

Agrociencia

Volumen 55, Número 7

1 de octubre - 15 de noviembre, 2021



Dr. SERGIO SALGADO GARCÍA
Profesor Investigador Titular
Colegio de Postgraduados



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 7, 1 de octubre - 15 de noviembre, 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, **15 de noviembre 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/agrocien/agrociencia.htm>

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

Portada: Dr. Sergio Salgado García



SADER

SECRETARÍA DE AGRICULTURA
Y DESARROLLO RURAL

CONTENIDO ❖ CONTENTS

Volumen 55

1 de octubre - 15 de noviembre, 2021

Número 7

Biotecnología ⇌ Biotechnology

- PRODUCTIVIDAD Y ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL DE *Pleurotus* spp. CRECIDOS SOBRE BAGAZO DE *Agave salmiana* COMO SUSTRATO ALTERNATIVO ⇌ PRODUCTIVITY AND PROXIMATE CHEMICAL ANALYSIS OF *Pleurotus* spp. GROWN ON *Agave salmiana* BAGASSE AS AN ALTERNATIVE SUBSTRATE
 Montserrat **España-Rodríguez**, Edna María **Hernández-Domínguez**, Brianda Susana **Velázquez-De Lucio**, Matilde **Villa-García**, Jorge **Álvarez-Cervantes** 569

Ciencia de los Alimentos ⇌ Food Science

- EVALUACIÓN DEL PROCESO DE SECADO POR LECHO FLUIDIZADO SOBRE LOS ATRIBUTOS DE CALIDAD EN HOJAS DE ESTEVIA (*Stevia rebaudiana*) ⇌ EVALUATION OF THE FLUIDIZED BED DRYING PROCESS ON THE QUALITY ATTRIBUTES OF STEVIA LEAVES (*Stevia rebaudiana*)
 Beatriz **Noyola-Altamirano**, Lilia Leticia **Méndez-Lagunas**, Laura Victoria **Aquino-González**, Juan **Rodríguez-Ramírez**, Sadoth **Sandoval-Torres**, Luis Gerardo **Barriada-Bernal** 583

Fitociencia ⇌ Crop Science

- DIFFERENTIAL EFFECT OF SALINITY ON GROWTH, NUTRIENT CONCENTRATION AND CHLOROPHYLL IN SUGARCANE VARIETIES MEX 69-290 AND CP 72-2086 ⇌ EFECTO DIFERENCIAL DE LA SALINIDAD SOBRE CRECIMIENTO, CONCENTRACIÓN NUTRIMENTAL Y CLOROFILA EN VARIEDADES DE CAÑA DE AZÚCAR MEX 69-290 Y CP 72-2086
 Odón **Castañeda-Castro**, Miriam Cristina **Pastelín-Solano**, Libia Iris **Trejo-Téllez**, Eduardo Ariel **Solano-Pastelín**, Fernando Carlos **Gómez-Merino** 597
- GENETIC VARIABILITY IN *Sechium* spp. (Cucurbitaceae) EVALUATED WITH AFLP MARKERS ⇌ VARIABILIDAD GENÉTICA EN *Sechium* spp. (Cucurbitaceae) EVALUADA CON MARCADORES AFLP
 María Isabel **Íñiguez-Luna**, Jorge **Cadena-Íñiguez**, Moisés **Cortés-Cruz**, Francisco Javier **Morales-Flores**, Kazuo N. **Watanabe**, Ryoko **Machida-Hirano**, Ramón Marcos **Soto-Hernández**, Carlos H. **Avendaño-Arrazate** 611

Socioeconomía ⇌ Socioeconomics

- MOVIMIENTOS DEL TIPO DE CAMBIO Y COMERCIO DE MAÍZ ENTRE MÉXICO Y ESTADOS UNIDOS ⇌ EXCHANGE RATE MOVEMENTS ON THE MEXICO-UNITED STATES TRADE IN MAIZE
 José Luis **Jaramillo-Villanueva** 627
- INCOME DISTRIBUTION OF RURAL HOUSEHOLDS IN MEXICO ⇌ DISTRIBUCIÓN DEL INGRESO DE LOS HOGARES RURALES EN MÉXICO
 Roberto **Gallardo-Del Ángel**, Mario Miguel **Ojeda-Ramírez**, Cecilia **Cruz-López** 645

PRODUCTIVIDAD Y ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL DE *Pleurotus* spp. CRECIDOS SOBRE BAGAZO DE *Agave salmiana* COMO SUSTRATO ALTERNATIVO

PRODUCTIVITY AND PROXIMATE CHEMICAL ANALYSIS OF *Pleurotus* spp. GROWN ON *Agave salmiana* BAGASSE AS AN ALTERNATIVE SUBSTRATE

Montserrat **España-Rodríguez**¹, Edna María **Hernández-Domínguez**¹, Brianda Susana **Velázquez-De Lucio**¹,
Matilde **Villa-García**¹, Jorge **Álvarez-Cervantes**^{1*}

¹Universidad Politécnica de Pachuca, Carr. Pachuca-Cd. Sahagún km 20, Ex Hacienda de Santa Bárbara, Zempoala, Hidalgo, 43830 México. (jorge_ac85@upp.edu.mx).

RESUMEN

El bagazo de *Agave salmiana* es un subproducto de la elaboración de bebidas alcohólicas (pulque, mezcal), extracción de inulina o de agua miel, el cual puede aprovecharse para el cultivo de hongos comestibles. Con la hipótesis de que la característica química del bagazo de agave permite el crecimiento de *Pleurotus* spp. sin afectar valor nutricional; el objetivo de esta investigación fue estimar eficiencia biológica, tasa de productividad y obtener el análisis químico proximal de *Pleurotus* sp. y *Pleurotus ostreatus* crecidos sobre bagazo de *Agave salmiana* como sustrato alternativo al comercial. Para el estudio *Pleurotus* sp. se recuperó de crecimiento natural sobre *A. salmiana* y *P. ostreatus* de una cepa comercial; para el cultivo se utilizó bagazo del agave y paja de cebada como control. De los cuerpos fructíferos obtenidos se determinó la composición química proximal, eficiencia biológica y tasa productiva de ambos hongos, así como el análisis proximal del bagazo de agave antes y después del cultivo. Los datos se analizaron con la prueba de Student con probabilidad de error en $p \leq 0.05$. El hongo aislado de *A. salmiana* presentó características morfológicas propias del género *Pleurotus*. El bagazo de maguey pulquero presentó 0.52% de nitrógeno total y 3.28% de proteína cruda y estos valores aumentaron (0.59, 3.72%) después del cultivo. En *Pleurotus* sp. la eficiencia biológica y tasa productiva fue mayor ($p \leq 0.05$) en fibra de maguey (52.30%, 0.87% d⁻¹); mientras *P. ostreatus* resultó más productivo (59.69%, 0.99% d⁻¹) sobre paja de cebada. El análisis químico proximal de los hongos mostró valores favorables respecto a los valores de referencia del género *Pleurotus*; el contenido de proteína cruda de *P. ostreatus* fue 18.19% y 24.04% en *Pleurotus* sp. El bagazo de maguey pulquero mostró que posee características químicas que satisfacen y

ABSTRACT

Agave salmiana (Maguey pulquero) bagasse is a by-product of the production of alcoholic beverages (mezcal and pulque), extraction of inulin or the honey-water mead, which can be used for the cultivation of edible fungi. With the hypothesis that the chemical characteristic of agave bagasse allows the growth of *Pleurotus* spp. without affecting nutritional value, the objective of this research was to estimate biological efficiency, productivity rate and to obtain the proximate chemical analysis of *Pleurotus* sp. and *Pleurotus ostreatus* grown on *Agave salmiana* bagasse as an alternative to the commercial substrate. For the study, *Pleurotus* sp. was collected from natural growth on *A. salmiana* and *P. ostreatus* from a commercial strain; agave bagasse was used for cultivation, and barley straw as the control. From the fruiting bodies obtained, the proximate chemical composition, biological efficiency and productive rate of both fungi were determined, as well as the proximate analysis of the agave bagasse before and after cultivation. Data were analysed with Student's test with probability of error at $p \leq 0.05$. The fungus isolated from *A. salmiana* exhibited morphological characteristics typical of the *Pleurotus* genus. The agave bagasse presented 0.52% total nitrogen and 3.28% crude protein, and these values increased (0.59, 3.72%) after cultivation. In *Pleurotus* sp., the biological efficiency and productive rate was higher ($p \leq 0.05$) on maguey fibre (52.30%, 0.87% d⁻¹); while *P. ostreatus* was more productive (59.69%, 0.99% d⁻¹) on barley straw. The proximate chemical analysis of the fungi showed favourable values in regard to the reference values of the *Pleurotus* genus; the crude protein content of *P. ostreatus* was 18.19% and 24.04% in *Pleurotus* sp. The agave bagasse showed that it possesses chemical characteristics that satisfy and allow the development of the *Pleurotus* genus and it is suitable to be used as an alternative substrate.

* Autor para correspondencia ♦ Author for correspondence.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0379-5588>

Recibido: enero, 2021. Aprobado: septiembre, 2021.

Publicado en *Agrociencia* 55: 569-581. 2021.

Key words: chemical composition, biological efficiency, fruiting, edible fungi, *Agave salmiana*, *Pleurotus ostreatus*.

permiten el desarrollo del género *Pleurotus*, y es apto para su uso como sustrato alternativo.

Palabras clave: composición química, eficiencia biológica, fructificación, hongos comestibles, *Agave salmiana*, *Pleurotus ostreatus*.

INTRODUCCIÓN

En el mundo existe una diversidad extensa de hongos comestibles; se estima un total de 1500 000 a 2 500 500 especies, de las cuales se conoce menos del 5% y la mayor parte de ellas no se ha identificado. En los hongos comestibles se reconoce su contenido energético y calidad nutricional alta, facilidad de producción y distribución. En 2013, se estimó un promedio de 4.78 kg per cápita de hongos consumidos al año. Los países asiáticos son los productores principales, seguidos de Europa y América (Sánchez y Royse, 2017). Alrededor del mundo se cultivan unas 30 especies de hongos, pero pocas dominan el mercado actual. Los más cultivados son el champiñón (*Agaricus bisporus*), el shiitake (*Lentinula edodes*) y las setas (*Pleurotus* spp.) (Andrade *et al.*, 2012).

Los hongos comestibles figuran como alimentos funcionales debido a sus características nutricionales y actividad específica dentro del organismo. Además, sirven como fuente de ingreso económico que apoya el desarrollo de las comunidades rurales, las cuales tienen participación clave en la recolección, venta y consumo. *Pleurotus* spp. incluye a los hongos comestibles con demanda mayor a nivel mundial en la actualidad, por su aporte nutricional, su valor económico alto y su periodo de crecimiento corto. El género pertenece a la clase *Basidiomycota*, los cuales crecen en sustratos lignocelulósicos no compostados y producen micelios blancuzcos característicos (Barba *et al.*, 2019).

Para su cultivo es necesario que los sustratos posean un gran aporte de lignina, hemicelulosa y celulosa, para permitir el crecimiento micelial. Algunos subproductos agroindustriales (bagazo de agave, caña y pajas o rastrojos) son ricos en carbono, carbohidratos, nitrógeno, minerales, vitaminas, entre otros polímeros; lo cual favorece su uso. Además, el sustrato adecuado debe contar con disponibilidad y continuidad, ser de fácil acceso, manejo, transporte y tener costo asequible (Kamthan y Tiwari, 2017).

INTRODUCTION

There is an extensive diversity of edible fungi in the world; an estimated total of 1 500 000 to 2 500 500 species, out of which less than 5% are known and most of them have not been identified. Edible fungi are recognized for their energy content and high nutritional quality, ease of production and distribution. In 2013, an average per capita of 4.78 kg of fungi consumed per year was estimated. Asian countries are the main producers, followed by Europe and America (Sánchez y Royse, 2017). Around the world, about 30 species of fungi are cultivated, but few dominate the current market. The most cultivated are button mushrooms (*Agaricus bisporus*), shiitake (*Lentinula edodes*) and oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) (Andrade *et al.*, 2012).

Edible fungi are listed as functional foods due to their nutritional characteristics and specific activity inside the human body. In addition, they serve as a source of economic income that supports the development of rural communities, which play a key role in the collection, sale and consumption. *Pleurotus* spp. are among the edible fungi currently in greatest demand worldwide, due to their nutritional value, high economic value and short growing period. The genus belongs to the *Basidiomycota* class, which grow on non-composted lignocellulosic substrates and produce characteristic whitish mycelia (Barba *et al.*, 2019).

For their cultivation, it is necessary that the substrates have a high contribution of lignin, hemicellulose and cellulose, to allow mycelial growth. Some agro-industrial by-products (agave bagasse, sugarcane and straw or stubble) are rich in carbon, carbohydrates, nitrogen, minerals, vitamins, among other polymers, which favours their use. In addition, the appropriate substrate must be continuously available, easily accessible, manageable, transportable and affordable (Kamthan and Tiwari, 2017).

The most commonly used are wheat and rice straws, sawdust, hardwood chips, sugarcane bagasse, cottonseed hulls, corn cobs, rice and wheat bran (Kazemi *et al.*, 2016). However, another substrate with potential characteristics for fungi cultivation is the bagasse from *Agave* (Heredia-Solís *et al.*, 2017). Among its main advantages is its annual availability, high fibre and nitrogen content (Delgadillo *et al.*, 2015).

Los más utilizados son las pajas de trigo y arroz, aserrín, astillas de madera dura, bagazo de caña de azúcar, cascotes de semilla de algodón, mazorcas de maíz, arroz y salvado de trigo (Kazemi *et al.*, 2016). Sin embargo, otro sustrato con características potenciales para el cultivo de hongos es el bagazo de *Agave* (Heredia-Solís *et al.*, 2017). Entre sus ventajas principales está la disponibilidad anual, contenido alto de fibra y nitrógeno (Delgadillo *et al.*, 2015).

Con la hipótesis de que la característica química del sustrato de *A. salmiana* permitiría el crecimiento de hongos *Pleurotus* spp., el objetivo de este estudio fue estimar la productividad (eficiencia biológica y tasa productiva) y obtener el análisis químico proximal de hongo *Pleurotus* sp. y una cepa de *Pleurotus ostreatus* crecidos sobre bagazo de *Agave salmiana* como sustrato alternativo al comercial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo

Las cepas que se usaron para el presente trabajo se obtuvieron en el estado de Hidalgo; *Pleurotus* sp. recuperada de maguey pulquero (*A. salmiana*) ubicado en el municipio de Chilcuahtla (20° 20' 00" N 99° 14' 00" O), y *P. ostreatus* donada por un productor.

Aislamiento y purificación de las cepas

El aislamiento de *Pleurotus* sp. de *A. salmiana*, se realizó con el corte de fragmentos del carpóforo (2.0 cm²), los cuales se sometieron a una serie de lavados en agua destilada (5 min), alcohol al 70% (3 min), agua destilada (1 min), hipoclorito al 10% (2 min) y agua destilada (1 min), en este último paso se eliminó el exceso de agua.

La siembra se realizó en cajas Petri con medio de cultivo de agar papa-dextrosa (PDA, BIOXON) y se incubó a 28 °C hasta que el micelio del hongo cubrió el medio. La cepa de *P. ostreatus* comercial se recibió pura y conservada en medio PDA y se propagó con el mismo método. Cada 28 d se realizó resiembra periódica de las dos cepas en medio PDA.

Caracterización macroscópica y microscópica

Las cepas en medio PDA se examinaron en sus características cualitativas, para registrar color, textura, densidad y presencia de micelio aéreo (Sobal *et al.*, 2007). Además de un análisis microscópico con técnicas de micro cultivo (Rojas, 2011).

With the hypothesis that the chemical characteristics of the *A. salmiana* substrate would allow the growth of *Pleurotus* spp. fungi, the objective of this study was to estimate the productivity (as biological efficiency and production rate) and to obtain the proximate chemical analysis of *Pleurotus* sp. fungi and a strain of *Pleurotus ostreatus* grown on *Agave salmiana* bagasse as an alternative to the commercial substrate.

MATERIALS AND METHODS

Sampling

The strains used for this work were obtained in the state of Hidalgo; *Pleurotus* sp. was collected from maguey (*A. salmiana*) located in the municipality of Chilcuahtla (20° 20' 00" N 99° 14' 00" W), and *P. ostreatus* was donated by a producer.

Isolation and purification of strains

The isolation of *Pleurotus* sp. from *A. salmiana* was made by cutting fragments of the carpophore (2.0 cm²), which were washed repeatedly in distilled water (5 min), 70% alcohol (3 min), distilled water (1 min), 10% hypochlorite (2 min) and distilled water (1 min), in this latter step the water excess was eliminated.

Inoculation was done in Petri dishes with potato-dextrose agar culture medium (PDA, BIOXON) and incubated at 28 °C until the mycelium of the fungus covered the medium. The commercial *P. ostreatus* strain was received pure and preserved on PDA medium and propagated by the same method. Periodic inoculations of the two strains on PDA medium were performed every 28 d.

Macroscopic and microscopic characterization

The strains on PDA medium were examined for their qualitative characteristics, to record colour, texture, density and presence of aerial mycelium (Sobal *et al.*, 2007). In addition to a microscopic analysis with microculture techniques (Rojas, 2011).

Seeding procurement

Wheat and sorghum seeds were used to propagate *Pleurotus* spp. and *P. ostreatus* strains. The seeds were washed 3 times and hydrated in distilled water for 12 h, the water excess was drained,

Obtención de semilla

Para la propagación de las cepas de *Pleurotus* spp. y *P. ostreatus* se utilizó semilla de trigo y sorgo. Las semillas se lavaron 3 veces e hidrataron en agua destilada por 12 h, se drenó el excedente de agua, y 150 g se envasaron en matraces Erlenmeyer de 250 mL. Cada matraz se llevó a esterilización en autoclave por 15 min, y se dejó enfriar hasta alcanzar la temperatura ambiente. Las cepas de las muestras en estudio se inocularon en condiciones asépticas y se incubaron a 28 °C hasta que el micelio de las cepas cubrió las semillas.

Preparación del sustrato

La paja de cebada se remojó en agua destilada por 3 h y se sometió a pasteurización por 2 h en temperaturas entre 80 y 90 °C. El bagazo de *A. salmiana* se le lavó con agua destilada y secó a 55 °C durante 3 d, transcurrido el tiempo se siguió el mismo proceso que con la paja. Al término de la pasteurización los sustratos se dejaron enfriar y se drenó el agua.

Inoculación del sustrato

En bolsas de polietileno transparentes de 25×35 cm se añadieron 500 g de sustrato con una humedad del 75% y 150 g de semilla inoculada. El aire se extrajo y se cerraron las bolsas con cordel; se realizaron perforaciones múltiples con un bisturí estéril. Las bolsas se incubaron a 28 °C en oscuridad, hasta que el micelio cubrió al sustrato.

Crecimiento, fructificación y cosecha

Al brotar los primordios las bolsas se transfirieron a un área aislada y acondicionada; ventilada, libre de contaminantes, con características óptimas de temperatura, luz y humedad para el crecimiento de los cuerpos fructíferos. Durante el desarrollo de las setas se regó las bolsas con agua destilada 2 veces por día. Una vez que se presentó la fructificación se realizó la cosecha periódica de los hongos a través de cortes con un bisturí a los 30 y 60 d de cultivo.

Evaluación de la cosecha

Después de la cosecha de los hongos en estudio se analizó la eficiencia biológica (EB) y la tasa de productividad (TP) con las estimaciones de Vega y Franco (2013).

La EB se determinó con la fórmula siguiente:

$$EB(\%) = \frac{P_f}{P_s} \times 100\% \quad (1)$$

and 150 g were packed into 250 mL Erlenmeyer flasks. Each flask was autoclaved for 15 min and allowed to cool at room temperature. The strains of the study samples were inoculated under aseptic conditions; they were incubated at 28 °C until the mycelium of the strains covered the seeds.

Substrate preparation

The barley straw was soaked in distilled water for 3 h and subjected to pasteurization for 2 h at temperatures between 80 and 90 °C. The *A. salmiana* bagasse was washed with distilled water and dried at 55 °C for 3 d, after that time the same process was followed as with the straw. At the end of pasteurization, the substrates were allowed to cool, and the water was drained.

Substrate inoculation

In 25×35 cm transparent polyethylene bags, 500 g of substrate with 75% of moisture content and 150 g of inoculated seed were added. Air was removed and the bags were closed with string; multiple punctures were made with a sterile scalpel. The bags were incubated at 28 °C in the dark until the mycelium covered the substrate.

Growth, fruiting and harvesting

When the primordia sprouted, the bags were transferred to an isolated and conditioned area; ventilated, free of contaminants, with optimal temperature, light and ambient humidity for the growth of the fruiting bodies. During fungi development, the bags were watered with distilled water twice a day. Once fructification occurred, the fungi were periodically harvested by cutting them with a scalpel at 30 and 60 d of cultivation.

Harvest evaluation

After harvesting the fungi under study, the biological efficiency (EB) and productivity rate (TP) were analysed using the estimates of Vega and Franco (2013).

The EB was determined with the following formula:

$$EB(\%) = \frac{P_f}{P_s} \times 100\% \quad (1)$$

where:

P_f = weight of fresh fungus;

P_s = weight of dry substrate.

Whereas the TP was determined as:

donde:

P_F = Peso del hongo fresco;

P_S = Peso del sustrato seco

En tanto que la TP se determinó por medio de:

$$TP = \frac{EB(\%)}{D} \quad (2)$$

donde:

D = Número de días totales del proceso de fructificación.

Análisis químico proximal de los hongos

Los cuerpos fructíferos de los hongos se deshidrataron a 55 °C por 2d y se molieron. Las determinaciones realizadas fueron humedad (H) (método 930.15), nitrógeno total (NT) y proteína cruda (PC) (método 955.04 adaptado), extracto etéreo (EE) (método 920.39) y cenizas (C) (método 942.05), de acuerdo con el manual de la AOAC (1990).

Materia Seca (MS)

La cantidad de materia seca se determinó con la ecuación siguiente a partir de la relación con los valores de contenido de humedad de las muestras.

$$MS (\%) = 100\% - H(\%) \quad (3)$$

Materia Orgánica (MO)

La estimación de MO fue a partir del porcentaje de MS resultante en (3) y cenizas de las determinaciones para cada sustrato.

$$MO (\%) = MS (\%) - C(\%) \quad (4)$$

Caracterización fisicoquímica del sustrato degradado

El bagazo se lavó y luego deshidrató a 55 °C durante 3d. El sustrato postcosecha se recolectó en porciones aleatorias de las bolsas, y deshidrató a 55 °C por 2d. Estas variables se determinaron: humedad (H) cenizas (C), proteína cruda (PC), nitrógeno total (NT) y extracto etéreo (EE), todas con base en materia seca y siguiendo los métodos en AOAC (1990).

Análisis estadístico

Todas las pruebas se realizaron por triplicado. Los resultados se analizaron con ANDEVA de una sola vía; y las medias

$$TP = \frac{EB(\%)}{D} \quad (2)$$

where:

D = Number of total days of the fruiting process.

Proximate chemical analysis of fungi

The fruiting bodies of the fungi were dehydrated at 55 °C for 2d and ground. The determinations were humidity (H) (method 930.15), total nitrogen (NT) and crude protein (PC) (method 955.04 adapted), ethereal extract (EE) (method 920.39) and ash (C) (method 942.05), according to the AOAC manual (1990).

Dry matter (MS)

The amount of dry matter was determined with the following equation from the relationship with the humidity content values of the samples.

$$MS (\%) = 100\% - H(\%) \quad (3)$$

Organic matter (MO)

The estimation of MO was based on the percentage of MS resulting in (3) and ash from the determinations for each substrate.

$$MO (\%) = MS (\%) - C(\%) \quad (4)$$

Physicochemical characterization of the degraded substrate

Bagasse was washed and then dehydrated at 55 °C for 3d. The post-harvest substrate was collected in random portions from the bags and dehydrated at 55 °C for 2d. These variables were determined: humidity (H) ash (C), crude protein (PC), total nitrogen (NT) and ethereal extract (EE), all on a dry matter basis and following the methods in AOAC (1990).

Statistical analysis

All tests were performed in triplicate. The results were analysed with one-way ANOVA; and statistically significant means were compared with the Student's test (t , $p \leq 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

Fungi of the *Pleurotus* genus are characterized by their growth on wood and lignocellulosic substrates.

estadísticamente significativas se compararon con la prueba de Student (t , $p \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los hongos del género *Pleurotus* se caracterizan por su crecimiento en madera, y en sustratos lignocelulósicos. Sin embargo, también se les encontró en otras fuentes no convencionales como las pencas de maguey. Los hongos se desarrollan sobre las hojas a ras de suelo, cerca de la base de éstas y sobre la cavidad de los agaves agotados (Heredía-Solís *et al.*, 2017).

En este estudio, el hongo aislado de *A. salmiana* presentó características morfológicas propias del género. El cuerpo fructífero de *Pleurotus* sp. que se utilizó para el aislamiento de la cepa creció en *A. salmiana* (Figura 1).

Las muestras presentaron un micelio aéreo abundante, blanquecino, con textura aterciopelada o algodonosa (Figura 2).

La observación microscópica de los especímenes mostró la estructura típica del grupo de los *Basidiomycota* al cual pertenece el género *Pleurotus*, sus hifas se encuentran septadas, son de aspecto áspero, con la presencia de un solo núcleo (Figura 3). Lo cual coincide con descripciones de estructuras microscópicas de otros *Pleurotus* spp. que presentan hifas septadas, haploides monocarióticas, esporas cilíndricas a elipsoides, además de tener paredes delgadas y lisas (Tamboli *et al.*, 2018).



Figura 1. *Pleurotus* sp. recuperado de *Agave salmiana* del municipio de Chilcuautila, Hidalgo.

Figure 1. *Pleurotus* sp. collected from *Agave salmiana* in the municipality of Chilcuautila, Hidalgo.

However, they have also been found in other non-conventional sources such as maguey stalks. The fungi develop on leaves at ground level, near the base of the leaves and on the cavity of exhausted agaves (Heredía-Solís *et al.*, 2017).

In this study, the fungus isolated from *A. salmiana* presented morphological characteristics typical of the genus. The fruiting body of *Pleurotus* sp. that was

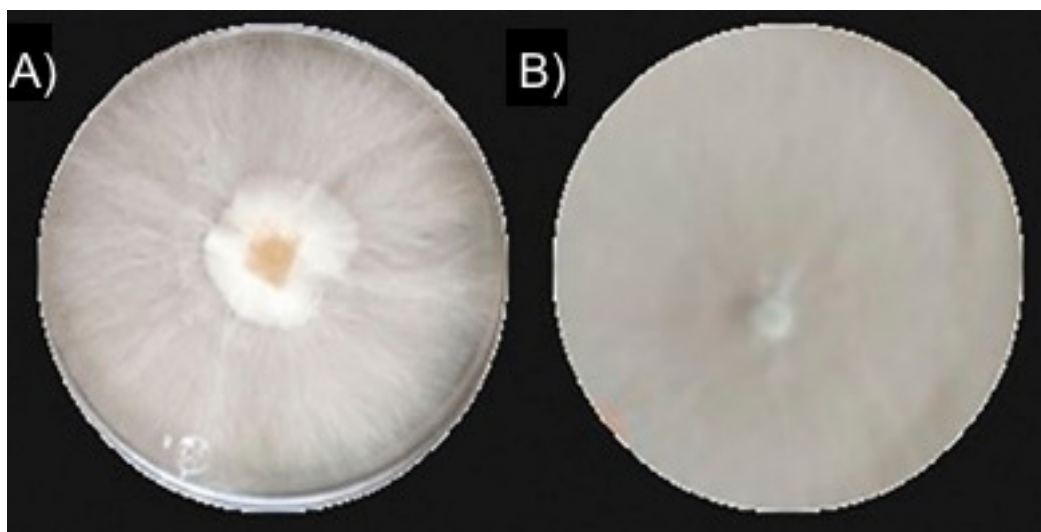


Figura 2. Cuerpo micelial de *Pleurotus* sp. (A) y *Pleurotus ostreatus* (B) cultivados en medio PDA.

Figure 2. Mycelial body of *Pleurotus* sp. (A) and *Pleurotus ostreatus* (B) grown on PDA medium.

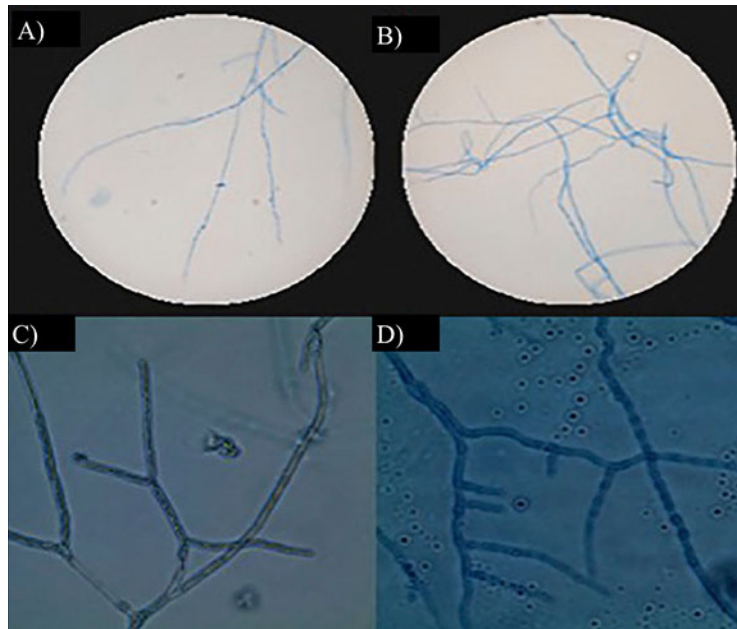


Figura 3. Estructuras microscópicas *Pleurotus* sp. (A, C) y *P. ostreatus* (B, D) aumento 40X y contraste de fases.
Figure 3. Microscopic structures *Pleurotus* sp. (A, C) and *P. ostreatus* (B, D) 40X magnification and phase contrast.

La composición fisicoquímica del bagazo de maguey en estudio presentó porcentajes de H de 13.42 y 6.51% (Cuadro 1). Heredia-Solís *et al.* (2014) y Heredia-Solís *et al.* (2017) encontraron H de 7.30 y 7.36% en bagazo de *A. salmiana*. Los porcentajes de C, EE y PC fueron similares a los informes previos. En referencia a C el intervalo es 6.58-12.93%; EE, entre 0.84-1.85% y PC de 3.17-3.32% (Heredia-Solís *et al.*, 2017).

Los residuos de agave después del período de cultivo (60d), mostraron diferencias en su composición química respecto al sustrato inicial. Los cambios son notables debido a la interacción que existe entre la cepa y el sustrato. Además, la especie del hongo, el sustrato seleccionado y los nutrientes tienen un papel fundamental sobre los resultados de los análisis químicos. El bagazo de maguey pulquero cuenta con una composición química que permite el uso por este tipo de hongos, de lo cual existe evidencia para el género (Heredia-Solís *et al.*, 2017).

La invasión del tipo de semilla que se utilizó en la obtención del inóculo primario ocurrió en tiempos diferentes. En trigo se necesitaron de 10 a 12 d y en sorgo de 12 a 16 d (Cuadro 2). Para la elaboración de los inóculos secundarios se usó trigo como semilla con el fin de optimizar el proceso. Este cereal tiene

used for isolation of the strain grew on *A. salmiana* (Figure 1).

The samples showed abundant aerial mycelium, whitish, with a velvety or cotton texture (Figure 2).

Microscopic observation of the specimens showed the typical structure of the group *Basidiomycota* to

Cuadro 1. Caracterización fisicoquímica (% MS) del bagazo de *A. salmiana* antes y después de la inoculación de los hongos.

Table 1. Physicochemical characterization (% DM) of *A. salmiana* bagasse before and after fungi inoculation.

% MS	Bagazo de maguey	Bagazo de maguey después del cultivo
H	13.42 a	6.51 b
C	9.03 a	12.92 b
EE	1.20 a	7.15 b
NT	0.52 a	0.59 a
PC	3.28 a	3.72 a

H: humedad; C: cenizas; EE: extracto etéreo; NT: nitrógeno total; PC: proteína cruda. Medias con letra diferente indican diferencia estadística en la prueba de Student (t ; $p \leq 0.05$). ♦ H: humidity; C: ash; EE: ethereal extract; NT: total nitrogen; PC: crude protein. Means with different letters indicate statistical difference in the Student's test (t ; $p \leq 0.05$).

Cuadro 2. Tiempo de propagación del micelio de *Pleurotus* spp. y *Pleurotus ostreatus* sobre los medios inoculantes.**Table 2. Propagation time of *Pleurotus* spp and *Pleurotus ostreatus* mycelia on inoculant media.**

Cepa	Semilla	Tiempo de propagación micelio (d, días)
<i>Pleurotus</i> sp.	Trigo	12
	Sorgo	16
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Trigo	10
	Sorgo	12

vigor nutricional mayor debido a su contenido de almidones, que son cadenas de ruptura sencilla; además, su contenido de lignina y celulosa, junto con su capacidad de absorción de agua, favorece el crecimiento del micelio de hongos comestibles (Suárez y Holguín, 2011). Aunque el sorgo se encuentra entre los mejores cereales para la elaboración de los inóculos, tiene rendimiento menor que el trigo (Ríos *et al.*, 2010; Arana-Gabriel *et al.*, 2014).

El tiempo de fructificación (7-11 d) durante la experimentación (Cuadro 3) fue similar a los resultados de Ríos *et al.* (2010) en donde los primordios se presentaron entre los 10-12 d, y la fructificación dependió de la semilla utilizada y del metabolismo sobre los sustratos. Estos factores hacen normales las variaciones temporales durante las cosechas.

El esporocarpo de *P. ostreatus* presentó una coloración beige con tonos grisáceos, con tallos firmes, píleo convexo y de tamaño prominente, aroma agradable y característico de las setas (Figura 4a). En *Pleurotus* spp. (Figura 4b) se apreció una coloración blanca, con tallos firmes y sombreros de gran tamaño en forma convexa. Las características anteriores son típicas para el género, que de acuerdo con Gaitán-Hernández *et al.* (2006) son píleo típico en forma de “oreja” y estípites en colocación más lateral que céntrica. Sin embargo, se encontraron diferencias en las características organolépticas entre ambos. A pesar de que ambas cepas corresponden al género *Pleurotus*, según Barba *et al.* (2019) factores como el clima, tipo de sustratos, la procedencia y la especie de las cepas pueden ser determinantes en las disimilitudes.

El tiempo de cultivo fue de 60 d, en los cuales se obtuvieron los resultados sobre eficiencia biológica (EB) y tasa de productividad (TP) para cada hongo en cada sustrato probado. Los resultados de la EB

which the *Pleurotus* genus belongs, their hyphae were septate, rough in appearance, with the presence of a single nucleus (Figure 3). This matches the descriptions of microscopic structures from other *Pleurotus* spp. that present septate hyphae, monokaryotic haploid, cylindrical to ellipsoid spores, in addition to thin and smooth walls (Tamboli *et al.*, 2018).

The physicochemical composition of the maguey bagasse under study presented H percentages of 13.42 and 6.51% (Table 1). Heredia-Solís *et al.* (2014) and Heredia-Solís *et al.* (2017) found H of 7.30 and 7.36% in *A. salmiana* bagasse. The percentages of C, EE and PC were similar to previous reports. In regard to C, the range is 6.58-12.93%; EE, between 0.84-1.85% and PC of 3.17-3.32% (Heredia-Solís *et al.*, 2017).

The agave residues after the cultivation period (60d), showed differences in their chemical composition compared to the initial substrate. The changes are remarkable due to the interaction between the strain and the substrate. In addition, the species of fungus, the selected substrate and nutrients, all have a fundamental role on the results of the chemical analysis. The agave bagasse has a chemical composition that allows the use by this type of fungi, as there is evidence for the genus (Heredia-Solís *et al.*, 2017).

The invasion of the type of seed used to obtain the primary inoculum occurred at different times. In wheat, 10 to 12 d and in sorghum, 12 to 16 d were required (Table 2). For the elaboration of secondary inoculums, wheat was used as seed in order to optimize the process. This cereal has greater nutritional vigour due to starch content, which are single-break chains. In addition, lignin and cellulose content, together with water absorption capacity,

Cuadro 3. Periodo de fructificación de *Pleurotus* sp. y *Pleurotus ostreatus*.**Table 3. Fruiting period of *Pleurotus* sp and *Pleurotus ostreatus*.**

Cepa	Sustrato	Tiempo de la fructificación (d, días)
<i>Pleurotus</i> sp.	Fibra de maguey	7
	Paja de cebada	11
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Fibra de maguey	11
	Paja de cebada	9

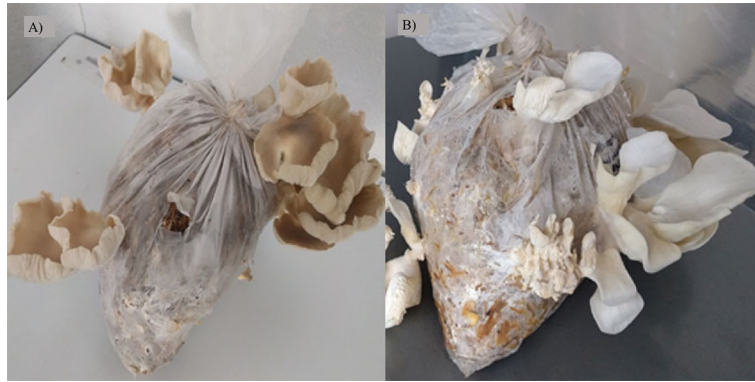


Figura 4. Cuerpos fructíferos de *Pleurotus ostreatus* (A) y *Pleurotus* sp. (B).
Figure 4. Fruiting bodies of *Pleurotus ostreatus* (A) and *Pleurotus* sp. (B).

para los hongos en estudio presentaron un porcentaje similar en los sustratos utilizados y entre ellos, que se mantuvo de 48 a 59%. En el caso de *Pleurotus* spp. la EB fue mayor en fibra de maguey (con 52.3%); mientras *P. ostreatus* obtuvo 59.69% en paja de cebada, la TP respectiva a esos valores de EB fue 0.87% d⁻¹ y 0.99% d⁻¹, en *Pleurotus* spp. y *P. ostreatus* (Cuadro 4).

En este estudio los porcentajes obtenidos en EB resultaron intermedios respecto a los de referencia comercial, de acuerdo con el sustrato usado y la TP máxima correspondiente (0.87% d⁻¹ para la fibra de maguey y 0.99% d⁻¹ para la paja de cebada), por lo que se puede sugerir su uso como sustrato para el cultivo de la seta. Además, se debe considerar que en este trabajo el bagazo de maguey no fue suplementado

favour the growth of edible fungal mycelia (Suárez y Holguín, 2011). Although sorghum is among the best cereals for inoculum processing, it attains lower fungi yields than wheat (Ríos *et al.*, 2010; Arana-Gabriel *et al.*, 2014).

Fruiting time (7-11 d) during the experiment (Table 3) was similar to the results of Ríos *et al.* (2010), where primordia were present between 10-12 d, and fruiting depended on the seed used and the metabolism on the substrates. These factors make those temporal variations during harvests appear as normal.

The *P. ostreatus* sporocarp exhibited a beige coloration with greyish tones, firm stems, convex pileus and prominent size, a pleasant aroma and characteristics of oyster mushrooms (Figure 4a). In *Pleurotus* spp. (Figure 4b), a white coloration was observed with firm stems and large convex caps. The above characteristics are typical for the genus, which according to Gaitán-Hernández *et al.* (2006) are the typical “ear-shaped” cap and stipe in lateral rather than centric placement. However, differences in organoleptic characteristics were found between the two. Although both strains correspond to the *Pleurotus* genus, according to Barba *et al.* (2019) factors such as climate, type of substrates, origin and species of the strains can be determinant in the dissimilarities between the two.

The cultivation time was 60 d, in which the results on biological efficiency (EB) and productivity rate (TP) were obtained for each fungus on each substrate tested. The EB results for the fungi under study showed a similar percentage in the substrates used and among them, ranging from 48 to 59%.

Cuadro 4. Eficiencia biológica (EB) y tasa de productividad (TP) de *Pleurotus* sp. y *Pleurotus ostreatus* crecidos en sustratos diferentes.

Table 4. Biological efficiency (EB) and productivity rate (TP) of *Pleurotus* sp. and *Pleurotus ostreatus* grown on different substrates.

Cepa	Sustrato	EB%	TP (% d ⁻¹)
<i>Pleurotus</i> sp.	Fibra de maguey	52.30a	0.87a
	Paja de cebada	48.61a	0.81a
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Fibra de maguey	55.69b	0.92b
	Paja de cebada	59.69b	0.99b

EB: eficiencia biológica; TP: tasa de productividad. Medias con letra diferente indican diferencia estadística en la prueba de Student (t ; $p \leq 0.05$). ♦ EB: biological efficiency; TP: productivity rate. Means with different letters indicate statistical difference in the Student's test (t ; $p \leq 0.05$).

(Romero-Arenas *et al.*, 2018). Los valores de la EB y sus diferencias, se asume que son producto del sustrato utilizado, así como de la disponibilidad de componentes metabólicos que dicho sustrato ofrece al hongo. Aún así, el uso de combinaciones de materia orgánica puede mejorar la productividad. Más aún, las setas pueden mantener una buena calidad si se optimiza la eficiencia biológica, a partir de una EB mínima del 30% y se aprovechan los subproductos agrícolas. Lo anterior con el fin de reducir costos y hacer posible una productividad mayor (crecimiento del cultivo), además de obtener una mejor relación beneficio-coste en la producción (Romero *et al.*, 2010).

El análisis químico proximal de los hongos obtenidos resultó favorable en referencia al género del hongo (Cuadro 5). Entre sus características *Pleurotus* spp. poseen contenido proteico y de fibra altos; debido a que el agua es su componente mayoritario el contenido de grasas es bajo en estos hongos (Lelley, 2017). Para *Pleurotus* hay documentados porcentajes de H desde 85 hasta 92% (Deepalakshmi y Mirunalini, 2014); en este estudio, el contenido de humedad de los hongos analizados se encontró dentro de este intervalo. Khan *et al.* (2008) estimaron 86.5% de H para *P. ostreatus*, un porcentaje muy similar al 87.46% de este estudio. Respecto a cenizas, la OECD (2013) indicó valores de 5.0 a 13.4% para *P. ostreatus*; lo más frecuente es hallar datos que oscilen alrededor del 7%. Valencia *et al.* (2018) encontraron 7.9% en cultivos sobre paja de cebada.

Cuadro 5. Análisis químico proximal de los cuerpos fructíferos de *Pleurotus* sp. y *Pleurotus ostreatus*.
Table 5. Proximate chemical analysis of *Pleurotus* sp. and *Pleurotus ostreatus* fruiting bodies.

%	<i>Pleurotus</i> sp.	<i>Pleurotus ostreatus</i>
H	86.89 a	87.46 a
C	7.26 b	5.23 a
EE	2.55 b	1.20 a
NT	3.85 b	2.9 a
PC	24.04 b	18.19 a

H: humedad; C: cenizas; EE: extracto etéreo; NT: nitrógeno total; PC: proteína cruda. Medias con letra diferente indican diferencia estadística en la prueba de Student (t ; $p \leq 0.05$). ♦ H: humidity; C: ash; EE: ethereal extract; NT: total nitrogen; PC: crude protein. Means with different letters indicate statistical difference in the Student's test (t ; $p \leq 0.05$).

In the case of *Pleurotus* spp. the EB was higher in agave bagasse fibre (with 52.3%); while *P. ostreatus* obtained 59.69% in barley straw, the corresponding TP for those EB values was 0.87% d⁻¹ and 0.99% d⁻¹, in *Pleurotus* spp. and *P. ostreatus* (Table 4).

In this study, the percentages obtained in EB resulted intermediate regarding those of commercial reference, according to the substrate used and the corresponding maximum TP (0.87% d⁻¹ for maguey fibre and 0.99% d⁻¹ for barley straw), so its use as a substrate for oyster mushroom cultivation may be suggested. In addition, it should be considered that in this work the agave bagasse was not supplemented (Romero-Arenas *et al.*, 2018). The EB values and their differences are assumed to be a product of the substrate used, as well as the availability of metabolic components that this substrate offers to the fungi. Regardless, the use of combinations of organic matter can improve productivity. Moreover, oyster mushrooms can maintain a good quality if the biological efficiency is optimized, starting from a minimum EB of 30% and taking advantage of agricultural by-products. The above in order to reduce costs and enabling higher productivity (culture growth), in addition to obtain a better benefit-cost relation in the production (Romero *et al.*, 2010).

The proximate chemical analysis of the fungi obtained was favourable in reference to the fungus genus (Table 5). Among their characteristics, *Pleurotus* spp. have high protein and fibre content; because water is their major component, the fat content is low in these oyster mushrooms (Lelley, 2017). For *Pleurotus*, there are documented H percentages from 85 to 92% (Deepalakshmi and Mirunalini, 2014); in this study, the humidity content of the evaluated oyster mushrooms was within that range. Khan *et al.* (2008) estimated 86.5% H for *P. ostreatus*, a percentage very similar to the 87.46% in this study. Regarding ash, OECD (2013) indicated values from 5.0 to 13.4% for *P. ostreatus*; most frequently, data ranging around 7% are found. Valencia *et al.* (2018) found 7.9% in cultures grown on barley straw.

The amount of crude protein (PC) is one of the most important properties for fungi. Due to this, fungi are booming in the food industry worldwide. In global terms, the *Pleurotus* genus can contain between 17 and 25% of PC (Lelley, 2017). In this study, the PC content for *P. ostreatus* was 18.19% and 24.04% in *Pleurotus* spp., while Nieto and Chegwin

La cantidad de proteína cruda (PC) es una de las propiedades más importantes para los hongos. Gracias a ésta, es que los hongos tienen auge en la alimentación a nivel mundial. En términos globales el género *Pleurotus* puede contener entre 17 y 25% de PC (Lelley, 2017). En este estudio el contenido de PC para *P. ostreatus* fue de 18.19% y un 24.04% en *Pleurotus* spp., en tanto que Nieto y Chegwin (2010) estimaron valores de 3.47 a 8.02% para algunas especies de *Pleurotus* y atribuyeron las diferencias al sustrato utilizado. De modo que la diferencia puede deberse al inóculo; o a la cantidad de celulosa y nitrógeno presentes en el sustrato inicial. En este estudio la semilla de trigo aportó nutrición al inóculo y enriqueció el sustrato. En primer lugar, definió el desarrollo del micelio en una etapa temprana, y permitió que los hongos tuvieran la capacidad de crecer en un material no convencional, el cual posee poca concentración original de nitrógeno.

De acuerdo con Lelley (2017) la MS representa entre 10 al 12% en *Pleurotus*, debido a su alto contenido de proteínas. En este estudio se obtuvo 12.54 y 13.12% en *P. ostreatus* y *Pleurotus* sp. Estos resultados también fueron mayores comparados con lo informado por Valencia *et al.* (2018) quienes obtuvieron un 11.2% para *P. ostreatus* y 9.3% en *Pleurotus* spp. Esos autores utilizaron carrizo (*Arundo donax*) triturado, como sustrato no convencional, adicional a los más tradicionales, como paja de avena o cebada y rastrojo de maíz. A partir de ello es posible inferir que la cepa utilizada y las diferencias en la composición química de los sustratos influyen directamente en la composición nutricional de los hongos obtenidos en cultivo.

Las características químicas que se obtuvieron de las cepas de *Pleurotus* en este estudio se mantienen dentro de lo documentado para el género. Las diferencias que se observaron se pueden atribuir a factores distintos en la producción, tanto intrínsecos como extrínsecos, como humedad, temperatura, origen de la muestra, edad, especie, y sustrato. Al sustrato se atribuye la aportación de componentes metabólicos y nutrientes para el desarrollo del hongo, y se asume que su composición repercute de forma significativa en las características nutricionales y organolépticas del hongo (Nieto y Chegwin, 2010).

CONCLUSIONES

El bagazo de maguey pulquero demostró que posee características químicas que permiten y

(2010) estimated values from 3.47 to 8.02% for some *Pleurotus* species and they attributed the differences to the substrate used. Therefore, the differences may be due to the inoculum, or to the amount of cellulose and nitrogen present in the initial substrate. In this study, wheat seed provided nutrition to the inoculum and enriched the substrate. First, it defined mycelial development at an early stage, and allowed the fungi to have the ability to grow on a non-conventional material, which originally has little nitrogen concentration.

According to Lelley (2017) MS represents between 10 to 12% in *Pleurotus*, due to its high protein content. In this study, 12.54 and 13.12% were obtained in *P. ostreatus* and *Pleurotus* sp. These results were also higher compared to what was reported by Valencia *et al.* (2018) who obtained 11.2% for *P. ostreatus* and 9.3% in *Pleurotus* spp. Those authors used crushed reed (*Arundo donax*), as a non-conventional substrate, additional to the more traditional ones, such as oat or barley straw and corn stubble. Hence, it is possible to infer that the strain used and the differences in the chemical composition of the substrates directly influence the nutritional composition of the fungi obtained in cultivation.

The chemical characteristics obtained from the *Pleurotus* strains in this study are within the reported values for the genus. Differences observed can be attributed to factors variation in production, both intrinsic and extrinsic, such as humidity, temperature, origin of the sample, age, species, and substrate. To the substrate is attributed the contribution of metabolic components and nutrients for the fungi development, and it is assumed that substrate composition has a significant effect on the nutritional and organoleptic characteristics of the fungi (Nieto y Chegwin, 2010).

CONCLUSIONS

The bagasse from *Agave* exhibited chemical characteristics that allow growth and meet the requirements for the *Pleurotus* genus development, without modifying the chemical and nutritional properties of these edible mushrooms, regarding their commercial values.

A. salmiana bagasse can be considered as an alternative, non-conventional substrate, which also contributes to the ecological management for

cumplen los requerimientos para el desarrollo del género *Pleurotus*, sin modificar las propiedades químicas y nutricionales de los hongos, respecto a los valores comerciales.

El bagazo de *A. salmiana* se puede considerar una alternativa de sustrato no convencional, la cual además contribuye a la gestión ecológica de la producción de *Pleurotus* spp. por el uso de un residuo abundante como sustrato que agrega valor.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Politécnica de Pachuca por las facilidades para la realización de esta investigación en los laboratorios del Departamento de Biotecnología.

LITERATURA CITADA

- Andrade G, R. H., G. Mata, y J. E. Sánchez. 2012. La producción iberoamericana de hongos comestibles en el contexto internacional. In: Sánchez, J.E. y G. Mata (eds). Hongos Comestibles y Medicinales en Iberoamérica. El Colegio de la Frontera Sur. Chiapas, México. pp: 9-19.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official Methods of Analysis. 15th Edition, Washington. D. C. 69-88, 312.
- Arana-Gabriel, Y.; C. Burrola-Aguilar; R. Garibay-Orijel, y S. Franco-Maass. 2014. Obtención de cepas y producción de inóculo de cinco especies de hongos silvestres comestibles de alta montaña en el centro de México. Rev. Chapingo Ser. Cienc. For. Ambient. 20: 213-226. DOI: 10.5154/r.chs-cfa.2014.04.017
- Barba B. M., F. Assumpção F., H. Aparecida M., G. Lopes T., S. Ávila, P. Silveira H., A. Maccari A., and R. R. Hoffmann. 2019. Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. Saudi J. Biol. Sci. 26:633-646. DOI: 10.1016/j.sjbs.2016.12.005
- Deepalakshmi K., and S. Mirunalini. 2014. *Pleurotus ostreatus*: an oyster mushroom with nutritional and medicinal properties. J. Biochem. Tech. 5:718-726.
- Delgadillo R. L., R. Bañuelos V., E. L. Esparza I., H. Gutiérrez B., F. J. Cabral A., y A. Muro R. 2015. Evaluación del perfil de nutrientes de bagazo de agave como alternativa de alimento para rumiantes. Rev. Mex. Cienc. Agríc 11:2099-2103. DOI: 10.29312/remexa.v0i11.778
- Gaitán-Hernández R., D. Salmones., R. Pérez M., y G. Mata. 2006. Manual práctico del cultivo de setas: aislamiento, siembra y producción. Instituto de Ecología A. C. Xalapa, Veracruz, México. 56 p.
- Heredia-Solís A., E. Esparza-Ibarra, L. Romero-Bautista, F. Cabral-Arellano, y R. Bañuelos-Valenzuela. 2014. Bagazos de *Agave salmiana* y *Agave weberi* utilizados como sustrato para producir *Pleurotus ostreatus*. RICS. 1:104-110.
- Heredia-Solís A., R. Bañuelos-Valenzuela, y E. L. Esparza-Ibarra. 2017. Producción de *Pleurotus ostreatus* sobre sustratos de *Agave salmiana* y *Agave weberi*. Biotecnol. Sust. 2:31-36. <https://revistas.uaz.edu.mx/index.php/biotecnologiaysust/article/view/226> (Consultado: enero 2020).
- Pleurotus* spp. production; because an abundant residue can be used as a substrate adding production value.
- Kamthan R., and I. Tiwari. 2017. Agricultural wastes-potential substrates for mushroom cultivation. Eur. J. Exp. Biol. 7: 1-4. DOI: 10.21767/2248-9215.100031
- Kazemi, J. E., M. Jafarpour, and S. Eghbalsaied. 2016. King oyster mushroom production using various sources of agricultural wastes in Iran. Int. J. Recycl. Org. Waste Agric. 5:17-24. DOI: 10.1007/s40093-015-0113-3
- Khan M. A., S. R. Amin, M. N. Uddin, M. Tania, and N. Alam. 2008. Comparative study of the nutritional composition of oyster mushrooms cultivated in Bangladesh. Bangladesh J. Mushroom. 2: 9-14.
- Lelley J. 2017. Aspectos nutritivos de las setas *Pleurotus* spp. In: Sánchez, J.E. y D.J. Royse (eds). La biología, el cultivo y las propiedades nutricionales y medicinales de las setas *Pleurotus* spp. El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR). San Cristóbal de Las Casas, Chiapas. pp. 177-197.
- Nieto I. J., y A. C. Chegwin. 2010. Influencia del sustrato utilizado para el crecimiento de hongos comestibles sobre sus características nutraceuticas. Rev. Col. Biotecnol. 12: 169-178.
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development). 2013. Consensus Document on Compositional Considerations for New Varieties of Oyster Mushroom [*Pleurotus ostreatus*]: key food and feed nutrients, anti-nutrients and toxicants. París, Francia: Safety of Novel Foods and Feeds. [https://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2013\)23&doclanguage=en](https://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2013)23&doclanguage=en) (Consultado octubre 2021).
- Ríos M. P., J. L. Hoyos, y S. A. Mosquera. 2010. Evaluación de los parámetros productivos de la semilla de *Pleurotus ostreatus* propagada en diferentes medios de cultivo. Rev. Bio. Agro. 8: 86-94. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1692-35612010000200012&script=sci_abstract&tlng=es (Consultado: febrero 2020).
- Rojas T., A. 2011. Conceptos y Práctica de Microbiología General. General Microbiology, Concepts and Practice. Universidad Nacional de Colombia. Palmira, Colombia. pp: 111-112.

ACKNOWLEDGEMENTS

To the Universidad Politécnica de Pachuca for providing the laboratory facilities at the Departamento de Biotecnología in order to accomplish this research.

—End of the English version—

-----*

- Romero, O., M. Huerta, M. A. Damián, A. Macías, A. M. Tapia, J. F. C. Parraguirre, y J. Juárez. 2010. Evaluación de la capacidad productiva de *Pleurotus ostreatus* con el uso de hoja de plátano (*Musa paradisiaca* L. cv. Roatan) deshidratada en relación con otros sustratos agrícolas. *Agron. Costarricense*. 34: 53-63. https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0377-94242010000100005 (Consultado: marzo 2020).
- Romero-Arenas O., M. A. Valencias-De Ita, A. Rivera-Tapia, I. Tello-Salgado, O. A. Villarreal Espinosa-Barros, y M. A. Damián-Huato. 2018. Capacidad productiva de *Pleurotus ostreatus* utilizando alfalfa deshidratada como suplemento en diferentes sustratos agrícolas. *ASyD*. 15: 145-160. <http://www.scielo.org.mx/pdf/asd/v15n2/1870-5472-asd-15-02-145-en.pdf> (Consultado: marzo 2020).
- Sánchez J., E., y D. J. Royse. 2017. Producción mundial de setas *Pleurotus* spp. con énfasis en países iberoamericanos. In: Sánchez J. E. y D. J. Royse (eds). *La biología, el cultivo y las propiedades nutricionales y medicinales de las setas Pleurotus spp.* El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR). San Cristóbal de Las Casas, Chiapas. pp: 17-25.
- Sobal M., D. Martínez-Carrera, P. Morales, and S. Roussos. 2007. Classical characterization of mushroom genetic resources from temperate and tropical regions of Mexico. *Micol. Apl. Int*, 19: 15-23. https://www.researchgate.net/publication/26484161_Classical_characterization_of_mushroom_genetic_resources_from_temperate_and_tropical_regions_of_Mexico (Consultado: febrero 2020).
- Suárez A., C., y H. M. Holguín. 2011. Evaluación de medios de cultivo sintéticos y cereales para la producción de semilla de setas comestibles. *Rev. Colomb. Cienc. Hortíc*. 5: 130-140. DOI: 0.17584/rcch.2011v5i1.1259
- Tamboli E., A. Bhatnagar, and A. Mishra. 2018. Alpha-amylase inhibitors from mycelium of an oyster mushroom. *Prep. Biochem. Biotechnol*. 48: 693-699. DOI: 10.1080/10826068.2018.1487849
- Valencia I. M. A., M. D. Castañeda A., M. Huerta L., y O. Romero-Arenas. 2018. Carrizo silvestre (*Arundo donax*) como sustrato alternativo en la producción de *Pleurotus ostreatus*. *Scientia Fungorum*. 48: 15-22. DOI: 10.33885/sf.2018.48.1231
- Vega A., y H. Franco. 2013. Productividad y calidad de los cuerpos fructíferos de los hongos comestibles *Pleurotus pulmonarius* RN2 y *P. djamor* RN81 y RN82 cultivados sobre sustratos lignocelulósicos. *Inf. Tecnol*. 24: 69-78. DOI: 10.4067/S0718-07642013000100009

EVALUACIÓN DEL PROCESO DE SECADO POR LECHO FLUIDIZADO SOBRE LOS ATRIBUTOS DE CALIDAD EN HOJAS DE ESTEVIA (*Stevia rebaudiana*)

EVALUATION OF THE FLUIDIZED BED DRYING PROCESS ON THE QUALITY ATTRIBUTES OF STEVIA LEAVES (*Stevia rebaudiana*)

Beatriz Noyola-Altamirano^{1*}, Lilia Leticia Méndez-Lagunas¹, Laura Victoria Aquino-González¹,
Juan Rodríguez-Ramírez¹, Sadoth Sandoval-Torres¹, Luis Gerardo Barriada-Bernal²

¹Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca. Hornos 1003, Colonia Noche Buena, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México, C.P. 71230. (bna76@hotmail.com). ²Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Hornos 1003, Colonia Noche Buena, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México, C.P. 71230.

RESUMEN

Las hojas de estevia (*Stevia rebaudiana*) son fuente de compuestos bioactivos benéficos para la salud humana; entre ellos destacan los glucósidos de esteviol. El valor comercial de las hojas deshidratadas de estevia se relaciona con su apariencia física y con la concentración de glucósidos. La hipótesis del estudio fue que la calidad de las hojas de estevia, con base en contenido de compuestos bioactivos presentes en las hojas puede ser visible y modificado por el secado. Para probarla, el objetivo fue evaluar el efecto de la temperatura, la velocidad de aire y la densidad de carga de hojas de estevia en un secador de lecho fluidizado no empacado y empacado sobre las características de color, concentración de glucósidos de esteviol (esteviosido y rebaudiosido A), concentración de compuestos fenólicos totales, concentración de flavonoides, y capacidad antioxidante. Las variables fisicoquímicas se evaluaron por medio de coordenadas CIEL*a*b*, cromatografía de líquidos fase reversa, métodos colorimétricos de Folin-Cicolteau, cloruro de aluminio y ensayo de inhibición de radicales libres DPPH*. El efecto de las variables de proceso se evaluó con un diseño de factorial completo con 24 combinaciones de factores y tres repeticiones de muestreo. La configuración de lecho fluidizado afectó ($p \leq 0.05$) la concentración de glucósidos de esteviol en el material foliar seco. En las dos configuraciones el contenido de glucósidos de esteviol aumentó entre 230-290% comparado con el material foliar fresco. Para la

ABSTRACT

Stevia leaves (*Stevia rebaudiana*) are a source of bioactive compounds beneficial to human health; among them, steviol glycosides stand out. The commercial value of dehydrated stevia leaves is related to their physical appearance and the concentration of glycosides. The hypothesis of the study was that the quality of stevia leaves, based on the content of bioactive compounds present in the leaves, can be visible and modified by drying. To test it, the objective was to evaluate the effect of temperature, air velocity, and load density of stevia leaves in a fluidized bed dryer unpacked and packed on the characteristics of colour, steviol glycoside concentration (stevioside and rebaudioside A), total phenolic compound concentration, flavonoid concentration, and antioxidant capacity. The physicochemical variables were evaluated by CIEL*a*b* coordinates, reverse phase liquid chromatography, Folin-Cicolteau colourimetric methods, aluminum chloride, and DPPH* free radical inhibition assay. The effect of process variables was evaluated with a full factorial arrangement with 24 combinations of factors and three sampling replicates. The fluidized bed configuration affected ($p \leq 0.05$) the concentration of steviol glycosides in the dry leaf material. In both configurations the steviol glycoside content increased between 230-290% compared to fresh leaf material. For the unpacked bed configuration, the bitter aftertaste (rebaudioside/stevioside ratio) was higher than the original evaluated in the fresh material. All process variables had a significant influence on polyphenol concentration. The packed bed configuration increased the concentration of phenolic compounds ($p \leq 0.05$) up to 248%. Whereas, with unpacked bed it decreased up to 17% ($p \leq 0.05$) in relation to fresh material. The decrease in drying times and the increase of bioactive compounds (steviol

* Autor para correspondencia ♦ Author for correspondence.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1783-2554>

Recibido: febrero, 2021. Aprobado: noviembre, 2021.

Publicado en Agrociencia 55: 583-596. 2021.

configuración de lecho no empacado, el retrogusto amargo (relación rebaudiósido A/esteviósido) fue mayor que el original evaluado en el material fresco. Todas las variables de proceso tuvieron influencia significativa en la concentración de polifenoles. La configuración con lecho empacado incrementó la concentración de compuestos fenólicos ($p \leq 0.05$) hasta 248%. En tanto que, con lecho no empacado disminuyó hasta un 17% ($p \leq 0.05$) en relación con el material fresco. La disminución en los tiempos de secado y el incremento de compuestos bioactivos (glucósidos de esteviol y compuestos antioxidantes) en la hoja de estevia, hacen de este método de secado una herramienta útil para el manejo y la preservación de materiales vegetales que contengan metabolitos secundarios de importancia económica.

Palabras clave: secado, glucósidos de esteviol, compuestos fenólicos, capacidad antioxidante, *Stevia rebaudiana*.

INTRODUCCIÓN

En el secado de productos herbales, la elección adecuada de las variables de proceso determina la calidad y las propiedades nutricionales, nutraceuticas y bioactivas en el producto final deshidratado (Mujumdar y Law, 2010). El uso de temperaturas altas durante el proceso de secado reduce el tiempo de proceso, aunque ocasiona alteraciones en esas propiedades. La industria de los alimentos busca reemplazar la sacarosa y la glucosa por edulcorantes de índice calórico bajo, tales como los glucósidos de esteviol (Durán *et al.*, 2012), presentes en las hojas de estevia. Estos edulcorantes además exhiben propiedades sensoriales adecuadas y ausencia de efectos teratogénicos y citotóxicos (Lemus-Mondaca *et al.*, 2012; Gupta *et al.*, 2013). Al utilizar infusiones de hojas de estevia como agente edulcorante, se incorporan a la dieta otros compuestos bioactivos benéficos para la salud humana (Shukla *et al.*, 2012; Amin *et al.*, 2017).

Los compuestos fenólicos presentes en infusiones herbales muestran alta capacidad antioxidante en experimentos *in vitro* (Jayaraman *et al.*, 2008; Shukla *et al.*, 2012); por ello se ha evaluado el uso de los polifenoles como aditivos con propiedades nutraceuticas en alimentos procesados (Carbonell-Capella *et al.*, 2013). Una de las razones principales de la depreciación, e incluso el rechazo de cosechas completas de estevia en casos determinados, se relaciona de modo importante con los atributos organolépticos del material foliar (en particular, color y dulzor). Algunos

glycosides and antioxidant compounds) in stevia leaf make of this drying method a useful tool for the management and preservation of plant materials containing secondary metabolites of economic importance.

Key words: drying, steviol glycosides, phenolic compounds, antioxidant capacity, *Stevia rebaudiana*.

INTRODUCTION

In the drying of herbal products, the appropriate choice of process variables determines the quality and the nutritional, nutraceutical and bioactive properties in the final dehydrated product (Mujumdar and Law, 2010). The use of high temperatures during the drying process reduces processing time, although it causes alterations in those properties. The food industry search to replace sucrose and glucose with low-calorie sweeteners, such as steviol glycosides (Durán *et al.*, 2012), present in stevia leaves. These sweeteners also exhibit adequate sensory properties and absence of teratogenic and cytotoxic effects (Lemus-Mondaca *et al.*, 2012; Gupta *et al.*, 2013). By using stevia leaf infusions as a sweetening agent, other bioactive compounds beneficial to human health are incorporated into the diet (Shukla *et al.*, 2012; Amin *et al.*, 2017).

Phenolic compounds present in herbal infusions show high antioxidant capacity in the *in vitro* experiments (Jayaraman *et al.*, 2008; Shukla *et al.*, 2012); therefore, the use of polyphenols as additives with nutraceutical properties in processed foods is evaluated (Carbonell-Capella *et al.*, 2013). One of the main reasons for the depreciation, and even the rejection of whole stevia harvests in certain cases, is significantly related to the organoleptic attributes of the leaf material (in particular, colour and sweetness). Some comparative studies addressed the effect of the drying process on the physicochemical properties of raw materials and concluded that fluidized bed drying processes require a shorter process time, in addition to minimizing physicochemical modifications on the finished product (Mahn *et al.*, 2017; Hincapié and Zapata, 2019).

Fluidized bed drying processes have wide use in the making of herbal infusions and the tea industry, since this type of drying does not affect the organoleptic properties of the final product (Lima and Ferreira, 2011; Dwivedy *et al.*, 2012). Thus, this

estudios comparativos abordaron el efecto del proceso de secado en las propiedades fisicoquímicas de materias primas y concluyeron que los procesos de secado por lecho fluidizado requieren un tiempo de proceso menor, además de minimizar las modificaciones fisicoquímicas del producto terminado (Mahn *et al.*, 2017; Hincapie y Zapata, 2019).

Los procesos de secado por lecho fluidizado tienen uso amplio en la elaboración de tisanas y en la industria del té, ya que este tipo de secado no afecta las propiedades organolépticas del producto final (Lima y Ferreira, 2011; Dwivedy *et al.*, 2012). Por lo anterior, en esta investigación se evaluó el efecto de la temperatura, la densidad de carga y la velocidad de entrada del aire caliente sobre el material foliar de *Stevia rebaudiana* dentro de un proceso de secado por lecho fluidizado empacado y no empacado, como alternativa a los métodos de secado comerciales en la producción de estevia, para conservar y mejorar los atributos de calidad del material foliar para su comercialización.

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección y preparación de la muestra

Stevia rebaudiana variedad Morita II se colectó en el estado de Oaxaca, México (16° 20' 25" N, 98° 26' 47" O); se realizó una selección del material foliar para desechar aquellas hojas con daños físicos, presencia de insectos, bacterias u hongos. El material foliar seleccionado se lavó con agua corriente y se refrigeró a 4 °C hasta su uso.

Caracterización física de las hojas de estevia

Determinación de color y contenido de humedad

El contenido de humedad se determinó de acuerdo con el método 934.01 del AOAC (1990). El color se determinó con un colorímetro Hunter Lab (MiniScan EZ 450/°C, EE. UU.) en hojas frescas y secas. Las coordenadas CIEL*a*b* consideradas tomaron como referencia las coordenadas de color de las hojas frescas. La diferencia total en color se determinó por medio de la Ecuación 1:

$$\Delta E = [(\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 + (\Delta L^*)^2]^{0.5} \quad (1)$$

donde: ΔL^* ; cambio en la luminosidad del material foliar seco, con el material foliar fresco como referencia; Δa^* ; cambio en la

research evaluated the effect of temperature, load density and hot airflow velocity on *Stevia rebaudiana* leaf material in a packed and unpacked fluidized bed drying process, as an alternative to commercial drying methods in stevia production, to preserve and improve the quality attributes of the leaf material for commercialization.

MATERIALS AND METHODS

Sample selection and preparation

Stevia rebaudiana variety Morita II was collected in the state of Oaxaca, Mexico (16° 20' 25" N, 98° 26' 47" W); a selection of leaf material was made to discard those leaves with physical damage, presence of insects, bacteria or fungi. The selected leaf material was washed with tap water and refrigerated at 4 °C until use.

Physical characterization of stevia leaves

Determination of colour and humidity content

Humidity content was determined according to method 934.01 (AOAC, 1990). Colour was determined with a Hunter Lab colourimeter (MiniScan EZ 450/°C, USA) on fresh and dry leaves. The CIEL*a*b* coordinates considered were based on the colour coordinates of fresh leaves. The total difference in colour was determined by Equation 1:

$$\Delta E = [(\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 + (\Delta L^*)^2]^{0.5} \quad (1)$$

where: ΔL^* ; change in brightness of the dried leaf material, with the fresh leaf material as reference; Δa^* ; change in the green to red range (fresh leaf material as reference); Δb^* ; change in the blue to yellow range (fresh leaf material as reference).

Drying equipment

A fluidized bed dryer with a glass fluidization chamber (0.5 × 0.1 m, height × diameter) was used; with a stainless-steel mesh of 0.1 m diameter and 0.1 m height, 0.36 cm² of pore size.

Drying process

The effect of temperature (T) 40, 50 and 60°C was evaluated, along with air velocity (VA), 2 and 3.5 m s⁻¹, stevia leaf load density (DC), 1.5 and 3.0 kg m⁻², for two types of bed configuration: unpacked (LNE) and packed (LE) (Table 1).

amplitud de color verde a rojo (material foliar fresco como referencia); Δb^* ; cambio en la amplitud de color azul a amarillo (material foliar fresco como referencia).

Equipo de secado

Un secador de lecho fluidizado con una cámara de fluidización de vidrio de 0.5 m de altura y 0.1 m de diámetro se utilizó; estaba equipado con una malla de acero inoxidable de 0.1 m de diámetro y 0.1 m de altura, con un tamaño de poro de 0.36 cm².

Proceso de secado

El efecto de la temperatura (T) 40, 50 y 60 °C se evaluó, junto con la velocidad del aire (VA), 2 y 3.5 m s⁻¹, la densidad de carga foliar de estevia (DC), 1.5 y 3.0 kg m⁻², para dos tipos de configuración de lecho: no empacado (LNE) y empacado (LE) (Cuadro 1).

El punto final del proceso de secado se estableció cuando el material foliar alcanzó una humedad del 10% en base seca (bs). El material foliar seco se resguardó en contenedores de polietileno en condiciones de humedad relativa (HR) del 10% a 25 °C de temperatura.

The end point of the drying process was established when the leaf material reached a moisture content of 10% on a dry basis (bs). The dried leaf material was stored in polyethylene containers at a relative humidity of 10% at a 25 °C temperature.

Chemical characterization: quantification of antioxidant compounds

Preparation of stevia leaf extract

The methodology of Periche *et al.* (2015) was used with some modifications. For the extraction of steviol glycosides and polyphenolic compounds, an extractant solution (v/v) composed of methanol (Fermont) and hydrochloric acid (Fermont) 1% was used. For the extraction of flavonoids, an extractant solution composed of methanol (Fermont) 80% was used.

The evaluated leaf material was ground by means of a blade grinder (Krupps GX4100, México). The extraction of secondary metabolites was performed by ultrasound. To the ground leaf material (0.4 g of fresh leaf, or 0.1 g of dry leaf) they were added 5 mL of the corresponding extractant solution and it was then subjected to an ultrasonic bath (Cole-Parmer 8892, USA) for 20 minutes at room temperature (25°C), with a frequency of 44 KHz, under dark conditions. The solution was recovered by centrifugation at 453 x g (Dynac Clay Adams, USA, 1993).

Cuadro 1. Combinaciones de factores para secado en lecho fluidizado de hojas de *S. rebaudiana*.
Table 1. Factor combinations for fluidized bed drying of *S. rebaudiana* leaves.

CF [†]	T [‡] (°C)	VA [§] (ms ⁻¹)	DC [‡] (kg m ⁻²)	Tipo de lecho [°]	CF	T [‡] (°C)	VA [§] (ms ⁻¹)	DC [‡] (kg m ⁻²)	Tipo de lecho
1	40	2.0	1.5	LNE	13	40	2.0	1.5	LE
2	40	2.0	3.0	LNE	14	40	2.0	3.0	LE
3	40	3.5	1.5	LNE	15	40	3.5	1.5	LE
4	40	3.5	3.0	LNE	16	40	3.5	3.0	LE
5	50	2.0	1.5	LNE	17	50	2.0	1.5	LE
6	50	2.0	3.0	LNE	18	50	2.0	3.0	LE
7	50	3.5	1.5	LNE	19	50	3.5	1.5	LE
8	50	3.5	3.0	LNE	20	50	3.5	3.0	LE
9	60	2.0	1.5	LNE	21	60	2.0	1.5	LE
10	60	2.0	3.0	LNE	22	60	2.0	3.0	LE
11	60	3.5	1.5	LNE	23	60	3.5	1.5	LE
12	60	3.5	3.0	LNE	24	60	3.5	3.0	LE

[†]CF, combinación de factores; [‡]T, temperatura; [§]VA, velocidad del aire de secado; [‡]DC, densidad de carga del material foliar; [°]LE/LNE, tipo de lecho de secado, empacado y no empacado. ♦ [†]CF, combination of factors; [‡]T, temperature; [§]VA, drying air velocity; [‡]DC, load density of leaf material; [°]LE/LNE, type of drying bed, packed and unpacked.

Caracterización química: cuantificación de compuestos antioxidantes

Preparación de extracto de hojas de estevia

La metodología de Periche *et al.* (2015) se utilizó con algunas modificaciones. Para la extracción de glucósidos de esteviol y compuestos polifenólicos se utilizó una solución extractora (v/v) compuesta de metanol (Fermont) y ácido clorhídrico (Fermont) 1%. Para la extracción de flavonoides se utilizó una solución extractora compuesta de metanol (Fermont) al 80%.

El material foliar evaluado se pulverizó por medio de un molino de cuchillas (Krupps GX4100, México). La extracción de metabolitos secundarios se realizó por medio de ultrasonido. Al material foliar pulverizado (0.4 g de hoja fresca, o 0.1 g de hoja seca) se le adicionaron 5 mL de la solución extractora correspondiente y se sometió a baño ultrasónico (Cole-Parmer 8892, EE. UU.) por 20 minutos a temperatura ambiente (25 °C), con una frecuencia de 44 KHz, en condiciones de oscuridad. La solución se recuperó mediante centrifugación a 453 x g (Dynac Clay Adams, EE. UU., 1993).

El proceso de extracción se repitió dos veces sobre el material sólido recuperado, y se recuperaron los sobrenadantes.

Determinación de polifenoles totales

La metodología de Singleton y Rossi (1965) se utilizó con algunas modificaciones. La mezcla reactiva consistió en 200 μ L del extracto foliar a evaluar, 2.6 mL de agua destilada (Fermont), 2.0 mL de hidróxido de sodio (Fermont) al 7% (p/v) y 200 μ L del reactivo de Folin-Cicolteau 2N (Sigma-Aldrich). La mezcla reactiva se dejó reposar 1:30 h en oscuridad.

La evaluación espectrofotométrica se realizó a una longitud de onda de 760 nm (GBC Cintral 4040, EE. UU.); con el uso de ácido gálico (Sigma-Aldrich) como estándar de referencia. Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de sólido seco (mgEAG g⁻¹).

Determinación de flavonoides totales

De acuerdo con la metodología de Ivanova *et al.* (2010), con algunas modificaciones. La mezcla reactiva consistió en 1 mL del extracto foliar a evaluar, 4 mL de agua destilada (Fermont), y 0.3 mL de nitrito de sodio (Baker) al 5% (p/v). La solución se dejó reposar 5 minutos en oscuridad y transcurrido el tiempo, se adicionaron 0.3 mL de cloruro de aluminio (Baker) al 10% (p/v). La solución se resguardó por 6 minutos (min) en oscuridad para después adicionar 2 mL de hidróxido de sodio (1M) y 2.4 mL de agua destilada.

The extraction process was repeated twice on the recovered solid material, and the supernatants were recovered.

Determination of total polyphenols

The methodology of Singleton and Rossi (1965) was used with some modifications. The reagent mixture consisted of 200 μ L of the leaf extract for evaluation, 2.6 mL of distilled water (Fermont), 2.0 mL of 7% (w/v) sodium hydroxide (Fermont), and 200 μ L of 2N Folin-Cicolteau reagent (Sigma-Aldrich). The reagent mixture was left to rest for 1:30 h in the dark.

Spectrophotometric evaluation was performed at a 760 nm wavelength (GBC Cintral 4040, USA); with the use of gallic acid (Sigma-Aldrich) as the reference standard. Results were expressed as milligrams of gallic acid equivalents per gram of dry solid (mgEAG g⁻¹).

Determination of total flavonoids

According to the methodology of Ivanova *et al.* (2010), with some modifications, the reagent mixture consisted of 1 mL of the leaf extract for evaluation, 4 mL of distilled water (Fermont), and 0.3 mL of 5% (w/v) sodium nitrite (Baker). The solution was left to rest for 5 minutes in the dark and after that time, 0.3 mL of 10% (w/v) aluminium chloride (Baker) were added. The solution was kept for 6 minutes (min) in the dark, then 2 mL of sodium hydroxide (1M) and 2.4 mL of distilled water were added.

Spectrophotometric evaluation was performed at a wavelength of 510 nm (GBC Cintral 4040, USA); with quercetin (Sigma-Aldrich) as the reference standard. Results were expressed as milligrams of quercetin equivalents per gram of dry solid (mgEQ g⁻¹).

Antioxidant activity

The methodology of Shukla *et al.* (2012) was used with some modifications. The reagent mixture consisted of 100 μ L of the leaf extract for evaluation, and 2.9 mL of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH*, Sigma-Aldrich) methanolic solution at a concentration of 0.039 mg mL⁻¹. The mixture was left to rest 30 min in the dark.

Spectrophotometric evaluation was performed at a 517 nm wavelength (GBC Cintral 4040, USA), with 80% methanol (Fermont) as blank. The results were expressed as percentage inhibition of the DPPH* solution according to Equation 2:

$$\% \text{ inhibition} = [(A_o - A_t) / (A_o - 1)] \times 100 \quad (2)$$

La evaluación espectrofotométrica se realizó a una longitud de onda de 510 nm (GBC Cintral 4040, EE. UU.); con quercetina (Sigma-Aldrich) como estándar de referencia. Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de quercetina por gramo de sólido seco ($\text{mgEQ g}_{\text{ss}}^{-1}$).

Actividad antioxidante

La metodología de Shukla *et al.* (2012) se utilizó con algunas modificaciones. La mezcla reactiva consistió en 100 μL del extracto foliar a evaluar y 2.9 mL de solución metanólica de 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH $^{\cdot}$, Sigma-Aldrich) en una concentración de 0.039 mg mL^{-1} . La mezcla se dejó en reposo 30 min en la oscuridad.

La evaluación espectrofotométrica se realizó a una longitud de onda de 517 nm (GBC Cintral 4040, EE. UU.), con metanol (Fermont) al 80% como blanco. Los resultados se expresaron en porcentaje de inhibición de la solución de DPPH $^{\cdot}$ de acuerdo con la Ecuación 2:

$$\% \text{ inhibición} = [(A_o - A_t) / (A_o - 1)] \times 100 \quad (2)$$

donde: A_o ; absorbancia del control (blanco); A_t ; absorbancia de la muestra.

Cuantificación de glucósidos de esteviol

Un cromatógrafo de líquidos (Perkin Elmer Flexar Series, EE. UU.) se utilizó con una columna C18 (Thermo Fisher Scientific ODS Hypersil, EE. UU.); se filtraron alícuotas del extracto foliar por evaluar (20 μL) a través de filtros de 0.45 μm de abertura de poro (Bejin, China). Un régimen isocrático se usó de acetonitrilo-agua (Sigma-Aldrich) en proporción 35:65 (v/v).

La evaluación espectrofotométrica se realizó a una longitud de onda de 210 nm (Perkin Elmer UV-Vis Flexar series, EE. UU.) con el uso de esteviósido y rebaudiósido A (Sigma-Aldrich) como estándares de referencia. Los resultados se expresaron como miligramos de glucósido de esteviol por gramo en base seca ($\text{mg g}_{\text{ss}}^{-1}$).

Muestreo experimental y análisis de datos

El análisis experimental fue el de un arreglo factorial con 24 combinaciones de factores y 3 repeticiones (determinaciones) de muestras al azar. Los cuatro factores evaluados fueron temperatura del proceso de secado (40 °C, 50 °C y 60 °C); configuración del lecho de secado (empacado y no empacado); velocidad de la corriente de aire (2 y 3.5 m s^{-1}) y carga del material foliar de estevia (1.5 y 3 kg m^{-2}).

El orden para el muestreo (determinaciones) de cada combinación de factores (Cuadro 1) se estableció a través del algoritmo

where: A_o ; absorbance of the control (blank); A_t ; absorbance of the sample.

Quantification of steviol glycosides

A liquid chromatograph (Perkin Elmer Flexar Series, USA) was used with a C18 column (Thermo Fisher Scientific ODS Hypersil, USA); aliquots of the leaf extract for evaluation were filtered (20 μL) through 0.45 μm pore opening filters (Beijing, China). An isocratic regime was used of acetonitrile-water (Sigma-Aldrich) in 35:65 (v/v) ratio.

Spectrophotometric evaluation was performed at a 210 nm wavelength (Perkin Elmer UV-Vis Flexar series, USA) with the use of stevioside and rebaudioside A (Sigma-Aldrich) as reference standards. The results were expressed as milligrams of steviol glycoside per gram on a dry basis ($\text{mg g}_{\text{ss}}^{-1}$).

Experimental sampling and data analysis

The experimental analysis was that of a factorial arrangement with 24 combinations of factors and 3 replicates (determinations) of random samples. The four factors evaluated were drying process temperature (40 °C, 50 °C and 60 °C); drying bed configuration (packed and unpacked); airflow velocity (2 and 3.5 m s^{-1}) and stevia leaf material load (1.5 and 3 kg m^{-2}).

The order for sampling (determinations) of each factors combination (Table 1) was established through the Mersenne Twister MT19937 prime number algorithm by means of a hierarchical but unranked list of the 1st to 24th factor combinations in Excel® 2013. To evaluate the differences between the mean values of each process variable and their interactions, Fisher's test was performed with significant criterion at $p \leq 0.05$.

For the statistical analysis, Statistica v. 7.0 software was used (StatSoft, Inc. 2004. STATISTICA, data analysis software system; www.statsoft.com).

RESULTS AND DISCUSSION

Drying time

The unpacked bed configuration at a temperature of 60 °C load of 1.5 kg m^{-2} and an air velocity of 3.5 m s^{-1} showed the shortest drying times (24 min) at a final material humidity content of 10% (bs).

In both of bed configurations, the temperature of 40 °C significantly increased drying times. The packed bed configuration recorded the longest drying time (160 min), when a load of 3.0 kg m^{-2} of leaf material was processed with an airflow velocity of 2.0 m s^{-1} .

del número primo Mersenne Twister MT19937 por medio de una lista jerarquizada pero no ordenada de las combinaciones de factores 1 al 24 en Excel® 2013. Para evaluar las diferencias entre los valores medios de cada variable de proceso y sus interacciones se realizó la prueba de Fisher con criterio significativo en $p \leq 0.05$.

Para el análisis estadístico se utilizó el programa Statistica v. 7.0 (StatSoft, Inc. 2004. STATISTICA, *data analysis software system*; www.statsoft.com).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tiempo de secado

La configuración de lecho no empacado a una temperatura de 60 °C carga de 1.5 kg m⁻² y una velocidad de aire de 3.5 m s⁻¹ mostró los menores tiempos de secado (24 min) con un contenido de humedad final del material del 10% (bs).

En ambas configuraciones de lecho, la temperatura de 40 °C incrementó significativamente los tiempos de secado. La configuración de lecho empacado es la que registró el mayor tiempo de secado (160 min), cuando se procesó una carga foliar de 3.0 kg m⁻² con una velocidad de aire de 2.0 m s⁻¹.

Estos resultados son consistentes con los de Lemus-Mondaca *et al.* (2015) quienes secaron hojas de *Stevia rebaudiana* con secado por convección a 40, 50 y 60 °C, una velocidad de aire de 2 m s⁻¹ y una densidad de carga de 2.0 kg m⁻². Los tiempos de proceso para obtener una humedad final del 10% (bs) fueron de 480, 270 y 180 min en esas temperaturas.

Por otra parte, otros métodos de secado presentan tiempos de secado mayores, como los documentados por Ruiz-Ruiz *et al.* (2015) y Periche *et al.* (2015) quienes secaron material foliar particulado de *Stevia rebaudiana* var. Morita II y hojas de *Stevia rebaudiana* en secadores solares directos e indirectos, con tiempos de secado que oscilaron entre los 480 minutos y los 30 días. El contacto del aire de secado alrededor de toda la partícula durante el secado en lecho fluidizado favoreció la rapidez de secado y mejoró el tiempo de secado.

Color

La configuración de lecho influyó en el cambio de color (ΔE) de las hojas de estevia secas. La interacción de las otras variables de proceso, velocidad del

These results are consistent with those of Lemus-Mondaca *et al.* (2015) who dried *Stevia rebaudiana* leaves with convective drying at 40, 50 and 60 °C, an airflow velocity of 2 m s⁻¹ and a load density of 2.0 kg m⁻². The process times to obtain a final humidity content of 10% (bs) were 480, 270 and 180 min at these temperatures.

On the other hand, other drying methods present longer drying times, such as those reported by Ruiz-Ruiz *et al.* (2015) and Periche *et al.* (2015) who dried particulate leaf material of *Stevia rebaudiana* var. Morita II and leaves of *Stevia rebaudiana* in direct and indirect solar dryers, with drying times ranging from 480 min to 30 days. Drying air contact around the entire particle during fluidized bed drying favoured drying velocity and improved drying time.

Colour

The bed configuration influenced the colour change (ΔE) of the dried stevia leaves. The interaction of the other process variables, airflow velocity, load and temperature, had no significant effect on colour change.

In the unpacked bed configuration (LNE), the greatest colour change occurred at a temperature of 50 °C, an airflow of 2.5 m s⁻¹, and a leaf material load of 1.5 kg m⁻². Whereas in the packed bed (LE) configuration, the greatest colour change occurred at a temperature of 40 °C, an airflow of 2.0 m s⁻¹, and a leaf material load of 3.0 kg m⁻².

Colour changes in *Origanum vulgare*, *Mentha spp.* and *Coriandrum sativum* subjected to drying processes are attributed to changes in chlorophyll concentration and structure. These modifications were related to the thermal effect of the process regardless the oxidative effect promoted by the increase of oxygen present in the carrier gas (Rudra *et al.*, 2008; Dwivedy *et al.*, 2012).

Steviol glycosides

The concentration of steviol glycosides was affected by the drying bed configuration. The interaction of the other process variables, airflow velocity, leaf material load and temperature, had no significant effect on stevioside concentration.

Unpacked bed drying retained the highest amount of stevioside (Figure 1) and the highest concentration

flujo de aire, carga y temperatura, no tuvieron efectos significativos sobre el cambio de color.

En la configuración de lecho no empacado (LNE), el mayor cambio de color ocurrió a una temperatura de 50°C, un flujo de aire de 2.5 m s⁻¹, y una carga de material foliar de 1.5 kg m⁻². En tanto que en la configuración de lecho empacado (LE), el mayor cambio de color ocurrió a una temperatura de 40°C, un flujo de aire de 2.0 m s⁻¹, y una carga de material foliar de 3.0 kg m⁻².

Los cambios en el color en *Origanum vulgare*, *Mentha* spp. y *Coriandrum sativum* sometidos a procesos de secado se han atribuido a cambios en la concentración y estructura de la clorofila. Estas modificaciones se relacionaron con el efecto térmico del proceso y no con un efecto oxidativo propiciado por el aumento de oxígeno presente en el gas acarreador (Rudra *et al.*, 2008; Dwivedy *et al.*, 2012).

Glucósidos de esteviol

La concentración de glucósidos de esteviol resultó afectada por la configuración de lecho. La interacción de las otras variables de proceso, velocidad del flujo de aire, carga de material foliar y temperatura, no tuvo efecto significativo sobre la concentración de los esteviósidos.

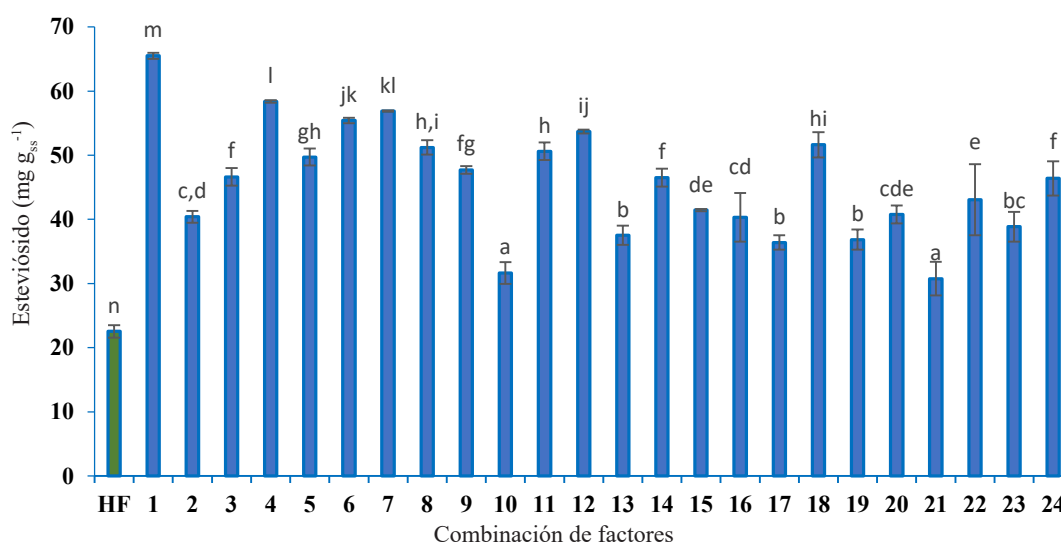
El secado en lecho no empacado retuvo mayor cantidad de esteviósido (Figura 1) y se alcanzó la

(65.50 mg g⁻¹) was reached with combination 1. In contrast, the concentration of rebaudioside A (Figure 2) was higher in packed bed drying and the highest concentration was reached with combination 17 (92.94 mg g⁻¹).

The interaction of the other process variables, airflow velocity, leaf material load and temperature, had no significant effect on the rebaudioside A concentration.

The evaluation of other drying methods of leaf material and aqueous extracts of *Stevia rebaudiana* suggest that the thermal effect has an inverse relationship with the concentration of some steviol glycosides. Chranioti *et al.* (2016) observed a reduction in the final concentration of rebaudioside A in spray-dried *Stevia rebaudiana* extracts, while Periche *et al.* (2015) reported a decrease in the concentration of stevioside and rebaudioside A in *Stevia rebaudiana* leaves dried at 100 and 180°C with convective drying. Jookan *et al.* (2012) evaluated the concentration of nine steviol glycosides in leaf material dried at 180°C; those authors found a decrease in the concentration of stevioside and rebaudioside A related to the increase in the concentration of rebaudioside B.

Aftertaste is a characteristic of great importance in sweeteners other than glucose. This characteristic of stevia glycosides (the bitter taste) is related to



†Literales diferentes indican diferencia estadística (Fisher, $p \leq 0.05$). ♦ †Different literals indicate statistical difference (Fisher, $p \leq 0.05$).

Figura 1. Concentración de esteviósido.
Figure 1. Stevioside concentration.

concentración mayor ($65.50 \text{ mg g}_{\text{ss}}^{-1}$) con la combinación 1. Por el contrario, la concentración de rebaudiósido A (Figura 2) resultó mayor en el secado con lecho empacado y se alcanzó la mayor concentración con la combinación 17 ($92.94 \text{ mg g}_{\text{ss}}^{-1}$).

La interacción de las otras variables de proceso, velocidad del flujo de aire, carga de material foliar y temperatura, no tuvieron un efecto significativo sobre la concentración de rebaudiósido A.

La evaluación de otros métodos de secado de material foliar y extractos acuosos de *Stevia rebaudiana* sugieren que el efecto térmico tiene una relación inversa con la concentración de algunos glucósidos de esteviol. Chranioti *et al.* (2016) observaron una reducción en la concentración final de rebaudiósido A en extractos de *Stevia rebaudiana* secados por aspersión, mientras que Periche *et al.* (2015) documentaron un decremento en la concentración de esteviósido y rebaudiósido A en hojas de *Stevia rebaudiana* secadas a 100 y 180°C con secado por convección. Jookan *et al.* (2012) evaluaron la concentración de nueve glucósidos de esteviol en material foliar secado a 180°C ; esos autores encontraron una disminución en la concentración de esteviósido y rebaudiósido A relacionado con el aumento de la concentración de rebaudiósido B.

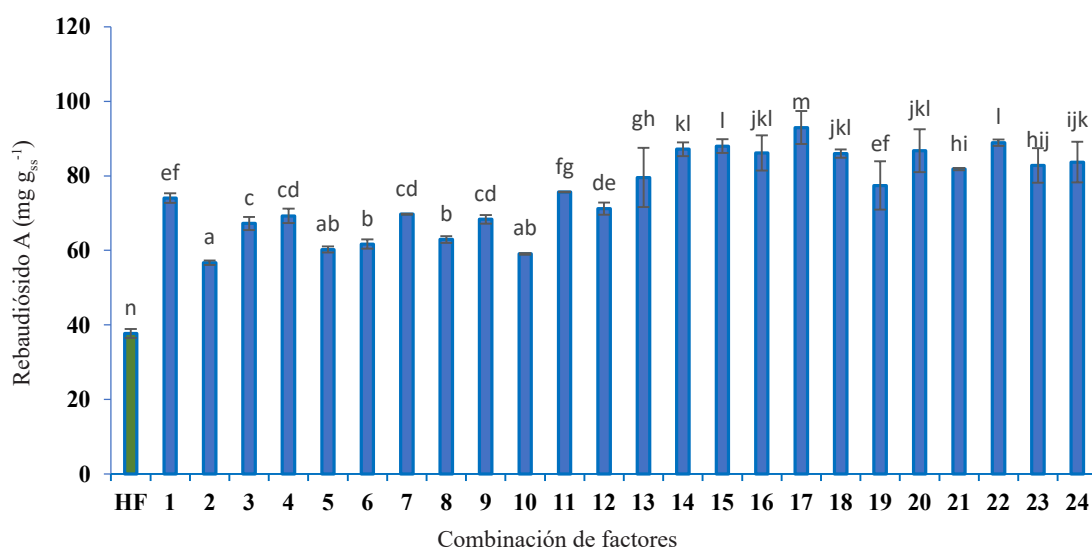
the rebaudioside A/stevioside ratio, where a higher concentration of rebaudioside A decreases the aftertaste of the final product (Upreti *et al.*, 2012). In the unpacked bed configuration, the rebaudioside A/stevioside ratio was lower than that found in fresh leaves (1.67). Combination 21 generated the best sweetener ratio (2.66) (Figure 3).

Lemus-Mondaca *et al.* (2015) proposed that the increase in concentration of stevioside and rebaudioside A is a result of the presence of enzymatic precursors of steviol glycosides, which promote the binding of carbohydrates to aglycone nuclei (steviol) present in the intracellular medium.

Polyphenolic compounds

Total polyphenol content

The process variables evaluated had a significant effect on the concentration of polyphenols and flavonoids in the dried leaf material. Packed bed drying increased the concentration of phenolic compounds compared to fresh material (Figure 4). Combination 18 presented the highest phenol concentration ($118.19 \text{ mgEAG g}_{\text{ss}}^{-1}$). In contrast, the unpacked bed configuration at 60°C reduced the



[†]Literales diferentes indican diferencia estadística (Fisher, $p \leq 0.05$). ♦ [†]Different literals indicate statistical difference (Fisher, $p \leq 0.05$).

Figura 2. Concentración de Rebaudiósido A.
Figure 2. Rebaudioside A Concentration.

El retrogusto es una característica de gran importancia en edulcorantes diferentes a la glucosa. Esta característica de los glucósidos de estevia (el sabor amargo) se ha relacionado con la proporción rebaudiósido A/esteviósido, en ella una concentración mayor de rebaudiósido A disminuye el retrogusto del producto final (Upreti *et al.*, 2012). En la configuración de lecho no empacado, la relación rebaudiósido A/esteviósido fue menor que la encontrada en hojas frescas (1.67). La combinación 21 generó la mejor relación de edulcorantes (2.66) (Figura 3).

Lemus-Mondaca *et al.* (2015) propusieron que el incremento en concentración de esteviósido y rebaudiósido A es resultado de la presencia de precursores enzimáticos de glucósidos de esteviol, los cuales propician la unión de carbohidratos hacia núcleos aglicones (esteviol) presentes en el medio intracelular.

Compuestos polifenólicos

Contenido de polifenoles totales

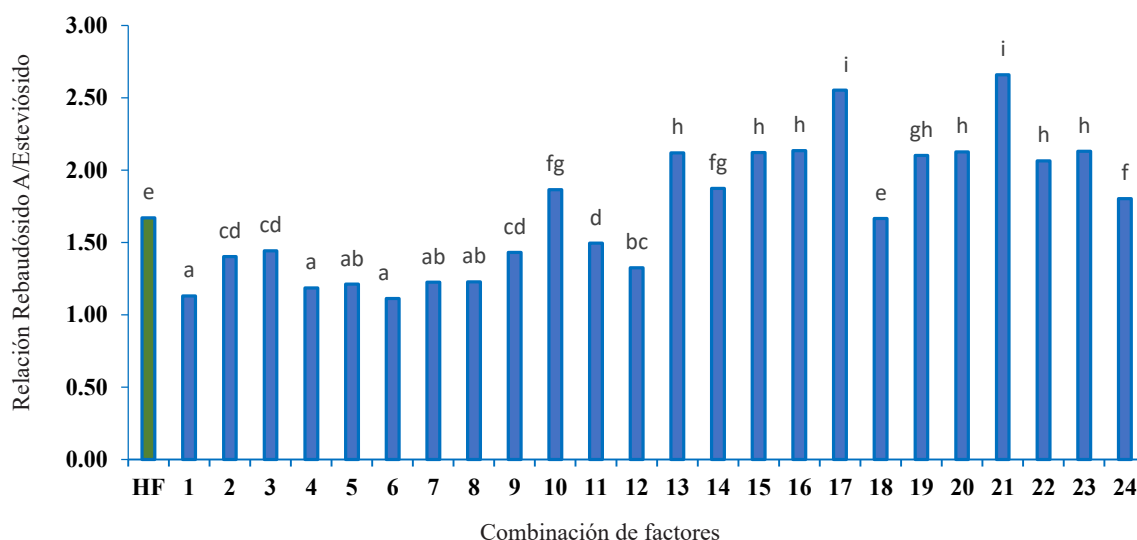
Las variables de proceso evaluadas tuvieron un efecto significativo en la concentración de polifenoles y de flavonoides del material foliar seco. El secado por lecho empacado incrementó la concentración de compuestos fenólicos en relación con el material fresco (Figura 4). La combinación 18 presentó la mayor

concentración de compuestos fenólicos hasta 17% en relación al material fresco.

La concentración de compuestos fenólicos encontrada en este estudio fue mayor que la reportada por otros autores. Lemus-Mondaca *et al.* (2015) indicó modificaciones en la concentración de polifenoles cuando el material de hoja fue procesado en horno convectivo. Sus resultados mostraron que una temperatura superior a 60 °C disminuyó la concentración de compuestos fenólicos (27.1 mgEAG g⁻¹), mientras que a una temperatura de 40 °C la concentración de compuestos polifenólicos (55.05 mgEAG g⁻¹) aumentó comparado al material fresco (29 mgEAG g⁻¹).

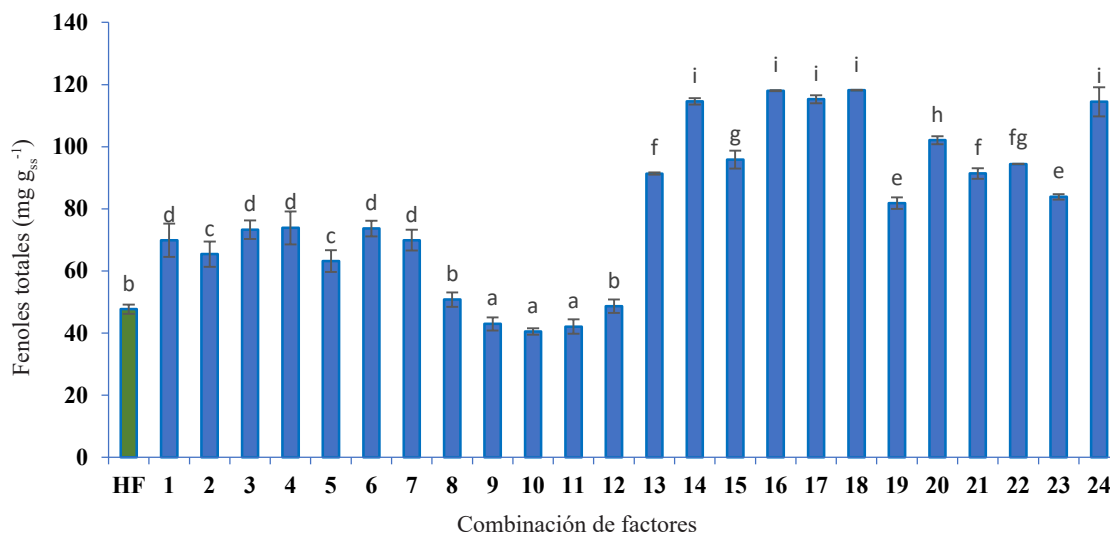
Periche *et al.* (2015) reportó un aumento en el nivel de polifenoles en hojas de stevia (76.80 mgEAG g⁻¹) comparado al material no tratado (44.40 mgEAG g⁻¹), en el secado por convección a una temperatura de 180 °C. Muanda *et al.* (2011) reportó un contenido de 25.5 mgEAG g⁻¹ en procesos de secado por convección en sistemas de secado a bajas temperaturas (25-40 °C).

El aumento o disminución en las concentraciones de compuestos polifenólicos está relacionado con los procesos de oxidación mediados por la interacción del flujo de oxígeno y la temperatura del flujo de aire caliente utilizado en el proceso de secado. Así como un aumento en los compuestos fenólicos por acción de las reacciones de hidrólisis mediadas por la temperatura (Lemus-Mondaca *et al.*, 2015; Periche *et al.*, 2015).



† Literales diferentes indican diferencia estadística (Fisher, $p \leq 0.05$). ♦ † Different literals indicate statistical difference (Fisher, $p \leq 0.05$).

Figura 3. Relación entre concentraciones de Rebaudiósido A/Esteviósido.
Figure 3. Rebaudioside A/Stevioside concentration ratio.



†Literales diferentes indican diferencia estadística (Fisher, $p \leq 0.05$). ♦ †Different literals indicate statistical difference (Fisher, $p \leq 0.05$).

Figura 4. Concentración de compuestos fenólicos totales.
Figure 4. Concentration of total phenolic compounds.

concentración de fenoles (118.19 mgEAG g⁻¹). En cambio, la configuración con lecho no empacado a 60 °C redujo hasta un 17% la concentración de compuestos fenólicos en relación con el material fresco.

La concentración de compuestos fenólicos encontrados en este estudio fue superior a la informada por otros autores. Lemus-Mondaca *et al.* (2015) indicaron modificaciones en la concentración de polifenoles cuando el material foliar se procesó en horno de convección. Sus resultados mostraron que una temperatura superior a los 60 °C disminuía la concentración de compuestos fenólicos (27.1 mgEAG g⁻¹), mientras que en una temperatura de 40 °C la concentración de compuestos polifenólicos (55.05 mgEAG g⁻¹) se incrementaba en comparación con el material fresco (29 mgEAG g⁻¹).

Periche *et al.* (2015) informaron un incremento en el nivel de polifenoles en hojas de estevia (76.80 mgEAG g⁻¹) comparado con el material sin tratar (44.40 mgEAG g⁻¹), en secado por convección a una temperatura 180 °C. Muanda *et al.* (2011) documentaron un contenido de fenoles de 25.5 mgEAG g⁻¹ en procesos de secado por medio de sistemas por convección a temperaturas bajas (25- 40 °C).

El aumento o disminución de las concentraciones de compuestos polifenólicos se relaciona con los procesos de oxidación mediados por la interacción

Total flavonoid content

The packed bed configuration generated an increase in flavonoid concentration in most of the combinations in regard to the concentration of flavonoids in the fresh material. The highest flavonoid concentration (40.28 mgEQ g⁻¹) occurred with combination 24. The use of the unpacked bed caused a decrease in flavonoid concentration at temperatures of 60 °C; while for the other thermal conditions an increase in total flavonoid concentration was observed. The highest flavonoid concentration (38.63 mgEQ g⁻¹) occurred in combination 3 (Figure 5).

Lemus-Mondaca *et al.* (2015) reported values lower than those of this study (1.38 mgEQ g⁻¹); whereas Ruiz-Ruiz *et al.* (2015) found concentrations of 39.3-36.7 mgEQ g⁻¹ in aqueous extracts of two agronomic lines, after air convection drying at 60 °C for 24 h.

Antioxidant capacity

In packed bed drying, the antioxidant capacity remained between 91.55-93.8%, values very close to the fresh leaf material (92.79%). In unpacked bed configuration and temperatures of 40-50 °C the antioxidant capacity remained between 92.35-

del flujo de oxígeno y la temperatura del flujo de aire caliente utilizados en el proceso de secado. Así como un aumento de los compuestos fenólicos ligados por acción de las reacciones de hidrólisis mediadas por la temperatura (Lemus-Mondaca *et al.*, 2015; Periche *et al.*, 2015).

Contenido de flavonoides totales

La configuración de lecho empacado generó un aumento en la concentración de flavonoides en la mayoría de las combinaciones referido a la concentración de flavonoides en el material fresco. La mayor concentración de flavonoides ($40.28 \text{ mgEQ g}_{\text{ss}}^{-1}$) se presentó con la combinación 24. El uso del lecho no empacado ocasionó una disminución en la concentración de flavonoides a temperaturas de 60°C ; mientras que para las otras condiciones térmicas se observó un incremento en la concentración de flavonoides totales. La mayor concentración de flavonoides ($38.63 \text{ mgEQ g}_{\text{ss}}^{-1}$) se presentó en la combinación 3 (Figura 5).

Lemus-Mondaca *et al.* (2015) consignaron valores menores a los de este estudio ($1.38 \text{ mgEQ g}_{\text{ss}}^{-1}$); en tanto que Ruiz-Ruiz *et al.* (2015) encontraron concentraciones de $39.3\text{-}36.7 \text{ mgEQ g}_{\text{ss}}^{-1}$ en extractos acuosos de dos líneas agronómicas, después de un secado por convección de aire a 60°C por 24 h.

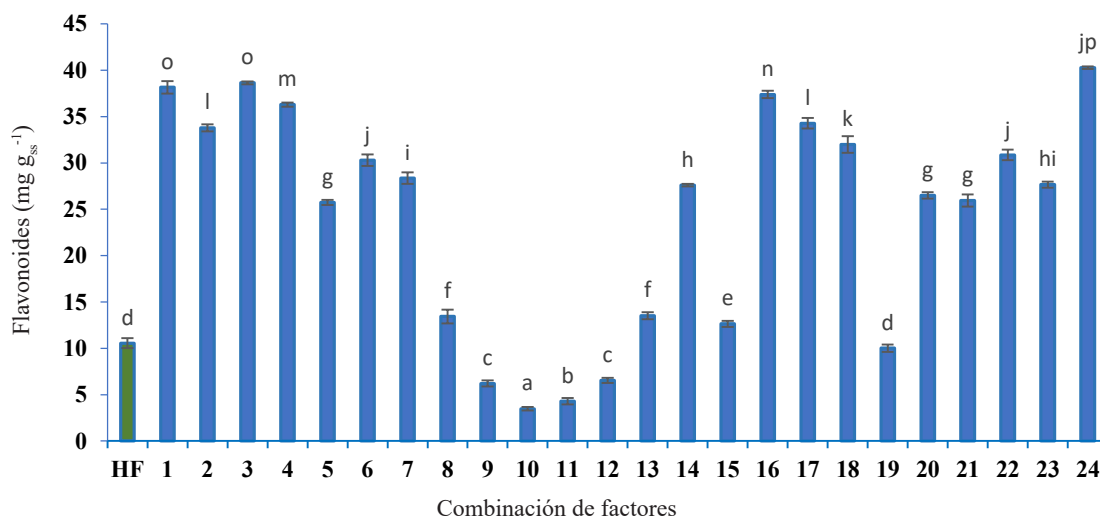
93.87%, but at temperatures of 60°C a decrease was observed compared to the fresh stevia leaf material. The interaction of the other process variables, airflow velocity, leaf material load, and temperature had no effect on the antioxidant capacity of the aqueous extracts (Figure 6).

Muanda *et al.* (2011) reported antioxidant capacity values of 96.61% in stevia methanolic extracts evaluated by the DPPH* radical stabilization method. Tavarini and Angelini (2012) also evaluated the antioxidant activity of methanolic extracts of stevia leaves by the DPPH* radical stabilization method; those authors recorded inhibition percentages in the range of 86.5 to 89.8%.

CONCLUSIONS

In fluidized bed drying of stevia leaves, drying bed configuration and temperature were the main factors in the increase of steviol glycosides and antioxidant compounds. The aftertaste (rebaudioside/stevioside ratio), as an accepted measure of commercial sweetness quality in stevia leaf, was increased by packed bed drying.

The decrease in drying times and the increase of bioactive compounds in stevia leaf (steviol glycosides and antioxidant compounds), make of this drying method a useful tool in the management and



†Literales diferentes indican diferencia estadística (Fisher, $p \leq 0.05$). ♦ †Different literals indicate statistical difference (Fisher, $p \leq 0.05$).

Figura 5. Concentración de flavonoides.
Figure 5. Flavonoid concentration.

Capacidad antioxidante

En el secado por lecho empacado la capacidad antioxidante se mantuvo entre 91.55-93.8%, valores muy cercanos al material foliar fresco (92.79%). En configuración de lecho no empacado y temperaturas de 40-50°C la capacidad antioxidante se mantuvo entre 92.35-93.87%, pero a temperaturas de 60 °C se observó una disminución respecto al material fresco de hoja de estevia. La interacción de las otras variables de proceso, velocidad del flujo de aire, carga de material foliar y temperatura no tuvo efectos sobre la capacidad antioxidante de los extractos acuosos (Figura 6).

Muanda *et al.* (2011) informaron valores de capacidad antioxidante de 96.61% en extractos metanólicos de estevia evaluados por el método de estabilización del radical DPPH[†]. Tavarini y Angelini (2012) también evaluaron la actividad antioxidante de extractos metanólicos de hojas de estevia por el método de la estabilización del radical DPPH[†]; esos autores documentaron porcentajes de inhibición en la amplitud de 86.5 a 89.8%.

CONCLUSIONES

En el secado de hoja de estevia por lecho fluidizado, la configuración del lecho de secado y la temperatura

preservation of plant materials containing secondary metabolites with economic importance.

ACKNOWLEDGEMENTS

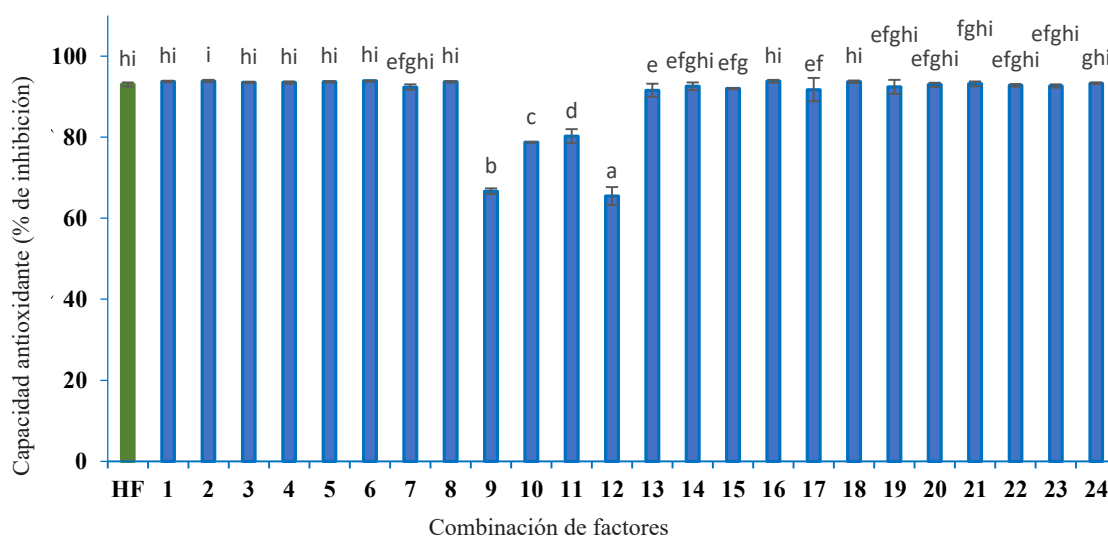
To the Instituto Politécnico Nacional (IPN) for funding the project SIP20160839, to the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) for postgraduate scholarship No. 590996, and to the Comisión de Operación y Fomento de Actividades Académicas del Instituto Politécnico Nacional (COFAA) for publications funds.

—End of the English version—

---*---

fueron los factores principales en el incremento de glucósidos de esteviol y compuestos antioxidantes. El retrogusto (relación rebaudiósido A/esteviósido), como medida aceptada de calidad de dulzura comercial en la hoja de estevia, aumentó por el secado en lecho empacado.

La disminución en los tiempos de secado y el incremento de compuestos bioactivos en la hoja de estevia (glucósidos de esteviol y compuestos antioxidantes), hacen de este método de secado una herramienta útil



[†]Literales diferentes indican diferencia estadística (Fisher, $p \leq 0.05$). ♦ [†]Different literals indicate statistical difference (Fisher, $p \leq 0.05$).

Figura 6. Capacidad antioxidante expresada como porcentaje de inhibición del DPPH^{*}
Figure 6. Antioxidant capacity expressed as percentage of DPPH^{*} inhibition.

en el manejo y la preservación de materiales vegetales que contengan metabolitos secundarios con importancia económica.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Politécnico Nacional (IPN) por el financiamiento del proyecto SIP20160839; al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca de posgrado No. 590996; y a la Comisión de Operación y Fomento de Actividades Académicas del Instituto Politécnico Nacional (COFAA) por el financiamiento para publicaciones.

LITERATURA CITADA

- Amin, K., S. Ozgen, and Z. Selamoglu. 2017. *Stevia rebaudiana*: A potential boon for human health. *SM J. Med. Plant. Stud.* 1:1005
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. *Official Methods of Analysis*. Kenneth Helrich. 15th edition. Washington D.C.
- Carbonell-Capella, J. M., F. J. Barba, M. J. Esteve, and A. Frígola. 2013. High pressure processing of fruit juice mixture sweetened with *Stevia rebaudiana* Bertoni: Optimal retention of physical and nutritional quality. *Innov. Food Sci. Em. Tech.* 18: 48–56. DOI: 10.1016/j.ifset.2013.01.011.
- Chranioti, C., S. Chanioti, and C. Tzia. 2016. Comparison of spray, freeze and oven drying as a means of reducing bitter aftertaste of steviol glycosides (derived from *Stevia rebaudiana* Bertoni plant). Evaluation of the final products. *Food Chem.* 190: 1151–1158. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.06.083.
- Durán A.S., M. P. Rodríguez, K. Córdón, y J. Record. 2012. *Estevia (Stevia rebaudiana)*, edulcorante natural y no calórico. *RCHNUT* 39: 203–206. DOI: 10.4067/S0717-75182012000400015.
- Dwivedy, S., K. Rayaguru, and G. R. Sahoo. 2012. Effect of drying methods on quality characteristics of medicinal indian borage (*Coleus aromaticus*) leaves. *J. Food Process. Tech.* 1:3-11 DOI: 10.4172/2157-7110.1000188.
- Gupta, E., S. Purwar, S. Sundaram, and G. K. Rai. 2013. Nutritional and therapeutic values of *Stevia rebaudiana*: A review. *J. Med. Plants Res.* 46: 3343–3353. DOI: 10.5897/JMPR2013.5276.
- Hincapié, M.A., y J.E. Zapata. 2019. Estudio de la cinética de deshidratación de uchuva (*Physalis peruviana* L.) en un secador de lecho fluidizado. *Inf. Tech.* 30:115-124. DOI: 10.4067/S0718-07642019000200115.
- Ivanova, V., M. Stefova, and F. Chinnici. 2010. Determination of the polyphenol contents in Macedonian grapes and wines by standardized spectrophotometric methods. *J. Serb. Chem. Soc.* 75: 45–59. DOI: 10.2298/JSC1001045I.
- Jayaraman, S., M. Manoharan, and S. Illanchezian. 2008. In-vitro antimicrobial and antitumor activities of *Stevia Rebaudiana* (Asteraceae) leaf extracts. *Trop. J. Pharm. Res.* 7:1143-1149. DOI: 10.4314/tjpr.v7i4.14700.
- Jookan, E., R. Amery, T. Struyf, B. Duquenne, J. Geuns, and B. Meesschaert. 2012. Stability of steviol glycosides in several food matrices. *J. Agr. Food Chem.* 60: 10606–10612. DOI: 10.1021/jf302261j.
- Lemus-Mondaca, R., A. Vega-Galvez, L. Zura-Bravo, and K. Ah-Hen. 2012. *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food Chem.* 132: 1121–1132. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.11.140.
- Lemus-Mondaca, R., K. Ah-Hen, A. Vega-Galvez, C. Honores, and N.O. Moraga. 2015. *Stevia rebaudiana* leaves: Effect of drying process temperature on bioactive components, antioxidant capacity and natural sweeteners. *Plant. Food Hum. Nutr.* DOI: 10.1007/s11130-015-0524-3.yada
- Lima, R. A., and M. C. Ferreira. 2011. Fluidized and vibrofluidized shallow beds of fresh leaves. *Particuology*. 9:139–147. DOI: 10.1016/j.partic.2010.07.024.
- Muanda, F. N., R. Soulimani, B. Diop, and A. Dicko. 2011. Study on chemical composition and biological activities of essential oil and extracts from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves. *LWT-Food Sc. Tech.* 44: 1865–1872. DOI: 10.1016/j.lwt.2010.12.002.
- Mahn, A.V., C.E. Pérez, y A.E. Reyes. 2017. Efecto de las condiciones de secado en lecho fluidizado pulsante sobre el contenido de sulforafano de brócoli. *Rev. Inf. Tech.* 28:17-28. DOI: 10.4067/S0718-07642017000400004.
- Martínez, M. 2015. *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. Una revisión. *Cult. Trop.* 36:5-15. ISSN impreso: 0258-5936.
- Mujumdar, A. S., and C. L. Law. 2010. Drying technology: trends and applications in postharvest processing. *Food Biopr. Tech.* 3: 843–852. DOI: 10.1007/s11947-010-0353-1.
- Periche, A., M. L. Castelló, A. Heredia, and I. Escriche. 2015. Influence of drying method on steviol glycosides and antioxidants in *Stevia rebaudiana* leaves. *Food Chem.* 172: 1-6. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.09.029.
- Rudra, S. G., H. Singh, S. Basu, and U. S. Shivhare. 2008. Enthalpy entropy compensation during thermal degradation of chlorophyll in mint and coriander puree. *J. Food Eng.* 86: 379–387. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2007.10.020.
- Ruiz-Ruiz, J. C., Y. B. Moguel-Ordoñez, A. Matus-Basto, and M. R. Segura-Campos. 2015. Antioxidant capacity of leaf extracts from two *Stevia rebaudiana* Bertoni varieties adapted to cultivation in México. *Nutr. Hosp.* 31: 1163–1170. DOI: 10.3305/nh.2015.31.3.8043.
- Shukla, S., A. Mehta, P. Mehta, and V. K. Bajpai. 2012. Antioxidant ability and total phenolic content of aqueous leaf extract of *Stevia rebaudiana* Bert. *Exp. Tox. Path.* 64: 807-811. DOI: 10.1016/j.etp.2011.02.002.
- Singleton, V. L., and J. A. Rossi. 1965. Colorimetry to total phenolics with phosphomolybdic acid reagents. *Am. J. En. Vin.* 16:144-58. <http://garfield.library.upenn.edu/classics1985/A1985AUG6900001.pdf> (Consultado: febrero 2018).
- Tavarini, S., and L.G. Angelini. 2012. *Stevia rebaudiana* Bertoni as a source of bioactive compounds: the effect of harvest time, experimental site and crop age on steviol glycoside content and antioxidant properties. DOI: 10.1002/jsfa.6016.
- Upreti, M., G. Dubois, and I. Prakash. 2012. Synthetic study on the relationship between structure and sweet taste properties of steviol glycosides. *Molecules*. 17: 4186–4196. DOI: 10.3390/molecules17044186.

DIFFERENTIAL EFFECT OF SALINITY ON GROWTH, NUTRIENT CONCENTRATION AND CHLOROPHYLL IN SUGARCANE VARIETIES MEX 69-290 AND CP 72-2086

EFFECTO DIFERENCIAL DE LA SALINIDAD SOBRE CRECIMIENTO, CONCENTRACIÓN NUTRIMENTAL Y CLOROFILA EN VARIEDADES DE CAÑA DE AZÚCAR MEX 69-290 Y CP 72-2086

Odón Castañeda-Castro¹, Miriam Cristina Pastelín-Solano¹, Libia Iris Trejo-Téllez²,
Eduardo Ariel Solano-Pastelín³, Fernando Carlos Gómez-Merino^{4*}

¹Universidad Veracruzana. Facultad de Ciencias Químicas. Prolongación de Oriente 6 No. 1009, Orizaba, Veracruz 94340, Mexico. (odcastaneda@uv.mx; mpastellin@uv.mx). ²Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo. Montecillo, Texcoco 56230, Estado de México, Mexico. (tlibia@colpos.mx). ³Universidad Veracruzana. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Camino Peñuela-Amatlán, Peñuela, Amatlán de los Reyes, Veracruz 94945, Mexico. (eduardoarielp@gmail.com). ⁴Colegio de Postgraduados. Campus Córdoba. Manuel León, Amatlán de los Reyes 94953, Veracruz, Mexico. (fernandg@colpos.mx).

ABSTRACT

Sugarcane (*Saccharum* spp. hybrids) is moderately sensitive to salinity and the effects on plant performance vary according to stress level and genotype. This study aimed to evaluate the effect of salt stress induced by application of different NaCl levels in the irrigation solution on plant height, indirect index of chlorophylls (SPAD), and macronutrients concentration (N, P, K, Ca, Mg and S) and Na in leaves of two sugarcane varieties: CP 72-2086 and Mex 69-290. The experiment was set in a completely randomized design with a 2×5 factorial arrangement. The study factors were sugarcane variety (CP 72-2086 and Mex 69-290) and NaCl concentration (0.0, 71.8, 143.6, 215.4 and 282.7 mM NaCl). Salinity as a single factor negatively affected plant height, SPAD units and N and P concentration in leaves; Ca concentrations increased, while K, Mg and S remained unaffected by the tested NaCl levels. Mex 69-290 grew higher and concentrated greater levels of N and K. Interactions of factors showed that salinity reduced growth in both varieties, but this reduction was more pronounced in CP 72-2086. SPAD units were also significantly reduced by salinity in both varieties. Concentrations of N and P in leaves decreased in both varieties in response to NaCl, while those of K and Ca increased in Mex 69-290. Concentration of Na was higher in Mex 69-290 which exhibited better performance

RESUMEN

La caña de azúcar (*Saccharum* spp. híbridos) tiene sensibilidad moderada a la salinidad y los efectos de ésta sobre el rendimiento de la planta varían según el nivel de estrés y el genotipo. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del estrés salino inducido por la aplicación de niveles de NaCl diferentes en la solución de riego sobre altura de la planta, índice indirecto de clorofilas (SPAD), concentraciones de macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg y S) y Na en hojas de dos variedades de caña de azúcar: CP 72-2086 y Mex 69-290. El experimento se estableció en diseño completamente al azar con un arreglo factorial de 2×5. Los factores de estudio fueron la variedad de caña de azúcar (CP 72-2086 y Mex 69-290) y la concentración de NaCl (0.0, 71.8, 143.6, 215.4 y 282.7 mM NaCl). La salinidad como factor único afectó de manera negativa la altura de la planta, unidades SPAD y concentración de N y P en las hojas; las concentraciones de Ca aumentaron, mientras que las de K, Mg y S no mostraron efecto de los niveles de NaCl probados. La variedad Mex 69-290 alcanzó mayor altura y concentró niveles mayores de N y K. Las interacciones de factores mostraron que la salinidad redujo el crecimiento en ambas variedades, pero dicha reducción fue más marcada en CP 72-2086. Las unidades SPAD presentaron reducción significativa por la salinidad en ambas variedades. La concentración de N y P en hojas disminuyó en ambas variedades en respuesta al NaCl, mientras que la de K y Ca aumentó en Mex 69-290. La concentración de Na fue mayor en Mex 69-290, la cual exhibió un desempeño mejor que CP 72-2086. La concentración de Na en las hojas aumentó en proporción directa con las concentraciones de

* Author for correspondence ♦ Autor para correspondencia.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8496-2095>

Received: February, 2021. Approved: October, 2021.

Published in *Agrociencia* 55: 597-610. 2021.

than CP 72-2086. Sodium concentrations in leaves increased in direct relation to the tested NaCl concentrations. Mex 69-290 reached higher concentrations of Na in leave tissues but displayed better health than CP 72-2086. Thus, the variety Mex 69-290 showed more efficient Na-tolerance mechanisms related to Ca and K concentrations, and an indirect chlorophyll index better than CP 72-2086.

Key words: Poaceae, *Saccharum* spp., plant nutrition, osmotic stress, sodium chloride, soil sodium content.

INTRODUCTION

The Mexican variety Mex 69-290 comes from the hybridization between the Mexican varieties Mex 56-476 and Mex 53-142 under those rainfed conditions that predominate in Córdoba, Veracruz (Senties-Herrera *et al.*, 2018). The American variety CP 72-2086 was produced by crossing the varieties CP 62-374 and CP 63-588 from Canal Point, Florida under irrigated conditions (Schueneman *et al.*, 2008). Therefore, they may exhibit different responses under osmotic stress.

The sugarcane agroindustry has great social, cultural, political and economic importance in Mexico, since its annual production of 53.8 million Mg (tons) is valued at 2.59 billion USD. It accounts for 11.6% of the total value generated by agro-industrial raw materials and is the second most important agricultural product in the country, just after maize (USDA, 2019). Mexico is the sixth among the largest producers of sugarcane in the world; its cultivated area is around 800 thousand ha per year. The 164 397 sugarcane farmers and 51 mills in the sector generate annually 450 000 direct jobs (11.35% of food agroindustry total), which benefit 2.3 million people (Gómez-Merino *et al.*, 2017; USDA *et al.*, 2019). This agroindustry is the main economic activity in 15 states, and there are 261 municipalities where sugarcane is planted and processed; roughly estimated, it is present in 667 of the 2546 municipalities in the country (USDA, 2019).

Increased productivity and reduced production costs are some of the challenges the sugarcane industry needs to meet to become more competitive. Sugarcane breeding programs and the evaluation of the responses of different genotypes to contrasting environmental conditions and stresses are some of

NaCl probadas. Mex 69-290 alcanzó concentraciones más altas de Na en los tejidos de las hojas, pero mostró mejor salud que CP 72-2086. Por lo tanto, la variedad Mex 69-290 mostró mecanismos de tolerancia al Na más eficientes en relación con las concentraciones de Ca y K y un mejor índice indirecto de clorofila que CP 72-2086.

Palabras clave: Poaceae, *Saccharum* spp., nutrición vegetal, estrés osmótico, cloruro de sodio, contenido de sodio del suelo.

INTRODUCCIÓN

La variedad mexicana Mex 69-290 proviene de la hibridación entre las variedades mexicanas Mex 56-476 y Mex 53-142 bajo las condiciones de secano predominantes en Córdoba, Veracruz (Senties-Herrera *et al.*, 2018). La variedad estadounidense CP 72-2086 se produjo cruzando las variedades CP 62-374 y CP 63-588 de Canal Point, Florida, bajo condiciones de riego (Schueneman *et al.*, 2008). Por lo tanto, pueden presentar diferentes respuestas al estrés osmótico.

La agroindustria de la caña de azúcar es de gran importancia social, cultural, política y económica en México, ya que su producción anual de 53.8 millones de Mg (toneladas) está valorada en 2.59 mil millones de dólares. La caña de azúcar representa el 11.6% del valor total generado por las materias primas agroindustriales y es el segundo producto agrícola más importante del país, sólo después del maíz (USDA, 2019). México es el sexto productor principal de caña de azúcar del mundo; su superficie cultivada es de alrededor de 800 mil ha al año. Los 164 397 productores de caña y 51 ingenios del sector generan 450 000 empleos directos anuales (11.35% del total de la agroindustria alimentaria), los cuales benefician a 2.3 millones de personas (Gómez-Merino *et al.*, 2017; USDA, 2019). Esta agroindustria es la actividad económica principal en 15 estados y existen 261 municipios donde se siembra y procesa la caña de azúcar; una estimación aproximada es que está presente en 667 de los 2546 municipios del país (USDA, 2019).

El aumento de la productividad y la reducción en los costos de producción son algunos de los desafíos que la industria de la caña de azúcar debe enfrentar para ser más competitiva. Los programas de mejora genética de caña de azúcar y la evaluación de las respuestas de los diversos genotipos a estrés ambien-

the strategies that would help cane producers to meet these aims (Gómez-Merino *et al.*, 2017). Moreover, to protect and enhance production is of pivotal importance for Mexico, since it is one of the most vulnerable countries to the negative effects of global climate change in agriculture.

Sugarcane is moderately sensitive to soil salinity and the effects on crop yield vary according to the level of stress imposed by salinity and the genotype (Mansoori *et al.*, 2014). Climate change causes heat stress, with a concomitant depletion of groundwater resources and increase of saline contamination of inland soils, especially in arid, semi-arid and coastal agricultural areas, which are more vulnerable to climate change impacts on soil salinity. Since 60% of the Mexico territory is dominated by arid and semi-arid lands, and Mexico is highly vulnerable to climate change, our study is decisive to assess the potential of these sugarcane varieties for their further establishment in soils exhibiting constraints due to salinity. The hypothesis in this study was that the evaluated varieties would display different strategies to cope with salt stress. Thus, the aim of this study was to analyze the effects of different levels of NaCl applied through irrigation water on plant height, indirect index of chlorophylls measured by SPAD units, and concentrations of macronutrients and Na in the varieties CP 72-2086 and Mex 69-290.

MATERIALS AND METHODS

Experimental conditions and plant material

The experiment was carried out in a rectangular-shaped A-frame greenhouse covered with 600-gauge polyethylene in Amatlán de los Reyes, Veracruz, Mexico (18° 51' N, 96° 55' W, altitude 720 m). The zone has a tropical, humid climate, with summer rains and mean annual temperature of 20 °C, maximum of 35 °C and minimum of 10 °C. Mean annual rainfall is 1807 mm.

Three-month-old sugarcane (*Saccharum* spp.) plants of the varieties CP 72-2086 and Mex 69-290 propagated *in vitro* were established in a substrate (Table 1) which consisted of a mixture of composted sugarcane filter cake and Agrolita® (75/25; v/v).

Treatments

The sugarcane plants were treated for 25 d with different concentrations of sodium chloride 0.0, 71.8, 143.6, 215.4,

tal y condiciones contrastantes son algunas de las estrategias que ayudarían a los productores de caña a cumplir estas metas (Gómez-Merino *et al.*, 2017). Además, proteger y mejorar la producción es de importancia vital para México, ya que es uno de los países más vulnerables a los efectos negativos del cambio climático global en la agricultura.

La caña de azúcar tiene sensibilidad moderada a la salinidad del suelo y los efectos sobre el rendimiento del cultivo varían de acuerdo con el nivel de estrés impuesto por la salinidad y el genotipo (Mansoori *et al.*, 2014). El cambio climático causa estrés por calor, con un agotamiento concomitante de los recursos de agua subterránea y un incremento en la contaminación salina de los suelos tierra adentro, en especial en áreas agrícolas áridas, semiáridas y costeras, las cuales son más vulnerables a los impactos del cambio climático en la salinidad del suelo. Ya que el 60% del territorio de México está dominado por tierras áridas y semiáridas, y México muestra vulnerabilidad alta al cambio climático, nuestro estudio es decisivo para evaluar el potencial de estas variedades de caña de azúcar para su establecimiento futuro en suelos que presentan limitaciones por salinidad. La hipótesis de este estudio fue que las variedades evaluadas mostrarían estrategias diferentes para hacer frente al estrés salino. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue analizar los efectos de niveles de NaCl diferentes aplicados a través de irrigación sobre la altura de la planta, índice indirecto de clorofilas medido por unidades SPAD y concentraciones de macronutrientes y Na en las variedades CP 72-2086 y Mex 69-290.

MATERIALES Y MÉTODOS

Condiciones experimentales y material vegetal

El experimento se llevó a cabo en un invernadero de base rectangular y techo triangular cubierto con polietileno calibre 600 en Amatlán de los Reyes, Veracruz, México (18° 51' N, 96° 55' O, en altitud de 720 m). La zona tiene un clima tropical húmedo, con lluvias en verano y temperatura media anual de 20 °C, máxima de 35 °C y mínima de 10 °C. La precipitación media anual es de 1807 mm.

Plantas de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) de tres meses de edad de las variedades CP 72-2086 y Mex 69-290 propagadas *in vitro* se establecieron en un sustrato (Cuadro 1) consistente en una mezcla de bagazo de cachaza compostado y Agrolita® (75/25; v/v).

Table 1. Physical and chemical properties of the substrate used to test the response of sugarcane (*Saccharum spp.*) CP 72-2086 and Mex 69-290 varieties to different supplied concentrations of sodium chloride (NaCl) under greenhouse conditions for 25 d.**Cuadro 1. Propiedades físicas y químicas del sustrato utilizado para probar la respuesta de la caña de azúcar (*Saccharum spp.*) variedades CP 72-2086 y Mex 69-290 a concentraciones diferentes de cloruro de sodio (NaCl) suministradas en condiciones de invernadero durante 25 d.**

Texture	Clay	Silt	Sand	OM	FC	PWP	pH	EC	CEC	Ca	Mg	K	Na	
	%				(cm ³ cm ⁻³)			(dS m ⁻¹)	(cmol _c kg ⁻¹)					
Sandy loam	16.72	22.00	61.28	18.57	0.49	0.37	6.42	0.86	34.08	25.50	17.70	0.56	0.05	
	N	P	K	Ca	Mg	Na	Fe	Cu	Mn	Mo	B	Cl	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺
	(g kg ⁻¹)						(mg kg ⁻¹)							
	9.70	0.006	0.022	0.103	0.017	0.092	0.085	0.046	0.09	0.04	0.67	125.01	106.40	47.60

The substrate consisted of a mixture of composted sugarcane filter cake and Agrolita® (75/25; v/v). OM: Organic Matter; FC: Field Capacity; PWP: Permanent Wilting Point; EC: Electrical Conductivity; CEC: Cation Exchange Capacity. ♦ El sustrato consistió en una mezcla de bagazo de caña de azúcar compostado y Agrolita® (75/25; v/v). OM: Materia Orgánica; FC: capacidad de campo; PWP: punto de marchitamiento permanente; EC: conductividad eléctrica; CEC: Capacidad de intercambio catiónico.

and 282.7 mM NaCl, which corresponded to 0.08, 7.02, 12.2, 18.3, and 24.6 dS m⁻¹, of electric conductivity. Solutions of sodium chloride at different concentrations according to the treatments were manually supplied through irrigation water (100 mL per pot) every 72 h without providing any additional nutrient solution. Analytical grade sodium chloride was provided by Sigma-Aldrich (Darmstadt, Germany).

Plant height and indirect chlorophyll determination

Plant growth was evaluated by measuring plant height at the end of the saline treatments. A Stanley Power Lock 3.5 m (12') measuring tape (Stanley; Towson, MD, USA) was used to evaluate this variable. The chlorophyll index was measured indirectly by SPAD units using a SPAD-502 Plus chlorophyll meter (Konica Minolta; Tokyo, Japan). The third youngest leaf of each plant was selected, and readings were taken at the end of the saline treatments. Each treatment had 10 replicates.

Nutrient analysis

Nutrient analysis was carried out at the end of the 25-d treatment period. Plant leaves were dried at 72 °C for 48 h in a forced-air oven (Riossa Hof-125; Monterrey, NL, Mexico). Once dried, the samples were ground in a laboratory mill (Thomas-Wiley Model 4; Philadelphia, PA, USA) with a 1.0-mm sieve. Nitrogen (N) concentrations were determined by the semi-micro Kjeldahl method, while the concentrations of P, K, Ca, S, Mg and Na were determined through wet digestion of the

Tratamientos

Las plantas de caña de azúcar se trataron durante 25 d con concentraciones diferentes de cloruro de sodio 0.0, 71.8, 143.6, 215.4 y 282.7 mM NaCl las cuales correspondieron a 0.08, 7.02, 12.2, 18.3 y 24.6 dS m⁻¹ de conductividad eléctrica. El cloruro de sodio se suministró de forma manual en concentraciones diferentes según los tratamientos por medio del riego (100 mL por maceta) cada 72 h sin agregar ninguna solución nutritiva adicional. El cloruro de sodio grado analítico se obtuvo de Sigma-Aldrich (Darmstadt, Alemania).

Altura de la planta y determinación indirecta de clorofila

El crecimiento de las plantas se evaluó con la medición de altura de planta al final de los tratamientos salinos. Una cinta métrica Stanley Power Lock de 3.5 m (12') (Stanley; Towson, MD, EE. UU.) se utilizó para medir esta variable. El índice de clorofila se midió indirectamente a través de unidades SPAD con un medidor de clorofila SPAD-502 Plus (Konica Minolta; Tokio, Japón). La tercera hoja más joven de cada planta se seleccionó y se tomaron lecturas al final de los tratamientos salinos. Cada tratamiento tuvo 10 repeticiones.

Análisis de nutrimentos

El análisis de nutrimentos se llevó a cabo al final del período de tratamiento de 25 d. Las hojas de las plantas se secan a 72 °C durante 48 h en un horno de aire forzado (Riossa

dry material with a mixture of perchloric and nitric acid. The obtained extracts were read in an inductively coupled plasma optical emission spectrometry equipment (Agilent 725 ICP-OES; Mulgrave, Victoria, Australia). All reagents were provided by Sigma Aldrich (Darmstadt, Germany).

Experimental design and statistical analysis

The experiment was established in a completely randomized design with a 2×5 factorial arrangement. The study factors were the variety (Mex 69-290 and CP 72-2086) and the sodium chloride concentration in the irrigation solution (0, 71.8, 143.6, 215.4 and 287.2 mM NaCl). The experimental unit was a 1 L pot with one plant each and ten replicates per treatment. With the data obtained, an ANOVA and means comparison test (Tukey; $p \leq 0.05$) were performed using SAS®.

RESULTS AND DISCUSSION

Effect of NaCl factor on plant height and indirect chlorophyll index

The means of plant height and indirect chlorophyll index were expressed as a function of the NaCl concentration used in irrigation. Both variables were significantly affected, especially in plants exposed to 215.4 and 282.7 mM NaCl (Table 2).

Hof-125; Monterrey, NL, México). Una vez secas, las muestras se molieron en un molino de laboratorio (Thomas-Wiley Modelo 4; Filadelfia, PA, EE. UU.) con un tamiz de 1.0 mm. Las concentraciones de nitrógeno (N) se determinaron por el método semi micro Kjeldahl, en tanto que las concentraciones de P, K, Ca, S, Mg y Na se determinaron por digestión húmeda del material seco con una mezcla de ácido perclórico y nítrico. Los extractos obtenidos se leyeron en un equipo de espectrometría de emisión óptica de inducción por plasma acoplado (Agilent 725 ICP-OES; Mulgrave, Victoria, Australia). Todos los reactivos se obtuvieron de Sigma Aldrich (Darmstadt, Alemania).

Diseño experimental y análisis estadístico

El experimento se estableció un diseño completamente al azar con un arreglo factorial de 2×5. Los factores de estudio fueron la variedad (Mex 69-290 y CP 72-2086) y la concentración de cloruro de sodio en la solución de riego (0, 71.8, 143.6, 215.4 y 287.2 mM NaCl). La unidad experimental fue una maceta de 1 L con una planta cada una y diez repeticiones por tratamiento. Con los datos obtenidos se realizó un ANOVA y una prueba de comparación de medias (Tukey; $p \leq 0.05$) con SAS®.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto del factor NaCl sobre la altura de la planta y el índice indirecto de clorofila

Las medias de la altura de la planta y el índice indirecto de clorofila se expresaron en función de la

Table 2. Effect of the NaCl factor on plant height and indirect chlorophyll index measured by SPAD units of sugarcane plants grown in a substrate composed of composted sugarcane filter cake and Agrolita® (75/25; v/v) under salt stress in greenhouse conditions for 25 d.

Cuadro 2. Efecto del factor NaCl sobre altura de la planta e índice indirecto de clorofila medido por unidades SPAD en plantas de caña de azúcar cultivadas en un sustrato compuesto por bagazo de cachaza compostado y Agrolita® (75/25; v/v) bajo estrés salino en condiciones de invernadero por 25 d.

NaCl concentration (mM)	Plant height (cm)	Indirect chlorophyll index (SPAD units)
0	108.72 ± 4.26 a	15.82 ± 2.30 a
71.8	101.33 ± 5.42 ab	14.23 ± 1.31 a
143.6	96.89 ± 6.25 ab	14.02 ± 0.77 a
215.4	92.21 ± 3.11 b	12.27 ± 1.31 b
282.7	87.89 ± 3.07 b	12.20 ± 2.03 b

Means ± SD with different letters in each column indicate statistical differences (Tukey, $p \leq 0.05$) among NaCl treatments. ♦ Las medias ± DE con letras diferentes en cada columna indican diferencia estadística (Tukey, $p \leq 0.05$) entre los tratamientos de NaCl.

Effect of variety factor on plant height and indirect chlorophyll index

The variety Mex 69-290 reached a greater height and outperformed ($p \leq 0.05$) CP 72-2086. Additionally, leaves of Mex 69-290 displayed a better and healthier phenotype as compared to CP 72-2086. The indirect chlorophyll index at 25 d after treatment showed no significant differences between the two varieties (Table 3).

Effect of the interaction between the variety $\times$ NaCl factors on plant height and indirect chlorophyll index

By observing the results of the effect of the interaction of the study factors, it can be inferred that the varieties had different responses to salinity (Table 4). Although in both varieties there was a negative relationship between growth and NaCl concentration, in the variety CP 72-2086 a growth inhibition of greater magnitude was observed than in the variety Mex 69-290 in all the evaluated NaCl concentrations.

In similar studies, ten sugarcane varieties that were evaluated in response to salt stress (0.0, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0 and 8.0 dS m⁻¹) supplied by the irrigation water for 60 d displayed reduced growth as salinity increased (Simões *et al.*, 2016). In the varieties RB 86-7515 and RB 86-3129, the application of NaCl (0, 25, 50, 75, 100, 125, 150 and 200 mM NaCl) in the nutrient solution reduced the concentrations of chlorophyll from approximately 3.5 mg g⁻¹ in control

concentración de NaCl utilizada en el riego. El efecto fue significativo sobre ambas variables, en especial en las plantas expuestas a 215.4 y 282.7 mM NaCl (Cuadro 2).

Efecto del factor variedad sobre altura de la planta e índice indirecto de clorofila

La variedad Mex 69-290 alcanzó una altura mayor y superó ($p \leq 0.05$) a la CP 72-2086. Además, las hojas de Mex 69-290 mostraron un fenotipo mejor y más saludable comparadas con CP 72-2086. El índice indirecto de clorofila 25 d después del tratamiento no mostró diferencias significativas entre las dos variedades (Cuadro 3).

Efecto de la interacción entre los factores variedad $\times$ NaCl sobre altura de la planta e índice indirecto de clorofila

Al observar los resultados del efecto de la interacción de los factores de estudio se puede inferir que las variedades tuvieron respuestas diferentes a la salinidad (Cuadro 4). Aunque hubo relación negativa entre crecimiento y concentración de NaCl en ambas variedades, se observó una inhibición del crecimiento de mayor magnitud en la variedad CP 72-2086 que en la variedad Mex 69-290 con todas las concentraciones de NaCl evaluadas.

En estudios similares, diez variedades de caña de azúcar que se evaluaron en respuesta al estrés salino (0.0, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0 y 8.0 dS m⁻¹) inducido a través del agua de riego durante 60 d mostraron

Table 3. Effect of variety on plant height and indirect chlorophyll index measured by SPAD units of sugarcane plants grown in a substrate composed of composted sugarcane filter cake and Agrolita® (75/25; v/v) under salt stress in greenhouse conditions for 25 d.

Cuadro 3. Efecto de la variedad sobre altura de la planta e índice indirecto de clorofila medido por unidades SPAD en plantas de caña de azúcar cultivadas en un sustrato compuesto de bagazo de cachaza compostado y Agrolita® (75/25; v/v) bajo estrés salino en condiciones de invernadero por 25 d.

Variety	Plant height (cm)	Indirect chlorophyll index (SPAD units)
CP 72-2086	101.5 $\pm$ 5.9 b	12.9 $\pm$ 2.4 a
Mex 69-290	106.5 $\pm$ 8.4 a	14.4 $\pm$ 2.3 a

Means $\pm$ SD with different letters in each column indicate statistical differences (Tukey; $p \leq 0.05$) between varieties. ♦ Medias $\pm$ DE con letras diferentes en cada columna indican diferencia estadística (Tukey; $p \leq 0.05$) entre variedades.

Table 4. Effect of the interaction of the variety $\times$ NaCl factors on plant height and indirect chlorophyll index measured by SPAD units of sugarcane plants grown in a substrate composed of composted sugarcane filter cake and Agrolita® (75/25; v/v) under salt stress in greenhouse conditions for 25 d.

Cuadro 4. Efecto de la interacción de los factores variedad $\times$ NaCl sobre altura de la planta e índice indirecto de clorofila medido por unidades SPAD de plantas de caña de azúcar cultivadas en un sustrato compuesto de bagazo de caña de azúcar compostado y Agrolita® (75/25; v/v) bajo estrés salino en condiciones de invernadero por 25 d.

Variety	NaCl (mM)	Plant height (cm)	Indirect chlorophyll index (SPAD units)
CP 72-2086	0	110.91 $\pm$ 4.39 ab	14.25 $\pm$ 1.27 ab
	71.8	105.11 $\pm$ 5.28 ab	14.10 $\pm$ 1.06 ab
	143.6	101.12 $\pm$ 3.26 b	12.28 $\pm$ 2.08 bc
	215.4	98.11 $\pm$ 4.17 c	11.47 $\pm$ 1.23 bc
	287.2	95.31 $\pm$ 2.45 c	10.78 $\pm$ 0.89 c
Mex 69-290	0	125.85 $\pm$ 6.15 a	15.28 $\pm$ 0.32 a
	71.8	120.25 $\pm$ 7.16 a	14.37 $\pm$ 1.01 ab
	143.6	116.43 $\pm$ 4.21 ab	11.26 $\pm$ 0.42 ab
	215.4	114.31 $\pm$ 3.36 ab	10.24 $\pm$ 2.83 cd
	287.2	110.14 $\pm$ 2.37 ab	8.32 $\pm$ 0.91 d

Means $\pm$ SD with different letters in each column indicate statistical differences (Tukey, $p \leq 0.05$) among treatments. ♦ Medias $\pm$ DE con letras diferentes en cada columna indican diferencia estadística (Tukey, $p \leq 0.05$) entre tratamientos.

plants to less than 0.5 mg g⁻¹ in plants exposed to 200 mM NaCl, and the reduction of chlorophyll was higher in RB 86-7515 (Willadino *et al.*, 2011).

The indirect chlorophyll index was reduced ($p \leq 0.05$) in both varieties starting at 215.4 mM NaCl concentration, with the largest reduction occurring in the variety Mex 69-290, contrary to what was observed in plant height. These results also coincide with those by Shomeili *et al.* (2011), who evaluated the chlorophyll index of the variety CP 48-103 *in vitro* and in hydroponics in response to different NaCl levels (0, 0.2, 0.4, 0.6, and 0.8% NaCl) and found that the index decreased as the salt concentration in the medium was increased. However, values were much lower compared to other studies, ranging from 2.3 units in control plants to 1.7 in plants treated with 0.8% NaCl, differences that can be attributed to the experimental conditions and plant age (60 and 150 d for the *in vitro* culture and the hydroponic system). In ten sugarcane varieties (Uthong 6, Khon Kaen 80, K 86-161, Khon Kaen 3, 03-4-425, KU60-1, Phill 66-07, B 34-164, Uthong 2 and LF 82-2122) subjected to different water deficit levels, Jangpromma *et al.* (2010) reported an average SPAD unit values of 32.8, within a minimum and maximum range of 23.8 and 38.3, which are higher

un crecimiento reducido a medida que aumentaba la salinidad (Simões *et al.*, 2016). En las variedades RB 86-7515 y RB 86-3129, la aplicación de NaCl (0, 25, 50, 75, 100, 125, 150 y 200 mM NaCl) en la solución nutritiva redujo las concentraciones de clorofila aproximadas de 3.5 mg g⁻¹ en plantas testigo a menos de 0.5 mg g⁻¹ en plantas expuestas a 200 mM NaCl, y la reducción de clorofila fue mayor en RB 86-7515 (Willadino *et al.*, 2011).

El índice indirecto de clorofila se redujo ($p \leq 0.05$) en ambas variedades a partir de la concentración de 215.4 mM NaCl, con la reducción mayor en la variedad Mex 69-290, contrario a lo observado en altura de planta. Estos resultados también coinciden con los de Shomeili *et al.* (2011), quienes evaluaron el índice de clorofila de la variedad CP 48-103 *in vitro* y en hidroponía en respuesta a diferentes niveles de NaCl (0, 0.2, 0.4, 0.6 y 0.8% NaCl) y encontraron que el índice disminuyó a medida que la concentración de sal se incrementó en el medio. Sin embargo, los valores fueron mucho menores en comparación con otros estudios, oscilando desde 2.3 unidades en las plantas testigo hasta 1.7 en plantas tratadas con NaCl al 0.8%, diferencias que se pueden atribuir a las condiciones experimentales y a la edad de la planta (60 y 150 d para el cultivo *in vitro* y sistema

than those recorded in the experimental conditions of this study; and also higher than those reported by Shomeili *et al.* (2011).

Mansoori *et al.* (2014) tested four salinity levels (0, 3, 6 and 9 dS m⁻¹) in seven sugarcane genotypes and found that the indirect chlorophyll index measured through SPAD units decreased in all genotypes as the salinity level increased in the irrigation water. In the variety C 1051-73 cultivated *in vitro*, concentrations of chlorophyll *a* decreased from more than 200 µg g⁻¹ fresh weight in control plants to less than 150 µg g⁻¹ fresh weight in plants exposed to 200 mM NaCl. As well as chlorophyll *b* decreased from nearly 120 µg g⁻¹ fresh weight in control plants to approximately 80 µg g⁻¹ fresh weight in plants treated with either 100 or 150 mM NaCl (Gómez *et al.*, 2017).

Effect of NaCl factor on macronutrient concentrations

Sugarcane varieties were established in a substrate mixture composed of composted filter cake and Agrolita® (75/25; v/v). Agrolita® is a sterile inert substrate that is chemically stable in neutral and acid pH; filter cake may contain different concentrations of sulphites, phosphate, organic carbon and some amount of N, Ca, Fe and Mg (Sahu, 2018). Also known as press mud, filter cake is a residue produced by drum filters in sugar processing during juice clarification. As a fresh by-product, it may contain 75-80% moisture, 2-5% sugar and 5-10% fibre. The concentrations of plant mineral nutrients of filter cake vary among studies.

Meunchang *et al.* (2005) and Wongkoon *et al.* (2014) reported 1.8% total N, 0.96% total P, 0.39% total K, 7.1% total Ca, and 0.40% total Mg, with 48% organic matter, a C/N ratio of 14, 52% ash, pH 7.7 and EC 0.80 dS m⁻¹. Gonçalves *et al.* (2018) found 71% humidity, 70% organic matter, 14.3 g kg⁻¹ N, 16.90 g kg⁻¹ P, 1.5 g kg⁻¹ K, 23 g kg⁻¹ Ca, 3.4 g kg⁻¹ Mg, 405.6 g kg⁻¹ C, 28.3 g kg⁻¹ C/N ratio and pH 6.6. Under the experimental conditions of this study, the substrate composed of 75% composted sugarcane filter cake and 25% Agrolita® contained 0.97% N, 22.1 mg kg⁻¹ K, 6.39 mg kg⁻¹ P, 102.6 mg kg⁻¹ Ca and 17.4 mg kg⁻¹ Mg, with 18.57% organic matter, a pH value of 6.42 and an EC of 0.86 dS cm⁻¹. Since physical and chemical properties, and especially the concentrations of mineral nutrients in

hidropónico). En diez variedades de caña de azúcar (Uthong 6, Khon Kaen 80, K 86-161, Khon Kaen 3, 03-4-425, KU60-1, Phill 66-07, B 34-164, Uthong 2 y LF 82-2122) sometidas a diferentes niveles de déficit hídrico, Jangpromma *et al.* (2010) registraron valores unitarios promedio de SPAD de 32.8, con un mínimo de 23.8 y un máximo de 38.3, los cuales son superiores a los registrados en las condiciones experimentales de este estudio, y también mayores que los obtenidos por Shomeili *et al.* (2011).

Mansoori *et al.* (2014) probaron cuatro niveles de salinidad (0, 3, 6 y 9 dS m⁻¹) en siete genotipos de caña de azúcar y encontraron que el índice indirecto de clorofila medido a través de unidades SPAD disminuyó en todos los genotipos a medida que aumentaba el nivel de salinidad en el agua de riego. En la variedad C 1051-73 cultivada *in vitro*, las concentraciones de clorofila *a* disminuyeron desde más de 200 µg g⁻¹ de peso fresco en plantas testigo a menos de 150 µg g⁻¹ de peso fresco en plantas expuestas a 200 mM NaCl. Así mismo, la clorofila *b* disminuyó desde casi 120 µg g⁻¹ de peso fresco en plantas testigo a 80 µg g⁻¹ aproximados de peso fresco en plantas tratadas con 100 o 150 mM NaCl (Gómez *et al.*, 2017).

Efecto del factor NaCl sobre las concentraciones de macronutrientes

Las variedades de caña de azúcar se establecieron en una mezcla de sustrato compuesta por bagazo de cachaza compostado y Agrolita® (75/25; v/v). La Agrolita® es un sustrato inerte estéril, químicamente estable en pH neutro y ácido. El bagazo fino del jugo filtrado de caña puede contener concentraciones diferentes de sulfitos, fosfato, carbono orgánico y alguna cantidad de N, Ca, Fe y Mg (Sahu, 2018). También conocido como lodo de prensa o torta de filtrado, el bagazo de cachaza es un residuo producido por los filtros de tambor en el procesamiento del azúcar durante la clarificación del jugo. Como subproducto fresco, el bagazo de cachaza puede contener 75-80% de humedad, 2-5% de azúcar y 5-10% de fibras. Las concentraciones de nutrientes minerales del bagazo de cachaza compostado varían entre los estudios.

Meunchang *et al.* (2005) y Wongkoon *et al.* (2014) reportaron 1.8% de N total, 0.96% de P total, 0.39% de K total, 7.1% de Ca total y 0.40% de Mg total, con 48% de materia orgánica, una relación C/N de 14.52% de cenizas, pH 7.7 y conductividad

filter cake vary, absorption and contents of essential elements in plant tissues are consequently affected.

Sugarcane filter cake is one of the most employed sources of organic matter used to increase agricultural productivity, including that of sugarcane (Sahu, 2018). When filter cake is composted, the amounts of organic matter and mineral nutrients are prone to increase (Wongkoon *et al.*, 2014), while the effects of salt stress may be reduced by composted filter cake (Sebastian *et al.*, 2009).

Thus, we observed that concentrations of N and P in leaves were reduced ($p \leq 0.05$) as the concentrations of NaCl in the irrigation water increased. Treatments did not affect K, Mg and S concentrations, whereas Ca concentrations increased with the application of 215.4 and 287.2 mM NaCl, compared to the control. Concentrations of Na in leaf tissues were positively related to the NaCl concentration in the irrigation water (Table 5).

Effect of variety factor on macronutrient concentration

When analyzing the effect of the variety factor, Mex 69-290 exhibited higher concentrations of N and K as compared to CP 72-2086 with ($p \leq 0.05$) statistical difference (Table 6). In response to cadmium stress, the variety CP 72-2086 also showed reduced N concentrations in leaves (Trejo-Téllez *et al.*, 2014). Concentrations of P, Ca, Mg and S showed no significant effects in the tested treatments.

eléctrica (CE) 0.80 dS m^{-1} . Gonçalves *et al.* (2018) encontraron 71% de humedad, 70% de materia orgánica, $14.3 \text{ g kg}^{-1} \text{ N}$, $16.90 \text{ g kg}^{-1} \text{ P}$, $1.5 \text{ g kg}^{-1} \text{ K}$, $23 \text{ g kg}^{-1} \text{ Ca}$, $3.4 \text{ g kg}^{-1} \text{ Mg}$, $405.6 \text{ g kg}^{-1} \text{ C}$, 28.3 g kg^{-1} relación C/N y pH 6.6. Bajo las condiciones experimentales de este estudio, el sustrato compuesto por 75% de bagazo de cachaza compostado y 25% de Agrolita® contenía 0.97% N, 22.1 mg kg⁻¹ K, 6.39 mg kg⁻¹ P, 102.6 mg kg⁻¹ Ca y 17.4 mg kg⁻¹ Mg, con 18.57% de materia orgánica, un valor de pH de 6.42 y CE de 0.86 dS cm^{-1} . Ya que las propiedades físicas y químicas, y en especial las concentraciones de nutrientes minerales en la cachaza varían, la absorción y el contenido de elementos esenciales en los tejidos vegetales se afectan en consecuencia.

El bagazo de cachaza es una de las fuentes de materia orgánica más utilizadas para aumentar la productividad agrícola, incluida la de la caña de azúcar (Sahu, 2018). Cuando este residuo agroindustrial se somete a compostaje, las cantidades de materia orgánica y nutrientes minerales tienden a aumentar (Wongkoon *et al.*, 2014), mientras que los efectos del estrés salino pueden reducirse mediante la cachaza compostada (Sebastian *et al.*, 2009).

Así observamos que las concentraciones de N y P en las hojas se redujeron ($p \leq 0.05$) a medida que la concentración de NaCl aumentó en el agua de riego. Los tratamientos no afectaron las concentraciones de K, Mg y S; en tanto que las concentraciones de Ca aumentaron con la aplicación de 215.4 y 287.2 mM NaCl, en comparación con el testigo. Las concentraciones de Na

Table 5. Effect of NaCl concentration on macronutrients and Na contents in leaves of sugarcane plants grown in a substrate composed of composted sugarcane filter cake and Agrolita® (75/25; v/v) under salt stress in greenhouse conditions for 25 d.

Cuadro 5. Efecto de la concentración de NaCl sobre macronutrientes y contenido de Na en hojas de plantas de caña de azúcar cultivadas en un sustrato compuesto de bazo de cachaza compostado y Agrolita® (75/25; v/v) bajo estrés salino en condiciones de invernadero por 25 d.

NaCl (mM)	N	P	K	Ca	Mg	S	Na (mg kg ⁻¹)
(g kg ⁻¹)							
0.0	16.9±0.36a	1.2±0.14a	5.9±0.91a	4.8±0.63c	2.1±0.26a	1.0±0.13a	122.5±20.46e
71.8	16.6±1.27a	0.8±0.10b	5.2±1.05a	5.6±0.70bc	1.8±0.26a	0.8±0.10a	1159.1±238.38cd
143.6	12.9±0.55b	0.7±0.05b	5.9±0.58a	5.7±0.42bc	1.9±0.13a	0.7±0.07a	3197.9±314.57c
215.4	13.4±0.62b	0.9±0.07ab	5.7±0.53a	8.6±0.63a	2.4±0.12a	0.9±0.06a	6073.9±613.54b
287.2	13.3±0.73b	0.7±0.09b	6.3±1.57a	7.4±0.91ab	2.2±0.34a	0.7±0.11a	8553.2±1612.79a

Means ± SD with different letters in each column indicate statistical differences (Tukey, $p \leq 0.05$) among NaCl treatments. ♦ Medias ± DE con letras diferentes en cada columna indican diferencia estadística (Tukey, $p \leq 0.05$) entre tratamientos con NaCl.

Table 6. Effect of variety factor on the concentration of macronutrients and Na in leaves of sugarcane plants grown in a substrate composed of composted sugarcane filter cake and Agrolita® (75/25; v/v) under salts stress in greenhouse conditions for 25 d.

Cuadro 6. Efecto del factor variedad sobre la concentración de macronutrientes y Na en hojas de plantas de caña de azúcar cultivadas en un sustrato compuesto de bagazo de cachaza compostado y Agrolita® (75/25; v/v) bajo estrés salino en condiciones de invernadero por 25 d.

Variety	N	P	K	Ca (g kg ⁻¹)	Mg	S	Na (mg kg ⁻¹)
CP 72-2086	14.0±1.04b	0.9±0.14a	4.8±0.71b	6.02±1.04a	2.0±0.24a	0.8±0.10a	3648.1±1581.61a
Mex 69-290	15.2±1.21a	0.8±0.10a	6.8±0.93a	6.6±0.86a	2.2±0.24a	0.9±0.10 a	3994.5±1952.23a

Means ± SD with different letters in each column indicate statistical difference (Tukey, $p \leq 0.05$) between varieties. ♦ Medias ± DE con letras diferentes en cada columna indican diferencia estadística (Tukey, $p \leq 0.05$) entre variedades.

The varieties also showed no significant differences in Na concentration.

Effect of variety × NaCl interaction on macronutrient concentrations

Interactions of the variety × NaCl factors affected ($p \leq 0.05$) the concentrations in the majority of the determined macronutrients (Table 7). As the NaCl level increased, N concentrations decreased and this reduction was different ($p \leq 0.05$), starting at 143.6 mM NaCl concentration upwards, and N lower than

en los tejidos foliares tuvieron relación directa positiva con la concentración de NaCl en el agua de riego (Cuadro 5).

Efecto del factor variedad sobre la concentración de macronutrientes

Al analizar el efecto del factor variedad, Mex 69-290 presentó concentraciones mayores de N y K en comparación con CP 72-2086 con diferencia estadística ($p \leq 0.05$) (Cuadro 6). En respuesta al estrés por cadmio, la variedad CP 72-2086 también mostró

Table 7. Effect of the interaction of the variety × NaCl factors on the concentration of macronutrients and Na in leaves of sugarcane plants grown in a substrate composed of composted sugarcane filter cake and Agrolita® (75/25; v/v) under salt stress in greenhouse conditions for 25 d.

Cuadro 7. Efecto de la interacción de los factores variedad × NaCl sobre la concentración de macronutrientes y Na en hojas de plantas de caña de azúcar cultivadas en un sustrato compuesto de bagazo de cachaza compostado y Agrolita® (75/25; v/v) bajo estrés salino en condiciones de invernadero por 25 d.

Variety	NaCl (mM)	N	P	K (g kg ⁻¹)	Ca	Mg	S	Na (mg kg ⁻¹)
CP 72-2086	0	16.4±0.18abc	1.2±0.14a	5.3±0.90ab	4.4±0.50c	2.0±0.28a	0.9±0.12a	103±16.9c
	71.8	14.9±1.31bcd	0.9±0.10ab	4.8±0.65ab	5.9±0.72abc	1.9±0.23a	0.8±0.09a	1326±196.4c
	143.6	12.1±0.53d	0.7±0.08ab	5.2±0.69ab	5.2±0.49bc	1.9±0.21a	0.7±0.07a	3374±470.2bc
	215.4	14.5±0.10cd	0.9±0.09ab	5.1±0.15ab	9.1±0.81a	2.4±0.13a	0.8±0.06a	6841±233.5ab
	287.2	12.1±0.53d	0.6±0.11b	3.8±1.09b	6.3±1.04abc	1.7±0.36a	0.6±0.11a	6596±1830.7b
Mex 69-290	0	17.5±0.30ab	1.1±0.15ab	6.6±0.99ab	5.2±0.79bc	2.2±0.29a	1.1±0.15a	142±22.1c
	71.8	18.3±0.36a	0.7±0.11ab	5.6±1.48ab	5.2±0.76bc	1.7±0.33a	0.8±0.13a	992±287.4c
	143.6	13.6±0.18cd	0.7±0.01b	6.5±0.05ab	6.2±0.14abc	2.0±0.01a	0.8±0.06a	3022±55.7bc
	215.4	12.2±0.18d	0.8±0.04ab	6.4±0.61ab	8.1±0.39abc	2.3±0.13a	0.9±0.06a	5307±667.3b
	287.2	14.5±0.20cd	0.8±0.04ab	8.8±0.61a	8.4±0.35ab	2.6±0.14a	0.9±0.04a	10510±527.9a

Means ± SD with different letters in each column indicate statistical difference (Tukey, $p \leq 0.05$) among treatments. ♦ Medias ± DE con letras diferentes en cada columna indican diferencia estadística (Tukey, $p \leq 0.05$) entre tratamientos.

the control. CP 72-2086 maintained ($p \leq 0.05$) N concentrations lower than Mex 69-290.

In this study it is noteworthy that the lowest salinity level applied (71.8 mM) maintained similar N concentration to the control. Increasing salinity linearly reduced the N, P, K and Mg contents in leaves of the variety RB 867515, but increased Ca, Cl and Na contents (de Lira *et al.*, 2019). These different responses may be attributed to the experimental conditions and tested genotypes. Varieties that exhibited improved salinity stress tolerance contain specific proteins with higher molecular weight under saline condition as compared to those grown under normal conditions, which may be related to higher concentrations of N in tissues (Saxena *et al.*, 2010). Genotypes with efficient mechanisms to cope with salt stress protect the photochemical system and capture reactive oxygen species such as the variety RB 86-7515. This variety exhibits an increased activity of ascorbate peroxidase (APX) and catalase (CAT), among other anti-stress enzymes and metabolites (Willadino *et al.*, 2011).

The effect of salt stress on P concentration in plants varies depending on the genotype and culture conditions of the plants. Salinity reduces the P concentration in sugarcane, but this reduction is more pronounced in stems than in leaves in susceptible varieties (Si 94-050 and Co 85-036) contrasted with tolerant ones (C 92-038 and Co 85-004) (Gomathi and Thandapani, 2005). In the experimental conditions of our study, a reduced leaf P concentration was found in CP 72-2086 plants exposed to the highest NaCl concentration (287.2 mM) as compared to the control, whereas in Mex 69-290 no statistical difference among treatments was observed.

In the presence of high Na concentrations in the rhizosphere, K uptake and accumulation in plant tissues can be negatively affected (Shirazi *et al.*, 2005). Therefore, salt tolerance has been correlated with the ability of plants to absorb K instead of Na in saline conditions. In this study, differences ($p \leq 0.05$) were only found with the highest NaCl level (287.2 mM), with contrasting K concentrations between varieties, CP 72-2086 displayed a lower mean than Mex 69-290.

In a saline soil with electrical conductivity of 7 dS m^{-1} , Ca concentrations in leaves were reduced by 47.6% compared to the control for four evaluated

concentraciones reducidas de N en hojas (Trejo-Téllez *et al.*, 2014). Las concentraciones de P, Ca, Mg y S no mostraron efecto significativo de los tratamientos probados. Las variedades tampoco mostraron diferencias significativas en la concentración de Na.

Efecto de la interacción variedad $\times$ NaCl sobre las concentraciones de macronutrientes

Las interacciones de los factores variedad $\times$ NaCl afectaron ($p \leq 0.05$) las concentraciones de la mayoría de los macronutrientes determinados (Cuadro 7). A medida que el nivel de NaCl aumentó, las concentraciones de N disminuyeron y esta reducción fue diferente ($p \leq 0.05$) desde la concentración de 143.6 mM NaCl en adelante, y el N fue menor que el testigo. CP 72-2086 mantuvo ($p \leq 0.05$) concentraciones de N más bajas que Mex 69-290.

En este estudio es notable que el nivel de salinidad más bajo aplicado (71.8 mM) mantuvo una concentración de N similar al testigo. El aumento en la salinidad redujo en forma directa los contenidos de N, P, K y Mg en hojas de la variedad RB 867515, pero incrementó los contenidos de Ca, Cl y Na (de Lira *et al.*, 2019). Estas respuestas diferentes se pueden atribuir a las condiciones experimentales y los genotipos probados. Las variedades que exhiben mejor tolerancia al estrés por salinidad contienen proteínas específicas con peso molecular mayor en condiciones salinas en comparación con las cultivadas en condiciones normales, lo cual puede relacionarse con concentraciones más altas de N en los tejidos (Saxena *et al.*, 2010). Los genotipos con mecanismos eficientes para hacer frente al estrés salino protegen el sistema fotoquímico y capturan especies reactivas de oxígeno, como la variedad RB 86-7515. Esta variedad exhibe una actividad mayor del ascorbato peroxidasa (APX) y catalasa (CAT), entre otras enzimas y metabolitos antiestrés (Willadino *et al.*, 2011).

El efecto del estrés salino sobre la concentración de P en las plantas varía según el genotipo y las condiciones de cultivo de las plantas. La salinidad reduce la concentración de P en la caña de azúcar, pero esta reducción es más marcada en los tallos que en las hojas en las variedades susceptibles (Si 94-050 y Co 85-036) en contraste con las tolerantes (C 92-038 y Co 85-004) (Gomathi y Thandapani, 2005). En las condiciones experimentales de nuestro estudio, se encontró una concentración de P foliar reducida en

sugarcane genotypes (Gomathi and Thandapani, 2005). In this study the Ca concentration increased in leaves of CP 72-2086, while in Mex 69-290 the Ca concentration remained similar ($p>0.05$), with a tendency to increase Ca as the NaCl level increased. This suggests the existence of different mechanisms of tolerance to the saline stress factor in the two evaluated varieties. Calcium is a vital element facing stress environments and drastically affects plant response to salinity due to its role as a second messenger that triggers tolerance mechanisms. Calcium plays a central and unifying role in signaling and phosphorylation of those proteins involved in sensing, uptake, transport and storage processes of different ions in plant cells (Manishankar *et al.*, 2018).

In response to salt stress, K^+ and Ca^{2+} ions seem to be readily displaced from binding sites by Na^+ ions, and the functional aspects associated with essential nutrients may become critically impaired (Barzana *et al.*, 2021). In glycophyte species such as rice, sufficient K^+ and Ca^{2+} supply helps plants to overcome salt stress (Horie *et al.*, 2012). Salt stress causes deficiency of mineral nutrients in plants by interfering with availability, uptake and transport within the cells (Assaha *et al.*, 2017; Barzana *et al.*, 2021).

In this study, the salinity levels tested did not affect ($p>0.05$) Mg or S concentrations in any of the evaluated varieties. Magnesium is a key element involved in vital processes in plants, including photosynthesis, enzyme catalysis, and nucleic acid synthesis (Tanoi and Kobayash, 2015). Sulfur is related to a protective role against oxidative damage caused by salt stress, since the application of salts induce enzymes of the S-assimilatory pathway that help to neutralize or trace reactive oxygen species (Fatma *et al.*, 2016).

Filter cake has been extensively used as a source of nutrients, including in sugarcane farming, with well-documented positive impacts on plant growth and soil biochemical and physical properties (Wongkoon *et al.*, 2014). For example, mixing filter cake with sugarcane bagasse (2:1 ratio) helps N conservation during composting and it improves crop production (Meunchang *et al.*, 2005). In sugarcane, increased germination percentage and N content of soil following applications of filter cake were also reported (Elsayed *et al.*, 2008). Either applied fresh

las plantas CP 72-2086 expuestas a la concentración más alta de NaCl (287.2 mM) en comparación con el testigo, en tanto que en Mex 69-290 no se encontró diferencia estadística entre tratamientos.

En presencia de concentraciones de Na altas en la rizosfera, la absorción y acumulación de K en los tejidos vegetales puede recibir efecto negativo (Shirazi *et al.*, 2005). Por ello, la tolerancia a la sal se correlaciona con la capacidad de las plantas para absorber K en lugar de Na en condiciones salinas. En este estudio, sólo se encontró diferencia ($p\leq 0.05$) con el nivel más alto de NaCl (287.2 mM), con concentraciones de K contrastantes entre variedades, CP 72-2086 presentó una media menor que Mex 69-290.

En un suelo salino con conductividad eléctrica de 7 dS m^{-1} , las concentraciones de Ca en hojas se redujeron en un 47.6% en comparación con el testigo en cuatro genotipos de caña de azúcar evaluados (Gomathi y Thandapani, 2005). En este estudio la concentración de Ca aumentó en hojas de CP 72-2086, mientras que en Mex 69-290 la concentración de Ca se mantuvo similar ($p>0.05$), con tendencia a incrementar Ca a medida que aumentaba el nivel de NaCl. Esto sugiere la existencia de mecanismos diferenciales de tolerancia al factor de estrés salino en las dos variedades evaluadas. El calcio es un elemento vital en ambientes de estrés y afecta en forma drástica la respuesta de las plantas a la salinidad debido a su papel como mensajero secundario que activa los mecanismos de tolerancia. El calcio juega un papel central y unificador en la señalización y fosforilación de las proteínas involucradas en los procesos de detección, captación, transporte y almacenamiento de iones diversos en las células vegetales (Manishankar *et al.*, 2018).

En respuesta al estrés salino, los iones K^+ y Ca^{2+} parecen ser desplazados con facilidad de los sitios de unión por los iones Na^+ , y los aspectos funcionales asociados con los nutrimentos esenciales pueden verse deteriorados de manera crítica (Barzana *et al.*, 2021). En especies glucofitas como el arroz, el suministro suficiente de K^+ y Ca^{2+} ayuda a las plantas a superar el estrés salino (Horie *et al.*, 2012). El estrés salino causa deficiencia de nutrimentos minerales en las plantas al interferir con disponibilidad, absorción y transporte dentro de las células (Assaha *et al.*, 2017; Barzana *et al.*, 2021).

En este estudio, los niveles de salinidad probados no afectaron ($p>0.05$) las concentraciones de Mg o

or composted, filter cake is used as a structural soil amendment to counteract soil degradation, since it prevents soil crusting and cracking, allows adjusting the pH, improves drainage and promotes the natural growth of symbiotic bacteria and other beneficial microorganisms (Gonçalves *et al.*, 2018).

Accumulation of Na in older leaves and compartmentalization in vacuoles are part of a salt-tolerance mechanism developed by some plant species. Plants exposed to salt stress may exhibit enhanced accumulation of Na⁺, but reduced accumulation of K⁺ and Ca⁺, whereas that of Mg²⁺ does not vary (Barzana *et al.*, 2021). In the sugarcane variety RB 86-7515 exposed to five irrigation water salinity levels (0.5, 2.0, 3.5, 5.0 and 6.5 dS m⁻¹), an increase in Na⁺ and Ca⁺ concentration was evident, while that of K⁺ decreased (de Lira *et al.*, 2019). Salinity promotes leaf senescence and thus affects nutrient mobilization and crop yield (Barzana *et al.*, 2021).

CONCLUSIONS

As a single factor, salinity negatively affected plant height, indirect chlorophyll index, N and P concentrations in leaves. The variety factor significantly affected plant height but did not change the chlorophyll index.

Nutrient concentrations were affected both by the variety and the interaction between variety and sodium concentration. The Mex 69-290 variety showed more efficient salt stress tolerance mechanisms in relation to Ca⁺ and K⁺ concentrations, and an indirect chlorophyll index better than CP 72-2086.

REFERENCES

- Assaha, D. V. M., A. Ueda, H. Saneoka, R. Al-Yahyai, and M. W. Yaish. 2017. The role of Na⁺ and K⁺ transporters in salt stress adaptation in glycophytes. *Front. Physiol.* 8:509. DOI: 10.3389/fphys.2017.00509.
- Barzana, G., J. J. Rios, A. Lopez-Zaplana, J. Nicolas-Espinosa, L. Yepes-Molina, P. Garcia-Ibañez, and M. Carvajal. 2021. Interrelations of nutrient and water transporters in plants under abiotic stress. *Physiol. Plant.* 171: 595-619. DOI: 10.1111/ppl.13206.
- de Lira, R. M., Ê. F. F. Silva, G. F. da Silva, D. H. S. de Souza, E. M. R. Pedrosa, and L. C. Gordin. 2019. Content, extraction and export of nutrients in sugarcane under salinity and leaching fraction. *Rev. Bras. Eng. Agr. Amb.* 23: 432-438.
- Elsayed, M. T., M. H. Babiker, M. E. Abdelmalik, O. N. Mukhtar, and D. Montange D. 2008. Impact of filter mud

S en ninguna de las variedades evaluadas. El magnesio es un elemento clave involucrado en procesos vitales en las plantas que incluyen, fotosíntesis, catálisis enzimática y síntesis de ácidos nucleicos (Tanoi y Kobayash, 2015). El azufre se relaciona con un papel protector contra el daño oxidativo causado por el estrés salino, ya que la aplicación de sales induce a las enzimas de la vía de asimilación de S que ayudan a neutralizar o rastrear especies reactivas de oxígeno (Fatma *et al.*, 2016).

El bagazo de cachaza tiene un uso extenso como fuente de nutrientes, incluido el cultivo de la caña de azúcar, con impactos positivos bien documentados sobre el crecimiento de las plantas y las propiedades bioquímicas y físicas del suelo (Wongkoon *et al.*, 2014). Por ejemplo, mezclar bagazo de caña con bagazo de cachaza (en proporción 2:1) ayuda a conservar N durante el compostaje y mejora la producción de cultivos (Meunchang *et al.*, 2005). En cultivos de caña de azúcar también se observaron porcentajes de germinación y contenidos de N mayores en el suelo después de la aplicación del bagazo de cachaza (Elsayed *et al.*, 2008). Ya sea en fresco o compostado, el bagazo de cachaza se utiliza en la corrección estructural del suelo para contrarrestar la degradación, ya que previene la formación de costras y grietas, permite ajustar el pH, mejora el drenaje y promueve el crecimiento natural de bacterias simbióticas y otros microorganismos benéficos del suelo (Gonçalves *et al.*, 2018).

La acumulación de Na⁺ en las hojas más viejas y la compartimentación en las vacuolas son parte de un mecanismo de tolerancia a la sal desarrollado por algunas especies de plantas. Las plantas expuestas al estrés salino pueden exhibir una acumulación de Na⁺ mayor, pero una acumulación menor de K⁺ y Ca⁺, mientras que la de Mg²⁺ no varía (Barzana *et al.*, 2021). En la variedad de caña de azúcar RB 86-7515 expuesta a cinco niveles de salinidad en el agua de riego (0.5, 2.0, 3.5, 5.0 y 6.5 dS m⁻¹) se evidenció un aumento en la concentración de Na⁺ y Ca⁺, mientras que la de K⁺ disminuyó (de Lira *et al.*, 2019). La salinidad promueve la senescencia de las hojas y por lo tanto afecta la movilización de nutrientes y el rendimiento de los cultivos (Barzana *et al.*, 2021).

CONCLUSIONES

Como factor único, la salinidad afectó de manera negativa altura de la planta, índice indirecto de cloro-

- applications on the germination of sugarcane and small-seeded plants and on soil and sugarcane nitrogen contents. *Bioresour. Technol.* 99: 4164-4168.
- Fatma, M., A. Masood, T.S. Per, F. Rasheed, and N.A. Khan. 2016. Interplay between nitric oxide and sulfur assimilation in salt tolerance in plants. *Crop J.* 4: 153-161.
- Gomathi, R., and T. V. Thandapani. 2005. Salt stress in relation to nutrient accumulation and quality of sugarcane genotypes. *Sugar Tech* 7: 39-47.
- Gómez, D., L. Hernández, B. Valle, J. Martínez, M. Cid, M. Escalona, M. Hernández, L. Yabor, G. T. S. Beemster, C. C. Tebbe, J. Papenbrock, and J. C. Lorenzo. 2017. Salinity induces specific metabolic changes in sugarcane shoot explants in temporary immersion bioreactors. *J. Appl. Bot. Food Qual.* 90: 354-358.
- Gómez-Merino, F. C., L. I. Trejo-Téllez, J. Salazar-Ortiz, J. A. Pérez-Sato, H. E. Senties-Herrera, J. J. Bello-Bello, and N. Aguilar-Rivera. 2017. Diversification of the sugar agroindustry as a strategy for Mexico. *Agroproductividad* 10: 7-12.
- Gonçalves, J. C., N. C. Vasques, C. N. da Silva, E. A. S. Paccola, E. S. Filho, N. U. Yamaguchi, M. A. Andreazzi, and F. Gasparotto. 2018. Influence of the application of filter cake on soil chemical characteristics. *Chem. Eng. Trans.* 65: 775-780.
- Horie, T., I. Karahara, and M. Katsuhara. 2012. Salinity tolerance mechanisms in glycophytes: An overview with the central focus on rice plants. *Rice* 5(1): 11. DOI: 10.1186/1939-8433-5-11.
- Jangpromma, J., P. Songsri, S. Thammasirak, and P. Jaisil. 2010. Rapid assessment of chlorophyll content in sugarcane using SPAD chlorophyll meter across different water stress conditions. *Asian J. Plant Sci.* 9: 368-374.
- Manishankar, P., N. Wang, P. Köster, A. A. Alatar, and J. Kudla. 2018. Calcium signaling during salt stress and in the regulation of ion homeostasis. *J. Exp. Bot.* 69: 4215-4226.
- Mansoori, M., M. Kayat, and A. Jorphi. 2014. Salinity stress evaluation on nutrient uptake and chlorophyll sugarcane genotypes. *J. Biodivers. Environ. Sci.* 5: 163-172.
- Meunchang, S., S. Panichsakpatana, and R. W. Weaver. 2005. Co-composting of filter cake and bagasse; by-products from a sugar mill. *Bioresour. Technol.* 96: 437-442.
- Sahu, O. 2018. Assessment of sugarcane industry: Suitability for production, consumption, and utilization. *Ann. Agrar. Sci.* 16: 389-395.
- Saxena, P., R.P. Srivastava, and M.L. Sharma. 2010. Studies on salinity stress tolerance in sugarcane varieties. *Sugar Tech* 12: 59-63.
- Schueneman, T. J., J. D. Miller, R. A. Gilbert, and N. L. Harrison. 2008. Sugarcane cultivar CP 72-2086. Descriptive Fact Sheet. University of Florida. IFAS Extension. SSAGR115. 4 p.
- fila y concentraciones de N y P en las hojas. El factor variedad afectó altura de planta de modo significativo, pero no cambió el índice de clorofila.
- Las concentraciones de nutrientes recibieron efecto tanto de la variedad como de la interacción entre variedad y concentración de sodio. La variedad Mex 69-290 mostró mecanismos de tolerancia a la salinidad más eficientes en relación con las concentraciones de Ca^+ y K^+ y un índice indirecto de clorofila mayor que CP 72-2086.
- Fin de la versión en Español—
- *—
- Sebastian, S. P., C. Udayasoorian, R. M. Jayabalakrishnan, and E. Parameswari. 2009. Performance of sugarcane varieties under organic amendments with poor quality irrigation water. *Austr. J. Basic Appl. Sci.* 3: 1674-1684.
- Senties-Herrera, H. E., L. I. Trejo-Téllez, V. H. Volke-Haller, J. Cadena-Íñiguez, P. Sánchez-García, and F. C. Gómez-Merino. 2018. Iodine, silicon, and vanadium differentially affect growth, flowering, and quality components of stalks in sugarcane. *Sugar Tech* 20: 518-533.
- Shirazi, M. U., M. Y. Ashraf, M. A. Khan, and M. Naqvi. 2005. Potassium induced salinity tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 2: 233-236.
- Shomeili, M., M. Nabipour, M. Meskarbashee, and H. R. Memari. 2011. Evaluation of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) somaclonals tolerance to salinity via *in vitro* and *in vivo*. *HAYATI J. Biosci.* 18: 91-96.
- Simões, W. L., M. Calgato, and D. S. Coelho. 2016. Growth of sugarcane varieties under salt stress. *Rev. Ceres* 63: 265-271.
- Tanoi, K., and N. I. Kobayashi. 2015. Leaf senescence by magnesium deficiency. *Plants* 4: 756-772.
- Trejo-Téllez, L. I., F. C. Gómez-Merino, L. Y. Rivera-Olivares, and O. Tejeda-Sartorius. 2014. Cadmium-induced changes in leaf nutrient concentrations in sugarcane. *J. Food Agric. Environ.* 12: 879-885.
- USDA (United States Department of Agriculture). 2019. Mexico. Sugar Annual Production. USDA Foreign Agricultural Service. Global Agricultural Information Network. Washington, D. C. GAIN Report Number: MX9017.
- Willadino, L., R. A. de Oliveira Filho, E. A. da Silva Junior, A. G. Neto, and T. R. Camara. 2011. Salinity stress in two varieties of sugarcane: enzymes of the antioxidant system and chlorophyll fluorescence. *Rev. Cienc. Agron.* 42: 417-422.
- Wongkoon, T., S. Boonlue, and N. Riddech. 2014. Effect of compost made from filter cake and distillery slop on sugarcane growth. *KKU Res. J.* 19: 250-255.

GENETIC VARIABILITY IN *Sechium* spp. (Cucurbitaceae) EVALUATED WITH AFLP MARKERS

VARIABILIDAD GENÉTICA EN *Sechium* spp. (Cucurbitaceae) EVALUADA CON MARCADORES AFLP

María Isabel **Iñiguez-Luna**^{1,7}, Jorge **Cadena-Iñiguez**^{1,7*}, Moisés **Cortés-Cruz**^{1,2,7}, Francisco Javier **Morales-Flores**^{1,7}, Kazuo N. **Watanabe**³, Ryoko **Machida-Hirano**⁴, Ramón Marcos **Soto-Hernández**^{5,7}, Carlos H. **Avendaño-Arrazate**^{2,6}

¹Colegio de Posgraduados, Innovación en Manejo de Recursos Naturales, Campus San Luis Potosí, México. * Autor para correspondencia: (jocadena@gmail.com). ²Centro Nacional de Recursos Genéticos-INIFAP, Tepatitlán de Morelos Jalisco, Mexico. ³Tsukuba Plant Innovation Research Center, University of Tsukuba, Tsukuba, 1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki Prefecture, 305-8571, Japan. ⁴Genetic Resources Center, National Agriculture and Food Research Organization, 2-1-2 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8602, Japan. ⁵Programa de Botánica Colegio de Postgraduados, Texcoco, México. ⁶Campo Agrícola Experimental Rosario Izapa-INIFAP, Tuxtla Chico, Chiapas, México. ⁷Interdisciplinary Research Group at *Sechium edule* in México, A.C., Texcoco, México. †Fallecido / Deceased (2021).

ABSTRACT

There are few studies in Mexico aimed at evaluating the genetic variability of *Sechium* spp. Despite certain biological variants are reported with very high potential to develop antineoplastic supplements to treat public health conditions. Using the Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) technique, the genetic variability of a sample of 95 accessions of three species of *Sechium* (*S. edule*, *S. chinantlense*, *S. compositum*) was evaluated, with leaf DNA from the Banco Nacional de Germoplasma de *Sechium edule* in Mexico. Four combinations of AFPL were applied (EcoRI + ACC/MseI + CAC, EcoRI + ACC/MseI + CAT, EcoRI + ACC/MseI + CGC, and EcoRI + ACC/MseI + CGG). DNA samples were classified into three groups based on the flavour of the fruit (sweet, neutral, bitter). An average of 47.91% polymorphism, 0.16 heterozygosity, 32.83 number of polymorphic bands, and a zero Wright fixation index (F_{st}) was obtained. The evidence showed that the domesticated accessions (sweet, neutral) were separated from the bitter-taste genotypes. A monophyletic tree was generated with the genetic distance matrix and the neighbour-joining methodology. Analyses showed *S. edule* as the root taxon, deriving *S. compositum* and *S. chinantlense* as subgroups, and suggesting that there is not enough differentiation to treat them as separate species. The evaluated

RESUMEN

En México existen pocos estudios dirigidos a la evaluación de la variabilidad genética de *Sechium* spp. A pesar de que existen reportes de ciertas variantes biológicas con potencial muy alto para desarrollar suplementos antineoplásicos para el tratamiento de enfermedades de salud pública. Por medio del análisis de polimorfismo de fragmentos con longitud amplificada (AFLP, Amplified fragment length polymorphism) se evaluó la variabilidad genética de una muestra de 95 accesiones de tres especies de *Sechium* (*S. edule*, *S. chinantlense*, *S. compositum*), a partir de ADN foliar del Banco Nacional de Germoplasma de *Sechium edule* en México. Cuatro combinaciones de AFPL se aplicaron (EcoRI + ACC/MseI + CAC, EcoRI + ACC/MseI + CAT, EcoRI + ACC/MseI + CGC y EcoRI + ACC/MseI + CGG). Las muestras de ADN se clasificaron en tres grupos según el sabor del fruto (dulce, neutro, amargo). Para polimorfismo se obtuvo un promedio de 47.91%, 0.16 para heterocigosidad, y 32.83 como número de bandas polimórficas; además de un índice de fijación de Wright (F_{st}) de cero. La evidencia mostró que las accesiones domesticadas (dulce, neutra) se separaron de los genotipos de sabor amargo. El árbol monofilético se generó con la matriz de distancia genética y el método de unión de vecinos. El análisis mostró a *S. edule* como el taxón raíz y derivó a *S. compositum* y *S. chinantlense* como subgrupos, y sugirió que no hay diferenciación suficiente para tratarlos como especies separadas. La muestra evaluada probó que no existe una barrera reproductiva aparente para el cruzamiento genético. Los genotipos se comportaron como un complejo con dinamismo evolutivo; esa complejidad genética permitiría el diseño de nuevas variantes.

* Author for correspondence ♦ Autor para correspondencia.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6427-0646>

Received: November, 2020. Approved: October, 2021.

Published in *Agrociencia* 55: 611-626. 2021.

sample showed that there is no apparent reproductive barrier for genetic cross breeding. Genotypes behaved as a complex with evolutive dynamism; that genetic complexity would allow the design of new variants.

Key words: chayote; *Sechium* spp., domestication; diversity; genotype

INTRODUCTION

In contrast to other cultivated species, there is no archaeological evidence nor relics that help to specify the origin of *Sechium* spp. (Cucurbitaceae) and their ancient management. The fleshy fruit and the soft head of the seed do not allow conservation (Lira-Saade *et al.*, 1999). The best evidence of their origin is the existence of wild *Sechium* spp. fruit-varieties in the central and southern region of Mexico and Central America. Older studies did not show evidence of the existence of an ancestor of the current wild relatives (Lira-Saade and Chiang, 1992). Nowadays, ten species are accepted in the *Sechium* genus: eight wild ones and two cultivated ones (*S. tacaco* and *S. edule*) with distribution from Mexico to Panama (Lira-Saade *et al.*, 1999).

In Mexico, a broad morphological variation in the genus has been reported in the states of Chiapas, Oaxaca and Veracruz, along with the presence of *S. hintonii*, *S. chinantlense*, *S. compositum* and *S. edule*. Only the last one is used as food (Cadena-Íñiguez *et al.*, 2011). Lira-Saade *et al.* (1999) proposed a taxonomic classification of *S. edule*, suggesting *Sechium edule edule* and *Sechium edule silvestre* as subspecies. The considerations on which those authors based this separation were the morphological and chromosomal differences found through the identification of karyotypes. Later, Cadena-Íñiguez *et al.* (2011; 2013) described 12 varietal groups of *S. edule*, through morpho-structural, biochemical and genetic characterization allowing identification, conservation, and systematic research.

Some secondary traits were highlighted as stable and hereditary. Nevertheless, there are other traits that respond to environmental factors, generating epigenetic expressions, and modifying the phenotype without altering the genome (Cruz-Requena *et al.*, 2013). The same pattern can be explained by different population histories. Molecular tools should be used in order to trace the lines along which information

Palabras clave: chayote; *Sechium* spp., domesticación; diversidad; genotipo

INTRODUCCIÓN

A diferencia de otras especies cultivadas, no existen evidencias arqueológicas ni relictos que ayuden a precisar el origen de *Sechium* spp. (Cucurbitaceae) y su manejo ancestral. El fruto carnoso y la testa blanda de la semilla no permiten la conservación (Lira-Saade *et al.*, 1999). La mejor evidencia de su origen es la existencia de una variedad de frutos silvestres de *Sechium* spp. en la región central y sur de México y Centroamérica. Estudios antiguos no mostraron evidencia de la existencia de un antepasado de las líneas parentales silvestres actuales (Lira-Saade y Chiang, 1992). En la actualidad se aceptan diez especies del género *Sechium*: ocho silvestres y dos cultivadas (*S. tacaco* y *S. edule*) con distribución desde México hasta Panamá (Lira-Saade *et al.*, 1999).

En México se ha documentado una amplia variación morfológica del género en los estados de Chiapas, Oaxaca y Veracruz; así como la presencia de *S. hintonii*, *S. chinantlense*, *S. compositum* y *S. edule*. Solo el último se utiliza como alimento (Cadena-Íñiguez *et al.*, 2008). Lira-Saade *et al.* (1999) propuso una clasificación taxonómica de *S. edule*, y sugirió a *Sechium edule edule* y *Sechium edule silvestre* como subspecies. Las consideraciones en las cuales esos autores basaron la separación fueron las diferencias morfológicas y cromosómicas encontradas a través de la identificación de cariotipos. Después, Cadena-Íñiguez *et al.* (2011; 2013) describieron 12 grupos varietales de *S. edule* por medio de una caracterización morfoestructural, bioquímica y genética que facilitó la investigación para identificación, conservación y sistemática.

Algunos rasgos secundarios se destacaron como estables y hereditarios. No obstante, existen otros que responden a factores ambientales y generan expresiones epigenéticas que modifican el fenotipo sin alterar el genoma (Cruz-Requena *et al.*, 2013). El mismo patrón puede explicarse por las diferentes historias de las poblaciones. Algunas herramientas moleculares se pueden utilizar para trazar las líneas a lo largo de las cuales se puede obtener información con un número ilimitado de marcadores. Esto permite identificar diferencias genéticas entre individuos o especies, al actuar como señales asociadas con los genes que

can be obtained with an unlimited number of markers. This allows to identify genetic differences between individuals or species, acting as signals associated with genes which control the characteristic of interest (Idrees and Irshad, 2014).

The development of techniques that use DNA has generated unique genetic profiles for each organism, determined by dominant or codominant aspects (Emanuelli *et al.*, 2013). It should be highlighted that these molecular tools are reliable and sensitive as they are not influenced by the environment. Additionally, these techniques do not depend on the physiological state of the individual, allowing phylogenetic evaluations of diversity and organization of the genome (Ben-Ayed *et al.*, 2013; Sabir *et al.*, 2014). Amplified fragment length polymorphism (AFLP) is a reproducible technique which generates numerous polymorphic fragments in such a way that no prior sequence information is required to obtain the DNA sequence from the material of interest (Vekemans *et al.*, 2002).

There are few studies directed at the research of the genetic diversity of *Sechium* spp. (P. Browne) accessions in Mexico, and the number of studies done with the support of molecular markers is even smaller (Machida-Hirano *et al.*, 2015; Barrera-Guzmán *et al.*, 2021). Therefore, it is relevant to start identifying the genetic variability of a sample from the biological collection of *Sechium* spp., and to describe the dynamism of genetic differentiation which would lead to new approaches for use and conservation. On the basis of previous research regarding three *Sechium* species, morphological characters show some intra-species variation (Cadena-Íñiguez *et al.*, 2013); one species with noticeable characteristics attributed to domestication and environmental adaptation, while the other two are wild. Thus, the objective was to study the genetic variability of three *Sechium* species through AFLP in order to identify genetic affinities which may ease the selection of genotypes for genetic improvement.

MATERIALS AND METHODS

The biological material was obtained from the Banco Nacional de Germoplasma de *Sechium edule* (BANGESe) at Huatusco, Veracruz, Mexico (19° 08' 48" N; 97° 57' 00" W). There, 95 accessions were collected and classified based on contrasting characteristics (Figure 1), such as colour of the

controlan la característica de interés (Idrees e Irshad, 2014).

El desarrollo de técnicas que utilizan al ADN ha generado perfiles genéticos únicos para cada organismo, determinados por aspectos dominantes o codominantes (Emanuelli *et al.*, 2013). Cabe destacar que estas herramientas moleculares son confiables y sensibles; ya que el ambiente no influye sobre ellas. Además, estas técnicas no dependen del estado fisiológico del individuo, lo cual permite evaluaciones filogenéticas de la diversidad y organización del genoma (Ben-Ayed *et al.*, 2013; Sabir *et al.*, 2014). El polimorfismo de fragmentos con longitud amplificada (AFLP) es una técnica repetible que genera fragmentos polimórficos numerosos de tal manera que no se requiere información de secuencia previa para obtener la secuencia de ADN del material de interés (Vekemans *et al.*, 2002).

Aún existen pocos estudios dirigidos a la investigación de la diversidad genética de accesiones de *Sechium* spp. (P. Browne) en México y el número de estudios realizados con el apoyo de marcadores moleculares es aún menor (Machida-Hirano *et al.*, 2015; Barrera-Guzmán *et al.*, 2021). Por tanto, es relevante identificar la variabilidad genética de una muestra de la colección biológica de *Sechium* spp., y describir el dinamismo de la diferenciación genética que conduzca a nuevos enfoques de uso y conservación. Sobre la base de investigaciones previas acerca de tres especies de *Sechium*, los caracteres morfológicos muestran alguna variación intra específica (Cadena-Íñiguez *et al.*, 2013); una especie con características notables atribuidas a la domesticación y adaptación ambiental, mientras que las otras dos son silvestres. Así, el objetivo fue estudiar la variabilidad genética de tres especies de *Sechium* por medio de AFLP para identificar afinidades genéticas que faciliten la selección de genotipos para mejora genética.

MATERIALES Y MÉTODOS

El material biológico fue recuperado del Banco Nacional de Germoplasma de *Sechium edule* (BANGESe) en Huatusco, Veracruz, México (19° 08' 48" N; 97° 57' 00" O). Allí, 95 accesiones se recolectaron y clasificaron con base en características contrastantes (Figura 1), como color de fruto (amarillo, verde claro y verde oscuro), sabor de fruto (dulce, neutro y amargo) y nivel de domesticación (silvestre, domesticado y semi domesticado) (Cuadro 1).

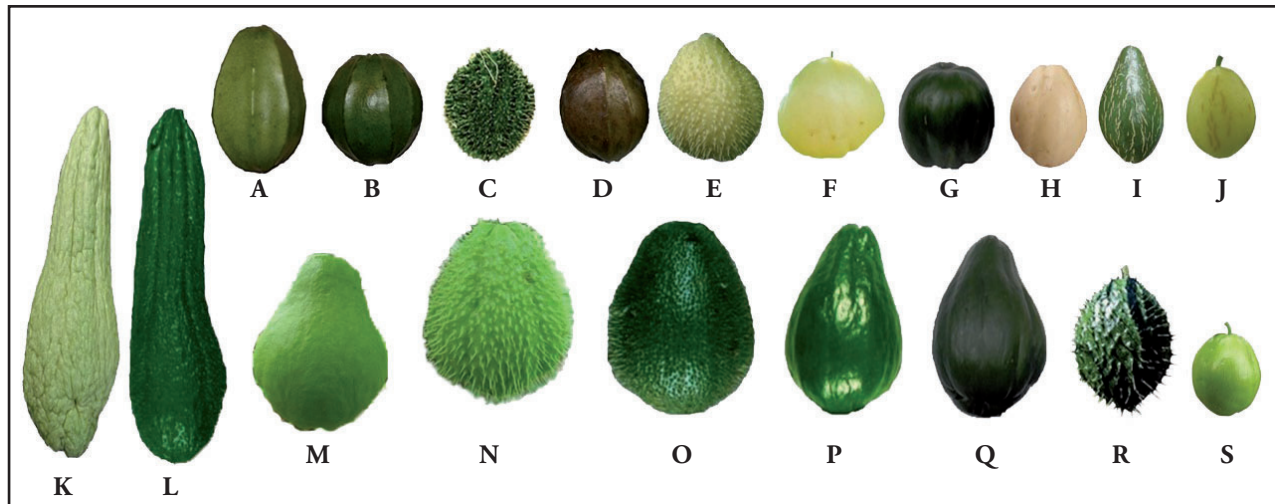


Figure 1. Representative phenotypes of the fruits of genotypes of *Sechium* spp., (A) *Sechium compositum* “Mal Paso” type; (B) *S. compositum* “Talismán” type; (C) *S. edule* wild type; (D) *S. chinantlense*; (E) *S. edule albus spinosum*; (F) *S. edule albus levis*; (G) *S. edule nigrum levis*; (H) *S. edule albus dulcis*; (I) *S. edule nigrum conus*; (J) *S. edule albus minor*; (K, L) *S. edule nigrum maxima*; (M) *S. edule virens levis*; (N, O) *S. edule nigrum spinosum*; (P, Q) *S. edule nigrum xalapensis*; (R) *S. edule amarus sylvestris*; and (S) *S. edule nigrum minor*.

Figura 1. Fenotipos representativos de frutos de los genotipos de *Sechium* spp., (A) *Sechium compositum* tipo “Mal Paso”; (B) *S. compositum* tipo “Talismán”; (C) *S. edule* de tipo silvestre; (D) *S. chinantlense*; (E) *S. edule albus spinosum*; (F) *S. edule albus levis*; (G) *S. edule nigrum levis*; (H) *S. edule albus dulcis*; (I) *S. edule nigrum conus*; (J) *S. edule albus minor*; (K, L) *S. edule nigrum maxima*; (M) *S. edule virens levis*; (N, O) *S. edule nigrum spinosum*; (P, Q) *S. edule nigrum xalapensis*; (R) *S. edule amarus sylvestris*; y (S) *S. edule nigrum minor*.

fruit (yellow, light green and dark green), flavour of the fruit (sweet, neutral, and bitter), and level of domestication (wild, domesticated, and semi-domesticated) (Table 1).

Extraction and evaluation of DNA with AFLP markers

The DNA was obtained from young and healthy leaves conserved at -80°C and freeze-dried in Labconco Freezone 12 (-82°C , 3.58 Pa; Kansas, USA) equipment, then ground in a pellet homogenizer Tissue Lyser II (QUIAGEN) for 90s at 30Hz. The DNA was extracted by the CTAB (Cetyl-Trimethylammonium Bromide) method, according to the protocol of Saghai-Marooof (Meléndez-Ackerman *et al.*, 2005), using 50 mg of dry material ground per accession. The DNA concentration was determined by spectrophotometry with the Nanodrop 2000 (Thermo Scientific, USA) equipment. The quality and integrity of the DNA was evaluated through the electrophoresis of 100 ng of DNA in an agarose gel (1%) at 80 V for 45 min. The AFLP reactions were conformed to the method originally proposed by Vos (Meléndez-Ackerman *et al.*, 2005). The DNA (500 ng) material was prepared by double digestion with the enzymes EcoRI, and MseI ($10\text{ U }\mu\text{g}^{-1}$, and $2.5\text{ U }\mu\text{g}^{-1}$) at 37°C for 4h.

Extracción y evaluación de ADN con marcadores AFLP

El ADN se obtuvo de hojas jóvenes y sanas conservadas a -80°C y liofilizadas en un equipo Labconco Freezone 12 (-82°C , 3.58 Pa; Kansas, EE. UU.). Luego trituradas en un homogeneizador de pellets Tissue Lyser II (QUIAGEN) durante 90s a 30Hz. El ADN se extrajo por el método CTAB (bromuro de cetil-trimetilamonio), según el protocolo de Saghai-Marooof (Meléndez-Ackerman *et al.*, 2005), con 50 mg de material seco triturado por accesión. La concentración de ADN se determinó por medio de espectrofotometría con el equipo Nanodrop 2000 (Thermo Scientific, EE. UU.). La calidad e integridad del ADN se evaluó a través de electroforesis de 100 ng de ADN en gel de agarosa (1%) a 80V durante 45 min. Las reacciones de AFLP se conformaron según el método original propuesto por Vos (Meléndez-Ackerman *et al.*, 2005). El material de ADN (500 ng) se preparó por digestión doble con las enzimas EcoRI y MseI ($10\text{ U }\mu\text{g}^{-1}$ y $2.5\text{ U }\mu\text{g}^{-1}$) a 37°C durante 4h.

Una vez evaluados los fragmentos de restricción por medio de electroforesis en agarosa al 0.8% a 80V durante 70 min; la ligación se realizó con la adición de 10 μL de una mezcla de adaptadores a 5 mg kg^{-1} a la enzima ADN T4-ligasa en una concentración final de 1U para unir los extremos cohesivos. Para la

Table 1. Classification traits of the *Sechium* spp. accessions obtained from the Banco Nacional de Germoplasma de *Sechium edule* (BANGeSe), Huatusco, Veracruz; Mexico.**Cuadro 1. Rasgos de clasificación de las accesiones de *Sechium* spp. recuperadas del Banco Nacional de Germoplasma de *Sechium edule* (BANGeSe), Huatusco, Veracruz; México.**

Genotype	Accession	Colour / flavour	Status	Genotype	Accession	Colour / flavour	Status
<i>albus levis</i>	761.49	Y/S	semi-domesticated	<i>albus levis</i>	764.44	Y/S	semi-domesticated
<i>albus spinosum</i>	805.1	Y/S	semi-domesticated	<i>virens levis</i>	911.7	G/N	domesticated
<i>virens levis</i>	804.34	G/N	domesticated	<i>albus dulcis</i>	912.11	Y/S	semi-domesticated
<i>albus levis</i>	369.35	Y/S	semi-domesticated	<i>nigrum xalapensis</i>	646.13	G/N	domesticated
<i>albus dulcis</i>	286.3	Y/S	semi-domesticated	<i>virens levis</i>	610.86	G/N	domesticated
<i>nigrum spinosum</i>	803.36	G/N	domesticated	<i>albus minor</i>	330.58	Y/S	semi-domesticated
<i>virens levis</i>	273.4	G/N	domesticated	<i>virens levis</i>	913.15	G/N	domesticated
<i>nigrum minor</i>	698.37	G/N	domesticated	<i>albus levis</i>	719.51	Y/S	semi-domesticated
<i>nigrum xalapensis</i>	530.5	G/N	domesticated	<i>albus levis</i>	719.52	Y/S	semi-domesticated
Hybrid (<i>albus minor</i> /perla negra)	709.67	DG/B	wild	<i>nigrum spinosum</i>	766.53	G/N	domesticated
<i>albus levis</i>	346.40	Y/S	semi-domesticated	<i>virens levis</i>	676.16	G/N	domesticated
<i>nigrum spinosum</i>	411.41	G/N	domesticated	<i>albus dulcis</i>	914.17	Y/S	semi-domesticated
<i>nigrum spinosum</i>	412.42	G/N	domesticated	<i>nigrum spinosum</i>	735.54	G/N	domesticated
<i>virens levis</i>	765.6	G/N	domesticated	<i>albus dulcis</i>	915.20	Y/S	semi-domesticated
<i>albus levis</i>	761.22	Y/S	semi-domesticated	HD Victor-1	644.55	DG/B	wild
<i>albus dulcis</i>	286.3	Y/S	semi-domesticated	<i>virens levis</i>	916.23	G/N	domesticated
<i>virens levis</i>	361.9	Y/N	domesticated	<i>albus levis</i>	719.56	Y/S	semi-domesticated
<i>S.chinantlense</i>	747.61	DG/B	wild	<i>nigrum xalapensis</i>	628.24	G/N	domesticated
<i>virens levis</i>	726.10	G/N	domesticated	<i>nigrum xalapensis</i>	628.25	G/N	domesticated
<i>albus minor</i>	709.45	Y/S	semi-domesticated	<i>nigrum levis</i>	700.27	G/N	domesticated
Hybrid (<i>chinantlense</i>)	387.66	DG/B	wild	<i>albus minor</i>	330.50	Y/S	semi-domesticated
<i>nigrum levis</i>	263.12	G/N	domesticated	<i>nigrum xalapensis</i>	530.28	G/N	domesticated
<i>nigrum maxima</i>	745.46	G/N	domesticated	<i>albus dulcis</i>	917.29	Y/S	semi-domesticated
<i>virens levis</i>	360.14	G/N	domesticated	<i>nigrum spinosum</i>	746.59	G/N	domesticated
<i>albus levis</i>	761.33	Y/S	semi-domesticated	<i>nigrum xalapensis</i>	747.71	G/N	domesticated
<i>albus levis</i>	761.43	Y/S	semi-domesticated	<i>albus dulcis</i>	918.31	Y/S	semi-domesticated
<i>virens levis</i>	504.18	G/N	domesticated	<i>nigrum xalapensis</i>	630.63	G/N	domesticated
<i>virens levis</i>	508.19	G/N	domesticated	<i>albus dulcis</i>	608.32	Y/S	semi-domesticated
<i>nigrum xalapensis</i>	750.21	G/N	domesticated	<i>nigrum spinosum</i>	651.64	G/N	domesticated
<i>albus levis</i>	761.48	Y/S	semi-domesticated	Hybrid (HDVictor)	643.65	DG/B	wild
<i>nigrum xalapensis</i>	529.26	G/N	domesticated	Hybrid (<i>S. chinantlense</i>)	387.88	DG/B	wild
<i>virens levis</i>	516.30	G/N	domesticated	<i>S. edule</i>	652.68	DG/B	wild
<i>virens levis</i>	612.2	G/N	domesticated	<i>S. chinantlense</i>	636	DG/B	wild
<i>albus dulcis</i>	768.38	Y/S	semi-domesticated	<i>S. edule</i>	652.70	DG/B	wild
<i>nigrum spinosum</i>	802.39	G/N	domesticated	<i>S. edule</i>	659-91	DG/B	wild
Hybrid	634.75	DG/B	wild	<i>S. edule</i>	661	DG/B	wild
<i>S. compositum</i>	20.76	DG/B	wild	<i>Nigrum spinosum</i>	658.57	G/N	domesticated
Hybrid (<i>S. chinantlense</i>)	387.72	DG/B	wild	<i>S. edule</i>	652.90	DG/B	wild
Hybrid (HDVictor 6)	649.78	DG/B	wild	<i>S. edule</i>	659-e	DG/B	wild
<i>S. edule</i> wild type	12.79	DG/B	wild	<i>nigrum spinosum</i>	657.60	G/N	domesticated
<i>S. edule</i> wild type	653.80	DG/B	wild	Hybrid (HDVictor 5)	648.92	DG/B	wild
<i>S. edule</i> Wild	659.73	DG/B	wild	<i>S. edule</i>	653.93	DG/B	wild
<i>S. compositum</i>	20.76	DG/B	wild	<i>nigrum spinosum</i>	658.62	G/N	domesticated
Hybrid (<i>n. spinosum</i> × <i>S. compositum</i>)	634.82	DG/B	wild	<i>S. compositum</i>	6.94	DG/B	wild
<i>S. edule</i> wild type	653.83	DG/B	wild	Perla negra	631	DG/B	wild
<i>S. edule</i> wild type	653.84	DG/B	wild	Hybrid (<i>S. chinantlense</i>)	387.77	DG/B	wild
<i>S. edule</i> wild type	659.85	DG/B	wild	<i>S. compositum</i>	921.89	G/B	wild
<i>virens levis</i>	610.47	G/N	domesticated	Hybrid (<i>n. spinosum</i> × <i>S. compositum</i>)	635.87	DG/B	wild

Y: yellow; G: green; DG: dark green; S: sweet; N: neutral; B: bitter. ♦ Y, amarillo; G, verde; DG, verde oscuro; S, dulce; N, neutro; B, amargo.

Once the restriction fragments were evaluated through electrophoresis in agarose at 0.8% at 80V for 70 min; the ligation was performed by adding 10 μ L of a mixture of adapters at 5 mg kg^{-1} to T4 DNA ligase enzyme at a final concentration of 1U for uniting the cohesive ends. For the pre-amplification, 4 μ L of the ligation product were mixed with 21 μ L of the primer mixture MseI+EcoRI with a final concentration of 5 μ M and 10.5 μ L of SIGMA REDTaq® ReadyMix™ PCR Reaction Mix, and the volume was adjusted to 25 μ L with type I water. The thermocycler was programmed at 94 °C for 30s, 56 °C for 60s, and 72 °C for 60s, during 25 cycles.

The result from this PCR was corroborated in agarose gel at 0.8% for 60 min at 80V, and later a dilution of the pre-amplification reaction was made with 80 μ L of type I water. For the selective amplification, 3.0 μ L of the pre-amplification dilution were taken; 3 μ M Eco RI + ACC marked with FAM, 5 μ M Mse I + CAC, and 1x SIGMA REDTaq® ReadyMix™ PCR Reaction Mix were added for a final volume of 10 μ L. The combinations EcoRI+ACC/MseI+CAC; Eco RI+ACC/MseI+CAT; EcoRI+ACC/MseI+CGC; EcoRI+ACC/MseI+CGG were tested under the same conditions.

The thermocycler was programmed at 95 °C for 5 min followed by 35 cycles (95 °C for 40s, 54 °C for 40s, and 72 °C for 90s), and then there was final elongation at 72 °C for 10 min. The product of the amplification was observed by polyacrylamide gel electrophoresis at 6%, at 200V for 3h; the gels were stained with silver nitrate, then a 1:10 dilution with formamide was made for the PCR-selective products, which were evaluated in a capillary sequencer, 3500 XL Genetic Analyzer (Thermo Scientific, USA), at the predetermined conditions for the fragment analysis (Instrument Protocol: FragmentAnalysis50_POP7xl_2; Size-calling Protocol: Fragment_Analysis_PA_Protocol).

For the principal coordinates analysis (PCoA), percentage of polymorphism per band, and percentage of variation explained, an analysis was performed with the software AFLP-SURV v.1.0 (Vekemans *et al.*, 2002). To generate the tree, it was analysed with MEGA v.7 (Kumar *et al.*, 2016) by means of the neighbour-joining analysis and the absence-presence matrix of distances calculated with the Nei-Lynch formula. With the Structure v.2.3.4 software (Pritchard *et al.*, 2000) a Bayesian analysis was performed based on the Markov Chain Monte Carlo (MCMC) algorithm, in order to assign individuals to populations based on their genotypes. Simultaneously estimating the frequency of alleles of the populations studied and identifying the structure of the populations by explaining the presence of Hardy-Weinberg or linkage disequilibrium (Hausdorf and Hennig, 2010). The

pre amplificación se mezclaron 4 μ L del producto de ligación con 21 μ L de la mezcla de iniciadores MseI + EcoRI con una concentración final de 5 μ M y 10.5 μ L de la mezcla para reacción de PCR SIGMA REDTaq® ReadyMix™, y el volumen se ajustó a 25 μ L con agua tipo I. El termociclador se programó a 94 °C durante 30s, 56 °C durante 60s y 72 °C durante 60s, durante 25 ciclos.

El resultado de esta PCR se corroboró en gel de agarosa al 0.8% durante 60 min a 80V, y después se realizó una dilución de la reacción de pre amplificación con 80 μ L de agua tipo I. Para la amplificación selectiva se tomaron 3.0 μ L de la dilución de pre amplificación; y se añadieron 3 μ M de EcoRI + ACC marcado con FAM, 5 μ M de MseI + CAC y 1x SIGMA REDTaq® ReadyMix™ PCR Reaction Mix para un volumen final de 10 μ L. Las combinaciones EcoRI+ACC/MseI+CAC; EcoRI+ACC/MseI+CAT; EcoRI+ACC/MseI+CGC; EcoRI+ACC/MseI+CGG se probaron en las mismas condiciones.

El termociclador se programó a 95 °C durante 5 min seguido de 35 ciclos (95 °C durante 40s, 54 °C durante 40s y 72 °C durante 90s), y luego hubo un alargamiento final a 72 °C durante 10 min. El producto de la amplificación se observó por electroforesis en gel de poliacrilamida al 6%, a 200V durante 3h; los geles se tiñeron con nitrato de plata, luego se realizó una dilución 1:10 con formamida para los productos selectivos de PCR, los cuales se evaluaron en un secuenciador capilar, 3500 XL Genetic Analyzer (Thermo Scientific, USA), en las condiciones predeterminadas para el análisis de fragmentos (Protocolo del instrumento: FragmentAnalysis50_POP7xl_2; Protocolo de recuperación por tamaño de fragmento: Fragment_Analysis_PA_Protocol).

Para el análisis de coordenadas principales (PCoA), porcentaje de polimorfismo por banda y porcentaje de variación explicada se realizó un análisis con el software AFLP-SURV v.1.0 (Vekemans *et al.*, 2002). Para generar el árbol se analizó con MEGA v.7 (Kumar *et al.*, 2016) por el método de unión de vecinos y la matriz de distancias por ausencia-presencia calculada con la fórmula de Nei-Lynch. Con el programa Structure v.2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2000) se realizó un análisis Bayesiano basado en el algoritmo Monte Carlo por cadenas de Markov (MCMC), con el fin de asignar individuos a poblaciones en función de sus genotipos. Además de estimar de manera simultánea la frecuencia de alelos de las poblaciones estudiadas e identificar la estructura de las poblaciones al explicar la presencia de equilibrio Hardy-Weinberg o desequilibrio por ligamiento (Hausdorf and Hennig, 2010). La evaluación se realizó con 277 loci de alelos con un pre análisis de 10 000 repeticiones y con 100 000 repeticiones de MCMC como análisis final.

evaluation was done with 277 allele loci with a pre-analysis of 10 000 repetitions, and with 100 000 MCMC repetitions as final analysis.

RESULTS AND DISCUSSION

The four combinations selected showed good informative quality when amplified between 48-108 bands. The EcoRI+ACC/MseI+CGA combination showed the lowest number of polymorphic bands for the three groups, while EcoRI + ACC/MseI + CGG was the combination with the highest number of bands, generating a total of 277 polymorphic bands for 95 amplified samples. Percentage of polymorphism expected heterozygosity (He), and number of polymorphic bands obtained with AFLP-SURV v.1.0 per group and combination of AFLP markers were recorded (Table 2). Out of the three groups evaluated, the third which included the wild types of *S. edule*, *S. chinantlense* and *S. compositum* of bitter taste, presented the highest indexes for the three traits, indicating that they are the populations with the greatest genetic variation, although not expressed morphologically.

Group 1, including those fruits (*chayotes*) of sweet flavour, yellow colour and without spines, was the most differentiated morphologically. However, they showed the lowest levels of heterozygosity (0.1502), suggesting that phenotypical differences are products of environmental adaptation (Cadena-Íñiguez *et al.*, 2011). Similar values of heterozygosity were obtained for group 2 (0.1542), including *chayotes* of green colour, neutral flavour, with and without spines, where the genotypes of highest preference

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las cuatro combinaciones seleccionadas mostraron una calidad informativa buena cuando se amplificaron entre 48-108 bandas. La combinación EcoRI+ACC/MseI+CGA mostró el número menor de bandas polimórficas para los tres grupos, mientras que EcoRI+ACC/MseI+CGG fue la combinación con mayor número de bandas que generó un total de 277 bandas polimórficas para 95 muestras amplificadas. El porcentaje de polimorfismo, heterocigosidad esperada (He) y número de bandas polimórficas obtenidas con AFLP-SURV v.1.0, se registraron por grupo y combinación de marcadores AFLP (Cuadro 2). De los tres grupos evaluados, el tercero que incluyó los tipos silvestres de *S. edule*, *S. chinantlense* y *S. compositum* de sabor amargo, presentó los índices más altos en los tres rasgos, lo cual indicó que se trata de las poblaciones con variación genética mayor, aunque no se exprese morfológicamente.

El grupo 1, compuesto por chayotes de sabor dulce, color amarillo y sin espinas, fue el más diferenciado morfológicamente. Sin embargo, mostraron los niveles más bajos de heterocigosidad (0.1502), lo cual sugiere que las diferencias fenotípicas son producto de adaptación ambiental (Cadena-Íñiguez *et al.*, 2011). Valores similares de heterocigosidad se obtuvieron para el grupo 2 (0.1542), conformado por chayotes de color verde, sabor neutro, con y sin espinas, en el cual se ubicaron los genotipos con preferencia mayor por parte de los consumidores. Algunos estudios señalaron que las variedades domesticadas pueden mostrar una diferenciación genética mayor respecto al ancestro silvestre debido a la domestica-

Table 2. Values of traits of *Sechium* spp. determined in AFLP-SURV v.1.0.
Cuadro 2. Valores de rasgos de *Sechium* spp. determinados en AFLP-SURV v.1.0.

EcoRI+(AFLP) combination Population [†]	Polymorphism (%)			Expected heterozygosity (He)			Polymorphic bands (Number)		
	1	2	3	1	2	3	1*	2*	3*
MseI + CAC	43.10	47.80	56.20	0.154	0.160	0.180	25	28	32
MseI + CAT	52.10	54.20	66.70	0.193	0.175	0.213	25	26	32
MseI + CGA	25.40	36.50	47.60	0.080	0.104	0.124	16	23	30
MseI + CGG	43.50	46.30	55.60	0.174	0.178	0.197	47	50	60
Average	41.03	46.20	56.53	0.150	0.154	0.179	28.25	31.75	38.5

[†]Each population number corresponds to a classified group of chayote: 1= sweet flavour; 2= neutral flavour; 3= bitter flavour. ♦ [†]Cada población corresponde a un grupo de chayote clasificado: 1 = sabor dulce; 2 = sabor neutro; 3 = sabor amargo.

from consumers were located. Some studies pointed out that the domesticated varieties can show a higher genetic differentiation in regard to the wild ancestor because of domestication, although on the whole they appear less diverse (Gaut *et al.*, 2015; Moyers *et al.*, 2018).

The average of the polymorphic bands was 32.83, out of a total of 68.5 amplified bands, from which 47.92% were informative. This is considered as a good approach to describe the genetic variation of the sample and the trend of the genotypes to differentiate (Moyers *et al.*, 2018). The EcoRI+ACC/MseI+CGG combination presented the highest polymorphism per locus and the highest number of bands. Whilst the EcoRI + ACC/MseI + CAT combination recorded the highest values of heterozygosity for the three groups.

The statistical values of F_{st} or Wright fixation index, which estimate the genetic difference between populations, ranged between 0 and 0.1123, suggesting low genetic differentiation between accessions based on the island model (Vekemans *et al.*, 2002). According to that model, populations present a continuous or discrete distribution, and the isolation because of distance negatively influences the genetic flow. For this study, a balance between genetic drift and genetic flow was suggested, given that the F_{st} values were close to zero (Van Strien *et al.*, 2015). The total genetic diversity (Ht) was 0.1725 for the EcoRI + ACC/MseI + CAC combination, 0.1947 for EcoRI + ACC/MseI + CAT, 0.1029 for EcoRI + ACC/MseI + CGA, and 0.1897 for the EcoRI + ACC/MseI + CGG combination. The distribution of principal coordinates and the rotation of the axes depicting the accessions within each cluster show associations and disassociations among them (Figure 2).

The molecular and variance analyses showed that the variation identified among accessions by dominant markers explained 45.12% in the first axis, 21.47% in the second, and 11.69% in the third, that accounts for a total variance of 78.28%. Jain *et al.* (2017) reported 66.6% of genetic polymorphism in 36 accessions of *S. edule* in India. Although the biological variants evaluated were not specified, important traits in the fruit were highlighted, such as colour, size, and spines. The differences in this sample enrich the premise of genetic dynamism of *S. edule*, considering the reproductive isolation and different life history within the sample used for this study.

ción, aunque en general aparenten ser menos diversas (Gaut *et al.*, 2015; Moyers *et al.*, 2018).

El promedio de las bandas polimórficas fue 32.83, de un total de 68.5 bandas amplificadas, de las cuales 47.92% fueron informativas. Esto se considera como un enfoque bueno para describir la variación genética de la muestra y la tendencia de los genotipos a diferenciarse (Moyers *et al.*, 2018). La combinación EcoRI+ACC/MseI+CGG presentó el polimorfismo por locus mayor y el número de bandas mayor. En tanto que la combinación EcoRI+ACC/MseI+CAT registró los valores más altos de heterocigosidad para los tres grupos.

Los valores estadísticos de F_{st} o índice de fijación de Wright que estiman la diferencia genética entre poblaciones variaron entre 0 y 0.1123, lo cual sugiere una diferenciación genética baja entre accesiones con base en el modelo de isla (Vekemans *et al.*, 2002). De acuerdo con ese modelo, las poblaciones presentan una distribución continua o discreta, y el aislamiento debido a distancia influye en el flujo genético de manera negativa. En el caso de este estudio, lo sugerido por el índice fue un equilibrio entre la deriva genética y el flujo genético, debido a que los valores de F_{st} fueron cercanos a cero (Van Strien *et al.*, 2015). La diversidad genética total (Ht) fue 0.1725 para la combinación EcoRI+ACC/MseI+CAC, 0.1947 para EcoRI+ACC/MseI+CAT, 0.1029 para EcoRI+ACC/MseI+CGA y 0.1897 para la combinación EcoRI+ACC/MseI+CGG. La distribución de coordenadas principales y la rotación de los ejes que representan a las accesiones presentes en cada clúster muestran las asociaciones y disociaciones entre ellas (Figura 2).

El análisis molecular y de varianza mostró que la variación identificada entre accesiones por marcadores dominantes explicó 45.12% en el primer eje, 21.47% en el segundo y 11.69% en el tercero, lo cual significa una varianza total de 78.28%. El estudio de Jain *et al.* (2017) informó 66.6% de polimorfismo genético en 36 accesiones de *S. edule* en la India. Aunque no se especificaron las variantes biológicas evaluadas, se destacaron rasgos importantes en el fruto, como color, tamaño y espinas. Las diferencias en esta muestra enriquecen la premisa de dinamismo genético de *S. edule*, si se considera el aislamiento reproductivo y la diferencia en historias de vida de las muestras utilizadas en este estudio.

Las diferencias entre los estudios citados y este estudio pueden deberse al mayor número y diversidad de

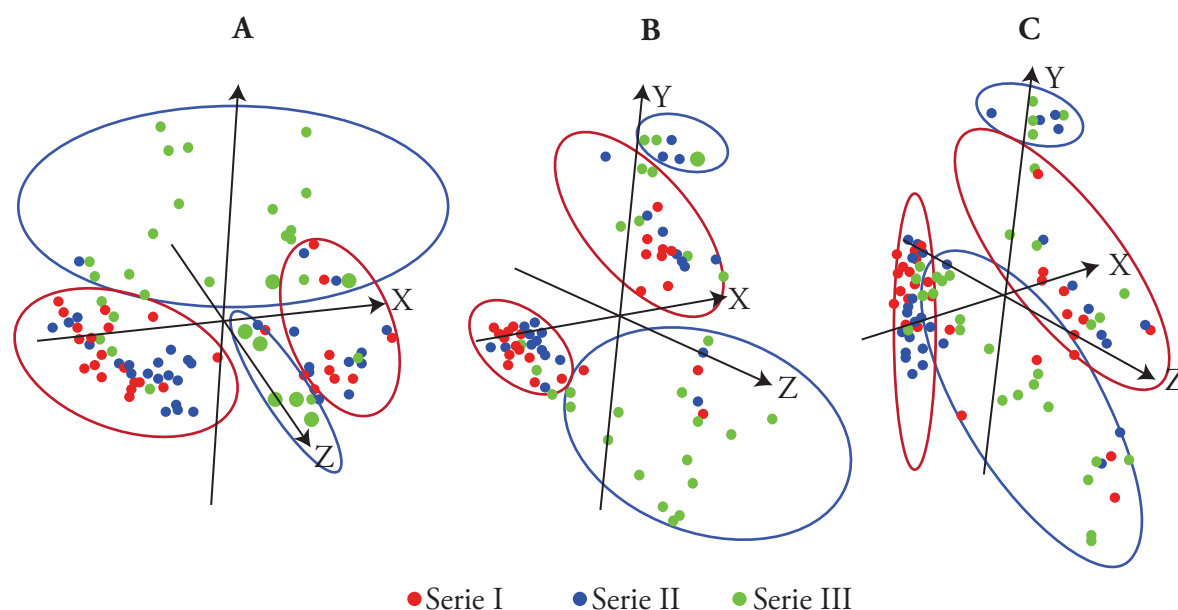


Figure 2. Distribution of principal coordinates of 95 accessions of *Sechium* spp., with four combinations of AFLP markers. PCoA analysis showed the contrasts made between the axes of the abscissa (X), ordinate (Y) and coordinate (Z). Series I (red) correspond to the accessions of sweet fruits; series II (blue) corresponds to accessions with fruits of neutral flavour; finally, series III (light green) groups the accessions with a bitter taste with thorns and without thorns. A) Contrast of rotation of axes 1 and 3 (X, Z). B) Contrast of rotation of axes 1 and 2 (X, Y). C) Contrast of rotation of axes 2 and 3 (Y, Z) (CurlyWhirly® 1017.08.31, 2009-2017).

Figura 2. Distribución de coordenadas principales de 95 accesiones de *Sechium* spp., a partir de cuatro combinaciones de marcadores AFLP. El análisis de PCoA mostró los contrastes realizados entre los ejes de la abscisa (X), ordenada (Y) y coordenada (Z). La serie I (roja) corresponde con las accesiones de frutos dulces; la serie II (azul) corresponde con accesiones con frutos de sabor neutro; por último, la serie III (verde claro) agrupa las accesiones con sabor amargo, con espinas y sin espinas. A) Contraste de rotación de los ejes 1 y 3 (X, Z). B) Contraste de rotación de los ejes 1 y 2 (X, Y). C) Contraste de rotación de los ejes 2 y 3 (Y, Z) (CurlyWhirly® 1017.08.31, 2009-2017).

Those differences between the studies cited and this study may be due to the higher number and diversity of accessions included (infra-species and inter-species). Since Mexico as the centre of origin and domestication has the widest range of biological types of *S. edule*, *S. chinantlense* and *S. compositum* (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2011). The dispersion of accessions in this study formed primarily the categories of domesticated and wild genotypes (Figure 2). These were interspersed between the axes, generating then four groups. The materials limited with red colour are mostly genotypes of sweet and neutral fruits, identifying two other groups with wild materials. However, none of the four groups showed exclusivity of group or type; that is, none of them were solely sweet, neutral, or bitter.

The neighbour-joining tree was elaborated with MEGA v.7 (Kumar *et al.*, 2016), compared with

accesiones incluidas (intraespecíficas e interespecíficas). Debido a que México como centro de origen y domesticación tiene la gama más amplia de tipos biológicos de *S. edule*, *S. chinantlense* y *S. compositum* (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2011). La dispersión de las accesiones estudiadas formó como categoría principal genotipos domesticados y silvestres (Figura 2). Los cuales, intercalados entre los ejes, generaron cuatro grupos a su vez. Los materiales delimitados con color rojo son en su mayoría genotipos de frutos dulces y neutros, e identifican a los otros dos grupos con materiales silvestres. Sin embargo, ninguno de los cuatro grupos mostró exclusividad de grupo o tipo; es decir, ninguno fue únicamente dulce, de sabor neutro o amargo.

El árbol generado por el método de unión de vecinos se elaboró con MEGA v.7 (Kumar *et al.*, 2016) y se comparó con el árbol Phylip 3.695 con la fórmula

the Phylip 3.695 tree using the Nei-Lyn formula to generate a matrix of genetic distances. In the first association group, an evolutionary dynamism can be observed which produces a genetic pool between *S. edule*, *S. chinantlense* and *S. compositum*. Six groups were formed, out of which the last one was subdivided into seven (Figure 3).

Group 1 included five yellow genotypes, four green with neutral flavour and one wild *S. edule*; group 2 included two hybrids (387.88, 635.87), two accessions of wild *S. edule* and one *S. compositum*; the remaining in this group were three *virens levis*, one *nigrum spinosum*, and one *nigrum minor*, derived from *S. edule*. The parents of hybrid 635.87 are *S. compositum* and *S. edule nigrum spinosum*, and those of hybrid 387 are *amarus sylvestris* and *virens levis*, both derived from *S. edule*. In group 3, the hybrid 387.72 stood out, one from *n. levis*, *n. spinosum*, *n. xalapensis* (dark green color), two *virens levis* and one *albus dulcis*. In group 4, a hybrid 387.77 was identified and one wild *S. edule* (661.74). It is relevant to emphasize that the four initial groups derived from a wild *S. edule* (653.83), according to the depicted genotypic tree; despite one *S. compositum* was also found there.

Group 5 included the Perla negra variety (922.95, bitter flavour), two accessions of the inter-species hybrid H-Víctor (648.92, 649.78) product of *S. compositum* × *S. edule nigrum xalapensis*. Wild *S. edule* (659.91), two *nigrum spinosum* (651.64, 658.62), one *virens levis* (804.34), and 761.33 corresponding to *albus levis* were also found. Group 6 (the one subdivided into seven subgroups) appeared as it follows, group 6a showed accession 747.71 corresponding to *S. chinantlense*, 746.59 (*nigrum spinosum* from *S. edule*), the hybrid 709.45, a product from bitter Perla negra × *albus minor*, *n. xalapensis* (530.28), *albus dulcis* (768.38), and 658.62 *nigrum spinosum*. Subgroups 6b, 6c and 6d showed domesticated genotypes of *S. edule*, except genotype 644.55 whose hybrid lineage is from *S. compositum* × *S. edule nigrum xalapensis* and the 653.80 corresponding to wild *S. edule*; indicating a higher genetic distance (longitude) regarding their genetic derivatives.

Subgroup 6e showed two branches, one comprising bitter genotypes with very close relation to the species *S. compositum* (6.94, 921.89, 20.76) and *S. chinantlense* (919.69), as well as two interspecies

de Nei-Lyn para generar una matriz de distancias genéticas. En el primer agrupamiento se observó un dinamismo evolutivo que produce un acervo genético entre *S. edule*, *S. chinantlense* y *S. compositum*. Seis grupos se formaron, de los cuales el último se subdividió en siete (Figura 3).

El grupo 1 mostró cinco genotipos amarillos, cuatro verdes con sabor neutro y un *S. edule* silvestre; el grupo 2 incluyó dos híbridos (387.88, 635.87), dos accesiones de *S. edule* silvestre y una *S. compositum*; el resto de este grupo fueron tres *virens levis*, uno *nigrum spinosum*, y una *nigrum minor*, derivadas de *S. edule*. Los padres del híbrido 635.87 son *S. compositum* y *S. edule nigrum spinosum*, y los del híbrido 387 son *amarus sylvestris* y *virens levis*, ambos derivados de *S. edule*. En el grupo 3, se destacó el híbrido 387.72, uno de *n. levis*, *n. spinosum*, *n. xalapensis* (color verde oscuro), dos *virens levis* y un *albus dulcis*; en el grupo 4, se localizó un híbrido 387.77 y un *S. edule* silvestre (661.74). De esos cuatro grupos iniciales conviene resaltar que derivaron de un *S. edule* silvestre (653.83), de acuerdo con el árbol genético generado, a pesar de que también se encontró allí un *S. compositum*.

El grupo 5 incluyó la variedad Perla negra (922.95, sabor amargo), dos accesiones del híbrido interespecífico H-Víctor (648.92, 649.78) producto de *S. compositum* × *S. edule nigrum xalapensis*. Un *S. edule* silvestre (659.91), dos *nigrum spinosum* (651.64, 658.62), un *virens levis* (804.34), y la accesión 761.33 correspondiente a *albus levis* también se encontraron allí. El grupo 6 (dividido en siete subgrupos) mostró lo siguiente, un subgrupo 6a, el cual mostró la accesión 747.71 que corresponde con *S. chinantlense*, 746.59 (*nigrum spinosum* derivado de *S. edule*), el híbrido 709.45, producto de la variedad amarga Perla negra × *albus minor*, *n. xalapensis* (530.28), *albus dulcis* (768.38) y 658.62 *nigrum spinosum*. Los subgrupos 6b, 6c y 6d mostraron solo genotipos domesticados de *S. edule*, excepto el genotipo 644.55, cuyo linaje híbrido proviene de *S. compositum* × *S. edule nigrum xalapensis*, y el 653.80 el cual corresponde con *S. edule* silvestre, e indica una distancia genética mayor (longitud) respecto a sus derivados genéticos.

El subgrupo 6e mostró dos ramas, una que se conformó con genotipos amargos con relación muy cercana a las especies *S. compositum* (6.94, 921.89, 20.76) y *S. chinantlense* (919.69), así como dos híbridos interespecíficos (643.65, 634.75) de *S.*

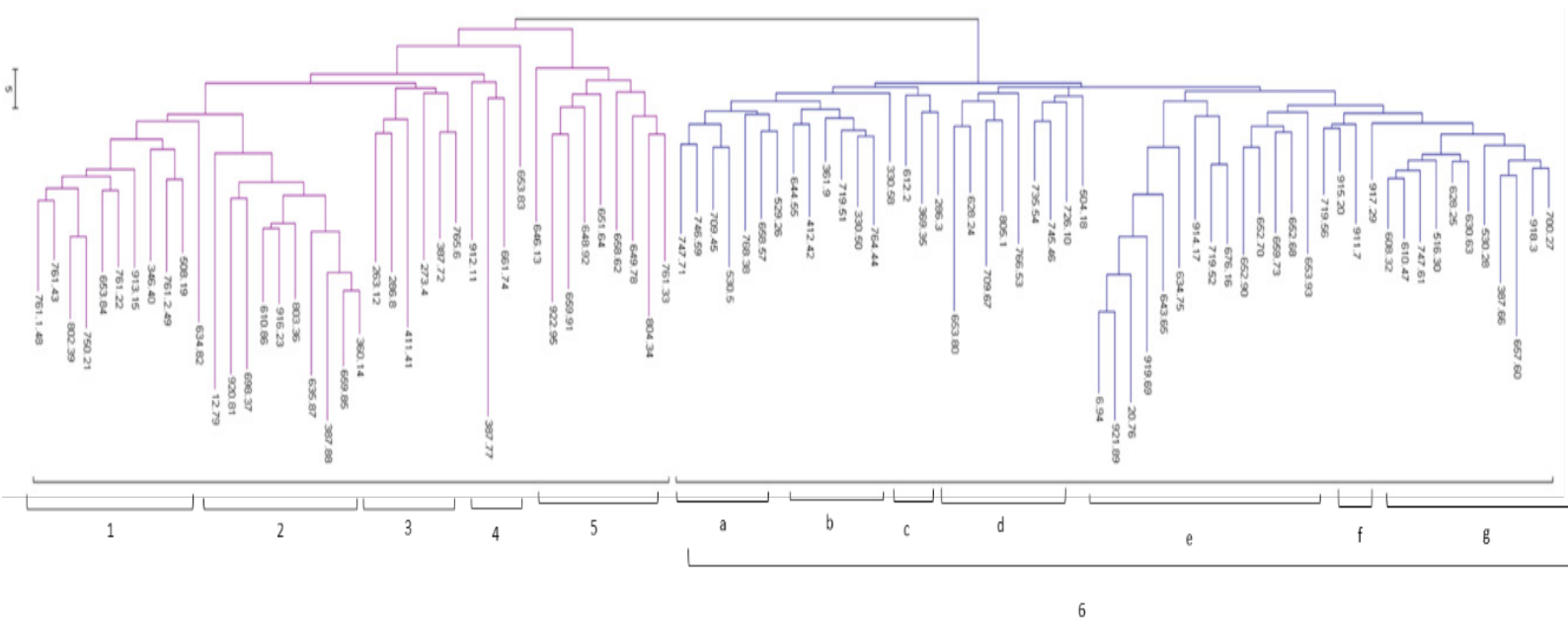


Figure 3. Neighbour-joining tree of domesticated and wild *Sechium* spp. genotypes, elaborated with MEGA v.7.
 Figura 3. Árbol generado por el método de unión de vecinos de genotipos domesticados y silvestres de *Sechium* spp., elaborado con MEGA v.7.

(*S. compositum* × *S. edule*) hybrids (643.65, 634.75); the other arm of group 6e comprised domesticated *chayotes* of yellow fruits, such as *a. dulcis* (914.17), *a. levis* (719.52), and light green *virens levis* (676.16). In the subgroup 6f, an arm with five bitter genotypes (652.90, 652.70, 659.73, 652.68, 653.93) can be noticed, corresponding to a wild *S. edule*, considered as the closest wild ancestor; the next arm in (6f) was formed by two *a. dulcis* (719.56, 915.20, 917.29), and one *virens levis* (911.7). Finally, in subgroup 6g, it should be noticed the alignment of nine domesticated genotypes (608.32, 610.47, 516.30, 628.25, 630.63, 530.28, 657.60, 918.3, 700.27), in addition to *S. chinantlense* (747.61) and the hybrid 387.66, both of bitter flavour.

The results obtained (Structure v. 2.3.4) showed a degree of alpha mix of 0.22, organized in three populations, where 52.63% of the accessions showed a higher probability of being part of the main population made up of bitter and wild genotypes. The rest of the alpha mix (47.37%) was distributed as two populations made up of domesticated (neutral flavour) and semi-domesticated genotypes (sweet flavour). This strengthens the premise that genotypes from the three evaluated species behave as a single genetic pool. Within it, a constant evolutionary dynamism, determined by the migration of edible *chayotes* (domesticated and semi-domesticated) to new geographic localities, would be a main force, as the local, edible, and wild genotypes enter into contact attaining hybridization.

From the genetic point of view, there is the founding effect, which explains that the immigrant genotype contributes a small proportion of alleles to the local genetic base (Van Strien *et al.*, 2015). This active genetic enrichment may be directed to obtain new diverse biological variants (Cadena-Íñiguez *et al.*, 2013). For example, nutraceutical, antiproliferative, immune-stimulating, antineoplastic, and dietary varieties (Aguíñiga-Sánchez *et al.*, 2015). According to Cardoso *et al.* (2000), the genetic differentiation between populations is correlated with the geographic distance, and the dominant AFLP markers allow detecting species or subspecies.

Wild *S. edule* was observed (653.83) as the root genotype, at least for groups 1 to 5 (Figure 3); within their derived groups *S. chinantlense* was found (747.61), in addition to accessions 6.94, 921.89, 12.79 and 20.76, which correspond to *S.*

compositum × *S. edule*; el otro brazo del subgrupo 6e incluyó chayotes domesticados de frutos amarillos, como *a. dulcis* (914.17), *a. levis* (719.52) y *virens levis* (676.16). En el subgrupo 6f, se destacó un brazo con cinco genotipos amargos (652.90, 652.70, 659.73, 652.68, 653.93), correspondientes con un *S. edule* silvestre, considerado como el ancestro silvestre más cercano. El siguiente brazo (del 6f) estaba formado por *a. dulcis* (719.56, 915.20, 917.29) y un *virens levis* (911.7). Por último, en el grupo 6g se destacó la alineación de nueve genotipos domesticados (608.32, 610.47, 516.30, 628.25, 630.63, 530.28, 657.60, 918.3, 700.27), además de *S. chinantlense* (747.61) y el híbrido 387.66, ambos de sabor amargo.

Los resultados obtenidos (con Structure v. 2.3.4) mostraron un grado de mezcla alfa de 0.22, organizado en tres poblaciones, donde el 52.63% de las accesiones mostró una probabilidad mayor de formar parte de la población principal conformada por genotipos amargos y silvestres. El resto de la mezcla alfa (47.37%) se distribuyó en dos poblaciones compuestas por genotipos domesticados (sabor neutro) y semi domesticados (sabor dulce). Esto refuerza la premisa de que los genotipos de las tres especies evaluadas se comportan como un acervo genético único, resaltando un dinamismo evolutivo constante, determinado por la migración de chayotes comestibles (domesticados y semi domesticados) a nuevas localidades geográficas, sería la fuerza principal; ya que los genotipos silvestres locales, comestibles y los genotipos silvestres entran en contacto y llegan a producir híbridos.

Desde el punto de vista genético existe el efecto fundador, el cual explica que el genotipo inmigrante aporta una proporción de alelos pequeña a la base genética local (Van Strien *et al.*, 2015). Este enriquecimiento genético activo se puede dirigir a la obtención de variantes biológicas nuevas y diversas (Cadena-Íñiguez *et al.*, 2013). Por ejemplo, variedades nutraceuticas, antiproliferativas, inmunoestimulantes, antineoplásicas y dietéticas (Aguíñiga-Sánchez *et al.*, 2015). Según Cardoso *et al.* (2000), la diferenciación genética entre poblaciones se correlaciona con la distancia geográfica y los marcadores AFLP dominantes permiten detectar especies o subspecies.

S. edule silvestre (653.83) se observó como el genotipo raíz de al menos los grupos 1 a 5 (Figura 3); dentro de sus grupos derivados se encontró a *S. chinantlense* (747.61), además de las accesiones 6.94, 921.89, 12.79 y 20.76, las cuales corresponden a *S.*

compositum. They were found as well, 634.75 and 643.65 (H-DV́ctor), which are interspecies hybrids obtained from *nigrum spinosum* y *nigrum xalapensis* with *S. compositum* (bitter, dark green colour, presence of spines). What suggests that there are no reproductive barriers between the genotypes, and that the differentiation in reproductive isolation of *S. chinantlense* and *S. compositum* is not sufficient for them to be considered true species, but rather subspecies of *S. edule*. The morphogenetic differences in populations are attributed to environmental conditions and the reproductive isolation due to geographic distances from each other, indicating recent periods of divergence during the Pleistocene (Barrera-Guzmán *et al.*, 2021).

S. chinantlense, *S. edule*, and *S. compositum* record the most recent evolutionary divergence with a distance of between 1.9 to 4.9 million years compared to *S. hintonii*; the latter is considered as the possible ancestor of the former. A greater number of genetic sequencing analyses of the species of the Mexican clade (*S. edule*, *S. compositum*, *S. chinantlense* and *S. hintonii*) would help to confirm the evolutionary path of the three species depending on the time of disruption which generated separation. Results in this study show that there are no reproductive barriers between the three species, since their interbreeding generates new genotypes with fertile offspring. This sets the precedent for a possible adjustment from ten species to eight, considering *S. hintonii* as a starting point for the Mexican chayotes as it was suggested by Barrera-Guzmán *et al.* (2021).

According to the indexes of genetic diversity (expected heterozygosity, number of polymorphic bands, percentage of polymorphism), the genotypes did not form strict conglomerates by uniformity. From the distribution of the neighbour-joining tree, we considered that there is a high genetic flow between the three evaluated species of *Sechium*, possibly due to different evolutionary routes and environmental adaptation, since the biological sample evaluated derived from the nucleus collection of the germplasm bank, whose origins are diverse (Cadena-Íñiguez *et al.*, 2011).

Species are made up of a series of populations connected through genetic flow, and the group of all the populations between which there is such a flow constitutes a species. This does not support the proposal of classification of subspecies suggested

compositum. Así como 634.75 y 643.65 (H-DV́ctor) que son híbridos interespecíficos obtenidos de *nigrum spinosum* y *nigrum xalapensis* con *S. compositum* (amargo, color verde oscuro, con presencia de espinas). Esto sugiere que no existen barreras reproductivas entre los genotipos, y que la diferenciación en aislamiento reproductivo de *S. chinantlense* y *S. compositum* no es suficiente para que se consideren especies verdaderas, sino subespecies de *S. edule*. Las diferencias morfogenéticas entre las poblaciones se atribuyeron a condiciones ambientales y aislamiento reproductivo debido a las distancias geográficas entre ellas; estas distancias sugieren periodos de divergencia recientes, durante el Pleistoceno (Barrera-Guzmán *et al.*, 2021).

S. chinantlense, *S. edule* y *S. compositum* registran la divergencia evolutiva más reciente con una distancia de entre 1.9 a 4.9 millones de años respecto a *S. hintonii*; con ésta última considerada como un posible ancestro de la primera. Un número mayor de análisis de secuencias genéticas de las especies del clado mexicano (*S. edule*, *S. compositum*, *S. chinantlense* y *S. hintonii*) ayudarían a confirmar la trayectoria evolutiva de las tres especies con dependencia del momento disruptivo que produjo la separación. Los resultados en este estudio muestran que no existen barreras reproductivas entre las tres especies, debido a que su entrecruzamiento genera nuevos genotipos con descendencia fértil. Lo anterior sienta el precedente para un posible ajuste de diez especies a ocho, lo cual consideraría a *S. hintonii* como el punto de partida del cual se derivan los chayotes mexicanos, como lo sugerido por Barrera-Guzmán *et al.* (2021).

De acuerdo con los índices de diversidad genética (heterocigosidad esperada, número de bandas polimórficas, porcentaje de polimorfismo), los genotipos no formaron conglomerados estrictos por uniformidad. A partir de la distribución en el árbol de unión de vecinos, se considera que existe un flujo genético importante entre las tres especies evaluadas de *Sechium*; cuyo origen posible son las rutas evolutivas diferentes y la adaptación ambiental, ya que la muestra biológica evaluada provino de la colección núcleo del banco de germoplasma, cuyas colectas de origen son diversas (Cadena-Íñiguez *et al.*, 2011).

Las especies se conforman por una serie de poblaciones conectadas a través de flujo genético, y el grupo de todas las poblaciones entre las cuales existe dicho flujo constituye una especie. Este hecho no

for *Sechium* (Lira-Saade *et al.*, 1999), since the distribution observed (Figure 3) is very narrow in a monophyletic tree, indicating that there were no biological barriers preventing the exchange of genes (Van Strien *et al.*, 2015). That is, no subspecies were appreciated, despite the morpho-structural differences previously cited (Cadena-Íñiguez *et al.*, 2011), even when the results from AFLP could be ambiguous in regard to the directionality of the genetic movement (Eguiarte *et al.*, 2013).

Mercado and Lira (1994) reported a chromosome number $n=13$ for *S. edule*, $n=14$ for *S. compositum*, $n=14$ for *S. hintonni* and *S. venosum*, and $n=12$ for *S. vellosum*. Those authors argued that this difference is due to aneuploidy, although they suggested treating those values with caution due to the reduced number of samples evaluated. However, the hybridization between *S. edule* (wild) and *S. chinantlense* generated genotypes which in turn (F1) formed the segregates P1 and P2 (Avendaño-Arrazate *et al.*, 2017). In this study, the results indicated that the genotypes can be grouped as a complex, with dynamism and genetic flow that are potential for forming new biological variants with diverse uses. The same pattern can be explained by different population histories, and molecular tools implemented showed that there would be no reproductive barriers between the three species towards generating new genotypes with fertile offspring.

CONCLUSIONS

The biological sample of *Sechium* spp. showed low indexes of heterozygosity, average number of polymorphic bands, and high percentage of polymorphism, which exceeded the values reported by other authors. A differentiation of most domesticated accessions was achieved, separated from the wild types of bitter flavour. There are no apparent reproductive barriers to genetic cross-breeding.

S. edule was found to be the possible root taxon, deriving *S. compositum* and *S. chinantlense* as subgroups, which suggests that the differentiation among the three is not sufficient to treat them as separate species. This was evidenced by their bitter hybrids and those domesticated accessions of *S. edule*. The genotypes behaved as a single group, with strong evolutionary dynamism generating a genetic pool. Thus, it is possible to design new genotypes from that genetic heritage.

apoya la propuesta de clasificación de subespecies sugerida para *Sechium* (Lira-Saade *et al.*, 1999), ya que la distribución observada (Figura 3) es muy estrecha dentro de un árbol monofilético que indica que no existen barreras biológicas que impidan el intercambio de genes (Van Strien *et al.*, 2015). Esto es, no se apreció ninguna subespecie, a pesar de las diferencias morfoestructurales citadas con anterioridad (Cadena-Íñiguez *et al.*, 2011). Incluso cuando los resultados del AFLP pudieran ser ambiguos respecto a la direccionalidad del movimiento genético (Eguiarte *et al.*, 2013).

Mercado y Lira (1994) reportaron un número cromosómico $n = 13$ para *S. edule*, $n = 14$ para *S. compositum*, $n = 14$ para *S. hintonni* y *S. venosum*, y $n = 12$ para *S. vellosum*. Estos autores argumentaron que esta diferencia se debe a la aneuploidía, aunque sugirieron tratar dichos valores con precaución debido al número de muestras reducido que se evaluó. Sin embargo, la hibridación entre *S. edule* (silvestre) y *S. chinantlense* generó genotipos que a su vez se segregaron en (F1) como P1 y P2 (Avendaño-Arrazate *et al.*, 2017). En este estudio, los resultados indican que los genotipos pueden agruparse como un complejo, con dinamismo y flujo genético que tienen potencial para formar variantes biológicas nuevas con usos diversos. El mismo patrón puede explicarse por diferentes historias de vida de las poblaciones, y las herramientas moleculares implementadas mostraron que no habría barreras reproductivas entre las tres especies para generar genotipos nuevos con descendencia fértil.

CONCLUSIONES

La muestra biológica de *Sechium* spp. presentó índices de heterocigosidad bajos, número promedio de bandas polimórficas y valores altos de porcentaje de polimorfismo, los cuales excedieron a los valores reportados por otros autores. La diferenciación de la mayoría de las accesiones domesticadas se logró, separadas de los tipos silvestres de sabor amargo. En apariencia no existen barreras reproductivas para el entrecruzamiento.

En este estudio se observó a *S. edule* como el posible taxón raíz, con *S. compositum* y *S. chinantlense* como subgrupos, lo cual sugiere que la diferenciación entre los tres no es suficiente para tratarlos como especies separadas. La evidencia de esto fueron sus híbridos de sabor amargo y las accesiones domesticadas de *S. edule*. Los genotipos se comportaron como

REFERENCES

- Aguñiga-Sánchez I., R. M. Soto-Hernández, J. Cadena-Íñiguez, L. M. Ruiz-Posadas, J. D. Cadena-Zamudio, A. González, E. Santiago. 2015. Fruit extract from a *Sechium edule* hybrid induce apoptosis in leukaemic cell lines but not in normal cells. *Nut. and Cancer* 67: 250-257 <https://doi.org/10.1080/01635581.2015.989370>
- Avendaño-Arrazate C.H., J. Cadena-Íñiguez, V. M. Cisneros-Solano, Y. C. Ramírez-Rodas, G.B. Mejía-Montoya. 2017. Morphological variation at inter and infraspecific level in *Sechium* spp. *Agroproductividad*, 10: 58-63. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20183200079>
- Barrera-Guzmán Legaría-Solano Á J., J. C. Cadena-Íñiguez, J. Sahagún-Castellanos. 2021. Phylogenetic relationships among Mexican species of the genus *Sechium* (Cucurbitaceae). *Turkish J. Bot.* 45: 302-314. <https://doi.org/10.3906/bot-2007-18>
- Cadena-Íñiguez J., R. M. Soto-Hernández, M. L. Arévalo-Galarza, C. H. Avendaño-Arrazate, J. F. Aguirre, L. M. Ruiz-Posadas. 2011. Biochemical characterization of domesticated varieties of chayote *Sechium edule* (Jacq.) Sw. Compared to wild relatives. *Rev. Chapingo. Ser. Hort.* 17: 45-55.
- Cadena-Íñiguez J., R. M. Soto-Hernández, A. Torres, I. Aguiñiga-Sánchez, L. M. Ruiz-Posadas, A. Rivera, E. Santiago-Osorio. 2013. The antiproliferative effect of chayote varieties (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) on tumour cell lines. *J. Med. Plant Res.* 7: 455-460. <https://doi.org/10.5897/JMPR12.866>
- Cardoso S. R. S., N. B. Eloy, J. Provan, M. A. Cardoso, and P. C. G. Ferreira. 2000. Genetic differentiation of *Euterpe edulis* Mart. populations estimated by AFLP analysis. *Mol. Ecol.* 9: 1753-1760. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.2000.01056>
- Cruz-Requena M., C. N. Aguilar-González, J. Espinoza-Velázquez, M. H. Reyes-Valdés, and R. Rodríguez-Herrera. 2013. AFLPs loci associated with polyembryonic maize using selective genotyping analysis. *Israel J. Plant Sci.* 61: 46-50. DOI: <https://doi.org/10.1080/07929978.2014.950045>
- Eguarte L. E., J. A. Aguirre-Liguori, L. Jardón-Barbolla, E. Aguirre-Planter, and V. Souza. 2013. Population genomics: nothing in evolution will make sense if not in light of genomics, and nothing in genomics will make sense if not in light of evolution. *Rev. Esp. Cienc. Quím. Biol.* 16: 42-56.
- Emanuelli, F., S. Lorenzi, L. Grzeskowiak, V. Catalano, M. Stefanini, M. Troggio, M. S. Grando. 2013. Genetic diversity and population structure assessed by SSR and SNP markers in a large germplasm collection of grapes. *BMC Plant Biol.* 13: 1-17.
- Gaut B. S., C. M. Díez, and P. L. Morrell. 2015. Genomics and the contrasting dynamics of annual and perennial domestication. *Trends Genet.* 31: 709-719. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-13-39>
- Hausdorf B., and C. Hennig. 2010. Species delimitation using dominant and codominant multilocus markers. *Syst. Biol.* 59: 491-503. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syq039>
- Hebert J. B., S. J. Scheffer, and D. J. Hawthorne. 2016. Evidence for ecological speciation via a host shift in the holly leaf miner, *Phytomyza glabricola* (Diptera: Agromyzidae). *Ecol. Evol.* 6: 6565-6577. <https://doi.org/10.1002/ece3.2358>
- un solo grupo, con un dinamismo evolutivo fuerte que generó un solo acervo genético. De modo que es posible diseñar genotipos nuevos a partir de esa herencia genética.
- Fin de la versión en Español—
- *
- Idrees M., and M. Irshad. 2014. Molecular markers in plants for analysis of genetic diversity: a review. *Eur. Acad. Res.* 2: 1513-1540.
- Jain J.R., B. Timsina, K. B. Satyan, S. H. A. Manohar. 2017. Comparative assessment of morphological and molecular diversity among *Sechium edule* (Jacq.) Sw. accessions in India. 3 *Biotech* 7: 106. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0726-5>
- Kumar S., G. Stecher, and K. Tamura. 2016. MEGA v7. Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.* 33: 1870-1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
- Lira-Saade R., and F. Chiang. 1992. Two new combinations in *Sechium* (Cucurbitaceae) from Central America, and a new species from Oaxaca, Mexico. *Novon* 2: 227-231. <https://doi.org/10.2307/3391556>
- Lira-Saade R., J. Castrejón, S. Zamudio, y C. Rojas-Zenteno. 1999. Propuesta de ubicación taxonómica para los chayotes silverstres (*Sechium edule*, Cucurbitaceae) de México. *Acta Bot. Mex.* 49:47-61. [http://www1.inecol.edu.mx/publicaciones/resumeness/ABM/ABM.49.1999/acta49\(47-61\).pdf](http://www1.inecol.edu.mx/publicaciones/resumeness/ABM/ABM.49.1999/acta49(47-61).pdf) (Retrieved: November 2019).
- Machida-Hirano R., M. Cortés-Cruz, B. A. González A., J. Cadena-Íñiguez, K. Shirata, K. N. Watanabe. 2015. Isolation and characterization of novel microsatellite markers in chayote [*Sechium edule* (Jacq.) Sw.]. *Am. J. Plant Sci.* 6: 2033-2041. <https://doi.org/10.4236/ajps.2015.613203>
- Meléndez-Ackerman E.J., P. Speranza, W. J. Kress, L. Rohena, E. Toledo, C. Cortés, D. Soltis. 2005. Microevolutionary processes inferred from AFLP and morphological variation in *Heliconia bihai* (Heliconiaceae). *Int. J. Plant Sci.* 166: 781-794. <https://doi.org/10.1086/431231>
- Mercado P., and R. Lira. 1994. Contribution to the Knowledge of the chromosomal numbers of the genera of *Sechium* P. Br. and *Sicana naudin* (Cucurbitaceae). *Acta Bot. Mex.* 27:7-13.
- Moyers B.T., P.L. Morrell, and J. K. McKay. 2018. Genetic costs of domestication and improvement. *J. Heredity.* 109: 103-116. <https://doi.org/10.1093/jhered/esx069>
- Pritchard, J. K.; M. Stephens, and P. Donnelly. 2000. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics* 155: 945-959 <https://www.genetics.org/content/155/2/945> (Retrieved: February 2020).
- Sabir J., M. Mutwakil, A. El-Hanafy, A. Al-Hejin, M. A. Sadek, M. Abou-Alsoud, and M. Ahmed. 2014. Applying

- molecular tools for improving livestock performance: from DNA markers to next generation sequencing technologies. *J. Food Agric. Environ.* 12: 541-553.
- Van Strien M. J., R. Holderegger, and H. J. Van Heck. 2015. Isolation-by-distance in landscapes: considerations for landscape genetics. *Heredity*, 114: 27-37. <https://doi.org/10.1038/hdy.2014.62>
- Vekemans X., T. Beauwens, M. Lemaire, and I. Roldán-Ruiz. 2002. Data from amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers show indication of size homoplasy and of a relationship between degree of homoplasy and fragment size. *Mol. Ecol.* 11: 139-151. <https://doi.org/10.1046/j.0962-1083.2001.01415.x>

MOVIMIENTOS DEL TIPO DE CAMBIO Y COMERCIO DE MAÍZ ENTRE MÉXICO Y ESTADOS UNIDOS

EXCHANGE RATE MOVEMENTS AND THE MAIZE TRADE BETWEEN MEXICO AND THE UNITED STATES

José Luis Jaramillo-Villanueva

Colegio de Postgraduados, Campus Puebla. Boulevard Forjadores, núm. 205, Santiago Mo-
moxpan, San Pedro Cholula, Puebla; 72760 México. (jaramillo@colpos.mx).

RESUMEN

Para los flujos comerciales de maíz entre México y Estados Unidos los movimientos en la tasa de cambio son importantes, con algunas otras variables. Con el objetivo de contribuir con información relevante sobre el impacto de la tasa de cambio sobre el comportamiento de los flujos comerciales de maíz, en un contexto de subsidios a la producción, además de generar información relevante para la toma de decisiones de política económica. Para lo cual se analizó un modelo de maximización de la utilidad esperada y se estimó una función de demanda por importaciones de maíz a partir de un análisis de cointegración y un modelo vector de corrección de error (VCE). Los resultados mostraron que los cambios de la tasa de cambio real tienen efecto positivo sobre los flujos comerciales, en tanto que la volatilidad de la tasa de cambio ejerce un efecto negativo sobre dichos flujos. Los resultados de la prueba de hipótesis indicaron que tanto los cambios en la tasa de cambio real como la volatilidad tienen un efecto significativo sobre los flujos de comercio de maíz entre México y Estados Unidos.

Palabras clave: tasa de cambio, volatilidad de la tasa de cambio, comercio agroalimentario, análisis de cointegración.

INTRODUCCIÓN

En México, las exportaciones e importaciones crecieron en volumen y en valor desde el inicio de la apertura comercial de la economía mexicana. Desde la década 1990's las exportaciones mexicanas totales pasaron de 1 590 820 millones

ABSTRACT

For maize trade flows between Mexico and the United States, movements in the exchange rate are important, along with some other variables. With the objective to contribute with relevant information on the impact of the exchange rate on the maize trading flows behaviour, in a context of production subsidies; As well as to generate relevant information for economic policy decision making, an expected utility maximization model was analyzed, and a demand function was estimated for maize imports within a cointegration analysis and a vector error correction model (VCE). Results showed that changes in the real exchange rate have a positive effect on trade flows, while exchange rate volatility poses a negative effect on trade flows. The results of the hypothesis test indicated that both changes on the real exchange rate and on volatility have a significant effect on maize trading flows between Mexico and the United States.

Key words: exchange rate, exchange rate volatility, agricultural and food trade, cointegration analysis.

INTRODUCTION

In Mexico, exports and imports have grown in volume and value since the beginning of the commercial opening of the Mexican economy. Since the 1990's, total Mexican exports increased from 79 541 million USD (1 590 820 million MXN pesos) in 1995 to 460 704 million USD (9 214 080 million MXN pesos) in 2019. Similarly, imports changed from 72.453 million USD (1 449 060 million MXN pesos) to 455 295 millones USD (9 105 900 million MXN pesos) for the same period (Secretaría de Economía, 2021). The argument is that the exchange rate played an important role in the performance of Mexican trade (Asteriou *et al.*,

* Autor para correspondencia ♦ Author for correspondence.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8179-6351>

Recibido: octubre, 2020. Aprobado: noviembre, 2021.

Publicado en Agrociencia 55: 627-643. 2021.

de pesos MXN (79 541 millones dólares USD) en 1995 a 9 214 080 millones de pesos MXN (460 704 millones dólares USD) en 2019. De manera similar, las importaciones pasaron de 1 449 060 millones de pesos MXN (72.453 millones dólares USD) a 9 105 900 millones de pesos MXN (455 295 millones dólares USD) para el mismo período (Secretaría de Economía, 2021). El argumento es que el tipo de cambio tuvo una función importante en el desempeño del comercio mexicano (Asteriou *et al.*, 2016). Acerca del comercio agrícola entre Estados Unidos y México, algunos estudios enfatizan la importancia de la liberalización comercial en el aumento de las exportaciones e importaciones; en tanto que otros resaltan la función de las variaciones del tipo de cambio en el desempeño del comercio mexicano (Mora-Flores *et al.*, 2003). Desde el establecimiento en 1995 del sistema de cambio flotante en México, el tipo de cambio México-Estados Unidos se caracteriza por períodos de volatilidad alta que pueden influir en los flujos comerciales agroalimentarios entre los dos países (Sheldon *et al.*, 2013).

La producción de maíz en México es la actividad más importante del sector agrícola; 27% de la tierra cosechada se dedica a este cultivo y 82% de las unidades de producción rural siembran maíz como cultivo principal (SAGARPA, 2012). La producción de maíz aumentó de 17.2 a 27.7 millones de (toneladas) Megagramos (Mg) en el periodo de 1995 a 2019, un incremento de 58%, atribuible al acrecentamiento de los rendimientos (SIAP, 2020). En específico del maíz amarillo, la producción aumento de 228.3 mil Mg en el año 2000 a 1.061 millones Mg en 2004, y a 2.95 millones Mg en 2020. Lo cual representa un aumento del 277%, atribuible tanto al aumento de la superficie como de los rendimientos. La superficie cultivada incrementó de 259 mil ha en 2004 a 508.5 mil ha en 2020, mientras los valores de rendimiento aumentaron de 4.1 a 5.8 Mg por hectárea (Mg ha^{-1}) en el mismo periodo.

Las importaciones mexicanas de maíz amarillo mostraron una tendencia creciente de 1995-2019, con una tasa de crecimiento anual del 12.7%. Estos incrementos ocurrieron a pesar de la tendencia de aumento en la producción nacional, tanto de maíz amarillo como de maíz blanco; la tasa de crecimiento promedio anual de la producción en México, del maíz blanco fue de 2.33%, mientras que la del maíz amarillo fue del 16.9%, en el periodo 1995-2020 (USDA, 2020; SIAP, 2020).

2016). In regard to agricultural trade between the United States and Mexico, some studies emphasize the importance of trade liberalization in increasing exports and imports; whereas others highlight the role of exchange rate variations in Mexican trade performance (Mora-Flores *et al.*, 2003). Since the floating exchange rate system was established in Mexico in 1995, the U.S.-Mexico exchange rate is characterized by periods of high volatility that can influence agricultural and food trade flows between the two countries (Sheldon *et al.*, 2013).

Maize production in Mexico is the most important activity in the agricultural sector; 27% of harvested land is dedicated to this crop and 82% of rural production units plant maize as their main crop (SAGARPA, 2012). Maize production increased from 17.2 to 27.7 million (tons) Megagrams (Mg) in the period from 1995 to 2019, an increase of 58%, attributable to increased yields (SIAP, 2020). Specifically, for yellow maize production increased from 228.3 thousand Mg in 2000 to 1.061 million Mg in 2004, and to 2.95 million Mg in 2020. This represents an increase of 277%, attributable to both the increase in area and yields. Cultivated area increased from 259 thousand ha in 2004 to 508.5 thousand ha in 2020, while yield values increased from 4.1 to 5.8 Mg per hectare (Mg ha^{-1}) in the same period.

Mexican imports of yellow maize showed an increasing trend from 1995-2019, with an annual growth rate of 12.7%. These increases occurred despite the increasing trend in domestic production of both yellow and white maize; the average annual growth rate of white maize production in Mexico was 2.33%, while that of yellow maize was 16.9%, in the 1995-2020 period (USDA, 2020; SIAP, 2020).

In regard to sorghum, domestic production went from 4.2 million Mg in 1995 to 4.6 million Mg in 2019, with an average growth rate of 2.7% in the previous period. On the other hand, imports decreased from 2.1 to 1.4 million Mg, which represents a negative average annual growth rate of -0.81% in the same period.

Maize and sorghum are tradable products; therefore, variations in production and consumption trends have their origin in changes in international prices (Basurto and Escalante, 2015). The price of maize decreased from 1990 to 2006 and from 2007 to 2012 increased dramatically from USD 100 (2100 MXN) to USD350 (7350 MXN) per Mg (USDA,

Respecto al sorgo, la producción nacional pasó de 4.2 millones Mg en 1995 a 4.6 millones Mg en 2019, con una tasa de crecimiento promedio de 2.7% en el periodo anterior. Por su parte las importaciones decrecieron 2.1 a 1.4 millones Mg, lo cual representa una tasa negativa de crecimiento promedio anual de -0.81% en el mismo periodo.

El maíz y sorgo son productos comercializables, por ello las variaciones en las tendencias de producción y consumo tienen su origen en cambios en los precios internacionales (Basurto y Escalante, 2015). El precio del maíz disminuyó de 1990 a 2006 y de 2007 a 2012 aumentó de manera drástica al pasar de 2100 MXN (100 USD) a 7350 MXN (350 USD) por Mg (USDA, 2020). El precio del maíz, el ingreso y el precio de productos relacionados intervienen en la determinación de la demanda del producto final. Dado que el maíz y el sorgo son los componentes principales (en volumen) de los alimentos concentrados para la industria pecuaria, la demanda de ambos granos aumentó en las dos décadas recientes.

La literatura sobre los efectos de los movimientos de la tasa de cambio sobre el comercio agrícola internacional se centra en conocer si la tasa de cambio y su volatilidad explican los flujos comerciales agrícolas (Erdem *et al.*, 2010; Bahmani-Oskooee *et al.*, 2012), y proporciona evidencia de que el tipo de cambio tiene un efecto significativo sobre los flujos de comercio (Bahmani-Oskooee *et al.*, 2009; Moslares y Ekanayake, 2015). Sin embargo, en el caso del comercio agrícola entre México y Estados Unidos respecto al propósito de esta investigación, no se hallaron datos publicados. Por lo tanto, es relevante determinar en contexto en qué medida los cambios en la tasa de cambio y su volatilidad contribuyeron al comportamiento del comercio agrícola mexicano durante las décadas recientes.

Los estudios empíricos sobre los movimientos del tipo de cambio y el comercio agroalimentario en general no consideran los efectos posibles de la volatilidad de la tasa de cambio o se centran en efectos de corto plazo. Además, se enfocan en el comercio agregado y no en el de productos agrícolas específicos. Para abordar las limitaciones anteriores, esta investigación incorporó medidas de la volatilidad del tipo de cambio en las ecuaciones econométricas de comercio de un producto agrícola individual. Estas funciones se estimaron con análisis de cointegración para generar pronósticos de efectos a largo plazo de

2020). The price of maize, income, and the price of related products all play a role in determining the demand for the final product. Since maize and sorghum are the major components (by volume) of concentrate feeds for livestock industry, gross demand for both grains increased in the last two decades.

The literature on the effects of exchange rate movements on international agricultural trade focuses on whether the exchange rate and its volatility explain agricultural trade flows (Erdem *et al.*, 2010; Bahmani-Oskooee *et al.*, 2012), and provides evidence that the exchange rate has a significant effect on trade flows (Bahmani-Oskooee *et al.*, 2009; Moslares and Ekanayake, 2015). However, in the case of agricultural trade between Mexico and the United States within the aim of this research, no published data were found. Therefore, it is relevant to determine in context to what extent changes in the exchange rate and its volatility contributed to the behavior of Mexican agricultural trade during the latter decades.

In general, empirical studies on exchange rate movements, or agricultural and food trade do not consider the possible effects of exchange rate volatility nor emphasize the short-term effects. In addition, they focus on aggregate trade and not on the trade of specific agricultural products. To address the above limitations, this research incorporated measures of the volatility in the exchange rate into econometric trade equations for an individual agricultural commodity. These functions were estimated with cointegration analysis to generate forecasts of long-term effects of exchange rate changes and volatility on the maize imports of Mexico. The long-term effects were then estimated with an error correction model (MCE).

MATERIALS AND METHODS

An expected utility maximization model involving a single product (maize) and two countries (Mexico and the United States) was used to investigate the theoretical relationships among trade flows and a set of explanatory variables. The direction of the effects of the explanatory variables on import demand was obtained with comparative statics. This was followed by the empirical specification of Mexico's demand function for maize imports from the United States.

In this model, production theory was used to derive the import demand function by treating imports as inputs to technology. The assumption was that companies maximizing

las variaciones del tipo de cambio y su volatilidad en las importaciones de maíz de México. Luego, los efectos de largo plazo se estimaron con un modelo de corrección de error (MCE).

MATERIALES Y MÉTODOS

Un modelo de maximización de la utilidad esperada que involucró un solo producto (maíz) y dos países (México y Estados Unidos) se utilizó para investigar las relaciones teóricas entre los flujos comerciales y un conjunto de variables explicativas. La dirección de los efectos de las variables explicativas sobre la demanda por importaciones se obtuvo con estática comparativa. A esto le siguió la especificación empírica de la función de demanda de México por importaciones de maíz proveniente de Estados Unidos.

En este modelo, la teoría de la producción se utilizó para derivar la función de demanda por importaciones al tratar éstas como insumos de la tecnología. El supuesto es que empresas que maximizan la ganancia y que operan bajo competencia perfecta en los mercados de productos e insumos toman decisiones de importación y exportación. Luego las importaciones se utilizan junto con los insumos nacionales para obtener producción que se pueden absorber en el país o exportar. La demanda por importaciones bajo incertidumbre del tipo de de cambio siguió el enfoque clásico de Appelbaum y Kohli (1997).

Es decir, sea $q=f(X_L, X_M, K)$ una función de producción neoclásica, donde X_L es el insumo mano de obra, X_M es la cantidad de insumo importado necesario para producir la cantidad q y K es el capital. Las fuentes de riesgo son entonces el tipo de cambio (TC) y su volatilidad. Por lo tanto, el TC es una variable aleatoria y por implicación también lo son el precio internacional y los beneficios. El problema de maximización de beneficios de la empresa se representa en la ecuación (1).

$$\text{Max}_{X_L, X_M, K} \left\{ E \left[U \left[(\bar{R} + \theta_1) P \cdot f(X_L, X_M, K) - W_L X_L - (\bar{R} + \theta_M) W_M X_M - W_K K \right] \right] \right\} \quad (1)$$

donde $R = \bar{R} + \theta_i$ es el precio de la divisa para importaciones (moneda extranjera) y θ es una variable aleatoria distribuida según la función de densidad $g(\theta)$, con $E(\theta)=0$, (de modo que $E(R) = \bar{R}$) y $\text{Var}(R) = \text{Var}(\theta)=\sigma^2$). El supuesto es que $U'(\cdot)$ es una función de utilidad del tipo Von-Newman-Morgestern con $U'(\cdot) > 0$. La solución al problema de la empresa define la función de utilidad (dual) indirecta (esperada) V se representa en la ecuación (2) como:

profit and operating under perfect competition in products and inputs markets are those making import and export decisions. Imports are then used, together with domestic inputs, to obtain outputs that can be absorbed domestically or exported. Import demand under exchange rate uncertainty followed the classical approach of Appelbaum and Kohli (1997).

That is, let $q=f(X_L, X_M, K)$ be a neoclassical production function, where X_L is the labor input, X_M is the quantity of imported input needed to produce quantity q and K is capital. The sources of risk are then, the exchange rate (TC) and its volatility. Therefore, the TC is a random variable and consequently, so they are the international price and profits. The profit maximization problem of a given company is represented in equation (1).

$$\text{Max}_{X_L, X_M, K} \left\{ E \left[U \left[(\bar{R} + \theta_1) P \cdot f(X_L, X_M, K) - W_L X_L - (\bar{R} + \theta_M) W_M X_M - W_K K \right] \right] \right\} \quad (1)$$

where $R = \bar{R} + \theta_i$ is the currency price for imports (foreign currency) and θ is a random variable distributed according to the density function $g(\theta)$, with $E(\theta)=0$, (so that $E(R) = \bar{R}$) and $\text{Var}(R) = \text{Var}(\theta)=\sigma^2$). The assumption is that $U'(\cdot)$ is a utility function of the Von-Newman-Morgestern type with $U'(\cdot) > 0$. The solution to the problem of a company defines the indirect (expected) utility (dual) function V , represented in equation (2) as:

$$\text{Max}_{y,x} E \{ U [(\bar{R} + \theta_1) P \cdot y - W_L X_L - (\bar{R} + \theta_M) W_M X_M - W_K K] : y \leq F(x) \} \equiv V(w, P, \bar{R}, \theta, \rho) \quad (2)$$

where ρ represents higher moments of $g(\theta)$ and the random variable θ is continuous and convex to the moments. Demonstrations of the above can be found in Appelbaum and Kohli (1997). The company supply and demand functions were obtained from the indirect expected utility function (2) by applying the envelope theorem:

$$\frac{\partial V}{\partial w_i} = - E[U'(\pi)] \cdot x_i \quad y \quad \frac{\partial V}{\partial P} = - E[U'(\pi)] \cdot y$$

Therefore, the input demand for import and the supply functions of a company are given by (3) and (4).

$$x_i = \frac{\partial V}{\partial w_i} / \frac{\partial V}{\partial w_K} y \quad (3)$$

$$\begin{aligned} \text{Max}_{y,x} E\{U[(\bar{R} + \theta_1)P \cdot y - W_L X_L - (\bar{R} + \theta_M) W_M X_M - W_K K] : \\ y \leq F(x)\} \equiv V(w_i, P, \bar{R}, \theta_1, \rho) \end{aligned} \quad (2)$$

donde ρ representa momentos superiores de $g(\theta)$ y la variable aleatoria θ es continua y convexa a los momentos. Las demostraciones a lo anterior se pueden consultar en Appelbaum y Kohli (1997). La función de oferta y demanda de la empresa se obtuvo a partir de la función de utilidad esperada indirecta (2) aplicando el teorema de la envolvente:

$$\frac{\partial V}{\partial w_i} = -E[U'(\pi)] \cdot x_i \quad y \quad \frac{\partial V}{\partial P} = -E[U'(\pi)] \cdot y$$

Por lo tanto, las funciones de demanda por importaciones de insumos y de oferta de la empresa están dadas por (3) y (4).

$$x_i = \frac{\partial V}{\partial w_i} / \frac{\partial V}{\partial w_K} y \quad (3)$$

$$y = \frac{\partial V}{\partial P} / \frac{\partial V}{\partial w_K} \quad (4)$$

Al maximizar la utilidad esperada, las condiciones de primer orden obtenidas son (5) y (6).

$$EU'(\pi)[(\bar{R} + \theta_1)P \cdot f_L(X_L, X_M, K) - W_L] = 0 \quad y \quad (5)$$

$$EU'(\pi)[(\bar{R} + \theta_1)P \cdot f_M(X_L, X_M, K) - (\bar{R} + \theta_M)W_M] = 0 \quad (6)$$

Las condiciones anteriores se pueden reescribir como en (7) y (8):

$$(\bar{R} + \theta_1)P \cdot f_L(X_L, X_M, K) = W_L \quad (7)$$

$$(\bar{R} + \theta_1)P \cdot f_M(X_L, X_M, K) = (\bar{R} + \theta_M) \cdot W_M \quad (8)$$

El término $(\bar{R} + \theta_M) \cdot W_M$ es el costo marginal de las importaciones y θ_M representa el costo marginal de la incertidumbre. De (8) se deduce que la presencia de incertidumbre haría que el valor del producto marginal de las importaciones se desvíe del costo marginal esperado de los productos importados. Bajo aversión al riesgo, θ es positivo, por lo que el valor del producto marginal de las importaciones excederá su precio esperado de

$$y = \frac{\partial V}{\partial P} / \frac{\partial V}{\partial w_K} \quad (4)$$

When maximizing the expected utility, the first order conditions obtained are (5) and (6).

$$EU'(\pi)[(\bar{R} + \theta_1)P \cdot f_L(X_L, X_M, K) - W_L] = 0 \quad y \quad (5)$$

$$EU'(\pi)[(\bar{R} + \theta_1)P \cdot f_M(X_L, X_M, K) - (\bar{R} + \theta_M)W_M] = 0 \quad (6)$$

The above conditions can be rewritten as in (7) and (8):

$$(\bar{R} + \theta_1)P \cdot f_L(X_L, X_M, K) = W_L \quad (7)$$

$$(\bar{R} + \theta_1)P \cdot f_M(X_L, X_M, K) = (\bar{R} + \theta_M) \cdot W_M \quad (8)$$

The term $(\bar{R} + \theta_M) \cdot W_M$ is the marginal cost of imports and θ_M represents the marginal cost of uncertainty. From (8) it follows that the presence of uncertainty would cause the value of the marginal product of imports to deviate from the expected marginal cost of imported goods. Under risk aversion, θ is positive, so the value of the marginal product of imports will exceed its expected market price. This implies that the quantity of imports will be lower under uncertainty. The solution to the system (7) and (8) is (9) and (10):

$$X_L^* = X_L^*(W_L, W_M, p, \bar{R}, \theta_1), \quad (9)$$

$$X_M^* = X_M^*(W_L, W_M, p, \bar{R}, \theta_M). \quad (10)$$

Equations (9) and (10) are the demand functions that indicate the quantity of each factor to be hired as a function of factor price and output. Assuming that these equations have a solution, it is meaningful to perform comparative statics of the profit maximization model to know the changes in the use of factors due to changes in prices and TC.

The comparative statics results showed that the demand for imports (traded volume) responds negatively to exchange rate uncertainty and positively to changes in the exchange rate. The price of imports responds positively to changes in the TC; the demand for domestic inputs responds positively to changes in the price of production outputs; the demand for labor responds negatively to changes in its price; and the demand for imported inputs responds negatively to changes in its price. The above results were used to guide the empirical analysis.

mercado. Esto implica que la cantidad de importaciones será menor bajo condiciones de incertidumbre. La solución al sistema (7) y (8) es (9) y (10):

$$X_L^* = X_L^*(W_L, W_M, p, \bar{R}, \theta_1), \quad (9)$$

$$X_M^* = X_M^*(W_L, W_M, p, \bar{R}, \theta_M). \quad (10)$$

Las ecuaciones (9) y (10) son las funciones de demanda que indican la cantidad de cada factor que se contratará en función del precio del factor y del producto. Al suponer que estas ecuaciones tienen solución, resulta significativo realizar estática comparativa del modelo de maximización de beneficios para conocer los cambios en el uso de factores debido a cambios en precios y TC.

Los resultados de estática comparativa mostraron que la demanda por importaciones (volumen comercializado) responde de forma negativa a la incertidumbre del tipo de cambio y de manera positiva a las variaciones en el tipo de cambio. El precio de las importaciones responde de forma positiva a los cambios en el TC; la demanda de insumos internos responde de manera positiva a los cambios en el precio de la producción; la demanda de trabajo responde de forma negativa a los cambios en su precio y la demanda de insumos importados responde de manera negativa a los cambios en su precio. Los resultados anteriores se utilizaron para guiar el análisis empírico.

Estimación empírica

La teoría del comercio internacional proporciona poca orientación sobre la forma adecuada de especificación de la función de demanda por importaciones. Dos de las formas funcionales más utilizadas en la literatura son la lineal y la logarítmica (Romero-Tellaeche, 2019). Sin embargo, la especificación log-lineal se prefiere sobre la lineal. En este estudio, la demanda de importación de México de maíz procedente de Estados Unidos se representó y estimó como una ecuación log-lineal.

$$Qc^* = \beta_0 + \beta_1 YMX + \beta_2 Pm + \beta_3 Ps + \beta_4 Di + \beta_5 ER + \beta_6 Vi + \varepsilon_i \quad (11)$$

donde: Qc^* es la cantidad de maíz importado de México desde Estados Unidos, YMX es el ingreso real per cápita del importador, Pm es el precio real en frontera del producto importado, y Ps es el precio de un bien sustituto; el sustituto del maíz importado fue el sorgo importado. Di es una variable ficticia para indicar los efectos de la liberalización comercial (la existencia de aranceles), ER es el tipo de cambio del peso MXN por dólar USD, y Vi

Empirical estimation

International trade theory provides little guidance on the appropriate form of specification of the import demand function. Two of the most commonly used functional forms in the literature are the linear and the logarithmic (Romero-Tellaeche, 2019). However, the log-linear specification is preferred over the linear one. In this study, the import demand of México for maize from the United States was represented and estimated as a log-linear equation.

$$Qc^* = \beta_0 + \beta_1 YMX + \beta_2 Pm + \beta_3 Ps + \beta_4 Di + \beta_5 ER + \beta_6 Vi + \varepsilon_i \quad (11)$$

where: Qc^* is the quantity of maize imported into Mexico from the United States, YMX is the real per capita income of the importer, Pm is the real border price of the imported product, and Ps is the price of a substitute good; the substitute for imported maize was the imported sorghum. Di is a dummy variable to indicate the effects of trade liberalization (the existence of tariffs), ER is the exchange rate of the MXN peso per USD, and Vi is a measure of exchange rate volatility. Two measures of volatility were tested, one at a time, in each equation.

The econometric estimation consisted of four steps. The first was the unit root test to determine whether the data were stationary. This was followed by estimation of the exchange rate volatility measure, which was incorporated as an explanatory variable. Next, the cointegration analysis used the time series data to estimate the long-term relationship among exchange rate movements and a set of explanatory variables. The error correction model (MCE) was used to determine the short-term effects of exchange rate movements on trade flows. Dickey and Phillips and Perron unit root tests were also applied (Gómez and Rodríguez, 2015).

Estimation of the measure of exchange rate volatility

The objective of this study was to investigate the possible impact of different measures of exchange rate volatility on agricultural trade flows. Although it is recognized in the published literature that exchange rate volatility induces additional uncertainty in the international trade, there is no consensus on how to measure it. The economic theory does not provide clear guidance on the characteristics of an appropriate volatility measure (Clark *et al.*, 2004). Therefore, two volatility measures were used; the first was the moving average of the exchange rate standard deviation (Serenis and Tsounis, 2012)

es una medida de la volatilidad del tipo de cambio. Dos medidas de volatilidad se probaron, una a la vez, en cada ecuación.

La estimación econométrica consistió en cuatro pasos. El primero fue la prueba de raíz unitaria para determinar si los datos eran estacionarios. Después, la estimación de la medida de volatilidad del tipo de cambio, la cual se incorporó como variable explicativa. Luego, en el análisis de cointegración se usaron los datos de series de tiempo para estimar la relación de largo plazo entre los movimientos del tipo de cambio y un conjunto de variables explicativas. El modelo de corrección de errores (MCE) se utilizó para determinar los efectos a corto plazo de los movimientos del tipo de cambio sobre los flujos de comercio. También se aplicó las pruebas de raíz unitaria de Dickey and Phillips y Perron (Gómez y Rodríguez, 2015).

Estimación de la medida de volatilidad de la tasa de cambio

El objetivo de este estudio fue investigar el posible impacto de diferentes medidas de volatilidad del tipo de cambio sobre los flujos comerciales agrícolas. Si bien se reconoce en la literatura publicada que la volatilidad del tipo de cambio induce incertidumbre adicional en el comercio internacional, no existe consenso sobre cómo medirla. La teoría económica no proporciona una guía clara sobre las características de una medida de volatilidad apropiada (Clark *et al.*, 2004). Por lo tanto, se usaron dos medidas de volatilidad; la primera fue el promedio móvil de la desviación estándar del tipo de cambio (Serenis y Tsounis, 2012) y la segunda fue una medida de volatilidad basada en un proceso GARCH (autorregresivo generalizado con heterocedasticidad condicional) (Arize *et al.*, 2005).

Prueba de cointegración

Debido a la presencia de raíz unitaria en cada serie, una condición previa para encontrar una relación estable de largo plazo es la cointegración entre las variables. Un vector de variables está cointegrado si existe una combinación lineal de variables que genere un proceso estocástico estacionario. Según Hjalmarsson y Österholm (2009) este enfoque inicia con una representación de X_t como un VAR sin restricciones de orden k_{th} :

$$X_t = c + \pi_1 X_{t-1} + \pi_2 X_{t-2} \dots \pi_k X_{t-k} + \mu + \psi TD + \Phi D_t + \varepsilon_t \quad (12)$$

($t = 1, \dots, T$)

donde X_t es un vector de variables p $I(1)$, D_t = once variables ficticias estacionales, π_i es una matriz (pxp) de parámetros, c = es el vector ($px1$) de términos constantes, TD = son variables ficticias, y ε es el término de error. El sistema en (12) se expresa

and the second was a volatility measure based on a generalized autoregressive conditional heteroskedasticity (GARCH) process (Arize *et al.*, 2005).

Cointegration test

Due to the presence of a unit root in each series, a precondition for finding a stable long-term relationship is cointegration among the variables. A vector of variables is cointegrated if there is a linear combination of variables that generates a stationary stochastic process. According to Hjalmarsson and Österholm (2009), this approach starts with a representation of X_t as a VAR without k_{th} order restrictions:

$$X_t = c + \pi_1 X_{t-1} + \pi_2 X_{t-2} \dots \pi_k X_{t-k} + \mu + \psi TD + \Phi D_t + \varepsilon_t \quad (12)$$

($t = 1, \dots, T$)

where X_t is a vector of p variables $I(1)$, D_t = eleven seasonal dummy variables, π_i is a matrix (pxp) of parameters, c is the vector ($px1$) of constant terms, TD = are dummy variables, and ε is the error term. The system in (12) is expressed in first differences. Then, using $\nabla = 1 - L$, where L is the lag operator, the model can be reparameterized as:

$$\nabla X_t = C + \Gamma_1 \nabla X_{t-1} + \Gamma_2 \nabla X_{t-2} + \dots + \Gamma_{k-1} \nabla X_{t-k+1} - \Pi X_{t-k} + \Phi D_t + \varepsilon_t \quad (13)$$

$$\text{donde: } \Gamma_i = -I + \pi_1 + \dots + \pi_i, \gamma - \Pi = I - \pi_1 - \pi_2 - \dots - \pi_k;$$

con $\forall i = 1, 2, \dots, k-1$

The coefficient matrix of X_{t-k} , Π , contains information about the long-term relationships among the variables in the data vector. If Π has full range, then X is a stationary process. In such a case, an undifferenced VAR model is appropriate. But if Π has zero range, then Π is a null matrix and X_t is an integrated process; only in this case a traditional VAR model in first differences is appropriate. However, if $0 < \text{range}(\Pi) = r < p$, cointegration holds and Π is represented as a product of two matrices (pxr); α and β , such that $\Pi = \alpha\beta'$.

β 's are the cointegrated vectors and α 's are their weights. In this case, $\beta'X_t$ is stationary. The long-term equilibrium is unique only when $r = 1$.

en primeras diferencias. Luego, al usar $\nabla = 1 - L$, donde L es el operador de rezago, el modelo se puede reparametrizar como:

$$\nabla X_t = C + \Gamma_1 \nabla X_{t-1} + \Gamma_2 \nabla X_{t-2} + \dots + \Gamma_{k-1} \nabla X_{t-k+1} - \Pi X_{t-k} + \Phi D_t + \varepsilon_t \quad (13)$$

donde: $\Gamma_i = -I + \pi_1 + \dots + \pi_i$, $\gamma - \Pi = I - \pi_1 - \pi_2 - \dots - \pi_k$; con $\forall i = 1, 2, \dots, k-1$

La matriz de coeficientes de X_{t-k} , Π , contiene información sobre las relaciones de largo plazo entre las variables en el vector de datos. Si Π tiene amplitud completa, entonces X es un proceso estacionario. En tal caso, un modelo VAR no diferenciado es apropiado. Pero si Π tiene amplitud cero, entonces Π es una matriz nula y X_t es un proceso integrado; sólo en este caso un modelo VAR tradicional en primeras diferencias es apropiado. Sin embargo, si $0 < \text{range}(\Pi) = r < p$, la cointegración se mantiene y Π se representa como producto de dos matrices (pxr); α and β , de tal forma que $\Pi = \alpha\beta'$.

β 's son los vectores cointegrados y α 's son sus pesos. En este caso, $\beta'X_t$ es estacionario. El equilibrio a largo plazo es único solo cuando $r = 1$.

Relaciones dinámicas de corto plazo y modelo de corrección de errores (MCE)

Desde la introducción del VCE, el uso de estos modelos demostró ser muy útil para vincular los resultados a largo plazo con la dinámica a corto plazo de un proceso económico. Engle y Granger (1987) establecieron que los VCE implican cointegración y, a la inversa, las series cointegradas implican una representación de corrección de errores para un modelo económico. Una vez estimadas las relaciones de cointegración a largo plazo, se reformuló la ecuación (13) para estimar el VCE con el término de corrección de error (TCE) incluido de manera explícita. Si se considera la reformulación de un VAR sin restricciones como un VCE, en ecuación (14).

$$\Delta Z_t = \sum_{j=1}^{k-1} \Gamma_j \Delta Z_{t-j} + \Pi Z_{t-k} + \Phi D_t + \mu + \varepsilon_t \quad (14)$$

donde: $\Pi = \alpha\beta'$, β representa la matriz de coeficientes de largo plazo, y α la velocidad de ajuste dado un desequilibrio. Para la estimación del VCE, el TCE se incorporó en la ecuación (14) para obtener una versión empírica del modelo (ecuación 15).

Short-term dynamic relationships and error correction model (MCE)

Since the introduction of the VCE, the use of these models proved to be very useful in linking long-term results with the short-term dynamics of an economic process. Engle and Granger (1987) established that VCEs imply cointegration and, conversely, cointegrated series imply an error correction representation for an economic model. Once the long-term cointegrating relationships were estimated, equation (13) was reformulated to estimate VCE with the error correction term (TCE) explicitly included. Consider the reformulation of an unrestricted VAR as a VCE, in equation (14).

$$\Delta Z_t = \sum_{j=1}^{k-1} \Gamma_j \Delta Z_{t-j} + \Pi Z_{t-k} + \Phi D_t + \mu + \varepsilon_t \quad (14)$$

where: $\Pi = \alpha\beta'$, β represents the long-term coefficient matrix, and α the speed of adjustment given an imbalance. For the estimation of the VCE, the TCE was incorporated in equation (14) to obtain an empirical version of the model (equation 15).

$$\Delta Z_t = \sum_{j=1}^{k-1} \Gamma_j \Delta Z_{t-j} + \alpha(\tilde{\beta}_1 \tilde{Z}_{t-1}) + \Phi D_t + \mu + \varepsilon_t \quad (15)$$

where the terms $\sum_{j=1}^{k-1} \Gamma_j \Delta Z_{t-j}$ and $\alpha(\tilde{\beta}_1 \tilde{Z}_{t-1})$ are the autoregressive vector component (VAR) in first differences, and the error correction component. In this formulation, Z_t is a vector (px1) of variables $I(1)$ and Γ_j is a matrix (pxp) representing short-term adjustments among variables through p equations. The parameter $\tilde{\beta}_1$ is a vector of cointegration (pxr) present in the system and Δ denotes first differences. α is a matrix (pxr) of adjustment speed parameters. D_t is a set of monthly dummy variables, μ is a vector of constant (px1), and ε_t is a vector (px1) of error terms. Thus, the model specified in equation (15) was estimated to determine the short-term relationships between the variables included in the model.

The estimated coefficients and their corresponding t-statistic are reported along with the R^2 , adjusted R^2 and diagnostic statistics. The estimated coefficients represent short-term elasticities. The coefficient of the TCE must be negative and significant to ensure dynamic stability of the model. It also reconfirms long-term cointegration.

$$\Delta Z_t = \sum_{j=1}^{k-1} \Gamma_j \Delta Z_{t-j} + \alpha(\hat{\beta}_1 \tilde{Z}_{t-1}) + \phi D_t + \mu + \varepsilon_t \quad (15)$$

donde los términos respectivos $\sum_{j=1}^{k-1} \Gamma_j \Delta Z_{t-j}$ y $\alpha(\hat{\beta}_1 \tilde{Z}_{t-1})$ son el componente del vector autorregresivo (VAR) en primeras diferencias, y el componente de corrección de errores. En esta formulación, Z_t es un vector (px1) de variables I(1) y Γ_j es una matriz (pxp) que representa ajustes de corto plazo entre variables a través de p ecuaciones. El parámetro $\hat{\beta}_1$ es un vector de cointegración (pxr) presente en el sistema y Δ denota primeras diferencias. La α es una matriz (pxr) de parámetros de velocidad de ajuste. D_t es un conjunto de variables ficticias mensuales, μ es un vector de constante (px1), y ε_t es un vector (px1) de términos de error. Así, el modelo especificado en ecuación (15) se estimó para determinar las relaciones a corto plazo entre las variables incluidas en el modelo.

Los coeficientes estimados y su correspondiente estadístico t se reportan junto con el R^2 , el R^2 ajustado y estadísticos de diagnóstico. Los coeficientes estimados representan elasticidades a corto plazo. El coeficiente del TCE debe ser negativo y significativo para garantizar la estabilidad dinámica del modelo. También reconfirma la cointegración a largo plazo.

Prueba de hipótesis sobre los vectores de cointegración

Las pruebas de hipótesis formales se realizaron sobre resultados obtenidos de los VCE para determinar si el tipo de cambio y su volatilidad tienen efectos significativos en los flujos comerciales entre México y Estados Unidos. Las siguientes hipótesis se probaron: 1) los cambios en el tipo de cambio y su volatilidad tienen un efecto no significativo en las importaciones, esto se representó como $H_0: \beta_{er} = 0$, $H_0: \beta_v = 0$; 2) el efecto combinado del tipo de cambio y su volatilidad sobre los flujos comerciales no es significativo, la cual se representó como $H_0: \beta_{er} = \beta_v = 0$; y 3) la hipótesis sobre la igualdad de coeficientes; la conveniencia de utilizar la tasa de cambio como una variable separada en el modelo se probó como $H_0: \beta_{er} = \beta_{precio}$. Las hipótesis se probaron con el estadístico t para coeficientes individuales y con el F para los coeficientes conjuntos.

Origen y descripción de los datos

Este estudio se centró en el período enero 1991- diciembre 2019. Este período se seleccionó porque sucedieron cambios importantes en el comercio de maíz y en los movimientos del tipo de cambio (Cuadro 1).

Hypothesis test on cointegrating vectors

Formal hypothesis tests were performed on results obtained from the VCEs to determine whether the exchange rate and its volatility have significant effects on trade flows between Mexico and the United States. The following hypotheses were tested: 1) changes in the exchange rate and its volatility have a non-significant effect on imports, and this was represented as $H_0: \beta_{er} = 0$, $H_0: \beta_v = 0$; 2) the combined effect of the exchange rate and its volatility on trade flows is not significant, which it was represented as $H_0: \beta_{er} = \beta_v = 0$; and 3) the hypothesis on the equality of coefficients; the appropriateness of using the exchange rate as a separate variable in the model was tested as $H_0: \beta_{er} = \beta_{price}$. Hypotheses were tested with the t-statistic for individual coefficients, and the F-statistic for joint coefficients.

Data source and description

This study focused on the period January 1991- December 2019. This period was selected because some important changes in maize trade and exchange rate movements occurred (Table 1).

RESULTS AND DISCUSSION

The results of the unit root test showed that for all variables, the null hypothesis of unit root was not rejected when the data were at $p \leq 0.05$ (Table 2). However, H_0 was rejected when the data were used in first differences. The conclusion was that all variables are integrates of order one.

Cointegration test results

The estimated cointegrating relationship represents the long-term stable relationship to which the system variables tend to return in the long term (Chiatchoua *et al.*, 2016). The value of the trace and maximum eigenvalue test statistics were used to determine the presence and number of cointegrating relationships in the VAR (Hjalmarsson and Österholm, 2009).

The trace statistic rejected the null hypothesis of no cointegration significant at $p \leq 0.05$. This indicates the presence of cointegrated vectors in the system (Table 3). Therefore, there is a long-term relationship among the variables imported maize volume and the explanatory variables. Araujo-Enciso (2010) and Jaramillo-Villanueva *et al.* (2015) showed that there is a long-term relationship between international and Mexican grain prices.

Cuadro 1. Descripción de los datos utilizados en la estimación de los modelos.
Table 1. Description of data used in model estimation.

Datos	Descripción	Fuentes
Tipo de cambio	Tipo de cambio nominal bilateral mensual México-Estados Unidos.	http://www.ers.usda.gov/Data/ExchangeRate .
IPC	IPC general mensual, 1990-2019. (Base junio 2012= 100).	http://www.banxico.org.mx .
PIB de México	PIB trimestral, millones de pesos. 2012=100	http://www.banxico.org.mx
Volumen de Maíz	Exportaciones mensuales de U.S. (MT), HS 4-DIG. 1990-2019.	https://apps.fas.usda.gov/gats/default.aspx
Precio del maíz importado	El precio en frontera es el cociente del valor y el volumen de las importaciones (\$US t ⁻¹)	https://apps.fas.usda.gov/gats/default.aspx
Precio de sorgo importado	El precio en frontera es el cociente del valor y el volumen de las importaciones (\$ US t ⁻¹)	https://apps.fas.usda.gov/gats/default.aspx

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la prueba de raíz unitaria mostraron que, para todas las variables, la hipótesis nula de raíz unitaria no se rechazó con los datos en $p \leq 0.05$ (Cuadro 2). Sin embargo, H_0 se rechazó cuando los datos se utilizaron en primeras diferencias. La conclusión fue que todas las variables son integradas de orden uno.

Resultados de la prueba de cointegración

La relación de cointegración estimada representa la relación estable de largo plazo a la cual las variables del sistema tienden a regresar en el largo plazo (Chiatchoua *et al.*, 2016). El valor de los estadísticos

The standardized results of the estimation of the cointegration equation (equation 11) were obtained (Table 4).

The coefficients of each model, V1 and VG, generated the following cointegration vectors, which represent long-term relationships:

$$Q_c = -0.831P_m + 0.769P_s + 0.712YMX + 0.384ER - 0.363V_1 - 0.239Dum \quad (16)$$

$$Q_c = -0.912P_m + 0.791P_s + 0.776YMX + 0.476ER - 0.496V_G + 0.221Dum \quad (17)$$

These equations are interpreted as the long-term demand functions for maize imports. In these, each variable exhibits the expected sign. The magnitude

Cuadro 2. Resultados de la prueba de raíz unitaria.
Table 2. Unit root test results.

Nombre de la variable	Datos en niveles		Datos en diferencias	
	Prueba ADF	Prueba PP	Prueba ADF	Prueba PP
Volumen de maíz importado	-2.813	-16.721	-17.206	-297.404
Ingresos real per cápita	-3.209	-15.192	-26.989	-479.322
Precio del maíz importado	-2.081	-10.003	-18.774	-370.218
Precio del sorgo importado	-3.193	-15.319	-26.839	-505.758
Precio del maíz doméstico	-2.293	-16.957	-14.269	-266.022
Tipo de cambio	-1.683	-5.926	-14.442	-257.236
Vol. del tipo de cambio V1	-1.508	-4.908	-18.799	-370.214
Vol. del tipo de cambio VG	-2.081	-10.003	-18.774	-370.218

Prueba ADF 5% valor crítico=-3.426; Prueba PP (Zrho) 5% valor crítico=21.386. ♦ ADF Test 5% critical value=-3.426; PP Test (Zrho) 5% critical value=21.386.

de prueba de la traza y del eigenvalor máximo se utilizaron para determinar la presencia y el número de relaciones de cointegración en el VAR (Hjalmarsson y Österholm, 2009).

El estadístico de la traza rechazó la hipótesis nula de no cointegración significativos en $p \leq 0.05$. Esto indica la presencia de vectores cointegrados en el sistema (Cuadro 3). Por tanto, existe una relación de largo plazo entre las variables volumen maíz importado y las explicativas. Araujo-Enciso (2010) y Jaramillo-Villanueva *et al.* (2015) mostraron que existe una relación de largo plazo entre los precios de granos internacionales y los de México.

Los resultados normalizados de la estimación de la ecuación de cointegración (ecuación 11) se obtuvieron (Cuadro 4).

of the coefficient of the own price suggests that the Mexican demand function for maize imports from the United States is inelastic.

The exchange rate elasticity indicated that it has a positive long-term effect on Mexican imports of maize from the United States, and this result is similar to that reported by Mora-Flores *et al.* (2003). Due to the positive sign of the price of a substitute product, the imported price of sorghum (P_s) is considered a substitute for the price of maize imported from the United States. As it was expected, the coefficient of exchange rate volatility had a negative sign. The magnitude of the coefficients of exchange rate and volatility indicated a significant effect on trade flows. Cho *et al.* (2002) reported that real exchange rate uncertainty had a negative and significant effect on

Cuadro 3. Determinación del número de vectores cointegrados.

Table 3. Determination of the number of cointegrated vectors.

Hipótesis nula	Modelo con V1		Modelo con VG		Valor crítico
	Eigen-valor	Traza	Eigen-valor	Traza	
$r = 0$	.	311.5	.	263.1	156.0
$r \leq 1$	0.257	205.5	0.203	182.3	124.2
$r \leq 2$	0.171	138.5	0.152	123.7	94.2
$r \leq 3$	0.150	80.6	0.125	76.1	68.5
$r \leq 4$	0.120	34.7 [†]	0.116	31.9 [†]	47.2
$r \leq 5$	0.050	16.5	0.050	13.5	29.7
$r \leq 6$	0.021	9.0	0.019	6.5	15.4

[†]Significativo en $p \leq 0.05$. ♦ Significant at $p \leq 0.05$.

Cuadro 4. Resultados de las regresiones de cointegración.

Table 4. Results of cointegration regressions.

	Coefficiente	Error estándar	Valor de t	Intervalo de confianza (95%)	
Pm	-0.83	0.3811	-2.18 [†]	-1.577	-0.083
Ps	0.769	0.3032	2.26 [†]	0.119	1.66
YMX	0.719	0.3321	2.91 [†]	0.371	0.901
ER	-0.384	0.1197	-3.21 [†]	0.149	0.619
V1	-0.363	0.0267	-13.57 [†]	-0.415	-0.31
Dum	-0.239	0.108	-2.22 [†]	-0.451	-0.028
Cons	15.375				
Pm	-0.912	0.457	-1.993	-1.949	0.126
Ps	0.79	0.342	2.28 [†]	0.178	2.342
YMX	0.776	0.323	2.33 [†]	0.185	2.159
ER	0.476	0.166	2.87 [†]	0.151	0.8
VG	-0.496	0.037	-13.32 [†]	-0.569	-0.423
Dum	-0.231	0.111	-2.074 [†]	-0.361	-0.016
Cons	13.376				

[†]Significativo en $p \leq 5\%$. ♦ Significant at $p \leq 0.05$

Los coeficientes de cada modelo, V1 y VG, generaron los siguientes vectores de cointegración que representan relaciones de largo plazo:

$$Q_c = -0.831P_m + 0.769P_s + 0.712Y_{MX} + 0.384ER - 0.363V_1 - 0.239Dum \quad (16)$$

$$Q_c = -0.912P_m + 0.791P_s + 0.776Y_{MX} + 0.476ER - 0.496V_G + 0.221Dum \quad (17)$$

Estas ecuaciones se interpretan como las funciones de demanda por importaciones de maíz a largo plazo. En estas, cada variable exhibe el signo esperado. La magnitud del coeficiente del precio propio sugiere que la función de demanda de México por importaciones de maíz proveniente de los Estados Unidos es inelástica.

La elasticidad de la tasa de cambio indicó que esta tiene efecto positivo a largo plazo sobre las importaciones mexicanas de maíz proveniente de Estados Unidos, y este resultado es similar al consignado por Mora-Flores *et al.* (2003). Debido al signo positivo del precio de un producto sustituto, el precio importado del sorgo (P_s) se considera un sustituto del precio del maíz importado de Estados Unidos. De acuerdo con lo esperado, el coeficiente de la volatilidad del tipo de cambio tuvo signo negativo. La magnitud de los coeficientes de tipo de cambio y de la volatilidad indicaron un efecto importante sobre los flujos de comercio. Cho *et al.* (2002) indicaron que la incertidumbre del tipo de cambio real tenía un efecto negativo y significativo en el comercio agrícola entre México y Estados Unidos; además, que el impacto negativo de la incertidumbre del tipo de cambio tenía un impacto mayor en los países en desarrollo que en los desarrollados.

Los pesos estimados (α 's) para las importaciones de maíz, en ambos modelos, sugieren que en caso de perturbaciones al sistema que afecten la relación de largo plazo, la cantidad importada respondería más rápido que cualquier otra variable para regresar el sistema al equilibrio de largo plazo.

Resultados del modelo MCE: la demanda por importaciones de maíz

A continuación, los resultados de la estimación de la demanda mexicana de importación de maíz de corto plazo (Cuadro 5).

agricultural trade between Mexico and the United States; also, that the negative impact of exchange rate uncertainty had a greater impact on developing countries than on developed countries.

The estimated weights (α 's) for maize imports, in both models, suggest that in case of shocks into the system that affect the long-term relationship, the quantity imported would respond faster than any other variable to return the system to long-term equilibrium.

Results of the MCE model: the demand for maize imports

Below, the results of the estimation of Mexican short-term maize imports demand (Table 5).

The F-statistics were significant, indicating that the goodness-of-fit was satisfactory. The value of the DW-h statistic rejected the presence of autocorrelation. The Jarque-Bera normality test did not reject the null hypothesis of error normality ($\text{prob} > \chi^2_2$; $p \leq 0.5$). The Lagrange multiplier (LM) statistic indicated that the null hypothesis of no autocorrelation cannot be rejected ($p \leq 0.05$). Therefore, the estimation of the demand function for maize imports appears satisfactory.

The coefficient of the own maize price exhibited negative sign and was significant in both the V1 and VG models. The value of the own price elasticity ranged between 0.23 and 0.25.

The coefficient of the substitute product price exhibited positive sign and was significant ($p \leq 0.05$) in both models. The estimated value of the cross-price elasticity was 0.21 for the VG model and 0.19 for V1. The above results are consistent with those obtained from the long-term analysis (Table 4); which are consistent with a negative effect of exchange rate volatility on agricultural trade flows (Cho *et al.*, 2002; Moslares and Ekanayake, 2015; Devadoss and Sabala, 2020).

Sorghum produced in Mexico and imported sorghum are substitutes for maize imported from the United States. The small value of the price elasticity reflects the fact that there are few substitution possibilities for Mexican maize imports from USA. Other sources for maize imports into Mexico are unlikely to be viable as long as the country enjoys trade preferences (until 2020) due to the North American Free Trade Agreement (NAFTA) and

Cuadro 5. Resultados del MCE: demanda mexicana por importación de maíz en EE.UU.
Table 5. Results of the MCE: Mexican import demand for maize from USA.

Modelo V1	Coefficiente estimado	Error estándar	t	Modelo VG	Coefficiente estimado	Error estandar	t
QC _{t-6}	0.087	0.0438	1.986 [†]	QC _{t-6}	0.121	0.0476	2.542 [†]
YMX _{t-9}	0.186	0.0267	6.969 [†]	YMX _{t-9}	0.195	0.0149	13.067 [†]
ER _{t-3}	0.222	0.0995	2.232 [†]	ER _{t-3}	0.256	0.0922	2.776 [†]
V1 _{t-1}	-0.128	0.0710	-1.802	VG _{t-1}	-0.157	0.0271	-5.785 [†]
PCO _{t-4}	-0.255	0.0648	-3.936 [†]	PCO _{t-4}	-0.239	0.0627	-3.814 [†]
PMX _{t-1}	0.191	0.0587	3.251 [†]	PMX _{t-1}	0.209	0.0582	3.591 [†]
ECT _{t-1}	-0.019	0.0036	-5.136 [†]	ECT _{t-1}	-0.021	0.0036	-5.836 [†]
NAFTA	0.234	0.0899	2.597 [†]	NAFTA	1.261	0.4542	2.776 [†]
M3	0.393	0.2400	1.637	M3	0.224	0.2327	0.963
M9	0.376	0.1548	2.429 [†]	M9	0.303	0.1549	1.956
Constant	0.911	0.2101	4.337 [†]	Constant	0.583	0.2074	2.811 [†]
R ²	0.355			R ²	0.389		
R ² adj.	0.347			R ² adj.	0.374		
F-value	10.288 [†]			F-value	15.01 [†]		
DW-h	-1.792			DW-h	-1.882		
J-B	8.88		9.110 [†]	J-B	8.875		9.222 [†]
L.M stat.	29.88		35.172 [†]	L.M stat.	29.061		37.218 [†]

[†]Significativo con $p \leq 0.05$; t = estadístico de prueba para coeficiente individual. ♦ [†]Significant at $p \leq 0.05$; t = test statistic for individual coefficient.

Los estadísticos F fueron significativos, lo cual indica que la bondad de ajuste fue satisfactoria. El valor del estadístico DW-h rechazó la presencia de autocorrelación. La prueba de normalidad de Jarque-Bera no rechazó la hipótesis nula de normalidad de los errores ($\text{prob} > \text{Chi}^2$; $p \leq 0.5$). El estadístico del multiplicador de Lagrange (LM) indicó que la hipótesis nula de no autocorrelación no puede rechazarse ($p \leq 0.05$). Por lo tanto, la estimación de la función de demanda por importaciones de maíz parece satisfactoria.

El coeficiente del precio propio del maíz exhibió signo negativo y fue significativo, tanto en el modelo V1 como en el VG. El valor de la elasticidad del precio propio varió entre 0.23 y 0.25.

El coeficiente del precio del producto sustituto exhibió signo positivo y fue significativo ($p \leq 0.05$) en ambos modelos. El valor estimado de la elasticidad de precios cruzada fue 0.21 para el modelo VG y 0.19 para el V1. Los resultados anteriores son consistentes con los obtenidos del análisis de largo plazo (Cuadro 4); los cuales concuerdan con un efecto negativo de la volatilidad del tipo de cambio sobre los flujos comerciales agrícolas (Cho *et al.*, 2002; Moslares y Ekanayake, 2015; Devadoss y Sabala, 2020).

lower transportation costs. The positive coefficient of income suggests a direct relationship between income and quantity of maize imported. The estimated values of income elasticity ranged from 0.086 to 0.125.

Díaz and Rodríguez (2010) found that the apparent demand for maize in Mexico increased because the demand for meat increased. Since domestic maize production has little growth, it can be inferred that as income increases in Mexico, maize imports will continue to increase. The growing Mexican demand for maize was satisfied by the imports increased after the NAFTA came into effect in the 1990's.

Regarding the exchange rate, the models showed positive and significant coefficients. These results are consistent with the hypothesis that an USD depreciation makes imports from Mexico less costly and increased. The estimated values of the coefficients ranged from 0.22 for the V1 model to 0.25 for the VG. As a similar background Babula *et al.* (1995) found that the exchange rate showed moderate significant effects on U.S. maize trade between 1978-1995.

With both models, the coefficient of exchange rate volatility was significant and negative. This

El sorgo producido en México y el importado son substitutos del maíz importado de Estados Unidos. El valor pequeño de la elasticidad del precio refleja el hecho de que existen pocas posibilidades de sustitución para las importaciones mexicanas de maíz de Estados Unidos. Otras fuentes de importación de maíz a México son poco viables mientras el país disfrute de preferencias comerciales debido (hasta 2020) al Tratado de libre comercio de América del Norte (NAFTA) y a los costos de transporte menores. El coeficiente positivo del ingreso sugiere una relación directa entre ingreso y cantidad de maíz importado. Los valores estimados de la elasticidad del ingreso fluctuaron entre 0.086 y 0.125.

Díaz y Rodríguez (2010) observaron que la demanda aparente de maíz en México aumentó debido a que la demanda de carne se incrementó. Debido a que la producción nacional de maíz tiene poco crecimiento, se puede inferir que a medida que aumenten los ingresos en México la importación de maíz seguirá incrementando. La demanda de maíz creciente mexicana se satisfizo por las importaciones que aumentaron a partir de la entrada en vigor del NAFTA en los 1990's.

En lo relativo a la tasa de cambio, los modelos arrojaron coeficientes positivos y significativos. Estos resultados son consistentes con la hipótesis de que una depreciación del dólar USD hace que las importaciones de México resulten menos costosas y aumenten. Los valores estimados de los coeficientes fluctuaron entre 0.22 para el modelo V1 y 0.25 para el VG. Como antecedente similar Babula *et al.* (1995) encontraron que el tipo de cambio mostró efectos significativos moderados en el comercio de maíz con Estados Unidos entre 1978-1995.

Con ambos modelos, el coeficiente de la volatilidad del tipo de cambio fue significativo y negativo. Esto sugiere que en el corto plazo la volatilidad reduce las importaciones mexicanas de maíz desde Estados Unidos. Así, los importadores aversos al riesgo se desalientan por episodios de volatilidad alta en el tipo de cambio (López y Bush, 2019). El efecto de la volatilidad parece importante porque los valores estimados variaron de -0.16 para el modelo VG a -0.13 para el V1. Estos resultados sugieren que las coberturas para reducir los efectos de la incertidumbre no fueron muy efectivas en el comercio de maíz entre México y Estados Unidos durante el período de estudio. El coeficiente del TCE fue negativo y significati-

suggests that in the short-term volatility reduces Mexican maize imports from the United States. Thus, risk-averse importers are discouraged by episodes of high exchange rate volatility (Lopez and Bush, 2019). The volatility effect seems important because the estimated values ranged from -0.16 for the VG model to -0.13 for V1. These results suggest that hedges to reduce the effects of uncertainty were not very effective in maize trade between Mexico and the United States along the study period. The coefficient of TCE was negative and significant in both models. This corroborates results of the long-term analysis and confirms the presence of cointegrated vectors in the system. The magnitude of the TCE coefficient value suggests a slow adjustment towards long-term equilibrium.

Hypotheses test results

The null hypotheses related to the effects of exchange rate and exchange rate volatility on maize trade flows between Mexico and the United States, for the short and long term were rejected ($p \leq 0.05$; Table 6). Thus, it was confirmed that both the exchange rate and its volatility have significant influence on trade flows.

In the joint test on the coefficients of the exchange rate and its volatility, the null hypothesis was rejected ($p \leq 0.05$); the combined effect of the exchange rate and its volatility on trade flows in the short and long term were significant. Thus, if either of these variables is ignored in the analysis, bias due to misspecification would occur.

The exchange rate incorporated into the trade models expresses prices in common currency units or uses a composite variable of relative price. This implies that external prices and the exchange rate have equal coefficients. To determine whether this was appropriate, an equality constraint on the coefficients was formulated. The null hypothesis of equality of coefficients was rejected. This implies that in estimating the demand functions it is appropriate to include the exchange rate directly in the model.

Contributions of the model towards public policy

This study supplies both disciplinary and agricultural policy contributions. To our knowledge, this is the first time that cointegration analysis was

vo en ambos modelos. Esto corrobora los resultados del análisis de largo plazo y confirma la presencia de vectores cointegrados en el sistema. La magnitud del valor del coeficiente TCE sugiere un ajuste lento hacia el equilibrio de largo plazo.

Resultados de las pruebas de hipótesis

Las hipótesis nulas relacionadas con los efectos del tipo de cambio y la volatilidad del tipo de cambio en los flujos comerciales de maíz entre México y Estados Unidos, para el corto y largo plazo se rechazaron ($p \leq 0.05$; Cuadro 6). Así, se confirmó que tanto el tipo de cambio como su volatilidad tienen influencia significativa en los flujos comerciales.

En la prueba conjunta sobre los coeficientes del tipo de cambio y su volatilidad, la hipótesis nula se rechazó ($p \leq 0.05$); el efecto combinado del tipo de cambio y su volatilidad sobre los flujos comerciales en el corto y largo plazos fueron significativos. Entonces, si cualquiera de estas variables se ignorase en el análisis, podría producirse sesgo debido a especificación incorrecta.

El tipo de cambio incorporado a los modelos comerciales expresa los precios en unidades monetarias comunes o utiliza una variable compuesta de precio relativo. Esto implica que los precios externos y el tipo de cambio tienen coeficientes iguales. Para determinar si esto era apropiado, se formuló una restricción de igualdad en los coeficientes. La hipótesis nula de igualdad de coeficientes se rechazó. Esto implica que al estimar las funciones de demanda es

used to generate long-term effects of changes in the exchange rate and its volatility on Mexican agricultural trade flows. The use of the error correction model generated the short-term effects of those variables on trade flows. In the absence of consensus in the literature on the appropriate specification of the exchange rate volatility measure, the goal was to identify an appropriate measure.

From this, valuable information was generated on the extent to which exchange rate movements contribute to the performance of Mexico's international maize trade. The exchange rate and exchange rate volatility showed both short and long-term effects on trade flows. These results can support maize traders to the better assessment of the exchange rate movements (opportunities) and risks.

CONCLUSIONS

Regarding the Mexican demand for maize imports, the exchange rate showed a positive and significant effect on Mexico-USA trade flows; due to the volatility of the exchange rate, a negative impact was identified in the short and long term. The specification of exchange rate volatility is important, because different volatility measures generate different elasticity values.

To the aforementioned, it follows that excluding these variables from trade models can lead to model misspecification and biased results; therefore, it is appropriate to include the exchange rate in the model evaluated.

Cuadro 6. Resultados de la prueba a corto plazo sobre la significancia de los coeficientes.
Table 6. Results of the short-term test on the significance of the coefficients.

$H_0: \beta_{er} = 0, \beta_v = 0$	Valor crítico	Estadístico t	
		β_{er}	β_v
Modelo V1	1.96	2.222 [†]	2.809 [†]
Modelo VG	1.96	2.646 [†]	3.326 [†]
$H_0: \beta_{er} = \beta_v = 0$	Valor crítico	Estadístico F	
		Estadístico F	
Modelo V1	3.00	4.704 [†]	
Modelo VG	3.00	8.802 [†]	
β -restricciones: $H_0: \beta_{ij} = \beta_{kj}$ for $i, j = 1, 2, 3, \dots, p$	Valor crítico	Estadístico F	
		Estadístico F	
Modelo V1	3.84	7.198 [†]	
Modelo VG	3.84	9.540 [†]	

[†]Valores críticos de t y F significativos con $p \leq 0.05$; t = estadístico de prueba para coeficiente individual; F = estadístico de prueba para coeficientes conjuntos. ♦ [†]Critical values of t and F significant at $p \leq 0.05$; t = test statistic for individual coefficient; F = test statistic for joint coefficients.

apropiado incluir el tipo de cambio de manera directa en el modelo.

Contribuciones del modelo hacia política pública

Este estudio realizó contribuciones disciplinarias y de política agrícola. Hasta donde tenemos conocimiento, esta es la primera vez que el análisis de cointegración se utilizó para generar efectos de largo plazo de las modificaciones en el tipo de cambio y su volatilidad en los flujos comerciales agrícolas mexicanos. El modelo de corrección de error utilizado generó los efectos a corto plazo de esas variables sobre los flujos comerciales. A falta de consenso en la literatura sobre la especificación apropiada de la medida de volatilidad del tipo de cambio, la meta fue identificar una medida apropiada.

A partir de ésta, se generó información valiosa sobre la medida en que los movimientos del tipo de cambio contribuyen al desempeño del comercio internacional de maíz por parte de México. El tipo de cambio y la volatilidad del tipo de cambio mostraron efectos de corto y largo plazos sobre los flujos comerciales. Estos resultados pueden apoyar a los comercializadores de maíz a evaluar mejor los movimientos (oportunidades) y riesgos en el tipo de cambio.

CONCLUSIONES

Respecto a la demanda de importación de maíz de México, el tipo de cambio mostró efecto positivo y significativo sobre los flujos comerciales México-Estados Unidos; debido a la volatilidad del tipo de cambio se identificó impacto negativo en el corto y largo plazos. La especificación de la volatilidad del tipo de cambio es importante, porque medidas de volatilidad diferentes generan valores de elasticidad diferentes.

De lo anterior se deriva que el excluir estas variables de los modelos de comercio puede generar una especificación incorrecta del modelo y resultados sesgados; por lo tanto, es apropiado incluir el tipo de cambio en el modelo evaluado.

Por la naturaleza del análisis y el producto involucrado este estudio aporta hacia política pública. En primer lugar, evidencia sobre cómo las modificaciones en el tipo de cambio y en la volatilidad afectan los flujos comerciales de maíz entre México y Estados Unidos. Luego, los resultados del análisis de cointegración sugieren que los volúmenes comerciales entre

Due to the nature of the analysis and the product involved, this study contributes to public policy. First, evidence on how changes in the exchange rate and volatility affect maize trade flows between Mexico and the United States. Then, results of the cointegration analysis suggest that trade volumes between Mexico and the United States are sensitive to both short-term and long-term changes.

—End of the English version—



México y Estados Unidos son sensibles a los cambios tanto a corto como a largo plazo.

LITERATURA CITADA

- Appelbaum, E., and U. Kohli. 1997. Import price uncertainty and distribution of income. *Rev. Econ. Stat.* 79: 620-630. <https://doi.org/10.1162/003465397557024>.
- Araujo-Enciso, S. R. 2010. Socioeconomic factors and its influence in vertical price transmission: the case of the Mexican tortilla industry. *International EAAE-SYAL Seminar on Spatial Dynamics in Agri-food Systems*. pp: 1-25.
- Arize, A. C., J. Malindretos, and E. Grivoyannis, C. 2005. Inflation-rate volatility and money demand: Evidence from less developed countries. *Int. Reviews Econ. Finance* 14: 57-80. <https://doi.org/10.1016/j.iref.2003.04.001>.
- Asteriou, D., K. Masatci, and K. Pilbeam. 2016. Exchange rate volatility and international trade: International evidence from the MINT countries. *Econ. Model.* 58: 133-140. <https://doi.org/10.1016/j.econmod.2016.05.006>.
- Babula, R. A., F. J. Ruppel, and D. A. Bessler. 1995. U.S. corn exports: the role of the exchange rate. *Agric. Econ.* 13: 75-88. <https://doi.org/10.1111/j.1574-0862.1995.tb00377.x>
- Bahmani-Oskooee, M., and S. W. Hegerty. 2009. The effects of exchange rate volatility on commodity trade between the United States and Mexico. *South. Econ. J.* 75: 1019-1044. <https://www.jstor.org/stable/27751431>. (Consultado: enero 2020).
- Bahmani-Oskooee, M., H. Harvey, and S. W. Hegerty. 2012. Exchange-rate volatility and industry trade between the U.S. and Korea. *J. Econ. Dev. Seoul.* 37: 1-27.
- Basurto, H. S., y R. Escalante S. 2015. Impacto de la crisis en el sector agropecuario en México. *Economía UNAM.* 9: 51-73. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=363533414004> (Consultado: enero 2020).
- Chiatchoua, C., O. Neme-Castillo, y A. Valderrama 2016. Inversión Extranjera Directa y empleo en México: análisis sectorial. *Economía Informa* 398: mayo-junio 2016. <https://www.elsevier.es/es-revista-economia-informa-114-pdf-S0185084916300044> (Consultado: agosto 2021).
- Cho, G., I. M. Sheldon, and S. McCorriston. 2002. Exchange

- rate uncertainty and agricultural trade. *Amer. J. Agr. Econ.* 84: 931-942. <https://doi.org/10.1111/1467-8276.00044>.
- Clark, P., N. Tamarisa, W. Shang-Jin, A. Sadikow, and L. Zeng. 2004. Exchange rate volatility and trade flows-some new evidence. *IMF Publication*. 2: 1-131.
- Devadoss, S., and E. Sabala. 2020. Effects of yuan-dollar exchange rate changes on world cotton markets. *J. Agr. Appl. Econ.* 20: 1-20. <https://doi.org/10.1017/aae.2020.12>.
- Díaz, C. M. Á., y G. Rodríguez L. 2010. Análisis de la oferta y demanda de la carne de cerdo en canal en México, 1980-2009. *Paradigma Económico* 2: 41-57.
- Erdem, E., S. Nazlioglu, and C. Erdem, 2010. Exchange rate uncertainty and agricultural trade: Panel cointegration analysis for Turkey. *Agr. Econ.* 41: 537-543. <https://doi.org/10.1111/j.1574-0862.2010.00469.x>.
- Gómez, A. M, y Rodríguez J. C. 2015. Análisis de la relación de causalidad entre el índice de precios del productor y del consumidor incorporando variables que capturan el mecanismo de transmisión monetaria: El caso de los países miembros del TLCAN. *EconoQuantum* 13: 73-95.
- Hjalmarsson E., y Österholm P. 2010. Testing for cointegration using the Johansen methodology when variables are near-integrated: size distortions and partial remedies. *Empir Econ* 39: 51-76. DOI: 10.1007/s00181-009-0294-6.
- Jaramillo-Villanueva, J. L., A. Yunez-Naude, and V. Serrano-Cote. 2015. Spatial integration of Mexico-US grain markets: The case of maize, wheat and sorghum. *EconoQuantum* 12: 57-70.
- López, N. G., and G. Bush. 2019. Uncertainty and exchange rate volatility: the case of Mexico. Banco de México. Working Papers no. 2019-12. <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3283374>.
- Mora-Flores, J. S., J. A. Matus-Gardea, and M. A. Martinez-Damian. 2003. Effects on the gross value of agriculture and cattle exports. *Agrociencia* 36: 389-399.
- Moslars, C., and E. M. Ekanayake. 2015. The impact of exchange rate volatility on commodity trade between the United States and Spain. *Int. J. Bus. Financ. Res.* 9: 37-49.
- Romero-Telleche, J.A. 2019. Import Demand for Intermediate Goods in Mexico: 1993-2018. *Atlantic Rev. Econs* 3: 1-27.
- SAGARPA (Secretaría de Agricultura Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2012. Diagnóstico del sector rural y pesquero. pp: 5-20.
- Secretaría de Economía. 2021. Comercio Exterior. Estadísticas históricas. <https://www.gob.mx/se/acciones-y-programas/comercio-exterior-estadisticas-historicas?state=published>. (Consultado: enero 2020).
- Serenis, D., and N. Tsounis. 2012. A new approach for measuring volatility of the exchange rate. *Procedia Economics and Finance (ICOAE Selected papers)* 1: 374-382. [https://doi.org/10.1016/S2212-5671\(12\)00043-3](https://doi.org/10.1016/S2212-5671(12)00043-3).
- Sheldon, I., S. K. Mishra, D. Pick, and S. R. Thompson. 2013. Exchange rate uncertainty and U.S. bilateral fresh fruit and fresh vegetable trade: an application of the gravity model. *Appl. Econ.* 45: 2067-2082. <https://doi.org/10.1080/00036846.2011.650330>.
- SIAP (Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2020. Estadísticas de la producción agrícola. <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-agricola-33119>. (Consultado: marzo 2020).
- USDA (United States Department of Agriculture). 2020. FAS On-line. United States Internet Trading System. <http://www.fas.usda.gov/ustrade/>. (Consultado: enero 2020).

INCOME DISTRIBUTION OF RURAL HOUSEHOLDS IN MEXICO

DISTRIBUCIÓN DEL INGRESO DE LOS HOGARES RURALES EN MÉXICO

Roberto Gallardo-Del Ángel¹, Mario Miguel Ojeda-Ramírez^{2*}, Cecilia Cruz-López³

¹Facultad de Economía. ²Facultad de Estadística e Informática. ³Instituto de Investigaciones Forestales. Universidad Veracruzana. Avenida Xalapa esquina. Avenida Manuel Ávila Camacho S/N, Colonia Obrero-Campesina, Xalapa, Veracruz; 91020 México. (mojeda@uv.mx).

ABSTRACT

Despite the efforts to reduce poverty in rural municipalities income inequality persists in Mexico. This study presents an analysis on rural household income distribution in the country, since it is argued that conditional federal transfers fail on improving income distribution among rural households. The hypothesis stated that, because of local public goods are also part of individual budget constraints, it is rational to think that an expansion in the provision of local public goods will increase total income and, if such public goods are financed with conditional grants that target low-income groups, it is expected that income inequality may decrease. Thus, the objective was to classify rural municipalities in order to observe which among them have benefited from federal grants and those that did not, finding the reasons why assuming grants are accepted as an instrument contributing to reduce poverty and income inequality in recent years. Each group was analysed as a cluster to observe the effect of federal transfers on rural household income distribution. Main results showed that municipalities with rural low income-inequality and better economic development indicators improve income distribution when obtaining unconditional grants. This means that, in such cases, those transfers designed to reduce poverty also reduce rural income inequality. But that was not the case for the high income-inequality groups, where conditional grants did not have any effect on inequality and, in some cases, inequality increased. For the rural high income-inequality group, unconditional grants showed not to have a positive effect on reducing inequality. The clustering and regression analyses revealed large heterogeneity in the rural areas in terms of income and economic development.

Key words: rural income-inequality, Gini index, Atkinson index, clustering, regression analysis.

RESUMEN

A pesar de los esfuerzos para reducir la pobreza en los municipios rurales la falta de equidad en el ingreso persiste en México. Este estudio constituye un análisis sobre la distribución del ingreso en los hogares rurales en el país, frente al argumento de que las transferencias federales condicionadas no logran mejorar la distribución del ingreso en los hogares rurales. La hipótesis planteó que debido a que los bienes públicos locales también son parte de las restricciones presupuestarias individuales, es razonable pensar que un aumento en la provisión de bienes públicos locales aumentará el ingreso total y, si dichos bienes públicos se financian con transferencias condicionadas dirigidas a grupos de bajos ingresos, se espera que la desigualdad de los ingresos disminuya. Entonces, el objetivo fue clasificar los municipios rurales y observar cuáles se han beneficiado de subvenciones federales y cuáles no; y descubrir las razones para ello bajo el supuesto de que las subvenciones se aceptan como un medio que contribuye a reducir la pobreza y la desigualdad de ingresos en años recientes. Cada grupo se analizó como un conglomerado para observar el efecto de las transferencias federales en la distribución del ingreso de los hogares rurales. Los resultados principales indicaron que en los municipios rurales donde hay desigualdad de ingresos baja y también indicadores de desarrollo económico más favorables, la distribución del ingreso mejora después de obtener subvenciones no condicionales. Esto significa que en tales casos esas transferencias diseñadas para reducir la pobreza también disminuyen la desigualdad de los ingresos rurales. Pero ese no fue el caso del grupo de desigualdad de ingresos alta, donde las subvenciones condicionales no tuvieron ningún efecto sobre la desigualdad y en algunos casos incluso aumentó. Para el grupo rural con desigualdad de ingresos alta, las subvenciones no condicionales demostraron no tener efecto positivo en la reducción de la desigualdad. El análisis de conglomerados y de regresión reveló una gran heterogeneidad en las áreas rurales en términos de ingresos y desarrollo económico.

* Author for correspondence ♦ Autor para correspondencia.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6161-3968>

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

Published in *Agrociencia* 55: 645-662. 2021.

INTRODUCTION

Income inequality along with poverty are important measures of economic development. Although both are important policy objectives, Feldstein (1998) argued in favour of redistribution policies based on poverty reduction rather than on adjusting income inequality. Around the same time, some poverty-reduction programs were implemented in developing countries, including México. Extensive cash transfers were handed to agricultural producers through *PROCAMPO* program, and to urban and rural poor families through *Progres*a and *Oportunidades* programs.

Campos-Vasquez *et al.* (2014) offered evidence that government cash transfers were important factors in reducing income inequality and Lustig *et al.* (2014) had similar conclusions. Lambert (2019) also agreed that direct transfers to households through different government programs such as non-contributing pensions, the Prospera program and social spending in health programs contributed to decrease poverty as well as income inequality. According to those authors, alleviating poverty also contributed on improving other development indicators such as reducing income inequality in the whole country.

But there are other examples of government transfers, which focused on alleviating poverty and improving rural incomes. One of these examples was set up in Vietnam with the New Rural Development Program (NRD). Do and Park (2018) conducted a national study in Vietnam providing empirical evidence that government assistance impacted rural household income through a transfer program. They analysed the NRD which aimed to develop infrastructure in rural areas. During the period 2010-2015 that program invested more than 32 billion dollars in development projects in rural areas in Vietnam and they found that those investments significantly reduced the income gap between urban and rural areas.

Uchiyama (2020) examined the vulnerability and effects of government programs (*Progres*a and *Oportunidades*) on households in rural México; that study confirmed the positive effects of these programs of cash transfers in reducing the vulnerability of households in the midst of the food price crisis since 2000 to 2010. Mora-Rivera and Cerón-Monroy (2015) carried out an analysis on the diversification

Palabras clave: desigualdad en ingresos rurales, índice de Gini, índice de Atkinson, agrupamiento, análisis de regresión.

INTRODUCCIÓN

La desigualdad de ingresos junto con la pobreza son indicadores importantes de desarrollo económico. Aunque ambos son objetivos de política importantes, Feldstein (1998) argumentó a favor de políticas de redistribución basadas en la reducción de la pobreza, más que en ajustar la desigualdad de los ingresos. Casi al mismo tiempo, se implementaron algunos programas de reducción de la pobreza en países en desarrollo, México incluido. Un número amplio de transferencias en efectivo se entregó a productores agrícolas a través del programa *PROCAMPO*, y a familias pobres en zonas urbanas y rurales a través de los programas *Progres*a y *Oportunidades*.

Campos-Vasquez *et al.* (2014) ofrecieron evidencia de que las transferencias de efectivo gubernamentales fueron importantes para reducir la desigualdad de ingresos, y Lustig *et al.* (2014) llegaron a conclusiones similares. Lambert (2019) también coincidió en que las transferencias directas a los hogares a través de programas gubernamentales diferentes como las pensiones no contributivas, el programa *Prospera* y el gasto social en programas de salud contribuyeron a disminuir la pobreza y la desigualdad de ingresos. Según esos autores, el alivio de la pobreza también contribuyó a mejorar otros indicadores de desarrollo, como la reducción de la desigualdad de ingresos en todo el país.

Pero hay otros ejemplos de transferencias gubernamentales que se centraron en aliviar la pobreza y mejorar los ingresos rurales. Uno de estos ejemplos se dio en Vietnam con su nuevo programa de desarrollo rural (NRD). Do y Park (2018) realizaron un estudio nacional en Vietnam que proporcionó evidencia empírica de que la asistencia del gobierno tuvo su impacto en los ingresos de los hogares rurales a través de un programa de transferencias. Esos autores analizaron el NRD que tenía como objetivo desarrollar infraestructura en áreas rurales. Durante el período 2010-2015 ese programa invirtió más de 32 mil millones de dólares en proyectos de desarrollo en áreas rurales de Vietnam y encontraron que esas inversiones redujeron significativamente la brecha de ingresos entre las áreas urbanas y rurales.

Uchiyama (2020) examinó la vulnerabilidad y los efectos de los programas gubernamentales (*Progres*a

of the activities of rural Mexican households and their impact on income. They suggested that government transfers only alleviate poverty, without promoting the incorporation of the household into efficient activities.

According to the CONEVAL⁴ (2019) the rural population was about 30.7 million people in 2018, out of a total population of 125.3 million. From this rural population, about 15 million people were considered rural poor and 5 million were classified as extremely poor. Rural poverty accounted for 55.3% of the total poverty in México. Roughly speaking, one may say that half of the problem of poverty remains in rural areas.

In spite of Campos-Vázquez *et al.* (2014) agreed that poverty-reduction cash transfers also improved income distribution in the whole population, there is the need to study the effects of federal grants on income inequality for certain population groups to observe for unbalance development. The federal grants system began also in late 90's as a system of unconditional grants (called "participaciones federales") which provided general purpose grants to states and municipalities. Later a system of conditional and matching grants was established in order to increase the provision of local public goods (called "aportaciones federales"). These conditional grants were designed to increase expenditure in poor municipalities in order to reduce poverty, marginality and social lag.

Two studies on the effect of conditional grants on inequality are those by Angeles-Castro *et al.* (2013) and Angeles-Castro *et al.* (2019). Both analysing the effect of conditional grants on economic growth, inter-state per capita income gaps and income inequality within each Mexican state. Both studies used state level data and performed panel analysis, the latter from 1998 to 2014. Angeles-Castro *et al.* (2013) found no robust results that could explain the effect of conditional grants on income inequality, only a decline in the long term. Angeles-Castro *et al.* (2019) concluded that conditional grants did not improve income inequality within each state. They also found robust results that income gaps among states increase with conditional grants. Although these studies are illustrative, they used aggregate data, which may have overlooked some important details.

y Oportunidades) en los hogares de las zonas rurales de México; ese estudio confirmó los efectos positivos de estos programas de transferencias monetarias al reducir la vulnerabilidad de los hogares en medio de la crisis de los precios de los alimentos de 2000 a 2010. Mora-Rivera y Cerón-Monroy (2015) realizaron un análisis sobre la diversificación de las actividades de los hogares rurales mexicanos y su impacto en los ingresos. Aquellos autores sugirieron que las transferencias gubernamentales solo alivian la pobreza, sin promover la incorporación del hogar a actividades eficientes.

Según el CONEVAL⁴ (2019), la población rural era aproximadamente 30.7 millones de personas en 2018, de una población total de 125.3 millones. De esa población rural, alrededor de 15 millones de personas se consideraron pobres rurales y 5 millones se clasificaron como en pobreza extrema. La pobreza rural representó el 55.3% de la pobreza total en México. A grandes rasgos, se puede decir que la mitad del problema de la pobreza permanece en las zonas rurales.

A pesar de que Campos-Vázquez *et al.* (2014) coincidieron en que las transferencias de efectivo para la reducción de la pobreza también mejoraron la distribución del ingreso en toda la población, existe la necesidad de estudiar los efectos de las subvenciones federales en la desigualdad de los ingresos en ciertos grupos de población para observar el desequilibrio en el desarrollo. El sistema de subvenciones federales también comenzó a fines de los 90 como un sistema de subvenciones no condicionados (llamados participaciones federales) que proporcionaba subvenciones de propósito general a los estados y municipios. Después se estableció un sistema de transferencias condicionales y contrapartidas para incrementar la provisión de bienes públicos locales (denominadas aportaciones federales). Estas transferencias condicionadas se diseñaron para aumentar el gasto en municipios pobres con el fin de reducir la pobreza, la marginalidad y el rezago social.

Dos estudios sobre el efecto de las subvenciones condicionales sobre la desigualdad fueron los realizados por Angeles-Castro *et al.* (2013) y Angeles-Castro *et al.* (2019). Ambos analizaron el efecto de las subvenciones condicionales sobre el crecimiento económico, las brechas de ingresos per cápita interestatales y la

⁴CONEVAL (Consejo Nacional de Evaluación de la política de Desarrollo Social). S/F. Pobreza rural en México. https://www.coneval.org.mx/Medicion/MP/Documents/PATP/Pobreza_rural.pdf (Retrieved: March 2020).

Thus, the aim of this study was to provide income distribution indexes for rural households, and to classify rural municipalities by similar levels of inequality, poverty and economic development. For that reason, we offer an analysis on the state of income distributions and economic development of rural households in México using cluster analysis. This methodological strategy was implemented similarly in European countries by Sánchez-López *et al.* (2019). Later, using the results of the cluster analysis, we performed an analysis on the effect of conditional grants and income inequality using regression analysis in each cluster.

The main hypothesis stated that, because local public goods are also part of individual budget constraints, it is rational to think that an expansion in the provision of local public goods will increase total income and, if such public goods were financed with conditional grants that target low-income groups, it would be expected that income inequality may decrease. Spill-overs of conditional grants may also have equalizing effects in poor regions and municipalities; thus, if this hypothesis is proven true, it would hold particularly true for rural populations as they endure higher levels of poverty and consequently, higher conditional grants per capita.

Thus, the objective was to classify (cluster-analysing) rural municipalities in order to observe which ones have benefited from federal grants and those that did not, finding the reasons why; assuming grants are accepted as an instrument contributing to reduce poverty and income inequality in recent years.

MATERIALS AND METHODS

Rather than to perform statistical analysis with aggregate state data, we decided to use individual and household data at municipal level for all municipalities considered rural or that at least have some communities or towns with less than 2500 inhabitants. We used micro-data from the Mexican Encuesta intercensal 2015, from the INEGI (2015). It contains information on 2446 municipalities, 6.66 million dwellings with municipal samples ranged from 7 to 40 203 dwellings per sample. Only a few municipalities of Mexico City did not register any rural population; thus, we were able to separate urban and rural population for the analysis to obtain both the Gini and Atkinson indexes. We also obtained the poverty and social lag indexes from the CONEVAL (2015). The social lag index measures the access to education, health services, basic utilities and quality of

desigualdad de ingresos dentro de cada entidad federativa mexicana. Ambos estudios utilizaron datos a nivel estatal y realizaron análisis de panel, el más reciente de 1998 a 2014. Angeles-Castro *et al.* (2013) no encontraron resultados robustos que pudieran explicar el efecto de las subvenciones condicionales en la desigualdad de los ingresos, solo una disminución a largo plazo. Angeles-Castro *et al.* (2019) concluyeron que las subvenciones condicionales no mejoraron la desigualdad de ingresos dentro de cada estado. También encontraron evidencia de que las brechas de ingresos entre los estados aumentan con las subvenciones condicionales. Aunque estos estudios son explicativos, utilizaron datos agregados, los cuales pueden haber pasado por alto algunos detalles importantes.

Por lo tanto, el propósito de este estudio fue proporcionar índices de distribución del ingreso para los hogares rurales y clasificar los municipios rurales por niveles similares de desigualdad, pobreza y desarrollo económico. Para ello, se aporta un análisis sobre el estado de la distribución del ingreso y el desarrollo económico de los hogares rurales en México por medio del análisis de conglomerados. Esta estrategia metodológica se implementó de manera similar en países europeos por Sánchez-López *et al.* (2019). Luego, con el uso de los resultados del análisis de conglomerados, se realizó un análisis sobre el efecto de las subvenciones condicionales y la desigualdad de ingresos por medio de un análisis de regresión en cada conglomerado.

La hipótesis principal planteó, ya que los bienes públicos locales también son parte de las restricciones presupuestarias individuales, es razonable pensar que una provisión mayor de bienes públicos locales aumentará el ingreso total y que si dichos bienes públicos se financiaran con subvenciones condicionales que tuvieran como objetivo atender a grupos de bajos ingresos, se esperaría que la desigualdad de los ingresos disminuya. Los excedentes de las subvenciones condicionales también pueden tener efectos igualadores en regiones y municipios pobres; de modo que si se demostrara que la hipótesis es válida sería particularmente cierta para las poblaciones rurales, porque padecen niveles de pobreza más altos y en consecuencia reciben subvenciones condicionales mayores per cápita.

Por lo tanto, el objetivo fue clasificar (a través de análisis de conglomerados) los municipios rurales

housing, while the poverty index adds on top of the social lag index including additional measures of income, social security and nutrition.

For the proposed cluster-analysis we also used the marginality index from the CONAPO (2016) which measures the lack of some basic goods and services that inhibit personal and household development, such as education, housing, income from work and geographical agglomeration. The information from the Human Development Index at municipal level was obtained from the PNUD (2019). We obtained public finance municipal data for 2015, including information of conditional and unconditional grants, urban infrastructure and other variables from the Mexico's national finances database (INEGI, 2020). The Encuesta intercensal 2015 was also a valuable source of information on individual characteristics of each household member, the availability of public services in the dwelling, among others.

Income inequality index

The Encuesta intercensal (INEGI, 2015) was used with a representative sampling at municipal level to construct a Gini index along with an Atkinson index, separating urban and rural households. The Gini index is a well-known income distribution measure and can be defined as the area between the Lorenz curve and the equality diagonal line. A general formula can be constructed if we define the Lorenz curve as $Y = L(y)$, then the Gini index is simply:

$$G = 1 - 2 \int_0^1 L(y) dy \quad (1)$$

The Atkinson index is based on the idea of a Social Welfare function. From the base of the Utilitarian Welfare function:

$$W = \frac{1}{N} \sum U(y_i) \quad (2)$$

where there are as many as i individuals; let us assume that the individual utility function has the form:

$$U(y_i) = \frac{y_i^{1-\varepsilon}}{1-\varepsilon} \quad (3)$$

where ε is the inequality aversion parameter. The central idea of the Atkinson index is the concept of Equally Distributed Equivalent Income (EDEI) proposed by Atkinson (1970), that

para observar cuáles se han beneficiado de las subvenciones federales y cuáles no, y encontrar las razones bajo el supuesto de que las subvenciones se aceptan como un instrumento que contribuye a reducir la pobreza y la desigualdad de ingresos en años recientes.

MATERIALES Y MÉTODOS

En lugar de realizar un análisis estadístico con datos agrupados por estado, decidimos utilizar datos a nivel hogar y a nivel municipal para todos los municipios considerados rurales o que al menos tienen algunas comunidades o localidades con menos de 2500 habitantes. Los microdatos de la Encuesta intercensal 2015 del INEGI (2015) se utilizaron. Esta base de datos contiene información sobre 2446 municipios, 6.66 millones de viviendas con muestras municipales que incluyen de 7 a 40 203 viviendas por municipio. Solo unos pocos municipios de la Ciudad de México no registraron la presencia de población rural; por lo tanto, pudimos separar la población urbana de la rural para el análisis con el fin de obtener los índices de Gini y Atkinson. También utilizamos los índices de pobreza y rezago social de CONEVAL (2015). El índice de rezago social mide el acceso a la educación, los servicios de salud, los servicios básicos y la calidad de la vivienda, mientras que el índice de pobreza se suma al índice de rezago social e incluye medidas adicionales de ingreso, seguridad social y nutrición.

Para el análisis de conglomerados propuesto, también utilizamos el índice de marginalidad del CONAPO (2016), la cual mide la falta de algunos bienes y servicios básicos que inhiben el desarrollo personal y del hogar, como educación, vivienda, ingresos laborales y aglomeración geográfica. La información del Índice de Desarrollo Humano a nivel municipal se obtuvo del Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD, 2019). Obtuvimos datos de las finanzas públicas municipales para 2015, incluyendo información de subvenciones condicionales y no condicionales, infraestructura urbana y otras variables de la base de información nacional sobre finanzas (INEGI, 2020). La encuesta intercensal fue también una fuente de información valiosa sobre las características individuales de cada miembro del hogar, la disponibilidad de servicios públicos en la vivienda, entre otros datos.

Índice de desigualdad de los ingresos

La Encuesta intercensal (INEGI, 2015) se utilizó con una muestra representativa a nivel municipal para construir un índice de Gini junto con uno de Atkinson, para separar hogares urbanos y rurales. El índice de Gini es una medida de distribución del ingreso bien conocida y puede definirse como el área entre la curva de Lorenz y la línea diagonal de igualdad. Una fórmula general se

we may define as y_e . The EDEI is the level of individual income that may allow the entire society to attain the same level of welfare compared with actual incomes assuming that individuals may also like (dislike) equality (inequality). We may also assume that this y_e has the form:

$$U(y_e) = \frac{y_e^{1-\varepsilon}}{1-\varepsilon} \quad (4)$$

substituting the utility function in the Welfare function, and equating with y_e we defined:

$$y_e = \left\{ \frac{1}{n} \sum y_i^{1-\varepsilon} \right\}^{\frac{1}{1-\varepsilon}} \quad (5)$$

And the Atkinson index is defined as:

$$A = 1 - \frac{y_e}{y} \quad (6)$$

where y is the average income. The only problem with the Atkinson index is that depend on the relative size of inequality aversion ε . In this study we decided to estimate the Atkinson index with an $\varepsilon = 0.5$ value.

Cluster analysis

In order to analyse the effect of grants on more homogenous groups of municipalities to observe for differences, we focused in the rural population only, as this population is affected by poverty and low level of economic development. Unfortunately, our data was limited to 2015, which deter us in doing a more dynamic analysis to observe for fixed or random effects. In order to assess the differences among municipalities in terms of income inequality and other poverty concepts, we created clusters with similar characteristics. The cluster analysis allows for better classification and analysis before doing regression analysis. We expected to get more detail when classifying by cluster rather than using the entire sample. The rationality came from the social and economic heterogeneity in México, especially in terms of economic development (Sánchez-López *et al.*, 2019).

For better describing the larger differences among municipalities, we decided to classify Mexican municipalities by income-inequality groups using different characteristics such as levels of poverty, marginality, social lag and human development. A straightforward method to classify data is clustering analysis, which is a convenient and simple machine learning algorithm that does not require supervision. The nearest neighbour algorithm is a simple way to classify data and determine how

puede construir si definimos la curva de Lorenz como $Y = L(y)$, entonces la definición simple del índice de Gini es:

$$G = 1 - 2 \int_0^1 L(y) dy \quad (1)$$

El índice de Atkinson se basa en el concepto de la función de Bienestar Social; la cual supone una función de bienestar utilitario social:

$$W = \frac{1}{N} \sum U(y_i) \quad (2)$$

donde hay i individuos; a partir de la cual se puede asumir que la función de utilidad individual tiene la forma:

$$U(y_i) = \frac{y_i^{1-\varepsilon}}{1-\varepsilon} \quad (3)$$

donde ε es el parámetro de aversión a la desigualdad. La idea central del índice de Atkinson es el concepto de renta equivalente distribuida igualitariamente (Equally distributed equivalent income, EDEI) propuesto por Atkinson (1970), el cual se puede definir como y_e . La función EDEI es el nivel de ingreso individual que puede permitir que toda la sociedad alcance el mismo nivel de bienestar en comparación con los ingresos reales, cuando se asume que a los individuos también les puede gustar (o disgustar) la igualdad (o desigualdad). También podemos suponer que este y_e tiene la forma:

$$U(y_e) = \frac{y_e^{1-\varepsilon}}{1-\varepsilon} \quad (4)$$

Al sustituir la función de utilidad en la función de Bienestar, y equiparar con y_e definimos:

$$y_e = \left\{ \frac{1}{n} \sum y_i^{1-\varepsilon} \right\}^{\frac{1}{1-\varepsilon}} \quad (5)$$

Y el índice de Atkinson se define como:

$$A = 1 - \frac{y_e}{y} \quad (6)$$

close (far) a point is from other points in the R^n space. One may use the Euclidean Distance $\sqrt{\sum_i (a_i - b_i)^2}$ as a metric and the complete-linkage clustering as the algorithm. First, we considered each point a cluster by itself, then we looked for another point with minimum distance $\min \{d(a, b): a \in A, b \in B\}$. Later we maximized the distance among clusters until all points were accounted in a single cluster. After a visual analysis of the dendrogram (tree graph) or contrasting with other clustering methods such as K-Means, we would be able to decide on the number of clusters that were meaningful for analysis (Igual and Seguí, 2017).

Regression analysis

Another part of our analysis was to explore the relationship between income inequality and possible effects from the federal grants to municipalities in per capita terms, in particular those conditional grants designed to reduce poverty. This is of special interest because of our knowledge that most rural municipalities have high levels of poverty and marginality, expecting that to some extent the grants assigned to each of these municipalities would also affect income inequality. These grants can also be considered direct grants to households because they are used for local public goods and services. We believe that these grants have an important effect on the income distribution of households along with other socio-demographic conditions.

A regression analysis was performed on each inequality group constructed, using the rural Gini as the dependent variable. The model constructed was:

$$G_i = \beta_0 + \beta_1 \ln Y_i + \beta_2 \ln T_i + \beta_3 S_i + \varepsilon_i \quad (7)$$

where, the explanatory variable Y is the log of the mean household income in each municipality i , the log of federal grants as represented by T and a vector of other socio-demographic variables included in S .

Federal grants are divided into conditional and unconditional grants. Conditional grants are designed with a formula targeting poor municipalities while unconditional grants are given to each municipality as a compensation for the tax effort. Municipalities are given the freedom to use unconditional grants according to their priorities, but conditional grants must match certain social development objectives. We also included other social factors that may influence the distribution of income within a municipality. There are also social and demographic variables that are important indicators of economic development and income inequality.

Using the described data, we selected some variables such as the percentage of poor population in each municipality, the

donde y es el ingreso promedio. El único problema con el índice de Atkinson es que depende del tamaño relativo de la aversión ε a la desigualdad. En este estudio se decidió estimar el índice de Atkinson con un valor de $\varepsilon = 0.5$.

Análisis de conglomerados

Para analizar el efecto de las subvenciones en grupos más homogéneos de municipios y observar las diferencias, nos enfocamos en la población rural únicamente, ya que esta población se ve afectada por la pobreza y el bajo nivel de desarrollo económico. Desafortunadamente, nuestros datos disponibles se limitaron a 2015, lo cual nos disuadió de hacer un análisis dinámico para observar efectos fijos o aleatorios. Para evaluar las diferencias entre los municipios en términos de desigualdad de ingresos y otros conceptos de pobreza, creamos conglomerados con características similares. El análisis de conglomerados permite una mejor clasificación y análisis antes de realizar un análisis de regresión. Al clasificar por conglomerados se esperaba obtener más detalles que al utilizar la muestra completa. La justificación proviene de la heterogeneidad social y económica en México, en especial en términos de desarrollo económico (Sánchez-López *et al.*, 2019).

Para describir mejor las mayores diferencias entre los municipios, decidimos clasificar los municipios mexicanos por agrupamientos de desigualdad de ingresos, con el uso de diferentes características como niveles de pobreza, marginalidad, rezago social y desarrollo humano. Un método sencillo para clasificar datos es el análisis de conglomerados, un algoritmo de aprendizaje automático conveniente y simple que no requiere supervisión. El algoritmo del vecino más cercano es una forma sencilla de clasificar datos y determinar qué tan cerca (o lejos) está un punto de otros puntos en el espacio R^n . La distancia euclidiana $\sqrt{\sum_i (a_i - b_i)^2}$ se puede usar como métrica y la agrupación de enlaces completos como algoritmo. Primero, consideramos cada punto como un grupo en sí mismo, luego buscamos otro punto con una distancia mínima $\min \{d(a, b): a \in A, b \in B\}$. Después, maximizamos la distancia entre grupos hasta que todos los puntos se contabilizaron en un solo grupo. Y a partir de un análisis visual del dendrograma (gráfico de árbol) o por contraste con otros métodos de agrupamiento como K-media, se puede decidir el número de grupos que significativos para el análisis (Igual y Seguí, 2017).

Análisis de regresión

Otra parte de nuestro análisis fue explorar la relación entre la desigualdad de ingresos y los posibles efectos de las subvenciones federales a los municipios en términos per cápita; en particular las subvenciones condicionales diseñadas para reducir la pobreza. Esto es de especial interés debido a que sabemos que la mayoría de los municipios rurales tienen niveles altos de pobreza y

degree of urbanization given by a sewage service index as a proxy for urbanization, and also an indicator of social segregation (indigenous population) measured by the number of indigenous elementary schools in each municipality. Standard statistics for each variable used in the analysis were obtained (Table 4).

The econometric model was estimated using weighted least squares (WLS). The reason for performing WLS instead of the usual ordinary least squares is due to heteroscedasticity problem by the inclusion of federal grants. This econometric analysis was performed in each of the four groups of municipalities to observe for statistically significant variables.

RESULTS AND DISCUSSION

There are important differences between urban and rural households. Urban income inequality shows a U shape, where high economic development areas did show an upwards trend (Figure 1). The traditional view from the economic development literature said that inequality would behave as a U inverted curve as the economy moved to higher stages of economic development, as it was suggested by Kuznets (1955).

Cluster-analysis for rural municipalities

Hierarchical clusters were obtained using the Gini and Atkinson indexes along with several poverty and social development features and classified each municipality in four groups: High inequality, medium-high inequality, low inequality and medium-low inequality. We used several variables related to economic development, such as poverty, social lag, marginality, human development index, mean income per household, per capita grants, among others (some features in mean values can be revised in Table 1). For example, low inequality group has 1184 members, an average rural Gini of 0.4 and urban Gini of 0.415 while the group of high-income inequality has 339 municipalities with a rural Gini of 0.7 and urban Gini of 0.567.

Low inequality municipalities are usually large in terms of population and enjoy high levels of human development (HDI), low marginality and less poverty. Furthermore, in this first group, rural households enjoy a similar or less level of income inequality than urban households. On the contrary, high income-inequality municipalities have low levels of economic development, high marginality and social lag, a high percentage of population is

marginalidad, y se espera que en cierta medida las donaciones asignadas a cada uno de estos municipios también afecten la desigualdad de ingresos. Estas subvenciones también pueden considerarse subvenciones directas a los hogares porque se utilizan para bienes y servicios públicos locales. Y se considera que tienen un efecto importante en la distribución del ingreso de los hogares, junto con otras condiciones sociodemográficas.

Un análisis de regresión se realizó en cada grupo de desigualdad construido, con el índice de Gini rural como variable dependiente. El modelo construido fue:

$$G_i = \beta_0 + \beta_1 \ln Y_i + \beta_2 \ln T_i + \beta_3 S_i + \varepsilon_i \quad (7)$$

donde, la variable explicativa Y es el logaritmo del ingreso familiar medio en cada municipio i , el logaritmo de las subvenciones federales representado por T y un vector de otras variables sociodemográficas incluidas en S .

Las subvenciones federales se dividen en condicionales e incondicionales. Las subvenciones condicionales se diseñan con una fórmula dirigida a los municipios pobres, mientras que las subvenciones incondicionales se otorgan a cada municipio como compensación por el esfuerzo fiscal. Los municipios tienen la libertad de utilizar subvenciones no condicionales de acuerdo con sus prioridades, pero las subvenciones condicionales deben coincidir con ciertos objetivos de desarrollo social. También se incluyeron otros factores sociales que pueden influir en la distribución del ingreso dentro de un municipio. Así mismo, variables sociales y demográficas que son indicadores importantes del desarrollo económico y la desigualdad de ingresos.

Al usar los datos descritos, se seleccionaron algunas variables como el porcentaje de población pobre en cada municipio, el grado de urbanización dado por un índice de alcantarillado como representativo de urbanización, y también un indicador de segregación social (población indígena), estimado por el número de escuelas primarias indígenas en cada municipio. Estadísticos básicos se obtuvieron para cada variable utilizada en el análisis (Cuadro 4).

El modelo econométrico se estimó utilizando mínimos cuadrados ponderados (WLS). El uso de WLS en lugar de los mínimos cuadrados ordinarios habituales se justifica por el problema de heterocedasticidad, debida a la inclusión de subvenciones federales. Este análisis econométrico se realizó en cada uno de los cuatro grupos de municipios para observar el carácter significativo de las variables.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Diferencias importantes existen entre los hogares urbanos y rurales. La desigualdad del ingreso urbano

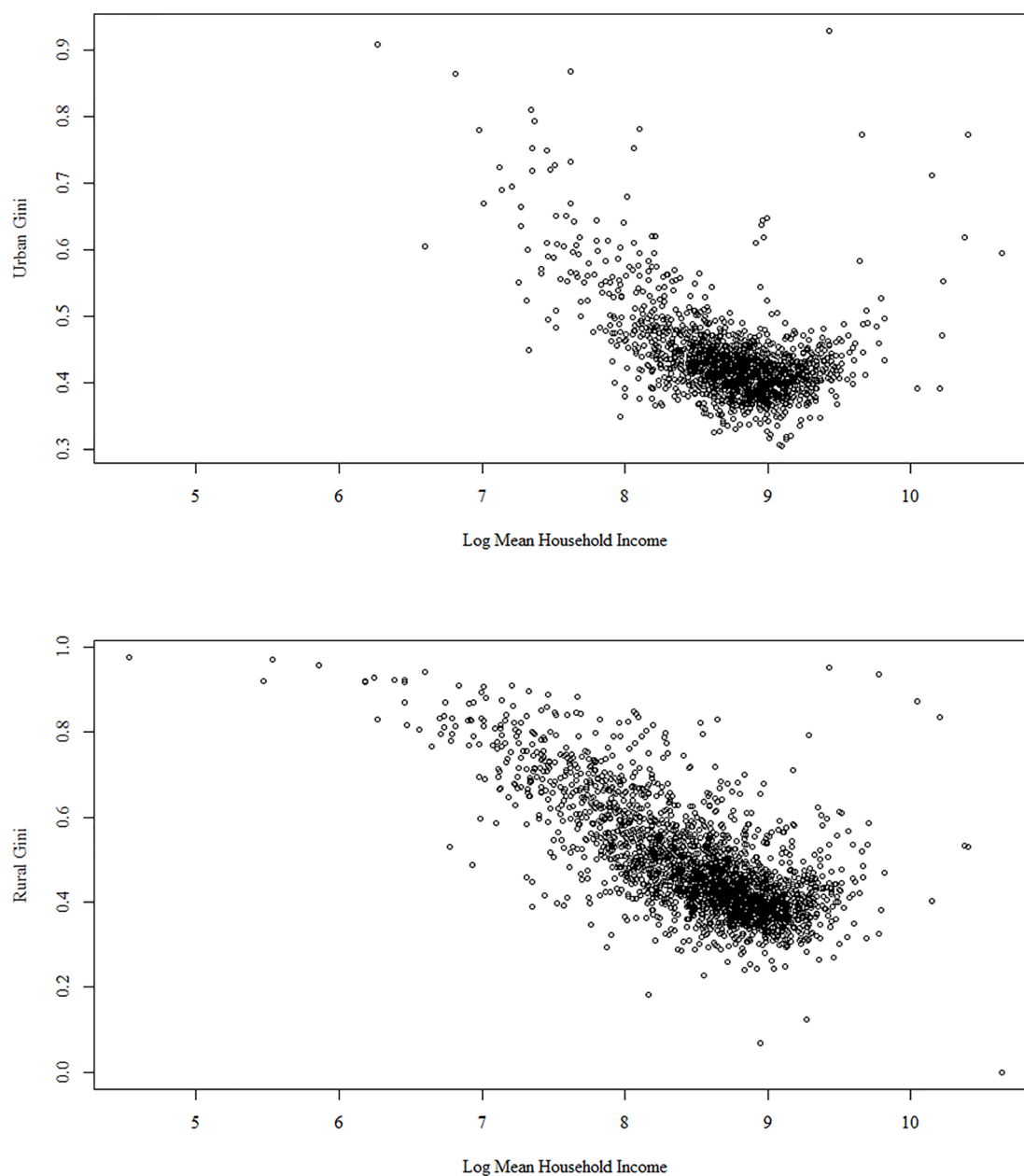


Figure 1. Income inequality and mean household income by municipality.
Figura 1. Desigualdad de ingresos e ingreso medio de los hogares por municipio.

considered poor, and rural households have higher levels of income inequality than urban households, as in the case of Oaxaca and Chiapas.

Perhaps the most diverse clusters are those classified as medium-low and medium-high income inequality. There is a group of 787 municipalities considered medium-high inequality that are more developed than those considered medium-low or

muestra una forma de U, en la cual las áreas de desarrollo económico alto mostraron una tendencia al alza (Figura 1). La visión tradicional de la literatura sobre desarrollo económico establecía que la desigualdad se vería como una curva en U invertida a medida que la economía pasara a etapas superiores de desarrollo económico, como sugirió Kuznets (1955).

Table 1. Municipalities clustered by income inequality (mean values).**Cuadro 1. Municipios agrupados por desigualdad de ingresos (valores medios).**

Inequality Group	Municipalities	Rural Gini	Urban Gini	Rural Atkinson	Urban Atkinson	Mean Income
Low	1184	0.40	0.42	0.15	0.15	\$7928.2
Medium-low	135	0.47	0.48	0.23	0.24	\$3398.0
Medium-high	787	0.52	0.45	0.29	0.19	\$4 66.1
High	339	0.70	0.57	0.55	0.35	\$2354.3
	Municipalities	Mean Population	Marginality index	HDI	Social Lag Index	Poverty (%)
Low	1184	84 673	-0.78	0.70	-0.75	48.98
Medium-low	135	10 597	1.39	0.52	1.48	87.87
Medium-high	787	17 117	0.30	0.62	0.19	75.05
High	339	12 324	1.43	0.54	1.58	92.30

Atkinson index calculated with a $\varepsilon = 0.5$. ♦ Índice de Atkinson calculado con $\varepsilon = 0.5$.

even high inequality municipalities with higher mean household income and human development index, less marginality, social lag and poverty. These municipalities have higher income inequality than those 135 medium-low groups but still enjoy higher economic development. This is difficult to appreciate in a simple graphical representation of the analysis, and to some extent contradicts the standard literature.

Using these clusters, we could observe the differences among municipalities by group and get important information. Scatter plots were produced to observe the relationship between key variables such as income and poverty, aiming to identify any pattern for each municipality group. There were two groups of scatter plots, one between the municipal rural Gini and the mean log household income; and the other showed the relation between rural Gini and poverty (Figure 2). A regression line was fitted in the scatter plots to show the direction of the relationship in each group.

From the depicted analysis it can be noticed that low inequality municipalities show a horizontal regression line in regard to mean income and poverty. In terms of income, low inequality rural households appeared quite homogeneous, but in terms of multidimensional poverty they are quite diverse. While low-income municipalities gather a mean income of around \$8200.00 pesos, there are municipalities with almost no population in multidimensional poverty, while there are others with around 90% of population considered poor. In general, we may say that income inequality is reduced

Análisis de conglomerados para municipios rurales

Conglomerados jerárquicos se obtuvieron con los índices de Gini y Atkinson junto con varias características de pobreza y desarrollo social y se clasificó a cada municipio en cuatro grupos: desigualdad alta, desigualdad media-alta, desigualdad baja y desigualdad media-baja. Variables relacionadas con el desarrollo económico se utilizaron, tales como pobreza, rezago social, marginalidad, índice de desarrollo humano, ingreso medio por hogar, subvenciones per cápita, entre otras (las medias de algunas características se pueden consultar en el Cuadro 1). Por ejemplo, el grupo de desigualdad baja tiene 1184 municipios, un índice Gini rural promedio de 0.4 y un índice Gini urbano de 0.415, en tanto que el grupo de desigualdad de ingresos altos tiene 339 municipios con un Gini rural de 0.7 y un Gini urbano de 0.567. Los municipios con desigualdad baja suelen ser grandes en términos de población y disfrutaban de niveles altos de desarrollo humano (HDI), marginalidad baja y menos pobreza. Además, en este primer grupo los hogares rurales disfrutaban de un nivel de desigualdad de ingresos similar o menor que los hogares urbanos. Por el contrario, los municipios con alta desigualdad de ingresos tienen niveles bajos de desarrollo económico, marginalidad alta y rezago social; un porcentaje alto de población se considera pobre y los hogares rurales tienen niveles más altos de desigualdad de ingresos que los hogares urbanos, como son los casos de Oaxaca y Chiapas.

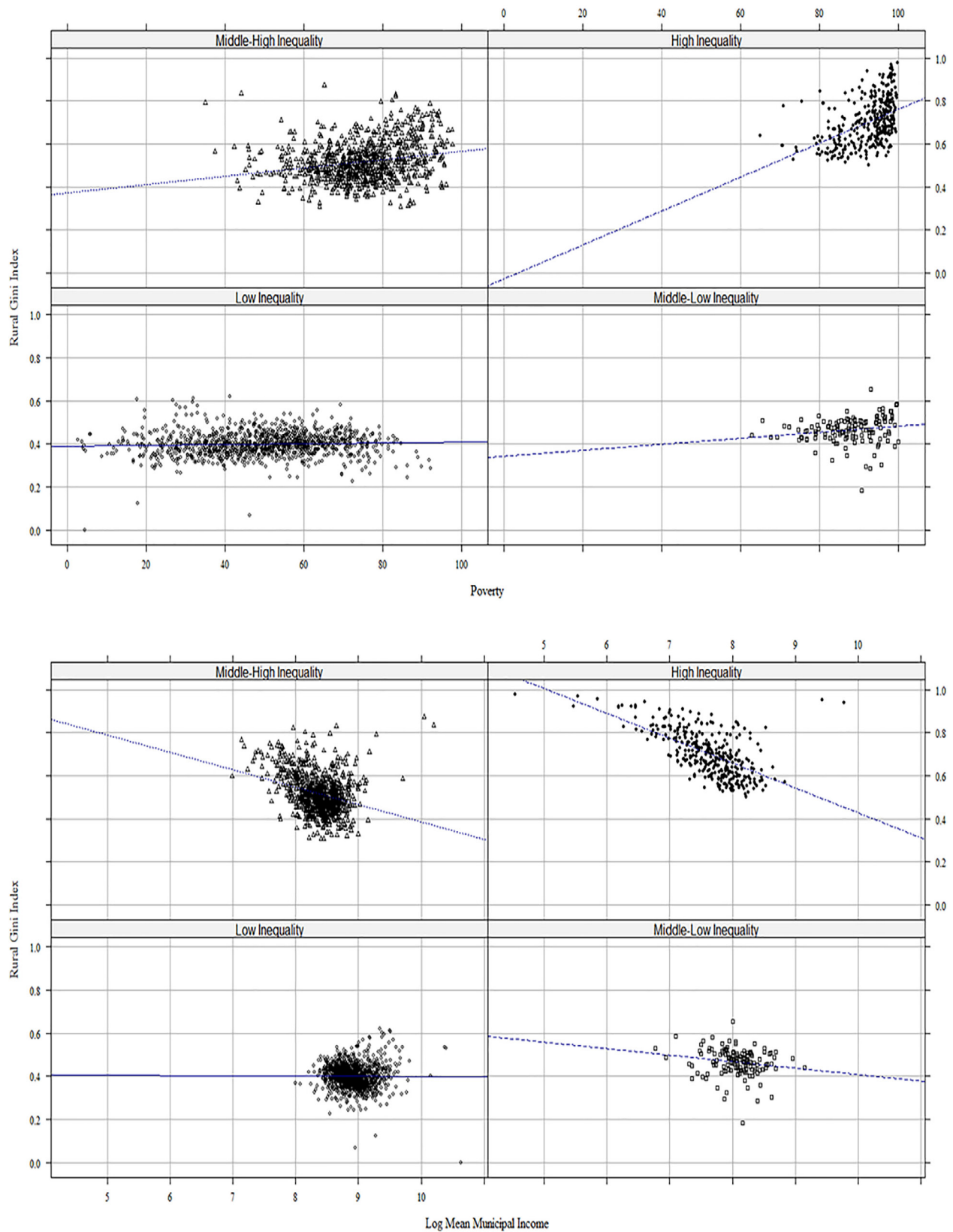


Figure 2. Rural Gini by income-inequality group.
 Figura 2. Índice de Gini rural por grupo de desigualdad de ingresos.

when income increases for all rural households.

It can be noticed a direct positive relationship between inequality and poverty except for the low-inequality group. Using the graphical analysis, it is not clear how poverty is correlated to income inequality, as those classified as low-income inequality showed almost no response to income and were not correlated to poverty. In all rural municipalities, income inequality decreases with economic development as it is predicted by theory, but still we should assess how many development indicators and also tax revenue variables affect income inequality.

Another way to use our clusters was to tabulate the rural inequality groups with those official classifications of marginality and social lag index. We observed that our low-income rural inequality municipalities are officially considered with low social lag and low marginality, and those high rural inequality municipalities are close to be considered with high social lag and high level of marginality (Table 2). Almost 5% of the low inequality group are officially considered high marginality municipalities.

However, in the middle, there was more diversity. Middle-low rural income inequality municipalities are almost entirely classified as with high or very high marginality or social lag. From the group of middle-high rural income inequality municipalities, about 5% are officially considered with low or very low marginality, and about 11% are considered with low and very low social lag.

Regression results for rural groups

In this section we discuss the results from the WLS regression. We performed a regression on the Gini index for each inequality group against Federal grants, mean Municipal income, poor population, indigenous schools, and coverage of sewage systems to control for the degree of urbanization (Table 3).

We decided to test how federal transfers to local governments and households affect income distribution in rural municipalities. México has an effective system of federal transfers to local governments, with conditional grants designed to provide public goods and services for poverty alleviation. All municipalities also are provided with unconditional grants designed to compensate for tax effort. Because grants provide local public goods and services, they are akin to direct transfers to households

Quizás los conglomerados más diversos son los clasificados como desigualdad de ingresos media-baja y media-alta. Un grupo se formó con los 787 municipios considerados de desigualdad media-alta, pero más desarrollados que otros municipios considerados de desigualdad media-baja o incluso alta, con mayores ingresos medios familiares e índice de desarrollo humano, marginalidad menor, menos rezago social y menos pobreza. Estos municipios tienen una desigualdad de ingresos mayor que los 135 agrupamientos con desigualdad medio-baja, pero aún disfrutaban de un mayor desarrollo económico. Esto es difícil de apreciar en una representación gráfica simple del análisis y hasta cierto punto contradice la literatura estándar.

Al usar los conglomerados se pudo observar las diferencias entre los municipios por agrupamiento y obtener información importante. Gráficos de dispersión se elaboraron para observar la relación entre variables clave como el ingreso y la pobreza, con el fin de identificar cualquier patrón para cada agrupamiento de municipios. Dos gráficos de dispersión se incluyen, uno entre el índice de Gini rural municipal y el ingreso familiar logarítmico medio; y el otro mostró la relación entre el índice de Gini rural y la pobreza (Figura 2). La línea de regresión en los gráficos de dispersión se ajustó para mostrar la dirección de la relación en cada agrupamiento.

Del análisis presentado, se puede observar que los municipios con desigualdad baja muestran una línea de regresión horizontal respecto al ingreso medio y la pobreza. En términos de ingresos, los hogares rurales con desigualdad baja parecían bastante homogéneos, pero en términos de pobreza multidimensional son bastante diversos. Mientras los municipios con ingresos bajos recaudan un ingreso medio de alrededor de \$8200.00 pesos, hay municipios con casi ninguna población en pobreza multidimensional; en cambio hay otros con alrededor del 90% de la población considerada pobre. En general, podemos decir que la desigualdad de ingresos se reduce cuando los ingresos aumentan para todos los hogares rurales.

Una relación positiva directa entre desigualdad y pobreza se pudo notar, excepto en el grupo con desigualdad baja. Con el análisis gráfico no queda claro cómo se correlaciona la pobreza con la desigualdad de ingresos, ya que los clasificados con desigualdad de ingresos baja casi no respondieron al ingreso y no se correlacionaron con la pobreza.

Table 2. Rural inequality *vs.* marginality and social lag.
Cuadro 2. Desigualdad rural *vs.* marginalidad y rezago social.

Rural Inequality	Marginality					Total
	Very Low	Low	Medium	High	Very High	
Low	341	470	316	57	0	1184
Medium-Low	0	0	2	54	79	135
Medium-High	4	25	195	559	4	787
High	0	0	1	141	197	339
Total	345	495	514	811	280	2445

Rural Inequality	Social Lag					Total
	Very Low	Low	Medium	High	Very High	
Low	339	670	175	0	0	1184
Medium-Low	0	0	11	75	49	135
Medium-High	2	90	411	284	0	787
High	0	0	5	208	126	339
Total	341	760	602	567	175	2445

Table 3. Weighted Least Square (WLS) regression by rural inequality groups.
Cuadro 3. Regresión de mínimos cuadrados ponderados (WLS) por agrupamientos de desigualdad rural.

Variables	Low	Medium-Low	Medium-High	High
Indigenous schools	-0.0010 [‡] (0.0005)	0.0003 [†] (0.0002)	0.0004 (0.0004)	0.0005 [§] (0.0001)
% Poor population	-0.0317 (0.0243)	-0.164 (0.116)	0.197 [‡] (0.0486)	0.297 [§] (0.108)
Sewage	0.408 [‡] (0.0641)	-0.0390 (0.0276)	0.0362 [†] (0.0218)	0.0119 (0.0196)
Ln Conditional grants	-0.0409 [‡] (0.0028)	0.0061 (0.0159)	-0.0049 (0.0080)	0.0283 [‡] (0.0132)
Ln Unconditional grants	0.0063 [†] (0.0037)	0.0175 (0.0111)	0.0208 [§] (0.0065)	-0.0169 (0.0103)
Ln Mean income	0.133 [‡] (0.0383)	-0.0622 [‡] (0.0256)	0.0460 [§] (0.0148)	-0.0884 [‡] (0.0117)
C	-0.947 [§] (0.357)	0.960 [§] (0.317)	-0.160 (0.178)	0.977 [‡] (0.213)
N	1049	92	625	263
R-sq	0.3347	0.1347	0.0408	0.3906

[‡]significance level at 10%, [†] at 5%, [§] at 1%, [‡] at 0.1%. Standard errors in parenthesis. ♦ [†]nivel significativo en 10%, [‡]5%, [§]1%, [‡]0.1%. Error estándar entre paréntesis.

in each community that benefits from such goods. Thus, we expected that the design of such transfers would have a direct impact on the total household income. This is more relevant for rural households where such transfers may represent a large part of their income, as urban households may have more diverse income sources.

En todos los municipios rurales, la desigualdad de ingresos disminuye con el desarrollo económico como predice la teoría, pero aun así debemos evaluar cuántos indicadores del desarrollo y cuántas variables de ingreso tributario afectan la desigualdad de ingresos.

According to the WLS results, we observed that unconditional grants seemed to increase rural inequality for low and medium-high inequality groups, but reduced income inequality in those municipalities that have a high degree of inequality (Table 3). On the side of conditional grants, the WLS regression showed a negative estimate for low-income inequality municipalities but a positive estimate for the group of high inequality. Opposite to what it was expected that conditional grants did not improve the more impoverished and marginalized rural households.

A possible explanation would be that institutional capacity in those marginal communities is low, which may hinder their capacity to apply conditional grants with a complex set of regulations and may use more efficiently the more discretionary unconditional grants. The opposite might be true for the low-inequality rural groups, which enjoy better development indicators. Rural communities that are considered with high inequality, which are less developed and have more indigenous population, receive more conditional grants than unconditional grants but they cannot make a good use of those grants to reduce rural income inequality.

The variable indigenous schools showed a negative sign for low rural inequality, which means that the municipalities with higher economic development are relatively less unequal than those with high degree of income inequality. We observed that those rural municipalities classified as low-inequality had much higher mean income, were more developed and had less indigenous population. The estimates for indigenous schools were also significant but positive for medium-low and high inequality groups, though relatively small. In high-inequality rural municipalities the indigenous population seemed to be larger, but the coefficient had a positive sign, which is a possible indication that inequality increases where there is the need of more elementary schools for indigenous children. This is to say that the more indigenous a community is, the more unequal. The result is compatible with the other result we obtained from the analysis of federal grants.

The variable poor population showed a positive and significant estimate for the rural medium-high and a high inequality groups, which means that rural households face both higher poverty and inequality at the same time. The sewage coefficient was positive for

Otra forma de utilizar nuestros conglomerados fue tabular los grupos de desigualdad rural contra las clasificaciones oficiales de marginalidad e índice de rezago social. Los municipios rurales que obtuvimos con desigualdad de ingresos baja se consideran de manera oficial con rezago social bajo y marginalidad baja, y aquellos municipios rurales con desigualdad alta están cerca de ser considerados con rezago social alto y nivel de marginalidad alto (Cuadro 2). Casi al 5% del agrupamiento con desigualdad baja se le considera oficialmente como compuesto por municipios con marginalidad alta.

Sin embargo, en la parte media hubo más diversidad. Los municipios rurales con desigualdad de ingresos media-baja se clasifican casi en su totalidad como con alta o muy alta marginalidad o rezago social. Del agrupamiento de municipios rurales con desigualdad de ingreso media-alta, alrededor del 5% está considerado como con marginalidad baja o muy baja, y un 11% se clasifica con rezago social bajo y muy bajo.

Resultados de regresión para agrupamientos rurales

En esta sección se analizan los resultados de la regresión de cuadrados mínimos ponderados (WLS). Una regresión del índice de Gini se realizó para cada agrupamiento de desigualdad contra las subvenciones federales, el ingreso municipal medio, la población en pobreza, las escuelas indígenas y la cobertura de los sistemas de alcantarillado como control por grado de urbanización (Cuadro 3).

La regresión se usó para probar cómo las transferencias federales a los gobiernos locales y los hogares afectan la distribución del ingreso en los municipios rurales. México tiene un sistema efectivo de transferencias federales a los gobiernos locales, con subvenciones condicionales diseñadas para proporcionar bienes y servicios públicos para aliviar la pobreza. Todos los municipios también reciben subvenciones no condicionales diseñadas para compensar el esfuerzo fiscal. Debido a que las subvenciones proporcionan bienes y servicios públicos locales, son similares a transferencias directas a los hogares de cada comunidad que se benefician de dichos bienes. Por lo tanto, era de esperar que el diseño de dichas transferencias tuviera un impacto directo en el ingreso total de los hogares. Esto es más relevante para los hogares

rural low and medium-high inequality municipalities, and what is puzzling is that these groups enjoy a high percentage of sewage systems as it is shown in the summarized statistics (Table 4). What can be inferred from these results is that rural households might benefit from closeness to urban areas and therefore enjoy the spill-overs of agglomeration. Thus, living close to urban centres, and therefore to have access to sewage systems does not necessarily mean that inequality is reduced.

Finally, we focused on the interpretation of the variable mean income, which is also a development indicator. The low-inequality group had the highest mean income, followed by the medium-high group, and both had a significant positive but decreasing

rurales porque en ellos dichas transferencias pueden representar una gran parte de sus ingresos, mientras que los hogares urbanos pueden tener una diversidad mayor de fuentes de ingresos.

De acuerdo con los resultados de la regresión WLS, se observó que las subvenciones no condicionales parecían aumentar la desigualdad rural en los grupos de desigualdad baja y media-alta, pero reducían la desigualdad de ingresos en los municipios con grado alto de desigualdad de ingreso (Cuadro 3). En las subvenciones condicionales, la regresión WLS mostró una estimación negativa para los municipios rurales con desigualdad baja, pero una estimación positiva para el agrupamiento con desigualdad alta. Contrario a lo que se esperaba, las subvenciones con-

Table 4. Summary statistics of main variables by Inequality Group.

Cuadro 4. Resumen de estadísticos de las variables principales por grupo de desigualdad.

	Obs	Mean	Std. Dev.	Min	Max
<i>Low Inequality</i>					
Rural Gini	1160	0.3995679	0.0548808	0	0.6218308
Poor Population (%)	1184	0.4897686	0.1622704	0.027	0.922
Ln Conditional Grants	1063	7.323261	0.5971033	5.524732	10.24872
Ln Unconditional Grants	1063	7.398007	0.6695197	5.730238	10.10275
Ln Mean Household Income	1184	8.934113	0.2827139	8.000355	10.63839
Indigenous Elementary Schools	1184	1.100507	4.612182	0	62
Sewage service coverage	1184	0.9296774	0.0853692	0.163	0.998
<i>Medium-Low Inequality</i>					
Rural Gini	133	0.4656443	0.0624915	0.1818503	0.656693
Poor Population (%)	135	0.8787333	0.0788126	0.628	0.999
Ln Conditional Grants	94	7.975147	0.4478759	7.106038	9.503519
Ln Unconditional Grants	94	7.16853	0.5356665	5.823522	9.240778
Ln Mean Household Income	135	8.065469	0.3719441	6.773531	9.143714
Indigenous Elementary Schools	135	10.41481	27.54302	0	283
Sewage service coverage	135	0.5923185	0.2974045	0.003	0.986
<i>Medium-High Inequality</i>					
Rural Gini	786	0.518273	0.092189	0.3065162	0.8719747
Poor Population (%)	787	0.7505006	0.1079427	0.35	0.977
Ln Conditional Grants	625	7.839979	0.5179169	6.571136	10.34495
Ln Unconditional Grants	625	7.393144	0.6403632	5.939489	9.840078
Ln Mean Household Income	787	8.366585	0.3439811	6.985057	10.20122
Indigenous Elementary Schools	787	3.818297	9.893132	0	110
Sewage service coverage	787	0.7978755	0.1801438	0.008	1
<i>High Inequality</i>					
Rural Gini	336	0.7009701	0.1063609	0.5	0.9752787
Poor Population (%)	339	0.9230354	0.0620851	0.649	0.997
Ln Conditional Grants	265	8.22035	0.4070997	7.124982	9.576741
Ln Unconditional Grants	265	7.170856	0.5375919	6.067913	8.708393
Ln Mean Household Income	339	7.618843	0.5628245	4.532359	9.779192
Indigenous Elementary Schools	339	15.66077	36.60464	0	436
Sewage service coverage	339	0.5099646	0.2725218	0.002	0.997

estimate (Table 1). The mean income was less for medium-low, and in the end the high inequality group had the lowest mean income of all; as we observed that the estimates were significant but became negative and ever smaller. These results are somehow unexpected, as they oppose to the traditional Kutnez's U inverted hypothesis.

Here we observed that the less developed and the lower the income, rural households may see a reduction in inequality as income increases. The opposite is true for the more developed rural municipalities, where higher mean household income may reduce income inequality. It is worth to remember that this study analysed the rural population only; and we did not consider the whole picture of income inequality in Mexico. The results obtained in this analysis may suggest that closeness to large cities and other agglomeration factors might be also important to analyse.

CONCLUSIONS

The clustering analysis on rural households showed that there is large heterogeneity among them across the country. Low and high inequality groups of rural households are clearly distinct with different development indicators. In the middle groups though, there is an inconspicuous array of municipalities where rural income inequality seems to move opposite to the normal path of economic progress.

For the low inequality group of rural households, with higher urbanization and higher economic development, conditional grants tended to decrease income inequality among rural households. Conditional grants have an equalizing effect while unconditional grants have an opposite effect though small on rural income inequality.

In the case of rural households with high-income inequality, conditional grants did not have a positive effect in reducing income inequality. This fact contradicts the hypothesis; those municipalities (low income and high percentage of indigenous population) received more conditional grants but the effect on adjusting income inequality was negative. Whereas non-conditional grants reduced inequality in the more developed rural municipalities, even when those received definitively less transfers per capita. A plausible explanation would be the differences on the institutional capacity in public administration.

dicionales no lograron mejorar el nivel de vida de los hogares rurales más empobrecidos y marginados.

Una posible explicación sería que la capacidad institucional en esas comunidades marginales es baja, lo cual puede obstaculizar su habilidad para aplicar las transferencias condicionales, las cuales tienen un sistema complejo de regulaciones, y en cambio pueden utilizar con mayor eficacia las donaciones no condicionales que son más discrecionales. Lo contrario podría ser cierto para los agrupamientos rurales con desigualdad baja, que disfrutaban de indicadores de desarrollo mejores. Las comunidades rurales que se consideran con desigualdad alta, que están menos desarrolladas y tienen más población indígena, reciben más subvenciones condicionales que no condicionales, pero no pueden hacer un buen uso de esas subvenciones para reducir la desigualdad de los ingresos rurales.

La variable escuelas indígenas mostró un signo negativo respecto a la desigualdad rural baja, lo cual significa que los municipios con desarrollo económico mayor son relativamente menos desiguales que aquellos con grado alto de desigualdad de ingresos. Observamos que los municipios rurales clasificados como con desigualdad baja tenían ingresos medios mucho más altos, estaban más desarrollados y tenían menos población indígena. Las estimaciones para las escuelas indígenas también fueron significativas, pero positivas para los agrupamientos de desigualdad media-baja y alta, aunque relativamente pequeñas. En los municipios rurales con desigualdad alta, la población indígena parecía ser más numerosa, pero el coeficiente tuvo signo positivo, lo cual es un posible indicio de que la desigualdad aumenta donde existe la necesidad de más escuelas primarias para niños indígenas. Es decir, cuanto más indígena es una comunidad, más desigual es. El resultado es compatible con el otro resultado que obtuvimos del análisis de las subvenciones federales.

La variable población en pobreza mostró una estimación positiva y significativa para los agrupamientos rurales con desigualdad media-alta y alta; esto significa que los hogares rurales enfrentan mayor pobreza y desigualdad al mismo tiempo. El coeficiente de alcantarillado fue positivo para los municipios rurales con desigualdad baja y media-alta. Lo desconcertante es que estos grupos disfrutaban de un porcentaje alto de sistemas de alcantarillado, como se muestra en el resumen de estadísticos (Cuadro 4). Lo que se puede inferir de estos resultados es que los hogares rurales

REFERENCES

- Ángeles-Castro, G., M. P. Salazar-Rivera, y L. Sandoval-Contreras. 2013. Federalismo fiscal, el ramo 33 y su efecto sobre el crecimiento y la distribución del ingreso: datos para México. *Eseconomía*. 8: 27-53.
- Ángeles-Castro, G., M. P. Salazar-Rivera, y L. Sandoval-Contreras. 2019. Federalismo fiscal y su efecto en el crecimiento y la distribución de ingresos. Evidencia para México. *Gest. y Pol. Púb.* 28: 107-139. DOI: 10.29265/gypv.v28i1.543.
- Atkinson, A. B. 1970. On the measurement of inequality. *J. Econ. Theo.* 2: 244-263. DOI: 10.1016/0022-0531(70)90039-6.
- Campos-Vazquez, R., G. Esquivel, and N. Lustig. 2014. The rise and fall of income inequality in Mexico, 1989-2010. *In: Andrea, G. (ed). Falling Inequality in Latin America: Policy Changes and Lessons.* Oxford University Press. UK. pp: 140-163.
- CONAPO (Consejo Nacional de Población). 2016. Datos abiertos del índice de marginación. Base de consulta pública. http://www.conapo.gob.mx/es/CONAPO/Datos_Abiertos_del_Indice_de_Marginacion (Retrieved: March 2020)
- CONEVAL (Consejo Nacional de Evaluación de la política de Desarrollo Social). 2015. Medición de la pobreza. Índice de rezago social 2015 a nivel nacional, estatal y municipal. Base de consulta pública. https://www.coneval.org.mx/Medicion/IRS/Paginas/Indice_Rezago_Social_2015.aspx (Retrieved: March 2020).
- Do, M. H., and S. Ch. Park. 2018. New rural development and hierarchical governance in Vietnam: Impacts of government support on rural households' income using a hierarchical linear modelling. *Agris.* 10: 3-15. DOI: 10.7160/aol.2018.100401.
- Feldstein, M. 1998. Income inequality and poverty. National Bureau of Economic Research. DOI: 10.3386/w6770. 12 p.
- Igal, L., and S. Seguí. 2017. *Introduction to Data Science.* Springer. New York. 217 p.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). 2015. Encuesta intercensal 2015. Base de consulta pública. <https://www.inegi.org.mx/programas/intercensal/2015/#Microdatos> (Retrieved: March 2020).
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). 2020. Finanzas Públicas Estatales y Municipales. Base de consulta Pública. https://www.inegi.org.mx/programas/finanzas/#Datos_abiertos (Retrieved: March, 2020).
- Kuznets, S. 1955. Economic growth and income inequality. *The Ame. Econ. Rev.* 45: 1-28.
- Lambert, F., and H. Park. 2019. *Income Inequality and Government Transfers in Mexico.* International Monetary Fund. ISBN 978-1-498-32086-3. 24 p.
- Lustig, N., C. Pessino, and J. Scott. 2014. The impact of taxes and social spending on inequality and poverty in Argentina, Bolivia, Brazil, Mexico, Peru, and Uruguay: Introduction to the special issue. *Pub. Fin. Rev.* 42: 287-303.
- Mora-Rivera, J. J., y H. Cerón-Monroy. 2015. Diversificación de ingresos en el sector rural y su impacto en la eficiencia: evidencia para México. *Cuad. Des. Rur.* 12: 57-81. DOI: 10.11144/Javeriana.cdr12-76.disr.
- PNUD (Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo). 2019. Informe de Desarrollo Humano Municipal 2010-

podrían beneficiarse de la cercanía a las áreas urbanas y, por lo tanto, disfrutar de los excedentes de la aglomeración. Sin embargo, vivir cerca de los centros urbanos y, por lo tanto, tener acceso a los sistemas de alcantarillado no significa necesariamente que la desigualdad disminuya.

Por último, nos concentramos en la interpretación de la variable renta media, la cual también es un indicador de desarrollo. El agrupamiento con desigualdad baja tuvo el ingreso medio más alto, seguido por el agrupamiento con desigualdad media-alta, y ambos tuvieron una estimación significativa positiva pero decreciente (Cuadro 1). El ingreso medio fue menor para la desigualdad media-baja y, al final, el agrupamiento con desigualdad alta tuvo el ingreso medio más bajo de todos; ya que observamos que las estimaciones fueron significativas, pero se volvían negativas y cada vez más pequeñas. Estos resultados son de algún modo inesperados, ya que se oponen a la hipótesis tradicional de la U-invertida de Kutnez. Aquí observamos que cuanto menos desarrollados son y con ingresos más bajos, los hogares rurales pueden experimentar una reducción de la desigualdad a medida que aumentan los ingresos. Lo contrario ocurre en los municipios rurales más desarrollados, donde los ingresos familiares medios más altos pueden reducir la desigualdad de ingresos. Cabe recordar que este estudio sólo analizó la población rural; y que no consideró el panorama completo de la desigualdad de ingresos en México. Los resultados obtenidos en este análisis pueden sugerir que la cercanía a las grandes ciudades y otros factores de aglomeración también pueden ser de importancia para el análisis.

CONCLUSIONES

El análisis de conglomerados de los hogares rurales mostró que existe una gran heterogeneidad entre ellos en todo el país. Los agrupamientos de hogares rurales con desigualdad de ingreso baja y alta son claramente distintos con diferentes indicadores de desarrollo. En los agrupamientos medios, sin embargo, hay un conjunto difuso de municipios donde la desigualdad de ingresos rurales parece moverse en sentido opuesto al camino normal del progreso económico.

Para el grupo de hogares rurales con desigualdad baja, con mayor urbanización y desarrollo económico mayor, las subvenciones condicionales tendieron

2015. Transformando México desde lo local. Base de consulta pública. <https://www.mx.undp.org/content/mexico/es/home/library/poverty/informe-de-desarrollo-humano-municipal-2010-2015--transformando-.html> (Retrieved: March 2020).
- Sánchez-López, C., M. T. Aceytuno-Pérez, and M. A. Paz-Báñez. 2019. Inequality and globalisation: Analysis of European countries. *Econ. Soc.* 12: 84-100. DOI: 10.14254/2071-789X.2019/12-4/5.
- Uchiyama, N. 2020. Do conditional cash transfers reduce household vulnerability? Evidence from Progreso-Oportunidades in the 2000s. *Economía* (Elsevier OA). 20: 73-91. DOI: 10.1016/j.econ.2019.04.001.

a reducir la desigualdad de ingresos entre los hogares rurales. Las subvenciones condicionales tienen un efecto igualador, mientras que las subvenciones no condicionales tienen un efecto opuesto, aunque pequeño, sobre la desigualdad de ingresos en las zonas rurales.

En el caso de los hogares rurales con desigualdad de ingresos alta, las subvenciones condicionales no tuvieron un efecto positivo en la reducción de la desigualdad de ingresos. Este hecho contradice la hipótesis; esos municipios (con ingresos bajos y porcentaje alto de población indígena) recibieron más subvenciones condicionales, pero el efecto sobre el ajuste de la desigualdad de ingresos fue negativo. Mientras que las transferencias no condicionales redujeron la desigualdad en los municipios rurales más desarrollados, incluso cuando éstos recibieron definitivamente menos transferencias per cápita. Una explicación plausible serían las diferencias en la capacidad institucional de la administración pública.

—Fin de la versión en Español—

