorific value is increased. The objective of the present study was to evaluate the quality of pellets of eight fast-growing dendroenergetic species. The species evaluated were *Eucalyptus globulus*, *Pinus greggii*, *Populus alba*, *Acacia retinoides*, *Ricinus communis*, *Populus deltoides*, *Pennisetum sp.* and *Salix sp.* The experimental design was completely randomized; the species were analysed as treatments. The data was used for an ANOVA and the means of the treatments were compared with the Tukey test ($p \leq 0.05$) The variables evaluated were: moisture content (CH), ash content, volatile material (CV), fixed carbon (FC) and gross calorific value (PCS); diameter, length, weight, volume, bulk density, specific density (DP), resistance index, biomass loss, and friability (F). The differences among species were significant ($p \leq 0.05$) for all of the variables. Eight out of nine species complied with minimum values of PCS (19.2 MJ kg⁻¹ and 20.1 MJ kg⁻¹) required in international norms of quality in pellets (18.0 MJ kg⁻¹). The pellets of eight species presented the dimensions required in the norms of quality. All of the species showed acceptable density, based on the international norm. In specific density high and significant values were observed in *Pennisetum sp.* (1.4 g cm⁻³) and *Pinus greggii* (1.4 g cm⁻³), while *P. deltoides* registered the lowest value (1.0 g cm⁻³). In the resistance tests, the pellets of *P. greggii* presented high values for the number of parts at breakage (2.4) and loss of biomass (41.6 %); as well as low values of friability (0.45). Pellets obtained from the biomass of the evaluated species satisfied the international standards of quality.

* Autor para correspondencia ♦ Author for correspondence.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3385-3005>

Recibido: agosto, 2020. Aprobado: julio, 2021.

Publicado en *Agrociencia* 55: 557-568. 2021.

altos y significativos en *Pennisetum sp* (1.4 g cm^{-3}) y *Pinus greggii* (1.4 g cm^{-3}), mientras que *P. deltooides* registró el valor más bajo (1.0 g cm^{-3}). En las pruebas de resistencia, los pélets de *P. greggii* mostraron valores altos para el número de partes al rompimiento (2.4) y pérdida de biomasa (41.6 %); así como valores bajos de friabilidad (0.45). Los pélets obtenidos a partir de la biomasa de las especies evaluadas cumplieron con los estándares internacionales de calidad.

Palabras clave: bioenergía, industria insumos, normas sostenibilidad, dendroenergía.

INTRODUCCIÓN

Los biocombustibles son una alternativa eficaz para reducir las emisiones de gases de efecto invernadero y complementar el uso de carburantes de origen fósil (CEC, 2007). La producción de biocombustibles debe promoverse en lo posible, sin descuidar la seguridad alimentaria; a través del aprovechamiento eficiente de la biomasa derivada de las actividades forestales y agropecuarias (Li *et al.*, 2010). La fuente más común de biomasa dendroenergética son los bosques templados, áreas de matorral y selvas; los cuales son ecosistemas que muestran grado de perturbación alto. Para reducir el impacto ambiental se recomienda seleccionar las especies vegetales que utilicen el medio de manera eficiente, que produzcan cantidades altas de biomasa, que sirvan para la elaboración de biocombustibles y que favorezcan la sostenibilidad de la producción agropecuaria y forestal (Romero, 2010).

La deforestación y el cambio en el uso del suelo para actividades agrícolas y pecuarias son problemas graves por su relación con el calentamiento global (López-Feldman, 2015). En México alrededor de 55.9 millones ha de vegetación natural (29% del territorio) están sometidas a procesos de degradación (SEMARNAT, 2016). Esto disminuye el rendimiento de los sistemas productivos en los sectores agropecuario y forestal, además de afectar a la biodiversidad. Las plantaciones con fines dendroenergéticos en áreas degradadas representan una opción adecuada para proveer energía a los habitantes de estas zonas.

En Durango se evalúa la producción de biomasa de especies endémicas e introducidas para seleccionar aquellas que muestren mayor eficiencia. Según Rosales-Serna *et al.* (2018) las especies higuierilla (*Ricinus communis*), maralfalfa (*Pennisetum sp.*), acacia

Key words: bioenergy, industrial inputs, sustainability norms, dendroenergy.

INTRODUCTION

Biofuels are an effective alternative for reducing greenhouse gases and complementing the use of fossil fuels (CEC, 2007). The production of biofuels should be promoted whenever possible, without jeopardizing food safety; through the efficient use of the biomass derived from forest and agricultural activities (Li *et al.*, 2010). The most common source of dendroenergetic biomass are the temperate forests, shrublands and rain forests; which are ecosystems with a high degree of disturbance. To reduce the environmental impact, it is recommendable to select plant species that use their medium resources efficiently, that produce high amounts of biomass, that serve for the elaboration of biofuels and that favour the sustainability of agricultural and forest production (Romero, 2010).

Deforestation and the use of the soil for agricultural activities are serious problems due to their relationship with global warming (López-Feldman, 2015). In Mexico, an approximate of 55.9 million ha of natural vegetation (29% of the territory) are subjected to degradation processes (SEMARNAT, 2016). This reduces the yield of productive systems in the agricultural and forest sectors, as well as it affects biodiversity. The plantations with dendroenergetic purposes in degradable areas represent an adequate option for providing energy to the inhabitants of those zones.

In Durango an evaluation was made of the production of biomass from endemic and introduced species in order to select those that present highest efficiency. According to Rosales-Serna *et al.* (2018), castor bean (*Ricinus communis*), an exotic grass (*Pennisetum sp.*), acacia (*Acacia retinoides*), Eastern cottonwood (*Populus deltooides*), white poplar (*Populus alba*), willow (*Salix sp.*), and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) have high possibilities of use in the generation of biomass to be used as biofuel.

In addition to the production of dendroenergetic biomass, the productive level, industrial utility and calorific value should be evaluated. This latter characteristic is related to the content of ash, volatile compounds and fixed carbon, as well as the densification capacity. The identification of plant

(*Acacia retinoides*), álamo (*Populus deltoides*), álamo blanco (*Populus alba*), sauce (*Salix* sp.) y eucalipto (*Eucalyptus globulus*) tienen posibilidades altas de uso en la generación de biomasa para utilizarlas como biocombustible.

Además de evaluar la producción de biomasa dendroenergética se deben evaluar el nivel productivo, la utilidad industrial y el valor calorífico. Esta última característica se relaciona con el contenido de cenizas, compuestos volátiles y carbón fijo, así como la capacidad de compactación (densificación). La identificación de especies vegetales con rendimiento alto y útiles en la elaboración de biocombustibles puede reducir la presión ejercida sobre los ecosistemas (Rosales-Serna *et al.*, 2018).

Con este estudio se contribuirá a la generación sostenible de energía, conservación ambiental y al incremento del ingreso de los productores en áreas marginales. Aunque en dependencia de la integración de un mercado cautivo y de que los costos de producción sean competitivos. Bajo la hipótesis de que especies evaluadas en sus características como opción dendroenergética mostrarían igualdad estadística en la calidad de pélets a partir de biomasa lignocelulósica; el objetivo del estudio fue evaluar la calidad de pélets elaborados con biomasa de ocho especies vegetales de crecimiento rápido establecidas como cultivos dendroenergéticos.

MATERIALES Y MÉTODOS

La biomasa de eucalipto (*Eucalyptus globulus*), pino (*Pinus greggii*), álamo blanco (*Populus alba*), acacia (*Acacia retinoides*), higuerilla (*Ricinus communis*), álamo (*Populus deltoides*), maralfalfa (*Pennisetum* sp.) y sauce (*Salix* sp.) se obtuvo de un área de plantación establecida (7 julio, 2015, con reposición de plantas perdidas el 2 septiembre, 2016) dentro de las instalaciones del Campo Experimental Valle del Guadiana, del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Dichas instalaciones se ubican en el km 4.5 de la carretera Durango-El Mezquital (23° 59' 21" N, 104° 37' 33" O; 1880 m). El suelo predominante en el sitio es de tipo franco (arenoso y arcilloso), el cual tiene capacidad intermedia para la retención de humedad, profundidad media, pendiente de 0 a 2%, pH 7.9 y es pobre en contenido de materia orgánica, fósforo y nitrógeno. El clima de la región es templado, semiárido, con régimen de lluvias en verano; [BS₁ Kw (w) (e)] la temperatura media anual para es 17.4 °C con variación fuerte a lo largo del año (García, 2004). La lluvia acumulada durante el año alcanza un promedio de 476 mm,

species with high yield, useful for the elaboration of biofuels can reduce the pressure exerted on ecosystems (Rosales-Serna *et al.*, 2018).

This study will contribute to the sustainable generation of energy, environmental conservation and to income increase of producers in marginal areas. Although this is dependent on the integration of a captive market and on competitiveness of production costs. Under the hypothesis that species evaluated in their characteristics as dendroenergetic option would be statistically equal regarding the quality of pellets from lignocellulosic biomass; the objective of this study was to evaluate the quality of pellets produced with biomass of eight fast-growing plant species established as dendroenergetic plantations.

MATERIALS AND METHODS

The biomass of eucalyptus (*Eucalyptus globulus*), Gregg pine (*Pinus greggii*), white poplar (*Populus alba*), acacia (*Acacia retinoides*), castor bean (*Ricinus communis*), Eastern cottonwood (*Populus deltoides*), an exotic grass (*Pennisetum* sp.) and willow (*Salix* sp.) was obtained from an area of plantation established (July 7, 2015, with a replacement of lost plants on September 2, 2016) within the area of the Campo Experimental Valle del Guadiana, under the Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). These facilities are located at the 4.5 km of the highway Durango-El Mezquital (23° 59' 21" N, 104° 37' 33" W; 1880 m). The predominant soil in the site is loam (sandy and clay), which has intermediate water retention capacity, medium depth, 0 to 2% slope, pH 7.9 and it is poor in organic matter, phosphorus and nitrogen. The climate of the region is temperate, semi-arid, with rains in summer [BS₁ Kw (w) (e)], the mean annual temperature is 17.4 °C with strong variation throughout the year (García, 2004). Rainfall accumulated during the year reaches an average of 476 mm, with higher values between June and September (Medina-García *et al.*, 2005).

The area of plantation is 180 m long and 30 m wide (5400 m²). The experimental plot consisted of 25 plants and the internal nucleus consisting of nine plants was considered the useful plot.

The replacement of plants was carried out (September 2, 2016) in rows separated by 3 m and with 3 m of distance between plants. The plantation was established under irrigated conditions and received irrigations during the year according to the species requirements, relative to the seasonal conditions of rainfall and temperature in order to avoid drastic water stress. Weeds control was made with a tractor and complemented with (3) manual weeding. At the end of the 2017 Spring-Summer

con valores altos entre junio y septiembre (Medina-García *et al.*, 2005).

El área de plantación tiene 180 m de longitud y 30 m de ancho (5400 m²). La parcela experimental consistió en 25 plantas y se consideró como parcela útil el núcleo interno consistente en nueve plantas.

La reposición de plantas se realizó (2 septiembre, 2016) en hileras a 3 m de separación y con 3 m de distancia entre plantas. La plantación se estableció en condiciones de riego y recibió riegos durante el año conforme al requerimiento de las especies, relativos a la condición estacional de lluvia y temperatura, para evitar el estrés drástico de humedad. El control de las arvenses se realizó con tractor y se complementó con tres deshierbes manuales. Al término del ciclo primavera-verano 2017 (octubre-noviembre) se cosechó en forma manual la biomasa de todas las especies, las cuales tenían entre 8 y 28 meses de edad en dicha fecha. La biomasa cosechada se dejó secar al sol, separada por especie, durante ocho semanas antes de su almacenamiento. El acondicionamiento y pelletizado de la biomasa se realizó en el primer semestre de 2018.

Acondicionamiento y pelletizado de la biomasa

La biomasa se trituró en un molino de martillos (TFS 420, XKJ®, China) hasta obtener un tamaño básica promedio de 3.15 mm. La humedad de los lotes de biomasa se midió para ajustar al 10% y después se pelletizó mecánicamente en un equipo comercial (ZLSP-R400, GEMCO, China) en el aserradero San Mateo (Maderas y Materiales San Mateo S. A. de C. V.). La pelletizadora utilizada funciona con un disco plano con canales de 8 mm de longitud y 6 mm de ancho que produce pélets a una tasa de 350-450 kg h⁻¹ (Núñez-Retana *et al.*, 2020).

Variables evaluadas

Los pélets se caracterizaron química, física y mecánicamente en el laboratorio del Instituto de Silvicultura e Industria de la Madera (ISIMA-UJED). En las pruebas químicas se hizo el análisis inmediato en el cual se determinó el contenido de humedad según la norma UNE-EN 14774-3 (UNE, 2010), el contenido de cenizas con el método de UNE-EN 14775 (UNE, 2010), y compuestos volátiles y carbono fijo con base en la norma ASTM D 1762-84 (ASTM, 2001). Para evaluar el poder calorífico se utilizó una bomba calorimétrica de acuerdo con la norma ASTM D 5865 11^a (ASTM, 2011).

En las pruebas físicas se analizó el volumen con el diámetro y longitud de 20 pélets de cada especie. La densidad a granel se determinó con base en la norma ÖNORM M7135 (Österreichisches Normungsinstitut, 2018). La densidad básica se evaluó con el método de desplazamiento de agua, según la norma NCh

cycle (October–November, the biomass of all the species was harvested manually; plants were between 8 and 28 months of age at that time. The harvested biomass was left to dry in the sun, separated by species, during eight months before storage. The conditioning and pelletizing of the biomass were made in the first semester of 2018.

Conditioning and pelletizing of the biomass

Biomass was sheared in a hammer crusher (TFS 420, XKJ®, China) until obtaining an average particle size of 3.15 mm. Water content of the biomass lots was measured to be adjusted at 10% and was later pelletized with a commercial pellet mill (ZLSP-R400, GEMCO, China) at the San Mateo wood sawmill (Maderas y Materiales San Mateo S. A. de C. V.). This pellet mill operates with a plain saw blade with channels 8 × 6 mm (length × width) that produce pellets in a rate of 350–450 kg h⁻¹ (Núñez-Retana *et al.*, 2020).

Variables evaluated

The pellets were chemically, physically and mechanically characterized in the laboratory of the Instituto de Silvicultura e Industria de la Madera (ISIMA-UJED). In the chemical tests the immediate analyses were made; water content was determined based on the UNE-EN 14774-3 standard (UNE, 2010), ash content with the UNE-EN 14775 method (UNE, 2010), volatile compounds and fixed carbon determinations based on the ASTM D 1762-84 standard (ASTM, 2001). To estimate the calorific value a calorimetric bomb was used according to the ASTM D 5865 11^a standard (ASTM, 2011).

Regarding the physical tests, volume was calculated through the average of length and diameter of 20 pellets from each species. Bulk density was determined based on the ÖNORM M7135 standard (Österreichisches Normungsinstitut, 2018). The specific density was evaluated with the water displacement method, according to the norm NCh 176/2 (INN, 1986). Thus, the specific density corresponded to the quotient between the dry weight (anhydrous) and saturated volume of each sample of pellets, with the following equation:

$$Db = PS / Vb ;$$

where,

Db: specific density (g cm⁻³);

PS: dry weight (g);

Vb: saturated volume (cm⁻³)

The friability test was made by dropping twice 20 pellets from a height of 1.8 m onto a ceramic floor and observing into

176/2 (INN, 1986). Así, la densidad básica correspondió al cociente entre el peso seco (anhidro) y volumen saturado de cada muestra de pélets, con la ecuación siguiente:

$$Db = PS / Vb;$$

donde,

Db: densidad básica (g cm⁻³);

PS: peso seco (g);

Vb: volumen saturado (cm³)

La prueba de friabilidad se realizó al dejar caer dos veces 20 pélets desde una altura de 1.8 m hasta un suelo cerámico y se observó en cuántas partes se rompieron (dos, tres, o más partes) de acuerdo con el método ASTM D440-86 (ASTM, 2002). Después se calculó el valor de la friabilidad con la ecuación.

$$FR = N_i / N_f$$

donde:

FR = Friabilidad resultante (adimensional);

N_i = Número de pélets al inicio del experimento;

N_f = Número de pélets enteros al final del experimento.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se analizaron con un ANDEVA en un diseño completamente aleatorio. El número de repeticiones varió según la variable analizada. Seis repeticiones para las variables del análisis inmediato y densidad a granel; 20 repeticiones para las dimensiones del pélet y 40 repeticiones para las pruebas de resistencia (número de partes al quiebre, pérdida de biomasa y friabilidad). La biomasa de *P. greggii* se utilizó como testigo porque es una especie de interés probado en plantaciones comerciales en México; para además compararla como alternativa en el uso de residuos. Cuando se observaron por variable diferencias significativas entre especies se aplicó la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) para la comparación múltiple de medias. Para el ANDEVA y la comparación de medias se utilizó SAS® v. 9.4 (SAS Institute, Inc., 2013).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las especies presentaron diferencias estadísticas ($p \leq 0.05$) en todas las variables evaluadas (Cuadro 1). El contenido humedad fue menor (≤ 0.05) en los pélets de *Acacia retinoides* (4.3%), en relación con *Populus deltoides* (9.0%) y *Salix sp.* (8.9%) que presentaron los valores mayores. En todas las especies, los

how many pieces they broke (two, three or more parts) according to the ASTM D440-86 method (ASTM, 2002). Next, the value of friability was calculated with the following equation:

$$FR = N_i / N_f$$

where,

FR = resulting friability (unitless);

N_i = number of pellets at the start of the experiment;

N_f = Number of whole pellets at the end of the experiment.

Statistical analysis

The data obtained were analysed with an ANOVA in a completely randomized design. The number of replications varied according to the variable analysed. Six replicates for the variables of the immediate analysis and bulk density; 20 replicates for the pellet dimensions; and 40 replicates for resistance tests (number of parts in breakage, loss of biomass and friability). The biomass of *P. greggii* was considered the control because it is a species of proved interest in commercial plantations in Mexico; in order to now compare it as an alternative in the use of residues. When significant differences were observed by variable among species, the Tukey's multiple comparison test was performed ($p \leq 0.05$) for the comparison of means. Both ANOVA and the Tukey's test, was done with SAS® v. 9.4 (SAS Institute Inc., 2013).

RESULTS AND DISCUSSION

The species presented statistical differences ($p \leq 0.05$) in all of the variables evaluated (Table 1). The moisture content was lower ($p \leq 0.05$) in the pellets of acacia (*A. retinoides*) (4.3%), compared to Eastern cottonwood (*P. deltoides*) (9.0%) and willow (*Salix sp.*) (8.9%), which presented the highest values. In all of the species, the results of moisture content were high compared with the values observed in *Pennisetum purpureum* (3.2%) (Wibowo *et al.*, 2017), although the low moisture content caused difficulty in the compression, moulding and quality of the pellets. The customary values of water content in Durango are within the limits established for the better use of the physical properties of biomass, facilitating the elaboration of pellets and obtaining quality products with longer duration (Ungureanu *et al.*, 2018).

Ash content was lower ($p \leq 0.05$) in the pellets of *Salix sp.* (2.9%) in regard to *P. greggii* (3.5%) and *P. deltoides* (3.7%). In both cases, ash content was lower

Cuadro 1. Análisis inmediato de pélets de especies dendroenergéticas evaluadas en Durango (2017).
Table 1. Immediate analysis of pellets of dendroenergetic species evaluated in Durango (2017).

Especie	Humedad (%)	Cenizas (%)	Material volátil (%)	Carbono fijo (%)	[†] PCS (MJ kg ⁻¹)
<i>Eucalyptus globulus</i>	5.6±0.48 c	3.1±0.03 bc	80.0±0.51 cd	16.9±0.50 ab	20.1±0.07 a
<i>Pinus greggii</i> [‡]	7.2±0.02 b	3.5±0.04 ab	91.9±0.92 a	4.6±0.97 d	19.5±0.02 bc
<i>Populus alba</i>	7.1±0.04 b	3.5±0.04 ab	82.3±0.36 bc	14.2±0.36 bc	19.2±0.06 cd
<i>Acacia retinoides</i>	4.3±0.21 d	3.5±0.04 ab	80.6±0.27 cd	16.0±0.24 ab	19.3±0.02 bcd
<i>Ricinus communis</i>	6.4±0.08 bc	3.6±0.04 a	84.3±0.59 b	12.1±0.59 c	19.5±0.03 bc
<i>Populus deltoides</i>	9.0±0.15 a	3.7±0.20 a	79.7±0.28 cd	16.6±0.33 ab	19.1±0.08 d
<i>Pennisetum sp.</i>	6.6±0.10 bc	3.1±0.06 bc	77.7±1.02 d	19.2±1.07 a	16.6±0.05 e
<i>Salix sp.</i>	8.9±0.10 a	2.9±0.04 c	81.7±0.98 bc	15.4±0.98 bc	19.8±0.08 a

[†]PCS = Poder Calorífico Superior. a,b Literales diferentes en cada columna representan diferencias significativas (Tukey; $p \leq 0.05$) entre especies. [‡] = control. [♦] [†]PCS = higher calorific value. a,b Different letters within each column indicate significant differences (Tukey; $p \leq 0.05$) among species. [‡] = control.

resultados del contenido de humedad fueron altos en comparación con los valores observados en *Pennisetum purpureum* (3.2%) (Wibowo *et al.*, 2017), aunque el contenido de humedad bajo dificultó compresión, moldeado y calidad de los pélets. Los valores de humedad utilizados en Durango están dentro de los límites establecidos para aprovechar las propiedades físicas de la biomasa, facilitar la elaboración de pélets y obtener productos de calidad con duración prolongada (Ungureanu *et al.*, 2018).

La proporción de cenizas fue inferior ($p \leq 0.05$) en los pélets de *Salix sp.* (2.9%), en relación con *P. greggii* (3.5%) y *P. deltoides* (3.7%). En ambos casos, la proporción de cenizas fue inferior a la registrada en estudios con *P. purpureum*, en los cuales el valor fue 17.5% (Wibowo *et al.*, 2017). Los pélets de todas las especies mostraron valores menores a lo establecido (<7%) en las normas internacionales (Carrillo-Parra *et al.*, 2018). Pradhan *et al.* (2018) indicaron que el contenido de ceniza bajo mejora el poder calorífico, reduce los problemas de formación de escoria, elementos corrosivos y producción de emisiones. La ceniza de los pélets depende de los minerales presentes en el combustible, origen de la biomasa (edad de plantación), manejo de la biomasa en el patio de concentración y durante el peletizado, y eficiencia en el proceso de combustión (Liu *et al.*, 2014).

La proporción de material volátil fue diferente ($p \leq 0.05$) entre especies. Los pélets de *Pennisetum sp.* mostraron una proporción de 77.3%, valor inferior al observado en los pélets del resto de las especies;

than that registered in studies with *P. purpureum*, in which the value was 17.5% (Wibowo *et al.*, 2017). The pellets of all the species showed values lower than those established (<7%) in the international standards (Carrillo-Parra *et al.*, 2018). Pradhan *et al.* (2018) indicated that low ash content improves the calorific value, reducing problems due to production of waste, corrosive elements, and emissions. The ash content of pellets depends on the minerals present in the fuel, biomass origin (age of plantation), management of the biomass at the sawmill facility and while pelletizing, and efficiency in the combustion process (Liu *et al.*, 2014).

The proportion of volatile material was different ($p \leq 0.05$) among species. The pellets of *Pennisetum sp.* had a proportion of 77.3%, a value lower than those observed in the pellets of the other species; *P. greggii* presented the highest value (91.9%). In all of the cases the values were high compared to the pellets of *Pennisetum purpureum*. In this species the values were 25.2 to 26.9% of volatile material (Wibowo *et al.*, 2017). This is probably due to the low moisture level used during the process of elaboration of the pellets of *P. purpureum*; which caused difficulties in the process of compression and moulding. The species with high growth rates such as *Pennisetum sp.* show low levels of volatile material due to the accelerated process of lignification observed in Gramineae (Tsuyama *et al.*, 2017).

The fixed carbon content in pellets of *Pennisetum sp.* (19.2%) was the highest ($p \leq 0.05$). In the second

P. greggii presentó el valor mayor (91.9%). En todos los casos los valores fueron altos respecto a los pélets de *Pennisetum purpureum*. En esta especie los valores fueron 25.2 a 26.9% de material volátil (Wibowo *et al.*, 2017). Lo anterior se debe al nivel de humedad bajo que se usó durante el proceso de elaboración de los pélets de *P. purpureum*; el cual dificultó el proceso de compresión y moldeado. Las especies con tasas de crecimiento altas como *Pennisetum sp.* muestran niveles bajos de material volátil debido al proceso acelerado de lignificación observado en gramíneas (Tsuyama *et al.*, 2017).

El contenido de carbono fijo en los pélets de *Pennisetum sp.* (19.2%) fue el mayor ($p \leq 0.05$). En el segundo grupo estadístico estuvieron los pélets de *E. globulus* (16.9%), *P. deltooides* (16.6%) y *A. retinoides* (16.0%); *P. greggii* (el control) tuvo el valor más bajo (4.6%). El carbón fijo de algunas especies fue similar al obtenido en *E. globulus* (15.9%); aunque fueron bajos en todas las especies evaluadas en comparación con los obtenidos con gramíneas, en las cuales el contenido de carbón fijo varía de 55.6 a 66.9% (Wibowo *et al.*, 2017). Las especies con contenido alto de carbono fijo se considera que son útiles para producir carbón y las especies con niveles altos de compuestos volátiles pueden usarse para producir biomasa para generación de biogás.

El acondicionamiento de la biomasa antes de su densificación, así como la determinación de las propiedades de la madera en cada una de las especies, influyó con magnitud considerable en los contenidos de compuestos volátiles y carbón fijo registrados en los pélets evaluados en este estudio. *Pennisetum sp.* y *R. communis* mostraron valores aceptables de material volátil y carbón fijo, aunque debe cuidarse la calidad de pélets, porque el aumento en la proporción de compuestos volátiles favorece el poder calorífico, pero también aumenta la fragilidad del combustible (Carrillo-Parra *et al.*, 2018).

El poder calorífico de los pélets de *E. globulus* (20.1 MJ kg⁻¹) y *Salix sp.* (19.8 MJ kg⁻¹) fue mayor ($p \leq 0.05$) respecto al valor en *P. greggii* (19.5 MJ kg⁻¹) y *Pennisetum sp.* (16.6 MJ kg⁻¹). El poder calorífico se situó en el intervalo obtenido en otro estudio con *Pennisetum sp.*, en los cuales los valores fueron de 15.2 a 22.9 MJ kg⁻¹ (5468.6–6258.9 kcal kg⁻¹) (Wibowo *et al.*, 2017). El proceso de elaboración de pélets a partir de la mayoría de las especies, con excepción de *Pennisetum sp.*, cumplió con la norma Ö-

statistically discriminated group there were the pellets of *E. globulus* (16.9%), *P. deltooides* (16.6%) y *A. retinoides* (16.0%). *P. greggii* (the control) had the lowest value (4.6%). Fixed carbon of some of the species was similar to that obtained in *E. globulus* (15.9%); although they were lower for all the evaluated species, than those obtained in other Gramineae, in which the fixed carbon content varied from 55.6 to 66.9% (Wibowo *et al.*, 2017). The species with high fixed carbon content are considered useful for producing carbon and the species with high levels of volatile compounds can be used to produce biomass for biogas generation.

The conditioning of the biomass prior to its densification, as well as the determination of the properties of the wood in each one of the species, had an influence of considerable magnitude in the volatile compounds and fixed carbon registered in the pellets evaluated in this study. *Pennisetum sp.* and *R. communis* showed acceptable values of volatile material and fixed carbon, although care should be taken regarding pellet quality, because the increase in the proportion of volatile compounds favours the calorific value, but it also increases the fragility of the fuel (Carrillo-Parra *et al.*, 2018).

The calorific value of the pellets of *E. globulus* (20.1 MJ kg⁻¹) and *Salix sp.* (19.8 MJ kg⁻¹) was higher ($p \leq 0.05$) than in *P. greggii* (19.5 MJ kg⁻¹) and *Pennisetum sp.* (16.6 MJ kg⁻¹). The calorific value was located within the interval obtained in another study with *Pennisetum sp.*, in which the values were 15.2 to 22.9 MJ kg⁻¹ (5468.6–6258.9 kcal kg⁻¹) (Wibowo *et al.*, 2017). The process of pellet production from most of the species, with the exception of *Pennisetum sp.*, complied with the standard ÖNORM M7135 which establishes 18 MJ kg⁻¹ as minimum value of PCS (Atuesta and Sierra, 2015). The species studied are productive options of biomass apt for the elaboration of solid biofuels. Although it is necessary to select combinations and adjusting processes to increment the calorific value in some of them, such as *Pennisetum sp.*

The physical analysis of the pellets showed significant differences ($p \leq 0.05$) among species for all of the variables (Table 2). The diameter of the pellet was greater ($p \leq 0.05$) in the two species of *Populus* (6.2 mm), while it was smaller in the case of *P. greggii* (5.7 mm) and *Pennisetum sp.* (5.8 mm). In the pellets of all of the species, diameter was maintained

norma M7135 que establece 18 MJ kg⁻¹ como valor mínimo del PCS (Atuesta y Sierra, 2015). Las especies estudiadas son opciones productivas de biomasa apta para la elaboración de biocombustibles sólidos. Aunque es necesario seleccionar combinaciones y ajustar procesos para incrementar el poder calorífico en algunas de ellas, como *Pennisetum sp.*

El análisis físico de los pélets mostró diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre especies para todas las variables (Cuadro 2). El diámetro del pélet fue mayor ($p \leq 0.05$) en las dos especies de *Populus* (6.2 mm), mientras que fue inferior en el caso de *P. greggii* (5.7 mm) y *Pennisetum sp.* (5.8 mm). En los pélets de todas las especies, el diámetro se mantuvo dentro del intervalo (4-10 mm) recomendado en la norma M7135-Ö, aunque para pino y *Pennisetum sp.* la norma establece valores de 6 a 8 mm; el resto de las especies se mantuvieron cerca del límite inferior. La longitud del pélet fue mayor ($p \leq 0.05$) en *Salix sp.* (34.0 mm), *R. communis* (33.6 mm) y *Eucalyptus globulus* (33.8 mm), mientras que en la especie control (*P. greggii*) fue 26.7 mm; este es el valor más bajo en la norma de calidad (Atuesta y Sierra, 2015). Todas las especies superaron los valores de 13.2 a 17.4 mm de los pélets elaborados con biomasa de especies tropicales en México (Carrillo-Parra *et al.*, 2018). La mayoría de las especies mostraron cualidades físicas para la producción de pélets y cumplieron con las dimensiones solicitadas en normas de calidad internacionales. La excepción fue *P. greggii* porque se trata de una conífera, una especie con rapidez de crecimiento

within the interval (4-10 mm) recommended in the standard ÖNORM M7135, although for *Pinus* and *Pennisetum sp.* the standard establishes values from 6 to 8 mm; the remaining species values were close to the lower limit. The length of the pellet was greater ($p \leq 0.05$) in *Salix sp.* (34.0 mm), *R. communis* (33.6 mm) and *Eucalyptus globulus* (33.8 mm), while in the control species (*P. greggii*) it was 26.7 mm; this is the lowest value in the quality standard (Atuesta and Sierra, 2015). All of the species surpassed the values from 13.2 to 17.4 mm common in pellets made with biomass of tropical species in Mexico (Carrillo-Parra *et al.*, 2018). Most of the species showed physical qualities for the production of pellets and complied with the dimensions required in international quality standards. The exception was *P. greggii* because it is a coniferous tree, a species with slower growth-speed than the rest. Therefore, the growth stage in which cutting was made for this study is different in regard to the rapid-growth species.

Pellet weight was higher ($p \leq 0.05$) in *Pennisetum sp.*, *Salix sp.* and *R. communis* (1.2 g), while the lowest value was registered in *P. deltooides* (0.9 g) (Table 2). The volume of the pellets showed considerable variation among species, and that of *P. greggii* was significantly lower (688.5 mm³) compared to the species that presented greater volume, *Salix sp.* (975.9 mm³) and *E. globulus* (975.7 mm³). *P. alba* (929.7 mm³) and *R. communis* (966.5 mm³) presented intermediate values. The bulk density was higher ($p \leq 0.05$) in *A. retinoides* (0.71 g cm⁻³), while

Cuadro 2. Diámetro, longitud, peso, volumen y densidad de pélets elaborados a partir de especies evaluadas para dendroenergía en Durango (2017).

Table 2. Diameter, length, weight, volume and density of pellets produced with species evaluated for dendroenergy in Durango (2017).

Especie	Diámetro (mm)	Longitud (mm)	Peso (g)	Volumen (mm ³)	Densidad Granel (g cm ⁻³)	Densidad Básica (g cm ⁻³)
<i>Eucalyptus globulus</i>	6.1±0.01 b	33.8±0.62 a	1.1±0.02 b	975.7±17.9 a	0.62±0.01 d	1.2±0.01 bc
<i>Pinus greggii</i> (†)	5.7±0.01 c	26.7±0.63 c	1.0±0.02 c	688.5±16.2 e	0.67±0.01 c	1.4±0.03 a
<i>Populus alba</i>	6.2±0.02 a	31.0±0.52 b	1.1±0.02 b	929.7±15.7 abc	0.63±0.01 d	1.2±0.01 bc
<i>Acacia retinoides</i>	6.0±0.01 b	30.9±0.69 b	1.1±0.03 b	883.3±21.4 c	0.71±0.01 a	1.3±0.01 b
<i>Ricinus communis</i>	6.1±0.01 b	33.6±0.44 a	1.2±0.02 a	966.5±13.1 b	0.67±0.01 c	1.2±0.01 bc
<i>Populus deltooides</i>	6.2±0.03 a	29.7±0.64 b	0.9±0.02 c	902.1±18.3 bc	–	1.0±0.02 d
<i>Pennisetum sp.</i>	5.8±0.10 c	30.9±0.62 b	1.2±0.02 a	808.8±16.7 d	0.69±0.01 b	1.4±0.04 a
<i>Salix sp.</i>	6.0±0.01 b	34.0±0.44 a	1.2±0.02 a	975.9±12.8 a	0.61±0.01 d	1.2±0.02 c

a,b Literales diferentes en cada columna indican diferencias estadísticas ($p \leq 0.05$) entre especies. †control. ♦ a,b Different letters within each column indicate statistical differences ($p \leq 0.05$) among species. †control.

menor a todas las demás. De modo que la etapa de crecimiento en la cual se realizó el corte para este estudio es distinta respecto a especies de crecimiento rápido.

El peso de pélets fue mayor ($p \leq 0.05$) en *Pennisetum sp.*, *Salix sp.* y *R. communis* (1.2 g), mientras que el valor más bajo se registró en *P. deltooides* (0.9 g) (Cuadro 2). El volumen de los pélets mostró variación considerable entre especies y el de *P. greggii* fue significativamente inferior (688.5 mm³), respecto a las especies que presentaron los niveles más altos, *Salix sp.* (975.9 mm³) y *E. globulus* (975.7 mm³). *P. alba* (929.7 mm³) y *R. communis* (966.5 mm³) presentaron valores intermedios. La densidad a granel fue mayor ($p \leq 0.05$) en *A. retinoides* (0.71 g cm⁻³), mientras que *Salix sp.* (0.61 g cm⁻³), *E. globulus* (0.62 g cm⁻³) y *P. alba* (0.63 g cm⁻³) presentaron los valores más bajos. Todas las especies presentaron valores de densidad de pélets aceptable (>0.6 g cm⁻³) con base en la norma internacional (Atuesta y Sierra, 2015); así como respecto a los niveles observados en estudios con gramíneas (Wibowo *et al.*, 2017).

Respecto a la densidad básica, los valores fueron altos ($p \leq 0.05$) en *Pennisetum sp.* (1.4 g cm⁻³) y *P. greggii* (1.4 g cm⁻³), mientras que en *P. deltooides* (1.0 g cm⁻³) fue inferior y significativo respecto a las otras especies. Con excepción de *P. deltooides*, todas las especies mostraron valores que superaron el mínimo requerido en la norma internacional (1.12 g cm⁻³). Los valores fueron similares a los obtenidos (1.10 y 1.18 g cm⁻³) con pélets elaborados a partir de especies tropicales de México (Carrillo-Parra *et al.*, 2018). El procesamiento de la biomasa incrementó la densidad básica al pasar de valores de 0.295 g cm⁻³ (cedro) a 0.502 g cm⁻³ (pino). El proceso de elaboración de pélets en todas las especies debe ajustarse para asegurar el cumplimiento de los parámetros internacionales de calidad.

El número medio de partes en las que se desintegraron los pélets fue diferente ($p \leq 0.05$) entre especies, en *Pinus greggii* el valor fue de 2.4 (Cuadro 3); mientras que en las otras especies fluctuó de 1.6 a 2.0. La pérdida de biomasa durante la prueba de friabilidad fue mayor ($p \leq 0.05$) en los pélets de *Pinus greggii* (41.6%) y *Populus alba* (29.9%), en comparación con el valor en las otras especies evaluadas desde 18.1% (*Pennisetum sp.*) a 22.7% (*P. deltooides*). Los valores superaron con amplitud los resultados obtenidos con algunas especies vegetales del trópico,

Salix sp. (0.61 g cm⁻³), *E. globulus* (0.62 g cm⁻³) and *P. alba* (0.63 g cm⁻³) presented the lowest values. All of the species presented acceptable values of pellet bulk density (>0.6 g cm⁻³), according to the international standards (Atuesta y Sierra, 2015); and also regarding the values observed in other studies with Gramineae (Wibowo *et al.*, 2017).

In regard to specific density, values were high ($p \leq 0.05$) in *Pennisetum sp.* (1.4 g cm⁻³) y *P. greggii* (1.4 g cm⁻³), while in *P. deltooides* (1.0 g cm⁻³) it was lower and significant compared to the other species. With the exception of *P. deltooides*, all of the species showed values that surpassed the minimum required in the international norm (1.12 g cm⁻³). The values were similar to those obtained (1.10 and 1.18 g cm⁻³) with pellets made with tropical species of Mexico (Carrillo *et al.*, 2018). The processing of the biomass increased the specific density from values of 0.295 g cm⁻³ (cedar) to 0.502 g cm⁻³ (pine). The production process of pellets in all of the species should be adjusted to ensure the compliance to international quality standards.

The mean number of parts into which the pellets disintegrated was different ($p \leq 0.05$) among species, in *Pinus greggii* the value was 2.4 (Table 3); while in the other species it fluctuated from 1.6 to 2.0. The loss of biomass during the friability test was higher ($p \leq 0.05$) in the pellets of *Pinus greggii* (41.6%) and *Populus alba* (29.9%), in comparison to the value in the other species evaluated from 18.1% (*Pennisetum sp.*) to 22.7% (*P. deltooides*). The values widely surpassed the results obtained with some plant species of the tropics, whose biomass retention was 61.7 to 66.3%; that is, biomass losses fluctuated between 33.7 and 38.3% (Carrillo-Parra *et al.*, 2018).

The friability was low in *P. greggii* (0.45), a small number of pellets disintegrated during the test, compared with *R. communis* (0.64) and *P. deltooides* (0.63). In general, the results of friability were low in regard to pellets obtained from mixed materials, in which values above 0.93 were obtained (Tenorio *et al.*, 2016). In this study, out of 100 pellets evaluated, only seven broke in two parts, and there was no difference among species except with the control. Most of the species evaluated showed potential to be used in the production of pellets of acceptable quality, although it is necessary to make adjustments to optimize the productive process and complying with international quality standards.

Cuadro 3. Friabilidad evaluada en pélets de especies cultivadas para dendroenergía en Durango (2017).**Table 3. Friability evaluated in pellets of species cultivated for dendroenergy in Durango (2017).**

Especie	Núm. Partes	Pérdida de biomasa (%)	Friabilidad
<i>Eucalyptus globulus</i>	1.6±0.62 b	18.9±20.4 b	0.62±0.01
<i>Pinus greggii</i> †	2.4±0.66 a	41.7±14.3 a	0.45±0.15
<i>Populus alba</i>	1.8±0.54 b	29.9±21.7 ab	0.57±0.01
<i>Acacia retinoides</i>	2.0±0.84 b	18.9±18.0 b	0.51±0.01
<i>Ricinus communis</i>	1.6±0.59 b	19.6±20.7 b	0.64±0.03
<i>Populus deltoides</i>	1.6±0.55 b	22.7±21.1 b	0.63±0.05
<i>Pennisetum sp.</i>	1.6±0.66 b	18.1±19.8 b	0.62±0.03
<i>Salix sp.</i>	1.6±0.53 b	22.9±20.6 b	0.62±0.03

a,b Literales diferentes en cada columna representan diferencias estadísticas ($p \leq 0.05$) entre especies. †control. ♦ a,b Different letters within each column indicate statistical differences ($p \leq 0.05$) among species. †control.

cuya retención de biomasa fue de 61.7 a 66.3%; es decir, las pérdidas de biomasa fluctuaron entre 33.7 y 38.3% (Carrillo-Parra *et al.*, 2018).

La friabilidad fue baja en *P. greggii* (0.45), una cantidad reducida de pélets se desintegraron durante la prueba, comparado con *R. communis* (0.64) y *P. deltoides* (0.63). En general, los resultados de friabilidad fueron bajos respecto a pélets obtenidos a partir de materiales mixtos, en los cuales se obtuvieron valores superiores a 0.93 (Tenorio *et al.*, 2016). En este estudio, de 100 pélets evaluados solo siete se rompieron en dos partes; no existió diferencia entre especies, excepto con el control. La mayoría de las especies evaluadas mostraron un uso posible en la elaboración de pélets de calidad aceptable, aunque es necesario realizar ajustes para optimizar el proceso productivo y cumplir con estándares internacionales de calidad.

CONCLUSIONES

La biomasa de las especies vegetales con hábito herbáceo, arbustivo y arbóreo *Acacia retinoides*, *Populus deltoides*, *Populus alba*, *Eucalyptus globulus*, *Ricinus communis*, *Salix sp.*, *Pennisetum sp.* y *Pinus greggii* se puede usar en la elaboración de pélets de calidad. Los pélets elaborados con estas especies cumplieron con los estándares establecidos por normas internacionales. La variación en los resultados de los criterios de calidad de los pélets permite considerar la optimización de procesos por especie, para obtener productos de calidad internacional.

CONCLUSIONS

The biomass of plant species with herbaceous, shrubby and arboreal habit *Acacia retinoides*, *Populus deltoides*, *Populus alba*, *Eucalyptus globulus*, *Ricinus communis*, *Salix sp.*, *Pennisetum sp.* and *Pinus greggii* can be used in the elaboration of international quality pellets. Pellets produced with these species complied with international quality standards. Variation among each species results regarding quality criteria allow to consider optimization processes per species, in order to obtain international quality products.

Ricinus communis, *Acacia retinoides* and *Pennisetum sp.* are thermophilic species. Since they grow during Spring-Summer, they are options in the sustainable production of biomass for the elaboration of pellets useful in agriculture and industry. *Eucalyptus globulus*, *Populus alba*, *P. deltoides* and *Salix sp.* are tree species with medium growth rate; they can be useful as a source of biomass for the generation of bioenergy in two or three years. *Pinus greggii* is a coniferous tree species with slow growth, it usually produces biomass (wood debris) for diverse purposes in periods longer than 10 years.

—End of the English version—

-----*

Ricinus communis, *Acacia retinoides* y *Pennisetum sp.* son especies termófilas. Ya que crecen en primavera-verano son opciones en la producción sostenible de la biomasa para elaborar pélets útiles en el ámbito industrial y agrícola. *Eucalyptus globulus*, *Populus alba*, *P. deltooides* y *Salix sp.* son especies arbóreas con crecimiento medio y pueden ser útiles como fuente de biomasa para la generación de bioenergía en dos o tres años. *Pinus greggii* es una especie arbórea de crecimiento lento que produce biomasa (astilla) para fines diversos en plazos mayores que 10 años.

LITERATURA CITADA

- ASTM (American Society for Testing and Materials). 2001. Standard test method for chemical analysis of wood charcoal. American Society for Testing and Materials. Philadelphia, USA 2 p. https://www.academia.edu/33739293/Standard_Test_Method_for_Chemical_Analysis_of_Wood_Charcoal_1 (Consultado: abril 2019).
- ASTM (American Society for Testing and Materials). 2002. Standard test method of drop shatter test for coal. Philadelphia, USA. 4 p. <http://file.yizimg.com/175706/2011090909394804.pdf>. (Consultado: abril 2019).
- ASTM (American Society for Testing and Materials). 2011. Standard Test Method For Gross Calorific Value Of Coal And Coke. Philadelphia, PA. USA. 19 p.
- Atuesta, B., L. E., y B. F. Sierra. 2015. Caracterización físico-química de pellets producidos a partir de mezclas 50/50 carbón bituminoso/madera residual. *Informador Técnico* 79: 18-25 DOI: 10.23850/22565035.133.
- Carrillo-Parra, A., M. Ngangyo-Heya, S. Colín-Urieta, R. Foughbakhch-Pournavab, J. G. Rutiaga-Quiñones, and F. Correa-Méndez. 2018. Physical, mechanical and energy characterization of wood pellets obtained from three common tropical species. *Peer J* 6:e5504. DOI: 10.7717/peerj.5504
- CEC (Commission of the European Communities). 2007. Communication from the commission to the European council and the European parliament: An energy policy for Europe. Commission of the European Communities. Brussels, Belgium. http://www.europarl.europa.eu/meetdocs/2004_2009/documents/com/com_com0001_/com_com0001_en.pdf (Consultado: septiembre 2018).
- García, E. 2004 Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. Libro No. 6. 5ª Edición. Instituto de Geografía UNAM. 90 p.
- INN (Instituto Nacional de Normalización). 1986. CCh 176/2. Madera. Parte 2: Determinación de la densidad. INN. Santiago, Chile. 11 p.
- Li, F., L. Zeng, and L.-S. Fan. 2010. Biomass direct chemical looping process: process simulation. *Fuel* 89: 3773-3784. DOI: 10.1016/j.fuel.2010.07.018
- Liu, Z., B. Fei, Z. Jiang, Z. Cai, and X. Liu. 2014. Important properties of bamboo pellets to be used as commercial solid fuel in China. *Wood Sci. Technol.* 48: 903-917. DOI 10.1007/s00226-014-0648-x
- López-Feldman, A. J. 2015. Cambio climático y actividades agropecuarias en América Latina. Naciones Unidas-Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL)-Unión Europea. Santiago, Chile. https://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/39824/1/S1501286_es.pdf (Consultado: noviembre 2018).
- Medina-García, G., G. Díaz-Padilla, J. López-Hernández, J. A. Ruiz-Corral, M. Marín. 2005. Estadísticas climatológicas básicas del estado de Durango (Periodo 1961-2003). Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. C. E. Valle del Guadiana. Durango, México. <http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/xmlui/handle/123456789/3410>. (Consultado: agosto 2019).
- Núñez-Retana, V. D., R. Rosales-Serna, J. A. Prieto-Ruiz, C. Wehenkel, and A. Carrillo-Parra. 2020. Improving the physical, mechanical and energetic properties of *Quercus* spp. wood pellets by adding pine sawdust. *Peer J* 8:e9766: 1-20. DOI 10.7717/peerj.9766
- Österreichisches Normungsinstitut. 2018. Pellets nach ÖNORM M7135. ON Österreichisches Normungsinstitut, Austria. <https://www.pelletshome.com/pellets-oenorm>. (Consultado: julio 2019).
- Pradhan, P., S. M. Mahajani, and A. Arora. 2018. Production and utilization of fuel pellets from biomass: A review. *Fuel Process. Technol.* 181: 215-232. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2018.09.021>
- Romero S., A. 2010. Aprovechamiento de la biomasa como fuente de energía alternativa a los combustibles fósiles. *Rev. Real Acad. Cienc. Exact. Fis. Nat.* 104: 331-345. <http://www.rac.es/ficheros/doc/00979.pdf> (Consultado: octubre 2019).
- Rosales-Serna, R., J. C. Ríos-Saucedo, R. Jiménez-Ocampo, A. Carrillo-Parra, C. A. Nava-Berumen, y P. A. Domínguez-Martínez. 2018. Rendimiento y calidad de biomasa en especies cultivadas para obtención de energía y abonos en Durango. *AGROFAZ (CELALA)*: 139-153.
- SAS Institute, Inc. 2013. SAS 9.4. 9.4th. Edition. SAS Institute Inc. Cary, U.S.A.
- SEMARNAT (Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2016. Informe de la Situación del Medio Ambiente en México. Compendio de Estadísticas Ambientales. Indicadores Clave, de Desempeño Ambiental y de Crecimiento Verde. Edición 2015. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. México. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/161446/Cap_CC_completo.pdf (Consultado: julio 2019).
- Tenorio, C., R. Moya, J. Valaert, M. Tomazello-Filho. 2016. Potencial de fabricación de pellets de residuos forestales de *Cupressus lusitanica* y *Tectona grandis* en Costa Rica. *Tecnol. en marcha*. 29: 95-109.
- Tsuyama, T., N. Shimada, T. Motoda, Y. Matsushita, Y. Kijidani, K. Fukushima, and I. Kamei. 2017. Lignification in developing culms of bamboo *Sinobambusa tootsik*. *J. Wood Sci.* 63: 551-559. DOI <https://doi.org/10.1007/s10086-017-1651-2>
- UNE (Asociación Española de Normalización). 2010. UNE-EN 14774-3. Biocombustibles sólidos. Determinación del contenido de humedad. Método de secado en estufa. Parte 3. Humedad de la muestra para análisis general. Asociación Española de Normalización (UNE), Madrid, España. <http://www.aenor.es/aenor/normas/normas/fichanorma>.

- asp?tipo=N&codigo=N0045728#.WH_EN7GZNsM. (Consultado: agosto 2019).
- Ungureanu, N., V. Vladut, G. Voicu, M. N. Dinca, and B. S. Zabava. 2018. Influence of biomass moisture content on pellet properties-Review. https://www.researchgate.net/publication/325313502_Influence_of_biomass_moisture_content_on_pellet_properties_-_review. (Consultado: septiembre 2019).
- Wibowo, S., D. P. O. Laia, M. Khotib, and G. Pari. 2017. Characterization of carbon pellets made from elephant grass (*Pennisetum purpureum* Scumach) mixed with Nyamplung Shell (*Calophyllum inophyllum* Linn.). *J. Penelitian Hasil Hutan* 35: 73-82. https://pdfs.semanticscholar.org/f57c/31f3167c94ccfca7f2cb3ecb569fc3e4ddff.pdf?_ga=2.155338235.1101456487.1568300776-1235411453.1555089547 (Consultado: julio 2019).