

Agrociencia

eISSN: 2521-9766

VOLUMEN 57, NÚMERO 4 | 16 DE MAYO - 30 DE JUNIO, 2023 | MÉXICO



AGRICULTURA

SECRETARÍA DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL

DIRECTORIO

EDITOR EN JEFE DE AGROCIENCIA
Fernando Carlos Gómez Merino

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

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

RESPONSABLES DE LA EDICIÓN
Fernando Carlos Gómez Merino

FORMACIÓN, DISEÑO Y MAQUETACIÓN
L. Brenda Espejel Lagunas

TRADUCTORES
Joel Castillo González
Nicolas Crossa

COSECHADOR DE METADATOS
Moises Quintana Arévalo

PLATAFORMA
Ana Luisa Mejía Sandoval
L. Brenda Espejel Lagunas

APOYO SECRETARIAL
Yolanda Feroso Meraz

DERECHOS DE AUTOR Y DERECHOS CONEXOS, **Volumen 57, Número 4, 16 de mayo - 30 de junio, 2023**, Agrociencia es una publicación sesquimensual editada por el Colegio de Postgraduados. Carretera México-Texcoco, Km 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México. CP 56264. Tel. 5959284427. www.colpos.mx. Editor responsable: **Dr. Fernando Carlos Gómez Merino**. Reservas de Derechos al Uso Exclusivo 04-2021-031913431800-203. eISSN: 2521-9766, otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Fecha de última modificación, **30 de junio del 2023**.

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

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

~~~~~  
Oficinas Centrales:

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

Teléfono: 595 92 84427

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

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: Maíz nativo.
Fotografía y créditos: M.C. Fernando Lucio Ruiz



AGRICULTURA

SECRETARÍA DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL

ANIMAL SCIENCE * CIENCIA PECUARIA

<p>PHYTOCHEMICAL PROFILE AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF PLANT EXTRACTS AGAINST PATHOGENIC MICROORGANISMS OF IMPORTANCE TO THE LIVESTOCK INDUSTRY</p>	<p>654</p>
<p>PERFIL FITOQUÍMICO Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EXTRACTOS VEGETALES CONTRA MICROORGANISMOS PATÓGENOS DE IMPORTANCIA PARA LA INDUSTRIA PECUARIA</p>	
<p>Priscilia Yazmín Heredia-Castro, Iván de Jesús Tolano-Villaverde, Carmen Guadalupe Manzanarez-Quin, Reyna Fabiola Osuna-Chávez, Cristina Ibarra-Zazueta, Ramón Dolores Valdez-Domínguez, Edgar Omar Rueda-Puente, Carlos Gabriel Hernández-Moreno, Susana Marlene Barrales-Heredia, Jesús Sosa-Castañeda</p>	
<p>*</p>	
<p><i>Varroa destructor</i>: ITS INTERACTION WITH <i>Apis mellifera</i> COLONY STRENGTH IN TWO LOCALITIES OF SAN LUIS POTOSÍ, MEXICO</p>	<p>678</p>
<p><i>Varroa destructor</i>: SU INTERACCIÓN CON LA FORTALEZA DE COLONIAS DE <i>Apis mellifera</i> EN DOS LOCALIDADES DE SAN LUIS POTOSÍ, MÉXICO</p>	
<p>Rosa Elena Herrera-Medina, Gregorio Álvarez-Fuentes, Carlos Contreras-Servín, Juan Carlos García-López</p>	
<p>*</p>	
<p>BODY COMPOSITION AS A FUNCTION OF COAT COLOR, SEX AND AGE IN LOCAL KIDS FROM NORTHERN MEXICO</p>	<p>700</p>
<p>COMPOSICIÓN CORPORAL EN FUNCIÓN DEL COLOR DE CAPA, SEXO Y EDAD EN CABRITOS LOCALES DEL NORTE DE MÉXICO</p>	
<p>Jorge Alonso Maldonado-Jáquez, Pablo Arenas-Báez, Jonathan Raúl Garay-Martínez, Lorenzo Danilo Granados-Rivera</p>	
<p>*</p>	
<p>YIELD AND CHEMICAL COMPOSITION OF FORAGE AND SILAGE OF NATIVE MAIZE UNDER IRRIGATED SEMI-ARID CONDITIONS</p>	<p>722</p>
<p>RENDIMIENTO Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE FORRAJE Y ENSILADO DE MAÍCES NATIVOS EN CONDICIONES SEMIÁRIDAS CON RIEGO</p>	
<p>Fernando Lucio-Ruiz, Santiago Joaquín-Cancino, Juan Eduardo Godina-Rodríguez, Jonathan Raúl Garay-Martínez</p>	

CHANGES IN BIOACTIVE COMPOUNDS IN FRUITS OF *Eriobotrya japonica*
GROWN IN THREE DIFFERENT LOCATIONS IN NORTHEASTERN PERU

744

CAMBIOS DE COMPUESTOS BIOACTIVOS EN FRUTOS DE
Eriobotrya japonica CULTIVADOS EN TRES LUGARES
DIFERENTES DEL NORORIENTE DEL PERÚ

Nelson Castillo-Chuquizuta, César R. Balcázar-Zumaeta,
Milagros de Jesús Ricce-Villanueva, Segundo Grimaldo Chavez

*

STUDY OF THE RHEOLOGICAL AND PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES
OF FRUCTAN FRACTIONS OF *Agave tequilana* cv. cenizo

763

ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES REOLÓGICAS Y FISICOQUÍMICAS DE
FRACCIONES DE FRUCTANOS DE *Agave tequilana* cv. cenizo

Pamela Isabel Aldrete-Herrera, Mercedes Guadalupe López,
Luis Isaacs Ceja-Medina, Luis Medina-Torres, Rosa Isela Ortiz-Basurto

PLANT PROTECTION * PROTECCIÓN VEGETAL

SCOPING REVIEW ON ALTERNATIVE RENEWABLE
MATERIALS TO IMPROVE SEED QUALITY

796

REVISIÓN DE ALCANCE SOBRE MATERIALES RENOVABLES
ALTERNATIVOS PARA MEJORAR LA CALIDAD DE LAS SEMILLAS

Cynthia Serna-Abascal, Carlos A. Villaseñor-Perea, Guadalupe Olmedo-Obrero,
Artemio Pérez-López, Arturo Mancera-Rico

SOCIOECONOMICS * SOCIOECONOMÍA

IMPACTS OF GLYPHOSATE (ROUNDUP®) ON THE ENVIRONMENT
AND ON HUMAN HEALTH

836

IMPACTOS DEL GLIFOSATO (ROUNDUP®)
EN EL AMBIENTE Y LA SALUD HUMANA

María de Lourdes Fernández-Peña, Arturo Pérez-Vázquez,
María del Refugio Castañeda-Chávez, Pablo Díaz-Rivera,
Eusebio Ortega-Jiménez, Gustavo López-Romero

PHYTOCHEMICAL PROFILE AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF PLANT EXTRACTS AGAINST PATHOGENIC MICROORGANISMS OF IMPORTANCE TO THE LIVESTOCK INDUSTRY

Priscilia Yazmín Heredia-Castro¹, Iván de Jesús Tolano-Villaverde¹, Carmen Guadalupe Manzanarez-Quin², Reyna Fabiola Osuna-Chávez³, Cristina Ibarra-Zazueta³, Ramón Dolores Valdez-Domínguez³, Edgar Omar Rueda-Puente³, Carlos Gabriel Hernández-Moreno³, Susana Marlene Barrales-Heredia³, Jesús Sosa-Castañeda^{3*}

¹ Universidad Estatal de Sonora. Avenida Ley Federal del Trabajo SN, Colonia Apolo, Hermosillo, Sonora, Mexico. C. P. 83100.

² Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C. Carretera Gustavo Enrique Astiazaran Rosas No. 46, Hermosillo, Sonora, Mexico. C. P 83304.

³ Universidad de Sonora. Departamento de Agricultura y Ganadería. Carretera a Bahía Kino km 21.5, Hermosillo, Sonora, Mexico. C.P. 83323.

* Author for correspondence: jesus.sosa@unison.mx

ABSTRACT

Infections caused by pathogenic bacteria are a recurrent problem in the livestock sector, generating important economic losses in the livestock industry. One of the main strategies includes antibiotic therapy; however, its use is limited since pathogenic bacteria present resistance to these drugs, which makes treatment against microbial infections difficult. Therefore, the hypothesis proposed was that ethanolic extracts of native plants from the state of Sonora, Mexico, can inhibit the growth of Gram (+) and Gram (-) pathogenic bacteria related to common infections in the livestock industry. The objective was to evaluate the phytochemical and antimicrobial profile of native plants from the state of Sonora, Mexico. In this study, 17 ethanolic extracts were obtained from native plants of Sonora, and the antimicrobial activity was evaluated by the agar diffusion method and by the microdilution technique using reference bacteria from the ATCC collection. The phytochemical profile was evaluated by spectrophotometry and the experimental design used was completely randomized with three replicates per treatment at 95 % confidence. The results showed that extracts of *Prosopis velutina*, *Ibervillea sonorae*, *Populus alba*, *Ambrosia ambrosioides*, *Krameria sonorae*, and *Leucaena leucocephala* were effective in eliminating *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ATCC 14028 ($p \leq 0.05$). In addition, these extracts presented the highest concentration of total polysaccharides, flavones and flavonols, flavanones and dihydroflavonols, tannins and total chlorogenic acid ($p \leq 0.05$). Therefore, plant extracts from Sonora, Mexico, represent a natural alternative for the control of Gram (+) and Gram (-) pathogens of importance to the livestock industry.

Keywords: *Prosopis velutina*, *Ibervillea sonorae*, *Populus alba*, antimicrobial, plant extracts, livestock.

Citation: Heredia-Castro PY, Tolano-Villaverde I de J, Manzanarez-Quin CG, Osuna-Chávez RF, Ibarra-Zazueta C, Valdez-Domínguez RD, Rueda-Puente EO, Hernández-Moreno CG, Barrales-Heredia SM, Sosa-Castañeda J. 2023. Phytochemical profile and antimicrobial activity of plant extracts against pathogenic microorganisms of importance to the livestock industry. *Agrociencia*. 57(4): 654-677. doi.org/10.47163/agrociencia.v57i4.2496

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: February 21, 2022.
Approved: February 13, 2023.
Published in Agrociencia:
May 24, 2023.

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



INTRODUCTION

In recent years, there has been increasing interest in evaluating the antimicrobial potential of plants to be used as a natural alternative in the treatment of human diseases or as a preservative in the food industry. However, few studies have focused on the use of plant extracts to treat diseases in domestic animals destined for livestock production. In this context, Kama-Kama *et al.* (2016) reported the antimicrobial activity of *Solanum aculeastrum*, *Albizia coriaria*, *Ekebergia capensis*, *Piliostigma thonningii*, and *Euclea divinorum* extracts against disease-causing strains of *Mycoplasma* in African livestock. In addition, another study showed that ethyl acetate extracted from *Terminalia chebula* plant exhibited antimicrobial activity against the pathogens *Staphylococcus aureus*, *Bacillus megaterium*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*, which cause bovine mastitis (Kher *et al.*, 2019). Likewise, Ndhlovu *et al.* (2017) reported that extracts of *Pterocarpus angolensis*, *Cissus quadrangularis* and *Catunaregam spinosa* were efficient in inhibiting the growth of *Dermatophilus congolensis*, which causes dermatological diseases in cattle; while extracts of *Caryocar brasiliense* and *Schinopsis brasiliensis* showed antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, causative of gastrointestinal diseases in beef-producing cattle (de O Ribeiro *et al.*, 2018).

Although evidence indicates that plant extracts have potential to control infection-causing pathogens in the livestock industry, not all plants possess this quality (Romulo *et al.*, 2018), as bioactive phytochemical compounds, such as alkaloids, phenolic compounds, terpenes, and steroids may vary from plant to plant (Aminah *et al.*, 2021; Vaou *et al.*, 2021). Therefore, the search for new natural alternatives for this purpose is still at a premature stage due to the great biodiversity of existing plants worldwide, which highlights the need for further research in this area.

In Mexico, it is estimated that there are about 26 000 plant species, of which about 4000 species are used to treat human diseases in a traditional way (Ruiz-Bustos *et al.*, 2009; Robles-Zepeda *et al.*, 2011). Particularly, some plants native to the state of Sonora, Mexico, have been reported to show antimicrobial potential against *Helicobacter pylori*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, and *Salmonella* spp. (Ruiz-Bustos *et al.*, 2009; Robles-Zepeda *et al.*, 2013; Sosa-Castañeda *et al.*, 2022), and about 400 plants of Sonora are used by local native groups to treat disease (Moreno-Salazar *et al.*, 2008; Morales-Figueroa *et al.*, 2022). However, the biological effects of a large amount of these plants still lack scientific support. Therefore, it is of great importance to evaluate the phytochemical profile and efficacy of native plants from Sonora, Mexico, to eliminate pathogenic bacteria that cause recurrent infections in animals destined for human consumption in the livestock industry.

MATERIALS AND METHODS

Preparation of ethanolic extracts

Extracts were obtained from 17 plants native of Sonora, Mexico (Table 1), which belong to the Botanical Garden of the Department of Agriculture and Livestock (DAG)

Table 1. Identification and parts of plants species used in ethanolic extracts.

Key	Common name	Family	Scientific name	Part of the plant
E1	Álamo	Salicaceae	<i>Populus alba</i>	Leaves
E2	Batamote	Asteraceae	<i>Baccharis glutinosa</i>	Stems
E3	Chicura	Asteraceae	<i>Ambrosia ambrosioides</i>	Stems
E4	Cosahui	Krameriaceae	<i>Krameria sonorae</i>	Root
E5	Guaje	Fabaceae	<i>Leucaena leucocephala</i>	Leaves
E6	Guamúchil	Fabaceae	<i>Pithecellobium dulce</i>	Bark
E7	Jojoba	Simmondsiaceae	<i>Simmondsia chinensis</i>	Leaves
E8	Mezquite	Fabaceae	<i>Prosopis velutina</i>	Leaves
E9	Palo verde	Fabaceae	<i>Parkinsonia microphylla</i>	Stems and leaves
E10	Palo verde azul	Fabaceae	<i>Cercidium floridum</i>	Stems and leaves
E11	Rama blanca	Asteraceae	<i>Encelia farinosa</i>	Leaves
E12	Sangregado	Euphorbiaceae	<i>Jatropha cardiophylla</i>	Stems
E13	Tepehuaje	Fabaceae	<i>Lysiloma watsonii</i>	Leaves
E14	Torote	Burseraceae	<i>Bursera microphylla</i>	Leaves
E15	Vinorama	Fabaceae	<i>Acacia constricta</i>	Leaves
E16	Wereke	Cucurbitaceae	<i>Ibervillea sonorae</i>	Tuber
E17	Zamota	Fabaceae	<i>Coursetia glandulosa</i>	Stems

*Plants collected at the Botanical Garden of the DAG-UNISON.

of the University of Sonora (UNISON). Each plant was dehydrated at 34 °C in a hot air oven (Thelco, Precision Science, model 28, USA). The dehydrated plant material was pulverized in a mill (Pulvex Mini 100, Mexico) to a particle size of 100 microns. Then 100 g of the pulverized plant material was mixed with 100 mL of 99 % pure ethanol (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) in a glass bottle and stored for 5 days in the dark at 25 °C (Khan *et al.*, 2017). Finally, the extracts were filtered with filter paper Whatman® no. 41 and the plant material was dehydrated again. The difference in weight of plant material before and after storage was considered as the amount of soluble compounds extracted from the plants. Ethanolic extracts were adjusted to 50 mg mL⁻¹ and stored in the dark at 4 °C until use.

Phytochemical profile of ethanolic extracts

Total polysaccharide content was determined according to DuBois *et al.* (1956), data were expressed as mg of glucose equivalent per gram of extract (mg GE g⁻¹). The content of flavones and flavonols, as well as the content of total flavanones and dihydroflavonols was determined using the methodology reported by Popova *et al.* (2004), the data were expressed as mg of hesperetin equivalent per gram of extract (mg HE g⁻¹). Total tannin content was determined according to Price and Butler (1977), the results were expressed in mg of catechin equivalent per gram of extract (mg CE g⁻¹). Finally, the chlorogenic acid content was determined by the methodology suggested by Griffiths *et al.* (1992) and the results were expressed as mg of chlorogenic acid

per gram of extract (mg CA g⁻¹). Calibration curves were used for all determinations of phytochemical profiles of the extracts and the absorbances were read in a spectrophotometer (Spectro Max MD, USA).

Antimicrobial activity of ethanolic extracts

Listeria monocytogenes ATCC 19115, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ATCC 14028 were obtained from the culture collection of the Microbiology Laboratory of the Department of Chemical and Biological Sciences of the UNISON. All strains were reactivated in BHI broth culture medium (brain-heart infusion, BD Difco, Sparks, MD, USA). Then, 2 plates were prepared with BHI agar (brain-heart infusion, BD Difco, Sparks, MD, USA) for each strain. Four sterile filter paper discs Whatman® no. 41 of 6 mm diameter were placed on each plate, and 20 µL of each ethanolic extract were added to each disk. Finally, the plates were incubated at 37 °C for 24 h. Halos greater than 3 mm were considered as inhibition according to the criteria used by Heredia-Castro *et al.* (2015).

Determination of the minimum inhibitory concentration

The minimum inhibitory concentration (MIC) of each of the extracts was determined by the microdilution technique. Bacteria from the ATCC collection were propagated in BHI broth culture medium (brain-heart infusion, BD Difco, Sparks, MD, USA). A stock solution of 50 mg mL⁻¹ of each ethanolic extract was used and 10 dilutions were obtained with concentrations ranging from 5 mg mL⁻¹ to 50 mg mL⁻¹ for each of the extracts. The MIC was defined as the minimum concentration of extract at which the pathogen did not show visible growth (Mahfuzul *et al.*, 2007).

Statistical analysis

A completely Randomized Design with one-way ANOVA was used at 95 % of confidence with three replicates per treatment. The mean comparison test was performed by Tukey-Kramer at a significance level of 0.05 using NCSS statistical software version 11.

RESULTS AND DISCUSSION

The antimicrobial activity of phytochemical compounds derived from plant extracts has attracted strong attention in the scientific community; therefore, the search for new plants with biological potential to control pathogenic microorganisms continues. The results of the phytochemical profile of the ethanolic extracts derived from plants from Sonora, Mexico (Table 2) showed that extract E16 presented the highest concentration of total polysaccharides (250.32 ± 2.12 mg GE g⁻¹) ($p \leq 0.05$), while, extracts E6, E7, and E11 showed the lowest concentration (100.51 ± 1.25, 102.71 ± 1.49 and 103.36 ± 2.65 mg GE g⁻¹, respectively) ($p \leq 0.05$).

Extract E16 presented a higher content of flavones and flavonols (100.65 ± 2.14 mg HE g⁻¹) ($p \leq 0.05$); on the contrary, extracts E6, E7, and E11 showed the lowest concentration of these compounds (34.62 ± 1.20, 32.14 ± 2.12 and 32.82 ± 2.86 mg HE g⁻¹, respectively)

Table 2. Phytochemical profile of ethanolic extracts derived from plants species analyzed.

Key	Total polysaccharides	Total flavones and flavonols	Flavanones and total dihydroflavonols	Total tannins	Total chlorogenic acid
E1	200.32 ± 2.12 e	75.87 ± 2.27 e	10.57 ± 1.87 c	3.05 ± 0.21 d	25.33 ± 1.25 d
E2	185.65 ± 1.33 f	62.33 ± 1.68 g	7.12 ± 1.01 d	3.33 ± 0.14 d	15.85 ± 1.04 e
E3	210.32 ± 2.12 d	80.14 ± 1.25 d	12.25 ± 1.65 c	4.89 ± 0.69 b	27.57 ± 1.65 c
E4	230.32 ± 2.12 c	86.54 ± 3.23 c	15.89 ± 1.25 b	4.58 ± 0.74 bc	29.33 ± 1.14 bc
E5	230.32 ± 2.12 c	88.62 ± 2.11 c	15.25 ± 1.14 b	4.32 ± 0.21 c	28.36 ± 2.25 bc
E6	100.51 ± 1.25 h	34.62 ± 1.20 h	3.55 ± 0.12 e	2.11 ± 0.07 f	10.57 ± 1.14 f
E7	102.71 ± 1.49 h	32.14 ± 2.12 h	3.77 ± 0.14 e	2.01 ± 0.20 f	9.96 ± 1.06 f
E8	240.32 ± 2.12 b	92.32 ± 2.33 b	18.58 ± 2.86 a	5.02 ± 0.58 a	30.59 ± 1.23 b
E9	182.36 ± 2.98 g	65.96 ± 2.35 f	6.98 ± 0.87 d	3.42 ± 0.09 d	14.89 ± 1.61 e
E10	184.42 ± 2.87 g	64.36 ± 2.38 f	6.64 ± 0.48 d	3.21 ± 0.06 d	14.81 ± 1.21 e
E11	103.36 ± 2.65 h	32.82 ± 2.86 h	3.33 ± 0.16 e	2.02 ± 0.10 f	9.88 ± 1.02 f
E12	180.25 ± 2.28 g	63.25 ± 2.58 g	6.72 ± 0.42 d	3.02 ± 0.02 d	15.81 ± 1.51 e
E13	183.42 ± 2.78 g	64.69 ± 1.57 f	6.84 ± 0.37 d	3.26 ± 0.03 d	15.38 ± 1.21 e
E14	181.81 ± 2.31 g	61.19 ± 2.54 g	6.81 ± 0.33 d	3.28 ± 0.02 d	14.14 ± 1.11 e
E15	184.01 ± 2.69 g	65.95 ± 3.25 f	7.00 ± 0.16 d	3.15 ± 0.02 d	14.15 ± 1.17 e
E16	250.32 ± 2.12 a	100.65 ± 2.14 a	20.68 ± 1.59 a	5.24 ± 0.18 a	35.57 ± 1.01 a
E17	182.95 ± 1.99 g	62.47 ± 1.58 g	6.99 ± 0.19 d	3.04 ± 0.03 d	15.17 ± 1.51 e

Total polysaccharides = mg GE g⁻¹; Flavones and flavonols = mg HE g⁻¹; Total flavanones and dihydroflavonols = mg HE g⁻¹; Total tannins = mg CE g⁻¹; Total chlorogenic acid = mg CA g⁻¹. Different letter indicates significant difference between data in the same column ($p \leq 0.05$). E1 to E17 are according to Table 1.

($p \leq 0.05$). Regarding total flavanones and dihydroflavonols content, extracts E8 and E16 showed the highest concentration (18.58 ± 2.86 and 20.68 ± 1.59 mg HE g⁻¹, respectively) ($p \leq 0.05$); on the other hand, extracts E6, E7, and E11 showed the lowest concentration of these phytochemicals (3.55 ± 0.12 , 3.77 ± 0.14 and 3.33 ± 0.16 mg HE g⁻¹, respectively) ($p \leq 0.05$). The content of total tannins was higher in extracts E8 and E16 (5.02 ± 0.58 and 5.24 ± 0.18 mg CE g⁻¹, respectively) ($p \leq 0.05$), while extracts E6, E7, and E11 presented the lowest concentration of these compounds (2.11 ± 0.07 , 2.01 ± 0.20 and 2.02 ± 0.10 mg CE g⁻¹, respectively) ($p \leq 0.05$). Finally, extract E16 presented a higher content of total chlorogenic acid (35.57 ± 1.01 mg CA g⁻¹) ($p \leq 0.05$), while extracts E6, E7 and E11 presented the lowest concentration of that phytochemical (10.57 ± 1.14 , 9.96 ± 1.06 and 9.88 ± 1.02 mg CA g⁻¹, respectively) ($p \leq 0.05$).

Other studies have also evaluated the phytochemical profile of some plants from Sonora, Mexico. In this context, Vidal-Gutiérrez *et al.* (2020) identified 11 phenolic compounds (4 phenolic acids, 6 flavonoids and 1 flavan-3-ols) in the extract of *Bursera microphylla*, while Estrada-Zúñiga *et al.* (2012) reported the presence of total phenols in the extract of *Ibervillea sonorae*. The presence of phenols and total flavonoids in the extract of *Krameria erecta* has also been reported (Jiménez-Estrada *et al.*, 2013). Other studies evaluated different *Prosopis* species and found the presence of alkaloids, phenolic compounds, flavonoids, phenolic acids, glycosides, steroids, tannins, and

triterpertenoids (Sharifi-Rad *et al.*, 2019). In the extract of *Leucaena leucocephala*, native to northwestern Mexico and cultivated in Egypt, the presence of terpenes, flavonoids, coumarins, and sterols was found (Hassan *et al.*, 2014). In addition, the presence of phytochemical compounds in plants can vary from one species to another (Sharifi-Rad *et al.*, 2019) due to various factors, one of them being the stress to which the plant is subjected (Vidal-Gutiérrez *et al.*, 2020).

The results of the antimicrobial activity of the ethanolic extracts against bacteria from the ATCC collection (Table 3) showed that 14 of the 17 extracts evaluated exhibited activity against at least one bacterium ($p \leq 0.05$), while, three of the extracts assessed showed no activity (E6, E7 and E11) against any pathogen evaluated. Extract E16 presented the highest antimicrobial activity against *S. aureus* (18.50 ± 0.70 mm) ($p \leq 0.05$) and, on the contrary, E12 and E13 presented the lowest activity (4.00 ± 1.41 mm and 4.50 ± 0.70 mm, respectively) ($p \leq 0.05$). On the other hand, extract E8 presented the highest inhibition against *L. monocytogenes* (16.50 ± 2.12 mm) ($p \leq 0.05$), while E12 presented the lowest antimicrobial activity (3.50 ± 0.70 mm) ($p \leq 0.05$). The E4 extract showed the highest antimicrobial activity against *E. coli* (14.50 ± 2.12 mm) ($p \leq 0.05$); conversely, E12 and E13 showed the lowest activity (3.50 ± 0.70 mm and 3.50 ± 0.70 mm)

Table 3. Antimicrobial activity of ethanolic extracts obtained from plant species analyzed, against pathogenic bacteria from the ATCC collection.

Extracts	Gram (+)		Gram (-)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella enterica</i> serovar Thyphimurium
E1	7.00 ± 1.41 e	11.50 ± 2.12 df	11.00 ± 1.41 d	7.00 ± 1.41 c
E2	5.50 ± 0.70 g	8.00 ± 1.41 g	6.50 ± 2.12 f	n.p.
E3	10.50 ± 2.12 d	10.50 ± 0.70 f	12.50 ± 0.70 bc	7.50 ± 0.70 bc
E4	12.50 ± 2.12 c	13.50 ± 2.12 c	14.50 ± 2.12 a	8.00 ± 1.41 b
E5	13.00 ± 2.82 c	12.50 ± 0.70 cd	11.50 ± 2.12 cd	12.00 ± 1.41 a
E6	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.
E7	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.
E8	14.00 ± 1.41 b	16.50 ± 2.12 a	13.00 ± 1.41 b	13.00 ± 1.41 a
E9	6.50 ± 0.70 f	5.50 ± 0.70 h	5.50 ± 0.70 f	3.50 ± 0.70 e
E10	5.50 ± 0.70 g	8.00 ± 1.41 g	n.p.	n.p.
E11	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.
E12	4.00 ± 1.41 h	3.50 ± 0.70 i	3.50 ± 0.70 h	n.p.
E13	4.50 ± 0.70 h	5.50 ± 0.70 h	3.50 ± 0.70 h	n.p.
E14	7.00 ± 2.82 e	5.50 ± 0.70 h	4.0 ± 0.41 g	n.p.
E15	7.50 ± 2.12 e	10.50 ± 2.12 f	8.50 ± 0.70 e	13.00 ± 1.4 a
E16	18.50 ± 0.70 a	14.00 ± 1.41 b	10.00 ± 1.4 d	5.50 ± 0.70 d
E17	6.50 ± 0.70 f	7.50 ± 0.70 g	4.50 ± 0.70 fg	n.p.

*Data expressed in mm of inhibition halos. Concentration of extracts = 50 mg mL⁻¹; n.p.: no activity. Different letter indicates significant difference between data in the same column ($p \leq 0.05$).

($p \leq 0.05$), and the E10 extract showed no activity. Likewise, extracts E5, E8, and E15 showed higher antimicrobial activity against *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (12.00 ± 1.41 mm, 13.00 ± 1.41 mm and 13.00 ± 1.41 mm, respectively) ($p \leq 0.05$); in contrast, E9 showed the lowest activity (3.50 ± 0.70 mm) ($p \leq 0.05$) and extracts E2, E10, E12, E13, E14, and E17 showed no antimicrobial activity against this pathogen.

Few studies have demonstrated the antimicrobial potential of plants from Sonora, Mexico. In this regard, Moreno-Salazar *et al.* (2008) evaluated the antimicrobial effect of 30 native plants from northwestern Mexico against *E. coli*, *Shigella flexneri*, and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, and reported that *Lysiloma watsonii* and *Acacia constricta* presented antimicrobial activity against the 3 pathogens tested, which coincides with the findings of this study. However, the authors reported that *Pithecellobium dulce* was able to inhibit the growth of *E. coli*, *Shigella flexneri*, and *Salmonella enterica* Typhimurium, which differs with the results found in this study, since *Pithecellobium dulce* did not present antimicrobial activity against any of the pathogens evaluated. In addition, the authors found that *Baccharis glutinosa* and *Coursetia glandulosa* did not show antimicrobial activity against any of the pathogens tested, whereas in this study antimicrobial activity was found against *E. coli*. These contradictory results may be due to the type of solvent used to obtain the phytochemical compounds from the plants, since methanol and ethanol are solvents that have different polarity, which allows the extraction of different types of phytochemical compounds from the plants. On the other hand, Ruiz-Bustos *et al.* (2009) evaluated the antimicrobial potential of 6 methanolic extracts of plants from northwestern Mexico, and reported that *Ibervillea sonorae* did not show antimicrobial activity against *E. coli* and *S. aureus*, which differs from what was found in this study, since *Ibervillea sonorae* did show antimicrobial activity against these two pathogens. This could be due to the type of solvent used (methanol), the storage time (10 days) or the period of exposure to light of the plant material mixed with the solvent during storage. In the study, it was mentioned that the extracts were stored in amber colored bottles after they were obtained and not during storage prior to obtaining them, which could have affected their bioactivity. Likewise, it has been reported that the methanolic extract of *Ambrosia ambrosioides* presented antimicrobial activity against *Mycobacterium tuberculosis* (Robles-Zepeda *et al.*, 2013), and that the methanolic extract of *Ibervillea sonorae* was efficient in inhibiting the growth of *Helicobacter pylori* (Robles-Zepeda *et al.*, 2011), which demonstrates the antimicrobial potential of plants from Sonora, Mexico, to eliminate Gram (+) and Gram (-) bacteria. Their activity is related to the interaction of antimicrobial compounds with the outer peptidoglycan layer of the cell wall of Gram (+) bacteria and with the outer lipopolysaccharide layer of Gram (-) bacteria.

Plant-derived phytochemicals exhibiting antimicrobial activity can be classified into several groups according to their chemical structure, the main compounds being alkaloids, terpenoids, sulfur compounds, and polyphenols (Radulovic *et al.*, 2013; Khameneh *et al.*, 2019). Alkaloids are heterocyclic nitrogenous compounds containing extremely variable chemical structures and their antibacterial activity has been

demonstrated in some studies, where it has been observed that reserpine, piperine, tomatidine, berberine, among others, can inhibit the efflux pump and ATP synthase, or atrophy the cell membrane of bacteria, causing them to die (Khameneh *et al.*, 2019). On the other hand, organosulfur compounds are molecules that contain sulfur, among which are lycine, ajoene, berteroin, among others. This group of molecules can inhibit the synthesis of ATP synthase, destroy the membrane of bacteria, and inhibit the synthesis of DNA and microbial proteins. Phenolic compounds are molecules having one or more unsaturated rings with one or more hydroxyl groups, which constitute a ubiquitous group of secondary metabolites found in some species of the plant kingdom. Phenolic compounds include phenolic acids, flavonoids and tannins, which can inhibit bacterial efflux pump and DNA gyrase, while terpenes are a very broad group of aromatic compounds derived from isopropene, Terpenes include molecules such as farnesol, nerolidol, carvacol, menthol, among others, and these molecules can cause cell membrane atrophy and bacterial death (Radulovic *et al.*, 2013; Khameneh *et al.*, 2019).

In this study, the extracts from Sonora plants showed the presence of antimicrobial compounds such as flavones, flavonols, flavanones, dihydroflavonols, and tannins; however, the variability in the results of the antimicrobial activity found could be due to the presence and concentration of other phytochemical compounds not evaluated, such as sulfur compounds, terpenoids or alkaloids.

On the other hand, the MIC was evaluated in the 14 extracts that showed antimicrobial activity (Table 4). The results showed that dilutions of the extracts with concentrations

Table 4. Minimum inhibitory concentration of ethanolic extracts obtained from the plant species analyzed, against pathogenic bacteria from the ATCC collection.

Extract	Gram (+)		Gram (-)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium
E1	50	35	30	50
E2	50	45	50	n.p.
E3	30	30	30	50
E4	35	30	25	50
E5	30	40	45	40
E8	30	15	35	30
E9	50	50	50	50
E10	50	50	n.p.	n.p.
E12	50	50	50	n.p.
E13	50	50	50	n.p.
E14	50	50	50	n.p.
E15	50	35	45	30
E16	15	25	30	50
E17	50	50	50	n.p.

*Concentrations of the extracts expressed in mg mL⁻¹. n.p.: no inhibitory activity.

between 5 and 10 mg mL⁻¹ did not show activity against any pathogen evaluated. However, *S. aureus* was most susceptible to extract E16 (15 mg mL⁻¹), followed by extracts E3, E5, and E8 (30 mg mL⁻¹), whereas, *L. monocytogenes* was most susceptible to E8 (15 mg mL⁻¹), followed by E16 (25 mg mL⁻¹), E3, and E4 (30 mg mL⁻¹). Likewise, *E. coli* showed to be most susceptible to extract E4 (25 mg mL⁻¹), followed by extracts E1, E3, and E16 (30 mg mL⁻¹). Finally, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium was most susceptible to extracts E8 and E15 (30 mg mL⁻¹), followed by extract E5 (40 mg mL⁻¹). In a study conducted by Elisha *et al.* (2017), different concentrations of plant extracts were evaluated against *E. coli* and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, where it was reported that *Hypericum roeperianum* extract presented higher antimicrobial activity when used at a concentration of 0.13 mg mL⁻¹ against *E. coli* and 0.26 mg mL⁻¹ against *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. Furthermore, *Heteromorpha arborescens* extract showed its highest antimicrobial activity at a concentration of 0.18 and 0.31 mg mL⁻¹ against those two pathogens, respectively. Similarly, Ramli *et al.* (2017) reported that *E. coli* and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium were susceptible to *Syzygium polyanthum* extract when exposed to a concentration of 1.25 mg mL⁻¹, while *S. aureus* and *L. monocytogenes* presented higher susceptibility when the concentration of the extract was adjusted to 0.63 mg mL⁻¹.

The variability of the concentration at which the highest antimicrobial activity of the plant extracts occurs could be due to the types of biomolecules present, as well as their quantity. To date, it has been reported that not all chemical compounds that are part of the flavonoid group can act with the same intensity against Gram (+) and Gram (-) bacteria, so their antimicrobial action could depend on the amount and type of flavonoids present in the extracts (Echeverría *et al.*, 2017).

CONCLUSIONS

The ethanolic extract of *Prosopis velutina* was the most efficient in eliminating Gram (+) bacteria *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, and Gram (-) bacteria *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ATCC 14028. However, extracts of *Iberivillea sonorae*, *Populus alba*, *Ambrosia ambrosioides*, *Krameria sonorae*, and *Leucaena leucocephala* also showed significant antimicrobial activity against the same pathogens. In addition, these extracts presented the highest concentration of the phytochemical flavones and flavonols, total flavanones and dihydroflavonols, total tannins, and total chlorogenic acid. Therefore, extracts from native plants of Sonora, Mexico, can be considered as an alternative and natural treatment to control infections caused by Gram (+) and Gram (-) bacteria that affect animal production in the livestock industry.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the support provided by the University of Sonora (UNISON) and the Sonora State University (UES) for the use of materials and facilities. And Gerardo Reyna Cañez of the Food Research and Development Center, A. C. (CIAD, A. C.) for his technical support.

REFERENCES

- Aminah NS, Tun, KNW, Kristanti AN, Aung HT, Takaya Y, Choudhary MI. 2021. Chemical constituents and their biological activities from Taunggyi (Shan state) medicinal plants. *Heliyon* 7 (2): e06173. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06173>
- de O Ribeiro IC, Mariano EGA, Careli RT, Morais-Costa F, de Sant'Anna FM, Pinto MS, Souza MR, Duarte ER. 2018. Plants of the Cerrado with antimicrobial effects against *Staphylococcus* spp. and *Escherichia coli* from cattle. *BMC Veterinary Research* 14 (1): 32. <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1351-1>
- DuBois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PT, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28 (3): 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Echeverría J, Opazo J, Mendoza L, Urzúa A, Wilkens M. 2017. Structure-activity and lipophilicity relationships of selected antibacterial natural flavones and flavanones of Chilean flora. *Molecules* 22 (4): 608. <https://doi.org/10.3390/molecules22040608>
- Elisha IL, Botha FS, McGaw LJ, Eloff JN. 2017. The antibacterial activity of extracts of nine plant species with good activity against *Escherichia coli* against five other bacteria and cytotoxicity of extracts. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 17 (1): 133. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1645-z>
- Estrada-Zúñiga ME, Arano-Varela H, Buendía-González L, Orozco-Villafuerte J. 2012. Fatty acids, phenols content, and antioxidant activity in *Ibervillea sonorae* callus cultures. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 11 (1): 89–96.
- Griffiths DW, Bain H, Dale MFB. 1992. Development of a rapid colorimetric method for the determination of chlorogenic acid in freeze-dried potato tubers. *Journal of the Science Food Agriculture* 58 (1): 41–48. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740580108>
- Hassan RA, Tawfik WA, Abou-Setta LM. 2014. The flavonoid constituents of *Leucaena Leucocephala* growing in Egypt, and their biological activity. *African Journal of Traditional and Alternative Medicine* 11 (1): 67–72. <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v11i1.9>
- Heredia-Castro PY, Méndez-Romero JI, Hernández-Mendoza A, Acedo-Félix E, González-Córdova AF, Vallejo-Cordoba B. 2015. Antimicrobial activity and partial characterization of bacteriocin-like inhibitory substances produced by *Lactobacillus* spp. isolated from artisanal Mexican cheese. *Journal of Dairy Science* 98 (12): 8285–8293. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10104>
- Jiménez-Estrada M, Velázquez-Contreras C, Garibay-Escobar A, Sierras-Canchola D, Lapizco-Vázquez R, Ortiz-Sandoval C, Burgos-Hernández A, Robles-Zepeda RE. 2013. *In vitro* antioxidant and antiproliferative activities of plants of the ethnopharmacopeia from northwest of Mexico. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 13 (1): 12. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-12>
- Kama-Kama F, Midiwo J, Nganga J, Maina N, Schiek E, Omosa LK, Osanjo G, Naessens J. 2016. Selected ethno-medicinal plants from Kenya with *in vitro* activity against major African livestock pathogens belonging to the “*Mycoplasma mycoides* cluster”. *Journal of Ethnopharmacology* 192 (1): 524–534. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.09.034>
- Khameneh B, Iranshahy M, Soheili V, Fazly-Bazzaz BS. 2019. Review on plant antimicrobials: A mechanistic viewpoint. *Antimicrobial Resistance and Infection Control* 8 (1): 118. <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0559-6>
- Khan S, Imran M, Imran M, Pindari N. 2017. Antimicrobial activity of various ethanolic plant extracts against pathogenic multi drug resistant *Candida* spp. *Bioinformation* 13 (3): 67–72. <https://doi.org/10.6026/97320630013067>
- Kher MN, Sheth NR, Bhatt VD. 2019. *In vitro* antibacterial evaluation of *Terminalia chebula* as an alternative of antibiotics against bovine subclinical mastitis. *Animal Biotechnology* 30 (2): 151–158. <https://doi.org/10.1080/10495398.2018.1451752>
- Mahfuzul HMD, Bari ML, Inatsu Y, Juneja VK, Kawamoto S. 2007. Antibacterial activity of guava (*Psidium guajava* L.) and neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) extracts against foodborne pathogens and spoilage bacteria. *Foodborne Pathogens and Disease* 4 (4): 481–488. <https://doi.org/10.1089/fpd.2007.0040>

- Morales-Figueroa GG, Pereo-Vega GD, Reyna-Murrieta ME, Pérez-Morales R, López-Mata MA, Sánchez-Escalante JJ, Quihui-Cota L. 2022. Antibacterial and antioxidant properties of extracts of *Yucca baccata*, a plant of northwestern Mexico, against pathogenic bacteria. *BioMed Research International* 2022 (1): 9158836. <https://doi.org/10.1155/2022/9158836>
- Moreno-Salazar SF, Verdugo AE, López CC, Martínez EB, Candelas TM, Robles-Zepeda RE. 2008. Activity of medicinal plants, used by native populations from Sonora, Mexico, against enteropathogenic bacteria. *Pharmaceutical Biology* 46 (10): 732–737. <https://doi.org/10.1080/13880200802215800>
- Ndhlovu DN, Masika PJ. 2017. *In vitro* efficacy of extracts from plants used by small-holder farmers in the treatment of dermatophilosis in cattle. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines* 14 (2): 263–272. <https://doi.org/10.21010/ajtcam.v14i2.28>
- Popova M, Bankova V, Butovska D, Petkov V, Nikolova-Damyanova B, Sabatini AG, Marcazzan GL, Bogdanov S. 2004. Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques* 15 (4): 235–240. <https://doi.org/10.1002/pca.777>
- Price ML, Butler GL. 1977. Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 25 (6): 1268–1273. <https://doi.org/10.1021/jf60214a034>
- Radulovic NS, Blagojevic PD, Stojanovic-Radic ZZ, Stojanovic NM. 2013. Antimicrobial plant metabolites: structural diversity and mechanism of action. *Current Medicinal Chemistry* 20 (7): 932–952. <https://doi.org/10.2174/092986713805219136>
- Ramli S, Radu S, Shaari K, Rukayadi Y. 2017. Antibacterial activity of ethanolic extract of *Syzygium polyanthum* L. (Salam) leaves against foodborne pathogens and application as food sanitizer. *Biomed Research International* 2017 (1): 9024246. <https://doi.org/10.1155/2017/9024246>
- Robles-Zepeda RE, Velázquez-Contreras CA, Garibay-Escobar A, Gálvez-Ruiz JC, Ruiz-Bustos E. 2011. Antimicrobial activity of northwestern Mexican plants against *Helicobacter pylori*. *Journal of Medicinal Food* 14 (10): 1280–1283. <https://doi.org/10.1089/jmf.2010.0263>
- Robles-Zepeda RE, Coronado-Aceves EW, Velázquez-Contreras CA, Ruiz-Bustos E, Navarro-Navarro M, Garibay-Escobar A. 2013. *In vitro* anti-mycobacterial activity of nine medicinal plants used by ethnic groups in Sonora, Mexico. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 13 (1): 329. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-329>
- Romulo A, Zuhud EA, Rondevaldova J, Kokoska L. 2018. Screening of *in vitro* antimicrobial activity of plants used in traditional Indonesian medicine. *Pharmaceutical Biology* 56 (1): 287–293. <https://doi.org/10.1080/13880209.2018.1462834>
- Ruiz-Bustos E, Velazquez C, Garibay-Escobar A, García Z, Plascencia-Jatomea M, Cortez-Rocha MO, Hernández-Martínez J, Robles-Zepeda RE. 2009. Antibacterial and antifungal activities of some Mexican medicinal plants. *Journal of Medicinal Food* 12 (6): 1398–1402. <https://doi.org/10.1089/jmf.2008.0205>
- Sharifi-Rad J, Kobarfard F, Ata A, Ayatollahi SA, Khosravi-Dehaghi N, Jugran AK, Tomas M, Capanoglu E, Matthews KR, Popović-Djordjević J, Kostić A, Kamiloglu S, Sharopov F, Choudhary MI, Martins N. 2019. *Prosopis* plant chemical composition and pharmacological attributes: Targeting clinical studies from preclinical evidence. *Biomolecules* 9 (12): 777. <https://doi.org/10.3390/biom9120777>
- Sosa-Castañeda J, Manzanarez-Quin CG, Valdez-Domínguez RD, Ibarra-Zazueta C, Osuna-Chávez RF, Rueda-Puente EO, Hernández-Moreno CG, Santos-Espinosa A, Epigmenio-Chávez A, García-Baldenegro CV, Gonzalez-Soto TE, Armenta-Calderón AD, Heredia-Castro PY. 2022. Antimicrobial activity of plants native to Sonora, Mexico, against pathogenic bacteria isolated from milk from cows diagnosed with mastitis. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 13 (2): 375–390. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v13i2.6017>
- Vaou N, Stavropoulou E, Voidarou C, Tsigalou C, Bezirtzoglou E. 2021. Towards advances in medicinal plant antimicrobial activity: A review study on challenges and future perspectives. *Microorganisms* 9 (10): 2041. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9102041>

Vidal-Gutiérrez M, Robles-Zepeda RE, Vilegas W, Gonzalez-Aguilar GA, Torres-Moreno H, López-Romero JC. 2020. Phenolic composition and antioxidant activity of *Bursera microphylla* A. Gray. *Industrial Crops and Products* 152: 112412. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112412>

PERFIL FITOQUÍMICO Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EXTRACTOS VEGETALES CONTRA MICROORGANISMOS PATÓGENOS DE IMPORTANCIA PARA LA INDUSTRIA PECUARIA

Priscilia Yazmín Heredia-Castro¹, Iván de Jesús Tolano-Villaverde¹, Carmen Guadalupe Manzanarez-Quin², Reyna Fabiola Osuna-Chávez³, Cristina Ibarra-Zazueta³, Ramón Dolores Valdez-Domínguez³, Edgar Omar Rueda-Puente³, Carlos Gabriel Hernández-Moreno³, Susana Marlene Barrales-Heredia³, Jesús Sosa-Castañeda^{3*}

¹ Universidad Estatal de Sonora. Avenida Ley Federal del Trabajo SN, Colonia Apolo, Hermosillo, Sonora, México. C. P. 83100.

² Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C. Carretera Gustavo Enrique Astiazaran Rosas No. 46, Hermosillo, Sonora, México. C. P. 83304.

³ Universidad de Sonora. Departamento de Agricultura y Ganadería. Carretera a Bahía Kino km 21.5, Hermosillo, Sonora, México. C. P. 83323.

* Autor para correspondencia: jesus.sosa@unison.mx

RESUMEN

Las infecciones causadas por bacterias patógenas son un problema recurrente en el sector pecuario, llegando a generar pérdidas económicas importantes en la industria ganadera. Una de las principales estrategias incluye la terapia con antibióticos, sin embargo, su uso está limitado debido a que las bacterias patógenas presentan resistencia a estos fármacos, lo cual dificulta el tratamiento contra las infecciones microbianas. Por lo anterior, la hipótesis planteada fue que los extractos etanólicos de las plantas nativas del estado de Sonora, México, son capaces de inhibir el crecimiento de bacterias patógenas Gram (+) y Gram (-) relacionadas con las infecciones comunes en la industria pecuaria. El objetivo fue evaluar el perfil fitoquímico y antimicrobiano de las plantas nativas del estado de Sonora, México. En este estudio, se obtuvieron 17 extractos etanólicos de plantas nativas de Sonora, y se evaluó la actividad antimicrobiana por el método de difusión en agar y por la técnica de la microdilución utilizando bacterias de referencia de la colección ATCC. El perfil fitoquímico fue evaluado por espectrofotometría y el diseño experimental utilizado fue un diseño completamente al azar con 3 repeticiones por tratamiento al 95 % de confiabilidad. Los resultados mostraron que los extractos de *Prosopis velutina*, *Ibervillea sonorae*, *Populus alba*, *Ambrosia ambrosioides*, *Krameria sonorae*, y *Leucaena leucocephala* fueron eficaces para eliminar a *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ATCC 14028 ($p \leq 0.05$). Además, estos extractos presentaron la mayor concentración de polisacáridos totales, flavonas y flavonoles, flavanonas y dihidroflavonoles, taninos y ácido clorogénico total ($p \leq 0.05$). Por lo anterior, los extractos de las plantas de Sonora, México, representan una alternativa natural para el control de patógenos Gram (+) y Gram (-) de importancia para la industria pecuaria.

Palabras clave: *Prosopis velutina*, *Ibervillea sonorae*, *Populus alba*, antimicrobiano, extractos de plantas, ganadería.

Citation: Heredia-Castro PY, Tolano-Villaverde I de J, Manzanarez-Quin CG, Osuna-Chávez RF, Ibarra-Zazueta C, Valdez-Domínguez RD, Rueda-Puente EO, Hernández-Moreno CG, Barrales-Heredia SM, Sosa-Castañeda J. 2023. Perfil fitoquímico y actividad antimicrobiana de extractos vegetales de Sonora, México, contra microorganismos patógenos de importancia para la industria pecuaria. *Agrociencia*. 57(4): 654-677. [doi.org/ 10.47163/agrociencia.v57i4.2496](https://doi.org/10.47163/agrociencia.v57i4.2496)

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: February 21, 2022.
Approved: February 13, 2023.
Published in Agrociencia:
May 24, 2023.

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



INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha incrementado el interés por evaluar el potencial antimicrobiano de las plantas para ser utilizado como alternativa natural en el tratamiento de enfermedades humanas o conservador en la industria alimentaria. Sin embargo, son pocos los estudios que se enfocan en la utilización de los extractos de plantas para tratar enfermedades en los animales domésticos destinados a la producción pecuaria. En este contexto, Kama-Kama *et al.* (2016) reportaron la actividad antimicrobiana de los extractos de *Solanum aculeastrum*, *Albizia coriaria*, *Ekebergia capensis*, *Piliostigma thonningii* y *Euclea divinorum* contra cepas de *Mycoplasma* causantes de enfermedades del ganado africano. Además, en otro estudio se demostró que el acetato de etilo extraído de la planta *Terminalia chebula* presentó actividad antimicrobiana contra los patógenos *Staphylococcus aureus*, *Bacillus megaterium*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, causantes de la mastitis bovina (Kher *et al.*, 2019). Asimismo, Ndhlovu *et al.* (2017) reportaron que los extractos de *Pterocarpus angolensis*, *Cissus quadrangularis* y *Catunaregam spinosa* fueron eficientes para inhibir el crecimiento de *Dermatophilus congolensis*, causante de enfermedades dermatológicas en bovinos, mientras que los extractos de *Caryocar brasiliense* y *Schinopsis brasiliensis* mostraron actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, causantes de enfermedades gastrointestinales en el ganado bovino productor de carne (de O Ribeiro *et al.*, 2018).

Aunque, la evidencia indica que los extractos vegetales tienen potencial para controlar patógenos causantes de infecciones en la industria pecuaria, no todas las plantas poseen esta cualidad (Romulo *et al.*, 2018), ya que los compuestos fitoquímicos bioactivos, tales como los alcaloides, compuestos fenólicos, terpenos y esteroides, pueden variar de una planta a otra (Aminah *et al.*, 2021; Vaou *et al.*, 2021). Por ello, la búsqueda de nuevas alternativas naturales para este fin aún se encuentra en una etapa prematura debido a la gran biodiversidad de plantas existentes a nivel mundial, lo que pone en evidencia la necesidad de continuar con las investigaciones al respecto.

En México, se estima que existen alrededor de 26 000 especies de plantas, de las cuales se utilizan alrededor de 4000 especies para tratar enfermedades en el humano de manera tradicional (Ruiz-Bustos *et al.*, 2009; Robles-Zepeda *et al.*, 2011). Particularmente, se ha reportado que algunas plantas nativas del estado de Sonora, México, muestran potencial antimicrobiano contra *Helicobacter pylori*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli*, *Shigella flexneri* y *Salmonella* spp. (Ruiz-Bustos *et al.*, 2009; Robles-Zepeda *et al.*, 2013; Sosa-Castañeda *et al.*, 2022), y alrededor de 400 plantas de Sonora son utilizadas por los grupos nativos locales para tratar enfermedades (Moreno-Salazar *et al.*, 2008; Morales-Figueroa *et al.*, 2022). Sin embargo, los efectos biológicos de una gran cantidad de estas plantas aún carecen de sustento científico. Por lo anterior, resulta de gran importancia evaluar el perfil fitoquímico y la eficacia de las plantas nativas de Sonora, México, para eliminar a las bacterias patógenas causantes de infecciones recurrentes en los animales destinados al consumo humano en la industria pecuaria.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de los extractos etanólicos

Los extractos fueron obtenidos de 17 plantas nativas de Sonora, México (Cuadro 1), las cuales pertenecen al Jardín Botánico del Departamento de Agricultura y Ganadería (DAG) de la Universidad de Sonora (UNISON). Cada planta fue deshidratada a 34 °C en una estufa de aire caliente (Thelco, Precision Science, modelo 28, EUA). El material vegetal deshidratado fue pulverizado en un molino (Pulvex Mini 100, México) hasta obtener un tamaño de partícula de 100 micras. Posteriormente, se mezclaron 100 g del material vegetal pulverizado con 100 mL de etanol al 99 % de pureza (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) en un frasco de vidrio y se almacenó por 5 días en ausencia de luz a 25 °C (Khan *et al.*, 2017). Finalmente, los extractos fueron filtrados con papel filtro Whatman® no. 41 y el material vegetal fue deshidratado nuevamente. La diferencia de peso del material vegetal antes y después de su almacenamiento fue considerado como la cantidad de compuestos solubles extraídos de las plantas. Los extractos etanólicos se ajustaron a 50 mg mL⁻¹ y se almacenaron en obscuridad a 4 °C hasta su utilización.

Cuadro 1. Identificación y partes de las especies de plantas utilizadas en los extractos etanólicos.

Clave	Nombre común	Familia	Nombre Científico	Parte de la planta
E1	Álamo	Salicaceae	<i>Populus alba</i>	Hojas
E2	Batamote	Asteraceae	<i>Baccharis glutinosa</i>	Tallos
E3	Chicura	Asteraceae	<i>Ambrosia ambrosioides</i>	Tallos
E4	Cosahui	Krameriaceae	<i>Krameria sonorae</i>	Raíz
E5	Guaje	Fabaceae	<i>Leucaena leucocephala</i>	Hojas
E6	Guamúchil	Fabaceae	<i>Pithecellobium dulce</i>	Corteza
E7	Jojoba	Simmondsiaceae	<i>Simmondsia chinensis</i>	Hojas
E8	Mezquite	Fabaceae	<i>Prosopis velutina</i>	Hojas
E9	Palo verde	Fabaceae	<i>Parkinsonia microphylla</i>	Tallos y hojas
E10	Palo verde azul	Fabaceae	<i>Cercidium floridum</i>	Tallos y hojas
E11	Rama blanca	Asteraceae	<i>Encelia farinosa</i>	Hojas
E12	Sangregado	Euphorbiaceae	<i>Jatropha cardiophylla</i>	Tallos
E13	Tepehuaje	Fabaceae	<i>Lysiloma watsonii</i>	Hojas
E14	Torote	Burseraceae	<i>Bursera microphylla</i>	Hojas
E15	Vinorama	Fabaceae	<i>Acacia constricta</i>	Hojas
E16	Wereke	Cucurbitaceae	<i>Ibervillea sonorae</i>	Tubérculo
E17	Zamota	Fabaceae	<i>Coursetia glandulosa</i>	Tallos

* Plantas colectadas en el Jardín Botánico del DAG-UNISON.

Perfil fitoquímico de los extractos etanólicos

El contenido de polisacáridos totales se determinó de acuerdo a DuBois *et al.* (1956), los datos fueron expresados como mg de equivalente de glucosa por gramo de extracto

(mg EG g⁻¹). El contenido de flavonas y flavonoles, así como el contenido de flavanonas y dihidroflavonoles totales se determinó usando la metodología reportada por Popova *et al.* (2004), los datos fueron expresados como mg de equivalente de hesperetina por gramo de extracto (mg EH g⁻¹). El contenido de taninos totales se determinó de acuerdo a Price y Butler (1977), los resultados fueron expresados en mg de equivalente de catequina por gramo de extracto (mg EC g⁻¹). Finalmente, el contenido de ácido clorogénico se determinó por la metodología sugerida por Griffiths *et al.* (1992) y los resultados se expresaron como mg de ácido clorogénico por gramo de extracto (mg AC g⁻¹). En todas las determinaciones de los perfiles fitoquímicos de los extractos se utilizaron curvas de calibración y las absorbancias fueron leídas en un espectrofotómetro (Spectro Max MD, EUA).

Actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos

Listeria monocytogenes ATCC 19115, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ATCC 14028 fueron obtenidas del cepario del Laboratorio de Microbiología del Departamento de Ciencias Químico Biológicas de la UNISON. Todas las cepas fueron reactivadas en el medio de cultivo caldo BHI (infusión cerebro-corazón, BD Difco, Sparks, MD, EUA). Posteriormente, se prepararon 2 placas con agar BHI (infusión cerebro-corazón, BD Difco, Sparks, MD, EUA) para cada una de las cepas. Se colocaron 4 discos estériles de papel filtro Whatman® no. 41 de 6 mm de diámetro en cada placa y se añadieron 20 µL de cada extracto etanólico a cada disco. Finalmente, las placas fueron incubadas a 37 °C por 24 h. Los halos mayores a 3 mm se consideraron como inhibición de acuerdo a los criterios utilizados por Heredia-Castro *et al.* (2015).

Determinación de la concentración mínima inhibitoria

La concentración mínima inhibitoria (CMI) de cada uno de los extractos fue determinada por la técnica de la microdilución. Las bacterias de la colección ATCC fueron propagadas en el medio de cultivo caldo BHI (infusión cerebro-corazón, BD Difco, Sparks, MD, EUA). Se utilizó una solución Stock de 50 mg mL⁻¹ de cada extracto etanólico y se obtuvieron 10 diluciones con concentraciones en un rango de 5 mg mL⁻¹ a 50 mg mL⁻¹ para cada uno de los extractos. Se definió como CMI a la concentración mínima de extracto en la cual el patógeno no presentó crecimiento visible (Mahfuzul *et al.*, 2007).

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar de una vía al 95 % de confianza con 3 repeticiones por tratamiento. La prueba de comparación de medias se realizó por Tukey-Kramer a un nivel de significancia del 0.05 utilizando el software estadístico NCSS versión 11.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La actividad antimicrobiana de los compuestos fitoquímicos derivados de los extractos de las plantas ha llamado fuertemente la atención en la comunidad científica, por ello, se continua con la búsqueda de nuevas plantas con potencial biológico para controlar microorganismos patógenos. Los resultados del perfil fitoquímico de los extractos etanólicos derivado de las plantas de Sonora, México (Cuadro 2) mostraron que el extracto E16 presentó la mayor concentración de polisacáridos totales (250.32 ± 2.12 mg EG g⁻¹) ($p \leq 0.05$), mientras que, los extractos E6, E7 y E11 mostraron la menor concentración (100.51 ± 1.25 , 102.71 ± 1.49 y 103.36 ± 2.65 mg EG g⁻¹, respectivamente) ($p \leq 0.05$).

El extracto E16 presentó un mayor contenido de flavonas y flavonoles (100.65 ± 2.14 mg EH g⁻¹) ($p \leq 0.05$), por el contrario, los extractos E6, E7 y E11 mostraron la menor concentración de estos compuestos (34.62 ± 1.20 , 32.14 ± 2.12 y 32.82 ± 2.86 mg EH g⁻¹, respectivamente) ($p \leq 0.05$). En cuanto al contenido de flavanonas y dihidroflavonoles totales, los extractos E8 y E16 mostraron la mayor concentración (18.58 ± 2.86 y 20.68 ± 1.59 mg EH g⁻¹, respectivamente) ($p \leq 0.05$), en contra parte, los extractos E6, E7 y E11 mostraron la menor concentración de estos fitoquímicos (3.55 ± 0.12 , 3.77 ± 0.14 y 3.33 ± 0.16 mg EH g⁻¹, respectivamente) ($p \leq 0.05$). El contenido de taninos totales fue mayor en los extractos E8 y E16 (5.02 ± 0.58 y 5.24 ± 0.18 mg EC g⁻¹, respectivamente) ($p \leq 0.05$),

Cuadro 2. Perfil fitoquímico de los extractos etanólicos derivados de las especies de plantas analizadas.

Clave	Polisacáridos totales	Flavonas y flavonoles totales	Flavanonas y dihidroflavonoles totales	Taninos totales	Ácido clorogénico total
E1	200.32 ± 2.12 e	75.87 ± 2.27 e	10.57 ± 1.87 c	3.05 ± 0.21 d	25.33 ± 1.25 d
E2	185.65 ± 1.33 f	62.33 ± 1.68 g	7.12 ± 1.01 d	3.33 ± 0.14 d	15.85 ± 1.04 e
E3	210.32 ± 2.12 d	80.14 ± 1.25 d	12.25 ± 1.65 c	4.89 ± 0.69 b	27.57 ± 1.65 c
E4	230.32 ± 2.12 c	86.54 ± 3.23 c	15.89 ± 1.25 b	4.58 ± 0.74 bc	29.33 ± 1.14 bc
E5	230.32 ± 2.12 c	88.62 ± 2.11 c	15.25 ± 1.14 b	4.32 ± 0.21 c	28.36 ± 2.25 bc
E6	100.51 ± 1.25 h	34.62 ± 1.20 h	3.55 ± 0.12 e	2.11 ± 0.07 f	10.57 ± 1.14 f
E7	102.71 ± 1.49 h	32.14 ± 2.12 h	3.77 ± 0.14 e	2.01 ± 0.20 f	9.96 ± 1.06 f
E8	240.32 ± 2.12 b	92.32 ± 2.33 b	18.58 ± 2.86 a	5.02 ± 0.58 a	30.59 ± 1.23 b
E9	182.36 ± 2.98 g	65.96 ± 2.35 f	6.98 ± 0.87 d	3.42 ± 0.09 d	14.89 ± 1.61 e
E10	184.42 ± 2.87 g	64.36 ± 2.38 f	6.64 ± 0.48 d	3.21 ± 0.06 d	14.81 ± 1.21 e
E11	103.36 ± 2.65 h	32.82 ± 2.86 h	3.33 ± 0.16 e	2.02 ± 0.10 f	9.88 ± 1.02 f
E12	180.25 ± 2.28 g	63.25 ± 2.58 g	6.72 ± 0.42 d	3.02 ± 0.02 d	15.81 ± 1.51 e
E13	183.42 ± 2.78 g	64.69 ± 1.57 f	6.84 ± 0.37 d	3.26 ± 0.03 d	15.38 ± 1.21 e
E14	181.81 ± 2.31 g	61.19 ± 2.54 g	6.81 ± 0.33 d	3.28 ± 0.02 d	14.14 ± 1.11 e
E15	184.01 ± 2.69 g	65.95 ± 3.25 f	7.00 ± 0.16 d	3.15 ± 0.02 d	14.15 ± 1.17 e
E16	250.32 ± 2.12 a	100.65 ± 2.14 a	20.68 ± 1.59 a	5.24 ± 0.18 a	35.57 ± 1.01 a
E17	182.95 ± 1.99 g	62.47 ± 1.58 g	6.99 ± 0.19 d	3.04 ± 0.03 d	15.17 ± 1.51 e

Polisacáridos totales = mg EG g⁻¹; Flavonas y flavonoles = mg EH g⁻¹; Flavanonas y dihidroflavonoles totales = mg EH g⁻¹; Taninos totales = mg EC g⁻¹; Ácido clorogénico total = mg AC g⁻¹. Diferente letra indica diferencia significativa entre los datos de la misma columna ($p \leq 0.05$). E1 a E17 son de acuerdo al Cuadro 1.

mientras que los extractos E6, E7 y E11 presentaron la menor concentración de estos compuestos (2.11 ± 0.07 , 2.01 ± 0.20 y 2.02 ± 0.10 mg EC g⁻¹, respectivamente) ($p \leq 0.05$). Finalmente, el extracto E16 presentó un mayor contenido de ácido clorogénico total (35.57 ± 1.01 mg AC g⁻¹) ($p \leq 0.05$), mientras que los extractos E6, E7 y E11 presentaron la menor concentración de ese fitoquímico (10.57 ± 1.14 , 9.96 ± 1.06 y 9.88 ± 1.02 mg AC g⁻¹, respectivamente) ($p \leq 0.05$).

En otros estudios también se ha evaluado el perfil fitoquímico de algunas plantas de Sonora, México. En este contexto, Vidal-Gutiérrez *et al.* (2020) identificaron 11 compuestos fenólicos (4 ácidos fenólicos, 6 flavonoides y 1 flavan-3-oles) en el extracto de *Bursera microphylla*, mientras que Estrada-Zúñiga *et al.* (2012) reportaron la presencia de fenoles totales en el extracto de *Ibervillea sonorae*. Asimismo, se ha reportado la presencia de fenoles y flavonoides totales en el extracto de *Krameria erecta* (Jiménez-Estrada *et al.*, 2013). En otros estudios se evaluaron diferentes especies de *Prosopis* y se encontró la presencia de alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides, ácidos fenólicos, glucósidos, esteroides, taninos y triterpertenoides (Sharifi-Rad *et al.*, 2019). En el extracto de *Leucaena leucocephala*, nativa del noroeste de México y cultivada en Egipto, se encontró la presencia de terpenos, flavonoides, coumarinas y esteroides (Hassan *et al.*, 2014). Además, la presencia de compuestos fitoquímicos en las plantas puede variar de una especie a otra (Sharifi-Rad *et al.*, 2019) debido a diversos factores, siendo uno de ellos el estrés en el cual se encuentra sometida la planta (Vidal-Gutiérrez *et al.*, 2020).

Los resultados de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos contra bacterias de la colección ATCC (Cuadro 3) mostraron que 14 de los 17 extractos evaluados mostraron actividad contra al menos una bacteria ($p \leq 0.05$), mientras que, tres de los extractos evaluados no mostraron actividad (E6, E7 y E11) contra ningún patógeno evaluado. El extracto E16 presentó la mayor actividad antimicrobiana contra *S. aureus* (18.50 ± 0.70 mm) ($p \leq 0.05$) y, por el contrario, E12 y E13 presentaron la actividad más baja (4.00 ± 1.41 mm y 4.50 ± 0.70 mm, respectivamente) ($p \leq 0.05$). Por otro lado, el extracto E8 presentó la mayor inhibición contra *L. monocytogenes* (16.50 ± 2.12 mm) ($p \leq 0.05$), mientras que E12 presentó la actividad antimicrobiana más baja (3.50 ± 0.70 mm) ($p \leq 0.05$). El extracto E4 presentó una mayor actividad antimicrobiana contra *E. coli* (14.50 ± 2.12 mm) ($p \leq 0.05$), en contra parte, E12 y E13 presentaron la actividad más baja (3.50 ± 0.70 mm y 3.50 ± 0.70 mm) ($p \leq 0.05$) y el extracto E10 no mostró actividad. Asimismo, los extractos E5, E8 y E15 mostraron mayor actividad antimicrobiana contra *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (12.00 ± 1.41 mm, 13.00 ± 1.41 mm y 13.00 ± 1.41 mm, respectivamente) ($p \leq 0.05$), por el contrario, E9 mostró la menor actividad (3.50 ± 0.70 mm) ($p \leq 0.05$) y los extractos E2, E10, E12, E13, E14 y E17 no mostraron actividad antimicrobiana contra este patógeno.

Pocos estudios han demostrado el potencial antimicrobiano de las plantas de Sonora, México. En este sentido, Moreno-Salazar *et al.* (2008) evaluaron el efecto antimicrobiano de 30 plantas nativas del noroeste de México contra *E. coli*, *Shigella flexneri* y *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, y reportaron que *Lysiloma watsonii* y *Acacia*

Cuadro 3. Actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos obtenidos de las especies de plantas analizadas, contra bacterias patógenas de la colección ATCC.

Extractos	Gram (+)		Gram (-)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium
E1	7.00 ± 1.41 e	11.50 ± 2.12 df	11.00 ± 1.41 d	7.00 ± 1.41 c
E2	5.50 ± 0.70 g	8.00 ± 1.41 g	6.50 ± 2.12 f	n.p.
E3	10.50 ± 2.12 d	10.50 ± 0.70 f	12.50 ± 0.70 bc	7.50 ± 0.70 bc
E4	12.50 ± 2.12 c	13.50 ± 2.12 c	14.50 ± 2.12 a	8.00 ± 1.41 b
E5	13.00 ± 2.82 c	12.50 ± 0.70 cd	11.50 ± 2.12 cd	12.00 ± 1.41 a
E6	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.
E7	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.
E8	14.00 ± 1.41 b	16.50 ± 2.12 a	13.00 ± 1.41 b	13.00 ± 1.41 a
E9	6.50 ± 0.70 f	5.50 ± 0.70 h	5.50 ± 0.70 f	3.50 ± 0.70 e
E10	5.50 ± 0.70 g	8.00 ± 1.41 g	n.p.	n.p.
E11	n.p.	n.p.	n.p.	n.p.
E12	4.00 ± 1.41 h	3.50 ± 0.70 i	3.50 ± 0.70 h	n.p.
E13	4.50 ± 0.70 h	5.50 ± 0.70 h	3.50 ± 0.70 h	n.p.
E14	7.00 ± 2.82 e	5.50 ± 0.70 h	4.0 ± 0.41 g	n.p.
E15	7.50 ± 2.12 e	10.50 ± 2.12 f	8.50 ± 0.70 e	13.00 ± 1.4 a
E16	18.50 ± 0.70 a	14.00 ± 1.41 b	10.00 ± 1.4 d	5.50 ± 0.70 d
E17	6.50 ± 0.70 f	7.50 ± 0.70 g	4.50 ± 0.70 fg	n.p.

*Datos expresados en mm de halos de inhibición. Concentración de los extractos = 50 mg mL⁻¹; n.p.: no presentó actividad. Diferente letra indica diferencia significativa entre los datos de la misma columna ($p \leq 0.05$).

constricta presentaron actividad antimicrobiana contra los 3 patógenos probados, lo cual coincide con lo encontrado en este estudio. Sin embargo, los autores reportaron que *Pithecellobium dulce* fue capaz de inhibir el crecimiento de *E. coli*, *Shigella flexneri* y *Salmonella enterica* Typhimurium, lo cual difiere con los resultados encontrado en este estudio, ya que *Pithecellobium dulce* no presentó actividad antimicrobiana contra ninguno de los patógenos evaluados. Además, los autores encontraron que *Baccharis glutinosa* y *Coursetia glandulosa* no presentaron actividad antimicrobiana contra ninguno de los patógenos probados, mientras que, en este estudio si se encontró actividad antimicrobiana contra *E. coli*. Estos resultados contradictorios se pueden deber al tipo de solvente utilizado para obtener los compuestos fitoquímicos de las plantas, ya que el metanol y el etanol son solventes que presentan diferente polaridad, lo permite la extracción de diferentes tipos de compuestos fitoquímicos de las plantas.

Por otro lado, Ruiz-Bustos *et al.* (2009) evaluaron el potencial antimicrobiano de 6 extractos metanólicos de plantas del noroeste de México, y reportaron que *Ibervillea sonora* no mostró actividad antimicrobiana contra *E. coli* y *S. aureus*, lo cual difiere con lo encontrado en este estudio, ya que *Ibervillea sonora* si presentó actividad anti-

microbiana contra esos dos patógenos. Lo anterior se pudo deber al tipo de solvente utilizado (metanol), al tiempo de almacenamiento (10 días) o al periodo de exposición a la luz del material vegetal mezclado con el solvente durante su almacenamiento, ya que en ese estudio se menciona que los extractos fueron almacenados en frascos de color ámbar después de ser obtenidos y no durante el almacenamiento previo a su obtención, lo cual podría haber afectado su bioactividad. Así mismo, se ha reportado que el extracto metanólico de *Ambrosia ambrosioides* presentó actividad antimicrobiana contra *Mycobacterium tuberculosis* (Robles-Zepeda *et al.*, 2013), y que el extracto metanólico de *Ibervillea sonora* fue eficiente para inhibir el crecimiento de *Helicobacter pylori* (Robles-Zepeda *et al.*, 2011), lo cual demuestra el potencial antimicrobiano de las plantas de Sonora, México, para eliminar a bacterias Gram (+) y Gram (-). Su actividad está relacionada con la interacción de los compuestos antimicrobianos con la capa externa de peptidoglicanos de la pared celular de las bacterias Gram (+) y con la capa externa de lipopolisacáridos de las bacterias Gram (-).

Los fitoquímicos derivados de las plantas que presentan actividad antimicrobiana se pueden clasificar en varios grupos de acuerdo a su estructura química, siendo los principales compuestos los alcaloides, terpenoides, los compuestos azufrados y polifenoles (Radulovic *et al.*, 2013; Khameneh *et al.*, 2019). Los alcaloides son compuestos nitrogenados heterocíclicos que contienen estructuras químicas extremadamente variables y su actividad antibacteriana se ha demostrado en algunos estudios, donde se ha visto que la reserpina, piperina, tomatidina, berberina, entre otras, pueden inhibir la bomba de flujo y la ATP sintasa, o atrofiar la membrana celular de las bacterias causándoles la muerte (Khameneh *et al.*, 2019).

Por otro lado, los compuestos organosulfurados son moléculas que contienen sulfuro, dentro de los que se encuentran la licina, ajoena, berteroina, entre otros. Este grupo de moléculas pueden inhibir la síntesis de la ATP sintasa, destruir la membrana de las bacterias e inhibir la síntesis de ADN y proteínas microbianas. Los compuestos fenólicos son moléculas que tienen uno o más anillos insaturados con uno o más grupos hidroxilo, que constituyen un grupo ubicuo de metabolitos secundarios que se encuentran en algunas especies del reino vegetal. Los compuestos fenólicos incluyen a los ácidos fenólicos, flavonoides y taninos, los cuales pueden inhibir la bomba de flujo de las bacterias y la ADN girasa, mientras que los terpenos son un grupo muy amplio de compuestos aromáticos derivados del isopropeno, los cuales incluyen moléculas tales como el farnesol, neronidol, carvacol, mentol, entre otras, y estas moléculas pueden causar atrofia de la membrana celular y la muerte de las bacterias (Radulovic *et al.*, 2013; Khameneh *et al.*, 2019).

En este estudio, los extractos de las plantas de Sonora mostraron la presencia de compuestos antimicrobianos tales como flavonas, flavonoles, flavanonas, dihidroflavonoles y taninos, sin embargo, la variabilidad en los resultados de la actividad antimicrobiana se podría deber a la presencia y concentración de otros compuestos fitoquímicos no evaluados, tales como los compuestos azufrados, terpenoides o alcaloides.

Por otro lado, la CMI se evaluó en los 14 extractos que presentaron actividad antimicrobiana (Cuadro 4). Los resultados mostraron que las diluciones de los extractos con

Cuadro 4. Concentración mínima inhibitoria de los extractos etanólicos obtenidos a partir de las especies de plantas analizadas, contra bacterias patógenas de la colección ATCC.

Extracto	Gram (+)		Gram (-)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>L.isteria monocytogenes</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium
E1	50	35	30	50
E2	50	45	50	n.p.
E3	30	30	30	50
E4	35	30	25	50
E5	30	40	45	40
E8	30	15	35	30
E9	50	50	50	50
E10	50	50	n.p.	n.p.
E12	50	50	50	n.p.
E13	50	50	50	n.p.
E14	50	50	50	n.p.
E15	50	35	45	30
E16	15	25	30	50
E17	50	50	50	n.p.

*Concentraciones de los extractos expresada en mg mL⁻¹. n.p.: no presentó actividad inhibitoria.

concentraciones entre 5 y 10 mg mL⁻¹ no mostraron actividad contra ningún patógeno evaluado. Sin embargo, *S. aureus* fue más susceptible al extracto E16 (15 mg mL⁻¹), seguido de los extractos E3, E5 y E8 (30 mg mL⁻¹), mientras que, *L. monocytogenes* fue más susceptible a E8 (15 mg mL⁻¹), seguido de E16 (25 mg mL⁻¹), E3 y E4 (30 mg mL⁻¹). Así mismo, *E. coli* mostró ser más susceptible al extracto E4 (25 mg mL⁻¹), seguido de los extractos E1, E3 y E16 (30 mg mL⁻¹). Finalmente, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium fue más susceptible a los extractos E8 y E15 (30 mg mL⁻¹) seguido del extracto E5 (40 mg mL⁻¹).

En un estudio llevado a cabo por Elisha *et al.* (2017) se evaluaron diferentes concentraciones de extractos de plantas contra *E. coli* y *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, donde se reportó que el extracto de *Hypericum roeperianum* presentó mayor actividad antimicrobiana cuando se utilizó a una concentración de 0.13 mg mL⁻¹ contra *E. coli* y 0.26 mg mL⁻¹ contra *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. Además, el extracto de *Heteromorpha arborescens* mostró su mayor actividad antimicrobiana a una concentración de 0.18 y 0.31 mg mL⁻¹ contra esos dos patógenos, respectivamente. Asimismo, Ramli *et al.* (2017) reportaron que *E. coli* y *Salmonella enterica* serovar Typhimurium fueron susceptibles al extracto de *Syzygium polyanthum* cuando fueron expuestos a una concentración de 1.25 mg mL⁻¹, mientras que *S. aureus* y *L. monocytogenes* presentaron una mayor susceptibilidad cuando la concentración del extracto fue ajustada a 0.63 mg mL⁻¹.

La variabilidad de la concentración en la cual se presenta la mayor actividad antimicrobiana de los extractos de las plantas se podría deber a los tipos de biomoléculas presentes, así como su cantidad. A la fecha, se ha reportado que no todos los compuestos químicos que forman parte del grupo de los flavonoides pueden actuar con la misma intensidad contra las bacterias Gram (+) y Gram (-), por lo cual su acción antimicrobiana podría depender de la cantidad y del tipo de flavonoides presentes en los extractos (Echeverría *et al.*, 2017).

CONCLUSIONES

El extracto etanólico de *Prosopis velutina* fue el más eficiente para eliminar las bacterias Gram (+) *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, y las bacterias Gram (-) *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ATCC 14028. Sin embargo, los extractos de *Ibervillea sonorae*, *Populus alba*, *Ambrosia ambrosioides*, *Krameria sonorae*, y *Leucaena leucocephala* también presentaron actividad antimicrobiana significativa contra los mismos patógenos. Además, estos extractos presentaron la mayor concentración de los fitoquímicos flavonas y flavonoles, flavanonas y dihidroflavonoles totales, taninos totales y ácido clorogénico total. Por lo anterior, los extractos de las plantas nativas de Sonora, México, pueden ser consideradas como un tratamiento alternativo y natural para controlar las infecciones causadas por bacterias Gram (+) y Gram (-) que afectan a la producción animal de la industria pecuaria.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo de la Universidad de Sonora (UNISON) y la Universidad Estatal de Sonora (UES) por el uso de materiales e instalaciones. Así como, a Gerardo Reyna Cañez del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. (CIAD, A. C.) por su apoyo técnico.

REFERENCIAS

- Aminah NS, Tun, KNW, Kristanti AN, Aung HT, Takaya Y, Choudhary MI. 2021. Chemical constituents and their biological activities from Taunggyi (Shan state) medicinal plants. *Heliyon* 7 (2): e06173. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06173>
- de O Ribeiro IC, Mariano EGA, Careli RT, Morais-Costa F, de Sant'Anna FM, Pinto MS, Souza MR, Duarte ER. 2018. Plants of the Cerrado with antimicrobial effects against *Staphylococcus* spp. and *Escherichia coli* from cattle. *BMC Veterinary Research* 14 (1): 32. <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1351-1>
- DuBois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PT, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28 (3): 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Echeverría J, Opazo J, Mendoza L, Urzúa A, Wilkens M. 2017. Structure-activity and lipophilicity relationships of selected antibacterial natural flavones and flavanones of Chilean flora. *Molecules* 22 (4): 608. <https://doi.org/10.3390/molecules22040608>
- Elisha IL, Botha FS, McGaw LJ, Eloff JN. 2017. The antibacterial activity of extracts of nine plant species with good activity against *Escherichia coli* against five other bacteria and cytotoxicity of extracts. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 17 (1): 133. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1645-z>

- Estrada-Zúñiga ME, Arano-Varela H, Buendía-González L, Orozco-Villafuerte J. 2012. Fatty acids, phenols content, and antioxidant activity in *Iberivillea sonorae* callus cultures. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 11 (1): 89–96.
- Griffiths DW, Bain H, Dale MFB. 1992. Development of a rapid colorimetric method for the determination of chlorogenic acid in freeze-dried potato tubers. *Journal of the Science Food Agriculture* 58 (1): 41–48. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740580108>
- Hassan RA, Tawfik WA, Abou-Setta LM. 2014. The flavonoid constituents of *Leucaena Leucocephala* growing in Egypt, and their biological activity. *African Journal of Traditional and Alternative Medicine* 11 (1): 67–72. <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v11i1.9>
- Heredia-Castro PY, Méndez-Romero JI, Hernández-Mendoza A, Acedo-Félix E, González-Córdova AF, Vallejo-Cordoba B. 2015. Antimicrobial activity and partial characterization of bacteriocin-like inhibitory substances produced by *Lactobacillus* spp. isolated from artisanal Mexican cheese. *Journal of Dairy Science* 98 (12): 8285–8293. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10104>
- Jiménez-Estrada M, Velázquez-Contreras C, Garibay-Escobar A, Sierras-Canchola D, Lapizco-Vázquez R, Ortiz-Sandoval C, Burgos-Hernández A, Robles-Zepeda RE. 2013. *In vitro* antioxidant and antiproliferative activities of plants of the ethnopharmacopeia from northwest of Mexico. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 13 (1): 12. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-12>
- Kama-Kama F, Midiwo J, Nganga J, Maina N, Schiek E, Omosa LK, Osanjo G, Naessens J. 2016. Selected ethno-medicinal plants from Kenya with *in vitro* activity against major African livestock pathogens belonging to the “*Mycoplasma mycoides* cluster”. *Journal of Ethnopharmacology* 192 (1): 524–534. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.09.034>
- Khameneh B, Iranshahy M, Soheili V, Fazly-Bazzaz BS. 2019. Review on plant antimicrobials: A mechanistic viewpoint. *Antimicrobial Resistance and Infection Control* 8 (1): 118. <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0559-6>
- Khan S, Imran M, Imran M, Pindari N. 2017. Antimicrobial activity of various ethanolic plant extracts against pathogenic multi drug resistant *Candida* spp. *Bioinformation* 13 (3): 67–72. <https://doi.org/10.6026/97320630013067>
- Kher MN, Sheth NR, Bhatt VD. 2019. *In vitro* antibacterial evaluation of *Terminalia chebula* as an alternative of antibiotics against bovine subclinical mastitis. *Animal Biotechnology* 30 (2): 151–158. <https://doi.org/10.1080/10495398.2018.1451752>
- Mahfuzul HMD, Bari ML, Inatsu Y, Juneja VK, Kawamoto S. 2007. Antibacterial activity of guava (*Psidium guajava* L.) and neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) extracts against foodborne pathogens and spoilage bacteria. *Foodborne Pathogens and Disease* 4 (4): 481–488. <https://doi.org/10.1089/fpd.2007.0040>
- Morales-Figueroa GG, Pereo-Vega GD, Reyna-Murrieta ME, Pérez-Morales R, López-Mata MA, Sánchez-Escalante JJ, Quihui-Cota L. 2022. Antibacterial and antioxidant properties of extracts of *Yucca baccata*, a plant of northwestern Mexico, against pathogenic bacteria. *BioMed Research International* 2022 (1): 9158836. <https://doi.org/10.1155/2022/9158836>
- Moreno-Salazar SF, Verdugo AE, López CC, Martínez EB, Candelas TM, Robles-Zepeda RE. 2008. Activity of medicinal plants, used by native populations from Sonora, Mexico, against enteropathogenic bacteria. *Pharmaceutical Biology* 46 (10): 732–737. <https://doi.org/10.1080/13880200802215800>
- Ndhlovu DN, Masika PJ. 2017. *In vitro* efficacy of extracts from plants used by small-holder farmers in the treatment of dermatophilosis in cattle. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines* 14 (2): 263–272. <https://doi.org/10.21010/ajtcam.v14i2.28>
- Popova M, Bankova V, Butovska D, Petkov V, Nikolova-Damyanova B, Sabatini AG, Marcazzan GL, Bogdanov S. 2004. Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques* 15 (4): 235–240. <https://doi.org/10.1002/pca.777>
- Price ML, Butler GL. 1977. Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 25 (6): 1268–1273. <https://doi.org/10.1021/jf60214a034>

- Radulovic NS, Blagojevic PD, Stojanovic-Radic ZZ, Stojanovic NM. 2013. Antimicrobial plant metabolites: structural diversity and mechanism of action. *Current Medicinal Chemistry* 20 (7): 932–952. <https://doi.org/10.2174/092986713805219136>
- Ramli S, Radu S, Shaari K, Rukayadi Y. 2017. Antibacterial activity of ethanolic extract of *Syzygium polyanthum* L. (Salam) leaves against foodborne pathogens and application as food sanitizer. *Biomed Research International* 2017 (1): 9024246. <https://doi.org/10.1155/2017/9024246>
- Robles-Zepeda RE, Velázquez-Contreras CA, Garibay-Escobar A, Gálvez-Ruiz JC, Ruiz-Bustos E. 2011. Antimicrobial activity of northwestern Mexican plants against *Helicobacter pylori*. *Journal of Medicinal Food* 14 (10): 1280–1283. <https://doi.org/10.1089/jmf.2010.0263>
- Robles-Zepeda RE, Coronado-Aceves EW, Velázquez-Contreras CA, Ruiz-Bustos E, Navarro-Navarro M, Garibay-Escobar A. 2013. *In vitro* anti-mycobacterial activity of nine medicinal plants used by ethnic groups in Sonora, Mexico. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 13 (1): 329. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-329>
- Romulo A, Zuhud EA, Rondevaldova J, Kokoska L. 2018. Screening of *in vitro* antimicrobial activity of plants used in traditional Indonesian medicine. *Pharmaceutical Biology* 56 (1): 287–293. <https://doi.org/10.1080/13880209.2018.1462834>
- Ruiz-Bustos E, Velazquez C, Garibay-Escobar A, García Z, Plascencia-Jatomea M, Cortez-Rocha MO, Hernández-Martínez J, Robles-Zepeda RE. 2009. Antibacterial and antifungal activities of some Mexican medicinal plants. *Journal of Medicinal Food* 12 (6): 1398–1402. <https://doi.org/10.1089/jmf.2008.0205>
- Sharifi-Rad J, Kobarfard F, Ata A, Ayatollahi SA, Khosravi-Dehaghi N, Jugran AK, Tomas M, Capanoglu E, Matthews KR, Popović-Djordjević J, Kostić A, Kamiloglu S, Sharopov F, Choudhary MI, Martins N. 2019. *Prosopis* plant chemical composition and pharmacological attributes: Targeting clinical studies from preclinical evidence. *Biomolecules* 9 (12): 777. <https://doi.org/10.3390/biom9120777>
- Sosa-Castañeda J, Manzanarez-Quin CG, Valdez-Domínguez RD, Ibarra-Zazueta C, Osuna-Chávez RF, Rueda-Puente EO, Hernández-Moreno CG, Santos-Espinosa A, Epigmenio-Chávez A, García-Baldenegro CV, Gonzalez-Soto TE, Armenta-Calderón AD, Heredia-Castro PY. 2022. Antimicrobial activity of plants native to Sonora, Mexico, against pathogenic bacteria isolated from milk from cows diagnosed with mastitis. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 13 (2): 375–390. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v13i2.6017>
- Vaou N, Stavropoulou E, Voidarou C, Tsigalou C, Bezirtzoglou E. 2021. Towards advances in medicinal plant antimicrobial activity: A review study on challenges and future perspectives. *Microorganisms* 9 (10): 2041. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9102041>
- Vidal-Gutiérrez M, Robles-Zepeda RE, Vilegas W, Gonzalez-Aguilar GA, Torres-Moreno H, López-Romero JC. 2020. Phenolic composition and antioxidant activity of *Bursera microphylla* A. Gray. *Industrial Crops and Products* 152: 112412. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112412>

Varroa destructor: ITS INTERACTION WITH *Apis mellifera* COLONY STRENGTH IN TWO LOCALITIES OF SAN LUIS POTOSÍ, MEXICO

Rosa Elena Herrera-Medina¹, Gregorio Álvarez-Fuentes², Carlos Contreras-Servín³, Juan Carlos García-López^{2*}

¹ Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Programa Multidisciplinario de Posgrado en Ciencias Ambientales. Av. Dr. Manuel Nava 221, Col. Lomas los Filtros, San Luis Potosí, San Luis Potosí. Mexico. C. P. 78219.

² Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Instituto de Investigación de Zonas Desérticas. Calle Altair 200, Col. del Llano, San Luis Potosí, San Luis Potosí. Mexico. C. P. 78377.

³ Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Facultad de Ciencias Sociales y Humanidades. Av. Industrias 101-A, Fracc. Talleres, San Luis Potosí, San Luis Potosí. Mexico. C. P. 78399.

* Author for correspondence: jcgarcia@uaslp.mx

ABSTRACT

The mite *Varroa destructor* is one of the greatest threats to the apiculture sector worldwide. Generation of knowledge on its behavior and of the factors that favor its development under different environmental conditions, as well as the level of influence of these factors, is essential to the development of strategies for integral management of the mite. With the objective of analyzing the interaction between the variables of *Apis mellifera* colony strength and the percentage of *V. destructor* infestation, a group of 40 beehives were monitored during two flowering seasons, spring and summer-fall, in San Luis Potosí, Mexico. The variables were analyzed using the Pearson correlation analysis as well as an analysis of variance with repeated measures in time ($p \leq 0.05$). The level of *V. destructor* infestation was significantly related to the quantity of honey (+0.58) and pollen (+0.62) reserves and negatively correlated with hygienic behavior (-0.65). The percentage of *V. destructor* infestation in spring was not significantly different from that in summer-fall, while the quantity of food (honey and pollen) reserves in spring were statistically superior as of the second half of the season. Hygienic behavior had statistical differences only at the beginning of the flowering seasons; it was superior in summer-fall. However, this difference was not maintained over time.

Keywords: level of infestation, hygienic behavior, flowering season.

INTRODUCTION

In Mexico, apiculture is one of the animal production activities that generates the most foreign currency for the country, reaching 65 million dollars in 2020 (SIAP, 2020). This activity benefits the rural sector, especially in marginalized areas where livestock production is not extensive (Medina-Flores *et al.*, 2014). San Luis Potosí is in a privileged position in Mexico where three different apicultural regions converge. This endows the region with great potential to produce honeys from different flowers. However, like the rest of the country and other regions of the world, bees face numerous challenges, among them is the presence of the ectoparasite *V. destructor*,

Citation: Herrera-Medina RE, Álvarez-Fuentes G, Contreras-Servín C, García-López JC. 2023. *Varroa destructor*: its interaction with *Apis mellifera* colony strength in two localities of San Luis Potosí, Mexico. *Agrociencia*. 57(4): 678-699. doi.org/10.47163/agrociencia.v57i4.2534

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: July 14, 2022.
Approved: March 06, 2023.
Published in Agrociencia:
May 19, 2023.

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



considered by many researchers to be one of the most significant sanitary problems for *Apis mellifera* colonies worldwide (McMenamin & Genersch, 2015). At the national level, its frequency is more than 80%, and an annual loss of more than 33% of the bee colonies on the central high plateau and in the northern regions of the country is associated with the presence of the mite (Medina-Flores *et al.*, 2018). Its impact on management and profitability of apiculture is due to the major alterations that it causes in bee behavior, malformations, reduction in life expectancy and in honey production. However, the most catastrophic effect of the mite is its function as a biological vector of different RNA viruses and as a suppressor of bee immune response (Beaurepaire *et al.*, 2020).

Growth of the population of *V. destructor* depends on the balance between the rate of reproduction and the rate of mortality of the individuals inside the beehive at a given moment. However, they are affected by *A. mellifera*'s different mechanisms of resistance and tolerance, such as reduction in population growth, reduction of the post-capping period, and low fertility, fecundity and reproductive success of the founding females, grooming, hygienic behavior, cell size, self-medication, social apoptosis, attractiveness, and low susceptibility of the swarm play an important role in regulating the mite population (Strauss *et al.*, 2015).

Hygienic behavior is the ability of the workers to detect sick or parasitized larvae, discriminate between normal and abnormal larvae, and remove the cap and the sick larvae or the parasite. Even when this removal does not guarantee death of the mite, it can interrupt its reproductive cycle and decrease female fertility (Mondet *et al.*, 2020). Also, environmental conditions such as variations in temperature and relative humidity, beekeeper management practices, availability of pollen and flow of nectar, long brooding periods, and number of drone larvae can induce a drastic increase in the size of the mite population (Le Conte & Navajas, 2008).

To design strategies that tend to control and reduce the occurrence of this parasitosis in *A. mellifera* populations, it is necessary to quantify it, identify the factors associated with colony strength, apiary management and the different environments in which apiculture is practiced that contribute to the presence and development of *V. destructor*. The strength of a colony is understood to be the result of the interaction among the demography of the colony, energy sources, and the temporal and spatial pattern of availability of environmental resources in the landscape (EFSA-AHAW Panel, 2016). Therefore, the objective of this study was to analyze the role of the different factors associated with the strength of a colony that affect the *A. mellifera* – *V. destructor* interaction during two flowering seasons in two localities of San Luis Potosí, México.

MATERIALS AND METHODS

Monitoring scheme

In 2020, a group of 40 *A. mellifera* beehives in the High Plateau and Central regions of the state of San Luis Potosí were monitored during two flowering seasons. Spring

(April-May) monitoring was carried out in the locality of El Mezquite, municipality of Villa de Arista at the coordinates 22° 40' 46.10" N and 100° 55' 4.85" W, altitude 1621 m. Climate is dry and warm with an average temperature of 22.8 °C, low of 13.5 °C and high of 32.1 °C. Total precipitation during the sampling period was 13.8 mm. Here, the mesquite (*Prosopis laevigata*) is the species of greatest importance for apiculture of the season. Later, at the beginning of the summer-fall season (August-October) the same group of beehives were transported to the locality of El Mezquital, municipality of Villa de Arriaga, at the coordinates 22° 7' 45.61" N and 101° 16' 33.62" W, altitude 2160 m; climate is semiarid temperate with mean temperature of 16.5 °C, low 8.7 °C and high 24.4 °C. Total precipitation during the period was 76.4 mm. This season is characterized by a broader diversity of floral resources, although *Bidens odorata* is the species recognized traditionally as the most important of the season. The data on low and high temperatures during the sampling periods were requested from the Coordinación General del Servicio Meteorológico Nacional, CONAGUA, for the weather stations closest to the location of the apiaries (24098 and 32127).

The sampling period was 45 days; according to the knowledge and experience of local migratory beekeepers, this is the average resident time of a beehive in a site during one harvest. Sampling was carried out every two weeks during each flowering season. The monitored beehives had a Jumbo-type brood chamber (46.5 cm long, 38 cm wide and 29.5 cm high) with capacity for 10 frames and no honey super. For each beehive, we used one commercial freely fertilized Italian queen in her first year of production. Before monitoring, the queens were introduced to orphan beehives in wooden cages for their recognition. On the third day after introduction, the candy stopper (mixture of powdered sugar and honey) that obstructed the exit from the cage was perforated with a wooden toothpick to stimulate the worker bees to eat the candy and conclude the release of the queen. Finally, one week later, a routine inspection of the hive was carried out to verify that the queen had initiated oviposition. The hives had homogeneous conditions in terms of honey and pollen reserves, brood, and adult bee population, as well as statistically similar levels of *V. destructor* infestation. The parameters in the brood chamber of all the hives were estimated using the method described below.

Brood solidness (BS): This pattern was determined by placing a grid delimiting 100 cells over a section of capped brood. Empty cells were then subtracted to estimate the percentage of brood solidity. The procedure was repeated on different patches of brood to derive a mean of at least ten observations.

Adult bee population (ABP): The adult bee population was determined by the difference in weight in kilograms between the complete hive during the night and the sum of the weight of its elements without adult bees.

Hygienic behavior (HB): The percentage was estimated using the technique of perforating 50 capped brood cells using an entomological pin #00. The area was delimited with colored pins, and 24 h later it was inspected again to estimate the percentage of removed brood.

V. destructor infestation percentage (VDIP) in adult bees: This was determined by the jar method described by De Jong *et al.* (1982).

Worker brood (WBR), drone brood (DBR), capped honey (CH), and pollen stored in the brood chamber (POL): Each of these was determined as the area in square centimeters occupied by each type of input by analyzing photographs of all the frames in the brood chamber (Figure 1) using the ImageJ tool of the National Institute of Health or by counting individual cells.

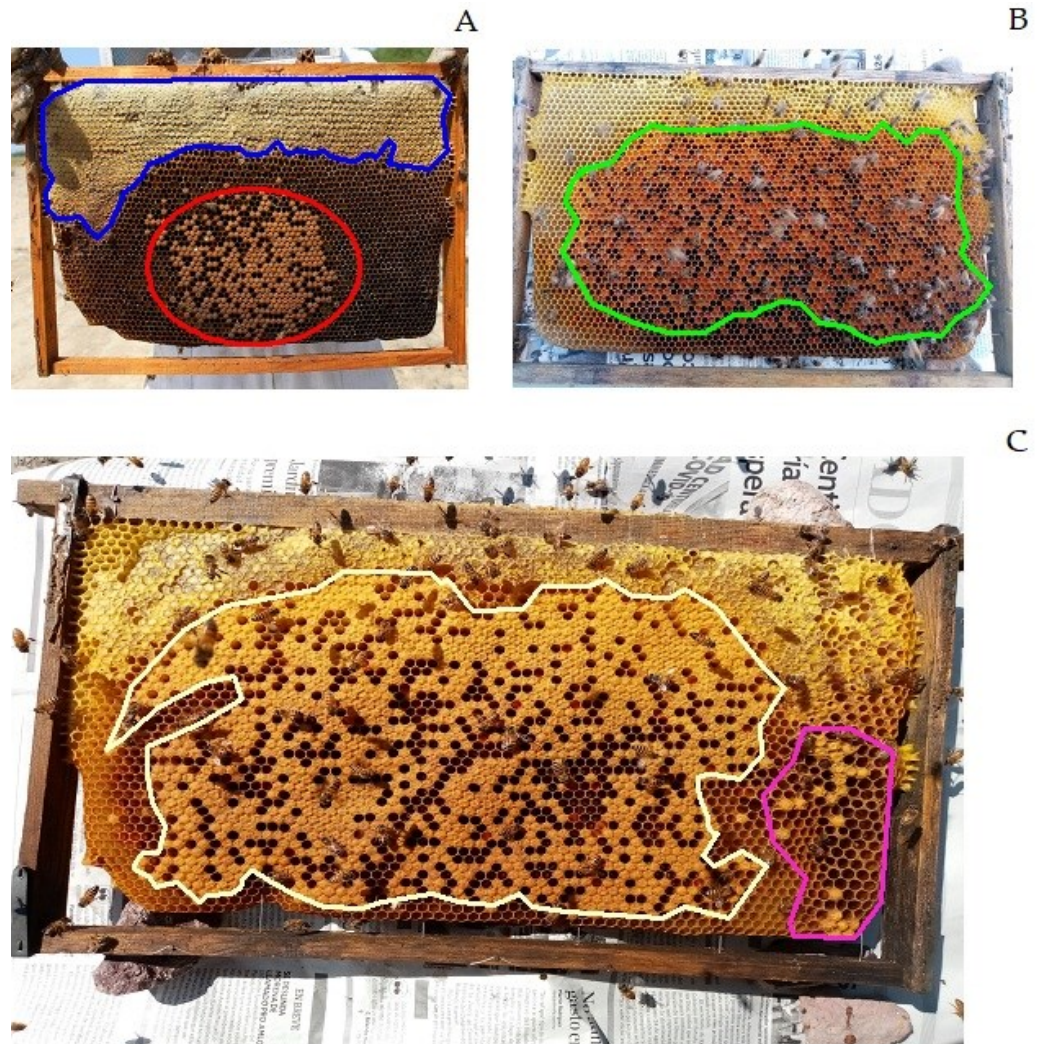


Figure 1. Variables evaluated in the brood chamber. A: capped honey outlined in blue; worker brood outlined in red; B: stored pollen marked in green; C: worker brood inside white line; cells of the drone brood outlined in pink are larger and projected outward.

Statistical analysis

Data were analyzed with the SAS tool OnDemand for Academics: Studio. Initially, a bivariate analysis was performed with Pearson correlation ($p \leq 0.05$) to establish the degree of association between the study variables. An analysis of variance with repeated measures ($p \leq 0.05$) was then applied considering two treatments: spring (Villa de Arista site) and summer-fall (Villa de Arriaga site). For each treatment, the 40 hives were considered repetitions. This analysis was applied to only the variables that had significant correlations. To satisfy the assumption of normality, the data on capped honey and worker brood were transformed to square root, the quantity of pollen to logarithm, and the percentage of *V. destructor* infestation to arcsine of the square root. The results for these variables were presented as means expressed in transformed units.

RESULTS AND DISCUSSION

The results of this study enable analysis of the complex relationship between *A. mellifera* and *V. destructor*. The correlation analysis shows that only the variables honey (+0.58) and pollen (+0.62) reserves, as well as hygienic behavior (-0.65), correlated significantly with the level of mite infestation (Table 1).

Table 1. Pearson correlation between variables of colony strength and percentage of *V. destructor* infestation.

	CH [†]	POL	WBR	DBR	BS	HB	ABP
POL [‡]	0.65 ^{bb}						
WBR [§]	-0.15	0.24					
DBR [¶]	0.29	0.10	0.27				
BS ^{**}	-0.22	-0.02	-0.02	-0.14			
HB ^{††}	-0.66 ^{bb}	-0.54	-0.34	-0.20	0.17		
ABP ^{‡‡}	-0.56 ^{bb}	-0.00	0.36	-0.20	0.40 ^{bb}	0.27	
VDIP ^{§§}	0.58 ^{bb}	0.62 ^{bb}	0.33	0.24	0.07	-0.65 ^{bb}	-0.16

[†]CH: capped honey; [‡]POL: stored pollen; [§]WBR: worker brood; [¶]DBR: drone brood; ^{**}BS: brood solidness; ^{††}HB: hygienic behavior; ^{‡‡}ABP: adult bee population; ^{§§}VDIP: *V. destructor* infestation percent. ^{bb}Significant correlation at $p \leq 0.05$.

Regarding the level of *V. destructor* infestation, no significant differences were found between seasons during the 45 days of monitoring (Figure 2a), likely because the differences in climatic conditions of the two flowering seasons were not so accentuated or significant. As Szabo & Walker (1996) mention, the populational development of the mites may be more favored by the continuity that exists in the availability of *A. mellifera* broods in hot, humid climate regions and not in temperate climates, as is the case of this study. Medina-Flores *et al.* (2014) and Tapia-González *et al.* (2019) coincide with this hypothesis since they did not find significant differences in *V. destructor*

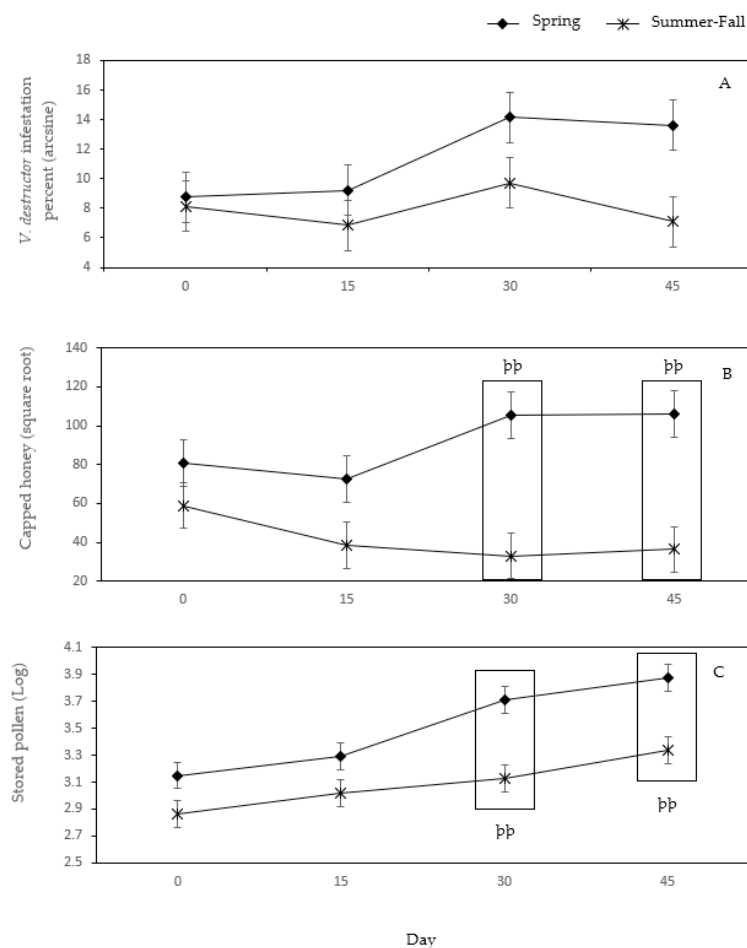


Figure 2. Behavior of honey and pollen reserves and level of *V. destructor* infestation during two flowering seasons (spring and summer-fall) in San Luis Potosí, Mexico. The values of the variables are presented in transformed units. ^{pp}Significant difference at $p \leq 0.05$.

infestation levels in conditions of temperate semiarid and hot climates in the states of Zacatecas and Jalisco (Mexico), respectively.

Regarding hygienic behavior (HB), a significant negative correlation ($r = -0.65$) was found with level of *V. destructor* infestation (Table 1). This coincides with results obtained by Masaquiza-Moposita *et al.* (2017), who found a negative correlation ($r = -0.54$) between HB and the number of mites parasitizing adult bees. In contrast, Strauss *et al.* (2015) found no correlation between the rate of brood removal and *V. destructor* infestation levels in colonies of *A. m. scutellata*, but this correlation did exist with European *A. mellifera* hybrids. In this regard, Medina-Flores *et al.* (2014) mention that there are many inconsistencies among the results found in the literature on the degree of influence hygienic behavior can have on the level of *V. destructor* infestation, even when these studies have assessed this interaction in bee colonies selected for

their expression of HB and fertilized artificially over generations. These authors attribute this variation in the results to a strong environmental influence that exists in the expression of hygienic behavior, as well as to methodological differences in the experiments.

When analyzing the effect of interaction of the flowering season in each sampling period, we observed that hygienic behavior had statistical difference only at the beginning of the experiment; it was higher in summer-fall, with a mean of 86.3% compared with 59.8% in spring. However, this difference was not maintained during the rest of the experiment (Figure 3c). Likewise, Medina-Flores *et al.* (2014) found similar percentages of HB in spring and fall, despite the important variation in the expression of hygienic behavior during the entire experiment.

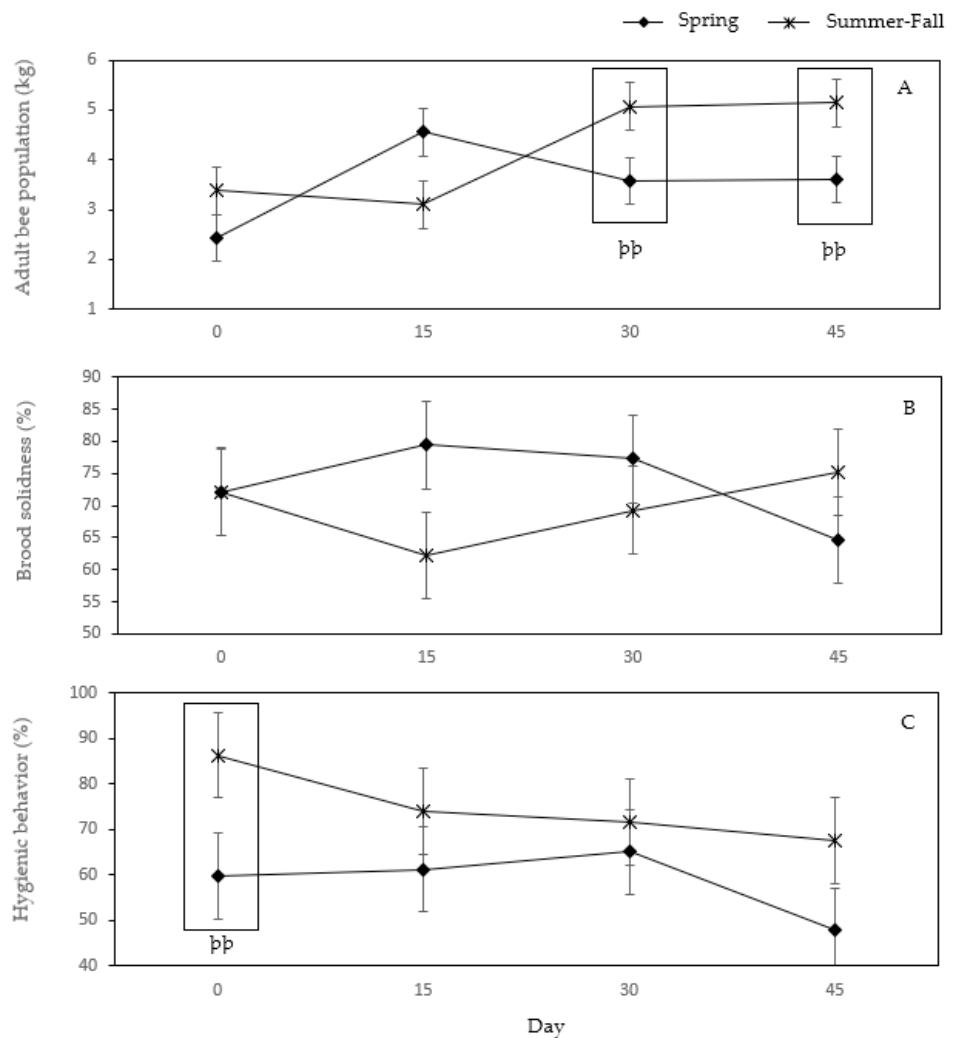


Figure 3. Behavior of the adult bee population, brood solidness, and hygienic behavior during two flowering seasons (spring and summer-fall) in two communities of San Luis Potosí, Mexico. The variables are presented in their original units. ^{bb}Significant difference at $p \leq 0.05$.

In this sense, it is important to consider that HB plays an important role in the natural resistance of *A. mellifera* populations to *V. destructor*. Also, although the trait is genetically determined (Locke, 2016), environmental factors, as with the beekeeper's management techniques, can strongly affect its expression. Uzunov *et al.* (2014) studied 21 apiaries in different parts of Europe and 16 genotypes of different European subspecies of honeybees from 2009 to 2012 and concluded that the expression of HB was highly affected by harvest season and location of the apiaries, factors that interact to generate unique combinations of nectar and pollen availability and translate into widely diverse conditions of colony strength.

It is not possible to speculate that the HB response is directly influenced by the strength of the population since there was no correlation with ABP. Moreover, the population had statistical differences as of the second half of monitoring; ABP was higher in summer-fall with 5.07 kg on day 30 and 5.14 kg on day 45, against 3.58 and 3.61 kg in spring, respectively (Figure 3a). In the same sense, a negative correlation was found between HB and the amount of capped honey (CH) in the brood chamber ($r = -0.66$). The amount of capped honey was statistically different between seasons as of day 30 of monitoring (Figure 2b); there was more in spring than in summer. This difference in the hive's honey storage capacity is possibly associated with a decrease in the foraging activity of worker bees derived from higher precipitation during the summer and thus fewer sunny days during the season. It has been shown that the presence of rains in the foraging areas decreases traffic of pollinating insects by up to 30% (Linares *et al.*, 2021). It is also possible that there is a more abundant offer of nectar during the spring. This coincides with Medina-Flores *et al.* (2019), who assessed the same flowering seasons as in our study and observed a more abundant honey reserve during the spring than in the fall.

The abundance of reserves derived from a greater availability of nectar in the field could have limited the expression of HB and thus no differences were observed in the level of HB once the flowering seasons began. This phenomenon could be related to the distribution of tasks within the colony since the hygiene bees are able to interchange the activity of collecting nectar and hygienic behavior depending on the needs of the colony (Momot & Rothenbuhler, 1971). In contrast, Janmaat & Winston (2000) consider that the abundance of nectar and pollen is a factor that could motivate the expression of HB because it generates a greater need for storage space.

The brood solidness (BS) is a qualitative variable that can contribute to the evaluation of the health status of the colony. The results show that BS was equally consistent during both seasons (Figure 3b) and correlated positively with ABP (+0.40), which is reasonable since BS is an indicator of brood abundance and homogeneity, as well as of the egg-laying performance of the queen. A disperse pattern is sign of a problem in oviposition due to low sperm quality, egg death, etc. (EFSA-AHAW Panel, 2016), and it is an efficient predictor of the future adult population.

Regarding the variable stored pollen (POL), the colonies had statistical differences between seasons as of day 30 of monitoring (Figure 2c), and it was higher during the

spring. At the same time, a significant correlation was observed between CH and POL (+0.65). This is logical since both products (nectar and pollen) are available in the field at the same time during flowering and are the mainstays for feeding the colony. The larger quantity of pollen stored by the colonies during the spring could be associated to the type of species that are flowering. Smart *et al.* (2017) mentions that even when the supply of plant resources in flower is highly diverse, the bees tend to concentrate their efforts on gathering a few species, either because the preferred species are more abundant or because they supply specific nutrients that the colony needs at a given moment. Therefore, although the summer season may offer a greater diversity, it is possible that the species of interest for the *A. mellifera* colonies were less abundant and, during the spring, the colonies showed greater preference for the species that were flowering and gathered a larger volume of pollen.

It is difficult to speculate on the positive correlation between the quantity of capped honey (+0.58) and pollen (+0.62) stored in the brood chamber and the level of *V. destructor* infestation. The level of infestation had only a slight numerical, non-statistical difference during the second half of monitoring, despite the significant increase in the quantity of honey and pollen reserves as of day 30. In contrast, the negative correlation observed between CH and the adult bee population (-0.56) is supported by the behavior of both variables. For example, during summer, the significant increase in population as of day 15 led to a significant reduction in the quantity of CH as of day 30 since the larger population consumes more food and therefore the reserves decrease (Medina-Flores *et al.*, 2019). In the same sense, this interaction between the quantity of CH and ABP could explain to a certain extent the correlations between VDIP and CH and between VDIP and POL. Considering that the quantity of food reserves seems to be a good predictor of the size of the adult population, the reduction in the population derived from shorter longevity of the bees caused by *V. destructor* parasitosis during the larval stage (Aldea & Bozinovic, 2020) is reflected in the increase in food reserves. The above makes it clear that the characteristics of some *A. mellifera* colonies that seem to have an influence on the mite populations may not have any influence in other colonies; the differences may be even more marked under different environmental conditions. However, the development and implementation of strategies aimed to monitor populations of this parasite, identify their economic thresholds, develop adequate prevention techniques, and apply treatments step by step in accord with the needs of the colony would allow us to reach an effective integral management strategy to deal with *V. destructor*.

CONCLUSIONS

Of the flowering seasons in the study area, summer seems to offer better conditions for the development of *A. mellifera* colonies, allowing significant growth of their population. Both the quantity of honey and pollen reserves and the adult population are the only variables associated with colony strength and seem to be affected by the flowering season, in such a way that the oviposition pattern will be determined by

intrinsic factors likely associated with the reproductive performance of the queen. Moreover, we confirm that the expression of hygienic behavior is affected by a large number of factors and so can vary significantly over time and even within the same flowering season. Although it correlated strongly and negatively with the level of *V. destructor* infestation, it cannot be considered a reliable predictor of the population dynamics of the mite. Likewise, even when the quantity of food reserves has an important positive correlation with the variable of interest, it is not necessarily a causal relationship.

REFERENCES

- Aldea P, Bozinovic F. 2020. The energetic and survival costs of *Varroa* parasitism in honeybees. *Apidologie* 51: 997–1005. <https://doi.org/10.1007/s13592-020-00777-y>
- Beaurepaire A, Piot N, Doublet V, Antunez K, Campbell E, Chantawannakul P, Chejanovsky N, Gajda A, Heerman M, Panziera D. 2020. Diversity and global distribution of viruses of the western honey bee. *Insects* 11 (4): 239. <https://doi.org/10.3390/insects11040239>
- De Jong D, De Andrea Roma D, Gonçalves LS. 1982. A comparative analysis of shaking solutions for the detection of *Varroa jacobsoni* on adult honey bees. *Apidologie* 13 (3): 297–306. <https://doi.org/10.1051/apido:19820308>
- EFSAW AHAW Panel (European Food Safety Authority Panel on Animal Health and Welfare). 2016. Assessing the health status of managed honeybee colonies (HEALTHY-B): a toolbox to facilitate harmonised data collection. *EFSA Journal* 14 (10). <https://doi.org/10.2903/j.efs.2016.4578>
- Janmaat FA, Winston LM. 2000. Removal of *Varroa jacobsoni* infested brood in honey bee colonies with differing pollen stores. *Apidologie* 31 (3): 377–385. <https://doi.org/10.1051/apido:2000129>
- Le Conte Y, Navajas M. 2008. Climate change: impact on bee populations and their illnesses. *Revue Scientifique et Technique de l'OIE* 27 (2): 485–510. <https://doi.org/10.20506/rst.27.2.1819>
- Linares MA, Lizarazo DF, Jara FA, Suárez DF. 2021. Efecto de las variables ambientales y variaciones climáticas sobre la mortalidad, productividad, oferta floral y sanidad de insectos polinizadores. *Revista Siembra CBA* 1: 23–34.
- Locke B. 2016. Natural *Varroa* mite-surviving *Apis mellifera* honeybee populations. *Apidologie* 47: 467–482. <https://doi.org/10.1007/s13592-015-0412-8>
- Masaquiza-Moposita D, Curbelo-Rodríguez L, Díaz-Monroy B, Pilataxi R, Andrade-Yucailla V. 2017. Comportamiento higiénico y nivel de infestación con *Varroa destructor* de *Apis mellifera* en la zona centro del Ecuador. *Revista Ecuatoriana de Investigaciones Agropecuarias* 2 (1): 25–30. <https://doi.org/10.31164/reiagro.v2n1.5>
- McMenamin AJ, Genersch. 2015. Honey bee colony losses and associated viruses. *Current Opinion in Insect Science* 8: 121–129. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2015.01.015>
- Medina-Flores CA, Esquivel-Marín NH, López-Carlos MA, Medina-Cuellar SE, Aguilera-Soto JI. 2018. Estimation of the loss of honey bee colonies in the altiplano and northern regions of Mexico. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 5: 365–371. <https://doi.org/10.19136/era.a5n14.1459>
- Medina-Flores CA, Guzmán-Novoa E, Aguilera-Soto JI, López-Carlos MA, Medina-Cuellar SE. 2019. Condiciones poblacionales y alimenticias de colonias de abejas melíferas (*Apis mellifera*) en tres regiones del altiplano semiárido de México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 10 (1): 199–211. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v10i1.4387>
- Medina-Flores CA, Guzmán-Novoa E, Aréchiga-Flores F, Gutiérrez-Bañuelos H, Aguilera-Soto JI. 2014. Producción de miel e infestación con *Varroa destructor* de abejas africanizadas (*Apis mellifera*) con alto y bajo comportamiento higiénico. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 5 (2): 157–170.

- Medina-Flores CA, Guzmán-Novoa E, Espinosa-Montaña LG, Uribe-Rubio JL, Gutiérrez-Luna R, Gutiérrez-Piña FJ. 2014. Frecuencia de varroosis y nosemosis en colonias de abejas melíferas (*Apis mellifera*) en el estado de Zacatecas, México. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 20 (3): 159–167. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2013.08.028>
- Medina-Flores CA, Guzmán-Novoa E, Hamiduzzaman MM, Aréchiga-Flores CF, López-Carlos MA. 2014. Africanized honey bees (*Apis mellifera*) have low infestation levels of mite *Varroa destructor* in different ecological regions in México. *Genetics and Molecular Research* 13 (3): 7282–7293. <https://doi.org/10.4238/2014.February.21.10>
- Momot JP, Rothenbuhler WC. 1971. Behavior genetics of nest-cleaning in honeybees. VI Interactions of age and genotype of bees and nectar flow. *Journal of Apicultural Research* 10 (1): 11–21. <https://doi.org/10.1080/00218839.1971.11099665>
- Mondet F, Beaurepaire A, McAfee A, Locke B, Alaux C, Blanchard S, Danka B, Le Conte Y. 2020. Honey bee survival mechanisms against the parasite *Varroa destructor*: a systematic review of phenotypic and genomic research efforts. *International Journal for Parasitology* 50 (6–7): 433–447. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2020.03.005>
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2020. Avance de la producción pecuaria por producto 2020. http://infosiap.siap.gob.mx/repoAvance_siap_gb/pecAvanceProd.jsp (Recuperado: Agosto 2021)
- Smart M, Cornman RS, Iwanowics D, McDermott-Kubeczko M, Pettis JS, Spivak MS, Otto CRV. 2017. A comparison of honey bee-collected pollen from working agricultural lands using light microscopy and ITS metabarcoding. *Environmental Entomology* 46 (1): 38–49. <https://doi.org/10.1093/ee/nvw159>
- Strauss U, Pirk CWW, Crewe RM, Human H, Dietemann V. 2015. Impact of *Varroa destructor* on honeybee (*Apis mellifera scutellata*) colony development in South Africa. *Experimental and Applied Acarology* 65: 89–106. <https://doi.org/10.1007/s10493-014-9842-7>
- Szabo TL, Walker CR. 1996. Rate of infestation of honey bee colonies by *Varroa jacobsoni*. *American Bee Journal* 136 (6): 447–448.
- Tapia-González JM, Alcazar-Oceguera G, Macías-Macías JO, Contreras-Escareño F, Tapia-Rivera J, Petukhova T, Guzmán-Novoa E. 2019. Varroosis in honey bees in different environmental and regional conditions of Jalisco, Mexico. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 6 (7): 243–251. <https://doi.org/10.19136/era.a6n17.2018>
- Uzunov A, Costa C, Panasiuk B, Meixner M, Kryger P, Hatjina F, Bouga M, Andonov S, Bienkowska M, Le Conte Y, Wilde J, Gerula D, Kiprijanovska H, Filipi J, Petrov P, Routtinen L, Pechhacker H, Berg S, Dyrba W, Ivanova E, Büchler R. 2014. Swarming, defensive and hygienic behaviour in honey bee colonies of different genetic origin in a pan-European experiment. *Journal of Apicultural Research* 53 (2): 248–260. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.53.2.06>

Varroa destructor: SU INTERACCIÓN CON LA FORTALEZA DE COLONIAS DE *Apis mellifera* EN DOS LOCALIDADES DE SAN LUIS POTOSÍ, MÉXICO

Rosa Elena Herrera-Medina¹, Gregorio Álvarez-Fuentes², Carlos Contreras-Servín³, Juan Carlos García-López^{2*}

¹ Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Programa Multidisciplinario de Posgrado en Ciencias Ambientales. Av. Dr. Manuel Nava 221, Col. Lomas los Filtros, San Luis Potosí, San Luis Potosí. México. C. P. 78219.

² Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Instituto de Investigación de Zonas Desérticas. Calle Altair 200, Col. del Llano, San Luis Potosí, San Luis Potosí. México. C. P. 78377.

³ Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Facultad de Ciencias Sociales y Humanidades. Av. Industrias 101-A, Fracc. Talleres, San Luis Potosí, San Luis Potosí. México. C. P. 78399.

* Autor para correspondencia: jgarcia@uaslp.mx

RESUMEN

El ácaro *Varroa destructor* representa una de las mayores amenazas para el sector apícola alrededor del mundo. La generación de conocimiento sobre su comportamiento y de los factores que favorecen su desarrollo bajo diferentes condiciones ambientales, así como el nivel de influencia de estos, resulta indispensable en el desarrollo de estrategias de manejo integral del ácaro. Con el objetivo de analizar la interacción entre variables de fortaleza de colonias de *Apis mellifera* con el porcentaje de infestación de *V. destructor*, se realizó el monitoreo de un grupo de 40 colmenas durante dos temporadas de floración, primavera y verano-otoño, en San Luis Potosí, México. Las variables fueron analizadas por medio de un análisis de correlación de Pearson, así como un análisis de varianza con medidas repetidas en el tiempo ($p \leq 0.05$). El nivel de infestación de *V. destructor* presentó una relación significativa con la cantidad de reservas de miel (+0.58) y polen (+0.62), además de una correlación negativa con el comportamiento higiénico (-0.65). El porcentaje de infestación de *V. destructor* no mostró diferencias estadísticas entre la primavera y el verano-otoño, mientras que la cantidad de reservas de alimento (miel y polen) en primavera fueron estadísticamente superiores a partir de la segunda mitad de la temporada. Por su parte, el comportamiento higiénico presentó diferencias estadísticas únicamente al inicio de las temporadas de floración, mostrándose superior en verano-otoño; sin embargo, esta diferencia no se mantuvo a través del tiempo.

Palabras clave: nivel de infestación, comportamiento higiénico, temporada de floración.

INTRODUCCIÓN

En México, la apicultura es una de las actividades pecuarias de mayor generación de divisas para el país, alcanzando en 2020 los 65 millones de dólares (SIAP, 2020). Esta actividad productiva beneficia al sector rural, especialmente en zonas marginadas donde la ganadería no se desarrolla de forma extensiva (Medina-Flores *et al.*, 2014). San Luis Potosí está situado en una posición privilegiada en México, en la que

Citation: Herrera-Medina RE, Álvarez-Fuentes G, Contreras-Servín C, García-López JC. 2023. *Varroa destructor*: su interacción con la fortaleza de colonias de *Apis mellifera* en dos localidades de San Luis Potosí, México. *Agrociencia* 57(4): 678-699. doi.org/10.47163/agrociencia.v57i4.2534

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: July 14, 2022.
Approved: March 06, 2023.
Published in Agrociencia:
May 19, 2023.

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



convergen tres regiones apícolas diferentes, dotándolo de un gran potencial para la producción de mieles de diferente origen floral. Sin embargo, al igual que el resto del país y otras regiones del mundo, las abejas enfrentan numerosos desafíos, entre ellos la presencia del ectoparásito *V. destructor*, considerado por muchos investigadores del sector apícola como uno de los problemas sanitarios más significativos para las colonias de *Apis mellifera* en el mundo (McMenamin y Genersch, 2015). A nivel nacional, su frecuencia supera el 80 % y existe una pérdida anual por encima del 33 % de las colonias de abejas en la región altiplano y norte del país, asociada a la presencia de este ácaro (Medina-Flores *et al.*, 2018). Su impacto en el manejo y la rentabilidad de la apicultura se debe a las importantes alteraciones que genera en el comportamiento de la abeja, malformaciones, reducción de la esperanza de vida y de la producción de miel. Sin embargo, el efecto más catastrófico del ácaro se debe a su función como vector biológico de diferentes virus de RNA y como supresor de la respuesta inmune de las abejas (Beaurepaire *et al.*, 2020).

El crecimiento de la población de *V. destructor* depende del equilibrio entre la tasa de reproducción y la tasa de mortalidad de los individuos dentro de la colmena en un momento dado. Sin embargo, estos se ven afectados por los diferentes mecanismos de resistencia y tolerancia de *A. mellifera*, tales como la reducción en el crecimiento de la población, reducción del periodo posterior a la colocación del opérculo, baja fertilidad, fecundidad y éxito reproductivo de las hembras fundadoras, el acicalamiento, el comportamiento higiénico, el tamaño de la celda, la automedicación, la apoptosis social, la atractividad y la baja susceptibilidad a la enjambrazón, juegan también un papel importante al regular la población del ácaro (Strauss *et al.*, 2015).

El comportamiento higiénico es la habilidad de las obreras para detectar crías enfermas o parasitadas, lo que les permite discriminar entre crías normales y anormales, retirar el opérculo y remover la cría enferma o el parásito. Aun cuando esta remoción no garantiza la muerte del ácaro, se considera que puede interrumpir su ciclo reproductivo y disminuir la fertilidad de las hembras (Mondet *et al.*, 2020). Por su parte, condiciones ambientales como la variación de temperatura y humedad relativa, las prácticas de manejo del apicultor, la disponibilidad de polen y el flujo de néctar, los largos periodos de cría y la cantidad de cría de zángano pueden inducir a un incremento drástico en el tamaño de la población de ácaros (Le Conte y Navajas, 2008).

Para diseñar estrategias tendientes al control y reducción de la ocurrencia de esta parasitosis en poblaciones de *A. mellifera*, es necesario cuantificarla, identificar los factores asociados a la fortaleza de la colonia, del manejo de los apiarios y los diferentes ambientes en los cuales se practica la apicultura que contribuyen a la presencia y desarrollo de *V. destructor*, entendiendo la fortaleza de una colonia como el resultado de la interacción entre la demografía de la colonia, las fuentes de energía, así como del patrón temporal y espacial de disponibilidad de recursos ambientales en el paisaje (EFSA-AHAW Panel, 2016). Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue analizar el rol de los diferentes factores asociados a la fortaleza de la colonia que afectan la interacción *A. mellifera* – *V. destructor* durante dos temporadas de floración en dos localidades de San Luis Potosí, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Esquema de monitoreo

Durante el año 2020, se monitoreó un grupo de 40 colmenas de *A. mellifera* en la zona Altiplano y Centro del estado de San Luis Potosí, durante dos temporadas de floración: en primavera (abril-mayo) en la localidad El Mezquite, municipio de Villa de Arista, en las coordenadas 22° 40' 46.10" N y 100° 55' 4.85" O, altitud 1621 m; el clima es seco semicálido con temperatura promedio de 22.8 °C, mínima de 13.5 °C y máxima de 32.1 °C; la precipitación total durante el periodo de muestreo fue de 13.8 mm, siendo el mezquite (*Prosopis laevigata*) la especie de mayor importancia apícola de la temporada. Posteriormente, al iniciar el verano (agosto-octubre) el mismo grupo de colmenas fue trasladado a la localidad El Mezquitil, municipio de Villa de Arriaga, en las coordenadas 22° 07' 45.61" N y 101° 16' 33.62" O, altitud 2160 m, con un clima semiseco templado, temperatura media de 16.5 °C, mínima de 8.7 °C y máxima de 24.4 °C; la precipitación total durante el periodo fue de 76.4 mm. Esta temporada se caracteriza por una mayor diversidad de recursos florales, aunque la aceitilla (*Bidens odorata*) es la especie reconocida tradicionalmente como la más importante de la temporada. Los datos de temperatura mínima y máxima durante los periodos de muestreo fueron solicitados a la Coordinación General del Servicio Meteorológico Nacional de la CONAGUA para las estaciones más cercanas a la ubicación de los apiarios (24098 y 32127). El periodo de muestreo fue de 45 días, tiempo que, de acuerdo con el conocimiento y experiencia de los apicultores trashumantes locales, corresponde a la permanencia promedio de un apiario en un sitio durante una cosecha. El muestreo se realizó quincenalmente durante cada temporada de floración. Las colmenas utilizadas para el monitoreo contaban con una cámara de cría tipo Jumbo (46.5 cm de largo, 38 cm de ancho y 29.5 cm de alto) con capacidad para 10 bastidores y sin alza melaría. Para cada colmena se utilizó una reina comercial de raza italiana, en su primer año de producción y fecundada libremente. Previo al inicio del monitoreo, dichas reinas fueron introducidas a colmenas huérfanas dentro de jaulas de madera para su reconocimiento; al tercer día de su introducción se perforó con un palillo de madera el tapón de candy (mezcla de azúcar glass y miel) que obstruía la salida de la jaula, de manera que las obreras se estimularan a consumir el candy y concluir la liberación de la reina; finalmente, una semana después se realizó una inspección de rutina para verificar el inicio de la postura por parte de la reina. Las colmenas se encontraban en condiciones homogéneas de reserva de miel, polen, cría y población de abejas adultas, así como un nivel de infestación de *V. destructor* estadísticamente similar. Los parámetros en la cámara de cría de todas las colmenas se estimaron de acuerdo con la metodología que se describe a continuación.

Patrón de postura (PP): se determinó al colocar una cuadrícula que delimitaba 100 celdas sobre una sección de cría operculada. Posteriormente, se restaron las celdas vacías para estimar el porcentaje de solidez de la cría. El procedimiento se repitió en diferentes parches de cría para derivar una media de al menos diez observaciones.

Población de abejas adultas (PAA): se determinó por la diferencia de peso en kilogramos entre la colmena completa tomado durante la noche y la suma del peso de sus elementos sin abejas adultas.

Comportamiento higiénico (CH): se estimó el porcentaje a través de la técnica del perforado de 50 celdas con cría operculada utilizando un alfiler entomológico #00. Se delimitó el área con alfileres de colores y se revisó nuevamente a las 24 h para estimar el porcentaje de crías removidas.

Porcentaje de infestación de *V. destructor* en abejas adultas (VARR): se determinó por el método del frasco descrito por De Jong *et al.* (1982).

Cría de obreras (COBR), cría de zánganos (CZAN), miel operculada (MO) y polen almacenado en cámara de cría (POL): se determinó cada uno como la superficie en centímetros cuadrados ocupada por cada tipo de insumo, por medio del análisis de fotografías de la totalidad de bastidores en cámara de cría (Figura 1) utilizando la herramienta ImageJ del National Institutes of Health o por conteo individual de celdas.

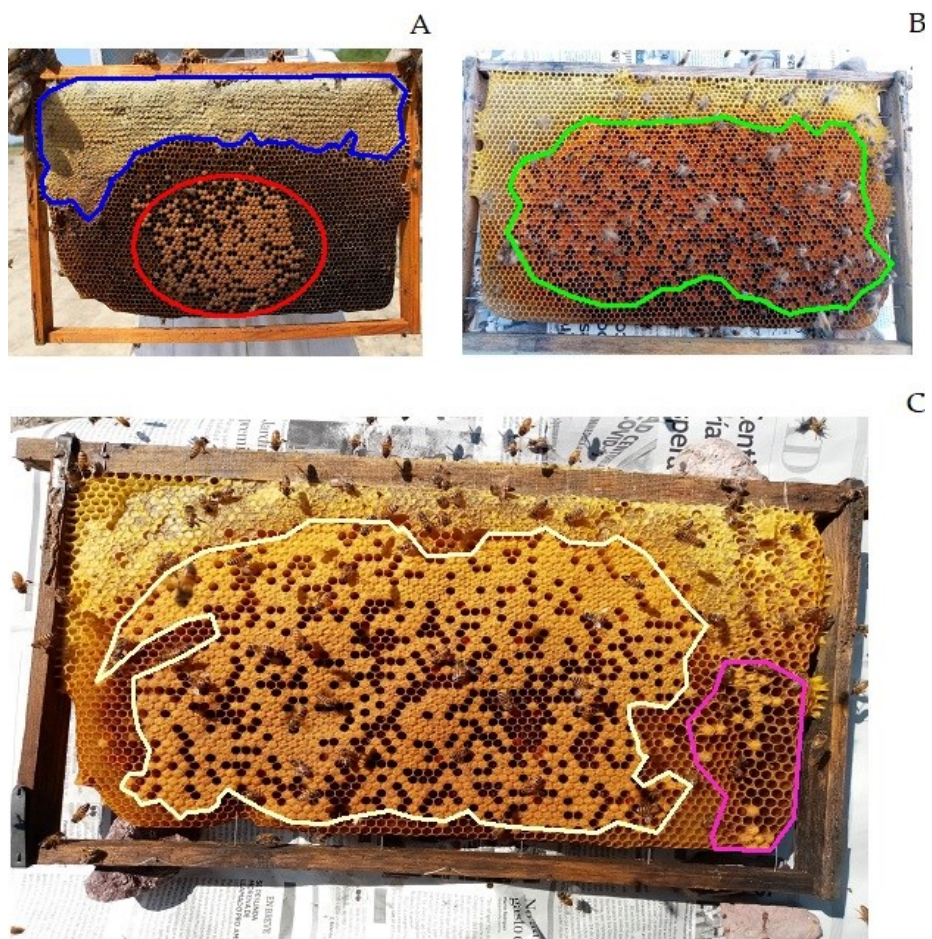


Figura 1. Variables evaluadas en cámara de cría. A: miel operculada delimitada en azul, cría de obreras en rojo; B: polen almacenado marcado en verde; C: cría de obrera en blanco y cría de zángano en rosa, cuyas celdas son de mayor tamaño y proyectadas hacia afuera.

Análisis estadístico

Para el análisis de datos se utilizó la herramienta SAS OnDemand for Academics: Studio. Inicialmente, se realizó un análisis bivariado por medio de la correlación de Pearson ($p \leq 0.05$) para establecer el grado de asociación entre las variables en estudio. Posteriormente, se aplicó un análisis de varianza con medidas repetidas ($p \leq 0.05$), considerando dos tratamientos: primavera (sitio Villa de Arista) y verano-otoño (sitio Villa de Arriaga). Para cada tratamiento, se consideraron las 40 colmenas como repeticiones; este análisis fue aplicado únicamente a las variables que presentaron correlaciones significativas. Para cumplir la suposición de normalidad, los datos de miel operculada y cría de obreras fueron transformados a raíz cuadrada, la cantidad de polen a logaritmo y el porcentaje de infestación de *V. destructor* en arcoseno de la raíz cuadrada. Los resultados para estas variables fueron presentados como medias expresadas en las unidades transformadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados en este estudio permiten analizar la complejidad de la relación entre *A. mellifera* y *V. destructor*. El análisis de correlación muestra que únicamente las variables de reserva de miel (+0.58) y polen (+0.62), así como del comportamiento higiénico (-0.65), presentan una correlación significativa con el nivel de infestación del ácaro (Cuadro 1).

Cuadro 1. Correlación de Pearson entre variables de fortaleza de la colonia y porcentaje de infestación de *V. destructor*.

	MO [†]	POL	COBR	CZAN	PP	CH	PAA
POL [‡]	0.65 ^{bb}						
COBR [§]	-0.15	0.24					
CZAN ^b	0.29	0.10	0.27				
PP [¶]	-0.22	-0.02	-0.02	-0.14			
CH ^{††}	-0.66 ^{bb}	-0.54	-0.34	-0.20	0.17		
PAA ^{‡‡}	-0.56 ^{bb}	-0.00	0.36	-0.20	0.40 ^{bb}	0.27	
VARR ^{§§}	0.58 ^{bb}	0.62 ^{bb}	0.33	0.24	0.07	-0.65 ^{bb}	-0.16

[†]MO: miel operculada; [‡]POL: polen almacenado; [§]COBR: cría de obreras; ^bCZAN: cría de zánganos; [¶]PP: patrón de postura; ^{††}CH: comportamiento higiénico; ^{‡‡}PAA: población de abejas adultas; ^{§§}VARR: porcentaje de infestación de *V. destructor*. ^{bb}Correlación significativa en $p \leq 0.05$.

Sobre el nivel de infestación de *V. destructor*, no se encontró diferencia significativa entre temporadas durante los 45 días de monitoreo (Figura 2a), probablemente debido a que las diferencias en las condiciones climáticas de ambas temporadas de floración no fueran tan acentuadas y significativas. Tal como lo mencionan Szabo y Walker (1996), el desarrollo poblacional de los ácaros puede verse mayormente favorecido por la continuidad que existe en la disponibilidad de cría de *A. mellifera* en zonas de clima cálido y húmedo, y no en climas templados, como es el caso del presente estudio.

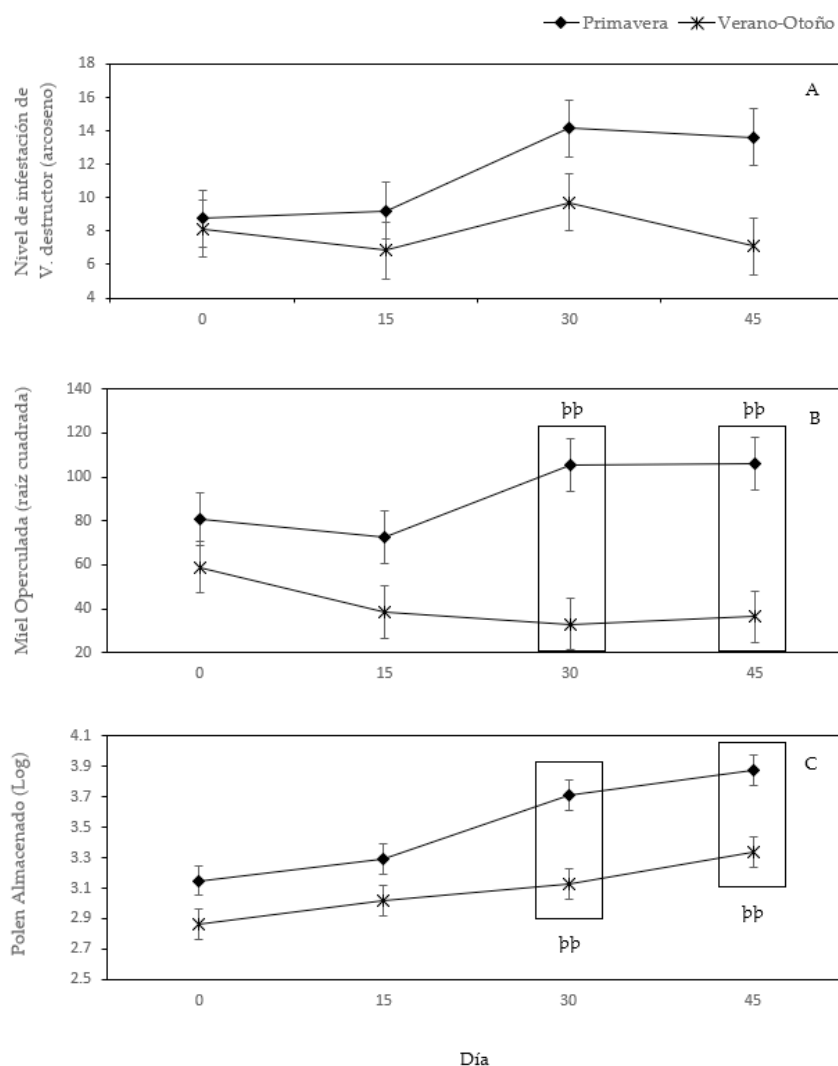


Figura 2. Comportamiento de reservas de miel, polen y nivel de infestación de *V. destructor* durante dos temporadas de floración (primavera y verano-otoño) en San Luis Potosí, México. Los valores de las variables se presentan en unidades transformadas. ^{bb}Diferencia significativa en $p \leq 0.05$.

Medina-Flores *et al.* (2014) y Tapia-González *et al.* (2019) coinciden con esta hipótesis al no encontrar diferencias significativas en los niveles de infestación de *V. destructor* en condiciones de clima semiseco templado y cálido de los estados de Zacatecas y Jalisco (México), respectivamente.

Respecto al comportamiento higiénico, se encontró una correlación negativa significativa ($r = -0.65$) con el nivel de infestación de *V. destructor* (Cuadro 1). Esto concuerda con los resultados obtenidos por Masaquiza-Moposita *et al.* (2017), quienes encontraron una correlación negativa ($r = -0.54$) entre el CH y el número de ácaros parasitando abejas adultas. Contrario a esto, Strauss *et al.* (2015) no encontraron correlación entre la tasa de remoción de crías con los niveles de infestación de *V. destructor* en colonias

de *A. m. scutellata* pero si en los híbridos de *A. mellifera* de origen europeo. En relación con esto, Medina-Flores *et al.* (2014) mencionan que existen muchas inconsistencias sobre los resultados encontrados en la literatura sobre el grado de influencia que el CH puede tener sobre el nivel de infestación de *V. destructor*, aun cuando estos estudios han valorado dicha interacción en colonias de abejas seleccionadas durante generaciones por su mayor expresión del CH y fecundadas de manera artificial. Estos autores atribuyen esta variación en los resultados a la fuerte influencia ambiental que existe sobre la expresión del comportamiento higiénico, al igual que a las diferencias metodológicas de los experimentos.

Al analizar el efecto de la interacción de la temporada de floración en cada periodo de muestreo, se observó que el comportamiento higiénico únicamente presentó diferencia estadística al inicio del experimento, siendo superior en verano-otoño, con una media de 86.3 % respecto al 59.8 % en primavera. Sin embargo, esta diferencia no se mantuvo durante el resto del experimento (Figura 3c). De igual manera, Medina-

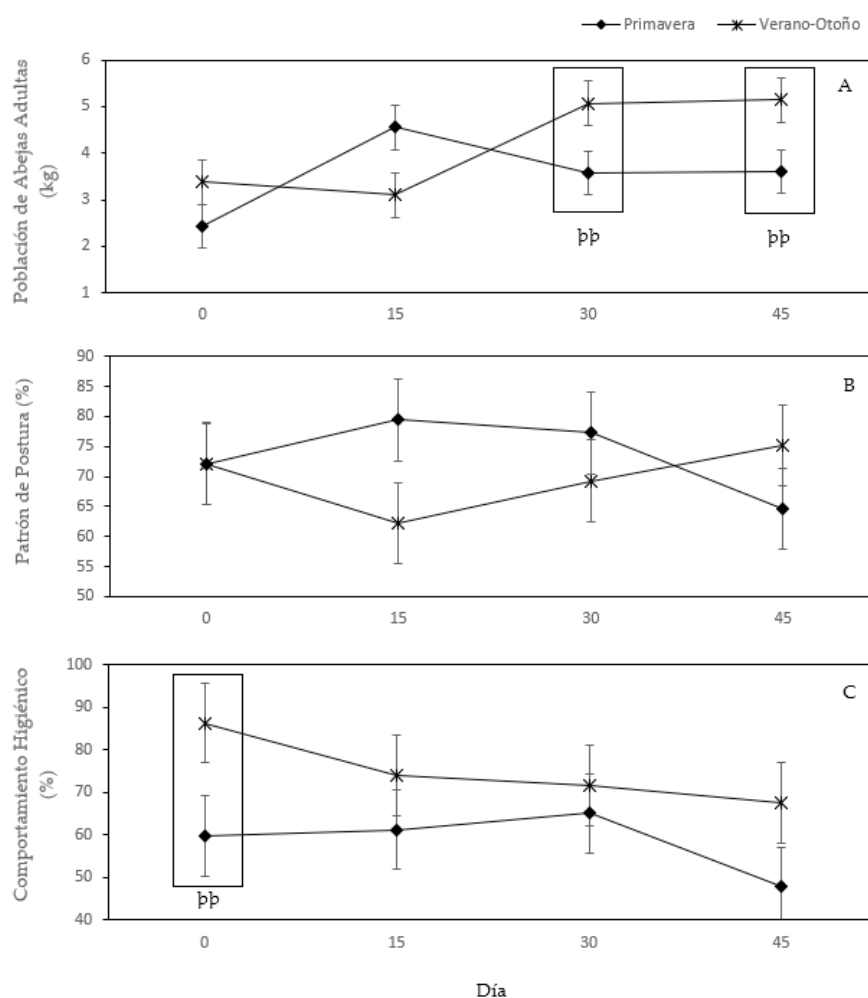


Figura 3. Comportamiento de la población adulta, patrón de postura y comportamiento higiénico durante dos temporadas de floración (primavera y verano-otoño) en dos comunidades de San Luis Potosí, México. Las variables se presentan en sus unidades originales. ^bDiferencia significativa en $p \leq 0.05$.

Flores *et al.* (2014) encontraron porcentajes de CH similares durante las temporadas de primavera y otoño, a pesar de la importante variación en la expresión del comportamiento higiénico que observaron durante todo el experimento.

En este sentido, es importante considerar que el CH juega un importante rol en la resistencia natural de las poblaciones de *A. mellifera* a *V. destructor*, y a pesar de ser un rasgo determinado genéticamente (Locke, 2016), los factores ambientales al igual que las técnicas de manejo del apicultor pueden influenciar fuertemente su expresión; tal como lo mencionan Uzunov *et al.* (2014) al estudiar 21 apiarios alrededor de Europa y 16 genotipos de diferentes subespecies europeas de abejas de la miel durante el periodo 2009-2012, concluyendo que la expresión del CH se vio altamente influenciada por la temporada de cosecha y por la ubicación de los apiarios, factores que interactúan para generar combinaciones únicas de disponibilidad de néctar y polen, y que se traduce en condiciones muy diversas de fortaleza de las colonias.

No se puede especular que la respuesta del CH estuviera directamente influenciada por la fortaleza de la población, ya que no se presentó correlación con la PAA, además de que la población presentó diferencias estadísticas a partir de la segunda mitad del monitoreo, siendo mayor en verano-otoño con 5.07 kg en el día 30 y 5.14 kg en el día 45, contra 3.58 y 3.61 kg en primavera, respectivamente (Figura 3a). En el mismo sentido, se encontró una correlación negativa entre CH y la cantidad de miel operculada (MO) en la cámara de cría ($r = -0.66$). La cantidad de miel operculada presentó una diferencia estadística entre temporadas a partir del día 30 de monitoreo (Figura 2b), existiendo una mayor cantidad en primavera en comparación con el verano; esta diferencia en la capacidad de almacenamiento de miel por parte de la colonia posiblemente esté asociada a una disminución en la actividad de pecoreo de las obreras derivado de una mayor precipitación durante el verano, que se traduce en una menor cantidad de días soleados durante la temporada. Se ha demostrado que la presencia de lluvias en las zonas de pecoreo disminuye el tráfico de los insectos polinizadores hasta en un 30 % (Linares *et al.*, 2021). Por otra parte, es posible que también existiera una oferta de néctar más abundante durante la primavera. Esto coincide con lo mencionado por Medina-Flores *et al.* (2019), quienes observaron una reserva de miel más abundante durante la primavera en comparación con el otoño al visitar las mismas floraciones que el presente estudio.

La abundancia de reservas derivada de una mayor disponibilidad de néctar en el campo pudo haber limitado la expresión del CH, por lo que no se observaron diferencias en el nivel de CH una vez que iniciaron las temporadas de floración. Este fenómeno podría estar relacionado con la distribución de tareas dentro de la colonia, ya que las abejas higiénicas son capaces de intercambiar la actividad de acopio de néctar con el comportamiento higiénico de acuerdo con las necesidades de la colonia (Momot y Rothenbuhler, 1971). Contrario a esto, Janmaat y Winston (2000) consideran que la abundancia de néctar y polen es un factor que puede llegar a motivar la expresión del CH, pues se genera una mayor necesidad de espacio para almacenamiento.

En cuanto al patrón de postura, es una variable cualitativa que puede contribuir a la evaluación del estatus de salud de la colonia. Los resultados muestran que el PP fue

igualmente consistente durante ambas temporadas (Figura 3b) y presentó una correlación positiva con la PAA (+0.40), lo cual tiene sentido, ya que el PP es un indicador de abundancia y homogeneidad de la cría, al igual que del buen desempeño de la reina en la postura. Un patrón disperso es signo de un problema en la postura debido a una baja calidad de los espermatozoides, muerte de los huevecillos, etc. (EFSA-AHAW Panel, 2016), y se puede considerar un eficiente predictor de la población adulta futura.

Sobre la variable POL, las colonias presentaron diferencias estadísticas entre temporadas a partir del día 30 del monitoreo (figura 2c), siendo mayor durante la primavera. Al mismo tiempo, se observa una correlación significativa entre MO y POL (+0.65), algo que resulta lógico ya que ambos productos (néctar y polen) se encuentran disponibles en el campo al mismo tiempo durante la floración y representan los principales insumos para la alimentación de la colonia. La mayor cantidad de polen almacenado durante la primavera por parte de las colonias podría estar asociada al tipo de especies en floración. Smart *et al.* (2017) menciona que aun cuando la oferta de recursos vegetales en floración sea muy diversa las abejas tienden a concentrar sus esfuerzos de recolección en unas cuantas especies, ya sea por que las especies preferidas son más abundantes o por que aportan nutrientes específicos que las colonias necesitan en determinado momento. Por lo tanto, aun cuando la temporada de verano ofreciera una mayor diversidad, es posible que las especies de interés para las colonias de *A. mellifera* fueran menos abundantes, y durante la primavera, las colonias mostraran mayor preferencia por las especies que se encontraban en floración recolectando un mayor volumen de polen.

Respecto a la correlación positiva entre la cantidad de miel operculada (+0.58) y polen (+0.62) almacenados en cámara de cría con el nivel de infestación de *V. destructor*, difícilmente se podría especular acerca de dicha correlación, ya que el nivel de infestación únicamente presentó una ligera diferencia numérica, más no estadística, durante la segunda mitad del monitoreo, a pesar del significativo incremento en la cantidad de reservas de miel y polen a partir del día 30. Por el contrario, la correlación negativa que se observa entre MO y la población de abejas adultas (-0.56) se ve sustentada por el comportamiento de ambas variables; por ejemplo, durante el verano, el incremento significativo de la población a partir del día 15 trajo como consecuencia una reducción significativa en la cantidad de MO a partir del día 30, ya que al existir una mayor población, el consumo de alimento incrementa, y por lo tanto la cantidad de reservas disminuye (Medina-Flores *et al.*, 2019). En el mismo sentido, esta interacción entre la cantidad de MO y PAA podría explicar de cierta manera las correlaciones presentadas entre VARR con MO y POL; considerando que la cantidad de reservas de alimento parece ser un buen predictor del tamaño de la población adulta, la reducción de la población derivada de la menor longevidad de las abejas ocasionada por la parasitosis de *V. destructor* durante su etapa larval (Aldea y Bozinovic, 2020), se refleja en el incremento de las reservas de alimento.

Lo anterior nos deja claro que las características de algunas colonias de *A. mellifera* que parecen tener influencia sobre las poblaciones del ácaro pudieran no tenerlo en otras,

y aún más bajo condiciones ambientales diferentes. Sin embargo, el desarrollo e implementación de estrategias encaminadas al monitoreo de las poblaciones de este parásito, identificación de sus umbrales económicos, desarrollo de técnicas de prevención adecuadas y aplicación de tratamientos paso a paso de acuerdo con las necesidades de la colonia, nos permitirá alcanzar una estrategia efectiva de manejo integral frente a *V. destructor*.

CONCLUSIONES

Sobre las temporadas de floración dentro del área de estudio, el verano parece haber ofrecido mejores condiciones para el desarrollo de colonias de *A. mellifera* al permitirles incrementar de manera significativa su población. Tanto la cantidad de reservas de miel, polen y la población adulta son las únicas variables asociadas a la fortaleza de la colonia que parecen ser afectadas por la temporada de floración, de manera que el patrón de postura será determinado por factores intrínsecos probablemente asociados al desempeño reproductivo de la reina. Por su parte, se confirma que la expresión del comportamiento higiénico se encuentra influenciada por una gran cantidad de factores, por lo que puede variar significativamente a través del tiempo e incluso dentro de la misma temporada de floración. A pesar de presentar una fuerte correlación negativa con el nivel de infestación de *V. destructor*, no se puede considerar como un predictor confiable de la dinámica de la población del ácaro, al igual que la cantidad de reservas de alimento, que aun cuando tiene una correlación positiva importante con la variable de interés, esta no se traduce necesariamente en una relación causal.

REFERENCIAS

- Aldea P, Bozinovic F. 2020. The energetic and survival costs of *Varroa* parasitism in honeybees. *Apidologie* 51: 997–1005. <https://doi.org/10.1007/s13592-020-00777-y>
- Beaurepaire A, Piot N, Doublet V, Antunez K, Campbell E, Chantawannakul P, Chejanovsky N, Gajda A, Heerman M, Panziera D. 2020. Diversity and global distribution of viruses of the western honey bee. *Insects* 11 (4): 239. <https://doi.org/10.3390/insects11040239>
- De Jong D, De Andrea Roma D, Gonçalves LS. 1982. A comparative analysis of shaking solutions for the detection of *Varroa jacobsoni* on adult honey bees. *Apidologie* 13 (3): 297–306. <https://doi.org/10.1051/apido:19820308>
- EFSAW AHAW Panel (European Food Safety Authority Panel on Animal Health and Welfare). 2016. Assessing the health status of managed honeybee colonies (HEALTHY-B): a toolbox to facilitate harmonised data collection. *EFSA Journal* 14 (10). <https://doi.org/10.2903/j.efs.2016.4578>
- Janmaat FA, Winston LM. 2000. Removal of *Varroa jacobsoni* infested brood in honey bee colonies with differing pollen stores. *Apidologie* 31 (3): 377–385. <https://doi.org/10.1051/apido:2000129>
- Le Conte Y, Navajas M. 2008. Climate change: impact on bee populations and their illnesses. *Revue Scientifique et Technique de l'OIE* 27 (2): 485–510. <https://doi.org/10.20506/rst.27.2.1819>
- Linares MA, Lizarazo DF, Jara FA, Suárez DF. 2021. Efecto de las variables ambientales y variaciones climáticas sobre la mortalidad, productividad, oferta floral y sanidad de insectos polinizadores. *Revista Siembra CBA* 1: 23–34.
- Locke B. 2016. Natural *Varroa* mite-surviving *Apis mellifera* honeybee populations. *Apidologie* 47: 467–482. <https://doi.org/10.1007/s13592-015-0412-8>
- Masaquiza-Moposita D, Curbelo-Rodríguez L, Díaz-Monroy B, Pilataxi R, Andrade-Yucailla V. 2017. Comportamiento higiénico y nivel de infestación con *Varroa destructor* de *Apis mellifera*

- en la zona centro del Ecuador. *Revista Ecuatoriana de Investigaciones Agropecuarias* 2 (1): 25–30. <https://doi.org/10.31164/reiagro.v2n1.5>
- McMenamin AJ, Genersch. 2015. Honey bee colony losses and associated viruses. *Current Opinion in Insect Science* 8: 121–129. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2015.01.015>
- Medina-Flores CA, Esquivel-Marín NH, López-Carlos MA, Medina-Cuellar SE, Aguilera-Soto JI. 2018. Estimation of the loss of honey bee colonies in the altiplano and northern regions of Mexico. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 5: 365–371. <https://doi.org/10.19136/era.a5n14.1459>
- Medina-Flores CA, Guzmán-Novoa E, Aguilera-Soto JI, López-Carlos MA, Medina-Cuellar SE. 2019. Condiciones poblacionales y alimenticias de colonias de abejas melíferas (*Apis mellifera*) en tres regiones del altiplano semiárido de México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 10 (1): 199–211. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v10i1.4387>
- Medina-Flores CA, Guzmán-Novoa E, Aréchiga-Flores F, Gutiérrez-Bañuelos H, Aguilera-Soto JI. 2014. Producción de miel e infestación con *Varroa destructor* de abejas africanizadas (*Apis mellifera*) con alto y bajo comportamiento higiénico. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 5 (2): 157–170.
- Medina-Flores CA, Guzmán-Novoa E, Espinosa-Montañón LG, Uribe-Rubio JL, Gutiérrez-Luna R, Gutiérrez-Piña FJ. 2014. Frecuencia de varrosis y nosemosis en colonias de abejas melíferas (*Apis mellifera*) en el estado de Zacatecas, México. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 20 (3): 159–167. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2013.08.028>
- Medina-Flores CA, Guzmán-Novoa E, Hamiduzzaman MM, Aréchiga-Flores CF, López-Carlos MA. 2014. Africanized honey bees (*Apis mellifera*) have low infestation levels of mite *Varroa destructor* in different ecological regions in México. *Genetics and Molecular Research* 13 (3): 7282–7293. <https://doi.org/10.4238/2014.February.21.10>
- Momot JP, Rothenbuhler WC. 1971. Behavior genetics of nest-cleaning in honeybees. VI Interactions of age and genotype of bees and nectar flow. *Journal of Apicultural Research* 10 (1): 11–21. <https://doi.org/10.1080/00218839.1971.11099665>
- Mondet F, Beaupaire A, McAfee A, Locke B, Alaux C, Blanchard S, Danka B, Le Conte Y. 2020. Honey bee survival mechanisms against the parasite *Varroa destructor*: a systematic review of phenotypic and genomic research efforts. *International Journal for Parasitology* 50 (6–7): 433–447. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2020.03.005>
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2020. Avance de la producción pecuaria por producto 2020. http://infosiap.siap.gob.mx/repoAvance_siap_gb/pecAvance-Prod.jsp (Recuperado: Agosto 2021)
- Smart M, Cornman RS, Iwanowics D, McDermott-Kubeczko M, Pettis JS, Spivak MS, Otto CRV. 2017. A comparison of honey bee-collected pollen from working agricultural lands using light microscopy and ITS metabarcoding. *Environmental Entomology* 46 (1): 38–49. <https://doi.org/10.1093/ee/nvw159>
- Strauss U, Pirk CWW, Crewe RM, Human H, Dietemann V. 2015. Impact of *Varroa destructor* on honeybee (*Apis mellifera scutellata*) colony development in South Africa. *Experimental and Applied Acarology* 65: 89–106. <https://doi.org/10.1007/s10493-014-9842-7>
- Szabo TL, Walker CR. 1996. Rate of infestation of honey bee colonies by *Varroa jacobsoni*. *American Bee Journal* 136 (6): 447–448.
- Tapia-González JM, Alcazar-Oceguera G, Macías-Macías JO, Contreras-Escareño F, Tapia-Rivera J, Petukhova T, Guzmán-Novoa E. 2019. Varrosis in honey bees in different environmental and regional conditions of Jalisco, Mexico. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 6 (7): 243–251. <https://doi.org/10.19136/era.a6n17.2018>
- Uzunov A, Costa C, Panasiuk B, Meixner M, Kryger P, Hatjina F, Bouga M, Andonov S, Bienkowska M, Le Conte Y, Wilde J, Gerula D, Kiprijanovska H, Filipi J, Petrov P, Routtinen L, Pechhacker H, Berg S, Dyrba W, Ivanova E, Büchler R. 2014. Swarming, defensive and hygienic behaviour in honey bee colonies of different genetic origin in a pan-European experiment. *Journal of Apicultural Research* 53 (2): 248–260. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.53.2.06>

BODY COMPOSITION AS A FUNCTION OF COAT COLOR, SEX AND AGE IN LOCAL KIDS FROM NORTHERN MEXICO

Jorge Alonso **Maldonado-Jáquez**^{1,2}, Pablo **Arenas-Báez**³, Jonathan Raúl **Garay-Martínez**⁴,
Lorenzo Danilo **Granados-Rivera**^{5*}

¹ Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo. Montecillo, Estado de México, México. C. P. 56230.

² Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental La Laguna. Matamoros, Coahuila, Mexico. C. P. 27440.

³ Universidad Autónoma Chapingo. Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas. Bermejillo, Durango, Mexico. C. P. 35230.

⁴ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Las Huastecas. Estación Cuauhtémoc, Tamaulipas, Mexico. C. P. 88339

⁵ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental General Terán. Nuevo León, Mexico. C. P. 67400.

* Author for correspondence: granados.danilo@inifap.gob.mx

ABSTRACT

The aim was to evaluate the effect of coat color, sex and age on body composition in local kids from northern Mexico. Eighty-three local kids between 1 and 30 days of age were selected. They were assigned to groups according to coat color (dark and light), sex (males and females) and age (1=1 to 10; 2=11 to 20 and 3=21 to 30 days). Pigmentation of skin, hooves, mucous membranes, morphostructural characteristics, live weight and 14 zoomometric measurements were evaluated. A predominant phenotype was found of animals without mammals, beards, without pigment in the skin and hooves, with horns, horizontal ears and pigmented mucous membranes. The highest values ($p < 0.05$) for live weight (PV), neck length and width (LCue, ACue), chest circumference (CPe) and flank depth (PFI) were found in dark kids. The highest value ($p < 0.05$) in ear length (LO) was observed in light-colored kids. When considering sex, the highest values ($p < 0.05$) were observed in males for all traits, except for length and width of face (LCa, ACa) and width of ears (AO), height at withers (ACruz), PFI and sacrolumbar height (ASL), which were not different ($p > 0.05$). When considering age, the highest values were found in all traits for group 3. All variables were positively and significantly correlated. The variables showing the greatest magnitude of change in the first 20 days of age are PV (+40 %), LCa, LCor, CPe (+15 %) and LCue, ACruz, PFI, leg length (+10 %), while between 20 and 30 days of age the magnitude of change generally decreases. It is concluded that coat color, sex and age significantly influence the body composition of local kids from northern Mexico, which may have implications in the selection and marketing thereof.

Keywords: Biometric profile, phenotype, goats, arid zones.

Citation: Maldonado-Jáquez JA, Arenas-Báez P, Garay-Martínez JR, Granados-Rivera LD. 2023. Body composition as a function of coat color, sex and age in local kids from northern Mexico. *Agrociencia* 57(4): 700-721. doi.org/10.47163/agrociencia.v57i4.2916

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: November 14, 2022.
Approved: May 01, 2023.
Published in Agrociencia:
June 07, 2023.

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



INTRODUCTION

It is common in developing countries for goat production to be carried out through subsistence production systems, in rural areas with low productivity and linked to the use of local goat populations (Torres-Hernández *et al.*, 2022). These populations are an important reservoir of genetic diversity; therefore, it is necessary to conserve them through development and management programs that increase productivity in a sustainable manner. However, lack of information on population characteristics can lead to underutilization and loss of this valuable genetic resource (Sevane *et al.*, 2018; Bedada *et al.*, 2019).

In this regard, in recent years there has been increasing interest in studying these breeds adapted to low-income systems, especially with respect to biometric and phenotypic characteristics (Adenaike *et al.*, 2020). Some efforts have been oriented towards the selection of animals based on coat color, since it is an easily recognizable trait, furthermore, according to the literature, it has an effect on productive behavior (Akis *et al.*, 2012). However, in criollo or local goats, the information available on this topic is still scarce, because this characteristic cannot be measured based on a scale (Tyasi *et al.*, 2022; Becerril *et al.*, 1996). However, evidence suggests that it is directly related to productive efficiency (Fonseca *et al.*, 2016) and, therefore, the study of this characteristic becomes necessary, especially in these subsistence systems, where the availability of herd productive information is a serious limitation (Moyao-Ariza *et al.*, 2022, Torres-Hernández *et al.*, 2020). Therefore, the aim was to evaluate the effect of coat color and sex on body composition, as well as the magnitude of changes in body development when considering age in local lactating kids from northern Mexico.

MATERIALS AND METHODS

All methods and animal handling used in the study were in accordance with the guidelines for the ethical use, care and welfare of animals used in research according to international (FASS, 2010), national (NAM, 2002) and institutional standards, through the project “Technological options to improve the productivity of the extensive goat system in Northern Mexico” financed by the National Institute of Forestry, Agricultural and Livestock Research (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias).

The study was conducted in the Laguna region, in a portion of the state of Coahuila, Mexico. This area is located between 24°22' North Latitude and 102°22' West Longitude, with an average elevation of 1139 m and a desert climate, semi-warm with a cool winter and average rainfall of 240 mm (García, 2004).

Eighty-three local lactating kids (42 males and 41 females) born between January and February 2022, aged between 1 and 30 days, were selected from a nucleus of 205 goat herds managed under an extensive grazing scheme. This management considered the separation of the kids from their mothers during grazing for a period of approximately 9 h d⁻¹. Once the goats returned to the resting pen, the kids were placed next to their mothers to breastfeed. During the day the kids had access to water *ad libitum*.

The kids were assigned to two groups according to coat color and sex (dark [n=33; when more than 50% of the coat was dark-black, brown, chamois]; light [n=50; when more than 50% of the coat was light-white, cream, light gray]) and to three groups according to age [1(n=32): 1 to 10; 2(n=29) 11 to 20 and 3(n=22): 21 to 30 days old]. Pigmentation of skin, hooves and mucous membranes and morphostructural characteristics such as ear orientation, presence of mammals, beard and horns, as well as live weight (PV) and 14 zoomometric measurements were considered. All measurements were recorded with a soft measuring tape (Selanusa, Mexico). The PV was taken fasting with an electronic hanging scale with a capacity of 45 kg±5 g (Metrology, Nuevo Leon, Mexico). The zoomometric measurements were (Figure 1): face length (LCa-1), face width (ACa-2), ear length (LO-3), ear width (AO-4), neck length (LCu-5), neck width (Acu-6), body length (LCo-7), height at withers (ACruz-8), chest circumference (CPe-9), barrel circumference (CBa-10), flank depth (PFl-11), sacrolumbar height (ASL-12), leg length (LPi-13), shank circumference (PCn-14) (Moyao-Ariza *et al.*, 2022).

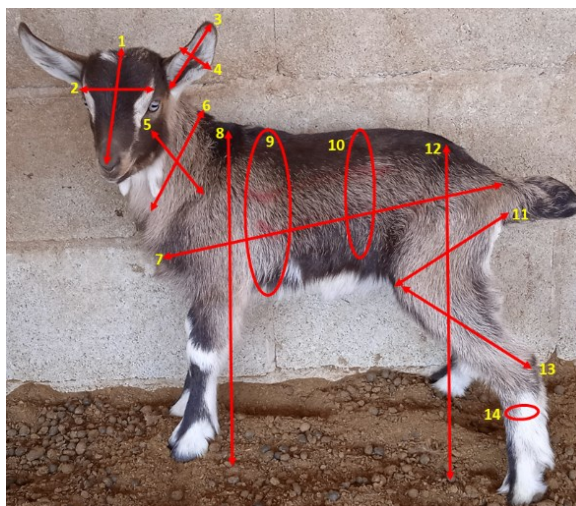


Figure 1. Zoomometric traits considered to evaluate morphostructural composition in local lactating kids from northern Mexico.

The magnitude of the development of the animals in the different age groups was analyzed, which means the development of each anatomical part of the animal was quantified, since they do not have the same growth speed, therefore, this analysis is proposed to identify critical growth points in developing kids. This analysis quantifies the change in the zoometric measurements of kids in each age group and is expressed as a percentage.

Statistical analysis was performed using the SAS v.9.4 statistical package (2008). Descriptive and inferential statistics were obtained for qualitative traits. For

quantitative traits, a fixed effects model was used, with a completely randomized design, with the GLM procedure and a Pearson correlation analysis was performed to determine the degree of association between variables.

The structure of the model was:

$$Y_{ijkl} = \mu + CP_i + S_j + E_k + CP_i * S_j * E_k + E_{ijkl}$$

Where: Y_{ijkl} : weight or zoometric measure considered; μ : constant that characterize the population; CP_i : fixed effect of the i-th coat color ($i = 1,2$), S_j : fixed effect of the j-th sex of the kids ($j = 1,2$), E_k : fixed effect of the k-th age of the kid ($k=1,2,3$); $CP_i * S_j * E_k$: Effect of double or triple interactions; E_{ijkl} : random error, which was assumed to be normally distributed with zero mean and common variance.

RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 shows the absolute and relative frequencies for morphostructural and phaneroptic characteristics. A predominant phenotype was found of animals without mammals, beards, without pigment in the skin and hooves, with horns, horizontal ears and pigmented mucous membranes. The results found are similar to those reported by Sheriff *et al.* (2021), for Arab and Oromo kids regarding morphostructural characteristics. Likewise, the observed diversity is considered as “Mosaico Lagunero”, which is an undefined phenotype, characteristic in crossbred animals (Amills *et al.*, 2017; Moyao-Ariza *et al.*, 2022).

Regarding morphostructural composition due to coat color (Table 2), the highest values ($p < 0.05$) were found in dark kids for PV, LCue, ACue, CPe and PFl; while for light kid differences ($p < 0.05$) were only found in LO. The rest of the variables

Table 1. Absolute (FA) and relative frequencies (FR) for phaneroptic and morphostructural characteristics in lactating local kids from northern Mexico.

Variable	FA	FR	Variable	FA	FR	Variable	FA	FR
Mammels			Beard			Horns		
Present	25	0.30	Present	0	0.00	Present	71	0.86
Absent	58	0.70	Absent	83	100.00	Absent	12	0.14
Skin			Pigmentation in: Hooves			Mucosa		
Present	30	0.36	Present	33	0.40	Present	50	0.60
Absent	53	0.64	Absent	50	0.60	Absent	33	0.40
Ear orientation								
Horizontal	39	0.47						
Hanging	19	0.23						
Erect	25	0.30						

Table 2. Mean \pm standard error for zoometric characteristics according to coat color in local lactating kids from northern Mexico.

Variable	Dark	Light	C.V.	<i>p</i> value
Live weight (kg)	5.598 \pm 0.26	5.185 \pm 0.24	15.40	<0.0001
Face length (cm)	10.75 \pm 0.23	10.71 \pm 0.28	12.37	0.5801
Face width (cm)	6.97 \pm 0.17	6.87 \pm 0.24	20.17	0.8189
Ear length (cm)	10.14 \pm 0.31	11.04 \pm 0.24	14.02	0.0005
Ear width (cm)	4.91 \pm 0.09	5.04 \pm 0.09	10.82	0.3382
Neck length (cm)	20.29 \pm 0.43	19.23 \pm 0.46	9.79	0.0159
Neck width (cm)	19.83 \pm 0.33	18.79 \pm 0.31	7.23	0.0417
Body length (cm)	38.58 \pm 0.78	38.00 \pm 0.80	9.66	0.5086
Height at withers (cm)	40.11 \pm 0.59	38.01 \pm 0.87	13.13	0.5569
Chest circumference (cm)	39.12 \pm 0.70	37.26 \pm 0.73	6.36	0.0461
Barrel circumference (cm)	38.56 \pm 0.87	37.53 \pm 0.82	10.36	0.9966
Flank depth (cm)	15.09 \pm 0.49	13.86 \pm 0.37	15.16	0.0427
Sacro-Lumbar Height (cm)	39.94 \pm 0.55	38.88 \pm 0.60	7.45	0.8954
Leg length (cm)	17.43 \pm 0.29	16.83 \pm 0.33	7.95	0.3954
Cane perimeter (cm)	6.36 \pm 0.07	6.28 \pm 0.10	7.46	0.7700

considered showed no differences due to coat color ($p > 0.05$). Our results could suggest European origin of the animals in this population (Lanari *et al.*, 2019), however, this is not conclusive. On the other hand, the results obtained coincide with those found by Mia *et al.* (2018) and Choudhury *et al.* (2012), who report that dark animals are significantly larger in the Bengali black goat population. Likewise, Daramola and Adeloje (2008) and Getachew *et al.* (2020) concluded that dark animals grow faster and have higher weight gains compared to light-colored animals. This information is interesting, because, based on the conclusions and findings obtained, specific selection criteria can be developed, as has been found in species such as camelids, which govern selection based on coat color, since a higher hierarchy effect has been observed in dark-colored animals (Iglesias-Pastrana *et al.*, 2021).

On the other hand, when considering the sex of the kids (Table 3), the highest values ($p < 0.05$) were found in males for PV, LCue, ACue, LCor, CPe and LPi. The rest of the variables evaluated were not different ($p > 0.05$). In this sense, the results obtained were in accordance with expectations, and this can be explained by the fact that growth hormone influences for greater development in males (Patel *et al.*, 2019). In this regard, Baenyi *et al.* (2020) and Akkol (2018), reported differences between gender, and where, in general, males showed better body development compared to females.

Regarding the age of the kids, the results coincided with the expectation that the older the kids, the higher the value of morphostructural variables (Table 4). It was found that group 3 animals presented the highest values ($p < 0.05$) in all the variables considered, although without difference, with some variables in animals of group 2, while animals of group 1 presented the lowest values in all the variables considered.

Table 3. Mean \pm standard error for zoometric characteristics, according to sex in lactating local kids from northern Mexico.

Variable	Male	Female	C.V.	<i>p</i> -Value
Live weight (kg)	5.773 \pm 0.23	4.916 \pm 0.25	15.40	0.0095
Face length (cm)	10.74 \pm 0.19	10.72 \pm 0.33	12.37	0.6751
Face width (cm)	6.89 \pm 0.13	6.92 \pm 0.20	20.17	0.9576
Ear length (cm)	10.67 \pm 0.24	10.70 \pm 0.31	14.02	0.7087
Ear width (cm)	4.91 \pm 0.07	5.06 \pm 0.11	10.82	0.0560
Neck length (cm)	20.21 \pm 0.45	18.97 \pm 0.46	9.79	0.0443
Neck width (cm)	19.96 \pm 0.31	18.43 \pm 0.3	7.23	0.0488
Body length (cm)	39.23 \pm 0.78	37.21 \pm 0.8	9.66	0.0369
Height at withers (cm)	39.25 \pm 1.03	38.43 \pm 0.54	13.13	0.5805
Chest circumference (cm)	38.84 \pm 0.78	37.14 \pm 0.70	6.36	0.0405
Barrel circumference (cm)	39.07 \pm 0.90	36.79 \pm 0.78	10.36	0.5831
Flank depth (cm)	14.69 \pm 0.42	13.99 \pm 0.43	15.16	0.5043
Sacro-Lumbar Height (cm)	39.94 \pm 0.60	38.88 \pm 0.57	7.45	0.3330
Leg length (cm)	17.49 \pm 0.3	16.64 \pm 0.33	7.95	0.0450
Cane perimeter (cm)	6.54 \pm 0.09	6.11 \pm 0.08	7.46	0.1014

Table 4. Mean \pm standard deviation and magnitude of development (%) between age groups for zoometric characteristics, according to age group in local kids from northern Mexico.

Variable	Age group 1		Age group 2		3	<i>p</i> -Value
	1	Magnitude (%)	2	Magnitude (%)		
Live weight (kg)	2.802 \pm 0.13c	40.8	4.730 \pm 0.13b	25.5	6.346 \pm 0.13a	<0.001
Face length (cm)	8.55 \pm 0.23b	18.6	10.51 \pm 0.24a	8.4	11.48 \pm 0.21a	<0.0001
Face width (cm)	6.00 \pm 0.15b	8.8	6.58 \pm 0.13ab	9.9	7.30 \pm 0.23a	0.0154
Ear length (cm)	9.31 \pm 0.46b	6.8	9.99 \pm 0.28b	11.8	11.33 \pm 0.23a	<0.0001
Ear width (cm)	4.57 \pm 0.16b	7.1	4.92 \pm 0.10ab	4.5	5.15 \pm 0.08a	0.0018
Neck length (cm)	15.06 \pm 0.33b	23.7	19.74 \pm 0.44a	6.3	21.06 \pm 0.30a	<0.0001
Neck width (cm)	16.71 \pm 0.51c	7.3	18.02 \pm 0.28b	11.5	20.36 \pm 0.20a	<0.0001
Body length (cm)	30.98 \pm 0.69b	18.8	38.13 \pm 0.70a	5.9	40.53 \pm 0.58a	<0.0001
Height at withers (cm)	34.66 \pm 0.62b	10.2	38.60 \pm 0.47a	4.1	40.23 \pm 0.84a	0.0056
Chest circumference (cm)	30.38 \pm 0.78c	16.6	36.41 \pm 0.46b	10.9	40.88 \pm 0.35a	<0.0001
Barrel circumference (cm)	31.66 \pm 0.82c	9.7	35.08 \pm 0.55b	14.0	40.81 \pm 0.60a	<0.0001
Flank depth (cm)	11.56 \pm 0.26b	11.3	13.04 \pm 0.39b	16.6	15.63 \pm 0.35a	<0.0001
Sacro-Lumbar Height (cm)	35.40 \pm 0.61b	3.6	36.73 \pm 0.14b	11.2	41.34 \pm 0.44a	<0.0001
Leg length (cm)	14.13 \pm 0.24c	13.6	16.36 \pm 0.13b	10.2	18.22 \pm 0.20a	<0.0001
Cane perimeter (cm)	5.99 \pm 0.13b	0.2	6.00 \pm 0.21b	8.3	6.54 \pm 0.07a	0.0003

This is in agreement with the report of Akbar *et al.* (2021), who point out that all body measurements are positively correlated with respect to age, i.e., body measurements will be greater in older animals until they reach mature age and weight, which is when growth ceases. Similarly, Akpa *et al.* (2013), found that age significantly influences body weight and body conformation. Because of the above, it has been suggested that research should focus on evaluating the relationship between weight and body measurements at different ages (Assan, 2015), with the aim of identifying critical points of attention in the development of animals (Gómez-Osorio *et al.*, 2017).

Likewise, the magnitude of change in body development for each of the morphostructural measures is greater (greater than 10% and up to 40%) during the first 20 days for the variables PV, LCa, LCue, LCor, ACruz, CPe, PFL and LPi. After 20 days of age, the magnitude of change in body development structure decreases and the greatest development is observed in variables such as PV, LO, ACue, CPe, CBa, PFL, ASL and LPi. Furthermore, during the first 20 days of age, the magnitude of change in body measurements on average is in the range of 11 to 13 %, while after 20 days and up to 30 days of age this change decreases from 9.5 to 10.5 %. This is most evident in body weight, which decreases from 41% to 26%. This information partially coincides with the report of Aktas *et al.* (2015), who describe that the highest growth rate in indigenous Turkos hair and Honamli goats are found between 20-40 and 60-60 days. These findings are extremely interesting, because by identifying critical growth periods, feeding management strategies that optimize productivity can be developed and implemented (Omotosho *et al.*, 2020). Likewise, as the animal grows and transforms, its proportions change, both internally and externally. These transformations that occur in an animal, considered as a whole, result from the simultaneous development of all its parts, but in proportions that vary individually. In this regard, Hammond (1960) established that the different organs, tissues and anatomical parts of the animal do not have the same growth rate at a given time, therefore, each individual presents a characteristic growth rate according to age and in a defined order. That is, the nutrients absorbed during digestion are not distributed evenly, but are distributed following a regime of strict priorities and where the different tissues reach their maximum growth rate according to the following order: nervous, bone, muscle and fat (Ayala-Vargas, 2018).

Finally, Table 5 shows the matrix of phenotypic correlations for body traits in local lactating kids. In this regard, it was found that all variables correlated positively and significantly, except for the variables ACruz, which correlated non-significantly with LO and AO, PFL with AO and PCn with ACa. These results show that in their first days of development these animals have a positive growth of more than 12% in all morphostructural components and without considering live weight. These results are consistent with the reports of Okpeku *et al.* (2011) and Akkol (2018), who indicated that correlation coefficients are positive between live weight and all body measurements, in particular, when relating PV to variables such as ACruz, LCor, LCue, CPe in Red Sokoto, West African Dwarf and hair goats.

Table 5. Matrix of phenotypic correlations for morphostructural variables in local lactating kids from northern Mexico.

	Weight	LCa	ACa	LO	AO	LCu	ACu	LCor	ACruz	CPe	CBa	PFI	ASL	LPi	PCn
Weight	1.000														
LCa	0.6333 ***	1.000													
ACa	0.4178 ***	0.6203 ***	1.000												
LO	0.4786 ***	0.4416 ***	0.2941 **	1.000											
AO	0.4517 ***	0.4796 ***	0.2840 **	0.6579 ***	1.000										
LCu	0.7376 ***	0.5345 ***	0.2993 **	0.3678 **	0.3453 ***	1.000									
Acu	0.7581 ***	0.6150 ***	0.2809 *	0.3813 **	0.2924 **	0.5156 ***	1.000								
LCor	0.8013 ***	0.5800 ***	0.2501 *	0.4089 ***	0.5549 ***	0.5045 ***	0.6351 ***	1.000							
ACruz	0.5068 ***	0.3154 **	0.2203 *	0.1242 NS	0.1880 NS	0.4325 ***	0.3557 **	0.3407 ***	1.000						
CPe	0.9248 ***	0.6783 ***	0.4431 ***	0.3886 ***	0.4065 ***	0.6699 ***	0.7679 ***	0.7525 ***	0.4944 ***	1.000					
CBa	0.8144 ***	0.6445 ***	0.4297 ***	0.4051 ***	0.3794 ***	0.4296 ***	0.7594 ***	0.6872 ***	0.4317 ***	0.8508 ***	1.000				
PFI	0.6887 ***	0.4839 ***	0.3420 **	0.3203 **	0.1815 NS	0.4497 ***	0.6686 ***	0.4954 ***	0.4740 ***	0.7022 ***	0.7109 ***	1.000			
ASL	0.7450 ***	0.5009 ***	0.3420 **	0.3057 ***	0.3685 ***	0.5556 ***	0.5915 ***	0.5794 ***	0.5733 ***	0.7017 ***	0.6981 ***	0.6558 ***	1.000		
LPi	0.7840 ***	0.5169 ***	0.3259 **	0.3890 ***	0.2683 *	0.6793 ***	0.6004 ***	0.5981 ***	0.4130 ***	0.7637 ***	0.5842 ***	0.6119 ***	0.6504 ***	1.000	
PCn	0.5724 ***	0.2875 **	0.1374 NS	0.3753 ***	0.3199 ***	0.2897 **	0.6161 ***	0.4574 ***	0.2251 *	0.5095 ***	0.6117 ***	0.4721 ***	0.4774 ***	0.4519 ***	1.000

NS= Not significant; * $p < 0.05$; ** $p < 0.001$; *** $p < 0.0001$; LCa= face length; Aca= face width; LO= ear length; AO= ear width; LCu= neck length; Acu= neck width; LCor= body length; ACruz= withers height; CPe= chest circumference; CBa= barrel circumference; PFI= flank depth; ASL= sacro-lumbar height; LPi= leg length; PCn= cane perimeter.

CONCLUSIONS

A significant effect of coat color, sex and age on body composition was found, which is directly related to better body development. Therefore, this information could be used as a basis for the implementation of replacement selection schemes, to establish feeding management schemes to optimize kid production, or to investigate genetic improvement strategies at early ages.

These results are relevant because they may have practical implications in the development of selection criteria for replacement animals and specific criteria for the marketing of kids for slaughter, thus being able to negotiate a better price for the producer. However, more detailed studies must be conducted to find out whether

this better development is indeed attributable to these variables or to genetic or environmental factors.

ACKNOWLEDGMENTS

To the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) for the scholarship granted for doctoral studies for the first author. As well as to the goat producers of the Comarca Lagunera for the information provided.

REFERENCES

- Adenaike AS, Jegede O, Bello-Ibiyeni AA, Ikeobi CON. 2020. Multifunctional discriminant analysis of morphostructural traits in Nigerian locally adapted turkeys. *Agricultura Tropica et Subtropica* 53 (2): 57–62. <https://doi.org/10.2478/ats-2020-0006>
- Akbar MA, Javed K, Faraz, Waheed A. 2021. Principal component analysis of morphometric traits explains the morphological structure of Thalli sheep. *Pakistan Journal of Zoology* 54 (1): 207–212. <https://dx.doi.org/10.17582/journal.pjz/20200220060257>
- Akis I, Oztabak K, Gursel FE, Un C. 2012. Goat Agouti gene polymorphism and its association with coat color in indigenous Turkish goat breeds. *Veterinarija Ir Zootechnika* 60 (82): 3–6.
- Akkol S. 2018. The prediction of live weight of hair goats through penalized regression methods: LASSO and Adaptive LASSO. *Archives Animal Breeding* 61: 451–458. <https://doi.org/10.5194/aab-61-451-2018>
- Akpa GN, Ambali AI, Suleiman IO. 2013. Body conformation, testicular and semen characteristics as influenced by age, hair type, and body condition of Red Sokoto goat. *New York Science Journal* 6 (7): 44–58.
- Aktas AH, Gök B, Ates S, Tekin ME, Halici I, Bas H, Erduran H, Kassam S. 2015. Fattening performance and carcass characteristics of Turkish indigenous Hair and Honamli goat male kids. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 39: 643–653. <https://dx.doi.org/10.3906/vet-1505-84>
- Amills M, Capote J, Tosser-Kloop G. 2017. Goat domestication and breeding: A jigsaw of historical, biological and molecular data with missing pieces. *Animal Genetics* 48 (6): 631–644. <https://doi.org/10.1111/age.12598>
- Assan N. 2015. Prospects for utilization of the relationship between zoometrical measurements and performance traits for poultry and livestock genetic improvement in developing countries. *Scientific Journal of Animal Science* 4 (11): 124–132. <https://doi.org/10.14196/SJAS.V4I11.2020>
- Ayala-Vargas C. 2018. Crecimiento y desarrollo de los mamíferos domésticos. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales* 5: 34–42.
- Baenyi SP, Birindwa AB, Mutwedu VB, Mugumaarhahama Y, Munga A, Mitima B, Kamgang VW, Ayagiwe RB. 2020. Effects of coat color pattern and sex on physiological traits and heat tolerance of indigenous goats exposed to solar radiation. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology* 8: 142–151. <http://dx.doi.org/10.31893/jabb.20017>
- Becerril CM, Wilcox CJ, Guerrero VM. 1996. Holstein White coat color and performance: Phenotypic, genetic and environmental correlations. *Brazilian Journal of Genetics* 19 (4): 587–591. <https://doi.org/10.1590/S0100-84551996000400009>
- Bedada ZE, Gilo BN, Debela GT. 2019. Morphometric and physical characterization of Borana indigenous goats in Southern Oromia, Ethiopia. *Universal Journal of Agricultural Research* 7(1): 25–31. <https://doi.org/10.13189/ujar.2019.070104>
- Choudhury MP, Sarker SC, Islam F, Bhuiyan AKFH, Ibrahim MNM, Okeyo AM. 2012. Morphometry and performance of Black Bengal goats at the rural community level in Bangladesh. *Bangladesh Journal of Animal Science* 41 (2): 83–89. <https://doi.org/10.3329/bjas.v41i2.14122>

- Daramola JO, Adeloye AA. 2008. Physiological adaptation to the humid tropics with special reference to the West African Dwarf (WAD) goat. *Tropical Animal Health and Production* 41: 1005–1016. <https://doi.org/10.1007/s11250-008-9267-6>
- FASS (Federation of Animal Science Societies). 2010. Guide for the care and use of agricultural animal an agricultural research and leaching 3rd. ed. Champaign, IL, USA.
- Fonseca WJL, Azevedo DMMR, Campelo JEG, Fonseca WL, Luz CSM, Oliveira MRA, Evangelista AF, Borges LS, Sousa-Junior SC. 2016. Effect of heat stress on milk production of goats from Alpine and Saanen breeds in Brazil. *Archivos de Zootecnia* 65 (252): 615–621.
- García E. 2004. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. Quinta edición. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México. 217 p.
- Getachew T, Abebe A, Gizaw S, Rischkowsky B, Bisrat A, Haile A. 2020. Coat color alterations over the years and their association with growth performance in the Menz sheep central nucleus and community-based breeding programs. *Tropical Animal Health and Production* 52 (6): 2997–2985. <https://doi.org/10.1007/s11250-020-02315-5>
- Gómez-Osorio LM, Posada-Ochoa SL, Olivera-Ángel M, Rosero-Noguera R, Aguirre-Martínez P. 2017. Análisis de la rentabilidad de la producción de leche de acuerdo con la variación de la Fuente de carbohidrato utilizada en el suplemento de vacas Holstein. *Revista de Medicina Veterinaria* 34: 9–22. <http://dx.doi.org/10.19052/mv.4251>
- Hammond J. 1960. The breeding and feeding of animals for human food. *Royal Society of Health Journal* 80 (2): 105–108. <https://doi.org/10.1177/146642406008000222>
- Iglesias-Pastrana C, Navas-González FJ, Ciani E, Arbulu AA, Delgado-Bermejo JV. 2021. The youngest, the heaviest and/or the darkest? Selection potentialities and determinants of leadership in Canarian Dromedary camels. *Animals*. 11: 2886. <https://doi.org/10.3390/ani11102886>
- Lanari MR, Giovannini N, Maizon DO, Bedotti DO, de la Rosa-Carbajal SA, Vera TA, Ricarte RA, Mezzadra CA. 2019. Diversidad de razas caprinas criollas en Argentina. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal* 13: 28–40.
- Mia MM, Mondal AK, Chowdhury MSR, Mia MM. 2018. A study on productive and reproductive performance of Black Bengal goat in relation to coat colors. *Journal of Sylhet Agricultural University* 5 (2): 121–125.
- Moyao-Ariza F, Maldonado-Jáquez JA, Granados-Rivera LD, Martínez-Rojero RD, Torres-Hernández G, Domínguez-Martínez PA, Bautista-Martínez Y, Sánchez-Gutiérrez RA. 2022. Variabilidad morfoestructural, zoométrica y faneróptica de machos cabrios locales del norte de México. *ITEA- Información Técnica Económica y Agraria* 118 (3): 361–376. <https://doi.org/10.12706/itea.2021.030>
- NAM (National Academy of Medicine). 2011. Guide for the care and use of laboratory animals. Co-produced by the National Academy of Medicine-Mexico and the Association for assessment and accreditation of laboratory animal care international. Harlan: México, D. F. 350 p.
- Okpeku M, Yakubu A, Peters SO, Ozoje MO, Okeobi CON, Adebambo OA, Imumrin IG. 2011. Application of multivariate principal component analysis to morphological characterization of indigenous goats in Southern Nigeria. *Acta Agriculturae Slovenica* 98: 101–109. <https://doi.org/10.2478/v10014-011-0026-4>
- Omotosho BO, Bemji MN, Bamisile K, Ozoje MO, Oluwarosin BO, Sowande OS, Wheto M, James IJ, Lawal AM, Osinowo OA. 2020. Comparative study of growth patterns of Kalahari red goats and west African dwarf goats reared in Southwest Nigeria. *Nigerian Journal of Animal Production* 47 (5): 213–226. <https://doi.org/10.51791/njap.v47i5.1334>
- Patel JV, Srivastava AK, Chauhan HD, Gupta JP, Gami YM, Patel VK, Madhavatar MP, Thakkar NK. 2019. Factor affecting birth weight of Mehsana goat kid at organized farm. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 8 (3): 1963–1967. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.803.000>

- Sevane N, Cortés O, Gama LT, Martínez A, Zaragoza P, Amills M, Bedotti DO, Bruno de Sousa C, Cañon J, Dunner S, Ginja C, Lanari MR, Landi V, Sponenberg P, Delgado JV, BioGoat Consortium. 2018. Dissection of ancestral genetic contributions to Creole goat populations. *Animal* 12 (10): 2017–2026. <https://doi.org/10.1017/s1751731117003627>
- Sheriff O, Alemayehu K, Haile A. 2021. Morphological characterization of Arab and Oromo goats in northwestern Ethiopia. *Agriculture and Food Security* 10: 49. <https://doi.org/10.1186/s40066-021-00322-9>
- Statistical Analysis System (SAS). 2008. *SAS/STAT User's Guide*, Software version 9.4. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Torres-Hernández G, Maldonado-Jáquez JA, Granados-Rivera LD, Wurzinger M, Cruz-Tamayo AA. 2022. Creole goats in Latin America and the Caribbean: a priceless resource to ensure the well-being of rural communities. *International Journal of Agricultural Sustainability* 20 (4): 368–380. <http://dx.doi.org/10.1080/14735903.2021.1933361>
- Torres-Hernández G, Maldonado-Jáquez JA, Salinas-González H, Granados-Rivera LD, Pastor-López FJ, Vaquera-Huerta H, Bautista-Martínez Y. 2020. Influence of milk production records on the estimation of typical and extended curve lactation parameters in local goats under grazing management. *Indian Journal of Animal Sciences* 90 (4): 634–646.
- Tyasi TL, Ngámbe J, Mogashoa S. 2022. Breeding practices and trait preferences of goat keepers al Lepelle-Nkumpi local municipality, South Africa: Implication for the design of breeding programmes. *Tropical Animal Health and Production* 54: 68. <https://doi.org/10.1007/s11250-022-03078-x>

COMPOSICIÓN CORPORAL EN FUNCIÓN DEL COLOR DE CAPA, SEXO Y EDAD EN CABRITOS LOCALES DEL NORTE DE MÉXICO

Jorge Alonso **Maldonado-Jáquez**^{1,2}, Pablo **Arenas-Báez**³, Jonathan Raúl **Garay-Martínez**⁴, Lorenzo Danilo **Granados-Rivera**^{5*}

¹ Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo. Montecillo, Estado de México, México. C. P. 56230.

² Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental La Laguna. Matamoros, Coahuila, México. C. P. 27440.

³ Universidad Autónoma Chapingo. Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas. Bermejillo, Durango, México. C. P. 35230.

⁴ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Las Huastecas. Estación Cuauhtémoc, Tamaulipas, México. C. P. 88339

⁵ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental General Terán. Nuevo León, México. C. P. 67400.

* Autor para correspondencia: granados.danilo@inifap.gob.mx

RESUMEN

El objetivo fue evaluar el efecto del color de capa, sexo y edad sobre la composición corporal en cabritos locales del norte de México. Se eligieron 83 cabritos locales de entre 1 y 30 días de edad. Se asignaron a grupos de acuerdo con el color de capa (oscuro y claro), sexo (machos y hembras) y según su edad (1=1 a 10; 2=11 a 20 y 3=21 a 30 días). Se evaluó la pigmentación de piel, pezuñas, mucosas, características morfoestructurales, peso vivo y 14 medidas zoométricas. Se encontró un fenotipo predominante de animales sin mamelas, barba, sin pigmento en la piel y pezuñas, con cuernos, orejas horizontales y mucosas pigmentadas. Se encontraron los mayores valores ($p < 0.05$) en cabritos oscuros para peso vivo (PV), largo y ancho de cuello (LCue, ACue), circunferencia de pecho (CPe) y profundidad de flanco (PFI). En cabritos claros se observó el mayor valor ($p < 0.05$) en longitud de oreja (LO). Al considerar el sexo, los mayores valores ($p < 0.05$) se encontraron en machos en todas las variables, excepto, largo y ancho de cara (LCa, ACa) y ancho de orejas (AO), altura a la cruz (ACruz), PFI y altura sacrolumbar (ASL), mismas que no fueron diferentes ($p > 0.05$). Al considerar edad, los mayores valores se encontraron en todas las variables en favor del grupo 3. Todas las variables se correlacionaron de manera positiva y significativa. Las variables que presentan mayor magnitud de cambio en los primeros 20 días de edad son PV (+40 %), LCa, LCor, CPe (+15 %) y LCue, ACruz, PFI, longitud de pierna (+10 %), mientras que entre 20 y 30 días de edad la magnitud del cambio disminuye de manera general. Se concluye que el color de capa, sexo y edad influyen en forma significativa en la composición corporal de cabritos locales del norte de México, lo cual puede tener implicaciones en la selección y comercialización de los mismos.

Palabras clave: Perfil biométrico, fenotipo, cabras, zonas áridas.

Citation: Maldonado-Jáquez JA, Arenas-Báez P, Garay-Martínez JR, Granados-Rivera LD. 2023. Composición morfoestructural en función del color de capa, sexo y edad en cabritos locales del norte de México.

Agrociencia 57(4): 700-721. doi.org/10.47163/agrociencia.v57i4.2916

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: November 14, 2022.
Approved: May 01, 2023.

Published in Agrociencia:
June 07, 2023.

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



INTRODUCCIÓN

En países en desarrollo es común que la producción de caprinos se realice a través de sistemas de producción de subsistencia, en áreas rurales con baja productividad y ligados al aprovechamiento de poblaciones de caprinos locales (Torres-Hernández *et al.*, 2022). Dichas poblaciones son un importante reservorio de diversidad genética; por lo que es necesario su conservación a través de programas de desarrollo y manejo que incrementen la productividad en forma sostenible. Sin embargo, la falta de información sobre las características de la población puede llevar a la subutilización y pérdida de este valioso recurso genético (Sevane *et al.*, 2018; Bedada *et al.*, 2019).

Al respecto, en los últimos años se ha incrementado el interés por estudiar estas razas adaptadas a sistemas de bajos ingresos, sobre todo, respecto a características biométricas y fanerópticas (Adenaike *et al.*, 2020). Algunos esfuerzos se han orientado en la selección de animales con base en el color de capa, debido a que es un carácter de fácil reconocimiento. Además, de acuerdo con la literatura tiene efecto sobre el comportamiento productivo (Akis *et al.*, 2012). Sin embargo, en caprinos criollos o locales, la información disponible en este tópico aún es escasa, debido a que esta característica no puede medirse con base en una escala (Tyasi *et al.*, 2022; Becerril *et al.*, 1996). No obstante, la evidencia sugiere que se relaciona de manera directa con la eficiencia productiva (Fonseca *et al.*, 2016) y, por lo tanto, el estudio de esta característica se hace necesario, sobre todo, en estos sistemas de subsistencia, donde la disponibilidad de información productiva de los rebaños es una limitante seria (Moyao-Ariza *et al.*, 2022, Torres-Hernández *et al.*, 2020). Por lo anterior, el objetivo del estudio fue evaluar el efecto del color de capa y sexo sobre la composición corporal, así como la magnitud de los cambios en el desarrollo corporal cuando se considera la edad en cabritos locales lactantes del norte de México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Todos los métodos y manejo de animales utilizados en el estudio estuvieron apegados a los lineamientos para el uso ético, cuidado y bienestar de animales utilizados en investigación de acuerdo con normas internacionales (FASS, 2010), Nacionales (NAM, 2002) e institucionales, a través del proyecto “Opciones tecnológicas para mejorar la productividad del sistema extensivo caprino en el Norte de México” financiado por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.

El estudio se realizó en la región lagunera, en la porción que comprende al estado de Coahuila, México. Esta área se ubica entre las coordenadas 24° 22' Latitud Norte, y 102° 22' de Longitud Oeste, con una altitud media de 1139 m y clima desértico, semi-cálido con invierno fresco y precipitación media de 240 mm (García, 1988).

Se eligieron 83 cabritos locales lactantes (42 machos y 41 hembras) nacidos entre los meses de enero y febrero de 2022, con una edad entre 1 y 30 días, provenientes de un núcleo de 205 vientres caprinos manejados bajo un esquema de pastoreo extensivo. Este manejo consideró la separación de los cabritos de sus madres durante el pastoreo por un lapso de 9 h d⁻¹ aproximadamente. Una vez que las cabras regresaron al corral

de descanso, los cabritos se colocaron junto a sus madres para amamantarse. Durante el día los cabritos tuvieron acceso a agua *ad libitum*.

Los cabritos fueron asignados a dos grupos de acuerdo con el color de capa y sexo (oscuro [n=33; cuando más del 50 % de la capa fuera de color oscuro-negro, café, chamoise]; claro [n= 50; cuando más del 50 % de la capa fuera de color claro-blanco, crema, gris]) y a tres grupos según edad [1(n=32): de 1 a 10; 2(n=29) 11 a 20 y 3(n=22): 21 a 30 días de edad].

Se consideró la pigmentación de piel, pezuñas y mucosas y características morfoestructurales como orientación de orejas, presencia de mamellas, barba y cuernos, además de peso vivo (PV) y 14 mediciones zoométricas. Todas las medidas se registraron con cinta métrica suave (Selanusa, México). PV fue tomado en ayunas con una báscula electrónica colgante con capacidad de 45 kg±5 g (Metrology, Nuevo León, México). Las medidas zoométricas fueron (Figura 1): longitud de cara (L_{Ca}-1), ancho de cara (A_{Ca}-2), longitud de orejas (L_O-3), ancho de orejas (A_O-4), longitud de cuello (L_{Cu}-5), ancho de cuello (A_{Cu}-6), longitud corporal (L_{Cor}-7), altura a la cruz (A_{Cruz}-8), circunferencia de pecho (C_{Pe}-9), circunferencia de barril (C_{Ba}-10), profundidad de flanco (P_{Fl}-11), altura sacrolumbar (A_{SL}-12), longitud de pierna (L_{Pi}-13), perímetro de caña (P_{Cn}-14) (Moyao-Ariza *et al.*, 2022).

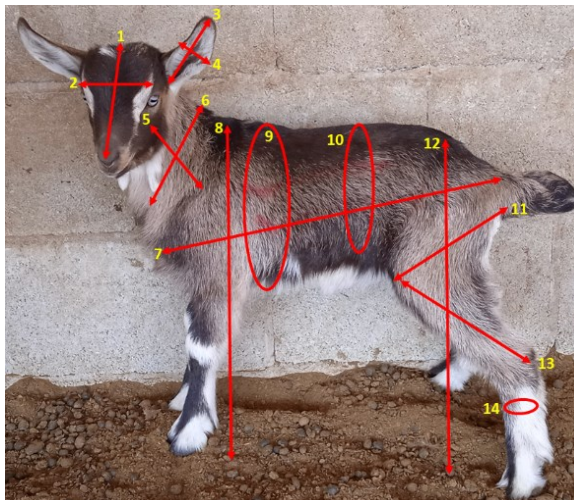


Figura 1. Variables zoométricas consideradas para evaluar la composición morfoestructural en cabritos locales lactantes del norte de México.

Se analizó la magnitud del desarrollo que presentan los animales en los diferentes grupos de edad, es decir, se cuantificó el desarrollo que presentan cada pieza anatómica del animal, pues estas no tienen la misma velocidad de crecimiento, por ello, se propone este análisis para identificar puntos críticos de crecimiento en cabritos en desarrollo. Este análisis cuantifica el cambio que existe en las medidas zoométricas de cabritos de cada grupo de edad y se expresa en porcentaje.

El análisis estadístico se realizó utilizando el paquete estadístico SAS v.9.4. (2008) Se obtuvieron estadísticas descriptivas e inferenciales para los rasgos cualitativos. Para los rasgos cuantitativos, se utilizó un modelo de efectos fijos, con un diseño completamente al azar, con el procedimiento GLM y se realizó un análisis de correlación de Pearson, para conocer el grado de asociación entre variables.

La estructura del modelo fue:

$$Y_{ijkl} = \mu + CP_i + S_j + E_k + CP_i * S_j * E_k + E_{ijkl}$$

Dónde: Y_{ijkl} : peso o medida zoométrica considerada; μ : constante que caracteriza a la población; CP_i : efecto fijo del i-ésimo color de capa ($i=1,2$), S_j : efecto fijo del j-ésimo sexo de los cabritos ($j = 1,2$), E_k : Efecto fijo de la k-esima edad del cabrito ($k = 1,2,3$); $CP_i * S_j * E_k$: Efecto de las interacciones dobles o triples; E_{ijkl} : error aleatorio, el cual se supuso normalmente distribuido con media cero y varianza común.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El Cuadro 1 muestra las frecuencias absolutas y relativas para características morfoestructurales y fanerópticas. Se encontró un fenotipo predominante de animales sin mamelas, barba, sin pigmento en la piel y pezuñas, con cuernos, orejas horizontales y mucosas pigmentadas. Los resultados encontrados son similares a los reportados por Sheriff *et al.* (2021), para cabritos Arab y Oromo respecto de características morfoestructurales. Asimismo, la diversidad observada es considerada como “Mosaico Lagunero”, el cual es un fenotipo no definido, característico en animales cruzados (Amills *et al.*, 2017; Moyao-Ariza *et al.*, 2022).

Cuadro 1. Frecuencias absolutas (FA) y relativas (FR) para características fanerópticas y morfoestructurales en cabritos locales lactantes del norte de México.

Variable	FA	FR	Variable	FA	FR	Variable	FA	FR
Mamelas			Barba			Cuernos		
Presente	25	0.30	Presente	0	0.00	Presente	71	0.86
Ausente	58	0.70	Ausente	83	100.00	Ausente	12	0.14
Piel			Pigmentación en: Pezuñas			Mucosas		
Presente	30	0.36	Presente	33	0.40	Presente	50	0.60
Ausente	53	0.64	Ausente	50	0.60	Ausente	33	0.40
Orientación de orejas								
Horizontal	39	0.47						
Colgantes	19	0.23						
Erectas	25	0.30						

Respecto a la composición morfoestructural debida al color de la capa (Cuadro 2), los mayores valores ($p < 0.05$) se encontraron en cabritos oscuros para las variables PV, LCue, ACue, CPe y PFI; mientras que para cabritos claros solo se encontraron diferencias ($p < 0.05$) en LO. El resto de las variables consideradas, no mostraron diferencias debidas al color de la capa ($p > 0.05$). Nuestros resultados pudieran sugerir origen europeo de los animales de esta población (Lanari *et al.*, 2019), sin embargo, esto no es concluyente. Por otra parte, los resultados obtenidos coinciden con los encontrados por Mia *et al.* (2018) y Choudhury *et al.* (2012), quienes señalan que animales oscuros son significativamente más grandes en la población de cabras negras bengalíes. Así mismo, Daramola y Adeloje (2008) y Getachew *et al.* (2020), concluyeron que animales oscuros crecen más rápido y presentan mayores ganancias de peso en comparación con los animales de colores claros. Esta información es interesante, ya que, a partir de las conclusiones y hallazgos obtenidos, se pueden desarrollar criterios de selección específicos, tal como se ha encontrado en especies como camélidos, que rigen la selección con base en el color de capa, debido a que se ha observado un efecto de mayor jerarquía en animales de colores oscuros (Iglesias- Pastrana *et al.*, 2021).

Table 2. Mean \pm standard error for zoometric characteristics according to coat color in local lactating kids from northern Mexico.

Variable	Oscuros	Claros	C.V.	Valor de p
Peso vivo (kg)	5.598 \pm 0.26	5.185 \pm 0.24	15.40	<0.0001
Longitud de cara (cm)	10.75 \pm 0.23	10.71 \pm 0.28	12.37	0.5801
Ancho de cara (cm)	6.97 \pm 0.17	6.87 \pm 0.24	20.17	0.8189
Longitud de oreja (cm)	10.14 \pm 0.31	11.04 \pm 0.24	14.02	0.0005
Ancho de oreja (cm)	4.91 \pm 0.09	5.04 \pm 0.09	10.82	0.3382
Longitud de cuello (cm)	20.29 \pm 0.43	19.23 \pm 0.46	9.79	0.0159
Ancho de cuello (cm)	19.83 \pm 0.33	18.79 \pm 0.31	7.23	0.0417
Longitud corporal (cm)	38.58 \pm 0.78	38.00 \pm 0.80	9.66	0.5086
Altura a la cruz (cm)	40.11 \pm 0.59	38.01 \pm 0.87	13.13	0.5569
Circunferencia de pecho (cm)	39.12 \pm 0.70	37.26 \pm 0.73	6.36	0.0461
Circunferencia de barril (cm)	38.56 \pm 0.87	37.53 \pm 0.82	10.36	0.9966
Profundidad de flanco (cm)	15.09 \pm 0.49	13.86 \pm 0.37	15.16	0.0427
Altura Sacro-Lumbar (cm)	39.94 \pm 0.55	38.88 \pm 0.60	7.45	0.8954
Longitud de pierna (cm)	17.43 \pm 0.29	16.83 \pm 0.33	7.95	0.3954
Perímetro de caña (cm)	6.36 \pm 0.07	6.28 \pm 0.10	7.46	0.7700

Por otra parte, al considerar el sexo de los cabritos (Cuadro 3), los mayores valores ($p < 0.05$) se encontraron en machos para las variables PV, LCue, ACue, LCor, CPe y LPi. El resto de las variables evaluadas no fueron diferentes ($p > 0.05$). En este sentido, los resultados obtenidos fueron acordes a lo esperado, y esto se puede explicar por el hecho de que la hormona del crecimiento influye para un mayor desarrollo en machos (Patel *et al.*, 2019). Al respecto, Baenyi *et al.* (2020) y Akkol (2018), reportan diferencias

Cuadro 3. Media \pm error estándar para características zoométricas, según sexo en cabritos locales lactantes del norte de México.

Variable	Machos	Hembras	C.V.	p-Valor
Peso vivo (kg)	5.773 \pm 0.23	4.916 \pm 0.25	15.40	0.0095
Longitud de cara (cm)	10.74 \pm 0.19	10.72 \pm 0.33	12.37	0.6751
Ancho de cara (cm)	6.89 \pm 0.13	6.92 \pm 0.20	20.17	0.9576
Longitud de oreja (cm)	10.67 \pm 0.24	10.70 \pm 0.31	14.02	0.7087
Ancho de oreja (cm)	4.91 \pm 0.07	5.06 \pm 0.11	10.82	0.0560
Longitud de cuello (cm)	20.21 \pm 0.45	18.97 \pm 0.46	9.79	0.0443
Ancho de cuello (cm)	19.96 \pm 0.31	18.43 \pm 0.3	7.23	0.0488
Longitud corporal (cm)	39.23 \pm 0.78	37.21 \pm 0.8	9.66	0.0369
Altura a la cruz (cm)	39.25 \pm 1.03	38.43 \pm 0.54	13.13	0.5805
Circunferencia de pecho (cm)	38.84 \pm 0.78	37.14 \pm 0.70	6.36	0.0405
Circunferencia de barril (cm)	39.07 \pm 0.90	36.79 \pm 0.78	10.36	0.5831
Profundidad de flanco (cm)	14.69 \pm 0.42	13.99 \pm 0.43	15.16	0.5043
Altura Sacro-Lumbar (cm)	39.94 \pm 0.60	38.88 \pm 0.57	7.45	0.3330
Longitud de pierna (cm)	17.49 \pm 0.3	16.64 \pm 0.33	7.95	0.0450
Perímetro de caña (cm)	6.54 \pm 0.09	6.11 \pm 0.08	7.46	0.1014

entre género, y donde, en general, los machos mostraron un mejor desarrollo corporal en comparación con las hembras.

Respecto a la edad de los cabritos, los resultados coincidieron con la expectativa de que a mayor edad mayor valor en las variables morfoestructurales (Cuadro 4). Se encontró

Cuadro 4. Media \pm desviación estándar y magnitud del desarrollo (%) entre grupos de edad para características zoométricas, según grupo de edad en cabritos locales del norte de México.

Variable	Grupo de edad				p-Valor	
	1	Magnitud (%)	2	Magnitud (%)		3
Peso vivo (kg)	2.802 \pm 0.13c	40.8	4.730 \pm 0.13b	25.5	6.346 \pm 0.13a	<0.001
Longitud de cara (cm)	8.55 \pm 0.23b	18.6	10.51 \pm 0.24a	8.4	11.48 \pm 0.21a	<0.0001
Ancho de cara (cm)	6.00 \pm 0.15b	8.8	6.58 \pm 0.13ab	9.9	7.30 \pm 0.23a	0.0154
Longitud de oreja (cm)	9.31 \pm 0.46b	6.8	9.99 \pm 0.28b	11.8	11.33 \pm 0.23a	<0.0001
Ancho de oreja (cm)	4.57 \pm 0.16b	7.1	4.92 \pm 0.10ab	4.5	5.15 \pm 0.08a	0.0018
Longitud de cuello (cm)	15.06 \pm 0.33b	23.7	19.74 \pm 0.44a	6.3	21.06 \pm 0.30a	<0.0001
Ancho de cuello (cm)	16.71 \pm 0.51c	7.3	18.02 \pm 0.28b	11.5	20.36 \pm 0.20a	<0.0001
Longitud corporal (cm)	30.98 \pm 0.69b	18.8	38.13 \pm 0.70a	5.9	40.53 \pm 0.58a	<0.0001
Altura a la cruz (cm)	34.66 \pm 0.62b	10.2	38.60 \pm 0.47a	4.1	40.23 \pm 0.84a	0.0056
Circunferencia de pecho (cm)	30.38 \pm 0.78c	16.6	36.41 \pm 0.46b	10.9	40.88 \pm 0.35a	<0.0001
Circunferencia de barril (cm)	31.66 \pm 0.82c	9.7	35.08 \pm 0.55b	14.0	40.81 \pm 0.60a	<0.0001
Profundidad de flanco (cm)	11.56 \pm 0.26b	11.3	13.04 \pm 0.39b	16.6	15.63 \pm 0.35a	<0.0001
Altura Sacro-Lumbar (cm)	35.40 \pm 0.61b	3.6	36.73 \pm 0.14b	11.2	41.34 \pm 0.44a	<0.0001
Longitud de pierna (cm)	14.13 \pm 0.24c	13.6	16.36 \pm 0.13b	10.2	18.22 \pm 0.20a	<0.0001
Perímetro de caña (cm)	5.99 \pm 0.13b	0.2	6.00 \pm 0.21b	8.3	6.54 \pm 0.07a	0.0003

que los animales del grupo 3, presentaron los mayores valores ($p < 0.05$) en todas las variables consideradas, aunque sin diferencia con algunas variables en animales del grupo 2, mientras que los animales del grupo 1, presentaron los menores valores en todas las variables consideradas. Esto coincide con el reporte de Akbar *et al.* (2021), quienes señalan que todas las medidas corporales se correlacionan positivamente respecto de la edad, es decir, las medidas corporales serán mayores en animales de mayor edad hasta llegar a edad y peso maduros, que es cuando el crecimiento cesa. Del mismo modo, Akpa *et al.* (2013), encontraron que la edad influye significativamente en el peso y la conformación corporal. Por lo anterior, se ha sugerido que la investigación se centre en evaluar la relación entre el peso y las medidas corporales a diferentes edades (Assan, 2015), con la finalidad de identificar puntos críticos de atención en el desarrollo de los animales (Gómez-Osorio *et al.*, 2017).

Así mismo, la magnitud del cambio en el desarrollo corporal para cada una de las medidas morfoestructurales es mayor (superior al 10 % y hasta en 40 %) durante los primeros 20 días para las variables PV, LCa, LCue, LCor, ACruz, CPe, PFL y LPi. Mientras que después de los 20 días de edad, la magnitud del cambio en la estructura del desarrollo corporal disminuye y el mayor desarrollo se observa en variables como PV, LO, ACue, CPe, CBa, PFL, ASL y LPi. Además, durante los primeros 20 días de edad, la magnitud del cambio en las medidas corporales en promedio se encuentra en el rango del 11 al 13 %, mientras que al pasar de los 20 días y hasta los 30 días de edad este cambio disminuye de 9.5 a 10.5 %. Lo cual, se hace más evidente en el peso corporal, ya que disminuye de 41 % al 26 %. Esta información coincide parcialmente con el reporte de Aktas *et al.* (2015), quienes describen que la mayor tasa de crecimiento en cabritos Turkos indígenas de pelo y Honamli se encuentran entre los 20-40 y 60-60 días. Estos hallazgos son sumamente interesantes, pues a partir de la identificación de periodos de crecimiento críticos, se pueden desarrollar e implementar estrategias de manejo alimenticio que optimicen la productividad (Omotosho *et al.*, 2020). Así mismo, a medida que crece el animal se transforma, sus proporciones se modifican, tanto su conformación interior como exterior. Estas transformaciones que ocurren en un animal, considerado en conjunto, resultan del desarrollo simultáneo de todas sus partes, pero en proporciones que individualmente varían. Al respecto, Hammond (1960) estableció que los diferentes órganos, tejidos y piezas anatómicas del animal, no tienen la misma velocidad de crecimiento en un momento dado, por ello, cada individuo presenta una velocidad de crecimiento característica según la edad y en un orden definido. Es decir, los nutrientes absorbidos durante la digestión no se distribuyen uniformemente, sino que se reparten siguiendo un régimen de estrictas prioridades y donde los distintos tejidos alcanzan su máxima velocidad de crecimiento de acuerdo al siguiente orden: nervioso, óseo, muscular y graso (Ayala-Vargas, 2018).

Finalmente, el Cuadro 5 muestra la matriz de correlaciones fenotípicas para características corporales en cabritos locales lactantes. Al respecto, se encontró que todas las variables se correlacionan de manera positiva y significativa, con excepción de las variables ACruz que correlaciona no significativamente con LO y AO, PFL con AO y

Cuadro 5. Matriz de correlaciones fenotípicas para variables morfoestructurales en cabritos locales lactantes del norte de México.

	Peso	LCa	ACa	LO	AO	LCu	ACu	LCor	ACruz	CPe	CBa	PFl	ASL	LPi	PCn
Peso	1.000														
LCa	0.6333 ***	1.000													
ACa	0.4178 ***	0.6203 ***	1.000												
LO	0.4786 ***	0.4416 ***	0.2941 **	1.000											
AO	0.4517 ***	0.4796 ***	0.2840 **	0.6579 ***	1.000										
LCu	0.7376 ***	0.5345 ***	0.2993 **	0.3678 **	0.3453 ***	1.000									
ACu	0.7581 ***	0.6150 ***	0.2809 *	0.3813 **	0.2924 **	0.5156 ***	1.000								
LCor	0.8013 ***	0.5800 ***	0.2501 *	0.4089 ***	0.5549 ***	0.5045 ***	0.6351 ***	1.000							
ACruz	0.5068 ***	0.3154 **	0.2203 *	0.1242 NS	0.1880 NS	0.4325 ***	0.3557 **	0.3407 ***	1.000						
CPe	0.9248 ***	0.6783 ***	0.4431 ***	0.3886 ***	0.4065 ***	0.6699 ***	0.7679 ***	0.7525 ***	0.4944 ***	1.000					
CBa	0.8144 ***	0.6445 ***	0.4297 ***	0.4051 ***	0.3794 ***	0.4296 ***	0.7594 ***	0.6872 ***	0.4317 ***	0.8508 ***	1.000				
PFl	0.6887 ***	0.4839 ***	0.3420 **	0.3203 **	0.1815 NS	0.4497 ***	0.6686 ***	0.4954 ***	0.4740 ***	0.7022 ***	0.7109 ***	1.000			
ASL	0.7450 ***	0.5009 ***	0.3420 **	0.3057 ***	0.3685 ***	0.5556 ***	0.5915 ***	0.5794 ***	0.5733 ***	0.7017 ***	0.6981 ***	0.6558 ***	1.000		
LPi	0.7840 ***	0.5169 ***	0.3259 **	0.3890 ***	0.2683 *	0.6793 ***	0.6004 ***	0.5981 ***	0.4130 ***	0.7637 ***	0.5842 ***	0.6119 ***	0.6504 ***	1.000	
PCn	0.5724 ***	0.2875 **	0.1374 NS	0.3753 ***	0.3199 ***	0.2897 **	0.6161 ***	0.4574 ***	0.2251 *	0.5095 ***	0.6117 ***	0.4721 ***	0.4774 ***	0.4519 ***	1.000

NS= No significativo; * $p < 0.05$; ** $p < 0.001$; *** $p < 0.0001$; LCa= longitud cara; Aca= ancho cara; LO= longitud oreja; AO= ancho oreja; LCu= longitud cuello; ACu= ancho cuello; LCor= longitud corporal; ACruz= altura a la cruz; CPe= circunferencia pecho; CBa= Circunferencia barril; PFl= profundidad flanco; ASL= altura sacro-lumbar; LPi= longitud pierna; PCn= perímetro caña.

PCn con Aca. Estos resultados demuestran que estos animales en sus primeros días de desarrollo, tienen un crecimiento positivo superior al 12 % en todos los componentes morfoestructurales y sin considerar el peso vivo. Estos resultados coinciden con los reportes de Okpeku *et al.* (2011) y Akkol (2018), quienes indican que los coeficientes de correlación son positivos entre peso vivo y todas las medidas corporales, en particular, cuando se relaciona PV con variables como ACruz, LCor, LCue, CPe en cabras Red Sokoto, West African Dwarf y cabras de pelo.

CONCLUSIONES

Se encontró un importante efecto del color de capa, sexo y edad en la composición corporal, el cual está directamente relacionado con un mejor desarrollo corporal. Por

lo que esta información podría utilizarse como base para la implementación de esquemas de selección de reemplazos, para establecer esquemas de manejo alimenticio para optimizar la producción de cabrito, o bien para investigar estrategias de mejora genética a edades tempranas.

Estos resultados son relevantes debido a que pueden tener implicaciones prácticas en el desarrollo de criterios de selección para animales de reemplazo y criterios específicos para la comercialización de cabritos para plato, pudiendo con ello negociar un mejor precio para el productor. Sin embargo, estudios más detallados deben conducirse para encontrar si este mejor desarrollo es efectivamente atribuible a estas variables o bien a factores genéticos o medioambientales.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para la realización de estudios de doctorado. Así como a los productores de ganado caprino de la Comarca Lagunera por la información proporcionada.

REFERENCIAS

- Adenaike AS, Jegede O, Bello-Ibiyeni AA, Ikeobi CON. 2020. Multifunctional discriminant analysis of morphostructural traits in Nigerian locally adapted turkeys. *Agricultura Tropica et Subtropica* 53 (2): 57–62. <https://doi.org/10.2478/ats-2020-0006>
- Akbar MA, Javed K, Faraz, Waheed A. 2021. Principal component analysis of morphometric traits explains the morphological structure of Thalli sheep. *Pakistan Journal of Zoology* 54 (1): 207–212. <https://dx.doi.org/10.17582/journal.pjz/20200220060257>
- Akis I, Oztabak K, Gursel FE, Un C. 2012. Goat Agouti gene polymorphism and its association with coat color in indigenous Turkish goat breeds. *Veterinarija Ir Zootechnika* 60 (82): 3–6.
- Akkol S. 2018. The prediction of live weight of hair goats through penalized regression methods: LASSO and Adaptive LASSO. *Archives Animal Breeding* 61: 451–458. <https://doi.org/10.5194/aab-61-451-2018>
- Akpa GN, Ambali AI, Suleiman IO. 2013. Body conformation, testicular and semen characteristics as influenced by age, hair type, and body condition of Red Sokoto goat. *New York Science Journal* 6 (7): 44–58.
- Aktas AH, Gök B, Ates S, Tekin ME, Halici I, Bas H, Erduran H, Kassam S. 2015. Fattening performance and carcass characteristics of Turkish indigenous Hair and Honamli goat male kids. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 39: 643–653. <https://dx.doi.org/10.3906/vet-1505-84>
- Amills M, Capote J, Tosser-Kloop G. 2017. Goat domestication and breeding: A jigsaw of historical, biological and molecular data with missing pieces. *Animal Genetics* 48 (6): 631–644. <https://doi.org/10.1111/age.12598>
- Assan N. 2015. Prospects for utilization of the relationship between zoometrical measurements and performance traits for poultry and livestock genetic improvement in developing countries. *Scientific Journal of Animal Science* 4 (11): 124–132. <https://doi.org/10.14196/SJAS.V4I11.2020>
- Ayala-Vargas C. 2018. Crecimiento y desarrollo de los mamíferos domésticos. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales* 5: 34–42.
- Baenyi SP, Birindwa AB, Mutwedu VB, Mugumaarhahama Y, Munga A, Mitima B, Kamgang VW, Ayagiwe RB. 2020. Effects of coat color pattern and sex on physiological traits and heat tolerance of indigenous goats exposed to solar radiation. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology* 8: 142–151. <http://dx.doi.org/10.31893/jabb.20017>

- Becerril CM, Wilcox CJ, Guerrero VM. 1996. Holstein White coat color and performance: Phenotypic, genetic and environmental correlations. *Brazilian Journal of Genetics* 19 (4): 587–591. <https://doi.org/10.1590/S0100-84551996000400009>
- Bedada ZE, Gilo BN, Debela GT. 2019. Morphometric and physical characterization of Borana indigenous goats in Southern Oromia, Ethiopia. *Universal Journal of Agricultural Research* 7(1): 25–31. <https://doi.org/10.13189/ujar.2019.070104>
- Choudhury MP, Sarker SC, Islam F, Bhuiyan AKFH, Ibrahim MNM, Okeyo AM. 2012. Morphometry and performance of Black Bengal goats at the rural community level in Bangladesh. *Bangladesh Journal of Animal Science* 41 (2): 83–89. <https://doi.org/10.3329/bjas.v41i2.14122>
- Daramola JO, Adeloye AA. 2008. Physiological adaptation to the humid tropics with special reference to the West African Dwarf (WAD) goat. *Tropical Animal Health and Production* 41: 1005–1016. <https://doi.org/10.1007/s11250-008-9267-6>
- FASS (Federation of Animal Science Societies). 2010. Guide for the care and use of agricultural animal an agricultural research and leaching 3rd. ed. Champaign, IL, USA.
- Fonseca WJL, Azevedo DMMR, Campelo JEG, Fonseca WL, Luz CSM, Oliveira MRA, Evangelista AF, Borges LS, Sousa-Junior SC. 2016. Effect of heat stress on milk production of goats from Alpine and Saanen breeds in Brazil. *Archivos de Zootecnia* 65 (252): 615–621.
- García E. 2004. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. Quinta edición. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México. 217 p.
- Getachew T, Abebe A, Gizaw S, Rischkowsky B, Bisrat A, Haile A. 2020. Coat color alterations over the years and their association with growth performance in the Menz sheep central nucleus and community-based breeding programs. *Tropical Animal Health and Production* 52 (6): 2997–2985. <https://doi.org/10.1007/s11250-020-02315-5>
- Gómez-Osorio LM, Posada-Ochoa SL, Olivera-Ángel M, Rosero-Noguera R, Aguirre-Martínez P. 2017. Análisis de la rentabilidad de la producción de leche de acuerdo con la variación de la Fuente de carbohidrato utilizada en el suplemento de vacas Holstein. *Revista de Medicina Veterinaria* 34: 9–22. <http://dx.doi.org/10.19052/mv.4251>
- Hammond J. 1960. The breeding and feeding of animals for human food. *Royal Society of Health Journal* 80 (2): 105–108. <https://doi.org/10.1177/146642406008000222>
- Iglesias-Pastrana C, Navas-González FJ, Ciani E, Arbulu AA, Delgado-Bermejo JV. 2021. The youngest, the heaviest and/or the darkest? Selection potentialities and determinants of leadership in Canarian Dromedary camels. *Animals*. 11: 2886. <https://doi.org/10.3390/ani11102886>
- Lanari MR, Giovannini N, Maizon DO, Bedotti DO, de la Rosa-Carbajal SA, Vera TA, Ricarte RA, Mezzadra CA. 2019. Diversidad de razas caprinas criollas en Argentina. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal* 13: 28–40.
- Mia MM, Mondal AK, Chowdhury MSR, Mia MM. 2018. A study on productive and reproductive performance of Black Bengal goat in relation to coat colors. *Journal of Sylhet Agricultural University* 5 (2): 121–125.
- Moyao-Ariza F, Maldonado-Jáquez JA, Granados-Rivera LD, Martínez-Rojero RD, Torres-Hernández G, Domínguez-Martínez PA, Bautista-Martínez Y, Sánchez-Gutiérrez RA. 2022. Variabilidad morfoestructural, zoométrica y faneróptica de machos cabríos locales del norte de México. *ITEA- Información Técnica Económica y Agraria* 118 (3): 361–376. <https://doi.org/10.12706/itea.2021.030>
- NAM (National Academy of Medicine). 2011. Guide for the care and use of laboratory animals. Co-produced by the National Academy of Medicine-Mexico and the Association for assessment and accreditation of laboratory animal care international. Harlan: México, D. F. 350 p.
- Okpeku M, Yakubu A, Peters SO, Ozoje MO, Okeobi CON, Adebambo OA, Imumrin IG. 2011. Application of multivariate principal component analysis to morphological characterization of indigenous goats in Southern Nigeria. *Acta Agriculturae Slovenica* 98: 101–109. <https://doi.org/10.2478/v10014-011-0026-4>

- Omotosho BO, Bemji MN, Bamisile K, Ozoje MO, Oluwarosin BO, Sowande OS, Wheto M, James IJ, Lawal AM, Osinowo OA. 2020. Comparative study of growth patterns of Kalahari red goats and west African dwarf goats reared in Southwest Nigeria. *Nigerian Journal of Animal Production* 47 (5): 213–226. <https://doi.org/10.51791/njap.v47i5.1334>
- Patel JV, Srivastava AK, Chauhan HD, Gupta JP, Gami YM, Patel VK, Madhavatar MP, Thakkar NK. 2019. Factor affecting birth weight of Mehsana goat kid at organized farm. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 8 (3): 1963–1967. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.803.000>
- Sevane N, Cortés O, Gama LT, Martínez A, Zaragoza P, Amills M, Bedotti DO, Bruno de Sousa C, Cañon J, Dunner S, Ginja C, Lanari MR, Landi V, Sponenberg P, Delgado JV, BioGoat Consortium. 2018. Dissection of ancestral genetic contributions to Creole goat populations. *Animal* 12 (10): 2017–2026. <https://doi.org/10.1017/s1751731117003627>
- Sheriff O, Alemayehu K, Haile A. 2021. Morphological characterization of Arab and Oromo goats in northwestern Ethiopia. *Agriculture and Food Security* 10: 49. <https://doi.org/10.1186/s40066-021-00322-9>
- Statistical Analysis System (SAS). 2008. *SAS/STAT User's Guide*, Software version 9.4. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Torres-Hernández G, Maldonado-Jáquez JA, Granados-Rivera LD, Wurzinger M, Cruz-Tamayo AA. 2022. Creole goats in Latin America and the Caribbean: a priceless resource to ensure the well-being of rural communities. *International Journal of Agricultural Sustainability* 20 (4): 368–380. <http://dx.doi.org/10.1080/14735903.2021.1933361>
- Torres-Hernández G, Maldonado-Jáquez JA, Salinas-González H, Granados-Rivera LD, Pastor-López FJ, Vaquera-Huerta H, Bautista-Martínez Y. 2020. Influence of milk production records on the estimation of typical and extended curve lactation parameters in local goats under grazing management. *Indian Journal of Animal Sciences* 90 (4): 634–646.
- Tyasi TL, Ngámbi J, Mogashoa S. 2022. Breeding practices and trait preferences of goat keepers at Lepelle-Nkumpi local municipality, South Africa: Implication for the design of breeding programmes. *Tropical Animal Health and Production* 54: 68. <https://doi.org/10.1007/s11250-022-03078-x>

YIELD AND CHEMICAL COMPOSITION OF FORAGE AND SILAGE OF NATIVE MAIZE UNDER IRRIGATED SEMI-ARID CONDITIONS

Fernando Lucio-Ruiz¹, Santiago Joaquín-Cancino¹, Juan Eduardo Godina-Rodríguez¹, Jonathan Raúl Garay-Martínez^{2*}

¹ Universidad Autónoma de Tamaulipas. Facultad de Ingeniería y Ciencias. Cd. Victoria Tamaulipas, Mexico. C. P. 87149.

² Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Las Huastecas. Villa Cuauhtémoc, Altamira, Tamaulipas, Mexico. C. P. 89610.

* Author for correspondence: garay.jonathan@inifap.gob.mx

ABSTRACT

The preservation of native maize allows the selection of genotypes with forage potential in specific regions. The objective of the present study was to evaluate the yield and chemical composition of green forage and silage of 10 native and two commercial maize hybrids with forage potential, under semi-arid conditions with irrigation. Genotypes were grouped according to days to male flowering: early (80 days), intermediate (92 days) and late (111 days). Data were analyzed in a randomized complete block design with four replications (Tukey; $\alpha = 0.05$). Intermediate and late maize had the greatest height, total dry matter yield (TDMY) and number of leaves ($p < 0.05$). Late genotypes showed higher values in cob yield and senescent matter ($p < 0.05$). The genotypes Olotillo \times Tuxpeño and Tuxpeño II outperformed the hybrids 2038DK and P3966WP (3.50 and 9.24 Mg ha⁻¹, respectively) in TDMY (14.32 Mg ha⁻¹, on average). Olotillo \times Tuxpeño and P3966WP presented similar crude protein values in green forage (81 g kg⁻¹; $p > 0.05$). However, when ensiled, the hybrid outperformed native corn by 22 % (92 vs. 75 g kg⁻¹; $p < 0.05$). Late-cycle native maize had the highest cob yields (4.59 Mg ha⁻¹) and after ensiling, the ideal pH (< 3.9) and °Brix (8.5) values. The native genotypes Tuxpeño I, Olotillo \times Ratón, Olotillo \times Tuxpeño and Tuxpeño II could be used in breeding programs to select materials with potential for forage production and conservation.

Keywords: *Zea mays* L., forage conservation, morphological components, °Brix, pH.

INTRODUCTION

In Mexico, the genetic variability of maize (*Zea mays* L.) is a fundamental part of the contribution to future food security. This is due to the variability derived from the selection carried out by farmers, which allows the use of physiological characteristics in genetic improvement programs to obtain the desired objectives (Rivas *et al.*, 2020). In the Altiplano Tamaulipeco there are native maize populations that have been selected by producers, mainly for their adaptation to semiarid conditions and grain yield (González-Martínez *et al.*, 2018).

Citation: Lucio-Ruiz F, Joaquín-Cancino S, Godina-Rodríguez JE, Garay-Martínez JR. 2023. Yield and chemical composition of forage and silage of native maize under irrigated semi-arid conditions. *Agrociencia*. 57(4): 722-743. doi.org/10.47163/agrociencia.v57i4.2918

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: November 14, 2022.
Approved: April 27, 2023.
Published in Agrociencia:
May 31, 2023.

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



About 65 % of maize production is destined for animal feed, and this has various uses: as silage, grain, post-harvest residue and green consumption (Perales *et al.*, 2019). With this crop, green forage yields of up to 55.5 Mg ha⁻¹ are obtained (Granados-Niño *et al.*, 2022), which increases the animal load and consequently improves the productive efficiency per hectare (Sah *et al.*, 2018).

Maize forage should be utilized when a balance is reached between dry matter yield and the highest amount of digestible nutrients, which is when values close to 30 % of dry matter are reached and the grain is ½ and ⅓ in the milk line. Thus, at such stage the highest forage digestibility and amount of soluble carbohydrates are reached (González *et al.*, 2006). When considering these criteria, it has been estimated that contents of 88, 270, 229, 431, 225 and 49 g kg⁻¹ of crude protein, starch, soluble carbohydrates, neutral detergent fiber, acid detergent fiber and ash, respectively, are obtained (Liu *et al.*, 2021). Furthermore, net lactation energy values range from 1.09 to 1.55 Mcal kg⁻¹ of dry matter (Robles-Jimenez *et al.*, 2021).

Improved seeds are currently used for maize forage production, with which grain and forage yields have increased. However, these available genotypes may not thrive in the future as a result of climate change, since a combination of biotic (higher temperature, water deficiency) and abiotic (pest and pathogen attack) factors would significantly reduce production (Malhi *et al.*, 2021). Native maize is a source of germplasm from which genotypes with improved tolerance mechanisms against environmental stressors could be obtained (Robles-Jimenez *et al.*, 2021). Those native genotypes are indeed adapted to the specific environmental conditions prevailing where they are grown and of course with a lower investment. Native maize, under conditions of water deficiency stress, has shown higher forage yields and tolerance to pests compared to hybrids or improved varieties (Godina *et al.*, 2020). Furthermore, native maize is a viable alternative for use as silage because it increases milk production per hectare and per ton of dry matter compared to hybrid maize (Robles-Jimenez *et al.*, 2021). The objective of the present study was to evaluate the yield and chemical composition of green forage and silage of native and hybrid maize with forage potential under semiarid conditions in Tula, Tamaulipas, Mexico.

MATERIALS AND METHODS

Location of the experiment

The study was conducted under irrigated conditions, during the spring-summer cycle in 2017, within the facilities of CBTA 117 “Juan Báez Guerra”, Ejido Tanque Blanco, municipality of Tula, Tamaulipas, Mexico (22° 54' 28.84" N and 99° 47' 40.22" W, at an altitude of 1086 m). The climate is classified as semi-warm dry (BS₀hw), with an average annual temperature of 19.9 ± 7.8 °C and accumulated annual precipitation between 400 and 450 mm (Vargas *et al.*, 2007).

Genetic material

Twelve maize genotypes were evaluated: 10 native and two commercial maize hybrids as controls (Table 1). The native maize was selected from 91 maize populations that González-Martínez *et al.* (2018) collected in the Altiplano Tamaulipeco and classified racially (Table 1). For this study, those genotypes selected had forage characteristics, whose values in plant height, stem thickness, number, length and width of leaves were greater than the average of the 91 populations. Maize genotypes were grouped as early (80 d), intermediate (92 d) and late (111 d) according to the number of days from sowing to male flowering (Muñoz, 2005).

Table 1. Genotype groups and origin of native and hybrid maize (*Zea mays* L.) evaluated in Tula, Tamaulipas, Mexico.

Group	Genotype	Origin (Municipality /Company)
Early (80 DMF)	Tuxpeño Norteño × Celaya	Tula
	Ratón × Olotillo	Jaumave
	Ratón × Tuxpeño	Jaumave
	2038DK	DEKALB®
	Ratón	Tula
	Chalqueño × Tuxpeño P3966W	Palmillas PIONEER®
Intermediate (92 DMF)	Tuxpeño I	Tula
	Olotillo × Ratón	Tula
	Olotillo × Tuxpeño	Jaumave
Late (111 DMF)	Tuxpeño II	Ocampo
	Tuxpeño × Olotillo	Ocampo

DMF: Days to male flowering.

Treatments and experimental design

The 12 maize genotypes were evaluated under a randomized complete block design with four replications per treatment. The experimental plot size was two 5 m long furrows. The row and plant spacing was 0.80 and 0.25 m, respectively.

Crop establishment and management

Land preparation was carried out in accordance with the technological package for corn production in the central and southern zones of the state of Tamaulipas. This consisted of two passes of harrowing and furrowing. Planting was done manually under pre-sowing irrigation conditions (sheet of approximately 0.30 m). Three seeds were deposited per stroke, and at 14 days after sowing (DAS), a thinning was performed leaving one plant to obtain a density of ca. 50,000 plants ha⁻¹ according to the recommendations of the technical agenda for southern Tamaulipas in the planting

of rainfed corn (INIFAP, 2017). At 35 and 70 DAS, two gravity irrigations were applied (sheet of approximately 0.30 m). Weed control was carried out manually. During the evaluation, the presence of fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) was controlled with an application of Chlorantraniliprole 20 % (80 mL ha⁻¹).

Variables evaluated

After 15 days of female flowering, corn grain was at a stage of maturity between $\frac{1}{2}$ and $\frac{2}{3}$ of the milk line and forage was harvested from manually at 20 cm above ground level (Gonzalez *et al.*, 2006). Before harvesting the forage, plant height (PHE; m) was measured from ground level to the flag leaf node on two randomly selected plants in each of the plots and the number of leaves (NL) was counted. In each experimental plot, all forage present in two linear meters (20 cm from the ground) was harvested, weighed and a green forage sample was taken from six plants. The sample was separated into morphological components and dried in a forced air oven at 65 °C to constant weight after 72 h. Each component was weighed before and after drying and subsequently the yield (Mg ha⁻¹) of: leaf (LY), stem (SY), ear (EY) and dead matter (DMY) was calculated; the sum of these was expressed as the total dry matter yield (TDMY) (Elizondo and Boschini, 2002; Joaquín *et al.*, 2022).

For the preparation of the silage, five complete plants were randomly selected in each plot and cut into 1 to 2 cm pieces. Subsequently, the harvested forage was deposited in polyvinyl chloride [PVC (Ø 6" and 40 cm long)] microsilage with a capacity of 7.3 L and a lid at one end (Joaquín *et al.*, 2022). The forage was compacted to eliminate the air present inside the microsilage and was sealed with two layers of polyethylene plastic. The microsilage were placed under cover for 65 days. Subsequently, a silage sample was taken and the chemical composition was determined. For the analysis of chemical composition, the six genotypes with the highest TDMY were selected. In both forage and silage, the following were determined: the content (g kg⁻¹) of crude protein (CP), crude fiber (CF) and ash (AOAC, 2019). For silage characteristics, dry matter content (%), pH and soluble carbohydrates (°Brix) were determined (Bravo-Martins *et al.*, 2006). To determine the percentage of dry matter of the silage, a sample of about 300 g was taken from each microsilage and dried in a forced air oven at 70 °C, for 72 h. To determine the pH of the silage, a 25 g sample of each microsilage was used and deposited in a 500 mL beaker, then 250 mL of distilled water was added and shaken every 2 min for 10 min and the reading was taken using a potentiometer (HI98130, Hanna Instruments®). For soluble carbohydrate content (°Brix), a silage sample was taken, and a drop of liquid was extracted by pressure and deposited in a refractometer (2806, Spectrum Technologies, Inc.).

Statistical Analysis

Data were analyzed by analysis of variance with the GLM procedure of SAS/STAT® (SAS Institute, Inc., 2002) based on a randomized complete block design with four replications. Comparison of treatment means was performed using Tukey's test ($\alpha = 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

Plant height and forage yield

Late (Tuxpeño II and Tuxpeño × Olotillo) and intermediate (Olotillo × Tuxpeño, Tuxpeño I and Olotillo × Ratón) maize genotypes outperformed native early and commercial hybrids by 27 and 63 % in PHE, respectively ($p < 0.05$; Table 2). Heights similar to that of this study (2.21 m) in native genotypes, and greater in comparison with commercial hybrid genotypes have also been reported (Muñoz-Tlahuiz *et al.*,

Table 2. Plant height, dry matter yield and morphological components in native and hybrid maize (*Zea mays* L.) genotypes in Tula, Tamaulipas, Mexico.

Genotype	PHE (m)	NL	TDMY LY SY EY DMY (Mg ha ⁻¹)				
			TDMY	LY	SY	EY	DMY
1 Tux Norteño × Celaya*	1.73 b [†]	10.3 a	5.28 bc	2.15 cd	2.32 c	0.80 f	0.00 d
2 Ratón × Olotillo*	1.82 b	10.5 a	6.65 bc	2.37 c	2.81 c	1.22 e	0.25 ab
3 Ratón × Tux*	1.77 b	9.5 a	6.59 bc	2.07 cd	2.59 c	1.44 de	0.49 a
4 2038DK*	1.28 c	9.5 a	3.50 c	1.38 e	0.98 d	1.12 e	0.02 c
5 Ratón*	1.61 bc	10.3 a	6.39 bc	2.29 c	2.21 c	1.80 d	0.09 c
6 Chalqueño × Tux*	1.62 bc	9.5 a	5.84 bc	1.95 d	1.54 c	2.32 cd	0.03 c
7 P3966WP*	1.38 c	10.3 a	9.24 abc	2.69 c	2.66 c	3.85 bc	0.04 c
8 Tux I**	2.17 a	12.8 a	12.62 ab	3.74 ab	6.87 b	1.85 d	0.17 b
9 Olotillo × Ratón**	2.13 a	11.8 a	10.62 abc	3.01 bc	4.62 d	3.00 c	0.00 d
10 Olotillo × Tux**	2.23 a	11.5 a	16.49 a	4.26 a	7.73 a	4.33 b	0.17 b
11 Tux II***	2.23 a	11.0 a	15.93 a	3.29 b	6.91 b	5.09 a	0.65 a
12 Tux × Olotillo***	2.11 a	12.0 a	12.71 ab	2.85 bc	5.58 c	4.09 bc	0.19 b

*Early, **Intermediate, ***Late. PHE: plant height, NL: number of leaves per plant, TDMY: total dry matter yield, LY: leaf yield, SY: stem yield, EY: cob yield, DMY: senescent matter yield, Tux: Tuxpeño [†]Means with different letters in each column indicate significant statistical difference (Tukey, $\alpha = 0.05$).

2013). These differences can be attributed to the adaptation of these genotypes to the environment where they have developed. Increases in plant height coincide with higher dry matter yield, an important parameter to consider in forage genotypes (Elizondo and Boschini, 2002).

In our study, the native maize genotypes evaluated showed wide variability in TDMY ($p < 0.05$). The most outstanding genotypes were Olotillo × Tuxpeño, Tuxpeño II, Tuxpeño × Olotillo, Tuxpeño I and Olotillo × Ratón, whose values ranged from 9.24 to 16.49 Mg ha⁻¹ (Table 2). In another study in the center of the state of Tamaulipas at an altitude of 193 m, native genotypes presented yields of up to 10.66 Mg ha⁻¹ (Joaquín *et al.*, 2022), 19 % less than the average obtained in this experiment in the southwest of the state. Such response could be attributed to the fact that the genotypes evaluated in both experiments are from the region known as the Altiplano Tamaulipeco, characterized by altitudes higher than 1000 m, and therefore they showed better adaptation and

development in this environment. The commercial hybrid 2038DK showed 75 % less TDMY, which was related to a lower PHE, a characteristic of some improved varieties and hybrids compared to native genotypes (Godina *et al.*, 2020; Joaquín *et al.*, 2022).

Morphological composition

No statistical difference was found among genotypes evaluated for NL ($p > 0.05$), whose values ranged from 9.5 to 12.8 (Table 2). This characteristic is not determined by external environments, so NL must be genetically defined (Rodríguez *et al.*, 2016). The LY was different among the genotypes evaluated ($p < 0.05$), the late corn Olotillo × Tuxpeño and Tuxpeño I presented the highest values of LY ($p > 0.05$); which were 49 and 90 % higher than the commercial hybrids P3966WP and 2038DK, respectively (Table 2). The early-cycle genotypes Ratón × Olotillo, Ratón × Tuxpeño, Tuxpeño Norteño × Celaya, Ratón and Chalqueño × Tuxpeño, presented the lowest SY, with averages of 2.29 Mg ha⁻¹. As plants present late cycles, PHE, LY and SY increase (Sánchez-Hernández *et al.*, 2021). The precocity of the populations is established by the microenvironments to which the populations are exposed. Depending on the altitude, temperature and humidity also vary, which in turn influences the duration of the phenological stages, specifically on days to female flowering (Ortega *et al.*, 2010). Native maize genotypes display higher yields of leaf and stem components compared to hybrid genotypes that exhibit higher leaf-to-stem ratio (Muñoz-Tlahuiz *et al.*, 2013; Godina *et al.*, 2020). This leaf-to-stem ratio determines forage quality, since the higher the leaf-to-stem ratio, the higher the crude protein content in the forage (Amador and Boschini, 2000; Joaquín *et al.*, 2022).

The genotype Tuxpeño II presented the highest EY ($p < 0.05$), which was 32 % higher than the commercial hybrid P3966WP (Table 2). The Olotillo × Tuxpeño and Tuxpeño × Olotillo genotypes showed a similar EY to P3966WP ($p > 0.05$). These genotypes could be ensiled without the addition of some soluble carbohydrate source, since maize genotypes with forage potential should have around 38 % EY (Zaragoza-Esparza *et al.*, 2019). This ensures acetic and lactic acid fermentation, improves neutral detergent fiber dilution and increases forage digestibility (Liu *et al.*, 2021). Tuxpeño II and Ratón × Tuxpeño had the highest DMY; while no senescent leaf material was observed in Olotillo × Ratón and Northern Tuxpeño × Celaya ($p < 0.05$; Table 2). These differences are due to the fact that some genotypes showed a decrease in the leaf:stem ratio due to partial senescence of the basal leaves (Amador and Boschini, 2000). Furthermore, as soon as the leaf senescence process occurs, forage quality begins to decrease. In order to counteract such effect, cutting heights of up to 45 cm are proposed, leaving the less digestible part on the ground (González *et al.*, 2005), which in turn reduces the contents of neutral and acid detergent fiber and increases the proportion of cob to TDMY.

Forage and silage chemical composition

The CP content of the forage at harvest varied among the genotypes evaluated. The maximum values ($p < 0.05$) were presented in P3966W, Tuxpeño I, Olotillo × Ratón and Olotillo × Tuxpeño, whose values ranged between 81 and 85 g kg⁻¹ (Table 3). These

Table 3. Crude protein, crude fiber and ash content in forage and silage of native and hybrid maize (*Zea mays* L.) in Tula, Tamaulipas, Mexico.

Maize genotype	Crude protein	Crude fiber	Ash
	g kg ⁻¹		
Forage			
P3966W*	82 ab [†]	300 d	85 b
Tuxpeño I**	81 ab	302 d	87 a
Olotillo × Ratón*	85 a	328 ab	81 c
Olotillo × Tuxpeño**	81 ab	312 cd	82 c
Tuxpeño II***	77 bc	339 a	80 cd
Tuxpeño × Olotillo***	73 c	322 bc	79 d
Silage			
P3966W*	92 a	310 a	81 c
Tuxpeño I**	93 a	284 b	92 a
Olotillo × Ratón*	92 a	241 d	82 c
Olotillo × Tuxpeño**	75 c	250 cd	73 d
Tuxpeño II***	78 bc	254 c	83 bc
Tuxpeño × Olotillo***	79 b	245 cd	85 b

*Early, **Intermediate, ***Late. [†]Within columns and by forage and silage, means with different letters indicate statistically significant difference (Tukey; $\alpha = 0.05$).

CP results were higher than those reported by Fuentes *et al.* (2001) at 130 DAS, who reported 75 g kg⁻¹. This difference may be due to the phenological stage of the plant, and the climatic conditions under which the crop was grown. It has been noted that the chemical composition of maize is affected by environmental factors (Loučka *et al.*, 2015). The CP values in forage and silage of all genotypes evaluated were greater than 73 g kg⁻¹, so that, when used as feed in ruminants, they could efficiently take advantage of the energy included in cellulose and hemicellulose. For rumen microorganisms to have adequate activity and digest the fiber, it has been reported that the CP content of forage must be >70 g kg⁻¹ (Lazzarini *et al.*, 2009).

CF consists mainly of structural carbohydrates such as cellulose and hemicellulose, which are metabolized by rumen microorganisms, first degraded to glucose and then to volatile fatty acids (VFAs): acetic, butyric and propionic acids (Church *et al.*, 2007). The volatile fatty acids provide about 70 % of the metabolizable energy required by the ruminant (Bergman, 1990). Under our experimental conditions, significant differences were found among genotypes for CF content ($p < 0.05$; Table 3). The genotypes Tuxpeño II and Olotillo × Ratón had the highest values (339 and 328 g kg⁻¹, respectively). In the ensiled materials, the early-cycle hybrid maintained the CF content, while in native maize it decreased (18 %) after the fermentation process. This can be attributed to a higher proportion of cob to total yield, which increases energy content and thus decreases crude fiber and consequently increases *in vitro* digestibility of forage dry matter (Liu *et al.*, 2021).

Native maize Tuxpeño I presented the highest ash content, both in fresh forage and silage, with 87 and 92 g kg⁻¹ ($p > 0.05$; Table 3). These results were superior to those reported by Jiménez-Leyva *et al.* (2016) in evaluating a commercial maize hybrid, who found variations in ash content from 71 to 58 g kg⁻¹ between 103 and 135 DAS. In native maize, it has been determined that ash concentration decreases after 80 DAS (Amador and Boschini, 2000). High ash contents are indicators of high concentrations of minerals present in the soil, which can affect plant development and decrease as plant growth occurs (Ruiz and Armienta, 2012). Trace minerals such as Ca, Fe, P, Se, Zn, Mn, Cu and Co can be found in ashes, which are necessary to form cellular proteins, coenzymes and enzymes involved in ruminal processes (Durand and Komisarczuk, 1988). Therefore, their deficiency affects VFAs production, fiber digestibility and feed digestion (Church *et al.*, 2007).

Silage characteristics

Among the genotypes and groups evaluated, no significant statistical difference was found for pH ($p > 0.05$; Table 4). The average value was 3.8, which indicates that the ensiling process was adequate. Lactic acid producing bacteria, such as *Lactobacillus* spp., *Pediococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Lactococcus* spp., and *Streptococcus* spp., develop better at pH values of 4.0 to 5.0 (Garcés *et al.*, 2004; Church *et al.*, 2007). These pH levels are obtained when the silage contains between 30 and 35 % dry matter and by maintaining this percentage, pH levels are maintained over time, remaining also, the chemical composition and fermentation of the forage (Loučka *et al.*, 2015). For soluble carbohydrate content (°Brix), the intermediate genotype Olotillo × Tuxpeño had the highest value ($p < 0.05$), followed by Olotillo × Ratón, Tuxpeño II and Tuxpeño × Olotillo (Table 4). These results are different and superior to those obtained by

Table 4. Silage characteristics of native and hybrid maize (*Zea mays* L.) genotypes in Tula, Tamaulipas, Mexico.

	Maize genotype	pH	°Brix	Dry matter (%)
1	Tuxpeño Norteño × Celaya*	3.8 a [†]	7.5 c	19.4 bc
2	Ratón × Olotillo*	3.9 a	6.0 d	20.4 b
3	Ratón × Tuxpeño*	3.8 a	7.5 c	23.8 ab
4	Hybrid 2038DK*	3.8 a	6.5 d	17.4 c
5	Ratón*	3.9 a	6.5 d	20.4 b
6	Chalqueño × Tuxpeño*	4.0 a	7.5 c	21.4 ab
7	Hybrid P3966W*	3.9 a	6.5 d	20.0 bc
8	Tuxpeño I**	3.8 a	7.0 cd	20.9 b
9	Olotillo × Ratón**	3.7 a	8.5 b	27.7 a
10	Olotillo × Tuxpeño**	3.8 a	9.5 a	26.0 a
11	Tuxpeño II***	3.7 a	8.5 b	27.8 a
12	Tuxpeño × Olotillo***	3.8 a	8.5 b	23.2 ab

*Early, **Intermediate, ***Late. [†]Means with different letters within columns indicate significant statistical difference (Tukey; $\alpha = 0.05$).

Do *et al.* (2012), who when evaluating the silage of maize hybrids in the milky and doughy state, reported values of 4.3 and 4.9 °Brix, respectively. In sugarcane silage with values of 21 °Brix, it has been reported that adequate microbial fermentation activity occurs (Bravo-Martins *et al.*, 2006). However, it has been mentioned that for wet forages a minimum of 6 °Brix is required, therefore, the values of °Brix found in the maize genotypes in the present study are appropriate to achieve an adequate lactic fermentation (Garcés *et al.*, 2004). The dry matter content of the silage showed an increase as time to harvest increased, with contents up to 27.8 % for late cycle Tuxpeño II (Table 4). In this regard, different cutting dates have been evaluated and dry matter showed an increase, with optimum values between 26 and 37 % for adequate silage between 123 and 131 DAS (Jiménez-Leyva *et al.*, 2016).

CONCLUSIONS

Native maize can be an option for forage production in the semiarid region of Mexico. According to total dry matter yields and crude protein content, the genotypes Tuxpeño I, Olotillo × Ratón, Olotillo × Tuxpeño and Tuxpeño II could be used in breeding programs to select materials with potential for forage production and conservation.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank the Facultad de Ingeniería y Ciencias and the Instituto de Ecología Aplicada of the Universidad Autónoma de Tamaulipas and CBTA 117 “Juan Báez Guerra” of Tula, Tamaulipas for the facilities and support provided during the development of this project. We are also very much grateful to Dr. Mario Rocandio Rodríguez of the Instituto de Ecología Aplicada, Universidad Autónoma de Tamaulipas, for providing the germplasm for this research.

REFERENCES

- Amador RAL, Boschini C. 2000. Fenología productiva y nutricional de maíz para la producción de forraje. *Agronomía Mesoamericana* 11 (1): 171–177.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2019. Official Methods of Analysis of AOAC International (21th). Association of Official Analytical Chemists: Gaithersburg, MD, USA.
- Bergman EN. 1990. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiological Reviews* 70 (2): 567–590. <https://doi.org/10.1152/physrev.1990.70.2.567>
- Bravo-Martins CEC, Carneiro H, Castro-Gómez RJH, Figueiredo HCP, Schwan RF. 2006. Chemical and microbiological evaluation of ensiled sugar cane with different additives. *Brazilian Journal of Microbiology* 37 (4): 499–504. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822006000400018>
- Church DC, Pond WG, Pond KR. 2007. *Nutrición y alimentación de animales*. Segunda edición. Limusa Wiley: México.
- Do GH, Kim EJ, Lee SM. 2012. Effects of harvest stage on agronomic characteristics, yield and feed value of silage corn in the newly reclaimed hilly land. *Journal Korean Grassland and Forage Science* 32 (3): 253–264. <http://dx.doi.org/10.5333/KGFS.2012.32.3.253>
- Durand M, Komisarczuk S. 1988. Influence of major minerals on rumen microbiota. *The Journal of Nutrition* 11 (2): 249–260. <https://doi.org/10.1093/jn/118.2.249>
- Elizondo J, Boschini C. 2002. Producción de forraje con maíz criollo y maíz híbrido. *Agronomía Mesoamericana* 13(1): 13-17.

- Fuentes J, Cruz A, Castro L, Gloria G, Rodríguez S, Ortiz RB. 2001. Evaluación de variedades e híbridos de maíz (*Zea mays* L.) para ensilado. *Agronomía Mesoamericana* 12 (2): 193–197. <http://dx.doi.org/10.15517/am.v12i2.17233>
- Garcés MAM, Berrio RL, Ruiz AS, Serna LJG, Builes AAF. 2004. Ensilaje como fuente de alimentación para el ganado. *Revista Lasallista de Investigación* 1 (1): 66–71.
- Godina JE, Garay JR, Mendoza SI, Joaquín S, Rocandio M, Lucio F. 2020. Rendimiento de forraje y composición morfológica de maíces nativos en condiciones semiáridas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 11 (24): 59–68. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i24.2358>
- González CF, Peña RA, Núñez HG. 2006. Etapas de corte, producción y calidad forrajera de híbridos de maíz de diferente ciclo biológico. *Revista Fitotecnia Mexicana* 29 (número especial 2): 103–107.
- González CF, Peña RA, Núñez HG, Jiménez GCA. 2005. Efecto de la densidad y altura de corte en el rendimiento y calidad del forraje de maíz. *Revista Fitotecnia Mexicana* 28 (4): 393–397.
- González-Martínez J, Rocandio-Rodríguez M, Chacón-Hernández JC, Vanoye-Eligio V, Moreno-Ramírez YR. 2018. Distribución y diversidad de maíces nativos (*Zea mays* L.) en el altiplano de Tamaulipas, México. *Agroproductividad* 11 (1): 124–130.
- Granados-Niño JA, Sánchez-Duarte JI, Ochoa-Martínez E, Rodríguez-Hernández K, Reta-Sánchez DG, López-Calderón MJ. 2022. Efecto del ciclo de producción sobre el potencial de rendimiento y calidad nutricional del maíz forrajero en la Comarca Lagunera. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 28: 207–217. <https://doi.org/10.29312/remexca.v13i28.3276>
- INIFAP (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias). 2017. Agenda técnica agrícola de Tamaulipas. INIFAP. México. 409 p.
- Jiménez-Leyva D, Romo-Rubio J, Flores-Aguirre L, Ortiz-López B, Barajas-Cruz R. 2016. Edad de corte en la composición química del ensilado de maíz blanco asgrow-7573. *Abanico Veterinario* 6 (3): 13–23. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2016.63.1>
- Joaquín CS, Rocandio RM, Álvarez VP, Hernández GFJ, Limas MAG, Garay MJR. 2022. Rendimiento y valor nutritivo del forraje y ensilado de maíces nativos en condiciones subtropicales. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 13 (5): 873–881. <https://doi.org/10.29312/remexca.v13i5.3231>
- Lazzarini I, Detmann E, Batista C, Fonseca M, Valadares SC, Augusto M, Albani F. 2009. Intake and digestibility in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. *Revista Brasileira de Zootecnia* 38 (10): 2021–2030. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982009001000024>
- Liu Y, Wang G, Wu H, Meng Q, Khan MZ, Zhou Z. 2021. Effect of hybrid type on fermentation and nutritional parameters of whole plant corn silage. *Animals* 11 (6): 1587. <https://doi.org/10.3390/ani11061587>
- Loučka R, Hakl J, Jirmanová J, Tyrollová Y. 2015. Yearly variation in maize silage fermentation and nutritive quality. *Grass and Forage Science* 70 (4): 674–681. <https://doi.org/10.1111/gfs.12151>
- Malhi GS, Kaur M, Kaushik P. 2021. Impact of climate change on agriculture and its mitigation strategies: A review. *Sustainability* 13 (3): 1318. <https://doi.org/10.3390/su13031318>
- Muñoz AO. 2005. Centli maíz: Prehistoria e historia, diversidad, potencial, origen genético y geográfico. Segunda edición. Colegio de Postgraduados: México.
- Muñoz-Tlahuiz F, Guerrero-Rodríguez JD, Antonio LP, Gil-Muñoz A, López-Sánchez H, Ortiz-Torres E, Hernández-Guzmán JA, Taboada-Gaytán O, Vargas-López S, Valadez-Ramírez M. 2013. Producción de rastrojo y grano de variedades locales de maíz en condiciones de temporal en los valles altos de Libres-Serdán, Puebla, México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 4 (4): 515–530.
- Ortega GC, Ortega BF, Torres MF, Lagos BTC. 2010. Comportamiento agronómico de siete genotipos de maíz amarillo *Zea mays* L. bajo condiciones de clima medio en el departamento de Nariño. *Revista de Agronomía* 27 (1): 18–26.
- Perales MV, Alvarado LF, Hermosillo LJ, Márquez JI, Vega F. 2019. Análisis de rentabilidad económica del uso de zinc en la producción y calidad de maíz forrajero en la comarca lagunera. *Revista Mexicana de Agonegocios* 45: 371–382.

- Rivas MA, Mendoza SI, Sangerman-Jarquín DM, Sánchez MA, Herrera CA, Rojas AR. 2020. Evaluación forrajera de maíces de diversos orígenes de México en la región semiárida. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 11 (24): 93–104. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i24.2361>
- Robles-Jimenez LE, Rosas M, Avalos JO, Chay-Canul AJ, Riocerezo CP, Castelan OA, Gonzalez-Ronquillo M. 2021. Evaluation of Mexican native and hybrid maize (*Zea mays*) silages for sustainable milk production. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 24 (3): 1–10. <http://dx.doi.org/10.56369/tsaes.3782>
- Rodríguez L, Guevara F, Ovando J, Marto JR, Ortiz R. 2016. Crecimiento e índice de cosecha de variedades locales de maíz (*Zea mays* L.) en comunidades de la región frailesca de Chiapas, México. *Cultivos Tropicales* 37 (3): 137–145. <http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.1.1404.6967>
- Ruiz EA, Armienta MA. 2012. Acumulación de arsénico y metales pesados en maíz en suelos cercanos a jales o residuos orgánicos. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 28 (2): 103–117.
- Sah RP, Kumar A, Rana M, Kumar U. 2018. Maize (Corn). In *Forage crops of the world*, Volume I: Major forage crops, Hedayetullah Md, Zaman P. (eds.). Apple Academic Press-Taylor & Francis Group: NY, USA. pp: 15–37. <https://doi.org/10.1201/9781351167369>
- Sánchez-Hernández MA, Morales-Terán G, Mendoza-Pedroza SI, Hernández-Bautista J, Fraire-Cordero S, Rivas-Jacobo MA. 2021. Caracterización productiva de maíces nativos con aptitud forrajera en la cuenca baja del Papaloapan. *Revista Fitotecnia Mexicana* 44 (4A): 755–764. <https://doi.org/10.35196/rfm.2021.4-A.755>
- SAS Institute, Inc. 2002. *User's Guide of SAS (Statistical Analysis System)*. SAS Institute Inc.: NC, USA.
- Vargas TV, Hernández RME, Gutiérrez LJ, Plácido DCJ, Jiménez CA. 2007. Clasificación climática del Estado de Tamaulipas, México. *CienciaUAT* 2 (2): 15-19.
- Zaragoza-Esparza J, Tadeo-Robledo M, Espinosa-Calderón A, López-López C, García-Espinosa JC, Zamudio-González B, Turrent-Fernández A, Rosado-Núñez F. 2019. Rendimiento y calidad de forraje de híbridos de maíz en Valles Altos de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 10 (1): 101–111. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i1.1403>

RENDIMIENTO Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE FORRAJE Y ENSILADO DE MAÍCES NATIVOS EN CONDICIONES SEMIÁRIDAS CON RIEGO

Fernando Lucio-Ruiz¹, Santiago Joaquín-Cancino¹, Juan Eduardo Godina-Rodríguez¹, Jonathan Raúl Garay-Martínez^{2*}

¹ Universidad Autónoma de Tamaulipas. Facultad de Ingeniería y Ciencias. Cd. Victoria Tamaulipas, México. C. P. 87149.

² Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Las Huastecas. Villa Cuauhtémoc, Altamira, Tamaulipas, México. C. P. 89610.

* Autor para correspondencia: garay.jonathan@inifap.gob.mx

RESUMEN

La preservación de maíces nativos permite la selección de genotipos con potencial forrajero en regiones específicas. El objetivo del presente estudio fue evaluar el rendimiento y la composición química de forraje verde y ensilado de 10 maíces nativos y dos híbridos comerciales con potencial forrajero en condiciones semiáridas con riego. Los genotipos se agruparon dependiendo de los días a floración masculina: precoces (80 días), intermedios (92 días) y tardíos (111 días). Los datos se analizaron en diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones (Tukey; $\alpha = 0.05$). Los maíces intermedios y tardíos tuvieron la mayor altura, rendimiento de materia seca total (RMST) y número de hojas ($p < 0.05$). Los genotipos tardíos presentaron valores superiores en rendimiento de mazorca y materia senescente ($p < 0.05$). Los genotipos Olotillo × Tuxpeño y Tuxpeño II superaron en RMST (14.32 Mg ha⁻¹, en promedio) a los híbridos 2038DK y P3966WP (3.50 y 9.24 Mg ha⁻¹, respectivamente). Olotillo × Tuxpeño y P3966WP presentaron valores de proteína cruda similar en forraje verde (81 g kg⁻¹; $p > 0.05$). Sin embargo, al ensilarlos, el híbrido superó al maíz nativo en 22 % (92 vs. 75 g kg⁻¹; $p < 0.05$). Los maíces nativos de ciclo tardío presentaron los mayores rendimientos de mazorca (4.59 Mg ha⁻¹) y después de ensilaje presentaron valores ideales de pH (< 3.9) y °Brix (8.5). Los genotipos nativos Tuxpeño I, Olotillo × Ratón, Olotillo × Tuxpeño y Tuxpeño II podrían utilizarse en programas de mejoramiento genético para selección de materiales con potencial para producción y conservación de forraje.

Palabras clave: *Zea mays* L., conservación de forraje, componentes morfológicos, °Brix, pH.

INTRODUCCIÓN

En México, la variabilidad genética del maíz (*Zea mays* L.) constituye una parte fundamental en la contribución a la seguridad alimentaria del futuro. Esto debido a la variabilidad derivada de la selección realizada por los agricultores, la cual, permite hacer uso de las características fisiológicas en programas de mejoramiento genético para obtener el objetivo deseado (Rivas *et al.*, 2020). En el Altiplano Tamaulipeco existen poblaciones de maíces nativos que han sido seleccionadas por los productores, principalmente por su adaptación a condiciones semiáridas y rendimiento de grano (González-Martínez *et al.*, 2018).

Citation: Lucio-Ruiz F, Joaquín-Cancino S, Godina-Rodríguez JE, Garay-Martínez JR. 2023. Rendimiento y composición química de forraje y ensilado de maíces nativos en condiciones semiáridas. *Agrociencia*. 57(4): 722-743. doi.org/10.47163/agrociencia.v57i4.2918

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: November 14, 2022.
Approved: April 27, 2023.
Published in Agrociencia:
May 31, 2023.

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



Se estima que cerca del 65 % de la producción de maíz se destina a la alimentación animal, como ensilado, grano, esquilmado y consumo en verde (Perales *et al.*, 2019). El rendimiento de forraje verde puede ser de hasta 55.5 Mg ha⁻¹ (Granados-Niño *et al.*, 2022), lo que permite incrementar la carga animal y en consecuencia se mejora la eficiencia productiva por hectárea (Sah *et al.*, 2018).

El aprovechamiento del forraje de maíz debe realizarse cuando se alcanza un equilibrio entre el rendimiento de materia seca y la mayor cantidad de nutrientes digestibles, el cual es cuando se tiene valores cercanos a 30 % de materia seca y el grano se encuentra en $\frac{1}{2}$ y $\frac{2}{3}$ de la línea de leche, momento en el que se tiene la mayor digestibilidad forraje y cantidad de carbohidratos solubles (González *et al.*, 2006). Al considerarse estos criterios se ha estimado que se obtienen contenidos de 88, 270, 229, 431, 225 y 49 g kg⁻¹ de proteína cruda, almidón, carbohidratos solubles, fibra detergente neutro, fibra detergente ácida y cenizas, respectivamente (Liu *et al.*, 2021). Además, el maíz puede tener valores de energía neta de lactancia entre 1.09 y 1.55 Mcal kg⁻¹ de materia seca (Robles-Jimenez *et al.*, 2021).

Para la producción de forraje de maíz actualmente se utilizan semillas mejoradas, con las cuales ha incrementado el rendimiento de grano y forraje. Sin embargo, estos genotipos disponibles, en el futuro podrían no prosperar a consecuencia del cambio climático, ya que una combinación de factores bióticos (mayor temperatura, deficiencia de agua) y abióticos (ataque de plagas y patógenos) reduciría significativamente la producción (Malhi *et al.*, 2021). El maíz nativo es fuente de germoplasma del cual se podría obtener genotipos que sean tolerantes a los factores antes mencionados (Robles-Jimenez *et al.*, 2021), adaptados a las condiciones ambientales específicas prevalecientes donde se cultivan y por supuesto con una inversión menor. Los maíces nativos, en condiciones de estrés por deficiencias de agua, han presentado mayores rendimientos de forraje y tolerancia a plagas en comparación con híbridos o variedades mejoradas (Godina *et al.*, 2020). Los maíces nativos son una alternativa viable para su uso como ensilado, debido a que con estos se incrementa la producción de leche por hectárea y por tonelada de materia seca en comparación con el maíz híbrido (Robles-Jimenez *et al.*, 2021). Por ello, el objetivo del presente estudio fue evaluar el rendimiento y la composición química del forraje verde y ensilado de maíces nativos e híbridos con potencial forrajero en condiciones semiáridas de Tula, Tamaulipas, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del experimento

El estudio se realizó en condiciones de riego, durante el ciclo primavera-verano en 2017, dentro de las instalaciones del CBTA 117 "Juan Báez Guerra", ejido Tanque Blanco, municipio de Tula, Tamaulipas (22° 54' 28.84" N y 99° 47' 40.22" O, a una altitud de 1086 m). El clima se clasifica como seco semicálido (BS₀hw), la temperatura anual promedio es de 19.9 ± 7.8 °C, y precipitaciones anuales acumuladas entre 400 y 450 mm (Vargas *et al.*, 2007).

Material genético

Se evaluaron 12 genotipos de maíz: 10 nativos y 2 híbridos comerciales como testigos (Cuadro 1). Los maíces nativos se seleccionaron de 91 poblaciones de maíces que González-Martínez *et al.* (2018) colectaron en el Altiplano Tamaulipeco y clasificaron racialmente (Cuadro 1). Para este estudio se seleccionaron aquellos genotipos que tuvieron características forrajeras, cuyos valores en altura de planta, grosor del tallo, número, longitud y ancho de hojas fuesen mayor al promedio de las 91 poblaciones. Los maíces se agruparon precoces (80 d), intermedios (92 d) y tardíos (111 d) en función de los días transcurridos desde la siembra a floración masculina (Muñoz, 2005).

Cuadro 1. Grupos de genotipos y procedencia de maíces (*Zea mays* L.) nativos e híbridos evaluados en Tula, Tamaulipas, México.

Grupo	Genotipo	Procedencia (Municipio/Empresa)
Precoz (80 DMF)	Tuxpeño Norteño × Celaya	Tula
	Ratón × Olotillo	Jaumave
	Ratón × Tuxpeño	Jaumave
	2038DK	DEKALB®
	Ratón	Tula
	Chalqueño × Tuxpeño P3966W	Palmillas PIONEER®
Intermedio (92 DMF)	Tuxpeño I	Tula
	Olotillo × Ratón	Tula
	Olotillo × Tuxpeño	Jaumave
Tardío (111 DMF)	Tuxpeño II	Ocampo
	Tuxpeño × Olotillo	Ocampo

DAM: Días a floración masculina.

Tratamientos y diseño experimental

Los 12 genotipos de maíz se evaluaron bajo un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones por tratamiento. El tamaño de las parcelas experimentales fue de dos surcos de 5 m de largo. La separación entre surcos y plantas fue de 0.80 y 0.25 m, respectivamente.

Establecimiento y manejo del cultivo

La preparación de terreno se realizó de acuerdo con el paquete tecnológico para la producción de maíz en la zona Centro y Sur del estado de Tamaulipas. Se hicieron dos pases de rastra y surcado. La siembra se realizó de forma manual en condiciones de riego en antes de la siembra (lámina de aproximadamente 0.30 m). Se depositaron tres semillas por golpe y a los 14 días después de la siembra (DDS), se realizó un aclareo dejando una planta para obtener una densidad de cerca de 50,000 plantas ha⁻¹ según

las recomendaciones de la agenda técnica para el sur de Tamaulipas en la siembra de maíces de temporal (INIFAP, 2017). A los 35 y 70 DDS se aplicaron dos riegos de auxilio por gravedad (lámina de aproximadamente 0.30 m). El control de malezas se realizó manualmente. Durante la evaluación hubo presencia de gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) y se controló con una aplicación de Clorantraniliprol 20 % (80 mL ha⁻¹).

Variables evaluadas

Después de 15 días de la floración femenina, el grano de maíz se encontraba en estado de madurez entre $\frac{1}{2}$ y $\frac{2}{3}$ de la línea de leche y el forraje se cosechó de manualmente a 20 cm sobre el nivel del suelo (González *et al.*, 2006). Antes de cosechar el forraje, se midió la altura de planta (AP; m) desde el nivel del suelo hasta el nudo de la hoja bandera en dos plantas seleccionadas al azar en cada una de las parcelas y se contó el número de hojas. En cada parcela experimental se cosechó todo el forraje presente en dos metros lineales (a 20 cm del suelo), se pesó y se tomó una muestra de forraje verde de seis plantas. La muestra se separó en los componentes morfológicos y se secaron en una estufa de aire forzado a 65 °C hasta peso constante después de las 72 h. Cada componente se pesó antes y después del secado y posteriormente se calculó el rendimiento (Mg ha⁻¹) de: hoja (RH), tallo (RT), mazorca (RMZ) y materia muerta (RMSC); la suma de estos componentes se expresó como el rendimiento de materia seca total (RMST) (Elizondo y Boschini, 2002; Joaquín *et al.*, 2022).

Para la elaboración del ensilado, en cada una de las parcelas, se seleccionaron al azar cinco plantas completas, las cuales se cortaron en trozos de 1 a 2 cm. Posteriormente, el forraje cosechado se depositó en microsilos de policloruro de vinilo [PVC (Ø 6" y 40 cm de largo)] con tapa en un extremo con capacidad de 7.3 L (Joaquín *et al.*, 2022). El forraje se compactó para eliminar el aire presente dentro del microsililo y éste se selló con dos capas de plástico de polietileno. Los microsilos se colocaron bajo techo durante 65 días. Posteriormente, se tomó una muestra de ensilado y se determinó la composición química. Para el análisis de la composición química se seleccionaron los seis genotipos que presentaron mayor RMST. Tanto en el forraje como en el ensilado se determinó: el contenido (g kg⁻¹) de proteína cruda (PC), fibra cruda (FC) y cenizas (AOAC, 2019). Para las características del ensilado se determinó el contenido de materia seca (%), pH y carbohidratos solubles (°Brix) (Bravo-Martins *et al.*, 2006). Para determinar el porcentaje de materia seca del ensilado, se tomó una muestra de alrededor de 300 g en cada microsililo y se secó en estufa de aire forzado a 70 °C, durante 72 h. Para determinar el pH del ensilado se utilizó una muestra de 25 g de cada microsililo y se depositó en un vaso de precipitado de 500 mL, después se le agregaron 250 mL de agua destilada y se agitó cada 2 min durante 10 min y se tomó la lectura mediante un potenciómetro (HI98130, Hanna Instruments®). Para el contenido de carbohidratos solubles (°Brix), se tomó una muestra de ensilado y mediante presión se extrajo una gota de líquido, la cual se depositó en un refractómetro (2806, Spectrum Technologies, Inc.).

Análisis Estadístico

Los datos se analizaron mediante el análisis de varianza con el procedimiento GLM de SAS/STAT® (SAS Institute, Inc., 2002) con base en el diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. La comparación de medias de tratamientos se efectuó mediante la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Altura de planta y rendimiento de forraje

Los genotipos de maíz tardíos (Tuxpeño II y Tuxpeño × Olotillo) e intermedios (Olotillo × Tuxpeño, Tuxpeño I y Olotillo × Ratón) superaron en altura en 27 y 63 % en AP a los maíces nativos precoces e híbridos comerciales, respectivamente ($p < 0.05$; Cuadro 2). Alturas similares al de este estudio (2.21 m) se han observado en genotipos nativos, las cuales son mayores en comparación con genotipos híbridos comerciales (Muñoz-Tlahuiz *et al.*, 2013). Estas diferencias pueden ser atribuidas a la adaptación que han obtenido estos genotipos al medio donde se han desarrollado; además, incrementos en la altura de planta coinciden con incrementos en el rendimiento de materia seca, parámetro importante a considerar en los genotipos forrajeros (Elizondo y Boschini, 2002). Los resultados del presente estudio indicaron que los maíces nativos evaluados presentaron amplia variabilidad en el RMST ($p < 0.05$). Los genotipos más sobresalientes fueron Olotillo × Tuxpeño, Tuxpeño II, Tuxpeño × Olotillo, Tuxpeño I y Olotillo × Ratón, cuyos valores oscilaron entre 9.24 y 16.49 Mg ha⁻¹ (Cuadro 2). En otro estudio en el

Cuadro 2. Altura de planta, rendimiento de materia seca y componentes morfológicos en genotipos de maíces (*Zea mays* L.) nativos e híbridos en Tula, Tamaulipas, México.

Genotipo	AP (m)	NH	Rendimiento (Mg ha ⁻¹)				
			RMST	RH	RT	RMZ	RMSC
1 Tux Norteño × Celaya*	1.73 b [†]	10.3 a	5.28 bc	2.15 cd	2.32 c	0.80 f	0.00 d
2 Ratón × Olotillo*	1.82 b	10.5 a	6.65 bc	2.37 c	2.81 c	1.22 e	0.25 ab
3 Ratón × Tux*	1.77 b	9.5 a	6.59 bc	2.07 cd	2.59 c	1.44 de	0.49 a
4 2038DK*	1.28 c	9.5 a	3.50 c	1.38 e	0.98 d	1.12 e	0.02 c
5 Ratón*	1.61 bc	10.3 a	6.39 bc	2.29 c	2.21 c	1.80 d	0.09 c
6 Chalqueño × Tux*	1.62 bc	9.5 a	5.84 bc	1.95 d	1.54 c	2.32 cd	0.03 c
7 P3966WP*	1.38 c	10.3 a	9.24 abc	2.69 c	2.66 c	3.85 bc	0.04 c
8 Tux I**	2.17 a	12.8 a	12.62 ab	3.74 ab	6.87 b	1.85 d	0.17 b
9 Olotillo × Ratón**	2.13 a	11.8 a	10.62 abc	3.01 bc	4.62 d	3.00 c	0.00 d
10 Olotillo × Tux**	2.23 a	11.5 a	16.49 a	4.26 a	7.73 a	4.33 b	0.17 b
11 Tux II***	2.23 a	11.0 a	15.93 a	3.29 b	6.91 b	5.09 a	0.65 a
12 Tux × Olotillo***	2.11 a	12.0 a	12.71 ab	2.85 bc	5.58 c	4.09 bc	0.19 b

*Precoz, **Intermedio, ***Tardío. AP: altura de planta, NH: número de hojas por planta, RMST: rendimiento de materia seca total, RH: rendimiento de hoja, RT: rendimiento de tallo, RMZ: rendimiento de mazorca, RMSC: rendimiento de materia senescente, Tux: Tuxpeño. [†]Medias con distinta letra en cada columna, indican diferencia estadística significativa (Tukey, $\alpha = 0.05$).

centro del estado de Tamaulipas con altitud de 193 m (Joaquín *et al.*, 2022), genotipos nativos presentaron rendimientos de hasta 10.66 Mg ha⁻¹, 19 % menos que el promedio obtenido en este experimento en el suroeste del estado. Esta diferencia puede ser atribuida al hecho de que los genotipos evaluados en ambos experimentos son procedentes de la región conocida como Altiplano Tamaulipeco, caracterizado por presentar altitudes mayores a los 1000 m, por lo que mostraron mejor adaptación y desarrollo en este ambiente. El híbrido comercial 2038DK presentó 75 % menos RMST, lo cual estuvo relacionado con una menor AP, característica propia de algunas variedades e híbridos mejorados ante los genotipos nativos (Godina *et al.*, 2020; Joaquín *et al.*, 2022),

Composición morfológica

No se encontró diferencia estadística entre genotipos evaluados para el NH ($p > 0.05$), cuyos valores oscilaron entre 9.5 y 12.8 (Cuadro 2). Esta característica no es determinada por ambientes externos, por lo que el NH debe estar definida genéticamente (Rodríguez *et al.*, 2016). El RH fue diferente entre los genotipos evaluados ($p < 0.05$). Los maíces tardíos Olotillo × Tuxpeño y Tuxpeño I presentaron los valores mayores de RH ($p > 0.05$); los cuales superaron en 49 y 90 % a los híbridos comerciales P3966WP y 2038DK, respectivamente (Cuadro 2).

Los genotipos de ciclo precoz Ratón × Olotillo, Ratón × Tuxpeño, Tuxpeño Norteño × Celaya, Ratón y Chalqueño × Tuxpeño, presentaron el menor RT, con un promedio de 2.29 Mg ha⁻¹. A medida que las plantas presentan ciclos tardíos, se incrementa la AP, el RH y RT (Sánchez-Hernández *et al.*, 2021). Así mismo, la precocidad de las poblaciones está determinada por los microambientes a los cuales están expuestas. A medida que cambia la altitud, la temperatura y humedad varían, lo cual afecta la duración de las etapas fenológicas, y en específico, los días a floración femenina (Ortega *et al.*, 2010). Los maíces nativos muestran mayor rendimiento de los componentes hoja y tallo en comparación con los híbridos que presentaron mayor proporción de hoja en relación con el tallo (Muñoz-Tlahuiz *et al.*, 2013; Godina *et al.*, 2020). Esta relación entre hoja y tallo determina la calidad del forraje, dado que, a mayor proporción de hoja respecto al tallo, los contenidos de proteína cruda en el forraje son mayores (Amador y Boschini, 2000; Joaquín *et al.*, 2022).

El genotipo Tuxpeño II presentó el RMZ más alto ($p < 0.05$), el cual fue 32 % mayor que el híbrido comercial P3966WP (Cuadro 2). Los genotipos Olotillo × Tuxpeño y Tuxpeño × Olotillo presentaron un RMZ similar al P3966WP ($p > 0.05$). Estos genotipos podrían ensilarse sin la adición de alguna fuente de carbohidratos solubles, ya que se ha reportado que los genotipos de maíz con potencial forrajero deben tener alrededor del 38 % de RMZ (Zaragoza-Esparza *et al.*, 2019). Estas condiciones aseguran la fermentación de ácido acético y ácido láctico, mejoran la dilución de la fibra detergente neutro e incrementan la digestibilidad del forraje (Liu *et al.*, 2021). Tuxpeño II y Ratón × Tuxpeño presentaron el RMSC mayor; mientras que en Olotillo × Ratón y Tuxpeño Norteño × Celaya no se observó material foliar senescente ($p < 0.05$; Cuadro 2). Estas diferencias se deben a que algunos genotipos presentaron una disminución

en la relación hoja:tallo debido a la senescencia parcial de las hojas basales (Amador y Boschini, 2000). Además, en cuanto sucede el proceso de senescencia foliar, comienza la disminución en la calidad del forraje. Para contrarrestar este efecto, se proponen alturas de corte de hasta 45 cm, dejando sobre el suelo la parte de menor digestibilidad (González *et al.*, 2005), lo cual reduce los contenidos de fibra detergente neutro y ácido y se incrementa la proporción de mazorca respecto al RMST.

Composición química del forraje y ensilado

El contenido de PC del forraje al momento de la cosecha varió entre los genotipos evaluados. Los valores máximos ($p < 0.05$) se presentaron en P3966W, Tuxpeño I, Olotillo × Ratón y Olotillo × Tuxpeño, cuyos promedios oscilaron entre 81 y 85 g kg⁻¹ (Cuadro 3). Estos resultados de PC fueron superiores a los reportados por Fuentes *et al.* (2001) a los 130 DDS, quienes reportaron 75 g kg⁻¹. Esta diferencia puede deberse al estado fenológico de la planta, y a las condiciones climáticas en que se desarrolló el cultivo, ya que se ha señalado que la composición química del maíz es afectada por factores ambientales (Loučka *et al.*, 2015). Los valores de PC en forraje y ensilado de todos los genotipos evaluados fueron mayores a 73 g kg⁻¹, por lo que, al utilizarlos como alimento en rumiantes, estos podrían aprovechar de forma eficiente la energía incluida en la celulosa y hemicelulosa. Se ha reportado que para que los microorganismos del rumen tengan una adecuada actividad y puedan digerir la fibra el contenido de PC del forraje debe ser >70 g kg⁻¹ (Lazzarini *et al.*, 2009).

Cuadro 3. Contenido de proteína cruda, fibra cruda y cenizas en forraje y ensilado de maíces (*Zea mays* L.) nativos e híbridos en Tula, Tamaulipas, México.

Genotipo de maíz	Proteína cruda	Fibra cruda	Cenizas
	g kg ⁻¹		
Forraje			
P3966W*	82 ab [†]	300 d	85 b
Tuxpeño I**	81 ab	302 d	87 a
Olotillo × Ratón*	85 a	328 ab	81 c
Olotillo × Tuxpeño**	81 ab	312 cd	82 c
Tuxpeño II***	77 bc	339 a	80 cd
Tuxpeño × Olotillo***	73 c	322 bc	79 d
Ensilado			
P3966W*	92 a	310 a	81 c
Tuxpeño I**	93 a	284 b	92 a
Olotillo × Ratón*	92 a	241 d	82 c
Olotillo × Tuxpeño**	75 c	250 cd	73 d
Tuxpeño II***	78 bc	254 c	83 bc
Tuxpeño × Olotillo***	79 b	245 cd	85 b

*Precoz, **Intermedio, ***Tardío. [†]Dentro de columnas y por forraje y ensilado, medias con distinta letra, indican diferencia estadística significativa (Tukey; $\alpha = 0.05$).

La FC está formada principalmente por carbohidratos estructurales como celulosa y hemicelulosa, los cuales son metabolizados por los microorganismos del rumen. Estos carbohidratos estructurales son degradados a glucosa, y posteriormente a ácidos grasos volátiles (AGV): acético, butírico y propiónico (Church *et al.*, 2007). Éstos últimos aportan alrededor de 70 % de la energía metabolizable que requiere el rumiante (Bergman, 1990). Se encontraron diferencias significativas entre genotipos para el contenido FC ($p < 0.05$; Cuadro 3). Los genotipos Tuxpeño II y Olotillo × Ratón presentaron los mayores valores (339 y 328 g kg⁻¹, respectivamente). En los materiales ensilados el híbrido de ciclo precoz mantuvo el contenido de FC, mientras que en maíces nativos disminuyó (18 %) después del proceso de fermentación. Esto puede ser atribuido a una mayor proporción de mazorca respecto al total de rendimiento, lo cual incrementa el contenido energético y con ello la disminución de la fibra cruda y por consecuente aumento en la digestibilidad *in vitro* de la materia seca de forraje (Liu *et al.*, 2021).

El maíz nativo Tuxpeño I presentó el mayor contenido de cenizas, tanto en forraje fresco y como en ensilado, con 87 y 92 g kg⁻¹ ($p > 0.05$; Cuadro 3). Estos resultados fueron superiores a lo reportado por Jiménez-Leyva *et al.* (2016), quienes encontraron variaciones en el contenido de cenizas de 71 a 58 g kg⁻¹ entre 103 y 135 DDS en un híbrido comercial de maíz. En maíces nativos, se ha determinado que la concentración de cenizas disminuye a partir de los 80 DDS (Amador y Boschini, 2000). Contenidos elevados de ceniza son indicadores de altas concentraciones de minerales presentes en el suelo, los cuales pueden afectar el desarrollo de la planta y disminuyen conforme se presenta el crecimiento vegetal (Ruiz y Armienta, 2012). En las cenizas se pueden encontrar minerales traza como Ca, Fe, P, Se, Zn, Mn, Cu y Co, los cuales son necesarios para formar proteínas celulares, coenzimas y enzimas que participan en los procesos ruminales (Durand y Komisarczuk, 1988). Debido a ello, la deficiencia de elementos minerales afecta la producción de AGV, la digestibilidad de la fibra y la digestión del alimento (Church *et al.*, 2007).

Características del ensilado

Entre los genotipos y grupos evaluados no se encontró diferencia estadística significativa para el pH ($p > 0.05$; Cuadro 4). El valor promedio de pH fue 3.8, lo que indica que el proceso de ensilaje fue adecuado. Las bacterias productoras de ácido láctico, tales como *Lactobacillus* spp., *Pediococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Lactococcus* spp. y *Streptococcus* spp., se desarrollan mejor en pH con valores de 4.0 a 5.0 (Garcés *et al.*, 2004; Church *et al.*, 2007).

Estos niveles de pH se obtienen cuando el ensilado contiene entre 30 y 35 % de materia seca. Al mantener este porcentaje, los niveles de pH se mantienen a través del tiempo, permaneciendo también, la composición química y la fermentación del forraje (Loučka *et al.*, 2015). Para el contenido de carbohidratos solubles (°Brix), el genotipo intermedio Olotillo × Tuxpeño, presentó el mayor valor ($p < 0.05$); seguido de Olotillo × Ratón, Tuxpeño II y Tuxpeño × Olotillo (Cuadro 4). Estos resultados son diferentes y superiores a los obtenidos por Do *et al.* (2012), quienes al evaluar el ensilado de hí-

Cuadro 4. Características del ensilado de genotipos de maíces (*Zea mays* L.) nativos e híbridos en Tula, Tamaulipas, México.

	Genotipo de maíz	pH	°Brix	Materia seca (%)
1	Tuxpeño Norteño x Celaya*	3.8 a [†]	7.5 c	19.4 bc
2	Ratón x Olotillo*	3.9 a	6.0 d	20.4 b
3	Ratón x Tuxpeño*	3.8 a	7.5 c	23.8 ab
4	Hybrid 2038DK*	3.8 a	6.5 d	17.4 c
5	Ratón*	3.9 a	6.5 d	20.4 b
6	Chalqueño x Tuxpeño*	4.0 a	7.5 c	21.4 ab
7	Hybrid P3966W*	3.9 a	6.5 d	20.0 bc
8	Tuxpeño I**	3.8 a	7.0 cd	20.9 b
9	Olotillo x Ratón**	3.7 a	8.5 b	27.7 a
10	Olotillo x Tuxpeño**	3.8 a	9.5 a	26.0 a
11	Tuxpeño II***	3.7 a	8.5 b	27.8 a
12	Tuxpeño x Olotillo***	3.8 a	8.5 b	23.2 ab

*Precoz, **Intermedio, ***Tardío. [†]Medias con distinta letra dentro de columnas indican diferencia estadística significativa (Tukey; $\alpha = 0.05$).

bridos de maíz en estado lechoso y masoso, reportaron valores de 4.3 y 4.9 °Brix, respectivamente. En el ensilado de caña de azúcar con valores de 21 °Brix y se ha reportado que se lleva adecuada actividad de fermentación microbiana (Bravo-Martins *et al.*, 2006). Sin embargo, para forrajes húmedos se requiere un mínimo de 6 °Brix, por lo que, los valores de °Brix encontrados en los genotipos de maíces en el presente estudio son apropiados para lograr una adecuada fermentación láctica (Garcés *et al.*, 2004). En el contenido de materia seca del ensilado mostró un aumento conforme se incrementó el tiempo a cosecha, con porcentajes de hasta 27.8 % para Tuxpeño II de ciclo tardío (Cuadro 4). Al respecto, se han evaluado diferentes fechas de corte y la materia seca mostró un incremento, con valores óptimos entre 26 y 37 % para un adecuado ensilado entre 123 y 131 DDS (Jiménez-Leyva *et al.*, 2016).

CONCLUSIONES

Los maíces nativos pueden ser una opción para la producción de forraje en la región semiárida de México. De acuerdo con los rendimientos de materia seca total y contenido de proteína cruda, los genotipos Tuxpeño I, Olotillo x Ratón, Olotillo x Tuxpeño y Tuxpeño II podrían utilizarse en programas de mejoramiento genético para selección de materiales con potencial para producción y conservación de forraje.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Facultad de Ingeniería y Ciencias y al Instituto de Ecología Aplicada de la Universidad Autónoma de Tamaulipas, y al CBTA 117 "Juan Báez Guerra" de Tula, Tamaulipas por las facilidades otorgadas y apoyo brindado durante el desarrollo del presente proyecto. Agradecemos al Dr. Mario Rocandio Rodríguez del Instituto de Ecología Aplicada de

la Universidad Autónoma de Tamaulipas, por facilitar el germoplasma para esta investigación.

REFERENCIAS

- Amador RAL, Boschini C. 2000. Fenología productiva y nutricional de maíz para la producción de forraje. *Agronomía Mesoamericana* 11 (1): 171–177.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2019. *Official Methods of Analysis of AOAC International (21th)*. Association of Official Analytical Chemists: Gaithersburg, MD, USA.
- Bergman EN. 1990. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiological Reviews* 70 (2): 567–590. <https://doi.org/10.1152/physrev.1990.70.2.567>
- Bravo-Martins CEC, Carneiro H, Castro-Gómez RJH, Figueiredo HCP, Schwan RF. 2006. Chemical and microbiological evaluation of ensiled sugar cane with different additives. *Brazilian Journal of Microbiology* 37 (4): 499–504. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822006000400018>
- Church DC, Pond WG, Pond KR. 2007. *Nutrición y alimentación de animales*. Segunda edición. Limusa Wiley: México.
- Do GH, Kim EJ, Lee SM. 2012. Effects of harvest stage on agronomic characteristics, yield and feed value of silage corn in the newly reclaimed hilly land. *Journal Korean Grassland and Forage Science* 32 (3): 253–264. <http://dx.doi.org/10.5333/KGFS.2012.32.3.253>
- Durand M, Komisarczuk S. 1988. Influence of major minerals on rumen microbiota. *The Journal of Nutrition* 11 (2): 249–260. <https://doi.org/10.1093/jn/118.2.249>
- Elizondo J, Boschini C. 2002. Producción de forraje con maíz criollo y maíz híbrido. *Agronomía Mesoamericana* 13 (1): 13–17.
- Fuentes J, Cruz A, Castro L, Gloria G, Rodríguez S, Ortiz RB. 2001. Evaluación de variedades e híbridos de maíz (*Zea mays* L.) para ensilado. *Agronomía Mesoamericana* 12 (2): 193–197. <http://dx.doi.org/10.15517/am.v12i2.17233>
- Garcés MAM, Berrio RL, Ruiz AS, Serna LJG, Builes AAF. 2004. Ensilaje como fuente de alimentación para el ganado. *Revista Lasallista de Investigación* 1 (1): 66–71.
- Godina JE, Garay JR, Mendoza SI, Joaquín S, Rocandio M, Lucio F. 2020. Rendimiento de forraje y composición morfológica de maíces nativos en condiciones semiáridas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 11 (24): 59–68. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i24.2358>
- González CF, Peña RA, Núñez HG. 2006. Etapas de corte, producción y calidad forrajera de híbridos de maíz de diferente ciclo biológico. *Revista Fitotecnia Mexicana* 29 (Especial 2): 103–107.
- González CF, Peña RA, Núñez HG, Jiménez GCA. 2005. Efecto de la densidad y altura de corte en el rendimiento y calidad del forraje de maíz. *Revista Fitotecnia Mexicana* 28 (4): 393–397.
- González-Martínez J, Rocandio-Rodríguez M, Chacón-Hernández JC, Vanoye-Eligio V, Moreno-Ramírez YR. 2018. Distribución y diversidad de maíces nativos (*Zea mays* L.) en el altiplano de Tamaulipas, México. *Agroproductividad* 11 (1): 124–130.
- Granados-Niño JA, Sánchez-Duarte JI, Ochoa-Martínez E, Rodríguez-Hernández K, Reta-Sánchez DG, López-Calderón MJ. 2022. Efecto del ciclo de producción sobre el potencial de rendimiento y calidad nutricional del maíz forrajero en la Comarca Lagunera. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 28: 207–217. <https://doi.org/10.29312/remexca.v13i28.3276>
- INIFAP (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias). 2017. *Agenda técnica agrícola de Tamaulipas*. INIFAP. México. 409 p.
- Jiménez-Leyva D, Romo-Rubio J, Flores-Aguirre L, Ortiz-López B, Barajas-Cruz R. 2016. Edad de corte en la composición química del ensilado de maíz blanco asgrow-7573. *Abanico Veterinario* 6 (3): 13–23. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2016.63.1>
- Joaquín CS, Rocandio RM, Álvarez VP, Hernández GFJ, Limas MAG, Garay MJR. 2022. Rendimiento y valor nutritivo del forraje y ensilado de maíces nativos en condiciones subtropicales. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 13 (5): 873–881. <https://doi.org/10.29312/remexca.v13i5.3231>

- Lazzarini I, Detmann E, Batista C, Fonseca M, Valadares SC, Augusto M, Albani F. 2009. Intake and digestibility in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. *Revista Brasileira de Zootecnia* 38 (10): 2021–2030. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982009001000024>
- Liu Y, Wang G, Wu H, Meng Q, Khan MZ, Zhou Z. 2021. Effect of hybrid type on fermentation and nutritional parameters of whole plant corn silage. *Animals* 11 (6): 1587. <https://doi.org/10.3390/ani11061587>
- Loučka R, Hakl J, Jirmanová J, Tyrolová Y. 2015. Yearly variation in maize silage fermentation and nutritive quality. *Grass and Forage Science* 70 (4): 674–681. <https://doi.org/10.1111/gfs.12151>
- Malhi GS, Kaur M, Kaushik P. 2021. Impact of climate change on agriculture and its mitigation strategies: A review. *Sustainability* 13 (3): 1318. <https://doi.org/10.3390/su13031318>
- Muñoz AO. 2005. Centli maíz: Prehistoria e historia, diversidad, potencial, origen genético y geográfico. Segunda edición. Colegio de Postgraduados: México.
- Muñoz-Tlahuiz F, Guerrero-Rodríguez JD, Antonio LP, Gil-Muñoz A, López-Sánchez H, Ortiz-Torres E, Hernández-Guzmán JA, Taboada-Gaytán O, Vargas-López S, Valadez-Ramírez M. 2013. Producción de rastrojo y grano de variedades locales de maíz en condiciones de temporal en los valles altos de Libres-Serdán, Puebla, México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 4 (4): 515–530.
- Ortega GC, Ortega BF, Torres MF, Lagos BTC. 2010. Comportamiento agronómico de siete genotipos de maíz amarillo *Zea mays* L. bajo condiciones de clima medio en el departamento de Nariño. *Revista de Agronomía* 27 (1): 18–26.
- Perales MV, Alvarado LF, Hermosillo LJ, Márquez JI, Vega F. 2019. Análisis de rentabilidad económica del uso de zinc en la producción y calidad de maíz forrajero en la comarca lagunera. *Revista Mexicana de Agronegocios* 45: 371–382.
- Rivas MA, Mendoza SI, Sangerman-Jarquín DM, Sánchez MA, Herrera CA, Rojas AR. 2020. Evaluación forrajera de maíces de diversos orígenes de México en la región semiárida. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 11 (24): 93–104. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i24.2361>
- Robles-Jimenez LE, Rosas M, Avalos JO, Chay-Canul AJ, Riocerezo CP, Castelan OA, Gonzalez-Ronquillo M. 2021. Evaluation of Mexican native and hybrid maize (*Zea mays*) silages for sustainable milk production. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 24 (3): 1–10. <http://dx.doi.org/10.56369/tsaes.3782>
- Rodríguez L, Guevara F, Ovando J, Marto JR, Ortiz R. 2016. Crecimiento e índice de cosecha de variedades locales de maíz (*Zea mays* L.) en comunidades de la región frailesca de Chiapas, México. *Cultivos Tropicales* 37 (3): 137–145. <http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.1.1404.6967>
- Ruiz EA, Armienta MA. 2012. Acumulación de arsénico y metales pesados en maíz en suelos cercanos a jales o residuos orgánicos. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 28 (2): 103–117.
- Sah RP, Kumar A, Rana M, Kumar U. 2018. Maize (Corn). In *Forage crops of the world*, Volume I: Major forage crops, Hedayetullah Md, Zaman P. (eds.). Apple Academic Press-Taylor & Francis Group: NY, USA. pp: 15–37. <https://doi.org/10.1201/9781351167369>
- Sánchez-Hernández MA, Morales-Terán G, Mendoza-Pedroza SI, Hernández-Bautista J, Fraire-Cordero S, Rivas-Jacobo MA. 2021. Caracterización productiva de maíces nativos con aptitud forrajera en la cuenca baja del Papaloapan. *Revista Fitotecnia Mexicana* 44 (4A): 755–764. <https://doi.org/10.35196/rfm.2021.4-A.755>
- SAS Institute, Inc. 2002. User's Guide of SAS (Statistical Analysis System). SAS Institute Inc.: NC, USA.
- Vargas TV, Hernández RME, Gutiérrez LJ, Plácido DCJ, Jiménez CA. 2007. Clasificación climática del Estado de Tamaulipas, México. *CienciaUAT* 2 (2): 15–19.
- Zaragoza-Esparza J, Tadeo-Robledo M, Espinosa-Calderón A, López-López C, García-Espinosa JC, Zamudio-González B, Turrent-Fernández A, Rosado-Núñez F. 2019. Rendimiento y calidad de forraje de híbridos de maíz en Valles Altos de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 10 (1): 101–111. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i1.1403>

CHANGES IN BIOACTIVE COMPOUNDS IN FRUITS OF *Eriobotrya japonica* GROWN IN THREE DIFFERENT LOCATIONS IN NORTHEASTERN PERU

Nelson Castillo-Chuquizuta¹, César R. Balcázar-Zumaeta¹, Milagros de Jesús Ricce-Villanueva¹, Segundo Grimaldo Chavez^{1*}

¹ Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias. Programa Académico de Ingeniería Agroindustrial. Calle Higos Urco 342-350-356, Chachapoyas, Amazonas, Peru. C. P. 01001.

* Author for correspondence: segundo.quintana@untrm.edu.pe

ABSTRACT

Recently, there has been a growing interest in bioactive compounds metabolized by plants, which are an important nutritional source for the human diet and are found in almost all vegetables and fruits. The objective was to evaluate the changes of bioactive compounds during the ripening of loquat (*Eriobotrya japonica*) fruit. For this purpose, fruits were collected at three different stages of ripening from three different production sites in the Amazon region, located in northeastern Peru. Color, total phenolic content (Folin-Ciocalteu method), antioxidant activity (DPPH free radical method) and total flavonoids (colorimetric assay) were determined for all samples. Data were subjected to analysis of variance and means were compared by Tukey's test ($p \leq 0.05$). Color and bioactive compounds depend on the stage of ripening and, to a lesser extent, on the origin of the fruit. Ripe fruits have a higher content of phenolic compounds and flavonoids (up to five times higher) that can be used in the food and pharmaceutical industry.

Key words: antioxidant, maturity, loquat, origin.

INTRODUCTION

Bioactive compounds, mainly composed of secondary plant metabolites such as polyphenols, are antioxidant compounds capable of eliminating free radicals in the human body (Hemmat y Hikal, 2017). The fruits are considered an important source of antioxidants that reduce oxidative stress, enhance immunity and reduce the incidence of disease (Mazumdar *et al.*, 2019).

The loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.), a fruit of Asian origin, is cultivated in many parts of the world. It belongs to the Rosaceae family and its flowering period is from April to June (Ahumada *et al.*, 2017; Hemmat y Hikal, 2017). It develops in tropical to temperate conditions. Its nutritional value has been widely demonstrated, so it can be consumed fresh and has a high potential for industrialization. (Sagar *et al.*, 2020). Ahumada *et al.* (2017) y Dhiman *et al.* (2021) mentioned that in addition to the fruit, different parts of the plant such as leaves and flowers have been studied, reporting a

Citation: Castillo-Chuquizuta N, Balcázar-Zumaeta CR, Ricce-Villanueva MJ, Chávez-Quintana SG. 2023. Changes of bioactive compounds in fruits of *Eriobotrya japonica* grown in three different locations in northeastern Peru.

Agrociencia. 57(4): 744-762. doi.org/10.47163/agrociencia.v57i4.2566

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: July 17, 2022.
Approved: February 13, 2023.
Published in Agrociencia:
May 19, 2023.

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



high content of phenols and triterpenes. The fruit has sugars, organic acids, flavonoids, vitamins, phenolic acids and carotenoids (Alos *et al.*, 2019; Cañete *et al.*, 2015), as well as a low toxicity due to its high antioxidant capacity (Delfanian *et al.*, 2016). Its extracts can be used in the pharmaceutical and food industry.

One of the problems faced by fruit growers is the uniformity of fruit maturity. In this regard, it has been shown that, during ripening, the content of phenolic compounds can be reduced by up to 60% (Ahumada *et al.*, 2017). Therefore, a deeper understanding of the changes in these compounds during fruit ripening is needed to standardize harvest timing and uniformity. For Liu *et al.* (2016), it is necessary to study the content of polyphenols, antioxidants and other similar compounds at different stages of ripening (Kim *et al.*, 2019). Therefore, the objective of this study was to evaluate the variations of color, antioxidant activity, flavonoids and polyphenols in loquat fruit at different stages of maturity.

MATERIALS AND METHODS

Plant material

The fruits of *E. japonica* were harvested during April 2021 at three stages of maturity, in plantations located in three different districts: Camporredondo (6° 12' 50" S, 78° 19' 6.96" W), Pisuquia (6° 30' 42.01" S, 78° 4' 30" W) and Ocallí (6° 14' 6" S, 78° 16' 0.84" W), belonging to the province of Luya, Amazonas region, Peru. Ripening stage was determined by fruit color, coded with numbers: (03) yellowish coloration and sparse hairiness; (04) orange coloration and sparse hairiness; and (05) intense orange coloration and minimal hairiness where it reaches its maximum size (Figure 1).

At each site, for each stage of ripening and in triplicate, 1 kg of fruit was collected. They were transported to the Agroindustrial Technology Laboratory of the Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, where the pulp was manually separated from the peel. It was then stored under frozen conditions (-18 °C) until further analysis.

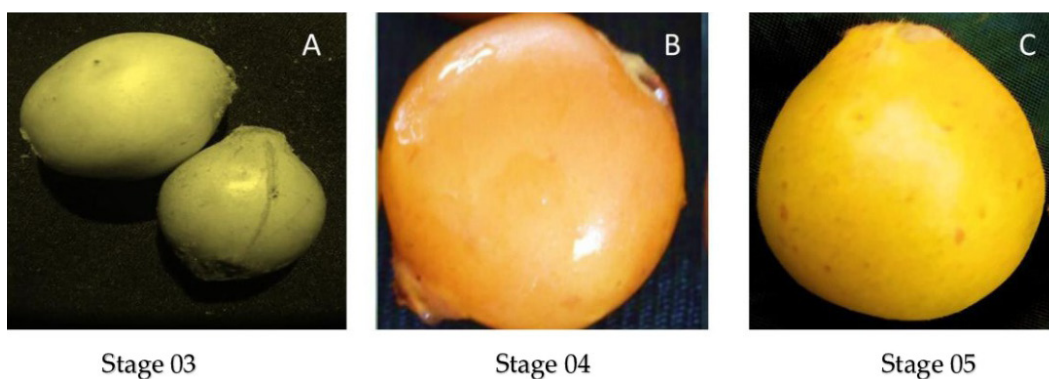


Figure 1. Ripening stages of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruits collected from plantations in three different districts for the study. A: (03); B: (04); C: (05).

Determination of color index

From each sample, 20 uniform fruits that did not show lesions or damage were selected. In three zones around the equatorial plane of the fruit, measurements were made with a colorimeter (Chroma Meter, CR-400, Japan). Color coordinates were captured on the Cie L*a*b* scale, following the procedure described by Alos *et al.* (2019) using the Hunter a*/b* ratio, which is negative for green fruit, around 0 for yellow fruit at color break and positive for orange fruit.

Determination of total polyphenol content

Total polyphenols were determined by the Folin-Ciocalteu spectrophotometric method established by Singleton y Rossi (1965). For this purpose, the fruit pulp was conditioned in accordance with Seon *et al.* (2020). 100 μ L of the sample was prepared and diluted with water to 3 mL, then 0.5 mL Folin-Ciocalteu reagent was added, followed by 2 mL of a 20 % sodium carbonate solution. The absorbance was measured at 650 nm in a UV-VIS spectrophotometer (Unico, S2100, USA). A gallic acid calibration curve was performed with different increasing concentrations of gallic acid between 0 and 16 ppm from a concentrated solution of 100 mg L⁻¹. Total polyphenol content was expressed in terms of mg gallic acid equivalents (GAE) per 100 g of fresh weight material.

Evaluation of the percentage of inhibition (antioxidant activity)

The antioxidant activity of loquat fruit pulp was determined by the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) free radical scavenging assay established by Brand-Williams *et al.* (1995) and described by Hadjipieri *et al.* (2020). For this, initially a DPPH solution was prepared in 100 mL ethanol (0.1 mM), 50 μ L of sample extract was taken and mixed with 950 μ L of ethanol. Subsequently, 2 mL of DPPH radical solution was added, made up to 4 mL with ethanol and allowed to stand for 30 min in the dark. In addition, a "blank" solution was prepared with the same procedure substituting ethanol for the sample. The absorbance was determined spectrophotometrically at 517 nm. The results were expressed as percentage of inhibition (%) by the difference in absorbance of the blank solution and the pulp, with respect to the blank solution.

Determination of total flavonoid content

The determination of flavonoids was performed according to the method employed by Akbulut *et al.* (2017), where 1 mL of sample that was previously diluted with 4 mL of distilled water, mixed with 300 μ L of a 5 % NaNO₂ solution and 300 μ L AlCl₃ (10 %), and allowed to rest for 5 min. Subsequently, 2 mL of NaOH solution (1M) was added and diluted with distilled water until 10 mL of total solution was obtained. The absorbance was measured using a spectrophotometer (Unico, S2100, USA) at a length of 510 nm; in addition, a calibration curve was performed with different routine concentrations. Total flavonoid content was expressed on a rutin equivalent (RE) basis as mg RE g⁻¹ of fresh weight material.

Data analysis

Results were expressed as mean \pm standard deviation and were processed by one-way analysis of variance (ANOVA). The Tukey test was used in each place of origin to demonstrate possible statistical differences with a significance level of $p < 0.05$ using Minitab 19 Statistical Software.

RESULTS AND DISCUSSION

A decreasing trend was observed in the L^* and b^* coordinates. In contrast, a^* showed an increase as the fruit ripened. It is known that color is related to ripening due to the accumulation of pigmentation and the variation in sugar and acid content in the fruit; (Samaniego *et al.*, 2020); as mentioned, lightness varied between 40.09 and 61.3, similar to that reported by Hadjipieri *et al.* (2017) for loquat (52.12–74.32). The tendency to decrease brightness, according to Samaniego *et al.* (2020), expresses the intensity of fruit color as the fruit ripens. The chromatic coordinate a^* ranged from 1.3 to 13.2, and b^* ranged from 9.2 to 29.1 with a certain tendency to decrease in the three states (Table 1), which are values approximating those obtained in loquat in the study of Hadjipieri *et al.* (2017). These coordinates indicate the variation of red or yellow color in the fruit, related to the accumulation of anthocyanins (Samaniego *et al.*, 2020).

Table 1. Color characteristics (L , a^* and b^* ; a^*/b^*) of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruits at different ripening stages.

Origin	E	L^*	a^*	b^*	Color index
Camporredondo	3	58.848 \pm 3.577 a	4.277 \pm 2.151 c	27.706 \pm 3.987 a	0.161 \pm 0.083 b
	4	58.811 \pm 3.429 a	6.778 \pm 1.859 b	28.475 \pm 4.208 a	0.245 \pm 0.087 b
	5	41.619 \pm 3.622 b	13.130 \pm 1.313 a	11.802 \pm 4.084 b	1.219 \pm 0.361 a
Ocallí	3	58.808 \pm 4.312 a	1.303 \pm 1.115 c	28.167 \pm 4.368 a	0.060 \pm 0.051 b
	4	59.228 \pm 3.749 a	3.691 \pm 0.949 b	25.894 \pm 3.754 b	0.147 \pm 0.047 b
	5	41.837 \pm 1.689 b	11.814 \pm 0.788 a	9.277 \pm 3.935 c	1.440 \pm 0.473 a
Pisuquia	3	59.925 \pm 2.016 b	2.098 \pm 1.199 c	28.508 \pm 2.798 a	0.074 \pm 0.044 b
	4	61.325 \pm 2.708 a	4.035 \pm 1.462 b	29.146 \pm 3.693 a	0.142 \pm 0.061 b
	5	40.091 \pm 3.293 c	13.233 \pm 1.649 a	9.680 \pm 3.154 b	1.453 \pm 0.296 a

L^* : brightness; a^* : red or green content; b^* : yellow or blue content. For each ripening stage, different lowercase letters indicate significantly different means among genotypes (Tukey; $p \leq 0.05$).

The Hunter ratio in the study did not report negative values at the ripening stages, showing an increase as the fruit ripened, with values ranging from 0.06 to 1.45. The color index reported values close to zero, which usually present pale yellow colors; the highest values reported (orange colors in the case of loquat) are also associated with ethylene production during ripening (Hadjipieri *et al.*, 2017) (Figura 1). The maximum color index obtained in loquat was 1.45, which, according to Alos *et al.* (2019) y Hadjipieri *et al.* (2017) may be due to the accumulation of carotenoids by fruit development. This variation contradicts the theory that determines this fruit as non-

climacteric, which according to Alos *et al.* (2017; 2019) indicates a ripening pattern due to color changes by ethylene production and respiration rate, demonstrating that loquat presents a climacteric ripening.

As for the variation in total polyphenol content, the values ranged from 39.2 to 150.9 mg GAE 100 g⁻¹, with the fruit from Ocallí being higher. The variation of the content in the three locations may be due to genetic, environmental and postharvest conditions of loquat fruit (Delfanian *et al.*, 2016; Dhiman *et al.*, 2021). The results obtained are similar to those reported by Ahumada *et al.* (2017) per 100 g of sample (66 to 96 mg GAE); in addition, a tendency to increase as the fruit ripens is observed, since there is an adequate fit of the data line between polyphenols and ripening stage with an R² greater than 0.77, which are related to the concentration of certain phenols that appear during ripening (Hadjipieri *et al.*, 2020), an inverse relationship with the content of total soluble solids in the form of free sugars and a greater primary metabolism that generates the necessary substrate for the biosynthesis of phenolic compounds (Dhiman *et al.*, 2021; Kim *et al.*, 2019).

The polyphenol content in loquat (Figure 2) was found to be below that reported in comparison with native berries from the Amazon region reported by Rojas-Ocampo *et al.* (2021), which reached a maximum of 4.87 mg GAE 100 g⁻¹; and by Grández-Yoplac *et al.* (2021) who obtained 12.61 mg GAE 100 g⁻¹ in the drying of blackberry. Similarly, the content found in the ripening stages of loquat was low in comparison to extracts of guava, blueberry and aguaymanto calyx fruits as reported by (Chauca-Aguilar y Chávez-Quintana, 2020).

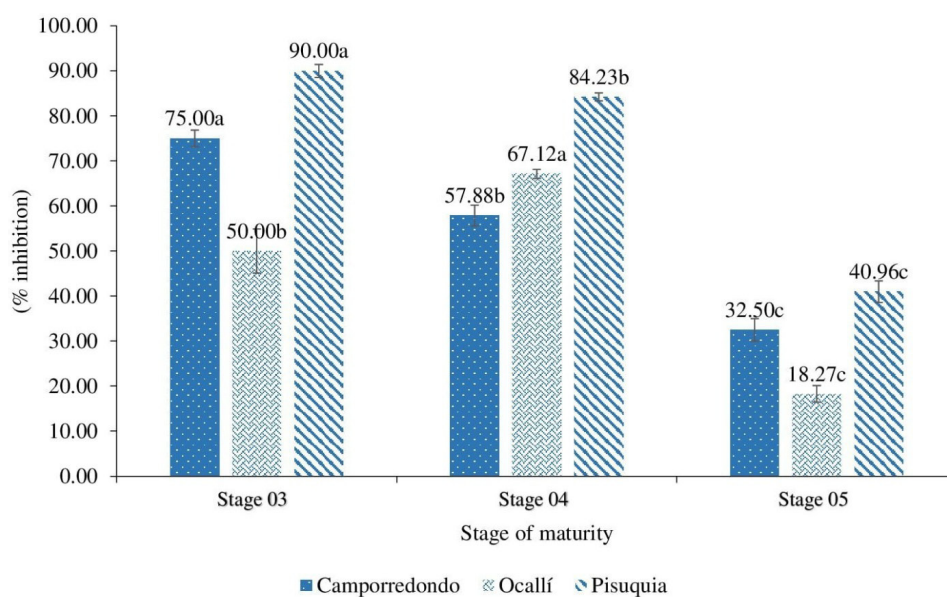


Figure 2. Changes in total polyphenol content at different ripening stages of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruits from three origins in the Amazon region. For each ripening stage, different lowercase letters indicate significantly different means among genotypes (Tukey; $p \leq 0.05$).

The percentage of inhibition decreased from 90 % to 18.27 % as the fruit ripened, although in the Ocalli fruit at stage 4 an atypical increase was reported that generated a low linear fit to the data ($R^2 = 0.4$). On the other hand, Pisuquia fruit showed higher antioxidant activity by DPPH assay compared to the rest at the three ripening stages. In general, it was observed that there was a linear fit with a R^2 greater than 0.83 in two districts (Figure 3). The variation in loquat antioxidant activity is due to the higher phytochemical content of oxidative substances in the early stages of ripening, which tends to decrease during ripening, as shown in the results of the study (Hadjipieri *et al.*, 2020; Hou *et al.*, 2021).

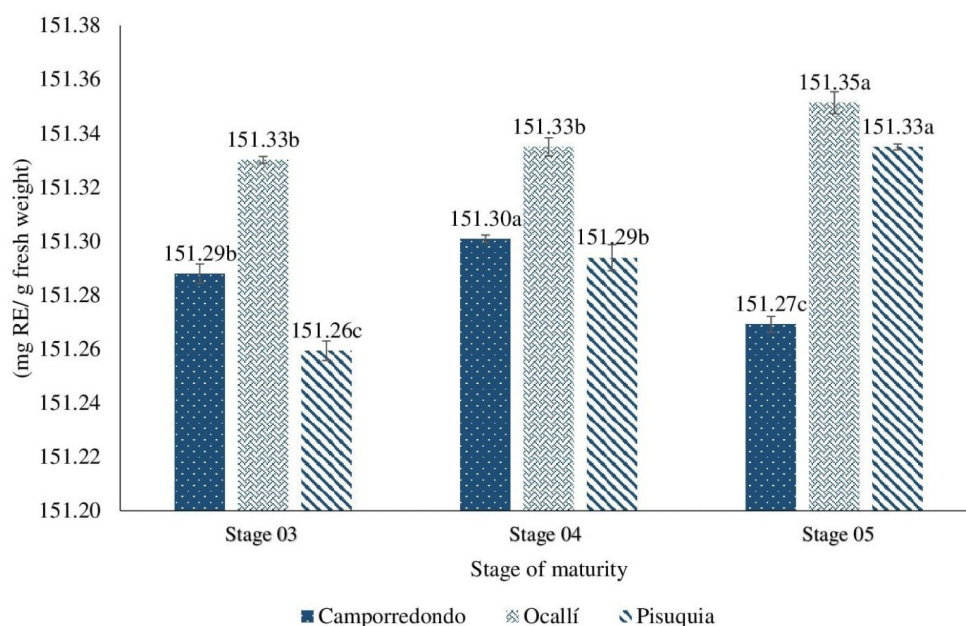


Figure 3. Changes in antioxidant activity (percentage of inhibition) at different ripening stages of loquat fruits (*Eriobotrya japonica* Lindl.) three provenances from the Amazon region. For each ripening stage, different lowercase letters indicate significantly different means among genotypes (Tukey; $p \leq 0.05$).

Differences in percent inhibition by provenance, according to Sagar *et al.* (2020), are attributed to antioxidant activity in loquat due to cultivar contrasts, environmental effects, and genetic background influencing fruit antioxidant accumulation. Likewise, the linear fit of the data among the variables (Figure 3) is related to that determined by Ahumada *et al.* (2017), who report a significant decrease in antioxidants associated with fruit ripening. Furthermore, loquat and other fruits grown in the Amazon region with high antioxidant activity, as reported by Chauca-Aguilar y Chávez-Quintana (2020), Grández-Yoplac *et al.* (2021) y Rojas-Ocampo *et al.* (2021), are a source of bioactive compounds of plant origin, which in turn are influenced by genetic factors, environmental conditions and the state of ripening of the fruit (Chauca-Aguilar y Chávez-Quintana, 2020).

The flavonoid content (Figure 4) was higher than 150 mg RE g⁻¹ sample. As the fruit passes through the ripening stages considered, the flavonoid content increased, thus showing that this fruit exhibits an important content of the nutrient that helps to inhibit oxidative action *in vivo*, demonstrating in turn its capacity to eliminate free radicals (Dhiman *et al.*, 2021; Seon *et al.*, 2020). It was also demonstrated that loquat has a high degree of accumulation of flavonoids (Akbulut *et al.*, 2017), with a higher content in the fruits from Ocallí.

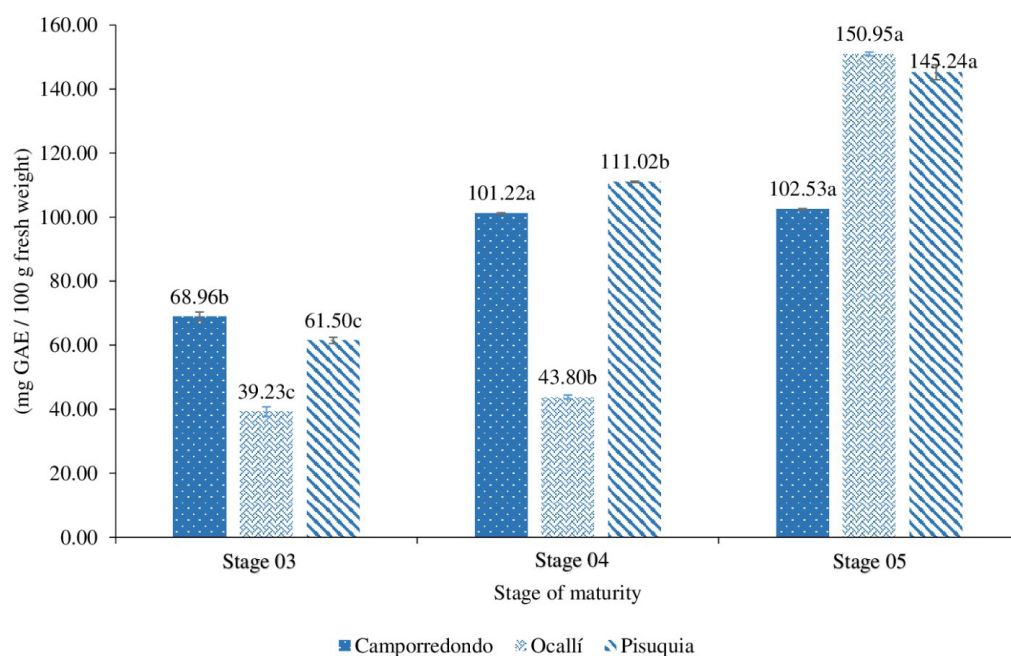


Figure 4. Changes in flavonoid content at different ripening stages of loquat fruits (*Eriobotrya japonica* Lindl.), three origins from the Amazon region. For each ripening stage, different lowercase letters indicate significantly different means among genotypes (Tukey; $p \leq 0.05$).

The data showed a linear trend of ripening stage with flavonoid content, obtaining R² values greater than 0.9 in the districts of Ocallí and Pisuquia, with the exception of the fruit from Camporredondo, which showed atypical behavior. From this, it can be deduced that loquat, in similarity with other fruits, presents a relationship between the level of flavonoids and the state of ripening as obtained by Grigio *et al.* (2021) y Neves *et al.* (2015), who agree in indicating that the more advanced the ripening, the higher the flavonoid content. Depending on the place of cultivation and stage of ripening, the content of flavonoids tends to increase (Samaniego *et al.*, 2020). The differences can be explained by the presence of enzymes responsible for flavonoid synthesis that influence their variation during fruit ripening (Hou *et al.*, 2021). Likewise, the increase of flavonoids during the ripening of loquat shows a similar behavior to camu-camu,

where Grigio *et al.* (2021) reported that the flavonoid content in the ripe fruit presents the highest level, followed by the semi-ripe and unripe fruit.

CONCLUSIONS

The color of loquat fruits (*Eriobotrya japonica* Lindl.) depends basically on the stage of maturity, the place of production does not have a considerable influence. As loquat fruit increases in maturity, the content of phenolic compounds and flavonoids increases; however, the antioxidant activity of the extract decreases. The ripening stage is essential to obtain loquat fruits with a high content of bioactive compounds for food and industrial purposes.

ACKNOWLEDGMENTS

To the Faculty of Engineering and Agricultural Sciences of the Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas (Peru), for providing the space and means for the development of the research.

REFERENCES

- Ahumada J, Fuentealba C, Olaeta JA, Undurraga P, Pedreschi R, Shetty K, Chirinos R, Campos D, Gálvez-Ranilla L. 2017. Bioactive compounds of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) cv. Golden Nugget and analysis of the *in vitro* functionality for hyperglycemia management. *Ciencia e Investigación Agraria* 44 (3): 271–283. <https://doi.org/10.7764/rcia.v44i3.1816>
- Akbulut M, Gozlekci S, Ercisli S, Cakir O. 2017. Morphological, biochemical and antioxidant properties of local loquat (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) germplasm from Turkey. *Erwerbs-Obstbau* 59 (3): 203–209. <https://doi.org/10.1007/s10341-016-0313-7>
- Alos E, Martínez-Fuentes A, Reig C, Mesejo C, Rodrigo MJ, Agustí M, Zacarías L. 2017. Ethylene biosynthesis and perception during ripening of loquat fruit (*Eriobotrya japonica* Lindl.). *Journal of Plant Physiology* 210: 64–71. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2016.12.008>
- Alos E, Martínez-Fuentes A, Reig C, Mesejo C, Zacarías L, Agustí M, Rodrigo MJ. 2019. Involvement of ethylene in color changes and carotenoid biosynthesis in loquat fruit (*Eriobotrya japonica* Lindl. Cv. Algeria). *Postharvest Biology and Technology* 149: 129–138. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.11.022>
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology* 28 (1): 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Cañete ML, Hueso JJ, Pinillos V, Cuevas J. 2015. Ripening degree at harvest affects bruising susceptibility and fruit sensorial traits of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.). *Scientia Horticulturae* 187: 102–107. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.03.008>
- Chauca-Aguilar MA, Chávez-Quintana SG. 2020. Fenoles y capacidad antioxidante de *Psidium guajava*, *Vaccinium myrtillus*, *Selenicereus megalanthus* y *Physalis peruviana* de diferentes procedencias. *Bioagro* 32 (3): 225–230.
- Delfanian M, Esmailzadeh Kenari R, Sahari MA. 2016. Effect of natural extracted antioxidants from *Eriobotrya japonica* (Lindl.) fruit skin on thermo oxidative stability of soybean oil during deep frying. *International Journal of Food Properties* 19 (5): 958–973. <https://doi.org/10.1080/10942912.2015.1041039>
- Dhiman A, Suhag R, Thakur D, Gupta V, Prabhakar PK. 2021. Current status of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.): bioactive functions, preservation approaches, and processed products. *Food Reviews International* 38 (1): 286–316. <https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1866007>
- Grández-Yoplac DE, Mori-Mestanza D, Muñoz-Astecker LD, Cayo-Colca IS, Castro-Alayo EM. 2021. Kinetics drying of blackberry bagasse and degradation of anthocyanins and bioactive properties. *Antioxidants* 10 (4): 548. <https://doi.org/10.3390/antiox10040548>

- Grigio ML, de Moura EA, Alves Chagas E, Berlingieri Durigan MF, Cardoso Chagas P, Ferreira de Carvalho G, Zanchetta JJ. 2021. Bioactive compounds in and antioxidant activity of camu-camu fruits harvested at different maturation stages during postharvest storage. *Acta Scientiarum. Agronomy* 43: e50997. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v43i1.50997>
- Hadjipieri M, Christofi M, Goulas V, Manganaris GA. 2020. The impact of genotype and harvesting day on qualitative attributes, postharvest performance and bioactive content of loquat fruit. *Scientia Horticulturae* 263: 108891. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108891>
- Hadjipieri M, Georgiadou EC, Marin A, Diaz-Mula HM, Goulas V, Fotopoulos V, Tomás-Barberán FA, Manganaris GA. 2017. Metabolic and transcriptional elucidation of the carotenoid biosynthesis pathway in peel and flesh tissue of loquat fruit during on-tree development. *BMC Plant Biology* 17 (1): 102. <https://doi.org/10.1186/s12870-017-1041-3>
- Hemmat I, Hikal M. 2017. Antioxidant activities and related phytochemical constituents of ethanolic extract of some fruits *in vitro*. *Journal of Agricultural Chemistry and Biotechnology* 8 (3): 99–104. <https://doi.org/10.21608/jacb.2017.38461>
- Hou J, Liang L, Su M, Yang T, Mao X, Wang Y. 2021. Variations in phenolic acids and antioxidant activity of navel orange at different growth stages. *Food Chemistry* 360: 129980. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129980>
- Kim DW, Lee WJ, Asmelash Gebru Y, Choi HS, Yeo SH, Jeong YJ, Kim S, Kim YH, Kim MK. 2019. Comparison of bioactive compounds and antioxidant activities of *Maclura tricuspidata* fruit extracts at different maturity stages. *Molecules* 24 (3): 567. <https://doi.org/10.3390/molecules24030567>
- Liu Y, Zhang W, Xu C, Li X. 2016. Biological activities of extracts from loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.): a review. *International Journal of Molecular Sciences* 17 (12): 1983. <https://doi.org/10.3390/ijms17121983>
- Mazumdar P, Pratama H, Lau SE, Teo CH, Harikrishna JA. 2019. Biology, phytochemical profile and prospects for snake fruit: An antioxidant-rich fruit of South East Asia. *Trends in Food Science and Technology* 91: 147–158. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.06.017>
- Neves LC, da Silva VX, Pontis JA, Flach A, Roberto SR. 2015. Bioactive compounds and antioxidant activity in pre-harvest camu-camu [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh] fruits. *Scientia Horticulturae* 186: 223–229. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.02.031>
- Rojas-Ocampo E, Torrejón-Valqui L, Muñoz-Astecker LD, Medina-Mendoza M, Mori-Mestanza D, Castro-Alayo EM. 2021. Antioxidant capacity, total phenolic content and phenolic compounds of pulp and bagasse of four Peruvian berries. *Heliyon* 7 (8): e07787. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07787>
- Sagar NA, Pareek S, Bhardwaj R, Vyas N. 2020. Bioactive compounds of loquat (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) L.). In *Bioactive Compounds in Underutilized Fruits and Nuts*; Murthy HN, Bapat VA (eds.). Springer International Publishing: Cham, Switzerland, pp: 1–21. https://doi.org/10.1007/978-3-030-06120-3_10-1
- Samaniago I, Brito B, Viera W, Cabrera A, Llerena W, Kannangara T, Vilcacundo R, Angós I, Carrillo W. 2020. Influence of the maturity stage on the phytochemical composition and the antioxidant activity of four andean blackberry cultivars (*Rubus glaucus* Benth) from Ecuador. *Plants* 9 (8): 1027. <https://doi.org/10.3390/plants9081027>
- Seon HY, Sun S, Yim SH. 2020. Correlation of the free radical and antioxidant activities of *Eriobotrya japonica* Lindl. with phenolic and flavonoid contents. *Food Science and Technology* 41 (4): 1025–1032. <https://doi.org/10.1590/fst.21720>
- Singleton VL, Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16 (3): 144–158.

CAMBIOS DE COMPUESTOS BIOACTIVOS EN FRUTOS DE *Eriobotrya japonica* CULTIVADOS EN TRES LUGARES DIFERENTES DEL NORORIENTE DEL PERÚ

Nelson Castillo-Chuquizuta¹, César R. Balcázar-Zumaeta¹, Milagros de Jesús Ricce-Villanueva¹, Segundo Grimaldo Chavez^{1*}

¹ Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias. Programa Académico de Ingeniería Agroindustrial. Calle Higos Urco 342-350-356, Chachapoyas, Amazonas, Perú. C. P. 01001.

* Autor para correspondencia segundo.quintana@untrm.edu.pe

RESUMEN

Recientemente, se ha observado un interés creciente en los compuestos bioactivos metabolizados por las plantas, los cuales son fuente nutritiva importante para la dieta humana y se encuentran en casi todos los vegetales y las frutas. El objetivo fue evaluar los cambios de compuestos bioactivos durante la maduración del fruto de níspero (*Eriobotrya japonica*). Para ello se colectaron frutos en tres estados de madurez de tres lugares distintos de producción de la región Amazonas, ubicada en el nororiente peruano. A todas las muestras se les determinó el color, contenido fenólico total (método de Folin-Ciocalteu), actividad antioxidante (método del radical libre DPPH) y flavonoides totales (ensayo colorimétrico). Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza y las medias fueron comparadas por prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). El color y los compuestos bioactivos dependen del estado de madurez y, en menor medida, de la procedencia de la fruta. Frutas más maduras tienen mayor contenido de compuestos fenólicos y flavonoides (hasta cinco veces superior) que pueden ser aprovechados en la industria alimentaria y farmacéutica.

Palabras clave: antioxidante, madurez, níspero, procedencia.

INTRODUCCIÓN

Los compuestos bioactivos conformados principalmente por metabolitos secundarios de plantas como los polifenoles, son compuestos antioxidantes capaces de eliminar radicales libres en el organismo humano (Hemmat y Hikal, 2017). Las frutas son consideradas fuente importante de antioxidantes que reducen el estrés oxidativo, mejoran la inmunidad y reducen la incidencia de enfermedades (Mazumdar *et al.*, 2019). El níspero (*Eriobotrya japonica* Lindl.), fruta de origen asiático, es cultivado en muchos lugares del mundo. Pertenece a la familia Rosaceae y su periodo de floración es de abril a junio (Ahumada *et al.*, 2017; Hemmat y Hikal, 2017). Se desarrolla en condiciones de trópico hasta zonas templadas. Su valor nutricional ha sido ampliamente demostrado, por lo que puede ser consumido en fresco y tiene un elevado potencial de industrialización (Sagar *et al.*, 2020). Ahumada *et al.* (2017) y Dhiman *et al.* (2021)

Citation: Castillo-Chuquizuta N, Balcázar-Zumaeta CR, Ricce-Villanueva MJ, Chávez-Quintana SG. 2023. Cambios de compuestos bioactivos en frutos de *Eriobotrya japonica* cultivados en tres lugares diferentes del nororiente del Perú.

Agrociencia 57(4): 744-762.
doi.org/ 10.47163/agrociencia.v57i4.2566

Editor in Chief:

Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: July 17, 2022.

Approved: February 13, 2023.

Published in Agrociencia:

May 19, 2023.

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



mencionan que además del fruto, distintas partes de la planta como hojas y flores han sido estudiadas, reportando un alto contenido de fenoles y triterpenos. La fruta posee azúcares, ácidos orgánicos, flavonoides, vitaminas, ácidos fenólicos y carotenoides (Alos *et al.*, 2019; Cañete *et al.*, 2015), además de una baja toxicidad dada su elevada capacidad antioxidante (Delfanian *et al.*, 2016). Sus extractos pueden ser empleados en la industria farmacéutica y alimentaria.

Uno de los problemas que enfrentan los productores frutícolas es la uniformidad en la madurez de las frutas. Al respecto, se ha demostrado que, durante la madurez, el contenido de compuestos fenólicos puede reducirse hasta un 60 % (Ahumada *et al.*, 2017). Por ello, es necesario conocer con mayor profundidad los cambios de estos compuestos durante la maduración de la fruta, con la finalidad de estandarizar el momento de cosecha y la uniformidad. Para Liu *et al.* (2016) es necesario estudiar el contenido de polifenoles, antioxidantes y otros compuestos similares en distintas etapas de madurez (Kim *et al.*, 2019). Por ello, el objetivo de este estudio fue evaluar las variaciones de color, actividad antioxidante, flavonoides y polifenoles en fruto de níspero en diferentes estados de madurez.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Los frutos de *E. japonica* se recolectaron durante el mes de abril del 2021 en tres estados de madurez, en plantaciones ubicadas en tres distritos diferentes: Camporredondo (6° 12' 50" S, 78° 19' 6.96" O), Pisuquia (6° 30' 42.01" S, 78° 4' 30" O) y Ocallí (6° 14' 6" S, 78° 16' 0.84" O), pertenecientes a la provincia de Luya, región Amazonas, Perú. El estado de madurez estuvo determinado por el color del fruto, codificado con números: (03) coloración amarillenta y velloso poco densa; (04) coloración anaranjada y velloso poco densa; y (05) coloración naranja intenso y velloso mínima donde se alcanza su máximo tamaño (Figura 1).

En cada lugar, para cada estado de madurez y por triplicado, se colectó 1 kg de frutas. Fueron transportadas al Laboratorio de Tecnología Agroindustrial de la Universidad

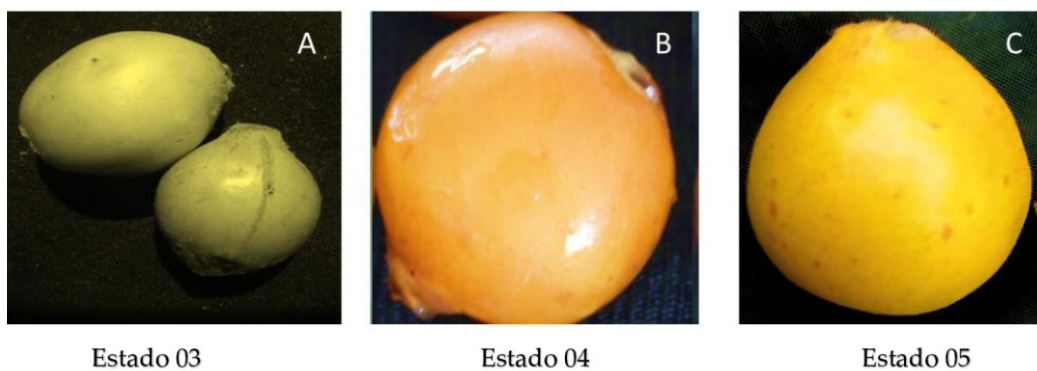


Figura 1. Estados de maduración de frutos de níspero (*Eriobotrya japonica* Lindl.) colectados de plantaciones de tres distritos diferentes para el estudio. A: (03); B: (04); C: (05).

Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, en donde se procedió a separar la pulpa de la cáscara manualmente. Luego, se almacenó en condiciones de congelación (-18 °C) hasta su posterior análisis.

Determinación del índice de color

De cada muestra, se seleccionaron 20 frutos uniformes que no presentaron lesiones o daños. En tres zonas alrededor del plano ecuatorial del fruto, se realizaron las mediciones con un colorímetro (Chroma Meter, CR-400, Japón). Se capturaron las coordenadas de color en la escala Cie $L^*a^*b^*$, siguiendo el procedimiento descrito por Alos *et al.* (2019) mediante la relación Hunter a^*/b^* , que es negativo para la fruta verde, alrededor de 0 para fruta amarilla en la rotura de color y positiva para fruta de color naranja.

Determinación del contenido de polifenoles totales

Los polifenoles totales se determinaron mediante el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu establecido por Singleton y Rossi (1965). Para ello, se acondicionó la pulpa de la fruta de acuerdo a Seon *et al.* (2020). Se preparó 100 μ L de la muestra y se diluyó con agua hasta 3 mL, posteriormente se adicionó 0.5 mL reactivo Folin-Ciocalteu, y luego 2 mL de una solución de carbonato de sodio al 20 %. La absorbancia se midió a 650 nm en un espectrofotómetro UV-VIS (Unico, S2100, EUA). Se realizó una curva de calibración de ácido gálico con distintas concentraciones crecientes de ácido gálico entre 0 y 16 ppm a partir de una disolución concentrada de 100 mg L⁻¹. El contenido de polifenoles totales se expresó en términos de mg equivalentes ácido gálico (GAE) por cada 100 g de material de peso fresco.

Evaluación del porcentaje de inhibición (actividad antioxidante)

La actividad antioxidante de la pulpa de fruto de níspero fue determinada mediante el ensayo de eliminación de radicales libres DPPH (2,2-difenil-1-picrylhidrazil) establecido por Brand-Williams *et al.* (1995) y descrito por Hadjipieri *et al.* (2020). Para ello, inicialmente se preparó una solución DPPH en 100 mL de etanol (0.1 mM), se tomó 50 μ L de extracto de la muestra y mezcló con 950 μ L de etanol. Posteriormente se agregó 2 mL de solución del radical DPPH, se aforó a 4 mL con etanol y se dejó en reposo por 30 min en oscuridad. Además, se preparó una solución en "blanco" con el mismo procedimiento sustituyendo la muestra por etanol. La absorbancia se determinó por espectrofotometría a 517 nm. Los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición (%) mediante la diferencia de absorbancias de la solución en blanco y la pulpa, respecto a la solución en blanco.

Determinación del contenido de flavonoides totales

La determinación de flavonoides se realizó de acuerdo al método empleado por Akbulut *et al.* (2017), donde 1 mL de muestra que se diluyó previamente con 4 mL de agua destilada, se mezcló con 300 μ L de una solución de NaNO₂ al 5 % y 300 μ L AlCl₃

(10 %), y se dejó reposar por 5 min. Posteriormente se agregó 2 mL de solución de NaOH (1M) y se diluyó con agua destilada hasta obtener 10 mL de solución total. La absorbancia se midió empleando un espectrofotómetro (Unico, S2100, EUA) a una longitud de 510 nm; además, se realizó una curva de calibración con distintas concentraciones de rutina. El contenido de flavonoides totales se expresó en función de rutina equivalente (RE) como mg RE g⁻¹ de material de peso fresco.

Análisis de datos

Los resultados se expresaron como media ± desviación estándar y fueron procesados mediante un análisis de varianza unidireccional (ANOVA). Se empleó la prueba Tukey en cada lugar de procedencia para evidenciar posibles diferencias estadísticas con un nivel de significancia $p < 0.05$ mediante el uso de Minitab 19 Statistical Software.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observó en las coordenadas L* y b* una tendencia a disminuir. Por el contrario, en el caso de a* se mostró un incremento conforme sucede la maduración del fruto. Como se sabe, el color está relacionado con la madurez debido a la acumulación de pigmentación y la variación en el contenido de azúcares y ácidos en el fruto (Samaniego *et al.*, 2020); como se mencionó, la luminosidad varió entre 40.09 y 61.3, similar a lo reportado por Hadjipieri *et al.* (2017) para el níspero (52.12–74.32). La tendencia a disminuir la luminosidad, según Samaniego *et al.* (2020), expresa la intensidad del color del fruto conforme el fruto madura. La coordenada cromática a* varió de 1.3 a 13.2, y b* osciló entre 9.2 y 29.1 con una cierta tendencia a decrecer en los tres estados (Cuadro 1), que son valores aproximados a los obtenidos en níspero en el estudio de Hadjipieri *et al.* (2017). Estas coordenadas indican la variación de color rojo o amarillo en el fruto, relacionado a la acumulación de antocianinas (Samaniego *et al.*, 2020).

Cuadro 1. Características de color (L, a* y b*; a*/b*) de frutos de níspero (*Eriobotrya japonica* Lindl.) en distintos estados de madurez.

Procedencia	E	L*	a*	b*	Índice de color
Camporredondo	3	58.848±3.577 a	4.277±2.151 c	27.706±3.987 a	0.161±0.083 b
	4	58.811±3.429 a	6.778±1.859 b	28.475±4.208 a	0.245±0.087 b
	5	41.619±3.622 b	13.130±1.313 a	11.802±4.084 b	1.219±0.361 a
Ocallí	3	58.808±4.312 a	1.303±1.115 c	28.167±4.368 a	0.060±0.051 b
	4	59.228±3.749 a	3.691±0.949 b	25.894±3.754 b	0.147±0.047 b
Pisuquia	5	41.837±1.689 b	11.814±0.788 a	9.277±3.935 c	1.440±0.473 a
	3	59.925±2.016 b	2.098±1.199 c	28.508±2.798 a	0.074±0.044 b
	4	61.325±2.708 a	4.035±1.462 b	29.146±3.693 a	0.142±0.061 b
	5	40.091±3.293 c	13.233±1.649 a	9.680±3.154 b	1.453±0.296 a

L*: luminosidad; a*: contenido de rojo o de verde; b*: contenido de amarillo o de azul. Para cada estado de maduración, letras minúsculas diferentes indican medias significativamente diferentes entre genotipos (Tukey; $p \leq 0.05$).

La relación Hunter en el estudio no reportó valores negativos en los estados de madurez, mostrando un incremento conforme maduraba el fruto, cuyos valores oscilaron entre 0.06 y 1.45. El índice de color reportó valores cercanos a cero, que suelen presentar colores amarillos pálidos; los valores más altos reportados (colores naranja en el caso del níspero) están asociados también a la producción de etileno en la maduración (Hadjipieri *et al.*, 2017) (Figura 1). El índice de color máximo obtenido en níspero fue de 1.45 que, de acuerdo a Alos *et al.* (2019) y Hadjipieri *et al.* (2017), se puede deber a la acumulación de carotenoides por el desarrollo del fruto. Esta variación contrapone la teoría que determina a dicho fruto como no climatérico, que de acuerdo a Alos *et al.* (2017; 2019) indica un patrón de maduración debido a los cambios de color por la producción de etileno y tasa de respiración, demostrando que el níspero presenta una maduración climatérica.

En cuanto a la variación en el contenido de polifenoles totales, los valores oscilaron entre 39.2 y 150.9 mg GAE 100 g⁻¹, siendo mayor el fruto procedente de Ocallí. La variación del contenido en los tres lugares se puede deber a factores genéticos, ambientales y a las condiciones en la postcosecha del fruto de níspero (Delfanian *et al.*, 2016; Dhiman *et al.*, 2021). Los resultados obtenidos son similares a lo reportado por Ahumada *et al.* (2017) por 100 g de muestra (66 a 96 mg GAE); además, se observa una tendencia a aumentar conforme se da la maduración del fruto, puesto que existe un ajuste adecuado de la línea de los datos entre los polifenoles y el estado de madurez con un R² mayor a 0.77, que se relacionan con la concentración de ciertos fenoles que aparecen durante la maduración (Hadjipieri *et al.*, 2020), una relación inversa con el contenido de sólidos solubles totales en forma de azúcares libres y de un mayor metabolismo primario que genera el sustrato necesario para la biosíntesis de compuestos fenólicos (Dhiman *et al.*, 2021; Kim *et al.*, 2019).

El contenido de polifenoles en el níspero (Figura 2) se encontró por debajo de lo reportado a comparación de los berries nativos de la región Amazonas reportados por Rojas-Ocampo *et al.* (2021), que alcanzaron un máximo de 4.87 mg GAE 100 g⁻¹; y por Grández-Yoplac *et al.* (2021) que obtuvo 12.61 mg GAE 100 g⁻¹ en el secado de mora. De igual forma, el contenido encontrado en los estados de madurez del níspero fue bajo en comparación a extractos de frutos de la guayaba, arándano y cáliz de aguaymanto según lo investigado por (Chauca-Aguilar y Chávez-Quintana, 2020).

El porcentaje de inhibición disminuyó desde un 90 % hasta 18.27 % conforme maduraba el fruto, aunque en el procedente de Ocallí en el estado 4 se reportó un incremento atípico que generó un bajo ajuste lineal de los datos (R²= 0.4). Por otro lado, el fruto de Pisuquia mostró mayor actividad antioxidante mediante el ensayo DPPH en comparación al resto en los tres estados de madurez. En general, se observa que con la disminución en función del estado de madurez existió un ajuste lineal con un R² mayor a 0.83 en dos distritos (Figura 3). La variación en la actividad antioxidante de níspero se debe a que en los primeros estados de madurez existe un mayor contenido fitoquímico de sustancias oxidativas y que durante la maduración tienden a disminuir, como se observa en los resultados del estudio (Hadjipieri *et al.*, 2020; Hou *et al.*, 2021).

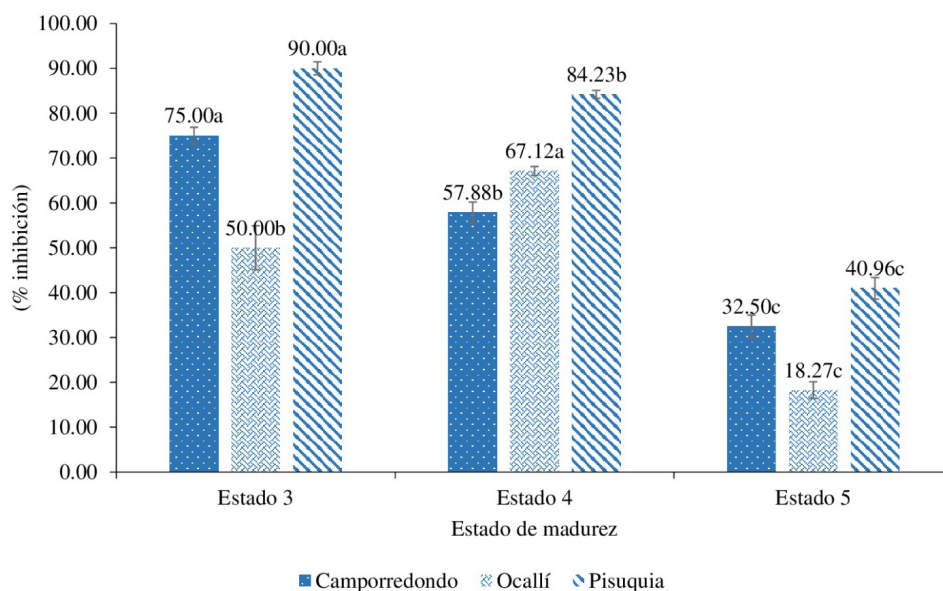


Figura 2. Cambios en el contenido total de polifenoles en diferentes estados de madurez de frutos de nispero (*Eriobotrya japonica* Lindl.) de tres procedencias de la región Amazonas. Para cada estado de maduración, letras minúsculas diferentes indican medias significativamente diferentes entre los distintos genotipos (Tukey; $p \leq 0.05$).

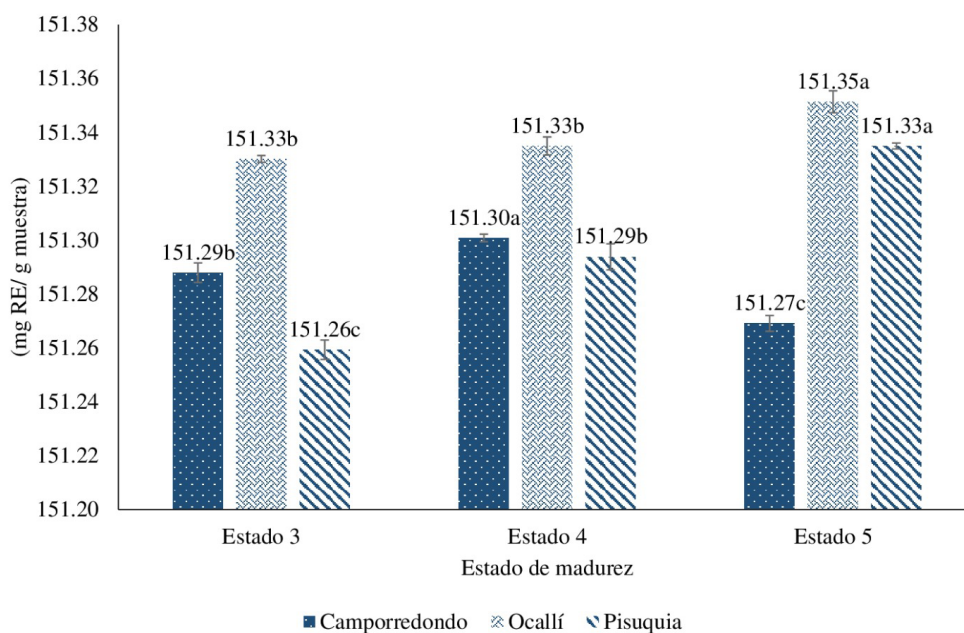


Figura 3. Cambios en la actividad antioxidante (porcentaje de inhibición) en diferentes estados de madurez de frutos de nispero (*Eriobotrya japonica* Lindl.) tres procedencias de la región Amazonas. Para cada estado de maduración, letras minúsculas diferentes indican medias significativamente diferentes entre los distintos genotipos (Tukey; $p \leq 0.05$).

Las diferencias en el porcentaje de inhibición según la procedencia, de acuerdo a Sagar *et al.* (2020), se atribuyen a la actividad antioxidante en el níspero debido a los contrastes entre cultivares, efectos del entorno y antecedentes genéticos que influyen en la acumulación de antioxidantes del fruto. Asimismo, el ajuste lineal que presentan los datos entre las variables (Figura 3) se relaciona con lo determinado por Ahumada *et al.* (2017), quienes reportan una disminución significativa de antioxidantes asociada a la maduración del fruto. Además, el níspero junto a otros frutos cultivados en la región Amazonas de alta actividad antioxidante como los reportados por Chauca-Aguilar y Chávez-Quintana (2020), Grández-Yoplac *et al.* (2021) y Rojas-Ocampo *et al.* (2021), son fuente de compuestos bioactivos de origen vegetal que a su vez están influenciados por factores genéticos, condiciones ambientales y el estado de madurez de la fruta (Chauca-Aguilar y Chávez-Quintana, 2020).

El contenido de flavonoides (Figura 4) fue superior a 150 mg RE g⁻¹ muestra. Conforme el fruto pasa por los estados de maduración considerados, el contenido de flavonoides aumentó, evidenciando así que este fruto exhibe un importante contenido del nutriente que ayuda a inhibir la acción oxidativa *in vivo*, demostrando a su vez su capacidad de eliminar radicales libres (Dhiman *et al.*, 2021; Seon *et al.*, 2020). Además se demostró que el níspero posee un alto grado de acumulación de flavonoides (Akbulut *et al.*, 2017), siendo mayor el contenido en los frutos procedentes de Ocallí.

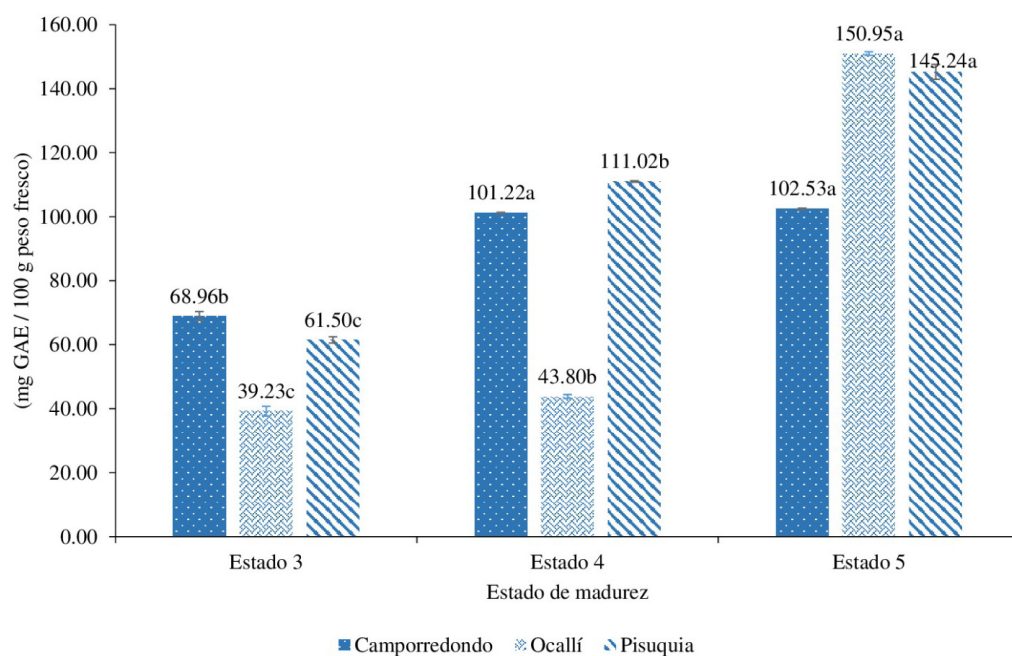


Figura 4. Cambios en el contenido de flavonoides en diferentes estados de madurez de frutos de níspero (*Eriobotrya japonica* Lindl.) tres procedencias de la región Amazonas. Para cada estado de maduración, letras minúsculas diferentes indican medias significativamente diferentes entre los distintos genotipos (Tukey; $p \leq 0.05$).

Los datos evidenciaron una tendencia lineal del estado de madurez con el contenido de flavonoides, obteniendo valores de R^2 mayores a 0.9 en los distritos de Ocallí y Pisuquia, a excepción del fruto procedente de Camporredondo que muestra un comportamiento atípico. De esto, se puede deducir que el níspero, en semejanza con otros frutos, presenta una relación entre el nivel de flavonoides y el estado de madurez como lo obtenido por Grigio *et al.* (2021) y Neves *et al.* (2015), quienes coinciden al indicar que mientras más avanzada es la maduración, existe un mayor contenido de flavonoides. Teniendo en cuenta el lugar del cultivo y estado de madurez, el contenido de flavonoides tiende a aumentar (Samaniego *et al.*, 2020). Las diferencias se pueden explicar debido a la presencia de enzimas responsables de la síntesis de flavonoides que influyen en su variación durante la maduración de fruto (Hou *et al.*, 2021). Asimismo, el incremento de flavonoides durante la maduración de níspero muestra un comportamiento similar al camu-camu, donde Grigio *et al.* (2021) reportaron que el contenido de flavonoides en dicho fruto maduro presenta el nivel más alto, seguido de los frutos semi-maduro e inmaduro.

CONCLUSIONES

El color de las frutas de níspero (*Eriobotrya japonica* Lindl.) depende básicamente del estado de madurez, el lugar de producción no influye considerablemente. A medida que el fruto de níspero incrementa su madurez, el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides se incrementan; sin embargo, la actividad antioxidante del extracto se reduce. El estado de madurez es fundamental para obtener frutas de níspero con elevado contenido de compuestos bioactivos con fines alimentarios e industriales.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, por brindar los espacios físicos y medios para el desarrollo de la investigación.

REFERENCIAS

- Ahumada J, Fuentealba C, Olaeta JA, Undurraga P, Pedreschi R, Shetty K, Chirinos R, Campos D, Gálvez-Ranilla L. 2017. Bioactive compounds of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) cv. Golden Nugget and analysis of the *in vitro* functionality for hyperglycemia management. *Ciencia e Investigación Agraria* 44 (3): 271–283. <https://doi.org/10.7764/rcia.v44i3.1816>
- Akbulut M, Gozlekci S, Ercisli S, Cakir O. 2017. Morphological, biochemical and antioxidant properties of local loquat (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) germplasm from Turkey. *Erwerbs-Obstbau* 59 (3): 203–209. <https://doi.org/10.1007/s10341-016-0313-7>
- Alos E, Martínez-Fuentes A, Reig C, Mesejo C, Rodrigo MJ, Agustí M, Zacarías L. 2017. Ethylene biosynthesis and perception during ripening of loquat fruit (*Eriobotrya japonica* Lindl.). *Journal of Plant Physiology* 210: 64–71. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2016.12.008>
- Alos E, Martínez-Fuentes A, Reig C, Mesejo C, Zacarías L, Agustí M, Rodrigo MJ. 2019. Involvement of ethylene in color changes and carotenoid biosynthesis in loquat fruit (*Eriobotrya japonica* Lindl. Cv. Algerie). *Postharvest Biology and Technology* 149: 129–138. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.11.022>
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology* 28 (1): 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)

- Cañete ML, Hueso JJ, Pinillos V, Cuevas J. 2015. Ripening degree at harvest affects bruising susceptibility and fruit sensorial traits of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.). *Scientia Horticulturae* 187: 102–107. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.03.008>
- Chauca-Aguilar MA, Chávez-Quintana SG. 2020. Fenoles y capacidad antioxidante de *Psidium guajava*, *Vaccinium myrtillus*, *Selenicereus megalanthus* y *Physalis peruviana* de diferentes procedencias. *Bioagro* 32 (3): 225–230.
- Delfanian M, Esmailzadeh Kenari R, Sahari MA. 2016. Effect of natural extracted antioxidants from *Eriobotrya japonica* (Lindl.) fruit skin on thermo oxidative stability of soybean oil during deep frying. *International Journal of Food Properties* 19 (5): 958–973. <https://doi.org/10.1080/10942912.2015.1041039>
- Dhiman A, Suhag R, Thakur D, Gupta V, Prabhakar PK. 2021. Current status of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.): bioactive functions, preservation approaches, and processed products. *Food Reviews International* 38 (1): 286–316. <https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1866007>
- Grández-Yoplac DE, Mori-Mestanza D, Muñoz-Astecker LD, Cayo-Colca IS, Castro-Alayo EM. 2021. Kinetics drying of blackberry bagasse and degradation of anthocyanins and bioactive properties. *Antioxidants* 10 (4): 548. <https://doi.org/10.3390/antiox10040548>
- Grigio ML, de Moura EA, Alves Chagas E, Berlingieri Durigan MF, Cardoso Chagas P, Ferreira de Carvalho G, Zanchetta JJ. 2021. Bioactive compounds in and antioxidant activity of camu-camu fruits harvested at different maturation stages during postharvest storage. *Acta Scientiarum. Agronomy* 43: e50997. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v43i1.50997>
- Hadjipieri M, Christofi M, Goulas V, Manganaris GA. 2020. The impact of genotype and harvesting day on qualitative attributes, postharvest performance and bioactive content of loquat fruit. *Scientia Horticulturae* 263: 108891. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108891>
- Hadjipieri M, Georgiadou EC, Marin A, Diaz-Mula HM, Goulas V, Fotopoulos V, Tomás-Barberán FA, Manganaris GA. 2017. Metabolic and transcriptional elucidation of the carotenoid biosynthesis pathway in peel and flesh tissue of loquat fruit during on-tree development. *BMC Plant Biology* 17 (1): 102. <https://doi.org/10.1186/s12870-017-1041-3>
- Hemmat I, Hikal M. 2017. Antioxidant activities and related phytochemical constituents of ethanolic extract of some fruits *in vitro*. *Journal of Agricultural Chemistry and Biotechnology* 8 (3): 99–104. <https://doi.org/10.21608/jacb.2017.38461>
- Hou J, Liang L, Su M, Yang T, Mao X, Wang Y. 2021. Variations in phenolic acids and antioxidant activity of navel orange at different growth stages. *Food Chemistry* 360: 129980. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129980>
- Kim DW, Lee WJ, Asmelash Gebru Y, Choi HS, Yeo SH, Jeong YJ, Kim S, Kim YH, Kim MK. 2019. Comparison of bioactive compounds and antioxidant activities of *Maclura tricuspidata* fruit extracts at different maturity stages. *Molecules* 24 (3): 567. <https://doi.org/10.3390/molecules24030567>
- Liu Y, Zhang W, Xu C, Li X. 2016. Biological activities of extracts from loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.): a review. *International Journal of Molecular Sciences* 17 (12): 1983. <https://doi.org/10.3390/ijms17121983>
- Mazumdar P, Pratama H, Lau SE, Teo CH, Harikrishna JA. 2019. Biology, phytochemical profile and prospects for snake fruit: An antioxidant-rich fruit of South East Asia. *Trends in Food Science and Technology* 91: 147–158. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.06.017>
- Neves LC, da Silva VX, Pontis JA, Flach A, Roberto SR. 2015. Bioactive compounds and antioxidant activity in pre-harvest camu-camu [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh] fruits. *Scientia Horticulturae* 186: 223–229. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.02.031>
- Rojas-Ocampo E, Torrejón-Valqui L, Muñoz-Astecker LD, Medina-Mendoza M, Mori-Mestanza D, Castro-Alayo EM. 2021. Antioxidant capacity, total phenolic content and phenolic compounds of pulp and bagasse of four Peruvian berries. *Heliyon* 7 (8): e07787. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07787>
- Sagar NA, Pareek S, Bhardwaj R, Vyas N. 2020. Bioactive compounds of loquat (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) L.). In *Bioactive Compounds in Underutilized Fruits and Nuts*; Murthy HN, Bapat VA (eds.). Springer International Publishing: Cham, Switzerland, pp: 1–21. https://doi.org/10.1007/978-3-030-06120-3_10-1

- Samaniego I, Brito B, Viera W, Cabrera A, Llerena W, Kannangara T, Vilcacundo R, Angós I, Carrillo W. 2020. Influence of the maturity stage on the phytochemical composition and the antioxidant activity of four andean blackberry cultivars (*Rubus glaucus* Benth) from Ecuador. *Plants* 9 (8): 1027. <https://doi.org/10.3390/plants9081027>
- Seon HY, Sun S, Yim SH. 2020. Correlation of the free radical and antioxidant activities of *Eriobotrya japonica* Lindl. with phenolic and flavonoid contents. *Food Science and Technology* 41 (4): 1025–1032. <https://doi.org/10.1590/fst.21720>
- Singleton VL, Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16 (3): 144–158.

STUDY OF THE RHEOLOGICAL AND PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF FRUCTAN FRACTIONS OF *Agave tequilana* cv. cenizo

Pamela Isabel Aldrete-Herrera¹, Mercedes Guadalupe López², Luis Isaacs Ceja-Medina¹, Luis Medina-Torres^{3*}, Rosa Isela Ortiz-Basurto^{1*}

¹ Tecnológico Nacional de México. Instituto Tecnológico de Tepic. Posgrado en Alimentos. Av. Tecnológico 2595 Fraccionamiento Lagos del Country, Tepic, Nayarit, Mexico. C. P. 63780

² Centro de Investigación y Estudios Avanzados Unidad Irapuato. Instituto Politécnico Nacional. Libramiento Norte Carretera Irapuato-León km 9.6, Irapuato, Guanajuato, Mexico. C. P. 36824

³ Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química. Circuito Exterior S/N, Coyoacán, University City, Mexico City, Mexico. C. P. 04510

* Author for correspondence: luismt@unam.mx; riobasurt@ittec.edu.mx

ABSTRACT

The physico-mechanical properties of fructan fractions in different agave species without Tequila Denomination of Origin (DOT) need to be studied to identify and expand industrial applications. The rheological and physicochemical characterization of three fractions of *Agave tequilana* cv. cenizo fructans without DOT, with different degree of polymerization (DP) was carried out to propose their use as an additive in the food industry. Fractions were obtained by apparent DP enrichment (DPa) by stepwise ultradiafiltration with 10, 5 and 1 kilodalton (kDa) membranes and classified on the basis of the enriched fraction evidenced by HPLC profiling with amperometric detector. The ultradiafiltrate of the membrane with 10 kDa, called High Degree of Polymerization (HDP), showed enrichment of fructans with high DPa ≥ 30 , the one with 5 kDa called Intermediate Degree of Polymerization (IDP), presents enrichment in DPa between 10 to 30, these fractions dried by spray, showed a modal particle size distribution (D [4,3] $< 20 \mu\text{m}$). In the ultradiafiltrate of the 1 kDa membrane, called Low Polymerization Grade (LDP), fructo-oligosaccharides (FOS) and fructans with maximum DPa of 15 were enriched; this sample was concentrated to 72 °Brix. The glass transition (Tg) showed a DPa-dependent increase (LDP = 152.17 °C, IDP = 216.12 °C and HDP = 227.5 °C). Viscosity was dependent on the degree of polymerization, exhibiting thermo-mechanically stable flow behavior. The reconstituted powders exhibited Newtonian and flow-stable behavior in a concentration range of 2-50 %, temperature of 5-45 °C and pH of 2-9. The macro and micro structural properties identified in the respective fractions of agave fructans, diversify possible applications with potential interest as encapsulating material, stabilizer and prebiotic sweetener, among others that agave fructans have in the food and nutraceutical industry.

Key words: *Agave tequilana* cv. cenizo, agave fructan fractions, degrees of polymerization, rheology, glass transition.

Citation: Aldrete-Herrera PJ, López MG, Ceja-Medina LI, Medina-Torres L, Ortiz-Basurto RI. 2023. Study of the rheological and physicochemical properties of fructan fractions of *Agave tequilana* cv. cenizo. *Agrociencia*. 57(4): 763-795. doi.org/10.47163/agrociencia.v57i4.2626

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: June 15, 2022.
Approved: April 17, 2023.

Published in Agrociencia:
June 05, 2023.

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



INTRODUCTION

Agave fructans are a complex mixture of five groups of structures with β (2–1) and/or β (2–6) bonds, among which mainly graminans and agavins predominate (Mancilla-Margalli and López, 2006). Due to their functional properties, agave fructans in their native form have attracted national and international interest mainly from the food and pharmaceutical industry (Juárez-Trujillo *et al.*, 2021; Nieto-Mazzocco *et al.*, 2022). Several studies have demonstrated its prebiotic effect, stimulating the growth of lactic acid bacteria (Martínez-Gamiño *et al.*, 2022) due to its fermentation capacity in the colon, producing short-chain fatty acids (mainly acetate, butyrate and propionate), which by acidifying the gastrointestinal tract reduce the proliferation of pathogenic microorganisms (Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2020). Furthermore, its technological applications have been reported as a stabilizing agent and wall material in various formulations (Juárez-Trujillo *et al.*, 2021; Hernández-Granados *et al.*, 2022). However, the concentration of simple sugars in native fructans gives them high hygroscopicity and low thermal stability (Ignot-Gutierrez *et al.*, 2020). Therefore, to reduce the concentration of simple sugars, Ortiz-Basurto *et al.*, (2017) proposed the enrichment of specific polymerization degrees (DP) of agave fructan fractions by a stepwise ultrafiltration (UDF) process; where the obtained fractions showed better technological properties in relation to the native fructan mixture. Currently, it has been demonstrated that UDF-enriched fractions with high DP are an interesting, novel and effective alternative as wall material for functional compounds and probiotics due to their photoprotective effect and physico-mechanical properties (Ceja-Medina *et al.*, 2020; Martínez-Martínez *et al.*, 2022), this promotes a greater interest in their incorporation for different food matrices with improved techno-functional and sensory properties (Ceja-Medina *et al.*, 2020). However, due to the high demand for *Agave tequilana* Weber cv. azul to produce DOT beverages, it is necessary to study other agave varieties without DOT that present suitable fructan distribution profiles to obtain fractions enriched with different DPs. In this regard, Aldrete-Herrera *et al.* (2019) reported the fructan distribution profiles of five wild agave varieties without DOT (*Agave* spp., *A. atrovirens*, *A. salmiana* spp. crassipina, *A. tequilana* cv. cenizo and *A. salmiana* cv. chino), observing that DP dispersal is closely related to variety, plant age and growing zone. In turn, García-Gamboa *et al.* (2020) showed that all the varieties studied by Aldrete-Herrera *et al.* (2019), showed a prebiotic effect on the growth of probiotic lactic acid bacteria (*Lactobacillus* spp. and *Bacillus* spp), where particularly, *Agave tequilana* cv. cenizo fractions presented the best response in an *ex-vivo* intestinal tract simulator. Additionally, the high and intermediate DP fructan fractions inhibited the growth of pathogenic bacteria such as *Clostridium* sp. and *Salmonella* sp. Therefore, in this study, the characterization of the rheological and physicochemical properties of high, intermediate and low DP enriched fractions of *Agave tequilana* cv. cenizo fructans was carried out in order to identify their possible applications in the food and nutraceutical industry.

MATERIALS AND METHODS

Materials

The fractions of high, intermediate and low DP fructans were obtained from samples donated by Nutriagaves de México S.A. de C.V. from *Agave tequilana* cv. cenizo harvested in the state of Jalisco (20°34'00" N 103°40'35" W) at three different maturity ranges (2 to 4, 6 to 8 and 10 to 12 years). Three agaves were collected from each range, considering each one as an experimental unit. Fructans were extracted separately from each experimental unit according to the methodology reported by Aldrete-Herrera *et al.* (2019). The fractions were separated in a laboratory system equipped with a stirred tank cell with regenerated cellulose membranes (Millipore®) of 10, 5 and 1 kDa under operating conditions of 2 bar, 200 rpm and 25 °C. The stepwise process was achieved by applying the membranes in consecutive stages, the retained in each stage was concentrated to a volumetric reduction factor of two, and immediately, diafiltered in the same cell, twice with deionized water in a 1:1 ratio (v/v), which were denominated as ultrafiltrated fractions. The double UDF retained fractions of high degree of polymerization (HDP) and intermediate degree of polymerization (IDP) were stabilized in an LPG5 rotary disc spray dryer (CIMA Industries, China) to obtain powders, as reported by Ceja-Medina *et al.* (2020) at 100 °C inlet temperature and 80 °C outlet temperature and a feed flow rate of 1.11 L·h⁻¹. Finally, the low degree polymerization fraction (LDP) was concentrated to 72 °Brix in a Rv 8 rotary evaporator (Buchi, Staufen, Germany) at 60 °C.

Dispersion of the degree of polymerization of agave fructan fractions

The apparent degree of polymerization (DP_a) of the agave fructan fractions was determined by comparison of the elution times between the samples and a standard of chicory inulin I2255, nystose, kestose, sucrose, glucose and fructose (Sigma Aldrich, MO, USA) adjusted to 80 min, similar to that reported by Aldrete-Herrera *et al.* (2019). Each of the samples and the respective standards were dissolved in Milli-Q water (1.25 µS) at a concentration of 2 mg·mL⁻¹, centrifuged 10 min at 10000 rpm, 10 °C. The supernatants were filtered with a 0.45 µm nylon membrane (Millipore®, MA, USA) before being injected into the high-resolution anion exchange chromatograph fitted with an ICS-5000 amperometric pulse detector (DIONEX-Thermoscientific, MA, USA). A Carbopac PA-100 column (45 × 250 mm) with a PA-100 precolumn (45 mm × 50 mm) with linear and stepwise gradients with two eluents E1) NaOH 100 mM and E2) CH₃COONa 600 mM dissolved in E1 at 35 °C, mL·min⁻¹. Eluent E1 allowed 100 % adjustment, while E2 was programmed with respect to time as follows: 0 min, 2 %; 5 min, 8 %; 30 min, 35 %; with staggered increments of 5 % every 5 min, until min 60, between 65-70 min it was maintained at 100 % and at min 80, it was reduced to 2 % to finish for 10 min at the same initial concentration. Chromatograms were reported in nC vs time. With the Chromeleon® processor, the areas under the curve of mono- and disaccharides, FOS DP_a 3-9, DP_a 10-30 and DP_a >30 were integrated up to the final

elution peak corresponding to a DP_{maximum} of 70 according to inulin standard. The sum of all represents 100 % in each sample.

Physicochemical and rheological properties of HDP and IDP powder fractions

Physicochemical analysis

The physicochemical characterization was carried out by determining pH (method 920.43), total soluble solids (method 967.21) and moisture content (method 964.22) according to the methodology described by AOAC (1990).

Bulk density

In a 250 mL graduated cylinder, 100 g of uncompacted powder was placed; this mass was divided by the measured volume and the results were reported in $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$.

Compressibility

Compressibility analysis was performed according to the methodology described by Papadakis *et al.* (2006). 100 g of the powdered fructan fraction were placed in a 250 mL graduated cylinder; subsequently, the cylinder was tapped 100 times in a vertical direction on the workbench at a height of 10 cm. The compressibility percent was determined according to equation 1.

$$\text{Compressibility (\%)} = \frac{\text{Unsettled apparent volume (mL)}}{\text{Total volume (mL)}} \times 100 \quad (1)$$

Hausner Index

The Hausner index was reported as the ratio of the compressed volume to the total volume recorded in the compressibility test.

Particle Size Distribution (DTP)

DTP was determined in a Master Sizer 3000 analyzer (Malvern Instruments Ltd, Malvern, UK) by laser beam diffraction, equipped with an Aero S attachment for dry powder and fine particles. Particle size was evaluated as the mean surface diameter [D 3.2], mean volume diameter [D 4.3], and arithmetic mean length [Dx]. The refractive index established in the analyzer was 1.382 and absorbance of 0.1 (Medina-Torres *et al.*, 2019).

Scanning Electron Microscopy (SEM)

The morphology of HDP and IDP agave fructan powder fractions were observed in SEM JSM6300 (JEOL USA, Japan). The powder samples were placed on a copper base, fixed with a conductive tape and coated with gold to obtain surface micrographs. Samples were observed at 250 to 5000 x (Medina-Torres *et al.*, 2016).

Differential Scanning Calorimetry (DSC)

The glass transition temperature (T_g) of HDP, IDP and LDP was determined by DSC on a DSC 250 (TA, instrument, DE, USA), using an indium standard (melting temperature: 156.6 °C). 2.5 mg of sample was placed in a hermetically sealed aluminum capsule. Thermal events were recorded in a range from 0 to 300 °C with a heating rate of 10 °C·min⁻¹ in a nitrogen atmosphere (Ramos-Hernández *et al.*, 2018).

Rheological properties of powdered fructan fractions reconstituted in an aqueous medium.

Aqueous suspensions

Prior to rheological analysis, the powdered fructan fractions were resuspended and homogenized in MQ water to obtain solutions at different concentrations [2, 5, 7, 10, 20, 30, 40 and 50 % (w/v)], the process was carried out by constant stirring in a magnetic stirrer (CLS6795420 KIT Sigma) at 250 rpm for 15 min at 25 °C.

Rheological analysis

In the rheological analysis, different concentrations of fructan fractions (2, 5, 7, 10, 20, 30, 40 and 50, % w/v), at different temperatures (5, 10, 25, 37 and 45 °C) and pHs (2, 3, 5, 6 and 9), were analyzed in a controlled-stress hybrid rheometer DHR-1 (TA Instruments, DE, USA) employing a concentric cylinder rheometric (21.96 mm outer diameter and 20.38 mm inner diameter, 59.50 mm high, and 500 μm gap). The estimation of viscosity in flow at single shear was performed in duplicate, in a shear range from 0.1 to 300 s⁻¹. The data were analyzed with TA Instruments TRIOS software (version 5.2.1).

Furthermore, the estimate of the activation energy at flow was calculated using the Arrhenius equation (Equation 2):

$$\eta = A \exp \left[\frac{Ea}{R(L/T - L/T_v)} \right] \quad (2)$$

Where, η is the viscosity at a set shear rate, Ea is the activation energy at flow (Kcal·mol⁻¹), R is the gas constant (1.987207 cal·mol⁻¹·K⁻¹), A , is the molecular frequency constant between T and T_0 (K).

Statistical analysis

Data were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) following the linear statistical model:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \xi_{ij} \quad (3)$$

Where, μ is the global mean that determines the scaling parameter common to all treatments, τ_i is a parameter that measures the effect of treatment i , ξ_{ij} is the error attributable to measurement Y_{ij} . The analyses were performed using the STATISTICA version 12 package (StatSoft. Inc. 1984-2014, Tulsa, OK, USA). Fisher's LSD test was used with a 95 % confidence level for comparison of means between samples. All experiments and analyses were performed in triplicate and the results were expressed with means and their respective standard error of the mean.

RESULTS AND DISCUSSION

Dispersion of the apparent degree of polymerization

The DP_a dispersion profiles of the ultradiafiltered agave fructan fractions confirm the enrichment in their concentration (Figure 1). Since there are no agave fructan standards to define the DP, the comparison of the elution profiles with the chicory inulin standard, kestose, nystose, sucrose, fructose and glucose (Figure 1E and 1F), allowed defining the DP_a in each of the fractions studied. The native fructan sample

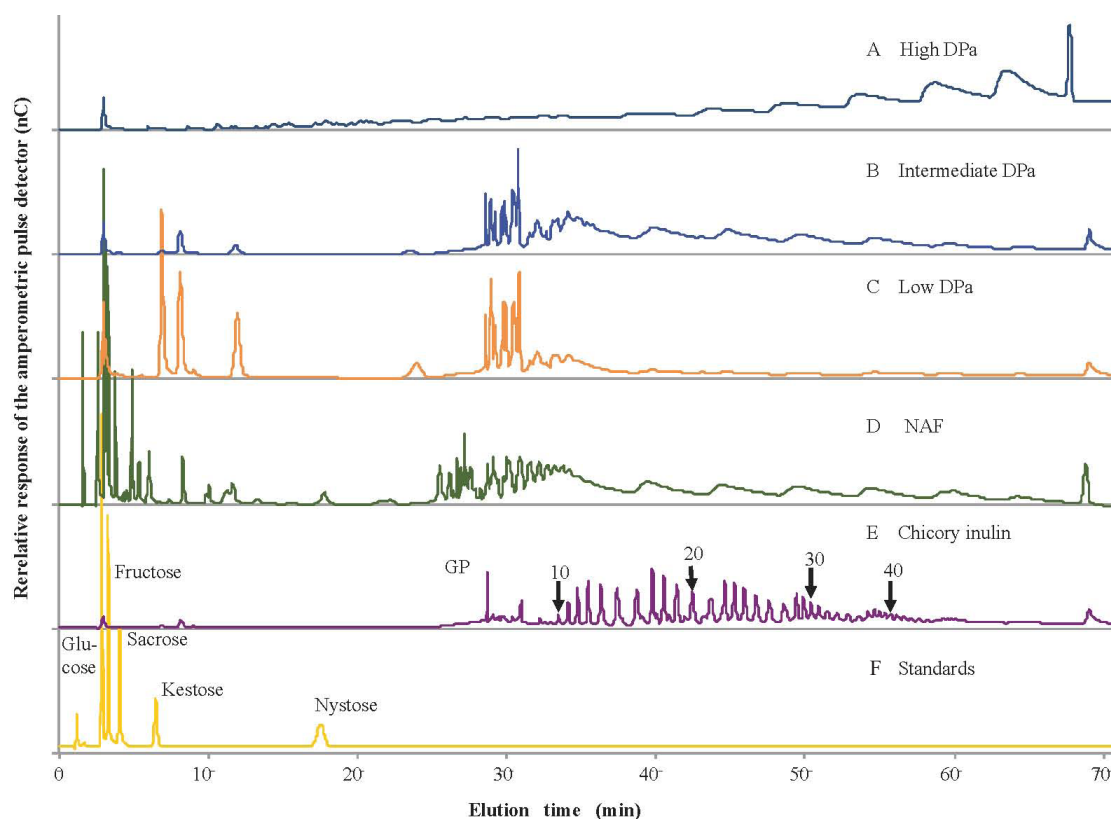


Figure 1. Anion exchange chromatographic profile showing the dispersion of the apparent degree of polymerization (DPA) of fructan fractions enriched by ultradiafiltration (A-C), NAF= native fructans of *Agave tequilana* cv. cenizo (D), compared with chicory inulin (E) and saccharides (F) standards.

(Figure 1D) contained a concentration of 16.74 ± 4.6 % of mono- and disaccharides, representing 15.71 ± 2.8 % of the total area under the curve of the sample, calculated with Chromeleon. The profile of the ultradiafiltered samples of HDP (Figure 1A) show the enrichment of fructans with DP_a greater than 30 at a concentration of 51.19 %; the accumulation in the final elution peak corresponds to DP_{a_{maximum}} of 70, coinciding with that reported by Aldrete-Herrera *et al.*, 2019. This fraction reduced its concentration of mono- and disaccharides to 3.2 % and of FOS to 9.2 %, including kestose and nystose. On the other hand, the IDP fraction (Figure 1B) presents 5.6 % FOS and an enrichment of the fructan concentration with DP between 10 and 40 is observed. Finally, the LDP fraction (Figure 1C) presented 10.8 % of DP 1 and 2 with a DP_{a_{maximum}} dispersion of 15. The structural diversity of agave fructans is indicative of the large number of fructosyltransferase enzymes that are present and active in the vacuoles of the “mezontle” of *Agave tequilana* cv. cenizo during its growth, which defines the presence of different linear and branched isomers in the agave family (Mellado-Mojica *et al.*, 2017). Although baromembrane processes separate components mainly by size difference, the structures of agave fructan isomers and with close DP_a appear to be intertwined, so that despite the two diafiltrations, it is not possible to have a specific dispersion defining the cut-off in a DP for each fraction. Additionally, the osmotic equilibrium that regulates the diffusivity of the components of the mixture to be separated in systems with porous surfaces makes it difficult to obtain highly purified fractions. This is why it is not possible to have profiles with a specific DP that distinguishes each fraction. However, the dispersion of these profiles clearly demonstrates that it is possible to obtain fractions enriched with fructans of different DP_a (Figure 1), defined by the molecular weight cut-off of the membranes selected in the stepwise ultradiafiltration process.

Physico-mechanical properties of powder fractions with high (HDP) and intermediate (IDP) Apparent degree of polymerization

The flow-mechanical properties of powders reconstituted in an acid medium determine a series of conditions for their possible application in the chemical industry, ranging from transport, storage conditions, shelf life and incorporation in different formulations (León-Martínez *et al.*, 2011). The bulk density of HDP and IDP fractions showed no significant difference between samples ($p < 0.05$), presenting values of 0.39 ± 0.003 g·cm⁻³ for HDP and 0.36 ± 0.009 g·cm⁻³ for IDP (Table 1). This parameter is dependent on particle size, shape and surface area (Pereira-Bicudo *et al.*, 2015), characteristics that are defined by the operating conditions defined in spray drying (Ceja-Medina *et al.*, 2020), where, high temperatures induce rapid evaporation of water, which forms a porous particle structure with lower droplet shrinkage (Walton, 2000). Another factor is the moisture content; a higher percentage of moisture in the powder causes the particles to agglomerate, leaving larger spaces between them, which affects the bulk density of the resulting powders (Goula and Adamopoulos, 2005). Ortiz-Basurto *et al.* (2017), reported similar bulk density values for microparticles using HDP fructan

Table 1. Physicochemical analysis of *Agave tequilana* cv. cenizo fructans in powdered form.

Sample	Moisture (%)	Bulk density (g·cm ⁻³)	Compressibility (%)	Hausner Index
HDP	6.05 ± 0.094 a	0.39 ± 0.003 a	58.39 ± 1.715 a	1.48 ± 0.034 a
IDP	4.18 ± 0.020 b	0.36 ± 0.009 a	53.15 ± 1.029 b	1.45 ± 0.015 a

*Letters indicate statistically significant difference ($p = 0.002$) between columns. HDP = High degree of polymerization, IDP = Intermediate degree of polymerization.

fractions and high yields of *Agave tequilana* Weber cv. azul with porous and irregular surface particles, which influenced the bulk density of the powder.

On the other hand, the Hausner index (IH) obtained for the HDP and IDP fractions was 1.2, which indicates that they are powders with low fluidity, which is related to their hygroscopicity that, although reduced compared to native fructans, still determines low fluidity in the enriched fractions, due to the presence of between 8.6 and 12.4 % FOS (Table 1). The IH and percent compressibility of powders correlates with morphology and DTP, in which case spherical and monomodal DTP ensure low interaction between particles, and avoid some of the stickiness effects (Rodríguez *et al.*, 2014), resulting in higher stability in the ultrafiltered fractions.

DTP is one of the most important physical parameters in the mechanical properties at flow. Small particles with monomodal distribution are desirable, as they have a larger contact surface, and in principle, they are mechanically stable to flow, so their incorporation into food matrices is homogeneous and they dissolve quickly (Shi *et al.*, 2013). The powdered fructan fractions showed a monomodal DTP for HDP and IDP with a D [4,3] size of 18.6 µm and 17.6 µm, respectively (Table 2). This indicates that regardless of the DP_a, most of the particles have a uniform size, this as a result of the conditions under which the fractions were stabilized in the spray drying process (Cervantes-Martínez *et al.*, 2014; Medina-Torres *et al.*, 2019).

Table 2. Particle size distribution of powdered *Agave tequilana* cv. cenizo fructans.

Sample	D [3,2]	D [4,3]	Dx (10)	Dx (50)	Dx (90)
HDP	6.33 µm	18.6 µm	6.49 µm	16.5 µm	33.7 µm
IDP	5.28 µm	17.6 µm	5.47 µm	15.8 µm	31.9 µm

HDP=High degree of polymerization, IDP=Intermediate degree of polymerization.

Morphology of powdered fructan fractions

The surface morphology of the particles of the HDP and IDP fractions (Figure 2 A, B, C, D), showed a spherical shape, non-porous and with certain cracks that could have been caused by the rapid evaporation of water within the spray drying chamber,

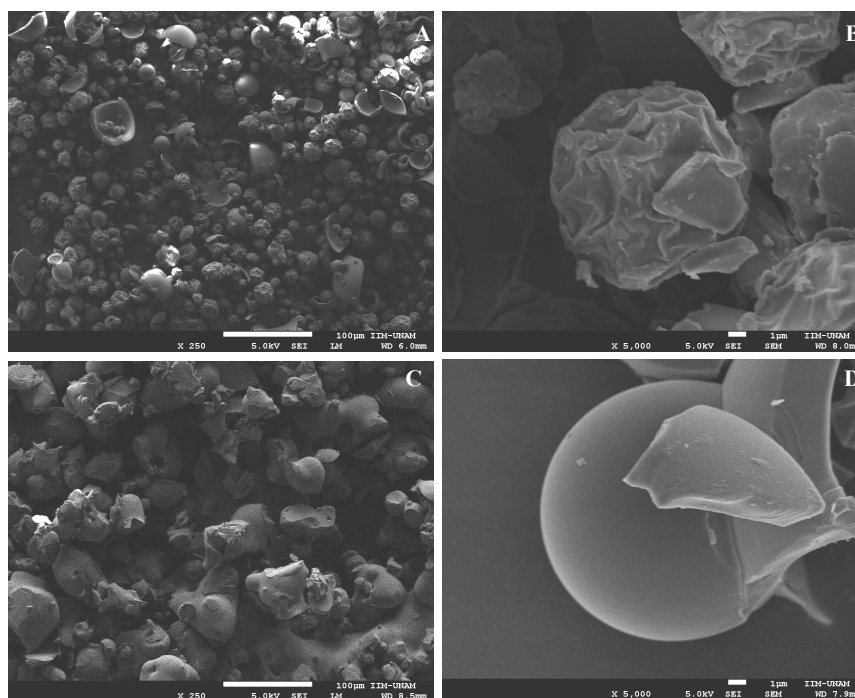


Figure 2. Scanning electron micrograph of powdered *Agave tequilana* cv. cenizo fructans of (a) HDP = High degree of polymerization (250x); (b) HDP (5000x); (c) IDP = Intermediate degree of polymerization (250x); (d) IDP (5000x).

followed by a rapid cooling of the particle during the final part of the drying process (Macías-Cortés *et al.*, 2020; Medina-Torres *et al.*, 2019).

Furthermore, some of the spherical particles showed hollow centers; this was possibly caused by vapor accumulation and differences in vapor pressure inside (Anandharamakrishnan and Ishwarya, 2015).

The above results indicate that fructan fractions have great potential as an encapsulating agent, as they could be used as a wall material. Similar results were reported on the use of agave fructan fractions for the encapsulation of bioactive compounds and probiotic microorganisms by Ceja-Medina *et al.* (2020).

Differential Scanning Calorimetry (DSC)

Thermograms of the agave fructan fractions (Figure 3) showed a shift in the glass transition temperature (T_g), largely dependent on DP_n. The T_g for each fraction was 152.17; 216.12 and 227.5 °C, for the fractions enriched in LDP, IDP and HDP, respectively.

These results are in the range of 150 to 230 °C, similar to those obtained by Cruz-Salas *et al.* (2019) who reported a T_g for fructan fractions from *Agave tequilana* Weber cv. azul of 174-232 °C, and Ramos-Hernández *et al.* (2018) a T_g of 205.48-257.7 °C; the variability of T_g temperatures reported in the scientific literature, is mainly due

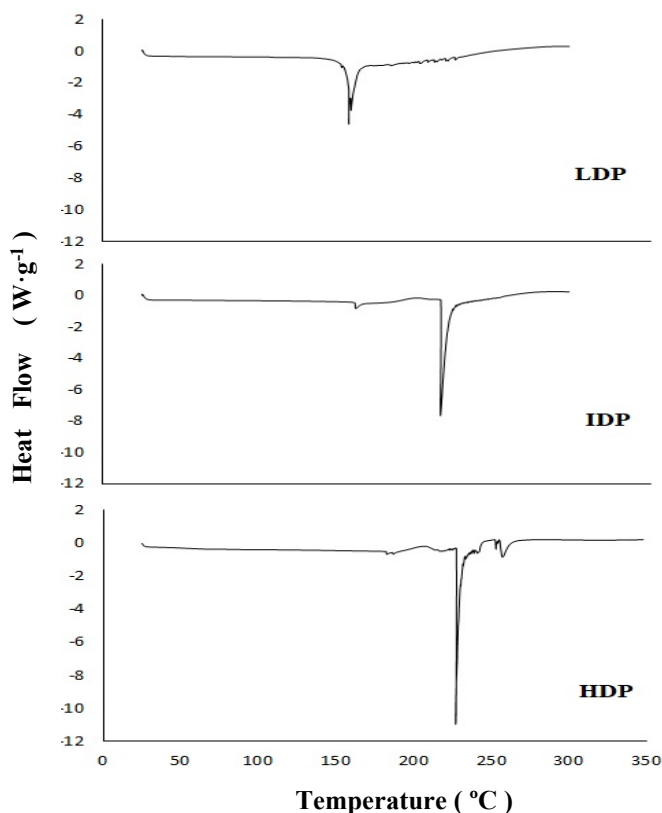


Figure 3. Thermogram of fructan fractions of *Agave tequilana* cv. cenizo powder: LDP = Low degree of polymerization; IDP = Intermediate degree of polymerization; HDP = High degree of polymerization.

to the heterogeneity in the composition and distribution profile of fructans related to the study species, in addition to environmental conditions and extraction method (Aldrete-Herrera *et al.*, 2019).

It should be noted that the T_g shift in the ultrafiltered fractions, in addition to DP, appears to be related to the types of linkages present in the agave fructans. The β (2–6) bonds induce high flexibility in this type of biopolymer, as reported in the literature (Espinosa-Andrews and Urías-Silvas, 2012). Furthermore, the free bonds of the monosaccharides present (mostly fructose) interact with water molecules that induce a plasticizing effect, and consequently, reduce T_g (Goula and Adamopoulos, 2010). It is important to highlight that the thermograms of the HDP and IDP enriched fractions showed more than one inflection, which is related to the presence of fructans with different DP_a, this confirms what was previously observed in the dispersion profiles and with the DTP (Tables 1 and 2). From the above, the ability of ultrafiltration to selectively enrich DP from HDP, IDP and LDP fractions, based on the membrane molecular weight cutoff, can be confirmed. This enrichment provides differences in thermal stability and is directly related to the enriched DP_a, the higher the DP, the higher the thermal stability of the agave fructan fractions.

Rheological properties: Simple shear flow

Concentration effect

The rheological behavior of the fractions obtained in powder, and reconstituted in an aqueous medium (Figure 4A, B, C), show that the viscosity is mechanically stable to flow, *i.e.*, presented a Newtonian behavior in all the samples at the different concentrations studied. On the other hand, viscosity is concentration-dependent (Figure 4D), *i.e.*, an increase in concentration in the semi-dilute regime ($\geq 20\%$) due an interaction between the fructan chains, causing a cross-linking between them that restricts free movement, observing an increase in their viscosity at simple shear. In Figure 4C, it can be seen that the LDP fraction presents the lowest viscosity, followed by the IDP fraction (Figure 4B), and finally, the highest viscosity was observed in the

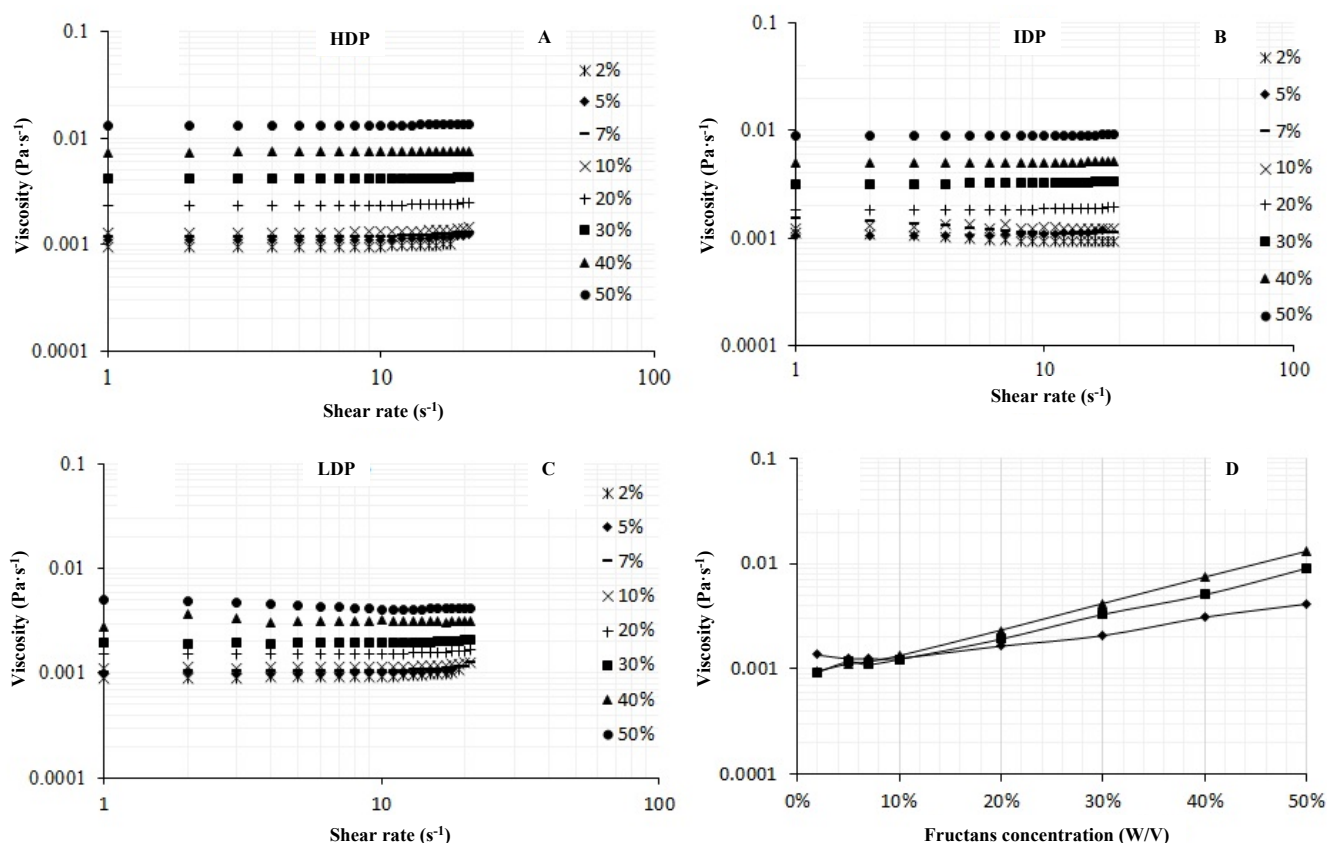


Figure 4. Effect of concentration of *Agave tequilana* cv. cenizo fructan fractions on viscosity (μ) over a single shear rate (γ) at 25 °C. (A) HDP = High degree of polymerization fraction; (B) IDP = Intermediate degree of polymerization fraction; (C) LDP = Low degree of polymerization fraction; (d) Comparison of viscosity of HDP (▲), IDP (■) and LDP (◆) fructans at different concentrations.

HDP fraction (Figure 4A). This is possibly due to the formation of a complex and free-flowing structure of the agave fructan chains with their corresponding DP in the medium.

This mechanical flow behavior of the three fructan fractions at concentrations of less than 20 % presupposes weak structural arrangements, and results in viscosity values very similar to water at a temperature of 25 °C.

Temperature effect

The thermal stability to flow of the fructan fractions is shown in Figure 5. The HDP and IDP fractions had similar behavior with increasing temperature, while the LDP fraction had a decrease in viscosity magnitude. This is mainly attributed to a higher concentration of mono- and disaccharides present in the LDP fraction. In all the samples of the agave fructan fractions a Newtonian behavior is exhibited, this behavior allows to assume that there are no significant structural changes with respect to the temperature imposed to the simple shear flow, which corresponds to what was observed by calorimetry.

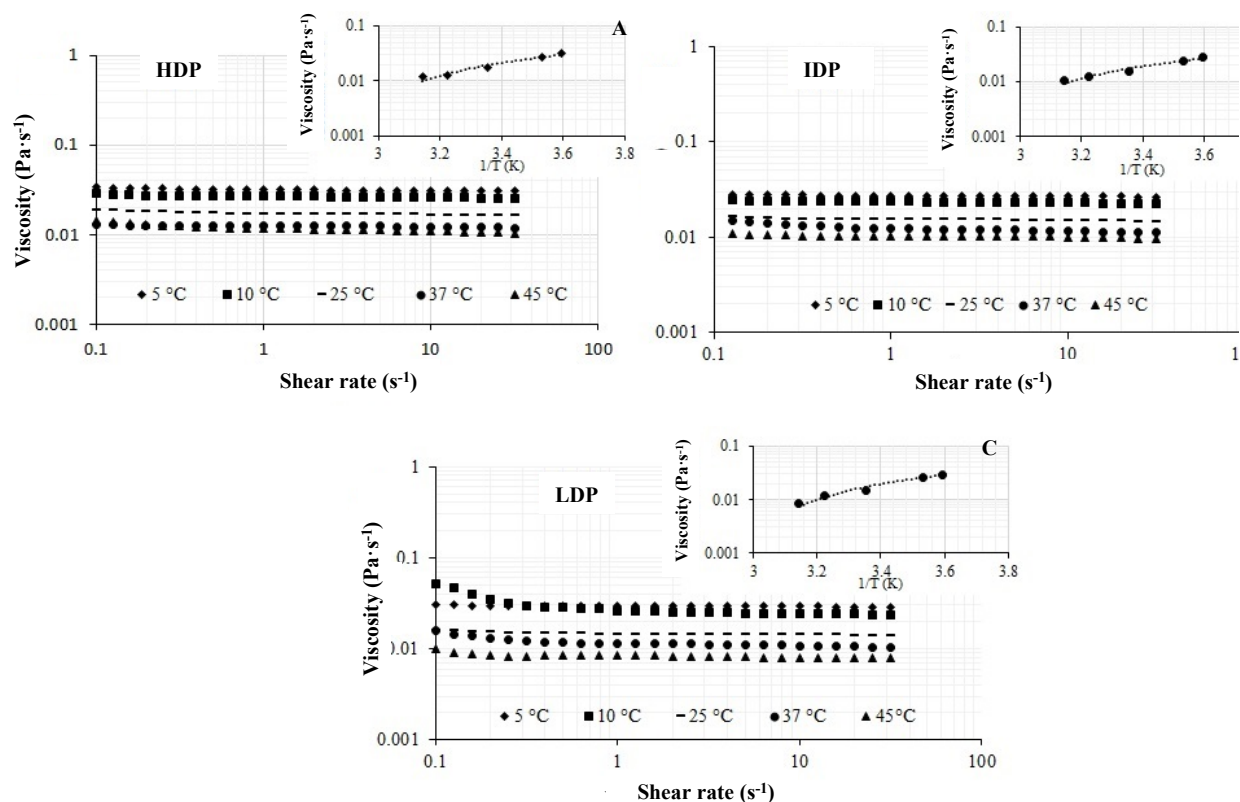


Figure 5. Effect of temperature of *Agave tequilana* cv. cenizo fructan fractions on viscosity (μ) over a single shear rate (g) at 30 % (w/v); 25 °C. (a) HDP = High degree of polymerization fraction; (b) IDP = Intermediate degree of polymerization fraction; (c) LDP = Low degree of polymerization fraction.

Finally, the activation energy (E_a) at flow of the three fractions had similar values, i.e., they are thermally stable at flow in the temperature range studied. That is, for example, at a concentration of 30 % (w/v), its relationship to DP is as follows: HDP = 0.089 Kcal·mol⁻¹, IDP = 0.074 Kcal·mol⁻¹, LDP = 0.094 Kcal·mol⁻¹. Where, a higher E_a translates as a faster change in viscosity with respect to temperature, so that, according to the results obtained, the fructan fractions show a thermo-mechanically stable behavior to the flow in the temperature range studied.

Effect of pH

The effect of pH on the fractions of the reconstituted powders was evaluated in aqueous medium between pH 2 to 9 (Figure 6D) at a fixed concentration and temperature of 30 % (w/v) and 25 °C. No significant dependence of the fractions on pH was observed in the acidic and alkaline regions; i.e., they do not exhibit an isoelectric point (Figure 6 A, B, C). This might suggest that the fructan chains have a net charge of zero. Ponce *et al.* (2008) concluded that the pH and conductivity behavior of agave fructans is

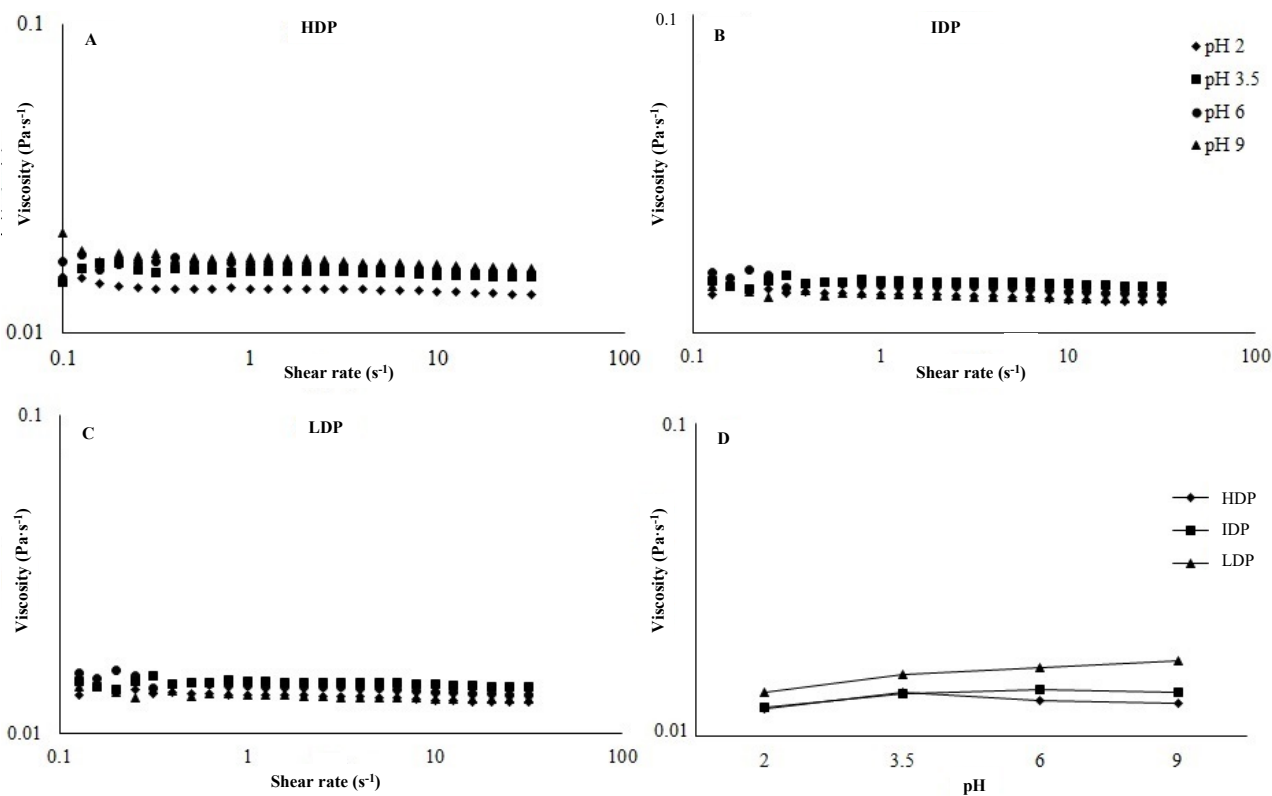


Figure 6. Effect of pH of *Agave tequilana* cv. cenizo fructan fractions on viscosity (μ) over a single shear rate (g) at 30 % (w/v); 25 °C. (a) HDP = High degree of polymerization fraction; (b) IDP = Intermediate degree of polymerization fraction; (c) LDP Low degree of polymerization fraction; (d) Comparison of viscosity of HDP, IDP and LDP fructans at different pH.

concentration-dependent only, and limits free water in solution, favoring molecule-molecule interactions, and decreasing the magnitude of pH, as well as the amount of impurities and other saccharides during separation or extraction, making this property of interest during the formulation of food matrices with weak hydrophobic interactions.

Finally, the physico-mechanical characterization of the ultradiafiltered agave fructan fractions allows them to be considered in the food and pharmaceutical industry, due to the properties that each of the agave fractions impart to the conditions studied, as a good stabilizing agent, cross-linker, wall material and prebiotic fiber.

CONCLUSIONS

The present rheological and physicochemical characterization of fructans from *Agave tequilana* cv. cenizo revealed that the fractions of high and intermediate degree of polymerization presented a modal particle size distribution, which improved the flow properties and mechanical stability to single shear flow with respect to the native fructans.

Differential scanning calorimetry studies revealed that the thermal stability of the fractions is related to their degree of polymerization. While its activation energy revealed a stable thermo-mechanical behavior to the flow.

The fractions reconstituted in aqueous medium showed Newtonian behavior at different concentration, temperature and pH conditions, i.e., they maintain a constant viscosity in the single shear flow range, with a magnitude and dependence on the degree of polymerization.

The stability and technofunctional properties of the enriched fractions improve those of native agave fructans, which is of potential interest in their use the food and nutraceutical industry, as thickening agents, stabilizers, crosslinkers, wall material and soluble prebiotic fiber, among others.

ACKNOWLEDGMENTS

This research was partially funded by Tecnológico Nacional de México and Fundación Educación Superior Empresa (FESE). The authors thank CONACyT (Mexico) for the PhD grant No. 386089 awarded to Aldrete-Herrera PI and Nutriagaves de México S. A. de C. V. for providing samples of Olifrufructine™ and *Agave tequilana* cv. cenizo as raw material.

REFERENCES

- Aldrete-Herrera PI, López MG, Medina-Torres L, Ragazzo-Sánchez JA, Calderón-Santoyo M, González-Ávila M, Ortiz-Basurto RI. 2019. Physicochemical composition and apparent degree of polymerization of fructans in five wild agave varieties: Potential industrial use. *Foods* 8 (9): 404–415. <https://doi.org/10.3390/foods8090404>
- Anandharamakrishnan C, Ishwarya SP. 2015. Spray drying for encapsulation. In Anandharamakrishnan C, Ishwarya SP (eds.) *Spray Drying Techniques for Food Ingredient Encapsulation*. John Wiley & Sons: Hoboken, NJ, USA, pp. 65–76. <https://doi.org/10.1002/9781118863985.ch3>
- Ceja-Medina LI, Ortiz-Basurto RI, Medina-Torres L, Calderas F, Bernad-Bernad MJ, González-Laredo RF, Ragazzo-Sánchez JA, Calderón-Santoyo M, González-Ávila M, Andrade-

- González I, Manero O. 2020. Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* by spray drying with mixtures of *Aloe vera* mucilage and agave fructans as wall materials. *Journal of Food Process Engineering* 43 (8): e13436. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13436>
- Cervantes-Martínez CV, Medina-Torres L, González-Laredo RF, Calderas F., Sánchez-Olivares G, Herrera-Valencia EE, Gallegos-Infante JA, Rocha-Guzmán NE, Rodríguez-Ramírez J. 2014. Study of spray drying of the *Aloe vera* mucilage (*Aloe vera* barbadensis Miller) as a function of its rheological properties. *LWT Food Science and Technology* 55 (2): 426–435. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.09.026>
- Cruz-Salas CN, Prieto C, Calderón-Santoyo M, Lagarón JM, Ragazzo-Sánchez JA. 2019. Micro- and nanostructures of agave fructans to stabilize compounds of high biological value via electrohydrodynamic processing. *Nanomaterials* 9 (12): 1659. <https://doi.org/10.3390/nano9121659>
- Espinosa-Andrews H, Urias-Silva JE. 2012. Thermal properties of agave fructans (*Agave tequilana* Weber var. Azul). *Carbohydrate Polymers* 87 (4): 2671–2676. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.11.053>
- García-Gamboa R, Gradilla-Hernández MS, Ortiz-Basurto RI, García-Reyes RA, González-Avila M. 2020. Assessment of intermediate-and long-chains agave fructan fermentation on the growth of intestinal bacteria cultured in a gastrointestinal tract. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 19 (2): 827–838. <https://doi.org/10.24275/rmiq/Bio842>
- Goula AM, Adamopoulos KG. 2005. Spray drying of tomato pulp in dehumidified air: II. The effect on powder properties. *Journal of Food Engineering* 66 (1): 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.02.031>
- Goula AM, Adamopoulos KG. 2010. Kinetic models of β -carotene degradation during air drying of carrots. *Drying Technology* 28 (6): 752–761. <https://doi.org/10.1080/07373937.2010.482690>
- Hernández-Granados MJ, Ortiz-Basurto RI, Jiménez-Fernández M, García-Munguía CA, Franco-Robles E. 2022. Dietary encapsulated *Bifidobacterium animalis* and agave fructans improve growth performance, health parameters, and immune response in broiler chickens. *Animal Bioscience* 35 (4): 587–595. <https://doi.org/10.5713/ab.21.0213>
- Ignot-Gutiérrez A, Ortiz-Basurto RI, García-Barradas O, Díaz-Ramos DI, Jiménez-Fernández M. 2020. Physicochemical and functional properties of native and modified agave fructans by acylation. *Carbohydrate Polymers* 245: 116529. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116529>
- Juárez-Trujillo N, Jiménez-Fernández M, Franco-Robles E, Beristáin-Guevara CI, Chacón-López MA, Ortiz-Basurto RI. 2021. Effect of three-stage encapsulation on survival of emulsified *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* during processing, storage and simulated gastrointestinal tests. *LWT-Food Science and Technology* 137: 110468. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110468>
- León-Martínez FM, Rodríguez-Ramírez J, Medina-Torres L, Méndez-Lagunas L, Bernad-Bernad MJ. 2011. Effects of drying conditions on the rheological properties of reconstituted mucilage solutions (*Opuntia ficus-indica*). *Carbohydrate Polymers* 84 (1): 439–445. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.12.004>
- Macías-Cortés E, Gallegos-Infante JA, Rocha-Guzmán NE, Moreno-Jiménez MR, Medina-Torres L, González-Laredo RF. 2020. Microencapsulation of phenolic compounds: technologies and novel polymers. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 19 (2): 491–521. <https://doi.org/10.24275/rmiq/Alim642>
- Mancilla-Margalli NA, López MG. 2006. Water-soluble carbohydrates and fructan structure patterns from *Agave* and *Dasyllirion* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54 (20): 7832–7839. <https://doi.org/10.1021/jf060354v>
- Martínez-Gamiño D, García-Soto MJ, González-Acevedo O, Godínez-Hernández C, Juárez-Flores B, Ortiz-Basurto RI, Rodríguez-Aguilar M, Flores-Ramírez R, Martínez-Martínez M, Ratering S, Schnell S, Bach H, Martínez-Gutiérrez F. 2022. Prebiotic effect of fructans of *Agave salmiana* on probiotic lactic acid bacteria in children as a supplement for malnutrition. *Food and Function* 13: 4184–4193. <https://doi.org/10.1039/D1FO03852D>
- Martínez-Martínez MU, Vázquez-Maldonado D, Ratering S, Godínez-Hernández C, Ortiz-Basurto RI, Soria-Guerra RE, Schneider B, Juárez-Flores BI, Portales-Pérez DP, Schnell S,

- Martinez-Gutierrez F. 2022. Fructans from agave enhance probiotic yoghurt by modulating gut microbiota on children with overweight or obesity. *Food Bioscience* (46): 101506. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101516>
- Medina-Torres L, Calderas F, Minjares R, Femenia A, Sánchez-Olivares G, González-Laredo FR, Santiago-Adame R, Ramírez-Nuñez DM, Rodríguez-Ramírez J, Manero O. 2016. Structure preservation of *Aloe vera* (*barbadensis* Miller) mucilage in a spray drying process. *LWT - Food Science and Technology* 66: 93–100. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.023>
- Medina-Torres L, Núñez-Ramírez DM, Calderas F, González-Laredo RF, Minjares-Fuentes R, Valadez-García MA, Bernad-Bernad MJ, Manero O. 2019. Microencapsulation of gallic acid by spray drying with *Aloe vera* mucilage (*Aloe barbadensis* Miller) as wall material. *Industrial Crops and Products* 138 (5): 111461. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.06.024>
- Mellado-Mojica E, González-De la Vara LE, López MG. 2017. Fructan active enzymes (FAZY) activities and biosynthesis of fructooligosaccharides in the vacuoles of *Agave tequilana* Weber Blue variety plants of different age. *Planta* 245 (2): 265–281. <https://doi.org/10.1007/s00425-016-2602-7>
- Nieto-Mazzocco E, Saldaña-Robles A, Franco-Robles E, Mireles-Arriaga AI, Mares-Mares E, Ozuna C. 2022. Optimization of gluten-free muffin formulation with agavin-type fructans as fat and sucrose replacer using response surface methodology. *Future Foods* 5: 100112. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100112>
- Ortiz-Basurto RI, Rubio-Ibarra ME, Ragazzo-Sánchez JA, Beristain CI, Jiménez-Fernández M. 2017. Microencapsulation of *Eugenia uniflora* L. juice by spray drying using fructans with different degrees of polymerisation. *Carbohydrate Polymers* 175: 603–609. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.08.030>
- Papadakis SE, Gardeli C, Tzia C. 2006. Spray drying of raisin juice concentrate. *Drying Technology* 24 (2): 173–180. <https://doi.org/10.1080/07373930600559019>
- Pereira-Bicudo MO, Jó J, Alves-Oliveira G, Chaimsohn PF, Sierakowski MR, Alves-Freitas R, Hoffman-Ribani R. 2015. Microencapsulation of juçara (*Euterpe edulis* M.) pulp by spray drying using different carriers and drying temperatures. *Drying Technology* 33 (2): 153–161. <https://doi.org/10.1080/07373937.2014.937872>
- Ponce JA, Macías ER, Soltero JA, Fernández VV, Zúñiga V, Escalona HB. 2008. Physical-chemical and non-linear rheological properties of aqueous solutions of agave fructans. *e-Gnosis* 6: 8. <https://www.redalyc.org/pdf/730/73011197008.pdf>
- Ramos-Hernández JA, Ragazzo-Sánchez JA, Calderón-Santoyo M, Ortiz-Basurto RI, Prieto C, Lagarón JM. 2018. Use of electrosprayed agave fructans as nanoencapsulating hydrocolloids for bioactives. *Nanomaterials* 8 (11): 868–879. <https://doi.org/10.3390/nano8110868>
- Rodríguez AJR, L. Pérez RL, Lafourcade PA, Escalona AJC, Irazoz CA. 2014. Formulation of hard capsules from *Tamarindus indica* L. *Revista Cubana de Farmacia* 48 (1): 118–128. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revcubfar/rcf-2014/rcf141m.pdf>
- Sáyago-Ayerdi SG, Zamora-Gasga VM, Venema K. 2020. Changes in gut microbiota in predigested *Hibiscus sabdariffa* L calyces and agave (*Agave tequilana* Weber) fructans assessed in a dynamic *in vitro* model (TIM-2) of the human colon. *Food Research International* 132: 109036. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109036>
- Shi Q, Fang Z, Bhandari B. 2013. Effect of addition of whey protein isolate on spray-drying behavior of honey with maltodextrin as a carrier material. *Drying Technology* 31 (13–14): 1681–1692. <https://doi.org/10.1080/07373937.2013.783593>
- Walton DE. 2000. The morphology of spray-dried particles a qualitative view. *Drying Technology* 18 (9): 1943–1986. <https://doi.org/10.1080/07373930008917822>

ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES REOLÓGICAS Y FÍSICOQUÍMICAS DE FRACCIONES DE FRUCTANOS DE *Agave tequilana* cv. cenizo

Pamela Isabel Aldrete-Herrera¹, Mercedes Guadalupe López², Luis Isaacs Ceja-Medina¹,
Luis Medina-Torres^{3*}, Rosa Isela Ortiz-Basurto^{1*}

¹ Tecnológico Nacional de México. Instituto Tecnológico de Tepic. Posgrado en Alimentos. Av.

Tecnológico No. 2595, Fraccionamiento Lagos del Country, Tepic, Nayarit, México. C. P. 63780

² Centro de Investigación y Estudios Avanzados. Instituto Politécnico Nacional Irapuato. Libramiento Norte Carretera Irapuato-León km 9.6, Irapuato, Guanajuato, México. C. P. 36824

³ Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química. Circuito Exterior S/N, Coyoacán, Cd. Universitaria, Ciudad de México, México. C. P. 04510

* Autor para correspondencia: luismt@unam.mx; riobasurt@itpcc.edu.mx

RESUMEN

Las propiedades físico-mecánicas de fracciones de fructanos en diferentes especies de agave sin Denominación de Origen del Tequila (DOT), requieren ser estudiadas para identificar y ampliar aplicaciones industriales. Se realizó la caracterización reológica y fisicoquímica de tres fracciones de fructanos de *Agave tequilana* cv. cenizo sin DOT, con diferente grado de polimerización (GP) para proponer su uso como aditivo en la industria alimentaria. Las fracciones fueron obtenidas mediante enriquecimiento del GP aparente (GPa) por ultradialfiltración escalonada con membranas de 10, 5 y 1 kilodalton (kDa) y clasificadas en base a la fracción enriquecida evidenciadas mediante perfiles HPLC con detector amperométrico. El ultradialfiltrado de la membrana con 10 kDa, denominado Alto Grado de Polimerización (AGP), mostró enriquecimiento de fructanos con alto GPa ≥ 30 , el de 5 kDa denominado Intermedio Grado de Polimerización (IGP), presenta enriquecimiento en GPa entre 10 a 30, estas fracciones secadas por aspersion, mostraron una distribución de tamaño de partícula modal ($D [4,3] < 20 \mu\text{m}$). En el ultradialfiltrado de la membrana de 1 kDa, denominado Bajo Grado de Polimerización (BGP), se enriquecieron los fructo-oligosacáridos (FOS) y fructanos con GPa máximo de 15; esta muestra fue concentrada a 72 °Brix. La transición vítrea (T_g) mostró un incremento dependiente del GPa ($BGP = 152.17 \text{ }^\circ\text{C}$, $IGP = 216.12 \text{ }^\circ\text{C}$ y $AGP = 227.5 \text{ }^\circ\text{C}$). La viscosidad fue dependiente del grado de polimerización, exhibiendo un comportamiento termo-mecánico estable al flujo. Los polvos reconstituidos presentaron un comportamiento newtoniano y estable al flujo en rango de concentración de 2-50 %, temperatura de 5-45 °C y pH de 2-9. Las propiedades macro y micro estructurales identificadas en las respectivas fracciones de fructanos de agave, diversifican posibles aplicaciones con potencial interés como material encapsulante, estabilizante y edulcorante prebiótico, entre otras que tienen los fructanos de agave en la industria alimentaria y nutracéutica.

Palabras clave: *Agave tequilana* cv. cenizo, fracciones de fructanos de agave, grados de polimerización, reología, transición vítrea.

Citation: Aldrete-Herrera PJ, López MG, Ceja-Medina LI, Medina-Torres L, Ortiz-Basurto RI. 2023. Estudio de las propiedades reológicas y fisicoquímicas de fracciones de fructanos de *Agave tequilana* cv. Cenizo.

Agrociencia. 57(4): 763-795. doi.org/10.47163/agrociencia.v57i4.2626

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: June 15, 2022.
Approved: April 17, 2023.

Published in *Agrociencia*:
June 05, 2023.

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



INTRODUCCIÓN

Los fructanos de agave son una mezcla compleja de cinco grupos de estructuras con enlaces β (2–1) y/o β (2–6), entre los que predominan principalmente graminanos y agavinas (Mancilla-Margalli y López, 2006). Debido a sus propiedades funcionales, los fructanos de agave en su forma nativa han captado el interés nacional e internacional principalmente de la industria alimentaria y farmacéutica (Juárez-Trujillo *et al.*, 2021; Nieto-Mazzocco *et al.*, 2022). Diversos estudios han demostrado su efecto prebiótico, estimulando el crecimiento de bacterias ácido lácticas (Martínez-Gamiño *et al.*, 2022) debido a su capacidad de fermentación en el colon produciendo ácidos grasos de cadena corta (acetato, butirato y propionato, mayoritariamente), que al acidificar el tracto gastrointestinal reducen la proliferación de microorganismos patógenos (Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2020). Además, se han reportado sus aplicaciones tecnológicas como un agente estabilizante y material de pared en diversas formulaciones (Juárez-Trujillo *et al.*, 2021; Hernández-Granados *et al.*, 2022). Sin embargo, la concentración de azúcares simples en los fructanos nativos les confiere una alta higroscopicidad y poca estabilidad térmica (Igot-Gutiérrez *et al.*, 2020). Por lo anterior, para reducir la concentración de azúcares simples, Ortiz-Basurto *et al.*, (2017) propuso el enriquecimiento de grados de polimerización (GP) específicos de fracciones de fructanos de agave mediante un proceso escalonado de ultradialfiltración (UDF); donde las fracciones obtenidas mostraron mejores propiedades tecnológicas en relación a la mezcla de fructanos nativos. Actualmente, se ha demostrado que las fracciones enriquecidas mediante UDF con alto GP, son una alternativa interesante, novedosa y efectiva como material de pared de compuestos funcionales y probióticos debido a su efecto fotoprotector y propiedades físico-mecánicas (Ceja-Medina *et al.*, 2020; Martínez-Martínez *et al.*, 2022), esto promueve un mayor interés en su incorporación para diferentes matrices alimentarias con propiedades tecno-funcionales y sensoriales mejoradas (Ceja-Medina *et al.*, 2020). Sin embargo, debido a la alta demanda de *Agave tequilana* Weber cv. azul para elaborar bebidas con DOT, es necesario estudiar otras variedades de agave sin DOT que presenten perfiles de distribución de fructanos adecuadas para obtener fracciones enriquecidas con diferentes GP. En ese sentido, Aldrete-Herrera *et al.* (2019) reportaron los perfiles de distribución de fructanos de cinco variedades de agave silvestre sin DOT (*Agave* spp., *A. atrovirens*, *A. salmiana* spp. crassipina, *A. tequilana* cv. cenizo y *A. salmiana* cv. chino), observando que la dispersión del GP está estrechamente relacionada con la variedad, la edad de la planta y la zona de crecimiento. Por su parte, García-Gamboa *et al.* (2020) demostraron que todas las variedades estudiadas por Aldrete-Herrera *et al.* (2019), mostraron un efecto prebiótico en el crecimiento de bacterias probióticas ácido lácticas (*Lactobacillus* spp. y *Bacillus* spp), donde particularmente, las fracciones de *Agave tequilana* cv. cenizo presentaron la mejor respuesta en un simulador de tracto intestinal *ex – vivo*. Adicionalmente, las fracciones de fructanos de alto e intermedio GP, inhibieron el crecimiento de bacterias patógenas como *Clostridium* sp. y *Salmonella* sp. Por lo anterior, en este estudio se llevó a cabo la caracterización de las propiedades reológicas y fisicoquímicas de las fracciones enriquecidas de alto, intermedio y bajo

GP de fructanos de *Agave tequilana* cv. cenizo con el objetivo de identificar sus posibles aplicaciones en la industria alimentaria y nutracéutica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Las fracciones de fructanos de alto, intermedio y bajo GP fueron obtenidas a partir de muestras donadas por la empresa Nutriagaves de México S.A. de C.V. de *Agave tequilana* cv. cenizo cosechado en el estado de Jalisco (20°34'00" N 103°40'35" O) en tres diferentes rangos de madurez (2 a 4, 6 a 8 y 10 a 12 años). Se colectaron tres agaves de cada rango, considerando a cada uno como unidad experimental. Los fructanos se extrajeron por separado de cada unidad experimental de acuerdo a la metodología reportada por Aldrete-Herrera *et al.* (2019). Las fracciones fueron separadas en un sistema de laboratorio provisto de celda tipo tanque agitado con membranas de celulosa regenerada (Millipore®) de 10, 5 y 1 kDa en condiciones de operación de 2 bar, 200 rpm y 25 °C. El proceso escalonado se logró al aplicar en etapas consecutivas las membranas, el retenido en cada etapa fue concentrado a un factor de reducción volumétrico de dos, e inmediatamente, diafiltrado en la misma celda, dos veces con agua desionizada en proporción 1:1 (v/v), los cuales fueron denominados como fracciones ultradiafiltradas. Las fracciones retenidas doblemente UDF de alto grado de polimerización (AGP) e intermedio grado de polimerización (IGP), fueron estabilizadas en un secador por aspersión de disco rotatorio LPG5 (CIMA Industries, China) para la obtención de polvos, como lo reporta Ceja-Medina *et al.* (2020) a 100 °C de temperatura de entrada y 80 °C de temperatura de salida y un flujo de alimentación de 1.11 L·h⁻¹. Finalmente, la fracción de bajo grado de polimerización (BGP) fue concentrada a 72 °Brix en un rotavapor Rv 8 (Buchi, Staufen, Alemania) a 60 °C.

Dispersión del grado de polimerización de las fracciones de fructanos de agave

El grado de polimerización aparente (GP_a) de las fracciones de fructanos de agave fue determinado por comparación de los tiempos de elución entre las muestras y un estándar de inulina de achicoria I2255, nistosa, kestosa, sacarosa, glucosa y fructosa (Sigma Aldrich, MO, USA) ajustado a 80 min, similar a lo reportado por Aldrete-Herrera *et al.* (2019). Cada una de las muestras y los respectivos estándares fueron disueltos en agua Milli-Q (1.25 µS) a una concentración de 2 mg·mL⁻¹, centrifugadas 10 min a 10000 rpm, 10 °C. Los sobrenadantes fueron filtrados con una membrana de nylon de 0.45 µm (Millipore®, MA, USA) antes de ser inyectados al cromatógrafo de alta resolución de intercambio aniónico provisto con un detector de pulsos amperométricos ICS-5000 (DIONEX-Thermoscientific, MA, USA). Se utilizó una columna CarboPac PA-100 (45 × 250 mm) con una precolumna PA-100 (45 mm × 50 mm), con gradientes lineales y escalonados con dos eluentes E1) NaOH 100 mM y E2) CH₃COONa 600 mM disuelto en E1 a 35 °C, 1 mL·min⁻¹. El eluyente E1 permitió el ajuste al 100 %, mientras que E2 se programó respecto al tiempo de la siguiente forma: 0 min, 2 %; 5 min, 8 %; 30 min,

35 %; con incrementos escalonados de 5 % cada 5 min, hasta min 60, entre 65–70 min se mantuvo a 100 % y al min 80, se redujo al 2 % para finalizar durante 10 min a la misma concentración inicial. Los cromatogramas fueron reportados en nC *vs* tiempo. Con el procesador Chromeleon® se integraron las áreas bajo la curva de mono y disacáridos, FOS GPa 3-9, GPa 10-30 y GPa >30 hasta el pico de elución final que corresponde a un $GPa_{\text{máximo}}$ de 70 de acuerdo a estandar de inulina. La suma de todos representa el 100 % en cada muestra.

Propiedades fisicoquímicas y reológicas de las fracciones en polvo de AGP e IGP

Análisis fisicoquímicos

La caracterización fisicoquímica se llevó a cabo mediante la determinación de pH (método 920.43), sólidos solubles totales (método 967.21) y contenido de humedad (método 964.22) de acuerdo a la metodología descrita por la AOAC (1990).

Densidad aparente

En una probeta de 250 mL se colocaron 100 g de polvo sin compactar; esta masa fue dividida entre el volumen medido y los resultados se reportaron en $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$.

Compresibilidad

El análisis de compresibilidad fue realizado de acuerdo a la metodología descrita por Papadakis *et al.* (2006). Fueron colocados 100 g de la fracción de fructanos en polvo en una probeta graduada de 250 mL; posteriormente, la probeta fue golpeada 100 veces en dirección vertical sobre la mesa de trabajo a una altura de 10 cm. El porcentaje de compresibilidad fue determinado según la ecuación 1.

$$\text{Compresibilidad (\%)} = \frac{\text{Volumen comprimido (mL)}}{\text{Volumen total (mL)}} \times 100 \quad (1)$$

Índice de Hausner

El índice de Hausner fue reportado como el cociente resultante del volumen comprimido y el volumen total registrado en la prueba de compresibilidad.

Distribución de tamaño de partícula (DTP)

La DTP se determinó en un analizador de tamaño de partícula Master Sizer 3000 (Malvern Instruments Ltd, Malvern, UK) por difracción de rayo láser, equipado con un accesorio Aero S para polvo seco y partículas finas. El tamaño de las partículas fue evaluado como la media del diámetro de la superficie [D 3,2], la media del diámetro de volumen [D 4,3], y la media aritmética de longitud [Dx]. El índice de refracción establecido en el analizador fue de 1.382 y absorbancia de 0.1 (Medina-Torres *et al.*, 2019).

Microscopía electrónica de barrido (MEB)

La morfología de las fracciones en polvo de fructanos de agave AGP e IGP fueron observadas en MEB JSM6300 (JEOL, Japón). Las muestras de polvo se colocaron en una base de cobre, se fijaron con una cinta conductora y fueron recubiertas con oro para obtener micrografías de superficie. Las muestras se observaron con un aumento de 250 a 5000x (Medina-Torres *et al.*, 2016).

Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

La temperatura de transición vítrea (T_g) de AGP, IGP y BGP fue determinada por DSC en un DSC 250 (TA, instrument, DE, USA), usando un estándar de indio (temperatura de fusión: 156.6 °C). Se colocaron 2.5 mg de muestra en una cápsula de aluminio sellada herméticamente. Los eventos térmicos se registraron en un rango de 0 a 300 °C con una velocidad de calentamiento de 10 °C·min⁻¹ en atmósfera de nitrógeno (Ramos-Hernández *et al.*, 2018).

Propiedades reológicas de las fracciones de fructanos en polvo, reconstituidas en un medio acuoso

Suspensiones acuosas

Previo al análisis reológico, las fracciones de fructanos en polvo fueron resuspendidas y homogenizadas en agua MQ para la obtención de soluciones a diferentes concentraciones [2, 5, 7, 10, 20, 30, 40 y 50 % (p/v)], el proceso se llevó a cabo mediante agitación constante en una parrilla magnética (CLS6795420 KIT Sigma) a 250 rpm por 15 min a 25 °C.

Análisis reológico

En el análisis reológico se utilizaron diferentes concentraciones de fracciones de fructanos (2, 5, 7, 10, 20, 30, 40 y 50 % p/v), a distintas temperaturas (5, 10, 25, 37 y 45 °C) y pHs (2, 3.5, 6 y 9), fueron analizados en un reómetro híbrido DHR-1 de esfuerzos controlados (TA Instruments, DE, USA) empleando un sistema reométrico de cilindros concéntricos (21.96 mm de diámetro externo y 20.38 mm de diámetro interno, 59.50 mm de alto, y 500 μm gap). La estimación de la viscosidad en flujo a la cizalla simple se realizó por duplicado, en un intervalo a la cizalla de 0.1 a 300 s⁻¹. Los datos fueron analizados con el programa TRIOS de TA Instruments (versión 5.2.1).

Además, la estimación de la energía de activación al flujo fue calculada mediante la ecuación de Arrhenius (Ec. 2):

$$\eta = A \exp \left[\frac{E\alpha}{R(L/T - L/T_0)} \right] \quad (2)$$

Donde, η es la viscosidad a una velocidad de corte establecida, $E\alpha$ es la energía de activación al flujo (Kcal·mol⁻¹), R es la constante de los gases (1.987207 cal·mol⁻¹·K⁻¹), A , es la constante de la frecuencia molecular entre T y T_0 (K).

Análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una sola vía siguiendo el modelo estadístico lineal:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \xi_{ij} \quad (3)$$

Donde, μ es la media global que determina el parámetro de escala común a todos los tratamientos, τ_i es un parámetro que mide el efecto del tratamiento i , ξ_{ij} es el error atribuible a la medición Y_{ij} . Los análisis fueron realizados mediante el paquete STATISTICA versión 12 (StatSoft. Inc. 1984-2014, Tulsa, OK, Estados Unidos). Se utilizó la prueba LSD de Fisher con un nivel de confianza del 95 % para comparación de medias entre las muestras. Todos los experimentos y análisis se realizaron por triplicado y los resultados fueron expresados con las medias y su respectivo error estándar de la media.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Dispersión del grado de polimerización aparente

Los perfiles de dispersión del GPa de las fracciones de fructanos de agave ultradiafiltrados confirman el enriquecimiento en su concentración (Figura 1). Debido a que no existen estándares de fructanos de agaves para definir el GP, la comparación de los perfiles de elución con el estándar de inulina de achicoria, kestosa, nistosa, sacarosa, fructosa y glucosa (Figura 1E y 1F), permitieron definir el GPa en cada una de las fracciones estudiadas. La muestra de fructanos nativos (Figura 1D) contenían una concentración de 16.74 ± 4.6 % de mono y disacáridos, que representa el 15.71 ± 2.8 % del área bajo la curva total de la muestra, calculada con el procesador Chromeleon. El perfil de las muestras ultradiafiltradas de AGP (Figura 1A) muestran el enriquecimiento de los fructanos con GPa mayor a 30 a una concentración de 51.19 %; la acumulación en el pico final de elución corresponde a $GPa_{\text{máximo}}$ de 70, coincidiendo con lo reportado por Aldrete-Herrera *et al.*, 2019. Esta fracción redujo su concentración de mono y disacáridos a 3.2 % y de FOS a 9.2 %, incluyendo kestosa y nistosa. Por su parte, la fracción de IGP (Figura 1B) presenta 5.6% de FOS y se observa el enriquecimiento de la concentración de fructanos con GP entre 10 a 40. Finalmente, la fracción BGP (Figura 1C) presentó un 10.8 % de GP 1 y 2 con una dispersión de $GPa_{\text{máximo}}$ de 15. La diversidad estructural de los fructanos de agave es un indicativo de la gran cantidad de enzimas fructosiltransferasas que están presentes y activas en las vacuolas del “mezontle” de *Agave tequilana* cv. cenizo durante su crecimiento, lo cual define la presencia de diferentes isómeros lineales y ramificados en la familia agavácea (Mellado-Mojica *et al.*, 2017). Si bien los procesos baromembranarios separan componentes principalmente por diferencia de tamaño, las estructuras de los isómeros de fructanos de agave y con GP cercanos, parecen estar entrelazados, de tal modo que pese a las dos diafiltraciones, no es posible tener una dispersión específica que defina el corte en un GP para

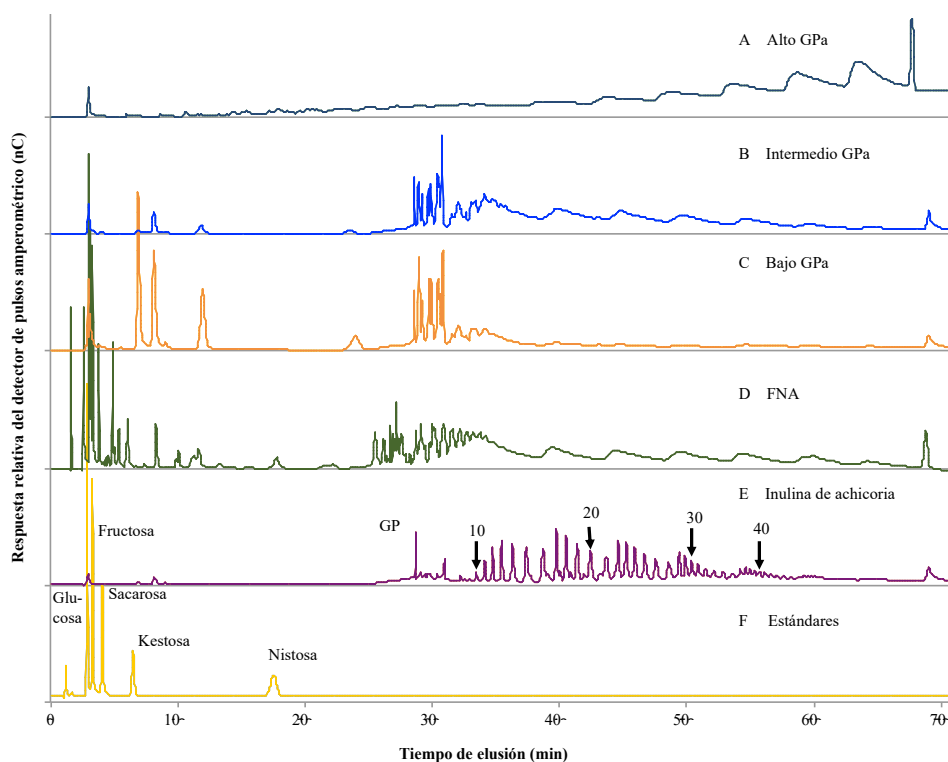


Figura 1. Perfil cromatográfico de intercambio aniónico que muestra la dispersión del grado de polimerización aparente (GPa) de fracciones de fructanos enriquecidas por ultradialfiltración (a-c), FNA= Fructanos Nativos de *Agave tequilana* cv. cenizo (d), comparados con estándares de inulina (e) y sacáridos (f).

cada fracción. Adicionalmente, el equilibrio osmótico que regula la difusividad de los componentes de la mezcla a separar en sistemas con superficies porosas, dificulta la obtención de fracciones altamente purificadas. Es por ello que no se logra tener perfiles con un GP específico que distinga a cada fracción. Sin embargo, la dispersión de estos perfiles, demuestra claramente que es posible obtener fracciones enriquecidas con fructanos de diferente GPa (Figura 1), definidos por el peso molecular de corte de las membranas seleccionadas en el proceso escalonado de ultradialfiltración.

Propiedades físico-mecánicas de las fracciones en polvo de alto (AGP) e intermedio (IGP) Grado de Polimerización aparente

Las propiedades mecánicas al flujo de los polvos reconstituidos en medio acuoso determinan una serie de condiciones para su posible aplicación en la industria química que van desde el transporte, condiciones de almacenamiento, vida útil e incorporación en diferentes formulaciones (León-Martínez *et al.*, 2011). La densidad aparente de las fracciones de AGP e IGP no mostraron diferencia significativa entre las muestras ($p <$

0.05), presentando valores de $0.39 \pm 0.003 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ para AGP y $0.36 \pm 0.009 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ para IGP (Cuadro 1). Este parámetro es dependiente del tamaño, forma y superficie de la partícula (Pereira-Bicudo *et al.*, 2015), características que se definen por las condiciones de operación definidas en el secado por aspersión (Ceja-Medina *et al.*, 2020), en donde, altas temperaturas inducen una rápida evaporación de agua, lo cual forma una estructura porosa de partículas con una menor contracción de las gotas (Walton, 2000). Otro factor, es el contenido de humedad, un mayor porcentaje de humedad en el polvo ocasiona que las partículas se aglomeren, dejando espacios más grandes entre ellas, lo cual afecta la densidad aparente de los polvos resultantes (Goula y Adamopoulos, 2005). Ortiz-Basurto *et al.* (2017), reportaron valores similares de densidad aparente para micropartículas utilizando fracciones de fructanos AGP y alto rendimiento de *Agave tequilana* Weber cv. azul con partículas porosas y de superficie irregular, lo que influyó en la densidad a granel del polvo.

Cuadro 1. Análisis fisicoquímicos de fructanos de *Agave tequilana* cv. cenizo en polvo.

Muestra	Humedad (%)	Densidad aparente ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$)	Compresibilidad (%)	Índice de Hausner
AGP	$6.05 \pm 0.094 \text{ a}$	$0.39 \pm 0.003 \text{ a}$	$58.39 \pm 1.715 \text{ a}$	$1.48 \pm 0.034 \text{ a}$
IGP	$4.18 \pm 0.020 \text{ b}$	$0.36 \pm 0.009 \text{ a}$	$53.15 \pm 1.029 \text{ b}$	$1.45 \pm 0.015 \text{ a}$

*Las letras indican diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.002$) entre columnas. AGP= Alto grado de polimerización, IGP= Intermedio grado de polimerización.

Por su parte, el índice de Hausner (IH) obtenido para las fracciones de AGP e IGP fue de 1.2, lo que indica que son polvos con poca fluidez, lo cual está relacionado con su higroscopicidad que, aunque reducida en comparación a los fructanos nativos, aún determina poca fluidez en las fracciones enriquecidas, debido a presencia de entre 8.6 y 12.4 % de FOS (Cuadro 1). El IH y el porcentaje de compresibilidad de los polvos se correlaciona con la morfología y la DTP, en cuyo caso la DTP esférica y monomodal aseguran una baja interacción entre las partículas, y evitan algunos de los efectos de pegajosidad (Rodríguez *et al.*, 2014), lo que se traduce en una mayor estabilidad en las fracciones ultradiafiltradas.

La DTP es uno de los parámetros físicos con mayor importancia en las propiedades mecánicas al flujo. Las partículas pequeñas con distribución monomodal son deseables, ya que tienen una mayor superficie de contacto, y en principio, son estables mecánicamente al flujo, por lo que su incorporación a las matrices alimentarias resulta homogénea y se disuelven rápidamente (Shi *et al.*, 2013). Las fracciones de fructanos en polvo, mostraron una DTP monomodal para AGP e IGP con un tamaño de D [4,3] de $18.6 \mu\text{m}$ y $17.6 \mu\text{m}$, respectivamente (Cuadro 2). Esto indica que independientemente del GPa, la mayoría de las partículas tienen un tamaño uniforme, esto como resultado de las condiciones en las que las fracciones se estabilizaron en el proceso de secado por aspersión (Cervantes-Martínez *et al.*, 2014; Medina-Torres *et al.*, 2019).

Cuadro 2. Distribución del tamaño de partícula de fructanos de *Agave tequilana* cv. cenizo en polvo.

Muestra	D [3,2]	D [4,3]	Dx (10)	Dx (50)	Dx (90)
AGP	6.33 μm	18.6 μm	6.49 μm	16.5 μm	33.7 μm
IGP	5.28 μm	17.6 μm	5.47 μm	15.8 μm	31.9 μm

AGP= Alto grado de polimerización, IGP= Intermedio grado de polimerización.

Morfología de las fracciones de fructanos en polvo

La morfología de la superficie de las partículas de las fracciones AGP e IGP (Figura 2 A, B, C, D), mostraron una forma esférica, no porosas y con ciertas grietas que pudieron ser ocasionadas por la rápida evaporación del agua dentro de la cámara de secado por aspersión, seguido de un rápido enfriamiento de la partícula durante la parte final del proceso de secado (Macías-Cortés *et al.*, 2020; Medina-Torres *et al.*, 2019).

Además, algunas de las partículas esféricas mostraron centros huecos; esto posiblemente fue ocasionado por la acumulación de vapor y las diferencias en la presión de vapor en el interior (Anandharamakrishnan y Ishwarya, 2015).

Los resultados anteriores, indican que las fracciones de fructanos tienen un gran potencial como un agente encapsulante, ya que podrían emplearse como material de

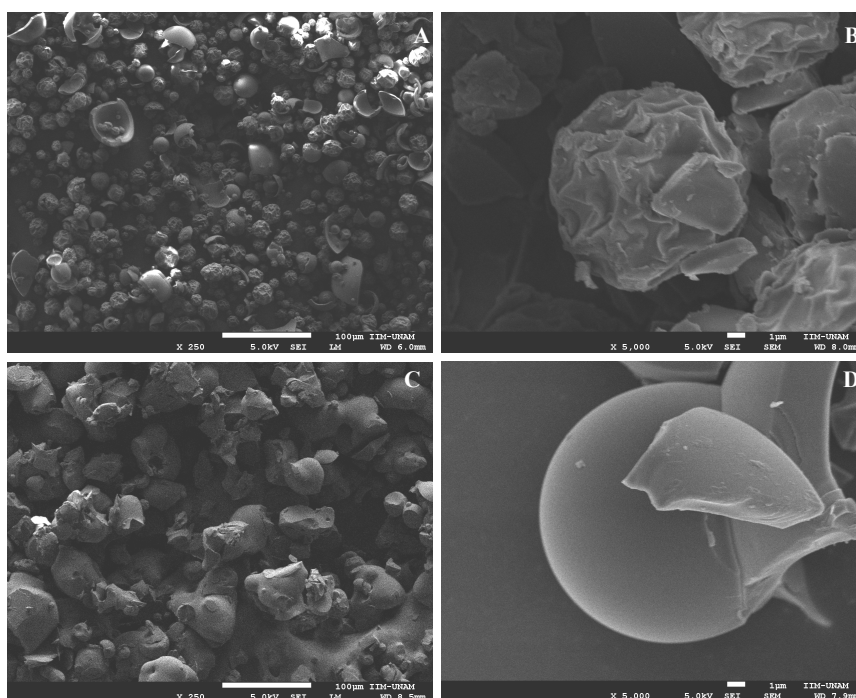


Figura 2. Micrografía electrónica de barrido de las fracciones de fructanos de *Agave tequilana* cv. cenizo en polvo de (A) AGP: Alto grado de polimerización (250x); (B) AGP (5000x); (C) IGP: Intermedio grado de polimerización (250x); (D) IGP (5000x).

pared. Resultados similares fueron reportados en el uso de fracciones de fructanos de agave para la encapsulación de compuestos bioactivos y microorganismos probióticos por Ceja-Medina *et al.* (2020).

Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Los termogramas de las fracciones de fructanos de agave (Figura 3) mostraron un corrimiento en la temperatura de transición vítrea (T_g), dependiente en gran medida del GPa. La T_g para cada fracción fue de 152.17; 216.12 y 227.5 °C, para las fracciones enriquecidas en BGP, IGP y AGP, respectivamente.

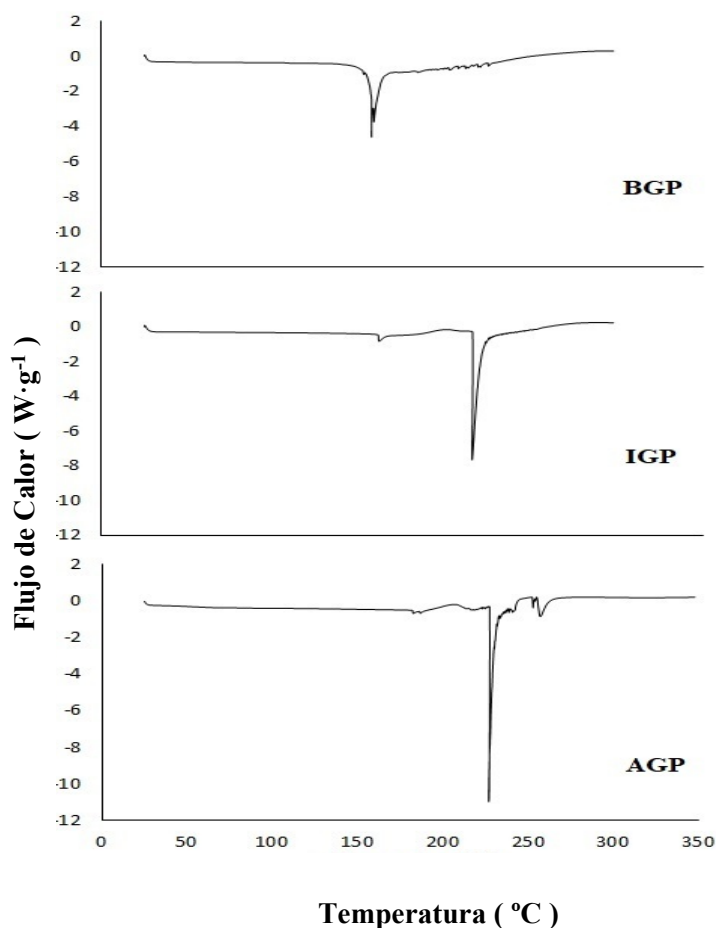


Figura 3. Termograma de fracciones de fructanos de *Agave tequilana* cv. cenizo en polvo: BGP = Bajo grado de polimerización; IGP = Intermedio grado de polimerización; AGP = Alto grado de polimerización.

Estos resultados se encuentran en un rango de 150 a 230 °C, similar a lo obtenido por Cruz-Salas *et al.* (2019) quienes reportaron una Tg para fracciones de fructanos de *Agave tequilana* Weber cv. azul de 174-232 °C, y Ramos-Hernández *et al.* (2018) una Tg de 205.48–257.7 °C; la variabilidad de las temperaturas de Tg reportadas en la literatura científica, se debe principalmente a la heterogeneidad en la composición y perfil de distribución de los fructanos relacionados con la especie de estudio, además de condiciones ambientales y método de extracción (Aldrete-Herrera *et al.*, 2019).

Cabe señalar, que el corrimiento de la Tg en las fracciones ultradiafiltradas, además del GP, parece estar relacionado con los tipos de enlaces presentes en los fructanos de agaves. Los enlaces β (2–6) inducen a una alta flexibilidad en este tipo de biopolímero, tal como se reporta en la literatura (Espinosa-Andrews y Urías-Silvas, 2012). Además, los enlaces libres de los monosacáridos presentes (mayormente fructosa) interactúan con las moléculas de agua que induce un efecto plastificante, y consecuentemente, reducen la Tg (Goula y Adamopoulos, 2010). Es importante resaltar que los termogramas de las fracciones enriquecidas de AGP e IGP mostraron más de una inflexión, lo cual está relacionado con la presencia de fructanos con diferente GP, esto confirma lo observado previamente en los perfiles de dispersión y con la DTP (Cuadros 1 y 2). Por lo anterior, se puede confirmar la capacidad de la ultradiafiltración para enriquecer selectivamente el GP de las fracciones AGP, IGP y BGP, en base al peso molecular de corte de la membrana. Este enriquecimiento aporta diferencias de la estabilidad térmica y está directamente relacionado con el GP enriquecido, a mayor GP se incrementa la estabilidad térmica de las fracciones de fructanos de agave.

Propiedades reológicas: Flujo a la cizalla simple

Efecto de la concentración

El comportamiento reológico de las fracciones obtenidas en polvo, y reconstituidos en un medio acuoso (Figura 4 A, B, C), muestran que la viscosidad es estable mecánicamente al flujo, es decir, presentan un comportamiento Newtoniano en todas las muestras a las diferentes concentraciones estudiadas. Por otra parte, la viscosidad es dependiente de la concentración (Figura 4D), es decir que, a un aumento de la concentración en el régimen semi-diluido ($\geq 20\%$) favorece una interacción entre las cadenas de fructanos, ocasionando un entrecruzamiento entre ellas que restringe el libre movimiento, observando un incremento de su viscosidad a la cizalla simple. En la Figura 4C, se aprecia que la fracción BGP presenta la menor viscosidad, seguida por la fracción de IGP (Figura 4B), y finalmente, la mayor viscosidad se observó en la fracción de AGP (Figura 4A). Esto se debe posiblemente a la formación de una estructura compleja y de libre movimiento al flujo que presentan respectivamente las cadenas de fructanos de agave con su correspondiente GP en el medio.

Este comportamiento mecánico al flujo de las tres fracciones de fructanos a concentraciones menores al 20 % presupone arreglos estructurales débiles, y da como resultado valores de viscosidad muy similar al agua (1 cP) a una temperatura de 25 °C.

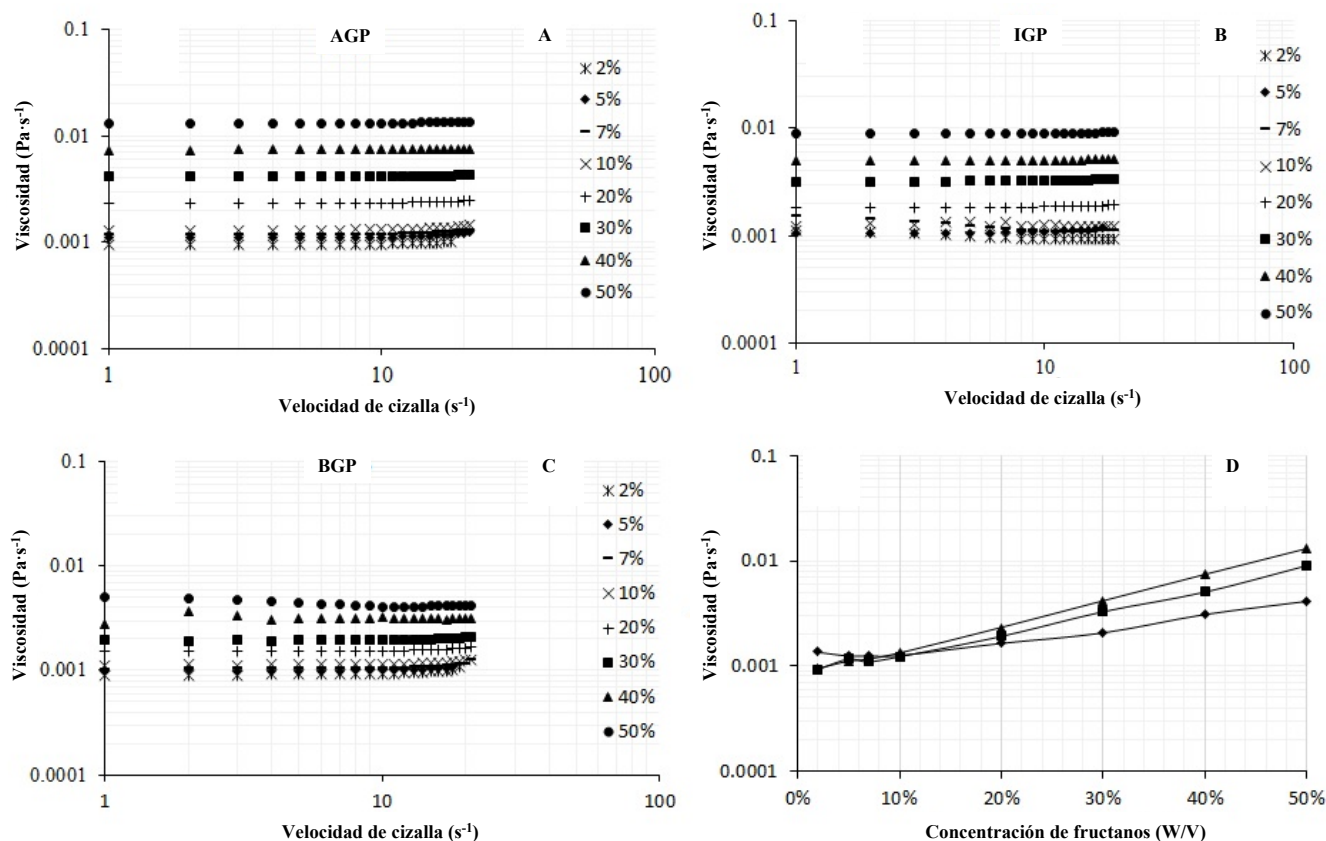


Figura 4. Efecto de la concentración de las fracciones de fructanos de *Agave tequilana* cv. Cenizo en viscosidad (μ) sobre un barrido de cizalla ($\dot{\gamma}$) a 25 °C. (A) AGP = Alto grado de polimerización; (B) IGP = Intermedio grado de polimerización; (C) BGP = Bajo grado de polimerización; (D) Comparación de la viscosidad de fructanos AGP (▲), IGP (■) y BGP (◆) a diferentes concentraciones.

Efecto de la temperatura

La estabilidad térmica al flujo de las fracciones de fructanos se muestra en la Figura 5. Las fracciones de AGP e IGP tuvieron un comportamiento similar con el incremento de la temperatura, mientras que la fracción BGP tuvo un decremento en la magnitud de la viscosidad. Esto es atribuido principalmente a una mayor concentración de mono y disacáridos presentes en la fracción BGP. En todas las muestras de las fracciones de fructanos de agave se exhibe un comportamiento Newtoniano, este comportamiento permiten suponer que no hay cambios estructurales significativos respecto a la temperatura impuesta al flujo de cizalla simple, lo cual corresponde a lo observado por calorimetría.

Finalmente, la Energía de activación (E_a) al flujo de las tres fracciones tuvo valores similares, es decir, son térmicamente estables al flujo en el intervalo de temperaturas estudiadas. Esto es, por ejemplo, a una concentración de 30 % (p/v), su relación

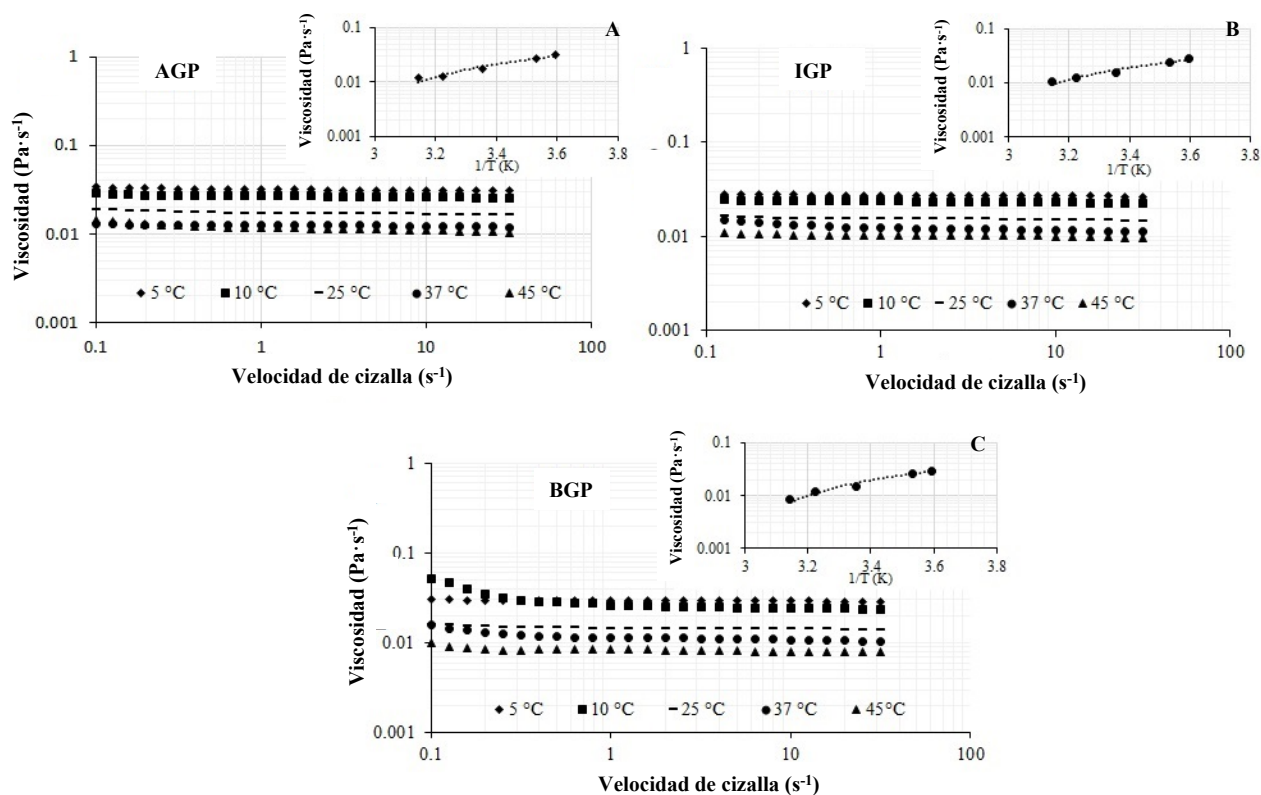


Figura 5. Efecto de la temperatura en la viscosidad a cizallamiento constante de fracciones de fructanos de agave a 30 % (p/v). (a) AGP = Alto grado de polimerización; (b) IGP = Intermedio grado de polimerización; (c) BGP = Bajo grado de polimerización.

con el GP es como sigue: AGP = 0.089 Kcal·mol⁻¹, IGP = 0.074 Kcal·mol⁻¹, BGP = 0.094 Kcal·mol⁻¹. Donde, a una mayor E_a se traduce, como un cambio más rápido en la viscosidad respecto a la temperatura, por lo que, de acuerdo a los resultados obtenidos, las fracciones de fructanos muestran un comportamiento termo-mecánicamente estable al flujo en el intervalo de temperaturas estudiadas.

Efecto del pH

Se evaluó el efecto del pH sobre las fracciones de los polvos reconstituidos en medio acuoso, entre un pH de 2 a 9 (Figura 6D) a una concentración y temperatura fija de 30 % (p/v) y 25 °C. No se observó una dependencia significativa de las fracciones respecto al pH en las regiones ácidas y alcalinas; es decir, no presentan un punto isoeléctrico (Figura 6 A, B, C). Lo anterior, podría sugerir que las cadenas de fructanos tienen una carga neta de cero. Ponce *et al.* (2008), concluyeron que el comportamiento del pH y la conductividad de los fructanos de agave es dependiente de la concentración únicamente, y limita el agua libre en la solución, favoreciendo las interacciones molécula-molécula, y disminuyendo la magnitud del pH, así como la cantidad de

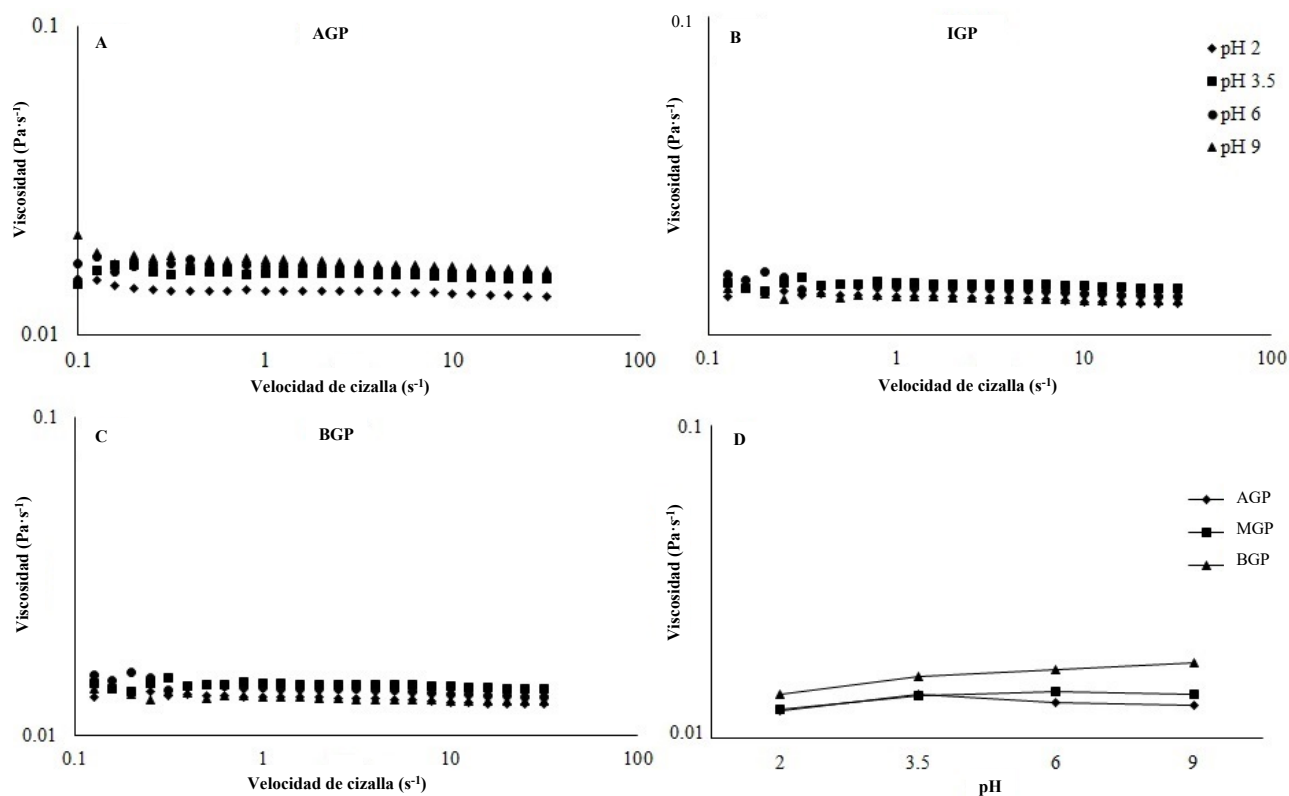


Figura 6. Efecto del pH de las fracciones de fructanos de agave en viscosidad (μ) sobre un barrido de cizalla (g) a 30 % (p/v); 25 °C. (a) AGP = Alto grado de polimerización; (b) IGP = Intermedio grado de polimerización; (c) BGP = Bajo grado de polimerización; (d) Comparación de la viscosidad de fracciones de fructanos a diferente pH.

impurezas, y otros sacáridos durante la separación o extracción, por lo que esta propiedad es de interés durante la formulación de matrices alimentarias con interacciones hidrofóbicas débiles.

Finalmente, la caracterización físico-mecánica de las fracciones de fructanos de agave ultradiafiltradas, permiten por su relevancia en la aplicación, ser consideradas en la industria alimentaria y farmacéutica, por las propiedades que cada una de las fracciones de agave imparten a las condiciones estudiadas, como un buen agente estabilizante, entrecruzante, material de pared y fibra prebiótica.

CONCLUSIONES

La presente caracterización reológica y fisicoquímica de fructanos de *Agave tequilana* cv. cenizo reveló que las fracciones de alto e intermedio grado de polimerización presentaron una distribución de tamaño de partícula modal, que mejoró las propiedades de fluidez y la estabilidad mecánica al flujo a la cizalla simple respecto a los fructanos nativos.

Los estudios de calorimetría diferencial de barrido revelaron que la estabilidad térmica de las fracciones está relacionada con su grado de polimerización. Mientras que su energía de activación, reveló un comportamiento termo-mecánico estable al flujo. Las fracciones reconstituidas en medio acuoso mostraron un comportamiento newtoniano a las diferentes condiciones de concentración, temperatura y pH, es decir, mantienen una viscosidad constante en el intervalo de flujo a la cizalla simple, con magnitud y dependiente del grado de polimerización.

La estabilidad y propiedades tecnofuncionales de las fracciones enriquecidas, mejora a las que presentan los fructanos de agave nativos, lo cual resulta de potencial interés en su uso en la industria de alimentos y nutracéutica, como agentes espesantes, estabilizante, entrecruzante, material de pared y fibra prebiótica soluble entre otras.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue parcialmente financiada por Tecnológico Nacional de México y Fundación Educación Superior Empresa (FESE). Los autores agradecen a CONACyT (México) por la beca de doctorado No. 386089 otorgada a Aldrete-Herrera PI y a Nutriagaves de México S. A. de C. V. por proveer muestras de Olifrufructine™ y *Agave tequilana* cv. cenizo como materia prima.

REFERENCIAS

- Aldrete-Herrera PI, López MG, Medina-Torres L, Ragazzo-Sánchez JA, Calderón-Santoyo M, González-Ávila M, Ortiz-Basurto RI. 2019. Physicochemical composition and apparent degree of polymerization of fructans in five wild agave varieties: Potential industrial use. *Food* 8 (9): 404–415. <https://doi.org/10.3390/foods8090404>
- Anandharamakrishnan C, Ishwarya SP. 2015. Spray drying for encapsulation. In Anandharamakrishnan C, Ishwarya SP (eds.) *Spray Drying Techniques for Food Ingredient Encapsulation*. John Wiley & Sons: Hoboken, NJ, USA, pp. 65–76. <https://doi.org/10.1002/9781118863985.ch3>
- Ceja-Medina LI, Ortiz-Basurto RI, Medina-Torres L, Calderas F, Bernad-Bernad MJ, González-Laredo RF, Ragazzo-Sánchez JA, Calderón-Santoyo M, González-Ávila M, Andrade-González I, Manero O. 2020. Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* by spray drying with mixtures of *Aloe vera* mucilage and agave fructans as wall materials. *Journal of Food Process Engineering* 43 (8): e13436. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13436>
- Cervantes-Martínez CV, Medina-Torres L, González-Laredo RF, Calderas F, Sánchez-Olivares G, Herrera-Valencia EE, Gallegos-Infante JA, Rocha-Guzmán NE, Rodríguez-Ramírez J. 2014. Study of spray drying of the *Aloe vera* mucilage (*Aloe vera* barbadensis Miller) as a function of its rheological properties. *LWT Food Science and Technology* 55 (2): 426–435. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.09.026>
- Cruz-Salas CN, Prieto C, Calderón-Santoyo M, Lagarón JM, Ragazzo-Sánchez JA. 2019. Micro- and nanostructures of agave fructans to stabilize compounds of high biological value via electrohydrodynamic processing. *Nanomaterials* 9 (12): 1659. <https://doi.org/10.3390/nano9121659>
- Espinosa-Andrews H, Urias-Silva JE. 2012. Thermal properties of agave fructans (*Agave tequilana* Weber var. Azul). *Carbohydrate Polymers* 87 (4): 2671–2676. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.11.053>
- García-Gamboa R, Gradilla-Hernández MS, Ortiz-Basurto RI, García-Reyes RA, González-Avila M. 2020. Assessment of intermediate- and long-chains agave fructan fermentation on the growth of intestinal bacteria cultured in a gastrointestinal tract. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 19 (2): 827–838. <https://doi.org/10.24275/rmiq/Bio842>

- Goula AM, Adamopoulos KG. 2005. Spray drying of tomato pulp in dehumidified air: II. The effect on powder properties. *Journal of Food Engineering* 66 (1): 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.02.031>
- Goula AM, Adamopoulos KG. 2010. Kinetic models of β -carotene degradation during air drying of carrots. *Drying Technology* 28 (6): 752–761. <https://doi.org/10.1080/07373937.2010.482690>
- Hernández-Granados MJ, Ortiz-Basurto RI, Jiménez-Fernández M, García-Munguía CA, Franco-Robles E. 2022. Dietary encapsulated *Bifidobacterium animalis* and agave fructans improve growth performance, health parameters, and immune response in broiler chickens. *Animal Bioscience* 35 (4): 587–595. <https://doi.org/10.5713/ab.21.0213>
- Ignot-Gutiérrez A, Ortiz-Basurto RI, García-Barradas O, Díaz-Ramos DI, Jiménez-Fernández M. 2020. Physicochemical and functional properties of native and modified agave fructans by acylation. *Carbohydrate Polymers* 245: 116529. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116529>
- Juárez-Trujillo N, Jiménez-Fernández M, Franco-Robles E, Beristáin-Guevara CI, Chacón-López MA, Ortiz-Basurto RI. 2021. Effect of three-stage encapsulation on survival of emulsified *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* during processing, storage and simulated gastrointestinal tests. *LWT-Food Science and Technology* 137: 110468. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110468>
- León-Martínez FM, Rodríguez-Ramírez J, Medina-Torres L, Méndez-Lagunas L, Bernad-Bernad MJ. 2011. Effects of drying conditions on the rheological properties of reconstituted mucilage solutions (*Opuntia ficus-indica*). *Carbohydrate Polymers* 84 (1): 439–445. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.12.004>
- Macías-Cortés E, Gallegos-Infante JA, Rocha-Guzmán NE, Moreno-Jiménez MR, Medina-Torres L, González-Laredo RF. 2020. Microencapsulation of phenolic compounds: technologies and novel polymers. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 19 (2): 491–521. <https://doi.org/10.24275/rmiq/Alim642>
- Mancilla-Margalli NA, López MG. 2006. Water-soluble carbohydrates and fructan structure patterns from *Agave* and *Dasyllirion* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54 (20): 7832–7839. <https://doi.org/10.1021/jf060354v>
- Martínez-Gamiño D, García-Soto MJ, González-Acevedo O, Godínez-Hernández C, Juárez-Flores B, Ortiz-Basurto RI, Rodríguez-Aguilar M, Flores-Ramírez R, Martínez-Martínez M, Ratering S, Schnell S, Bach H, Martínez-Gutiérrez F. 2022. Prebiotic effect of fructans of *Agave salmiana* on probiotic lactic acid bacteria in children as a supplement for malnutrition. *Food and Function* 13: 4184–4193. <https://doi.org/10.1039/D1FO03852D>
- Martínez-Martínez MU, Vázquez-Maldonado D, Ratering S, Godínez-Hernández C, Ortiz-Basurto RI, Soria-Guerra RE, Schneider B, Juárez-Flores BI, Portales-Pérez DP, Schnell S, Martínez-Gutiérrez F. 2022. Fructans from agave enhance probiotic yoghurt by modulating gut microbiota on children with overweight or obesity. *Food Bioscience* (46): 101506. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101516>
- Medina-Torres L, Calderas F, Minjares R, Femenia A, Sánchez-Olivares G, González-Laredo FR, Santiago-Adame R, Ramírez-Núñez DM, Rodríguez-Ramírez J, Manero O. 2016. Structure preservation of *Aloe vera* (*barbadensis* Miller) mucilage in a spray drying process. *LWT - Food Science and Technology* 66: 93–100. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.023>
- Medina-Torres L, Núñez-Ramírez DM, Calderas F, González-Laredo RF, Minjares-Fuentes R, Valadez-García MA, Bernad-Bernad MJ, Manero O. 2019. Microencapsulation of gallic acid by spray drying with *Aloe vera* mucilage (*Aloe barbadensis* Miller) as wall material. *Industrial Crops and Products* 138 (5): 111461. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.06.024>
- Mellado-Mojica E, González-De la Vara LE, López MG. 2017. Fructan active enzymes (FAZY) activities and biosynthesis of fructooligosaccharides in the vacuoles of *Agave tequilana* Weber Blue variety plants of different age. *Planta* 245 (2): 265–281. <https://doi.org/10.1007/s00425-016-2602-7>
- Nieto-Mazzocco E, Saldaña-Robles A, Franco-Robles E, Mireles-Arriaga AI, Mares-Mares E, Ozuna C. 2022. Optimization of gluten-free muffin formulation with agavin-type fructans as fat and sucrose replacer using response surface methodology. *Future Foods* 5: 100112. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100112>

- Ortiz-Basurto RI, Rubio-Ibarra ME, Ragazzo-Sánchez JA, Beristain CI, Jiménez-Fernández M. 2017. Microencapsulation of *Eugenia uniflora* L. juice by spray drying using fructans with different degrees of polymerisation. *Carbohydrate Polymers* 175: 603–609. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.08.030>
- Papadakis SE, Gardeli C, Tzia C. 2006. Spray drying of raisin juice concentrate. *Drying Technology* 24 (2): 173–180. <https://doi.org/10.1080/07373930600559019>
- Pereira-Bicudo MO, Jó J, Alves-Oliveira G, Chaimsohn PF, Sierakowski MR, Alves-Freitas R, Hoffman-Ribani R. 2015. Microencapsulation of juçara (*Euterpe edulis* M.) pulp by spray drying using different carriers and drying temperatures. *Drying Technology* 33 (2): 153–161. <https://doi.org/10.1080/07373937.2014.937872>
- Ponce JA, Macías ER, Soltero JA, Fernández VV, Zúñiga V, Escalona HB. 2008. Physical-chemical and non-linear rheological properties of aqueous solutions of agave fructans. *e-Gnosis* 6: 8. <https://www.redalyc.org/pdf/730/73011197008.pdf>
- Ramos-Hernández JA, Ragazzo-Sánchez JA, Calderón-Santoyo M, Ortiz-Basurto RI, Prieto C, Lagarón JM. 2018. Use of electrosprayed agave fructans as nanoencapsulating hydrocolloids for bioactives. *Nanomaterials* 8 (11): 868–879. <https://doi.org/10.3390/nano8110868>
- Rodríguez AJR, L. Pérez RL, Lafourcade PA, Escalona AJC, Iraizoz CA. 2014. Formulation of hard capsules from *Tamarindus indica* L. *Revista Cubana de Farmacia* 48 (1): 118–128. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revcubfar/rcf-2014/rcf141m.pdf>
- Sáyago-Ayerdi SG, Zamora-Gasga VM, Venema K. 2020. Changes in gut microbiota in predigested *Hibiscus sabdariffa* L calyces and agave (*Agave tequilana* Weber) fructans assessed in a dynamic *in vitro* model (TIM-2) of the human colon. *Food Research International* 132: 109036. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109036>
- Shi Q, Fang Z, Bhandari B. 2013. Effect of addition of whey protein isolate on spray-drying behavior of honey with maltodextrin as a carrier material. *Drying Technology* 31 (13–14): 1681–1692. <https://doi.org/10.1080/07373937.2013.783593>
- Walton DE. 2000. The morphology of spray-dried particles a qualitative view. *Drying Technology* 18 (9): 1943–1986. <https://doi.org/10.1080/07373930008917822>

SCOPING REVIEW ON ALTERNATIVE RENEWABLE MATERIALS TO IMPROVE SEED QUALITY

Cynthia Serna-Abascal¹, Carlos A. Villaseñor-Perea¹, Guadalupe Olmedo-Obrero¹, Artemio Pérez-López², Arturo Mancera-Rico^{3*}

¹ Universidad Autonoma Chapingo. Graduate Studies of Agricultural Engineering and Integral Use of Water. Carretera Mexico-Texcoco km 38.5, Chapingo, Texcoco, State of Mexico, Mexico. C. P. 56227.

² Universidad Autonoma Chapingo. Department of Agroindustrial Engineering. Carretera Mexico-Texcoco km 38.5, Chapingo, Texcoco, State of Mexico, Mexico. C. P. 56227.

³ Universidad Autonoma Agraria Antonio Narro. Graduate Studies in Grain and Seed Technology. Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, Saltillo, Coahuila, Mexico. C. P. 25315.

* Author for correspondence: mncrarico@gmail.com

ABSTRACT

The purpose of this review was to analyze and synthesize the published research on renewable alternative materials for improving seed quality to reduce pollution and raw material depletion. The analysis focused on productivity by country and authors, as well as the most relevant keywords. The articles were selected from the SCOPUS® and Web of Science™ databases, with updates until November 2021. Subsequently, they were analyzed by bibliometric indicators using VOS viewer v.1.6.15 and BIBLIOMETRIX v.3.0 software. The results show a global low in scientific production, with a total of 61 publications; the highest number of publications appears in 2020, with thirteen scientific reports. The most cited and prolific authors were Abbas HK, Accinelli C, and Shier WT. The United States of America was the country with the most publications (14). The most recently used keywords were “chitosan”, “biopolymer”, “seed coating”, “maize (*Zea mays* L.)”, “seed treatment”, and “sustainable agriculture”. The most widely documented developments were biostimulants, biocontrol, containers, and protective drought agents. Interdisciplinary collaboration could promote the discovery of new materials derived from renewable sources that have a significant impact on seed quality.

Keywords: treatment, protection, coating, dressing, bibliometric analysis.

INTRODUCTION

To withstand adverse conditions such as fungi and insect attack, seeds are usually protected with insecticides, fungicides, coating films, and other polymers, which also contribute to modifying their physical characteristics, including permeability, size, and shape. Because of the depletion of raw materials and pollution generated by some agrochemicals and materials, several authors and companies have proposed renewable alternative materials to improve seed quality, such as chitin and chitosan to improve germination and growth (Rahman *et al.*, 2018), vermicompost and soy flour to stimulate growth and development (Amirkhani *et al.*, 2019), bioplastics for seed

Citation: Serna-Abascal C, Villaseñor-Perea CA, Olmedo-Obrero G, Pérez-López A, Mancera-Rico A. 2023. Scoping review on alternative renewable materials to improve seed quality. *Agrociencia* 57(4): 796-835. doi.org/10.47163/agrociencia.v57i4.2798

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: May 11, 2022.
Approved: March 15, 2023.
Published in Agrociencia:
May 25, 2023.

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



coating to reduce dusting (Accinelli *et al.*, 2016; 2018b), *Aspergillus flavus* as a biocontrol of aflatoxin production (Accinelli *et al.*, 2018a), chitosan and copper nanoparticles to boost defense responses (Choudhary *et al.*, 2017; Divya *et al.*, 2020); and bacteria-based biocomposites to stabilize the surrounding rhizosphere (Hussain *et al.*, 2019). Other materials have been proposed to enhance plant and plantlet development, such as recycled tomato waste and hemp fibers for biodegradable pots (Schettini *et al.*, 2013). The overall advance of studies on the use and development of renewable alternative materials for seed protection and germination promotion is unknown; a scoping review can update the extent of the topic and consists of gathering information followed by a bibliometric analysis (Verdejo *et al.*, 2021). The use of bibliometric indicators allows for objective and measurable quantitative data-driven evaluation (Flores-Fernández and Aguilera-Eguía, 2020), allowing to infer research trends over time and detect more prolific researchers and institutions, thus, presenting an “overview” of the subject (Aria and Curcurullo, 2017).

Bibliometric laws refer to those statistical expressions used to describe the functioning of science by mathematical means, among the most important of which is Lotka’s law (Kumar, 2020). This type of review increases methodological rigor and helps develop well-founded knowledge by accumulating data of the existing literature, trends, and issues of current research (Verdejo *et al.*, 2021) through a reproducible design for identifying, evaluating, and interpreting the data by the PRISMA statement (Tricco *et al.*, 2018). The bibliometric analysis is a utility tool to measure and evaluate scientific research quantitatively and qualitatively (Sweileh, 2021) and to compare the connection among countries, authors, research volumes, and the activity of institutions for better allocation of funding.

The VOSviewer software is used in bibliometric analysis to estimate the association strength between two elements based on the separation distance, for which an optimization technique is used to form clusters from a set of tightly related nodes. The association strength (s_{ij}) between two terms, i and j , is calculated with the following (van Eck and Waltman, 2009):

$$s_{ij} = \frac{c_{ij}}{w_i w_j}$$

where c_{ij} denotes the number of co-occurrences of items i , j , w_i , and w_j denote either the total number of occurrences of items i and j , respectively, or the total number of co-occurrences of these items. Therefore, the term c_{ij} is the number of co-occurrences between articles i and j . Details on VOSviewer’s mapping, normalization, and grouping methods are cited (van Eck and Waltman, 2009; Waltman *et al.*, 2010).

The current study intends to analyze and synthesize the published research on renewable alternative materials to improve seed quality in order to reduce pollution and raw material depletion. This research focuses on describing the principal

characteristics of relevant documents, as well as the connections between countries, authors, and emerging themes.

To fulfill the objective, we established a set of research questions (RQ):

(RQ1) How has research in the area of study progressed in terms of scientific publications and citations? (RQ2) What materials derived from renewable sources have been developed for seed improvement? (RQ3) Who are the researchers with the most scientific publications? What effect did their citation have? (RQ4) Which country has the most outstanding production of scientific articles related to the subject of study?

MATERIALS AND METHODS

Scoping review

The next five phases followed the proposed by Arksey and O'Malley (2005): defining research question or questions; identifying all the relevant studies; selection of the relevant studies; shaping the data; gathering, summarizing, and reporting the results. Two inclusion criteria were considered as follows: only documents such as "research articles" were considered, with no limitations on publication year or language; only papers focused on the development of alternative materials for improving germination, growth, crop yield, and physical and phytosanitary protection of seeds and seedlings were included.

The bibliographic search was made using the SCOPUS® and Web of Science™ databases, these databases are the most complete digital source of scientific articles with peer-review journals with rigorous selection criteria for publishers and the most used in the bibliometric analysis (Sweileh, 2021). First, general concepts were used to search for articles related to alternative materials for seeds; later, more specific concepts were used to guide the search within the agricultural area using the logical Boolean operators "AND" & "OR" (Maçaira *et al.*, 2018).

Bibliometric analysis

The analysis was conducted with the R-tool for BIBLIOMETRIX 3.0 software BIBLIOSHINY (Aria and Curcurullo, 2017) and VOSviewer version 1.6.14 (van Eck and Waltman, 2009). BIBLIOSHINY was used to calculate Lotka's law and the H index after obtaining annual and authors' scientific output over time in terms of the number of publications. Lotka's law is an approximate inverse-square law in which the number of authors publishing a certain number of articles is a fixed ratio to the number of authors publishing a single paper (Elango and Rajendran, 2012). The H index measures the broad impact of an individual's work while avoiding the drawbacks of other criteria. It provides an objective measurement of an author's academic works' impact and relevance (Hirsch, 2005). Bibliometric indicators of co-authorship and co-occurrence with countries and all keywords as the unit of analysis.

In VOSviewer, equal weight was given to co-authorship and citation of a publication (“fractional counting”) regardless of the number of authors, citations, or references (Perianes-Rodriguez *et al.*, 2016).

RESULTS AND DISCUSSION

The initial keyword search yielded 4558 references (Figure 1). In the end, 61 articles remained in the matrix, comprising all the documents for the bibliometric analysis.

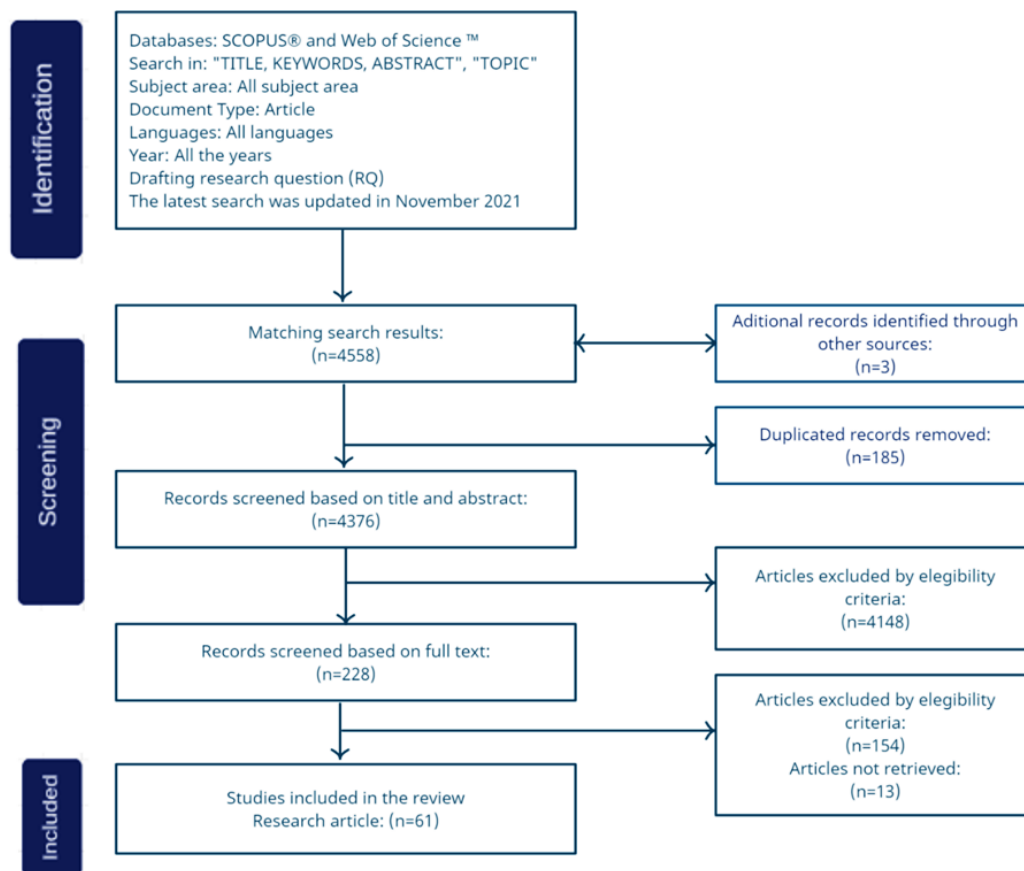


Figure 1. Stages of scoping literature review (modified from Tricco *et al.*, 2018)

Descriptive bibliometric analysis

There were 61 articles published between 2007 and 2021 (Table 1). The most influential journals were Crop Protection, Journal of Crop Improvement, PLOS One, and Scientific Reports with two documents, followed by Sustainable Chemistry and Engineering, Acta Agrobotanica, Acta Horticulturae, and African Journal of Biotechnology (with one document each). On average, every article has been cited 15 (14.66) times, and was written by five authors (4.92). The collaboration index (CI) was 5.12.

Table 1. Main information of articles on renewable alternative materials for seed protection.

Description of result	Results
Years of publication	2007–2021
Occurrence of journals	57
Number of documents	61
Years between each publication (average)	4.59
Number of citations per article (average)	14.66
Yearly number of citations per document (average)	2.59
Total number of references	2607
Research articles	60
Erratum	1
Number of phrases that frequently appear in the title of an article's references	754
Number of keywords	232
Number of authors	300
Articles with a single author	3
Multi-authored articles	297
Number of documents by author (average)	0.20
Number of authors by document (average)	4.92
Number of co-authors for each article	5.38
Collaboration Index	5.12

Scientific production

Citations for publications about seed and seedling protection materials have gradually increased over time (Figure 2). This may be related to recent concerns about environmental preservation and reducing food loss and waste.

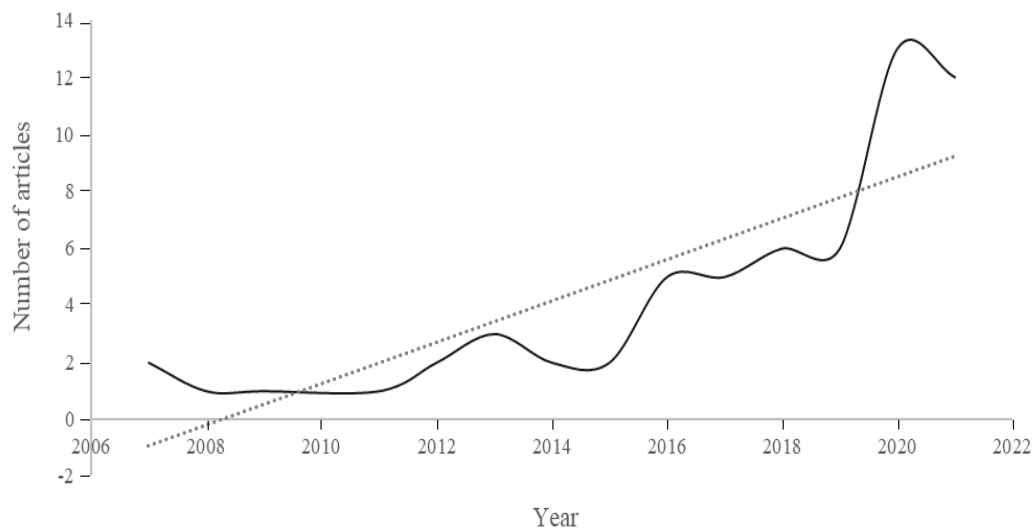


Figure 2. Papers published between 2007–2021 on renewable alternative materials for seed protection.

Renewable alternative materials and their applications

Bibliometric network co-occurrence resulted in a total of 183 words distributed into 14 clusters (Table 2). The keywords with the highest occurrence and total link strength which indicate the number of publications when two keywords occur together (Guo *et al.*, 2019) were chitosan, biopolymer, seed coating, maize (*Zea mays* L.), seed treatment, sustainable agriculture, growth, and rice (*Oryza sativa* L.) (Figure 3). The most recently

Table 2. Co-occurrence network for unit keywords about renewable alternative materials for seed protection.

Cluster	Keyword	Occurrence	Total link strength	Average publication year
13	Chitosan	8	8	2018
	Antioxidant	2	2	2020
5	Biopolymer	5	5	2018
	Bioagent	2	2	2020
7	Seed bioprimer	1	1	2021
	Seed coating	5	5	2017
	Sustainable Agriculture	3	3	2020
	Biomaterial in agriculture	1	1	2021
1	Maize (<i>Zea mays</i> L.)	4	4	2018
	Seed treatment	3	3	2017
6	Growth	3	3	2016
	Rice (<i>Oryza sativa</i> L.)	3	3	2013
8	Plant growth	3	3	2015
	Promoting bacteria (pgpr)	2	2	2019
	Nitrogen-fixing bacteria (microorganisms)	1	1	2021
12	Stomatal conductance of leave	1	1	2021
	Ajowan (<i>Carum copticum</i> L.)	2	2	2016
3	Salt stress	2	2	2020
	Biological control	2	2	2009
10	<i>Rhizoctonia solani</i> J.G. Kühn 1858	2	2	2015
	Plant growth regulator	2	2	2019
2	Salinity	2	2	2015
	Biochar	2	2	2018
4	Heavy metal	2	2	2018
	Nickel toxicity	1	1	2021
	Oxidative stress	1	1	2021
11	Chitin oligosaccharide	2	2	2019
	Electron beam plasma	2	2	2020
	Plant biostimulants	1	1	2021
9	Seed germination	2	2	2020
	Leaf production	1	1	2021
	Shoot elongation	1	1	2021
9	Carboxymethyl cellulose	2	2	2017

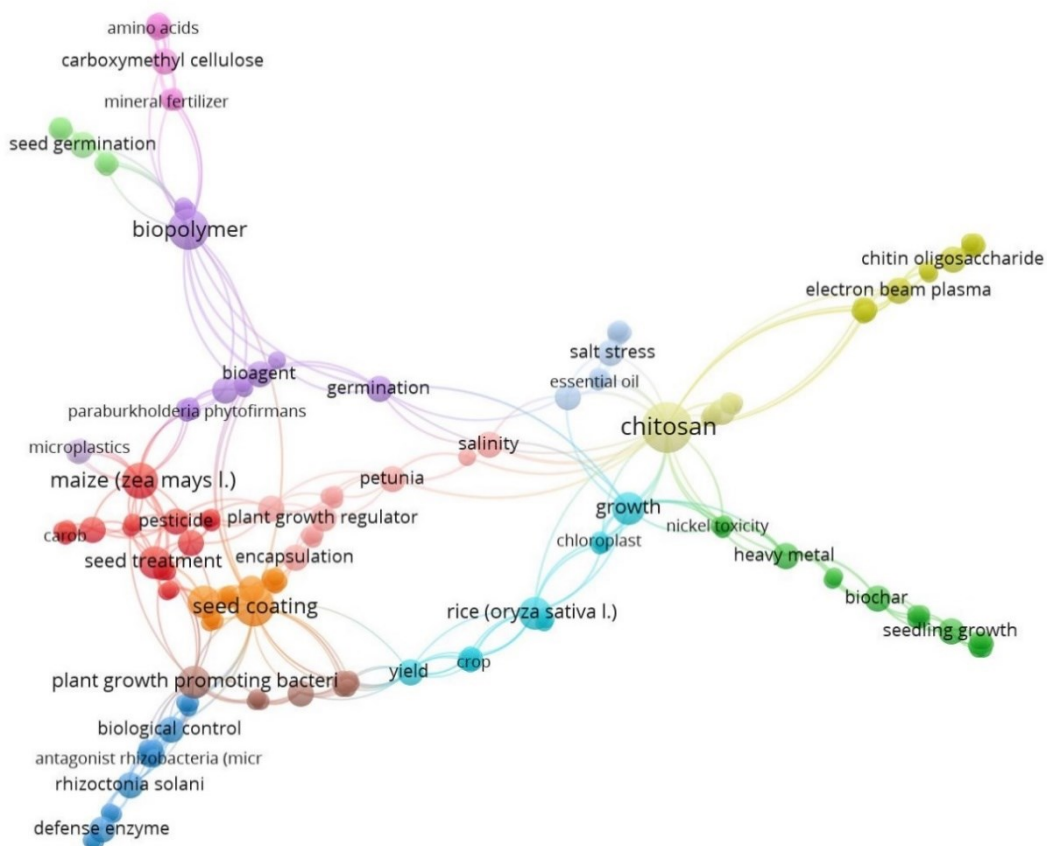


Figure 3. Clusters of keywords about renewable alternative materials for seed protection based on the strength and frequency of their association.

used keywords were those related to biomaterials in agriculture, food security, plant biostimulants, seed bioprimering and care, including leaf production, shoot elongation, stomatal conductance of leaves, nickel toxicity, and oxidative stress (Figure 4).

The articles are listed from highest to lowest according to the number of citations (Table 3). Choudhary *et al.* (2017), with a research article on biostimulants and biocontrol, ranked first with 105 citations, approximately 17 per year, on the application of Cu-Chitosan nanoparticles (NPs) against *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn 1933 leaf spot disease on maize seeds. This review discussed the use of chitosan and chitin in various forms: chitosan oligosaccharide (COS) in biocontrol against *Tobacco mosaic virus* (TMV) (Jia *et al.*, 2016) and chitosan nanoparticles (ChNP) against the sheath blight pathogen (ShB) (Divya *et al.*, 2020). Chitin, as a plant growth promoter in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. seeds, increased fresh weight (10 %) and radicle length (25 %) (Winkler *et al.*, 2017). Oligomeric chitosan increased leaf and root fresh and dry weight on the seeds and seedlings of rice (Chamnanmanoontham *et al.*, 2014) and ajowan (*Carum copticum* (L.) Benth. & Hook. f. ex C.B. Clarke). Under salt stress, chitosan promoted

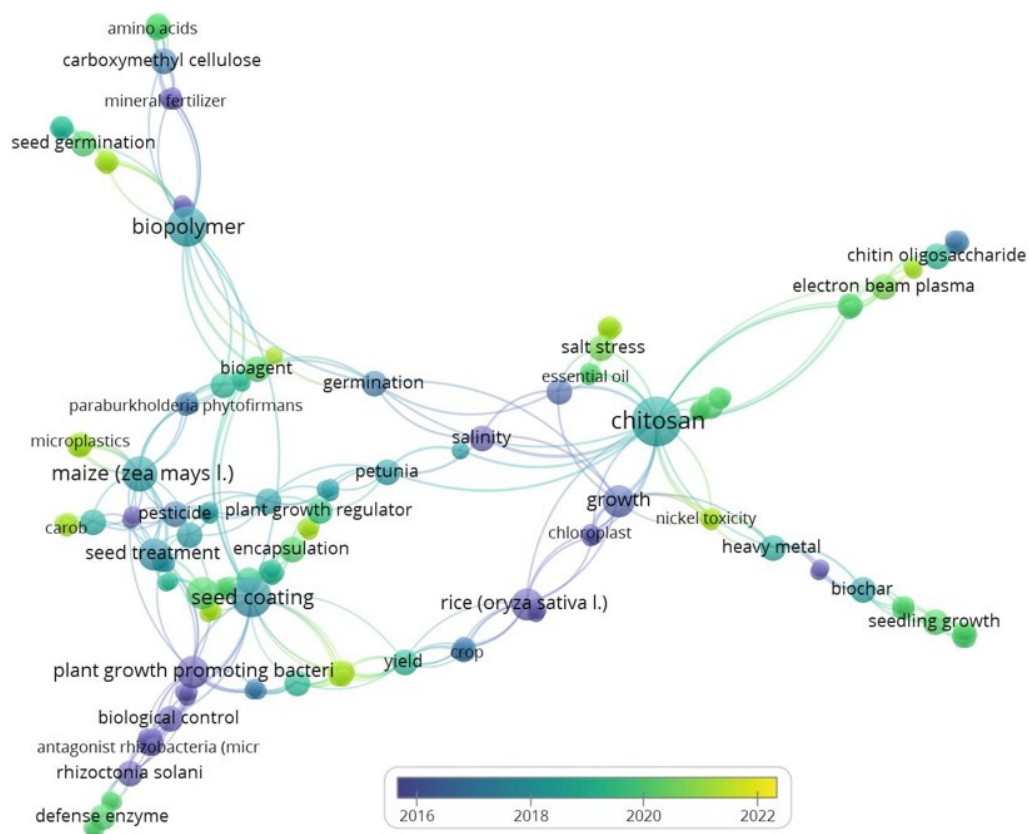


Figure 4. Bibliometric network showing the time-lapse for the appearance of keywords about renewable alternative materials for seed protection.

germination percentage and rate, seedling vigor index, length, dry weight, and radicle formation (Mahdavi and Rahimi, 2013). The application of foliar chitosan to strawberry seedlings increased growth and fruit production, as well as the concentration of total antioxidants, flavonoids, phenolics, carotenoids, and anthocyanins (Rahman *et al.*, 2018). These agents were used in crops because of their importance to food safety and high added value.

Other developments presented (Table 3) include containers made of natural fibers from hemp hulls and strands used for bell pepper seeds, which produced very dense and active root hairs (Schettini *et al.*, 2013). A seedling tray made with polylactic acid (PLA) for rice seedlings caused an increase in the emergence rate and an average root diameter 8.63 % greater than the control (Shi *et al.*, 2017). Containers made for *Posidonia oceanica* (L.) Delile “egagropili” fibers provided growth-supporting protection and anchoring to the plants (Balestri *et al.*, 2019). These biocontainers improve environmental sustainability by reducing seed and seedling losses.

Table 3. Applications of renewable alternative materials used for seed protection.

Total of Citations	Citations per Year	Application	Material	Reference
105	17.5	Biocontrol and biostimulant	Cu-chitosan NPs + chitosan + CuSO ₄ + commercial fungicide (Bavistin)	Choudhary <i>et al.</i> , 2017
68	9.7	Biocontrol agent	Chitosan oligosaccharide	Jia <i>et al.</i> , 2016
49	4.9	Biodegradable pots improving agronomic crop yield	Sodium alginate + natural fibers from hemp hulls and strands	Schettini <i>et al.</i> , 2013
48	8	Biostimulant	Chitin	Winkler <i>et al.</i> , 2017
44	2.7	Biocontrol agent for <i>Aspergillus niger</i>	<i>Paenibacillus polymyxa</i> (Prazmowski 1880) Ash <i>et al.</i> 1994	Haggag, 2007
41	8.2	Biostimulant	Chitosan	Rahman <i>et al.</i> , 2018
41	5.1	Plant growth promoter	Oligomeric and polymeric chitosan	Chamnanmanoontham <i>et al.</i> , 2014
36	5.1	Offsetting phytotoxicity for metal nanoparticles	Extracellular polymeric substances (EPS)	Li <i>et al.</i> , 2016
35	5	Biostimulant for germination	Biochar I (mixed wood sievings from wood chip production), Biochar II (mixture of paper sludge and wheat husks) and Biochar III (sewage sludge)	Gascó <i>et al.</i> , 2016
34	3.4	Seed priming to improve germination, growth, and alleviate abiotic stresses	Acetic acid + chitosan	Mahdavi and Rahimi, 2013
31	5.2	Improving agronomic crop yield	Diazotrophic bacterial (<i>Azospirillum brasilense</i> strain Ab-V5) + biopolymer matrix	Oliveira <i>et al.</i> , 2017
30	2.8	Nematicidal activity	Chitosan	Khalil and Badawy, 2012
27	3.9	Seed coating	<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai 1969, anamorphic, strain T-22 (ATCC 20847) + insecticide (imidacloprid) + fungicide (metalaxyl-M+Starch)	Accinelli <i>et al.</i> , 2016
21	7	Improving germination and plant growth in the presence or absence of a fungal pathogen (<i>Fusarium oxysporum</i> Schltdl. 1824)	Cellulose acetate + gelatin from porcine skin + acetic acid (695092, ACS reagent), Tween® 80 + copper (II) oxide nanopowder + copper acetate monohydrate	Xu <i>et al.</i> , 2020
20	6.7	Stimulating effect on seedling growth	Biochar from rice straw (RS) and wood sawdust (WS)	Zhang <i>et al.</i> , 2019
19	6.3	Antifungal for aflatoxin B1 (AFB1)	Chitosan + sodium-tripolyphosphate + dichloromethane (DCM) + glacial acetic acid (GAA) + dimethyl sulfoxide (DMSO) + methylglyoxal (MG) + perchloric acid + Tween-20 + Tween-80 + silica gel + ethanol + methanol + 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) + 2,2'-Azino-bis(3 ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) + diammonium salt (ABTS)+ PDA and SMKY	Kumar <i>et al.</i> , 2020

Table 3. Continue.

Total of Citations	Citations per Year	Application	Material	Reference
18	1.5	Biocontrol and biofertilizer agent	<i>Bacillus subtilis</i> microcapsule	Hernández-Suárez <i>et al.</i> , 2011
18	6	Seed priming for growth stimulation and pest biocontrol	Chitosan	Jogaiah <i>et al.</i> , 2020
17	5.7	Biostimulant	<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai 1969, strain T22 + biopolymer (carboxymethyl cellulose and Pluronic)	Carillo <i>et al.</i> , 2020
17	3.4	Biocontrol by seed coating	Starch with pesticides (insecticide: imidacloprid; fungicide: metalaxyl-M) and spores of non-aflatoxigenic <i>Aspergillus flavus</i> NRRL 30797 + chitin + glycerol	Accinelli <i>et al.</i> , 2018b
16	1	Chitosan for drought and plant yield recovery	Acetic acid + chitosan	Boonlertnirun <i>et al.</i> , 2007
14	2.8	Biocontrol and biostimulant by seed coating	Modified corn starch + chitin + glycerol + insecticide + fungicide	Accinelli <i>et al.</i> , 2018a
12	3	Seed coating biostimulants, biopesticides, and biofertilizer for yield improvement and seedling strengthening	Poly(vinyl alcohol) (PVA) and poly(vinylpyrrolidone) (PVP) + glycerol + canola (<i>Brassica napus</i> L. cv. Faisal canola (RBN-03060)] + <i>Bacillus subtilis</i> NH-100 + fungal strains (<i>Macrophomina phaseolina</i> (Tassi) Goid. 1947, <i>Rhizoctonia solani</i> J.G. Kühn 1858, and <i>Fusarium oxysporum</i> Schltdl. 1824)	Hussain <i>et al.</i> , 2019
11	1.1	Encapsulated seeds	Sodium alginate + calcium chloride	Sakhanokho <i>et al.</i> , 2013
10	1.7	Biostimulant	Arabic gum + carboxymethylcellulose (CMC) + dextran + gelatin + glycerol + saponin + xanthan + alginate, egg lecithin, soy lecithin, skimmed milk + chitosan (food grade) + castor oil	Bejarano <i>et al.</i> , 2017
10	3.3	Biostimulant for improving plant tolerance to oxidative stress under salinity	NaCl + chitosan + acetic acid + Murashige and Skoog nutrient medium (MS)	Razavizadeh <i>et al.</i> , 2020
10	2.5	Seed coating biostimulant for seed germination and growth	Micronized vermicompost + defatted soybean meal + vegetable protein + diatomaceous earth (DE) + xanthan gum (XG)	Amirkhani <i>et al.</i> , 2019
8	1.1	Seed coating to improve native plant establishment	Biochar from ponderosa (<i>Pinus ponderosa</i> Douglas ex C. Lawson) and lodgepole (<i>Pinus contorta</i> Douglas ex Loudon) pine logs	Williams <i>et al.</i> , 2016
7	0.5	Seed priming to improve germination, biocontrol and management of pearl millet downy mildew disease	Gum biopolymers + metalaxyl (Apron 35 SD)+ methyl-N-(2-methoxyacetyl)-N-(2.6-Sudisha <i>et al.</i> , 2009 xylyl)-DL-alaninat	

Table 3. Continue.

Total of Citations	Citations per Year	Application	Material	Reference
7	1.4	Growth stimulator	Chitosan	Krupa-Małkiewicz and Fornal, 2018
7	3.5	Seed germination promoter	Chitosan + alginic acid sodium salt + sodium tripolyphosphate (STPP) + copper(II) oxide nanopowder	Leonardi <i>et al.</i> , 2021
7	2.3	Biofungicide	Chitosan-hexaconazole-dazomet	Maluin <i>et al.</i> , 2020
6	1.5	Germination and biostimulant	Bio-oil derived from algae biomass <i>Macrocystis pyrifera</i> L.	Sankaranarayanan <i>et al.</i> , 2019
5	0.6	Biostimulator	Chitosan	Salachna <i>et al.</i> , 2015
5	0.8	Biodegradable seedling trays improving seedling quality	PLA (polylactic acid)	Shi <i>et al.</i> , 2017
4	1	Biocontainer for crops	<i>Posidonia oceanica</i> L. fibers + poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) + acetyl tributyl citrate + calcium carbonate	Balestri <i>et al.</i> , 2019
4	1.3	Stimulant for seed germination and biomass production	Chitosan + softwood lignocellulose	Vasilieva <i>et al.</i> , 2020
3	0.3	Reduce Fusarium mycotoxins	b-d-glucan biopolymers	El-Naggar and Thabit, 2014
3	1.5	Promoter seed germination	Chitooligosaccharide (COS)	Vasilieva <i>et al.</i> , 2021
3	1	Biocontrol for ShB caused by <i>Rhizoctonia solani</i> J.G. Kühn 1858	Chitosan + acetic acid	Divya <i>et al.</i> , 2020
2	0.2	Stimulating germination and plant growth	Xanthan gum + carboxymethyl cellulose sodium salt + fertilizers + micronutrients	Struminska <i>et al.</i> , 2014
2	0.2	Seed and seedling protection and growth stimulation	Chitosan + hemicelluloses (galactoglucomannans)	Niekraszkievicz <i>et al.</i> , 2012
2	1	Improving soybean tolerance to Ni toxicity	Chitosan	Sadeghipour, 2021
2	1	Seed biopriming	Sodium alginate + carboxymethylcellulose + gum arabic + xanthan gum + <i>Trichoderma asperellum</i> Samuels, Lieckf. & Nirenberg 1999	Chin <i>et al.</i> , 2021
2	1	Biocontrol	Biopolymer from the leguminous plant <i>Ceratonia siliqua</i> L. + <i>Trichoderma harzianum</i> Rifai 1969, M10 + <i>Trichoderma atroviride</i> Bissett 1984, P1 + <i>Trichoderma longibrachiatum</i> Rifai 1969, MK1	D'Errico <i>et al.</i> , 2020
2	0.7	Essential oil-based natural herbicides	Savory (<i>Satureja hortensis</i> L.) essential oil (EO) + natural polymers (i.e., arabic gum/gelatin (AGG), apple pectin (AP), gelatin (G))	Taban <i>et al.</i> , 2020
2	0.7	Agent anti-drought	Chitosan oligosaccharide	He <i>et al.</i> , 2020

Table 3. Continue.

Total of Citations	Citations per Year	Application	Material	Reference
2	0.5	Biostimulant for germination and seedling growth, biopesticide	Chitosan	Zohara <i>et al.</i> , 2019
1	0.7	Seed germination and vigor	Chemical fungicide (CA) + biological fungicide polymers (chitosan-lignosulphonate polymer (CL) and eugenol incorporated into chitosan-lignosulphonate polymer (E+CL))	Thobunluepop <i>et al.</i> , 2008
1	0.2	Biocontainer	90 % polylactic acid (PLA) and 10 % lignin, 60 % PLA and 40 % soy polymer with adipic anhydride	Flax <i>et al.</i> , 2018
1	0.5	Stimulating effect for germination	Chitosan + alginate/PEG + commercial inoculant (HiStick® Soy)	Jarecki, 2021
1	0.5	Biocontrol for <i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh. against salinity	Bentonite and l-proline	Merino <i>et al.</i> , 2021
1	0.5	Stimulating effect for germination and growth plant	Chitosan+ alginate with PGR (plant growth regulators)	Vlahoviček-Kahlina <i>et al.</i> , 2021
1	0.5	Minimizing abrasion losses	Sepiret (BASF, Ludwigshafen Germany) + starch-based liquid bioplastic + soy protein	Accinelli <i>et al.</i> , 2020
1	0.3	Growth regulating agent	Zn-chitosan (Zn-CNPs)	Hameed <i>et al.</i> , 2020
0	0	Stimulating germination and plant growth under non-stressed and stressed environments	Silk solution + trehalose and <i>Rhizobium tropici</i> Martínez-Romero <i>et al.</i> 1991 grown in Lysogeny broth (LB) + <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Mhada <i>et al.</i> , 2021
0	0	Seedling pots	Cotton + newspaper + corrugated cardboard + polycotton	Juanga-Labayen and Yuan, 2021
0	0	Growth stimulant	N-acetylated (10 %) + chitosan (CHT) + 6-benzylaminopurine (BAP) + kinetin (KIN)	Premi <i>et al.</i> , 2021
0	0	Biofungicide and seed germination	Neem oil + Tween 20 + high-methoxyl pectin (HMP) + ultrapure water + high-methoxyl pectin (HMP) + Polymer L232	de Castro e Silva <i>et al.</i> , 2019
0	0	Biostimulant for seed germination and increased seedling growth rate	Nanocomposites of HS/Ag	Dolmaa <i>et al.</i> , 2018
0	0	Biocontrol and biostimulant	<i>Pseudomonas fluorescens</i> Migula 1895 (Approved Lists 1980) + <i>Rhizobium</i> spp. + phosphorus solubilizing bacteria (PSB) + bio-friendly polymer + sugar syrup	Jagadeesh <i>et al.</i> , 2019

Table 4. H index of principal authors on renewable alternative materials for seed protection.

Author and reference	Total of publications	Total of citations	H index	Year first published
Abbas HK (Accinelli <i>et al.</i> , 2016; 2018a; 2018b; 2020)	4	59	3	2016
Accinelli C (Accinelli <i>et al.</i> , 2016; 2018a; 2018b; 2020)	4	59	3	2016
Shier WT (Accinelli <i>et al.</i> , 2016; 2018a; 2018b; 2020)	4	59	3	2016
Little NS (Accinelli <i>et al.</i> , 2016; 2018a; 2020)	3	45	2	2016
Rahman M (Rahman <i>et al.</i> , 2018; Zohara <i>et al.</i> , 2019)	2	43	2	2018
Hameed A (Hameed <i>et al.</i> , 2020)	1	1	1	2020
Islam MT (Rahman <i>et al.</i> , 2018; Zohara <i>et al.</i> , 2019)	2	43	2	2018
Kotowicz JK (Accinelli <i>et al.</i> , 2016, 2018a)	2	44	2	2016
Lanzuise S (Carillo <i>et al.</i> , 2020; D'Errico <i>et al.</i> , 2020)	2	19	2	2020
Malinconico, M. (D'Errico <i>et al.</i> , 2020; Schettini <i>et al.</i> , 2013)	2	51	2	2013

Authors

Researchers with the highest number of publications in the field in the last 14 years were: Abbas HK, Accinelli C, and Shier WT, each with four documents and H index values of 3 and 59 times cited (Table 4). The H index indicates an estimate of the importance, significance, and broad impact of a scientist's cumulative publications (Hirsch, 2005). Lotka's law revealed that the frequency of publication by researchers was still low, with 93.7 % of the authors having only written one document. The evidence suggests that the scientific community has not paid enough attention to the development and utilization of alternative materials to improve germination, growth, crop yield, and physical and phytosanitary protection of seeds and seedlings.

Countries

Considering scientific production, the result was a network with 33 countries organized into 17 clusters based on total link strength. This weight attribute represents the collaboration level between countries (Sajovic and Boh, 2022) (Table 5). The United

Table 5. International co-authorship network on renewable alternative materials for seed protection.

Cluster	Country	Documents	Citations	Total link strength
2	United States	14	306	10
2	Bangladesh	2	43	2
9	Italy	10	139	5
3	India	6	158	3
1	Germany	2	49	2
1	Spain	2	83	2
1	Thailand	3	58	1
5	Russian Federation	3	7	2
6	Egypt	3	77	1
8	Iran	4	48	1
13	China	5	131	0
16	Poland	4	15	0

States was part of the cluster with the highest association strength (10) and contributed with 14 publications and 306 citations, followed by Italy with 10 publications and 139 citations. China received 131 citations with only five articles, with one research paper on a TMV biocontrol agent receiving 68 citations (Jia *et al.*, 2016). These results suggest that collaborative work in this line of research is still developing.

CONCLUSIONS

Because reducing world hunger is a global concern, the scientific community is actively working to propose agribusiness solutions that benefit the entire supply chain. This review with meta-analysis discusses the current state of knowledge and development of seed conservation; according to the h-index, the number of citations is not greater than the number of articles published by each author; according to Lotka's law, 94 % have published only one article; finally, over 14 years, only an average of 4 articles per year have been published. The results show that production and collaboration between researchers and countries in developing countries on new materials to improve seed quality are still incipient. Individual production and global, interdisciplinary collaboration are required to develop, test, and apply new and existing materials that improve quality while reducing contamination and raw material depletion. This study has two limitations: firstly, the information was extracted from only two databases (SCOPUS® and Web of Science™); secondly, due to lack of clarity and duplication of concepts, the establishment of keywords was extensive, resulting in 4558 articles, only 61 of which contributed to answering the research questions. The most cited and prolific authors were Abbas HK, Accinelli C, and Shier WT. The United States of America was the country with the largest number of publications (14). The most recently used keywords were "chitosan", "biopolymer", "seed coating", "maize", "seed treatment", and "sustainable agriculture". The most widely documented

developments were biostimulants, biocontrol, containers, and protective drought agents. More research is needed to collect information from other databases and gray literature, as the production of articles in the world changes on a daily basis.

REFERENCES

- Accinelli C, Abbas HK, Little NS, Kotowicz JK, Mencarelli M, Shier WT. 2016. A liquid bioplastic formulation for film coating of agronomic seeds. *Crop Protection* 89: 123–128. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.07.010>
- Accinelli C, Abbas HK, Little NS, Kotowicz JK, Shier WT. 2018a. Biological control of aflatoxin production in corn using non-aflatoxigenic *Aspergillus flavus* administered as a bioplastic-based seed coating. *Crop Protection* 107: 87–92. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.02.004>
- Accinelli C, Abbas HK, Shier WT. 2018b. A bioplastic-based seed coating improves seedling growth and reduces production of coated seed dust. *Journal of Crop Improvement* 32 (3): 318–330. <https://doi.org/10.1080/15427528.2018.1425792>
- Accinelli C, Abbas HK, Bruno V, Vicari A, Little NS, Ebelhar MW, Shier WT. 2020. Minimizing abrasion losses from film-coated corn seeds. *Journal of Crop Improvement* 35 (5): 666–678. <https://doi.org/10.1080/15427528.2020.1861156>
- Amirkhani M, Mayton HS, Netravali AN, Taylor AG. 2019. A seed coating delivery system for bio-based biostimulants to enhance plant growth. *Sustainability* 11 (19): 5304 <https://doi.org/10.3390/su11195304>
- Aria M, Cuccurullo C. 2017. bibliometrix: An R-tool for comprehensive science mapping analysis. *Journal of Informetrics* 11 (4): 959–975. <https://doi.org/10.1016/j.joi.2017.08.007>
- Arksey H, O'Malley L. 2005. Scoping studies: towards a methodological framework. *International Journal of Social Research Methodology* 8 (1): 19–32. <https://doi.org/10.1080/1364557032000119616>
- Balestri E, Vallerini F, Seggiani M, Cinelli P, Menicagli V, Vannini C, Lardicci C. 2019. Use of biocontainers from seagrass wrack with nursery planting to improve the eco-sustainability of coastal habitat restoration. *Journal of Environmental Management* 251: 109604. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109604>
- Bejarano A, Sauer U, Preininger C. 2017. Design and development of a workflow for microbial spray formulations including decision criteria. *Applied Microbiology and Biotechnology* 101 (19): 7335–7346. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8447-6>
- Boonlertnirun S, Sarobol E, Meechoui S, Sooksathan I. 2007. Drought recovery and grain yield potential of rice after chitosan application. *Agriculture and Natural Resources* 41 (1): 1–6.
- Carillo P, Woo SL, Comite E, El-Nakhel C, Roupheal Y, Fusco GM, Borzacchiello A, Lanzuise S, Vinale F. 2020. Application of *Trichoderma harzianum*, 6-pentyl- α -pyrone and plant biopolymer formulations modulate plant metabolism and fruit quality of plum tomatoes. *Plants* 9 (6): 771. <https://doi.org/10.3390/plants9060771>
- Chamnanmanontham N, Pongprayoon W, Pichayangkura R, Roytrakul S, Chadchawan S. 2014. Chitosan enhances rice seedling growth via gene expression network between nucleus and chloroplast. *Plant Growth Regulation* 75 (1): 101–114. <https://doi.org/10.1007/s10725-014-9935-7>
- Chin JM, Lim YY, Ting ASY. 2021. Biopolymers for biopriming of *Brassica rapa* seeds: A study on coating efficacy, bioagent viability and seed germination. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 20 (3): 198–207. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2021.01.006>
- Choudhary RC, Kumaraswamy RV, Kumari S, Sharma SS, Pal A, Raliya R, Biswas P, Saharan V. 2017. Cu-chitosan nanoparticle boost defense responses and plant growth in maize (*Zea mays* L.). *Scientific Reports* 7 (1): 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08571-0>
- D'Errico G, Mormile P, Malinconico M, Bolletti CS, Lanzuise S, Crasto A, Woo SL, Marra R, Lorito M, Vinale F. 2020. *Trichoderma* spp. and a carob (*Ceratonia siliqua*) galactomannan to control the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato plants. *Canadian Journal of Plant Pathology* 43 (2): 267–274. <https://doi.org/10.1080/07060661.2020.1801844>

- de Castro e Silva P, Pereira LAS, Lago AMT, dos Reis MV, de Rezende ÉM, Carvalho GR, Oliveira JE, Marconcini JM. 2019. Correction to: physical-mechanical and antifungal properties of pectin nanocomposites / neem oil nanoemulsion for seed coating. *Food Biophysics* 15 (1): 153–153. <https://doi.org/10.1007/s11483-019-09610-1>
- Divya K, Thampi M, Vijayan S, Varghese S, Jisha MS. 2020. Induction of defense response in *Oryza sativa* L. against *Rhizoctonia solani* (Kuhn) by chitosan nanoparticles. *Microbial Pathogenesis* 149: 104525. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104525>
- Dolmaa G, Aleksandrova GP, Lesnichaya MV, Bayaraa B, Urantsetseg E, Ganzayaa G, Tserenkhandaa G, Sukhov BG, Regdel D, Trofimov BA. 2018. Silver nanobiocomposites based on humic substances as highly efficient stimulators of seed germination. *Nanotechnologies in Russia* 13 (5–6): 305–310. <https://doi.org/10.1134/s1995078018030059>
- Elango B, Rajendran P. 2012. Authorship trends and collaboration pattern in the marine sciences literature: a scientometric study. *International Journal of Information Dissemination and Technology* 2 (3): 166–169.
- El-Naggar MA, Thabit TM. 2014. Evaluation of β -d-glucan biopolymer as a novel mycotoxin binder for fumonisin and deoxynivalenol in soybean feed. *Foodborne Pathogens and Disease* 11 (6): 433–438. <https://doi.org/10.1089/fpd.2013.1711>
- Flax NJ, Currey CJ, Schrader JA, Grewell D, Graves WR. 2018. Herbaceous Perennial producers can grow high-quality blanket flower in bioplastic-based plant containers. *HortTechnology* 28 (2): 212–217. <https://doi.org/10.21273/horttech03922-17>
- Flores-Fernández C, Aguilera-Eguía R. 2019. Indicadores bibliométricos y su importancia en la investigación clínica. ¿Por qué conocerlos?. *Revista de la Sociedad Española del Dolor* 26 (5): 315–316. <https://doi.org/10.20986/reesd.2018.3659/2018>
- Gascó G, Cely P, Paz-Ferreiro J, Plaza C, Méndez A. 2016. Relation between biochar properties and effects on seed germination and plant development. *Biological Agriculture and Horticulture* 32 (4): 237–247. <https://doi.org/10.1080/01448765.2016.1166348>
- Guo YM, Huang ZL, Guo J, Li H, Guo XR, Nkeli MJ. 2019. Bibliometric analysis on smart cities research. *Sustainability* 11 (13): 3606. <https://doi.org/10.3390/su11133606>
- Haggag WM. 2007. Colonization of exopolysaccharide-producing *Paenibacillus polymyxa* on peanut roots for enhancing resistance against crown rot disease. *African Journal of Biotechnology* 6: 1568–1577. <https://doi.org/10.5897/AJB2007.000-2226>
- Hameed A, Khalid A, Ahmed T, Farooq T. 2020. Nano-priming with Zn-chitosan nanoparticles regulates biochemical attributes and boost antioxidant defence in wheat seeds. *Agrochimica* 3: 207–221. <https://doi.org/10.12871/0002185720202031>
- He C, Zhao Y, Zhang J, Gao J. 2020. Chitosan oligosaccharide addition to buddhist pine (*Podocarpus macrophyllus* (Thunb) Sweet) under drought: reponses in ecophysiology and $\delta^{13}C$ abundance. *Forests* 11 (5): 526. <https://doi.org/10.3390/f11050526>
- Hernández-Suárez M, Hernández D, Morales G, Lira-Saldivar R, Rodríguez R, Aguilar C. 2011. Biocontrol of soil fungi in tomato with microencapsulates containing *Bacillus subtilis*. *American Journal of Agricultural and Biological Science* 6 (2): 189–195. <https://doi.org/10.3844/ajabssp.2011.189.195>
- Hirsch JE. 2005. An index to quantify an individual's scientific research output. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102 (46): 16569–16572. <https://doi.org/10.1073/pnas.0507655102>
- Hussain Z, Khan MA, Iqbal F, Raffi M, Hafeez FY. 2019. Electrospun microbial-encapsulated composite-based plasticized seed coat for rhizosphere stabilization and sustainable production of canola (*Brassica napus* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 67 (18): 5085–5095. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b06505>
- Jagadeesh V, Patta S, Triveni S, Keshavulu K, Rani KJ, Raghavendra K. 2019. Shelf life of bioagents and longevity of biologically coated pigeonpea seed. *Indian Journal of Experimental Biology* 57: 916–922.
- Jarecki W. 2021. Soybean response to seed coating with chitosan + alginate/PEG and/or inoculation. *Agronomy* 11 (9): 1737. <https://doi.org/10.3390/agronomy11091737>

- Jia X, Meng Q, Zeng H, Wang W, Yin H. 2016. Chitosan oligosaccharide induces resistance to *Tobacco mosaic virus* in *Arabidopsis* via the salicylic acid-mediated signalling pathway. *Scientific Reports* 6 (1). <https://doi.org/10.1038/srep26144>
- Jogaiah S, Satapute P, De Britto S, Konappa N, Udayashankar AC. 2020. Exogenous priming of chitosan induces upregulation of phytohormones and resistance against cucumber powdery mildew disease is correlated with localized biosynthesis of defense enzymes. *International Journal of Biological Macromolecules* 162: 1825–1838. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.124>
- Juanga-Labayen JP, Yuan Q. 2021. Making biodegradable seedling pots from textile and paper waste—part b: development and evaluation of seedling pots. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 18 (14): 7609. <https://doi.org/10.3390/ijerph18147609>
- Khalil MS, Badawy MEI. 2012. Nematicidal activity of a biopolymer chitosan at different molecular weights against root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *Plant Protection Science* 48 (4): 170–178. <https://doi.org/10.17221/46/2011-pps>
- Krupa-Makiewicz M, Fornal N. 2018. Application of chitosan *in vitro* to minimize the adverse effects of salinity in *Petunia × atkinsiana* D. don. *Journal of Ecological Engineering* 19 (1): 143–149. <https://doi.org/10.12911/22998993/79410>
- Kumar CA, Singh A, Kumar SV, Kumar DA, Das S, Grace RM, Dkhar MS, Kayang H, Kishore DN. 2020. Assessment of chitosan biopolymer encapsulated α -Terpineol against fungal, aflatoxin B₁ (AFB₁) and free radicals mediated deterioration of stored maize and possible mode of action. *Food Chemistry* 126010. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126010>
- Kumar Tunga S. 2020. Author productivity and the application of lotka's law in the field of horticulture. *Library Philosophy and Practice Electronic Journal* 4770.
- Leonardi M, Caruso GM, Carroccio SC, Boninelli S, Curcuruto G, Zimbone M, Allegra M, Torrisi B, Ferlito F, Miritello M. 2021. Smart nanocomposites of chitosan/alginate nanoparticles loaded with copper oxide as alternative nanofertilizers. *Environmental Science: Nano* 8 (1): 174–187. <https://doi.org/10.1039/d0en00797h>
- Li CC, Wang YJ, Dang F, Zhou DM. 2016. Mechanistic understanding of reduced AgNP phytotoxicity induced by extracellular polymeric substances. *Journal of Hazardous Materials* 308: 21–28. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.01.036>
- Maçaira PM, Tavares Thomé AM, Cyrino Oliveira FL, Carvalho Ferrer AL. 2018. Time series analysis with explanatory variables: A systematic literature review. *Environmental Modelling and Software* 107: 199–209. <https://doi.org/10.1016/j.envsoft.2018.06.004>
- Mahdavi B, Rahimi A. 2013. Seed priming with chitosan improves the germination and growth performance of ajowan. *EurAsian Journal of Biosciences* 76: 69–76. <https://doi.org/10.5053/ejobios.2013.7.0.9>
- Maluin FN, Hussein MZ, Yusof NA, Fakurazi S, Idris AS, Hilmi NHZ, Daim LDJ. 2020. Phytotoxicity of chitosan-based agronofungicides in the vegetative growth of oil palm seedling. *PLOS ONE* 15 (4): e0231315. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231315>
- Mhada M, Zvinavashe AT, Hazzoumi Z, Zeroual Y, Marelli B, Kouisni L. 2021. Bioformulation of silk-based coating to preserve and deliver *Rhizobium tropici* to *Phaseolus vulgaris* under saline environments. *Frontiers in Plant Science* 12: 700273. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.700273>
- Merino D, Iglesias MJ, Mansilla AY, Casalougué CA, Alvarez VA. 2021. Fighting against plant saline stress: development of a novel bioactive composite based on bentonite and l-proline. *Clays and Clay Minerals* 69 (2): 232–242. <https://doi.org/10.1007/s42860-021-00120-1>
- Niekraszkiwicz A, Wiśniewska-Wrona M, Kopania E, Orlikowski L, Pospieszny H, Krawczyk K. 2012. Biopolymer compositions for ecological protection and growth stimulation of plants. *Progress on Chemistry and Application of Chitin and Its Derivatives* 17: 149–162.
- Oliveira ALM, Santos OJAP, Marcelino PRF, Milani KML, Zuluaga MYA, Zucareli C, Gonçalves LSA. 2017. Maize inoculation with *Azospirillum brasilense* Ab-V5 cells enriched with exopolysaccharides and polyhydroxybutyrate results in high productivity under low N fertilizer input. *Frontiers Microbiology* 8: 1873. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01873>

- Perianes-Rodriguez A, Waltman L, van Eck NJ. 2016. Constructing bibliometric networks: A comparison between full and fractional counting. *Journal of Informetrics* 10 (4): 1178–1195. <https://doi.org/10.1016/j.joi.2016.10.006>
- Premi N, Acemi A, Özen F. 2021. Cytokinin-like effects of chitosan on in vitro culture of *Origanum vulgare* L. *Italus Hortus* 28 (1): 100. <https://doi.org/10.26353/j.itahort/2021.1.100108>
- Rahman M, Mukta JA, Sabir AA, Gupta DR, Mohi-Ud-Din M, Hasanuzzaman M, Giashuddin M, Rahman M, Islam MT. 2018. Chitosan biopolymer promotes yield and stimulates accumulation of antioxidants in strawberry fruit. *PLOS ONE* 13 (9): e0203769. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203769>
- Razavizadeh R, Adabavazeh F, Komatsu S. 2020. Chitosan effects on the elevation of essential oils and antioxidant activity of *Carum copticum* L. seedlings and callus cultures under in vitro salt stress. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology* 29 (3): 473–483. <https://doi.org/10.1007/s13562-020-00560-1>
- Sadeghipour O. 2021. Chitosan application improves nickel toxicity tolerance in soybean. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 21 (3): 2096–2104. <https://doi.org/10.1007/s42729-021-00505-0>
- Sajovic I, Boh PB. 2022. Bibliometric analysis of visualizations in computer graphics: a study. *SAGE Open* 12 (1). <https://doi.org/10.1177/21582440211071105>
- Salachna P, Wilas J, Zawadzińska A. 2015. The effect of chitosan coating of bulbs on the growth and flowering of *Ornithogalum saundersiae*. *Acta Horticulturae* (1104): 115–118. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2015.1104.18>
- Sakhanokho HF, Pounders CT, Blythe EK. 2013. Alginate encapsulation of begonia microshoots for short-term storage and distribution. *The Scientific World Journal* 2013: 1–7. <https://doi.org/10.1155/2013/341568>
- Sankaranarayanan S, Vishnukumar P, Hariram M, Vivekanandhan S, Camus C, Buschmann AH, Navia R. 2019. Hydrothermal synthesis, characterization and seed germination effects of green-emitting graphene oxide-carbon dot composite using brown macroalgal bio-oil as precursor. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 94 (10): 3269–3275. <https://doi.org/10.1002/jctb.6137>
- Schettini E, Santagata G, Malinconico M, Immirzi B, Scarascia MG, Vox G. 2013. Recycled wastes of tomato and hemp fibres for biodegradable pots: Physico-chemical characterization and field performance. *Resources, Conservation and Recycling* 70: 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2012.11.002>
- Shi H, Zhu D, Zhang Y, Xiang J, Zhang Y, Zhu C, Wu H, Chen H. 2017. Effects of biodegradable seedling tray and sowing rate on seedling quality and yield of mechanical transplanting rice. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering* 33 (24): 27–34. <https://doi.org/10.11975/j.issn.1002-6819.2017.24.004>
- Struminska O, Kurta S, Shevchuk L, Ivanyshyn S. 2014. Biopolymers for seed presowing treatment. *Chemistry and Chemical Technology* 8 (1): 81–88. <https://doi.org/10.23939/chcht08.01.081>
- Sudisha J, Niranjana-Raj S, Shekar SH. 2009. Seed priming with plant gum biopolymers enhances efficacy of metalaxyl 35 SD against pearl millet downy mildew. *Phytoparasitica* 37 (2): 161–169. <https://doi.org/10.1007/s12600-009-0025-8>
- Sweileh WM. 2021. Bibliometric analysis of peer-reviewed literature on antimicrobial stewardship from 1990 to 2019. *Globalization and Health* 17 (1): 1–15. <https://doi.org/10.1186/s12992-020-00651-7>
- Taban A, Saharkhiz MJ, Naderi R. 2020. A natural post-emergence herbicide based on essential oil encapsulation by cross-linked biopolymers: characterization and herbicidal activity. *Environmental Science and Pollution Research* 27 (36): 45844–45858. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10405-y>
- Thobunluepop P, Pawelzik E, Veerasilp S. 2008. The perspective effects of various seed coating substances on rice seed variety Khao DAWK Mali 105 storability I: the case study of physiological properties. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 11 (19): 2291–2299. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2008.2291.2299>

- Tricco AC, Lillie E, Zarin W, O'Brien KK, Colquhoun H, Levac D, Moher D, Peters MDJ, Horsley T, Weeks L, Hempel S, Elie A, Chang C, McGowan J, Stewart L, Hartling L, Aldcroft A, Wilson MG, Garritty C, Lewin S, Godfrey CM, Macdonald MT, Langlois EV, Soares-Weiser K, Moriarty J, Clifford T, Tunçalp Ö, Straus SE. 2018. PRISMA extension for scoping reviews (PRISMA-ScR): checklist and explanation. *Annals of Internal Medicine* 169 (7): 467–473. <https://doi.org/10.7326/M18-0850>
- van Eck NJ, Waltman L. 2009. How to normalize cooccurrence data? An analysis of some well-known similarity measures. *Journal of the American Society for Information Science and Technology* 60 (8): 1635–1651. <https://doi.org/10.1002/asi.21075>
- Vasilieva TM, Naumova IK, Galkina OV, Udoratina EV, Kuvshinova LA, Vasiliev MN, Htay KM, Ko Ko Zaw H. 2020. Electron-beam plasma for biomass modification. *IEEE Transactions on Plasma Science* 48 (4): 1035–1041. <https://doi.org/10.1109/TPS.2020.2980200>
- Vasilieva TM, Goñi O, Quille P, O'Connell S, Kosyakov D, Shestakov S, Ul'yanovskii N, Vasiliev M. 2021. Chitosan plasma chemical processing in beam-plasma reactors as a way of environmentally friendly phytostimulants production. *Processes* 9 (1): 103. <https://doi.org/10.3390/pr9010103>
- Verdejo C, Tapia-Benavente L, Schuller-Martínez B, Vergara-Merino L, Vargas-Peirano M, Silva-Dreyer AM. 2021. What you need to know about scoping reviews. *Medwave* 21 (2): e8144. <https://doi.org/10.5867/medwave.2021.02.8144>
- Vlahoviček-Kahlina K, Jurić S, Marijan M, Mutalijeva B, Khalus SV, Prosyanič AV, Vinceković M. 2021. Synthesis, characterization, and encapsulation of novel plant growth regulators (PGRs) in biopolymer matrices. *International Journal of Molecular Sciences* 22 (4): 1847. <https://doi.org/10.3390/ijms22041847>
- Waltman L, van Eck NJ, Noyons ECM. 2010. A unified approach to mapping and clustering of bibliometric networks. *Journal of Informetrics* 4 (4): 629–635. <https://doi.org/10.1016/j.joi.2010.07.002>
- Williams MI, Dumroese RK, Page-Dumroese DS, Hardegree SP. 2016. Can biochar be used as a seed coating to improve native plant germination and growth in arid conditions? *Journal of Arid Environments* 125: 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2015.09.011>
- Winkler A, Dominguez-Nuñez J, Aranaz I, Poza-Carrión C, Ramonell K, Somerville S, Berrocal-Lobo M. 2017. Short-chain chitin oligomers: promoters of plant growth. *Marine Drugs* 15 (2): 40. <https://doi.org/10.3390/md15020040>
- Xu T, Ma C, Aytac Z, Hu X, Ng KW, White JC, Demokritou P. 2020. Enhancing agrichemical delivery and seedling development with biodegradable, tunable, biopolymer-based nanofiber seed coatings. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering* 8 (25): 9537–9548. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c02696>
- Zhang K, Wang Y, Mao J, Chen B. 2019. Effects of biochar nanoparticles on seed germination and seedling growth. *Environmental Pollution* 256: 113409. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113409>
- Zohara F, Surovy MZ, Khatun A, Prince MFRK, Akanda MAM, Rahman M, Islam MT. 2019. Chitosan biostimulant controls infection of cucumber by *Phytophthora capsici* through suppression of asexual reproduction of the pathogen. *Acta Agrobotanica* 72 (1): 1–8. <https://doi.org/10.5586/aa.1763>

REVISIÓN DE ALCANCE SOBRE MATERIALES RENOVABLES ALTERNATIVOS PARA MEJORAR LA CALIDAD DE LAS SEMILLAS

Cynthia Serna-Abascal¹, Carlos A. Villaseñor-Perea¹, Guadalupe Olmedo-Obrero¹, Artemio Pérez-López², Arturo Mancera-Rico^{3*}

¹ Universidad Autónoma Chapingo. Posgrado en Ingeniería Agrícola y Uso Integral del Agua. Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56227.

² Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56227.

³ Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Posgrado en Tecnología de Granos y Semilla. Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. C. P. 25315.

* Autor para correspondencia: mncrarico@gmail.com

RESUMEN

El objetivo de esta revisión fue analizar y sintetizar las investigaciones publicadas sobre materiales alternativos renovables para mejorar la calidad de las semillas con el fin de reducir la contaminación y el agotamiento de las materias primas. El análisis se centró en la productividad por países y autores, así como en las palabras clave más relevantes. Los artículos se seleccionaron de las bases de datos SCOPUS® y Web of Science™, con actualizaciones hasta noviembre de 2021. Posteriormente, se analizaron mediante indicadores bibliométricos utilizando el VOS Viewer v.1.6.15 y el software BIBLIOMETRIX v.3.0. Los resultados muestran una baja producción científica global, con un total de 61 publicaciones; el mayor número de publicaciones aparece en 2020, con trece informes científicos. Los autores más citados y prolíficos fueron Abbas HK, Accinelli C y Shier WT. Estados Unidos fue el país con más publicaciones (14). Las palabras clave más utilizadas recientemente fueron “quitosano”, “biopolímero”, “recubrimiento de semillas”, “maíz (*Zea mays* L.)”, “tratamiento de semillas” y “agricultura sostenible”. Los avances más documentados fueron los bioestimulantes, el biocontrol, los contenedores y los agentes protectores contra la sequía. La colaboración interdisciplinaria podría promover el descubrimiento de nuevos materiales derivados de fuentes renovables que tengan un impacto significativo en la calidad de las semillas.

Palabras clave: tratamiento, protección, revestimiento, apósito, análisis bibliométrico.

INTRODUCCIÓN

Para resistir condiciones adversas como el ataque de hongos e insectos, las semillas suelen protegerse con insecticidas, fungicidas, películas de recubrimiento y otros polímeros, que también contribuyen a modificar sus características físicas, como la permeabilidad, el tamaño y la forma. Debido al agotamiento de las materias primas y a la contaminación generada por algunos agroquímicos y materiales, varios autores y empresas han propuesto materiales alternativos renovables para mejorar la calidad

Citation: Serna-Abascal C, Villaseñor-Perea CA, Olmedo-Obrero G, Pérez-López A, Mancera-Rico A. 2023. Revisión de alcance sobre materiales renovables alternativos para mejorar la calidad de las semillas. *Agrociencia*. 57(4): 796-835. doi.org/10.47163/agrociencia.v57i4.2798

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: May 11, 2022.
Approved: March 15, 2023.
Published in Agrociencia:
May 25, 2023.

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



de las semillas, como la quitina y el quitosano para mejorar la germinación y el crecimiento (Rahman *et al.*, 2018), el vermicompostaje y la harina de soja para estimular el crecimiento y el desarrollo (Amirkhani *et al.*, 2019), bioplásticos para el recubrimiento de semillas para reducir el polvo (Accinelli *et al.*, 2016; 2018b), *Aspergillus flavus* como biocontrol de la producción de aflatoxinas (Accinelli *et al.*, 2018a), nanopartículas de quitosano y cobre para potenciar las respuestas de defensa (Choudhary *et al.*, 2017; Divya *et al.*, 2020); y biocompuestos basados en bacterias para estabilizar la rizosfera circundante (Hussain *et al.*, 2019). Se han propuesto otros materiales para potenciar el desarrollo de plantas y plántulas, como los residuos de tomate reciclados y las fibras de cáñamo para macetas biodegradables (Schettini *et al.*, 2013).

Se desconoce el avance global de estudios sobre el uso y desarrollo de materiales alternativos renovables para la protección de semillas y la promoción de la germinación; una revisión de alcance puede actualizar la extensión del tema y consiste en recopilar información seguida de un análisis bibliométrico (Verdejo *et al.*, 2021). El uso de indicadores bibliométricos permite una evaluación objetiva y medible basada en datos cuantitativos (Flores-Fernández y Aguilera-Eguía, 2020), permitiendo inferir tendencias de investigación con el tiempo y detectar investigadores e instituciones más prolíficos, presentando así, una “ perspectiva general” del tema (Aria y Curcurullo, 2017). Las leyes bibliométricas se refieren a aquellas expresiones estadísticas utilizadas para describir el funcionamiento de la ciencia por medios matemáticos, entre las que destaca la ley de Lotka (Kumar, 2020). Este tipo de revisión aumenta el rigor metodológico y ayuda a desarrollar un conocimiento bien fundamentado mediante la acumulación de datos de la literatura existente, las tendencias y los problemas de la investigación actual (Verdejo *et al.*, 2021) a través de un diseño reproducible para identificar, evaluar e interpretar los datos por la declaración PRISMA (Tricco *et al.*, 2018). El análisis bibliométrico es una herramienta útil para medir y evaluar cuantitativa y cualitativamente la investigación científica (Sweileh, 2021) y comparar la conexión entre países, autores, volúmenes de investigación y la actividad de las instituciones para una mejor asignación de la financiación.

El software VOSviewer se utiliza en el análisis bibliométrico para estimar la fuerza de asociación entre dos elementos basándose en la distancia de separación, para lo cual se utiliza una técnica de optimización para formar conglomerados a partir de un conjunto de nodos estrechamente relacionados. La fuerza de asociación (s_{ij}) entre dos términos, i y j , se calcula con lo siguiente (van Eck y Waltman, 2009):

$$s_{ij} = \frac{c_{ij}}{w_i w_j}$$

donde c_{ij} denota el número de co-ocurrencias de los elementos i , j , w_i y w_j denotan el número total de ocurrencias de los elementos i y j , respectivamente, o el número total de co-ocurrencias de estos elementos. Por lo tanto, el término c_{ij} es el número de co-ocurrencias entre los artículos i y j . Se citan detalles sobre los métodos de mapeo,

normalización y agrupación de VOSviewer (van Eck y Waltman, 2009; Waltman *et al.*, 2010).

El presente estudio pretende analizar y sintetizar las investigaciones publicadas sobre materiales alternativos renovables para mejorar la calidad de las semillas con el fin de reducir la contaminación y el agotamiento de las materias primas. Esta investigación se centra en describir las principales características de los documentos pertinentes, así como las conexiones entre países, autores y temas emergentes.

Para cumplir el objetivo, establecimos una serie de preguntas de investigación (RQ): (RQ1) ¿Cómo ha progresado la investigación en el área de estudio en términos de publicaciones científicas y citas? (RQ2) ¿Qué materiales derivados de fuentes renovables se han desarrollado para la mejora de las semillas? (RQ3) ¿Quiénes son los investigadores con más publicaciones científicas? ¿Qué efecto tuvo su cita? (RQ4) ¿Qué país tiene la producción más destacada de artículos científicos relacionados con el tema de estudio?

MATERIALES Y MÉTODOS

Revisión de alcance

Las cinco fases siguientes siguieron la propuesta de Arksey y O'Malley (2005): definición de la pregunta o preguntas de investigación; identificación de todos los estudios pertinentes; selección de los estudios pertinentes; conformación de los datos; recopilación, resumen y comunicación de los resultados. Se tuvieron en cuenta dos criterios de inclusión: sólo se consideraron documentos como "artículos de investigación", sin limitaciones en cuanto al año de publicación o el idioma; sólo se incluyeron trabajos centrados en el desarrollo de materiales alternativos para mejorar la germinación, el crecimiento, el rendimiento de los cultivos y la protección física y fitosanitaria de semillas y plántulas.

La búsqueda bibliográfica se realizó utilizando las bases de datos SCOPUS® y Web of Science™, estas bases de datos son la fuente digital más completa de artículos científicos con revistas revisadas por pares con rigurosos criterios de selección de editores y las más utilizadas en el análisis bibliométrico (Sweileh, 2021). En primer lugar, se utilizaron conceptos generales para buscar artículos relacionados con materiales alternativos para semillas; posteriormente, se utilizaron conceptos más específicos para guiar la búsqueda dentro del área agrícola utilizando los operadores booleanos lógicos "AND" y "OR" (Maçaira *et al.*, 2018).

Análisis bibliométrico

El análisis se realizó con la herramienta R para el software BIBLIOMETRIX 3.0 BIBLIOSHINY (Aria and Curcurullo, 2017) y la versión 1.6.14 de VOSviewer (van Eck y Waltman, 2009). BIBLIOSHINY se utilizó para calcular la ley de Lotka y el índice H tras obtener la producción científica anual y de los autores a lo largo del tiempo en términos de número de publicaciones. La ley de Lotka es una ley aproximada del cuadrado

inverso en la que el número de autores que publican un determinado número de artículos es una proporción fija con respecto al número de autores que publican un único artículo (Elango y Rajendran, 2012). El índice H mide la amplia repercusión del trabajo de una persona evitando los inconvenientes de otros criterios. Proporciona una medida objetiva del impacto y la relevancia de las obras académicas de un autor (Hirsch, 2005). Indicadores bibliométricos de coautoría y co-ocurrencia con países y todas las palabras clave como unidad de análisis. En VOSviewer, se dio la misma importancia a la coautoría y a las citas de una publicación (“recuento fraccionado”) independientemente del número de autores, citas o referencias (Perianes-Rodriguez *et al.*, 2016).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La búsqueda inicial por palabras clave arrojó 4558 referencias (Figura 1). Al final, quedaron 61 artículos en la matriz, que comprendían todos los documentos para el análisis bibliométrico.

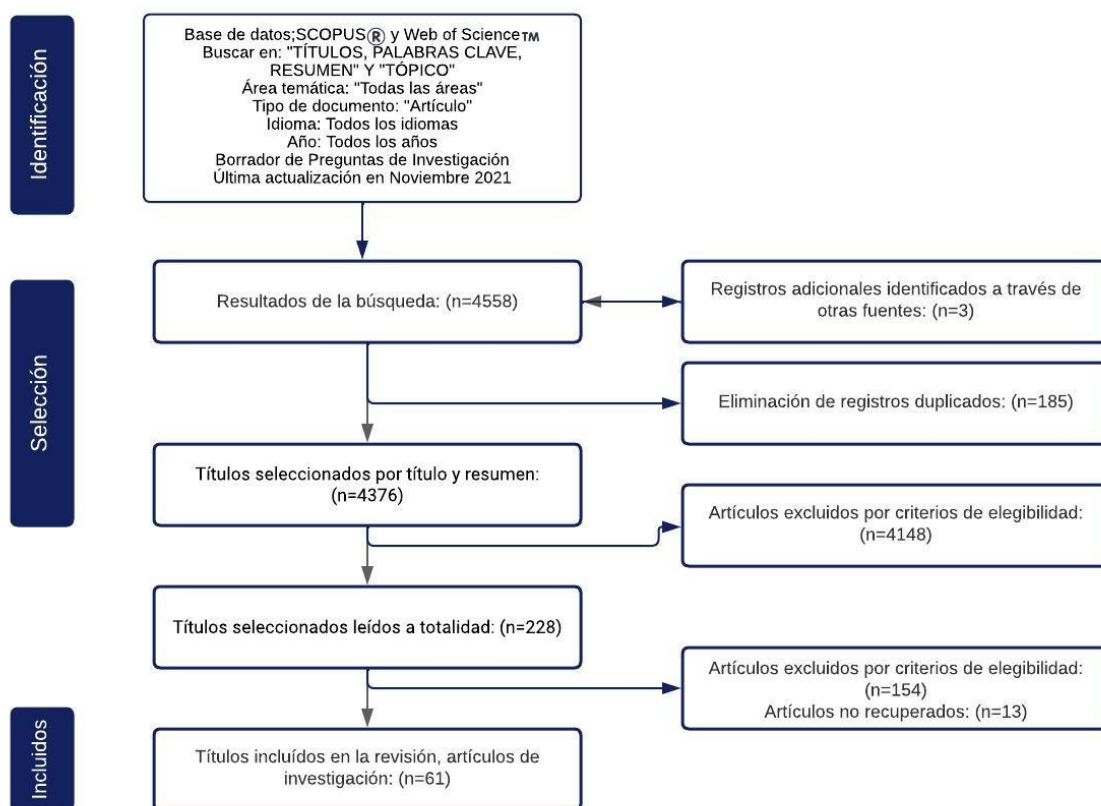


Figura 1. Etapas de la revisión de alcance de la literatura (modificado de Tricco *et al.*, 2018).

Análisis bibliométrico descriptivo

Se publicaron 61 artículos entre 2007 y 2021 (Cuadro 1). Las revistas más influyentes fueron Crop Protection, Journal of Crop Improvement, PLOS One y Scientific Reports, con dos documentos, seguidas de Sustainable Chemistry and Engineering, Acta Agrobotanica, Acta Horticulturae y African Journal of Biotechnology (con un documento cada una). Por término medio, cada artículo ha sido citado 15 (14,66) veces, y fue escrito por cinco autores (4,92). El índice de colaboración (IC) fue de 5,12.

Cuadro 1. Información principal de artículos sobre materiales alternativos renovables para la protección de semillas.

Descripción del resultado	Resultados
Años de publicación	2007–2021
Ocurrencia de revistas	57
Número de documentos	61
Años entre cada publicación (promedio)	4.59
Número de citas por artículo (promedio)	14.66
Número anual de citas por documento (promedio)	2.59
Número total de referencias	2607
Artículos de investigación	60
Fe de erratas	1
Número de frases que aparecen con frecuencia en el título de las referencias de un artículo	754
Número de palabras clave	232
Número de autores	300
Artículos con un solo autor	3
Artículos de autores múltiples	297
Número de documentos por autor (promedio)	0.20
Número de autores por documento (promedio)	4.92
Número de coautores de cada artículo	5.38
Índice de colaboración	5.12

Producción científica

Las citas de publicaciones sobre materiales de protección de semillas y plántulas han aumentado gradualmente con el tiempo (Figura 2). Esto puede estar relacionado con la reciente preocupación por la preservación del medio ambiente y la reducción de la pérdida y el desperdicio de alimentos.

Materiales alternativos renovables y sus aplicaciones

La co-ocurrencia de redes bibliométricas dio como resultado un total de 183 palabras distribuidas en 14 agrupaciones (Cuadro 2). Las palabras clave con mayor ocurrencia y fuerza de enlace total que indican el número de publicaciones cuando dos palabras clave ocurren juntas (Guo *et al.*, 2019) fueron quitosano, biopolímero, recubrimiento de semillas, maíz (*Zea mays* L.), tratamiento de semillas, agricultura sostenible, crecimiento y arroz (*Oryza sativa* L.) (Figura 3). Las palabras clave más utilizadas recién-

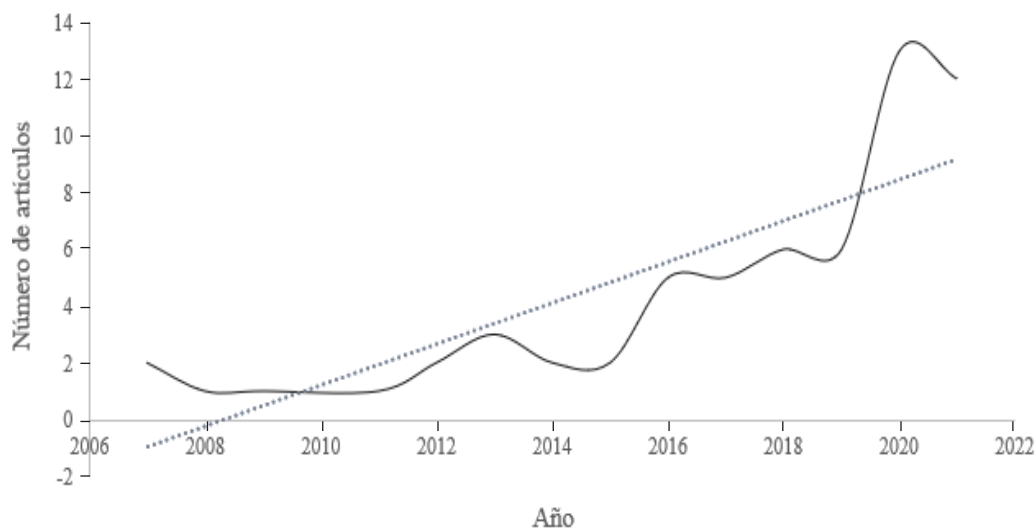


Figura 2. Documentos publicados entre 2007 y 2021 sobre materiales alternativos renovables para la protección de semillas.

Cuadro 2. Red de co-ocurrencia para palabras clave unitarias sobre materiales alternativos renovables para la protección de semillas.

Agrupación	Palabras clave	Ocurrencia	Fuerza total de enlace	Año promedio de publicación
13	Quitano	8	8	2018
	Antioxidante	2	2	2020
5	Biopolímero	5	5	2018
	Bioagente	2	2	2020
	Bioacondicionamiento de semillas	1	1	2021
7	Recubrimiento de semillas	5	5	2017
	Agricultura sostenible	3	3	2020
	Biomateriales en la agricultura	1	1	2021
	Seguridad alimentaria	1	1	2021
1	Maíz (<i>Zea mays</i> L.)	4	4	2018
	Tratamiento de semillas	3	3	2017
6	Crecimiento	3	3	2016
	Arroz (<i>Oryza sativa</i> L.)	3	3	2013
8	Crecimiento de plantas	3	3	2015
	Bacterias promotoras (pgpr)	3	3	2015
	Bacterias fijadoras de nitrógeno (microorganismos)	2	2	2019
12	Conductancia estomática de la hoja	1	1	2021
	Ajowan (<i>Carum copticum</i> L.)	2	2	2016
	Estrés salino	2	2	2020

Cuadro 2. Continúa.

Agrupación	Palabras clave	Ocurrencia	Fuerza total de enlace	Año promedio de publicación
3	Control biológico	2	2	2009
	<i>Rhizoctonia solani</i> J.G. Kühn 1858	2	2	2015
10	Regulador de crecimiento vegetal	2	2	2019
	Salinidad	2	2	2015
2	Biocarbón	2	2	2018
	Metal pesado	2	2	2018
	Toxicidad de níquel	1	1	2021
	Estrés oxidativo	1	1	2021
	Oligosacárido de quitina	2	2	2019
4	Plasma de haz de electrones	2	2	2020
	Bioestimulantes vegetales	1	1	2021
	Germinación de semillas	2	2	2020
11	Producción de hojas	1	1	2021
	Alargamiento de brote	1	1	2021
	Carboximetil celulosa	2	2	2017

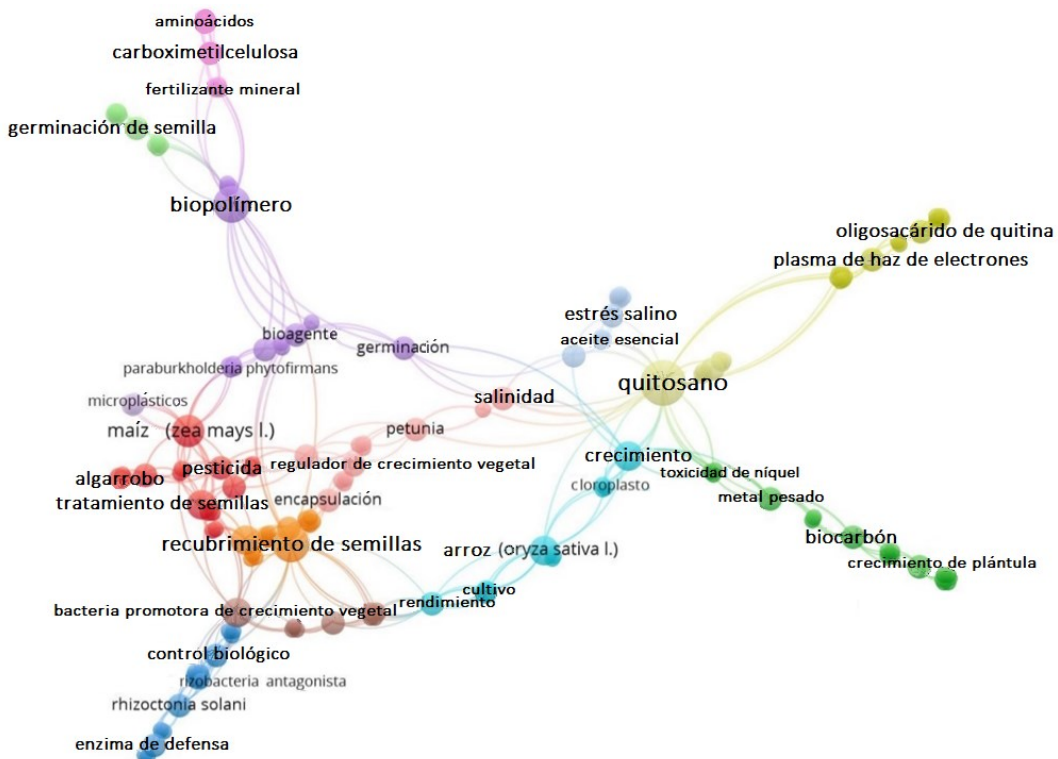


Figura 3. Agrupaciones de palabras clave sobre materiales alternativos renovables para la protección de semillas basadas en la fuerza y frecuencia de su asociación.

temente fueron las relacionadas con los biomateriales en la agricultura, la seguridad alimentaria, los bioestimulantes vegetales, la bioacondicionamiento de semillas y el cuidado, incluida la producción de hojas, el alargamiento de brotes, la conductancia estomática de las hojas, la toxicidad del níquel y el estrés oxidativo (Figura 4).

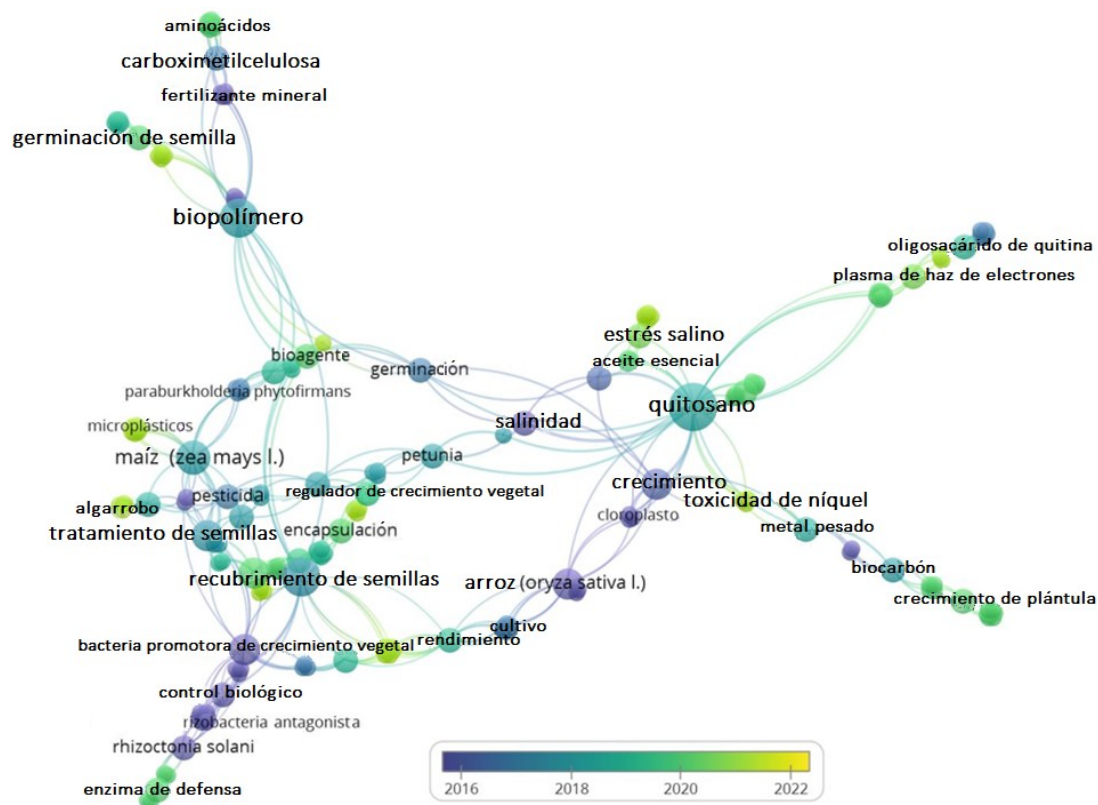


Figura 4. Red bibliométrica que muestra el lapso temporal de aparición de palabras clave sobre materiales alternativos renovables para la protección de semillas.

Los artículos se ordenan de mayor a menor de acuerdo con el número de citas (Cuadro 3). Choudhary *et al.* (2017), con un artículo de investigación sobre bioestimulantes y biocontrol, ocupó el primer lugar con 105 citas, aproximadamente 17 por año, sobre la aplicación de nanopartículas (NPs) de Cu-Quitósano contra la enfermedad de la mancha foliar de *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn 1933 en semillas de maíz. En esta revisión se analizó el uso de quitósano y quitina en diversas formas: oligosacárido de quitósano (COS) en el biocontrol contra el *Tobacco Mosaic virus* (TMV) (Jia *et al.*, 2016) y nanopartículas de quitósano (ChNP) contra el patógeno del tizón de la vaina (ShB) (Divya *et al.*, 2020). La quitina, como promotor del crecimiento vegetal en semillas de *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., aumentó el peso fresco (10 %) y la longitud de la radícula (25 %) (Winkler *et al.*, 2017). El quitósano oligomérico aumentó el peso fresco

Cuadro 3. Aplicaciones de materiales alternativos renovables para la protección de semillas.

Total de citas	Citas por año	Aplicación	Material	Referencia
105	17.5	Biocontrol y bioestimulante	NPs de Cu-quitosano + quitosano + CuSO ₄ + fungicida comercial (Bavistin)	Choudhary <i>et al.</i> , 2017
68	9.7	Agente de biocontrol	Oligosacárido de quitosano	Jia <i>et al.</i> , 2016
49	4.9	Macetas biodegradables que mejoran el rendimiento agronómico de los cultivos	Alginato de sodio + fibras naturales de cáscaras y hebras de cáñamo	Schettini <i>et al.</i> , 2013
48	8	Biostimulante	Quitina	Winkler <i>et al.</i> , 2017
44	2.7	Agente de biocontrol para <i>Aspergillus niger</i>	<i>Paenibacillus polymyxa</i> (Prazmowski 1880) Ash <i>et al.</i> 1994	Haggag, 2007
41	8.2	Biostimulante	Quitosano	Rahman <i>et al.</i> , 2018
41	5.1	Promotor de crecimiento vegetal	Quitosano oligomérico y polimérico	Chamnanmanoontham <i>et al.</i> , 2014
36	5.1	Compensación de la fitotoxicidad de las nanopartículas metálicas	Sustancias poliméricas extracelulares (EPS)	Li <i>et al.</i> , 2016
35	5	Bioestimulante para la germinación	Biocarbón I (mezcla de tamices de madera procedentes de la producción de astillas), Biocarbón II (mezcla de lodos de papel y cáscaras de trigo) y Biocarbón III (lodos de depuradora).	Gascó <i>et al.</i> , 2016
34	3.4	Cebado de semillas para mejorar la germinación, el crecimiento y aliviar el estrés abiótico	Ácido acético + quitosano	Mahdavi y Rahimi, 2013
31	5.2	Mejorar el rendimiento agronómico de los cultivos	Bacteria diazotrófica (<i>Azospirillum brasilense</i> cepa Ab-V5) + matriz de biopolímero	Oliveira <i>et al.</i> , 2017
30	2.8	Actividad nematocida	Quitosano	Khalil y Badawy, 2012
27	3.9	Recubrimiento de semillas	<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai 1969, anamórfico, cepa T-22 (ATCC 20847) + insecticida (imidacloprid) + fungicida (metalaxil-M+estrella)	Accinelli <i>et al.</i> , 2016
21	7	Mejora de la germinación y el crecimiento de las plantas en presencia o ausencia de un hongo patógeno (<i>Fusarium oxysporum</i> Schltdl. 1824)	Acetato de celulosa + gelatina de piel porcina + ácido acético (695092, reactivo ACS), Tween® 80 + nanopolvo de óxido de cobre (II) + acetato de cobre monohidratado	Xu <i>et al.</i> , 2020
20	6.7	Efecto estimulante sobre el crecimiento de plántulas	Biocarbón de paja de arroz (RS) y serrín de madera (WS)	Zhang <i>et al.</i> , 2019

Cuadro 3. Continúa

Total de citas	Citas por año	Aplicación	Material	Referencia
19	6.3	Antimicótico para la aflatoxina B1 (AFB1)	Quitosano + sodio-tripolifosfato + diclorometano (DCM) + ácido acético glacial (GAA) + dimetilsulfóxido (DMSO) + metilglioxal (MG) + ácido perclórico + Tween-20 + Tween-80 + gel de sílice + etanol + metanol + 2, 2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) + ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) + sal diamónica (ABTS)+ PDA y SMKY	Kumar <i>et al.</i> , 2020
18	1.5	Agente de biocontrol y biofertilizante	Microcápsula de <i>Bacillus subtilis</i>	Hernández-Suárez <i>et al.</i> , 2011
18	6	Cebado de semillas para estimular el crecimiento y el biocontrol de plagas	Quitosano	Jogaiah <i>et al.</i> , 2020
17	5.7	Bioestimulante	<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai 1969, cepa T22 + biopolímero (carboximetilcelulosa y Pluronic)	Carillo <i>et al.</i> , 2020
17	3.4	Biocontrol mediante recubrimiento de semillas	Almidón con pesticidas (insecticida: imidacloprid; fungicida: metalaxil-M) y esporas de <i>Aspergillus flavus</i> NRRL 30797 no aflatoxigénico + quitina + glicerol	Accinelli <i>et al.</i> , 2018b
16	1	Quitosano para la sequía y la recuperación del rendimiento vegetal	Ácido acético + quitosano	Boonlertnirun <i>et al.</i> , 2007
14	2.8	Biocontrol y bioestimulante mediante recubrimiento de semillas	Almidón de maíz modificado + quitina + glicerol + insecticida + fungicida	Accinelli <i>et al.</i> , 2018a
12	3	Bioestimulantes de recubrimiento de semillas, biopesticidas y biofertilizantes para mejorar el rendimiento y fortalecer las plántulas	Poli(alcohol vinílico) (PVA) y poli(vinilpirrolidona) (PVP) + glicerol + canola (<i>Brassica napus</i> L. cv. Faisal canola (RBN-03060)]. + <i>Bacillus subtilis</i> NH-100 + cepas fúngicas (<i>Macrophomina phaseolina</i> (Tassi) Goid. 1947, <i>Rhizoctonia solani</i> J.G. Kühn 1858, y <i>Fusarium oxysporum</i> Schltdl. 1824)	Hussain <i>et al.</i> , 2019
11	1.1	Semillas encapsuladas	Alginato de sodio + cloruro de calcio	Sakhanokho <i>et al.</i> , 2013
10	1.7	Bioestimulante	Goma arábica + carboximetilcelulosa (CMC) + dextrano + gelatina + glicerol + saponina + xantano + alginato, lecitina de huevo, lecitina de soja, leche desnatada + quitosano (grado alimentario) + aceite de ricino.	Bejarano <i>et al.</i> , 2017

Cuadro 3. Continúa

Total de citas	Citas por año	Aplicación	Material	Referencia
10	3.3	Bioestimulante para mejorar la tolerancia de las plantas al estrés oxidativo bajo salinidad	NaCl + quitosano + ácido acético + medio nutritivo Murashige y Skoog (MS)	Razavizadeh <i>et al.</i> , 2020
10	2.5	Bioestimulante de recubrimiento para la germinación y el crecimiento de las semillas	Vermicompostaje micronizado + harina de soja desgrasada + proteína vegetal + tierra de diatomeas (DE) + goma xantana (XG)	Amirkhani <i>et al.</i> , 2019
8	1.1	Recubrimiento de semillas para mejorar el establecimiento de plantas autóctonas	Biocarbón de troncos de pino ponderosa (<i>Pinus ponderosa</i> Douglas ex C. Lawson) y lodgepole (<i>Pinus contorta</i> Douglas ex Loudon)	Williams <i>et al.</i> , 2016
7	0.5	Cebado de semillas para mejorar la germinación, el biocontrol y el manejo de la enfermedad del mildiú veloso del mijo perla	Biopolímeros de goma + metalaxil (Apron 35 SD)+ metil-N-(2-metoxiacetil)-N-(2,6-xilil)-DL-alaninat	Sudisha <i>et al.</i> , 2009
7	1.4	Estimulador del crecimiento	Quitosano	Krupa-Mańkiewicz y Fornal, 2018
7	3.5	Promotor de la germinación de semillas	Quitosano + sal sódica de ácido algínico + tripolifosfato sódico (STPP) + nanopolvo de óxido de cobre(II)	Leonardi <i>et al.</i> , 2021
7	2.3	Biofungicida	Quitosano-hexaconazol-dazomet	Maluin <i>et al.</i> , 2020
6	1.5	Germinación y bioestimulante	Bioaceite derivado de biomasa de algas <i>Macrocystis pyrifera</i> L.	Sankaranarayanan <i>et al.</i> , 2019
5	0.6	Bioestimulador	Chitosán	Salachna <i>et al.</i> , 2015
5	0.8	Bandejas de plántulas biodegradables que mejoran la calidad de las plántulas	PLA (ácido poliláctico)	Shi <i>et al.</i> , 2017
4	1	Biocontenedor para cultivos	Fibras de <i>Posidonia oceanica</i> L. + poli(3-hidroxitirato-co-3-hidroxicitrate) + acetil tributil citrato + carbonato cálcico	Balestri <i>et al.</i> , 2019
4	1.3	Estimulante de la germinación de semillas y la producción de biomasa	Quitosano + lignocelulosa de coníferas	Vasilieva <i>et al.</i> , 2020
3	0.3	Reducir las micotoxinas de <i>Fusarium</i>	Biopolímeros de b-d-glucano	El-Naggar y Thabit, 2014
3	1.5	Promotor de germinación de semillas	Quitooligosacárido (COS)	Vasilieva <i>et al.</i> , 2021

Cuadro 3. Continúa

Total de citas	Citas por año	Aplicación	Material	Referencia
3	1	Biocontrol de la ShB causada por <i>Rhizoctonia solani</i> J.G. Kühn 1858	Quitosano + ácido acético	Divya <i>et al.</i> , 2020
2	0.2	Estimular la germinación y el crecimiento vegetal	Goma xantana + sal sódica de carboximetilcelulosa + fertilizantes + micronutrientes	Struminska <i>et al.</i> , 2014
2	0.2	Protección de semillas y plántulas y estimulación del crecimiento	Quitosano + hemicelulosas (galactoglucomananos)	Niekraszkievicz <i>et al.</i> , 2012
2	1	Mejora de la tolerancia de la soja a la toxicidad del Ni	Quitosano	Sadeghipour, 2021
2	1	Bioacondicionamiento de semillas	Alginato de sodio + carboximetilcelulosa + goma arábiga + goma xantana + <i>Trichoderma asperellum</i> Samuels, Lieckf. & Nirenberg 1999	Chin <i>et al.</i> , 2021
2	1	Biocontrol	Biopolímero de la leguminosa <i>Ceratonia siliqua</i> L. + <i>Trichoderma harzianum</i> Rifai 1969, M10 + <i>Trichoderma atroviride</i> Bissett 1984, P1 + <i>Trichoderma longibrachiatum</i> Rifai 1969, MK1	D'Errico <i>et al.</i> , 2020
2	0.7	Herbicidas naturales a base de aceites esenciales	Aceite esencial (EO) de ajedrea (<i>Satureja hortensis</i> L.) + polímeros naturales (es decir, goma arábiga/gelatina (AGG), pectina de manzana (AP), gelatina (G)).	Taban <i>et al.</i> , 2020
2	0.7	Agente antisequía	Oligosacárido de quitosano	He <i>et al.</i> , 2020
2	0.5	Bioestimulante para la germinación y el crecimiento de las plántulas, biopesticida	Quitosano	Zohara <i>et al.</i> , 2019
1	0.7	Germinación y vigor de semillas	Fungicida químico (CA) + polímeros fungicidas biológicos (polímero de quitosano-lignosulfonato (CL) y eugenol incorporado al polímero de quitosano-lignosulfonato (E+CL))	Thobunluepop <i>et al.</i> , 2008
1	0.2	Biocontenedor	90 % de ácido poliláctico (PLA) y 10 % de lignina, 60 % de PLA y 40 % de polímero de soja con anhídrido adípico	Flax <i>et al.</i> , 2018
1	0.5	Efecto estimulante para la germinación	Quitosano + alginato/PEG + inoculante comercial (HiStick® Soy)	Jarecki, 2021
1	0.5	Biocontrol para <i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh. contra la salinidad	Bentonita y l-prolina	Merino <i>et al.</i> , 2021

Cuadro 3. Continúa

Total de citas	Citas por año	Aplicación	Material	Referencia
1	0.5	Efecto estimulante para la germinación y el crecimiento vegetal	Quitosano+alginato con PGR (reguladores del crecimiento vegetal)	Vlahoviček-Kahlina <i>et al.</i> , 2021
1	0.5	Minimización de pérdidas por abrasión	Sepiret (BASF, Ludwigshafen Alemania) + bioplástico líquido a base de almidón + proteína de soja	Accinelli <i>et al.</i> , 2020
1	0.3	Agente regulador de crecimiento	Zn-quitosano (Zn-CNPs)	Hameed <i>et al.</i> , 2020
0	0	Estimular la germinación y el crecimiento de las plantas en entornos estresados y no estresados	Solución de seda + trehalosa y <i>Rhizobium tropici</i> Martínez-Romero <i>et al.</i> 1991 cultivadas en caldo de lisogenia (LB) + <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Mhada <i>et al.</i> , 2021
0	0	Macetas para plántulas	Algodón + periódico + cartón ondulado + polialgodón	Juanga-Labayen y Yuan, 2021
0	0	Estimulante de crecimiento	N-acetilado (10 %) + quitosano (CHT) + 6-bencilaminopurina (BAP) + kinetina (KIN)	Premi <i>et al.</i> , 2021
0	0	Biofungicida y germinación de semillas	Aceite de neem + Tween 20 + pectina de alto metoxilo (HMP) + agua ultrapura + pectina de alto metoxilo (HMP) + polímero L232	de Castro e Silva <i>et al.</i> , 2019
0	0	Bioestimulante para la germinación de semillas y el aumento de la tasa de crecimiento de plántulas	Nanocompuestos de HS/Ag	Dolmaa <i>et al.</i> , 2018
0	0	Biocontrol y bioestimulante	<i>Pseudomonas fluorescens</i> Migula 1895 (Listas aprobadas 1980) + <i>Rhizobium</i> spp. + bacterias solubilizadoras de fósforo (PSB) + polímero bioamigable + jarabe de azúcar	Jagadeesh <i>et al.</i> , 2019

y seco de hojas y raíces en las semillas y plántulas de arroz (Chamnanmanoontham *et al.*, 2014) y ajowan (*Carum copticum* (L.) Benth. & Hook. f. ex C.B. Clarke). Bajo estrés salino, el quitosano promovió el porcentaje y la tasa de germinación, el índice de vigor de las plántulas, la longitud, el peso seco y la formación de radículas (Mahdavi y Rahimi, 2013). La aplicación de quitosano foliar a plántulas de fresa aumentó el crecimiento y la producción de frutos, así como la concentración de antioxidantes totales, flavonoides, fenólicos, carotenoides y antocianinas (Rahman *et al.*, 2018). Estos agentes se utilizaron en los cultivos por su importancia para la seguridad alimentaria y su alto valor añadido.

Otros desarrollos presentados (Cuadro 3) incluyen contenedores hechos de fibras naturales de cáscaras de cáñamo y hebras utilizadas para semillas de pimiento, que produjeron pelos radiculares muy densos y activos (Schettini *et al.*, 2013). Una bandeja para plántulas hecha con ácido poliláctico (PLA) para plántulas de arroz provocó un aumento de la tasa de emergencia y un diámetro promedio de la raíz un 8.63 % mayor que el control (Shi *et al.*, 2017). Los contenedores fabricados con fibras de *Posidonia oceanica* (L.) Delile “egagropili” proporcionaron protección para el crecimiento y anclaje a las plantas (Balestri *et al.*, 2019). Estos biocontenedores mejoran la sostenibilidad medioambiental al reducir las pérdidas de semillas y plántulas.

Autores

Los investigadores con mayor número de publicaciones en este campo en los últimos 14 años fueron: Abbas HK, Accinelli C, y Shier WT, cada uno con cuatro documentos y valores del índice H de 3 y 59 veces citado (Cuadro 4). El índice H indica una estimación de la importancia, trascendencia y amplia repercusión de las publicaciones acumuladas de un científico (Hirsch, 2005). La ley de Lotka reveló que la frecuencia de

Cuadro 4. Índice H de autores principales sobre materiales alternativos renovables para la protección de semillas.

Autor y referencia	Total de publicaciones	Total de citas	Índice H	Año de primera publicación
Abbas HK (Accinelli <i>et al.</i> , 2016; 2018a; 2018b; 2020)	4	59	3	2016
Accinelli C (Accinelli <i>et al.</i> , 2016; 2018a; 2018b; 2020)	4	59	3	2016
Shier WT (Accinelli <i>et al.</i> , 2016; 2018a; 2018b; 2020)	4	59	3	2016
Little NS (Accinelli <i>et al.</i> , 2016; 2018a; 2020)	3	45	2	2016
Rahman M (Rahman <i>et al.</i> , 2018; Zohara <i>et al.</i> , 2019)	2	43	2	2018
Hameed A (Hameed <i>et al.</i> , 2020)	1	1	1	2020
Islam MT (Rahman <i>et al.</i> , 2018; Zohara <i>et al.</i> , 2019)	2	43	2	2018
Kotowicz JK (Accinelli <i>et al.</i> , 2016, 2018a)	2	44	2	2016
Lanzuise S (Carillo <i>et al.</i> , 2020; D’Errico <i>et al.</i> , 2020)	2	19	2	2020
Malinconico, M. (D’Errico <i>et al.</i> , 2020; Schettini <i>et al.</i> , 2013)	2	51	2	2013

publicación de los investigadores seguía siendo baja, ya que el 93.7 % de los autores sólo había escrito un documento. Las pruebas sugieren que la comunidad científica no ha prestado suficiente atención al desarrollo y la utilización de materiales alternativos para mejorar la germinación, el crecimiento, el rendimiento de los cultivos y la protección física y fitosanitaria de semillas y plántulas.

Países

Teniendo en cuenta la producción científica, el resultado fue una red con 33 países organizados en 17 agrupaciones basadas en la fuerza total de los vínculos. Este atributo de peso representa el nivel de colaboración entre países (Sajovic y Boh, 2022) (Cuadro 5). Estados Unidos formó parte de la agrupación con mayor fuerza de asociación (10) y contribuyó con 14 publicaciones y 306 citas, seguido de Italia con 10 publicaciones y 139 citas. China recibió 131 citas con solo cinco artículos, y un trabajo de investigación sobre un agente de biocontrol del TMV recibió 68 citas (Jia *et al.*, 2016). Estos resultados sugieren que el trabajo de colaboración en esta línea de investigación aún está en desarrollo.

Cuadro 5. Red internacional de coautoría sobre materiales alternativos renovables para la protección de semillas.

Agrupación	País	Documentos	Citas	Fuerza total de enlace
2	Estados Unidos	14	306	10
2	Bangladesh	2	43	2
9	Italia	10	139	5
3	India	6	158	3
1	Alemania	2	49	2
1	España	2	83	2
1	Tailandia	3	58	1
5	Federación rusa	3	7	2
6	Egipto	3	77	1
8	Irán	4	48	1
13	China	5	131	0
16	Polonia	4	15	0

CONCLUSIONES

Dado que reducir el hambre en el mundo es una preocupación global, la comunidad científica trabaja activamente para proponer soluciones agroindustriales que beneficien a toda la cadena de suministro. Esta revisión con metaanálisis analiza el estado actual de los conocimientos y el desarrollo de la conservación de semillas; de acuerdo con el índice h, el número de citas no es mayor que el número de artículos publicados por cada autor; según la ley de Lotka, el 94 % sólo ha publicado un artículo; por último, a lo largo de 14 años, sólo se ha publicado un promedio de 4 artículos al año. Los resultados muestran que la producción y la colaboración entre investigadores y

países en desarrollo sobre nuevos materiales para mejorar la calidad de las semillas son aún incipientes. La producción individual y la colaboración global e interdisciplinaria son necesarias para desarrollar, probar y aplicar materiales nuevos y existentes que mejoren la calidad a la vez que reducen la contaminación y el agotamiento de las materias primas. Este estudio tiene dos limitaciones: en primer lugar, la información se extrajo de solo dos bases de datos (SCOPUS® y Web of Science™); en segundo lugar, debido a la falta de claridad y a la duplicación de conceptos, el establecimiento de palabras clave fue extenso, lo que dio como resultado 4558 artículos, de los cuales solo 61 contribuyeron a responder a las preguntas de investigación. Los autores más citados y prolíficos fueron Abbas HK, Accinelli C y Shier WT. Estados Unidos fue el país con mayor número de publicaciones (14). Las palabras clave más utilizadas recientemente fueron “quitosano”, “biopolímero”, “recubrimiento de semillas”, “maíz”, “tratamiento de semillas” y “agricultura sostenible”. Los avances más documentados fueron los bioestimulantes, el biocontrol, los contenedores y los agentes protectores contra la sequía. Es necesario seguir investigando para recopilar información de otras bases de datos y de la literatura gris, ya que la producción de artículos en el mundo cambia a diario.

REFERENCIAS

- Accinelli C, Abbas HK, Little NS, Kotowicz JK, Mencarelli M, Shier WT. 2016. A liquid bioplastic formulation for film coating of agronomic seeds. *Crop Protection* 89: 123–128. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.07.010>
- Accinelli C, Abbas HK, Little NS, Kotowicz JK, Shier WT. 2018a. Biological control of aflatoxin production in corn using non-aflatoxigenic *Aspergillus flavus* administered as a bioplastic-based seed coating. *Crop Protection* 107: 87–92. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.02.004>
- Accinelli C, Abbas HK, Shier WT. 2018b. A bioplastic-based seed coating improves seedling growth and reduces production of coated seed dust. *Journal of Crop Improvement* 32 (3): 318–330. <https://doi.org/10.1080/15427528.2018.1425792>
- Accinelli C, Abbas HK, Bruno V, Vicari A, Little NS, Ebelhar MW, Shier WT. 2020. Minimizing abrasion losses from film-coated corn seeds. *Journal of Crop Improvement* 35 (5): 666–678. <https://doi.org/10.1080/15427528.2020.1861156>
- Amirkhani M, Mayton HS, Netravali AN, Taylor AG. 2019. A seed coating delivery system for bio-based biostimulants to enhance plant growth. *Sustainability* 11 (19): 5304 <https://doi.org/10.3390/su11195304>
- Aria M, Cuccurullo C. 2017. bibliometrix: An R-tool for comprehensive science mapping analysis. *Journal of Informetrics* 11 (4): 959–975. <https://doi.org/10.1016/j.joi.2017.08.007>
- Arksey H, O'Malley L. 2005. Scoping studies: towards a methodological framework. *International Journal of Social Research Methodology* 8 (1): 19–32. <https://doi.org/10.1080/1364557032000119616>
- Balestri E, Vallerini F, Seggiani M, Cinelli P, Menicagli V, Vannini C, Lardicci C. 2019. Use of biocontainers from seagrass wrack with nursery planting to improve the eco-sustainability of coastal habitat restoration. *Journal of Environmental Management* 251: 109604. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109604>
- Bejarano A, Sauer U, Preininger C. 2017. Design and development of a workflow for microbial spray formulations including decision criteria. *Applied Microbiology and Biotechnology* 101 (19): 7335–7346. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8447-6>
- Boonlertnirun S, Sarobol E, Meechoui S, Sooksathan I. 2007. Drought recovery and grain yield potential of rice after chitosan application. *Agriculture and Natural Resources* 41 (1): 1–6.

- Carillo P, Woo SL, Comite E, El-Nakhel C, Rouphael Y, Fusco GM, Borzacchiello A, Lanzuise S, Vinale F. 2020. Application of *Trichoderma harzianum*, 6-pentyl- α -pyrone and plant biopolymer formulations modulate plant metabolism and fruit quality of plum tomatoes. *Plants* 9 (6): 771. <https://doi.org/10.3390/plants9060771>
- Chamnanmanoontham N, Pongprayoon W, Pichayangkura R, Roytrakul S, Chadchawan S. 2014. Chitosan enhances rice seedling growth via gene expression network between nucleus and chloroplast. *Plant Growth Regulation* 75 (1): 101–114. <https://doi.org/10.1007/s10725-014-9935-7>
- Chin JM, Lim YY, Ting ASY. 2021. Biopolymers for biopriming of *Brassica rapa* seeds: A study on coating efficacy, bioagent viability and seed germination. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 20 (3): 198–207. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2021.01.006>
- Choudhary RC, Kumaraswamy RV, Kumari S, Sharma SS, Pal A, Raliya R, Biswas P, Saharan V. 2017. Cu-chitosan nanoparticle boost defense responses and plant growth in maize (*Zea mays* L.). *Scientific Reports* 7 (1): 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08571-0>
- D'Errico G, Mormile P, Malinconico M, Bolletti CS, Lanzuise S, Crasto A, Woo SL, Marra R, Lorito M, Vinale F. 2020. *Trichoderma* spp. and a carob (*Ceratonia siliqua*) galactomannan to control the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato plants. *Canadian Journal of Plant Pathology* 43 (2): 267–274. <https://doi.org/10.1080/07060661.2020.1801844>
- de Castro e Silva P, Pereira LAS, Lago AMT, dos Reis MV, de Rezende ÉM, Carvalho GR, Oliveira JE, Marconcini JM. 2019. Correction to: physical-mechanical and antifungal properties of pectin nanocomposites / neem oil nanoemulsion for seed coating. *Food Biophysics* 15 (1): 153–153. <https://doi.org/10.1007/s11483-019-09610-1>
- Divya K, Thampi M, Vijayan S, Varghese S, Jisha MS. 2020. Induction of defense response in *Oryza sativa* L. against *Rhizoctonia solani* (Kuhn) by chitosan nanoparticles. *Microbial Pathogenesis* 149: 104525. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104525>
- Dolmaa G, Aleksandrova GP, Lesnichaya MV, Bayaraa B, Urantsetseg E, Ganzayaa G, Tserenkhandaa G, Sukhov BG, Regdel D, Trofimov BA. 2018. Silver nanobiocomposites based on humic substances as highly efficient stimulators of seed germination. *Nanotechnologies in Russia* 13 (5–6): 305–310. <https://doi.org/10.1134/s1995078018030059>
- Elango B, Rajendran P. 2012. Authorship trends and collaboration pattern in the marine sciences literature: a scientometric study. *International Journal of Information Dissemination and Technology* 2 (3): 166–169.
- El-Naggar MA, Thabit TM. 2014. Evaluation of β -d-glucan biopolymer as a novel mycotoxin binder for fumonisin and deoxynivalenol in soybean feed. *Foodborne Pathogens and Disease* 11 (6): 433–438. <https://doi.org/10.1089/fpd.2013.1711>
- Flax NJ, Currey CJ, Schrader JA, Grewell D, Graves WR. 2018. Herbaceous Perennial producers can grow high-quality blanket flower in bioplastic-based plant containers. *HortTechnology* 28 (2): 212–217. <https://doi.org/10.21273/horttech03922-17>
- Flores-Fernández C, Aguilera-Eguía R. 2019. Indicadores bibliométricos y su importancia en la investigación clínica. ¿Por qué conocerlos?. *Revista de la Sociedad Española del Dolor* 26 (5): 315–316. <https://doi.org/10.20986/resed.2018.3659/2018>
- Gascó G, Cely P, Paz-Ferreiro J, Plaza C, Méndez A. 2016. Relation between biochar properties and effects on seed germination and plant development. *Biological Agriculture and Horticulture* 32 (4): 237–247. <https://doi.org/10.1080/01448765.2016.1166348>
- Guo YM, Huang ZL, Guo J, Li H, Guo XR, Nkeli MJ. 2019. Bibliometric analysis on smart cities research. *Sustainability* 11 (13): 3606. <https://doi.org/10.3390/su11133606>
- Haggag WM. 2007. Colonization of exopolysaccharide-producing *Paenibacillus polymyxa* on peanut roots for enhancing resistance against crown rot disease. *African Journal of Biotechnology* 6: 1568–1577. <https://doi.org/10.5897/AJB2007.000-2226>
- Hameed A, Khalid A, Ahmed T, Farooq T. 2020. Nano-priming with Zn-chitosan nanoparticles regulates biochemical attributes and boost antioxidant defence in wheat seeds. *Agrochimica* 3: 207–221. <https://doi.org/10.12871/00021857202031>

- He C, Zhao Y, Zhang J, Gao J. 2020. Chitosan oligosaccharide addition to buddhist pine (*Podocarpus macrophyllus* (Thunb) Sweet) under drought: responses in ecophysiology and $\delta^{13}\text{C}$ abundance. *Forests* 11 (5): 526. <https://doi.org/10.3390/f11050526>
- Hernández-Suárez M, Hernández D, Morales G, Lira-Saldivar R, Rodríguez R, Aguilar C. 2011. Biocontrol of soil fungi in tomato with microencapsulates containing *Bacillus subtilis*. *American Journal of Agricultural and Biological Science* 6 (2): 189–195. <https://doi.org/10.3844/ajabssp.2011.189.195>
- Hirsch JE. 2005. An index to quantify an individual's scientific research output. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102 (46): 16569–16572. <https://doi.org/10.1073/pnas.0507655102>
- Hussain Z, Khan MA, Iqbal F, Raffi M, Hafeez FY. 2019. Electrospun microbial-encapsulated composite-based plasticized seed coat for rhizosphere stabilization and sustainable production of canola (*Brassica napus* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 67 (18): 5085–5095. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b06505>
- Jagadeesh V, Patta S, Triveni S, Keshavulu K, Rani KJ, Raghavendra K. 2019. Shelf life of bioagents and longevity of biologically coated pigeonpea seed. *Indian Journal of Experimental Biology* 57: 916–922.
- Jarecki W. 2021. Soybean response to seed coating with chitosan + alginate/PEG and/or inoculation. *Agronomy* 11 (9): 1737. <https://doi.org/10.3390/agronomy11091737>
- Jia X, Meng Q, Zeng H, Wang W, Yin H. 2016. Chitosan oligosaccharide induces resistance to *Tobacco mosaic virus* in *Arabidopsis* via the salicylic acid-mediated signalling pathway. *Scientific Reports* 6 (1). <https://doi.org/10.1038/srep26144>
- Jogaiah S, Satapute P, De Britto S, Konappa N, Udayashankar AC. 2020. Exogenous priming of chitosan induces upregulation of phytohormones and resistance against cucumber powdery mildew disease is correlated with localized biosynthesis of defense enzymes. *International Journal of Biological Macromolecules* 162: 1825–1838. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.124>
- Juanga-Labayen JP, Yuan Q. 2021. Making biodegradable seedling pots from textile and paper waste—part b: development and evaluation of seedling pots. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 18 (14): 7609. <https://doi.org/10.3390/ijerph18147609>
- Khalil MS, Badawy MEI. 2012. Nematicidal activity of a biopolymer chitosan at different molecular weights against root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *Plant Protection Science* 48 (4): 170–178. <https://doi.org/10.17221/46/2011-pps>
- Krupa-Malkiewicz M, Fornal N. 2018. Application of chitosan *in vitro* to minimize the adverse effects of salinity in *Petunia × atkinsiana* D. don. *Journal of Ecological Engineering* 19 (1): 143–149. <https://doi.org/10.12911/22998993/79410>
- Kumar CA, Singh A, Kumar SV, Kumar DA, Das S, Grace RM, Dkhar MS, Kayang H, Kishore DN. 2020. Assessment of chitosan biopolymer encapsulated α -Terpineol against fungal, aflatoxin B₁ (AFB₁) and free radicals mediated deterioration of stored maize and possible mode of action. *Food Chemistry* 126010. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126010>
- Kumar Tunga S. 2020. Author productivity and the application of lotka's law in the field of horticulture. *Library Philosophy and Practice Electronic Journal* 4770.
- Leonardi M, Caruso GM, Carroccio SC, Boninelli S, Curcuruto G, Zimbone M, Allegra M, Torrisi B, Ferlito F, Miritello M. 2021. Smart nanocomposites of chitosan/alginate nanoparticles loaded with copper oxide as alternative nanofertilizers. *Environmental Science: Nano* 8 (1): 174–187. <https://doi.org/10.1039/d0en00797h>
- Li CC, Wang YJ, Dang F, Zhou DM. 2016. Mechanistic understanding of reduced AgNP phytotoxicity induced by extracellular polymeric substances. *Journal of Hazardous Materials* 308: 21–28. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.01.036>
- Maçaira PM, Tavares Thomé AM, Cyrino Oliveira FL, Carvalho Ferrer AL. 2018. Time series analysis with explanatory variables: A systematic literature review. *Environmental Modelling and Software* 107: 199–209. <https://doi.org/10.1016/j.envsoft.2018.06.004>

- Mahdavi B, Rahimi A. 2013. Seed priming with chitosan improves the germination and growth performance of ajowan. *EurAsian Journal of Biosciences* 76: 69–76. <https://doi.org/10.5053/ejobios.2013.7.0.9>
- Maluin FN, Hussein MZ, Yusof NA, Fakurazi S, Idris AS, Hilmi NHZ, Daim LDJ. 2020. Phytotoxicity of chitosan-based agronomofungicides in the vegetative growth of oil palm seedling. *PLOS ONE* 15 (4): e0231315. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231315>
- Mhada M, Zvinvashe AT, Hazzoumi Z, Zeroual Y, Marelli B, Kouisni L. 2021. Bioformulation of silk-based coating to preserve and deliver *Rhizobium tropici* to *Phaseolus vulgaris* under saline environments. *Frontiers in Plant Science* 12: 700273. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.700273>
- Merino D, Iglesias MJ, Mansilla AY, Casalougué CA, Alvarez VA. 2021. Fighting against plant saline stress: development of a novel bioactive composite based on bentonite and l-proline. *Clays and Clay Minerals* 69 (2): 232–242. <https://doi.org/10.1007/s42860-021-00120-1>
- Niekraszkievicz A, Wiśniewska-Wrona M, Kopania E, Orlikowski L, Pospieszny H, Krawczyk K. 2012. Biopolymer compositions for ecological protection and growth stimulation of plants. *Progress on Chemistry and Application of Chitin and Its Derivatives* 17: 149–162.
- Oliveira ALM, Santos OJAP, Marcelino PRF, Milani KML, Zuluaga MYA, Zucareli C, Gonçalves LSA. 2017. Maize inoculation with *Azospirillum brasilense* Ab-V5 cells enriched with exopolysaccharides and polyhydroxybutyrate results in high productivity under low N fertilizer input. *Frontiers Microbiology* 8: 1873. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01873>
- Perianes-Rodriguez A, Waltman L, van Eck NJ. 2016. Constructing bibliometric networks: A comparison between full and fractional counting. *Journal of Informetrics* 10 (4): 1178–1195. <https://doi.org/10.1016/j.joi.2016.10.006>
- Premi N, Acemi A, Özen F. 2021. Cytokinin-like effects of chitosan on in vitro culture of *Origanum vulgare* L. *Italus Hortus* 28 (1): 100. <https://doi.org/10.26353/j.itahort/2021.1.100108>
- Rahman M, Mukta JA, Sabir AA, Gupta DR, Mohi-Ud-Din M, Hasanuzzaman M, Giashuddin M, Rahman M, Islam MT. 2018. Chitosan biopolymer promotes yield and stimulates accumulation of antioxidants in strawberry fruit. *PLOS ONE* 13 (9): e0203769. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203769>
- Razavizadeh R, Adabavazeh F, Komatsu S. 2020. Chitosan effects on the elevation of essential oils and antioxidant activity of *Carum copticum* L. seedlings and callus cultures under in vitro salt stress. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology* 29 (3): 473–483. <https://doi.org/10.1007/s13562-020-00560-1>
- Sadeghipour O. 2021. Chitosan application improves nickel toxicity tolerance in soybean. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 21 (3): 2096–2104. <https://doi.org/10.1007/s42729-021-00505-0>
- Sajovic I, Boh PB. 2022. Bibliometric analysis of visualizations in computer graphics: a study. *SAGE Open* 12 (1). <https://doi.org/10.1177/21582440211071105>
- Salachna P, Wilas J, Zawadzińska A. 2015. The effect of chitosan coating of bulbs on the growth and flowering of *Ornithogalum saundersiae*. *Acta Horticulturae* (1104): 115–118. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2015.1104.18>
- Sakhanokho HF, Pounders CT, Blythe EK. 2013. Alginate encapsulation of begonia microshoots for short-term storage and distribution. *The Scientific World Journal* 2013: 1–7. <https://doi.org/10.1155/2013/341568>
- Sankaranarayanan S, Vishnukumar P, Hariram M, Vivekanandhan S, Camus C, Buschmann AH, Navia R. 2019. Hydrothermal synthesis, characterization and seed germination effects of green-emitting graphene oxide-carbon dot composite using brown macroalgal bio-oil as precursor. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 94 (10): 3269–3275. <https://doi.org/10.1002/jctb.6137>
- Schettini E, Santagata G, Malinconico M, Immirzi B, Scarascia MG, Vox G. 2013. Recycled wastes of tomato and hemp fibres for biodegradable pots: Physico-chemical characterization and field performance. *Resources, Conservation and Recycling* 70: 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2012.11.002>
- Shi H, Zhu D, Zhang Y, Xiang J, Zhang Y, Zhu C, Wu H, Chen H. 2017. Effects of biodegradable seedling tray and sowing rate on seedling quality and yield of mechanical transplanting

- rice. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering* 33 (24): 27–34. <https://doi.org/10.11975/j.issn.1002-6819.2017.24.004>
- Struminska O, Kurta S, Shevchuk L, Ivanyshyn S. 2014. Biopolymers for seed presowing treatment. *Chemistry and Chemical Technology* 8 (1): 81–88. <https://doi.org/10.23939/chcht08.01.081>
- Sudisha J, Niranjana-Raj S, Shekar SH. 2009. Seed priming with plant gum biopolymers enhances efficacy of metalaxyl 35 SD against pearl millet downy mildew. *Phytoparasitica* 37 (2): 161–169. <https://doi.org/10.1007/s12600-009-0025-8>
- Sweileh WM. 2021. Bibliometric analysis of peer-reviewed literature on antimicrobial stewardship from 1990 to 2019. *Globalization and Health* 17 (1): 1–15. <https://doi.org/10.1186/s12992-020-00651-7>
- Taban A, Saharkhiz MJ, Naderi R. 2020. A natural post-emergence herbicide based on essential oil encapsulation by cross-linked biopolymers: characterization and herbicidal activity. *Environmental Science and Pollution Research* 27 (36): 45844–45858. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10405-y>
- Thobunluepop P, Pawelzik E, Vearasilp S. 2008. The perspective effects of various seed coating substances on rice seed variety Khao DAWK Mali 105 storability I: the case study of physiological properties. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 11 (19): 2291–2299. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2008.2291.2299>
- Tricco AC, Lillie E, Zarin W, O'Brien KK, Colquhoun H, Levac D, Moher D, Peters MDJ, Horsley T, Weeks L, Hempel S, Elie A, Chang C, McGowan J, Stewart L, Hartling L, Aldcroft A, Wilson MG, Garrity C, Lewin S, Godfrey CM, Macdonald MT, Langlois EV, Soares-Weiser K, Moriarty J, Clifford T, Tunçalp Ö, Straus SE. 2018. PRISMA extension for scoping reviews (PRISMA-ScR): checklist and explanation. *Annals of Internal Medicine* 169 (7): 467–473. <https://doi.org/10.7326/M18-0850>
- van Eck NJ, Waltman L. 2009. How to normalize cooccurrence data? An analysis of some well-known similarity measures. *Journal of the American Society for Information Science and Technology* 60 (8): 1635–1651. <https://doi.org/10.1002/asi.21075>
- Vasilieva TM, Naumova IK, Galkina OV, Udoratina EV, Kuvshinova LA, Vasiliev MN, Htay KM, Ko Ko Zaw H. 2020. Electron-beam plasma for biomass modification. *IEEE Transactions on Plasma Science* 48 (4): 1035–1041. <https://doi.org/10.1109/TPS.2020.2980200>
- Vasilieva TM, Goñi O, Quille P, O'Connell S, Kosyakov D, Shestakov S, Ul'yanovskii N, Vasiliev M. 2021. Chitosan plasma chemical processing in beam-plasma reactors as a way of environmentally friendly phytostimulants production. *Processes* 9 (1): 103. <https://doi.org/10.3390/pr9010103>
- Verdejo C, Tapia-Benavente L, Schuller-Martínez B, Vergara-Merino L, Vargas-Peirano M, Silva-Dreyer AM. 2021. What you need to know about scoping reviews. *Medwave* 21 (2): e8144. <https://doi.org/10.5867/medwave.2021.02.8144>
- Vlahoviček-Kahlina K, Jurić S, Marijan M, Mutalijeva B, Khalus SV, Prosyanič AV, Vinceković M. 2021. Synthesis, characterization, and encapsulation of novel plant growth regulators (PGRs) in biopolymer matrices. *International Journal of Molecular Sciences* 22 (4): 1847. <https://doi.org/10.3390/ijms22041847>
- Waltman L, van Eck NJ, Noyons ECM. 2010. A unified approach to mapping and clustering of bibliometric networks. *Journal of Informetrics* 4 (4): 629–635. <https://doi.org/10.1016/j.joi.2010.07.002>
- Williams MI, Dumroese RK, Page-Dumroese DS, Hardegree SP. 2016. Can biochar be used as a seed coating to improve native plant germination and growth in arid conditions? *Journal of Arid Environments* 125: 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2015.09.011>
- Winkler A, Dominguez-Nuñez J, Aranaz I, Poza-Carrión C, Ramonell K, Somerville S, Berrocal-Lobo M. 2017. Short-chain chitin oligomers: promoters of plant growth. *Marine Drugs* 15 (2): 40. <https://doi.org/10.3390/md15020040>
- Xu T, Ma C, Aytac Z, Hu X, Ng KW, White JC, Demokritou P. 2020. Enhancing agrichemical delivery and seedling development with biodegradable, tunable, biopolymer-based nanofiber seed coatings. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering* 8 (25): 9537–9548. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c02696>

- Zhang K, Wang Y, Mao J, Chen B. 2019. Effects of biochar nanoparticles on seed germination and seedling growth. *Environmental Pollution* 256: 113409. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113409>
- Zohara F, Surovy MZ, Khatun A, Prince MFRK, Akanda MAM, Rahman M, Islam MT. 2019. Chitosan biostimulant controls infection of cucumber by *Phytophthora capsici* through suppression of asexual reproduction of the pathogen. *Acta Agrobotanica* 72 (1): 1–8. <https://doi.org/10.5586/aa.1763>

IMPACTS OF GLYPHOSATE (ROUNDUP®) ON THE ENVIRONMENT AND ON HUMAN HEALTH

María de Lourdes **Fernández-Peña**¹, Arturo **Pérez-Vázquez**^{1*}, María del Refugio **Castañeda-Chávez**²,
Pablo **Díaz-Rivera**¹, Eusebio **Ortega-Jiménez**¹, Gustavo **López-Romero**¹

¹ Colegio de Postgraduados, Campus Veracruz. Carretera Federal Xalapa-Veracruz km 88.5, Tepetates, Manlio F. Altamirano, Veracruz, Mexico. C. P. 91690.

² Tecnológico Nacional de México. Instituto Tecnológico de Boca del Río. Carretera Veracruz-Córdoba km 12, Boca del Río, Veracruz, Mexico. C. P. 94290.

* Author for correspondence: parturo@colpos.mx

ABSTRACT

The use of agrochemical products for the control of pests has been widely extended on a global scale in commercial agriculture, despite its impacts on human health and on biodiversity. Glyphosate is the most commonly used herbicide, with adverse effects on human health and the environment that have led to controversy in the technical-scientific arena. The aim of this essay was to identify the main researches/studies related to the herbicide glyphosate and record its impact on the biota, the environment and public health. In order to do this, a bibliographic search was carried out, limited to scientific articles in Scopus between 1980 and May, 2022. The search criteria were: glyphosate, Roundup®, toxicity, environmental impact, human health, water pollution, underground and surface water and nonpoint sources. A total of 1607 articles was found, with an increase of 178 % in scientific production in the last 10 years. The countries with the highest number of publications related to the topic of glyphosate were developed nations with intensive agriculture. Mexico is in sixteenth place, with 29 (1.8 %) scientific articles for the period studied, out of which only 17 % are studies in bodies of water. Based on the literature consulted and the co-occurrence map, the elements that are related to the impact on the bodies of water by glyphosate are the type of agriculture, location of the fields, rainfalls and the characteristics of the catchment area.

Keywords: nonpoint source pollution, toxicity, agriculture, pesticides, agroecosystems.

INTRODUCTION

The use of pesticides in agriculture has increased considerably since the mid-20th century. An example of this are herbicides, which have become increasingly used in the last 20 years. This increase in the use of pesticides in agriculture, its effects on the environment and on human health were first pointed out by Rachel Carson in her book "Silent Spring". This motivated a change in paradigm, giving way to movements such as organic agriculture, the emergence of educational programs in environmental topics and a strong environmentalist trend globally. Despite this, in some countries there is a tendency to increase use and in others, to decrease it (Schreinemachers

Citation: Fernández-Peña ML, Pérez-Vázquez A, Castañeda-Chávez MR, Díaz-Rivera P, Ortega-Jiménez E, López-Romero G. 2023. Impacts of glyphosate (Roundup®) on the environment and on human health.

Agrociencia 57(4): 836-859.
doi.org/10.47163/agrociencia.v57i4.2844

Editor in Chief:
Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: July 13, 2022.
Approved: March 23, 2023.
Published in *Agrociencia*:
June 07, 2023.

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



and Tipraqsa, 2012). Countries such as Austria, Vietnam, France and Germany have established agroecological policies to reduce the dependence on the use of pesticides, environmental pollution and its effect on human health (Tataridas *et al.*, 2022).

From the standpoint of conventional agriculture, plants known as weeds are considered undesirable since they compete for sun light and soil nutrients, which impacts crop yields (Page *et al.*, 2012). Diverse control strategies have been used for their eradication, including the use of glyphosate. This is the most widely used control strategy in the world, and it is classified as a systemic, wide-spectrum and non-selective herbicide that goes back to the 1970s, patented by the company Monsanto under the brand name of Roundup® (Beckie *et al.*, 2020).

The prohibition of glyphosate in the countries mentioned is due to its identified toxic effects on human health and on the biota, whether by direct or indirect contact. Glyphosate has been reported to be a potentially carcinogenic compound, as well as a trigger for severe damages on organisms and the environment (de Carvalho Marques *et al.*, 2021). Other authors indicate that its use is close related with environmental pollution, the drastic reduction of bee populations (Ruíz-Toledo and Sánchez-Guillen, 2014), effects on the soil nutrient cycle, particularly carbon and phosphorous, and the pollution of bodies of water and the aquatic biota (van Bruggen *et al.*, 2018). Therefore, the aim of this essay was to identify the main studies published related to the application of glyphosate and its impact on the biota, the environment and human health, under the hypothesis that the effect of Roundup® on the environment is still ambiguous and inconclusive.

Use in agriculture

Glyphosate is a wide-spectrum, non-selective, foliar-action, post-emergent and systemic herbicide, which became highly relevant after the introduction of transgenic crops. The massive and intensive use of glyphosate in agriculture worldwide is due largely to its availability and low cost in the agrochemicals market. According to Benbrook (2016), the use of glyphosate increased considerably on a global scale; only between 1993 and 2019 (26 years), the use of herbicides tripled, including the use of glyphosate (Figure 1).

The main use of glyphosate as a herbicide is eminently agricultural, to eliminate narrow and broad leaf and woody plant species, mainly in maize, bean, wheat, citrus, tomato, vines, cotton, soybean, sorghum, sugarcane and potato plantations in ornamental crops and in forest plantations (Hernández-Ríos *et al.*, 2018). Transgenic crops have been reported to generate an increase in the use of glyphosate, including maize, cotton, soybean, potato and canola (Benbrook, 2016).

Glyphosate also has non-agricultural uses, to control weeds on the sides of roads, paths, gardens or vacant plots in urban areas, but also in lagoons and dams, to control aquatic weeds (Salazar-López and Aldana, 2011). In the herbicide market, glyphosate is the active ingredient in hundreds of products. According to COFEPRIS, some commercial names include Roundup, Faena, Novasato, Glyfos, Glissan, Gabycord,

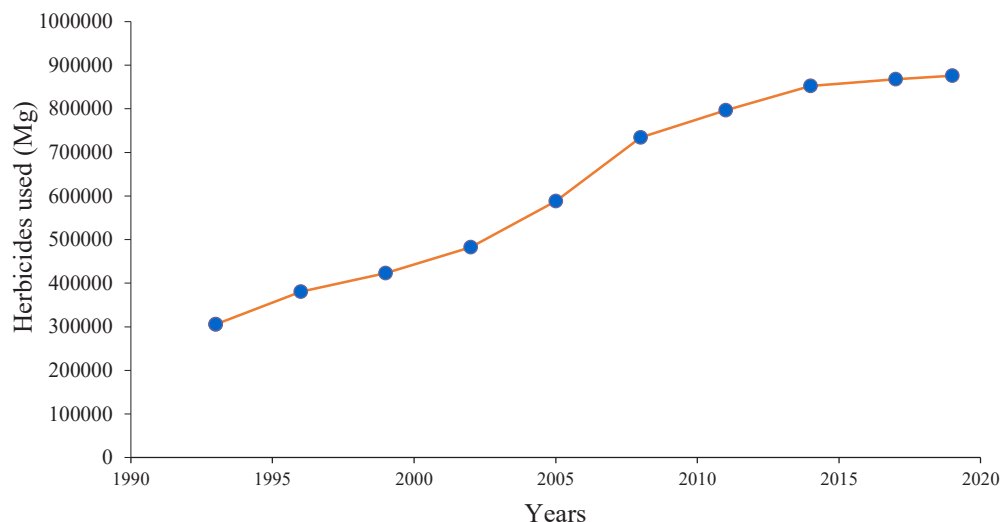


Figure 1. Herbicides used (Mg) in the 1990-2019 period in Canada and Latin America (FAO, 2022).

Lazer, Yierbasato, Sanfosato, Glyfan, Glifobest, Unifo-sato, Shadow, Suprim, Lafam, Takle, Arraza, Yerbimat, Mamba, Sankill, Aquamaster, Ramrod, Velfosato, Eurosato, Durango and Cacique 480.

Impact on the quality of water

Water is a crucial resource to guarantee food security through agriculture (González-Villarreal and Arriaga-Medina, 2020). However, bodies of water worldwide currently display high levels of pollution and eutrophication due to the use of inputs in agriculture, including fertilizers and pesticides (FAO, 2018). Maintaining water quality is vital in environmental terms and for human health on the planet, particularly in times where water tends to be a scarce and highly polluted resource.

There is evidence that indicates that glyphosate is one of the main pollutants of surface and underground water. Its presence in high concentrations in bodies of water is related to intensive and extensive agriculture, in which the use of glyphosate is frequent (Mas *et al.*, 2020). Salazar-López *et al.* (2016) point out that the main way of access to bodies of water is through nonpoint sources, that is, through runoffs of agricultural fields. Zirena-Vilca *et al.* (2018) indicated that the particles of glyphosate and its metabolite, amniomethylphosphonic acid (AMPA) may remain in water in its particulate phase or dissolve completely. It is important to point out that many bodies of water are used for the public supply of water, and even when they are treated, not all residues are identified and eliminated.

Impact on the biota

Glyphosate affects every terrestrial or aquatic organism that comes into indirect contact with it. It has been reported to affect the microbial community in the soils, which could alter biogeochemical cycles (Mohamed *et al.*, 2021) and the growth and reproduction of earthworms, jeopardizing the nutrient and soil cycles. In fish, amphibians and reptiles, adverse effects have been documented, including endocrine disorders, hepatotoxicity, genotoxicity, neurotoxicity, cardiotoxicity, morphological alterations, alterations in embryonic development and mortality (Nunes Rezende *et al.*, 2021). In the case of bees, the use of glyphosate is related to the reduction of their population (Ruíz-Toledo and Sánchez-Guillen, 2014), which jeopardizes the agricultural production of crops that require pollination.

Impact on human health

The absorption of glyphosate in humans may be due to direct or indirect contact, whether through the skin, because of its continuous use with no protection during its handling, and indirectly via ingestion of glyphosate or contaminated products. In 2015, the International Agency for Research on Cancer (IARC, 2015), an agency that is part of the World Health Organization (WHO), declared glyphosate as a probably carcinogenic compound, a controversy that is still being analyzed. There are studies that indicate the presence of glyphosate residues, along with its main degradation metabolite, aminomethylphosphonic acid (AMPA), found in foods. Although it is not a bio-accumulative compound, it is a threat to public health if its concentrations exceed the maximum permissible limits established by the *Codex Alimentarius*.

There is a wide range of human disorders and diseases related to the formulations of glyphosate-based herbicides. Some researchers include the following in the main anomalies found: metabolic alterations, damage to DNA, kidney damage, attention deficit disorder with hyperactivity (ADDH), Alzheimer, Parkinson, autism, leaky gut syndrome, non-Hodgkin lymphoma and anencephaly (Zhang *et al.*, 2019). In Mexico, Rendón-von Osten and Dzul-Caamal (2017) reported traces of glyphosate in the urine of agricultural workers and groundwater, as well as in samples of bottled water. In the year 2018, in the United States, a case was published in which an agricultural worker had developed terminal cancer (non-Hodgkin lymphoma) due to the frequent exposure to products such as Roundup® and Ranger Pro® (Hernández-Sierra *et al.*, 2021).

MATERIALS AND METHODS

A systematic search was performed for scientific references made in the last forty years in the Scopus data base. The search criteria were glyphosate, Roundup®, toxicity, environmental impact and human health. This search, limited to scientific articles, produced a total of 1607 references. With the help of Scopus, the bibliometric analysis was obtained, which gave the scientific production per year and the main countries with the highest number of articles published. Later, taking the most used keywords in

the titles and the abstracts of each scientific article as a unit of analysis, a co-occurrence map was created, using the program VOSviewer version 1.16.17. Within the network, the search keywords were located and their ego networks (all the connections that go in and out of these nodes) were visualized.

To obtain a visualization of the map, VOSviewer applies the association strength normalization technique, the visualization of similarities or VOS mapping and finally, the cluster technique. A cluster is a set of nodes, broadly related depending on the type of link analyzed; each node is assigned exactly to one cluster. Finally, a second specific search was carried out for articles related with the pollution of water with glyphosate. For this, the following terms were taken as search criteria: water pollution, underground and surface water nonpoint sources, glyphosate and Roundup®. This new search gave a total of 172 references and a co-occurrence map was created using the program VOSviewer version 1.16.17.

RESULTS AND DISCUSSION

Bibliometric analysis

The scientific production related with the impact of the use of glyphosate from 1980 to 2022 has a considerable increase starting in 2010, which is broadly related to the increase in the use of glyphosate-based herbicides in the last twenty years. In the last ten years, scientific production increased 178 % (Figure 2). In the first quarter of 2022 alone, fifty-six publications were found, which represent 26.4 % of the previous year. In 2015, the WHO declared glyphosate as a “likely level 2 carcinogenic compound (moderately dangerous)”, which positioned it as a matter of world interest, giving way to studies related to this compound. Practically, in the last 20 years (2002–2022)

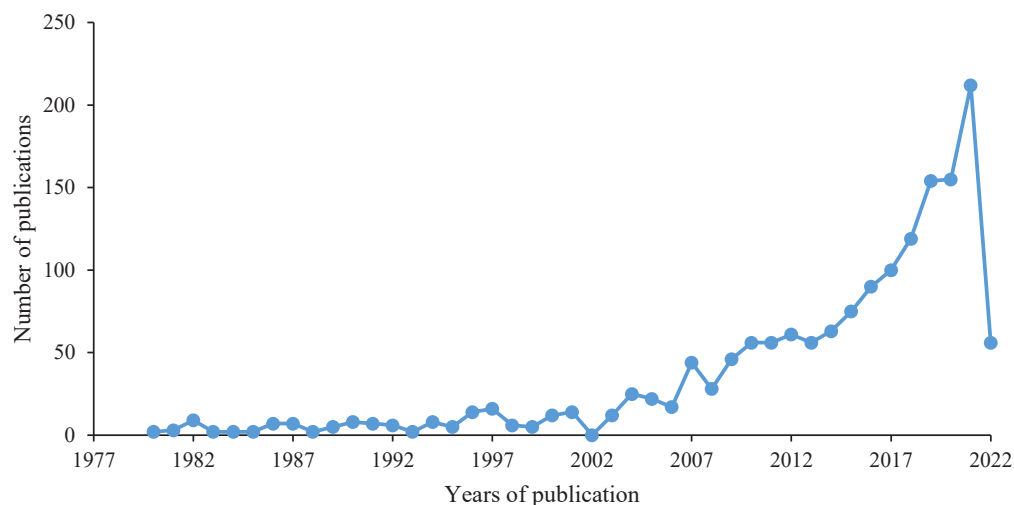


Figure 2. Scientific articles published worldwide related to the use and impact of glyphosate in the last forty years.

completely and that part of this compound is transferred directly onto foods, onto terrestrial and aquatic organisms after its application, and onto humans, by direct and indirect contact. In recent years (2010–2022) it has become known that glyphosate causes alterations in the biota and in humans (Table 1). The pathologies presented could promote the development of cancer and other diseases.

Table 1. Impacts of glyphosate on the biota and in humans.

Organism	Effects	Reference
Nematodes and worms	Mortality in exposures of over 1.76 mg L ⁻¹ , changes in behavior, growth and reproduction.	Zaller <i>et al.</i> , 2021.
Crustaceans	Size reduction in its juvenile state, reduction in growth rate, damage to reproductive capacity and low survival rate.	Bordin <i>et al.</i> , 2022.
Microalgae, algae and seagrasses	Reduction in chlorophyll content, photosynthesis and respiration.	Kittle and McDermid, 2016.
Bees (<i>Apis mellifera</i>)	Reduction in cognitive ability and cell death in larvae.	Balbuena <i>et al.</i> , 2015.
Fish	Premature hatching, heart insufficiency, swim bladder failure, body malformation, behavior changes and oxidative stress.	Liu <i>et al.</i> , 2022.
Rats and hares	Morphological and functional changes in the intestine and in behavior.	del Castillo <i>et al.</i> , 2022.
Humans	Severe eye irritation, moderate skin irritation, genotoxicity, neurotoxicity, neurodegenerative diseases.	Tarboush <i>et al.</i> , 2022.

Keywords: impacts on water

The network of co-occurrences of keywords that refer to the pollution of water with glyphosate show that the central and most frequently mentioned words were “glyphosate” and “pollution”, around which secondary terms can be observed, such as agriculture, drinkable water, surface and underground water, residues, ecotoxicology, animals, applications, soil, and others. These display a strong relation and have a central place in the network of keywords (Figure 4). The results indicate that glyphosate, along with other herbicides, are broadly related with its intensive use in agriculture and they are associated to water pollution, derived, many times, from nonpoint pollution.

There is evidence that glyphosate is present in bodies of water, which may be a risk to aquatic life and human health, since concentrations have been found that are above the maximum permissible limit established by the European Union (Table 2). For the specific case of Mexico, there are five publications that evaluate the presence of this

or the irrigation of agricultural fields, due to the property of this herbicide being highly water-soluble (González-Ortega and Fuentes-Ponce, 2022). Mörtl *et al.* (2013) observed this effect in surface and underground water samples taken in different sites in Hungary, and found greater concentrations in surface and underground water samples during the rainy season in Bekés County, which is characteristically a region with an intensive agriculture, whereas in surface waters of the Danube river in the dry season, relatively low concentrations were registered. Battaglin *et al.* (2014) pointed out that the concentrations of glyphosate are related with the increase of their use, mainly in transgenic crops such as soybean, cotton and maize.

The concentrations of glyphosate and metabolites in the bodies of water have a close relation with the location of agricultural fields, the type of agriculture (high- or low-input), rainfall and the characteristics of the catchment area. All this, as a whole, determines the amount of glyphosate that reaches the bodies of water and therefore the degree of pollution. Coupé *et al.* (2012) pointed out that the watersheds that are most at risk due to the transportation of glyphosate are those with higher rates of application and rainfalls that result in surface runoff.

CONCLUSIONS

The studies related to the presence of glyphosate in bodies of water, in foods and its impact on human health have increased worldwide. In the last ten years (2011–2021) the number of publications tripled in comparison with 2010. Out of the 1607 references published around the world from 1980 to 2002, Mexico only participates with 1.8 %, represented by publications related to toxicity in foods, human health and the biota (83 %) and the pollution of bodies of water (17 %). However, despite the prohibition of the use of glyphosate in agriculture being a national priority, there are still few studies carried out on the topic and on its potential effect on the environment and health.

Out of the network of co-occurrences of keywords, the words that were found to appear most frequently were glyphosate or Roundup® and its relation with toxicity, pollution, agriculture, surface water, underground water, drinkable water, soils, fish, amphibian, humans and laboratory animals. Since glyphosate is a water-soluble compound, it has the ability to quickly pollute bodies of water. Its presence is broadly related to agricultural fields, the use of inputs, the amount of herbicide applied and rainfalls. Finally, an increase in scientific research is necessary, with emphasis on bodies of water and the water resource, which is crucial to guarantee food security, as well as scarce and overexploited.

REFERENCES

- Balbuena MS, Tison L, Hahn ML, Greggers U, Menzel R, Farina WM. 2015. Effects of sublethal doses of glyphosate on honeybee navigation. *Journal of Experimental Biology* 218 (17): 2799–2805. <https://doi.org/10.1242/jeb.117291>
- Battaglin WA, Meyer MT, Kuivila KM, Dietze JE. 2014. Glyphosate and its degradation product AMPA occur frequently and widely in U. S. soils, surface water, groundwater, and precipitation. *Journal of the American Water Resources Association* 50 (2): 275–290. <https://doi.org/10.1111/jawr.12159>

- Beckie HJ, Flower KC, Ashworth MB. 2020. Farming without glyphosate. *Plants* 9 (1): 96. <https://doi.org/10.3390/plants9010096>
- Benbrook CM. 2026. Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environmental Sciences Europe* 28: 3. <https://doi.org/10.1186/s12302-016-0070-0>
- Bordin ER, Munhoz RC, Panicio PP, de Freitas AM, Ramsdor WA. 2022. Effects of environmentally relevant concentrations of atrazine and glyphosate herbicides, isolated and in mixture, on two generation of the freshwater microcrustacean *Daphnia magna*. *Ecotoxicology* 31 (6): 884–896. <https://doi.org/10.1007/s10646-022-02554-2>
- Council of the European Union. 1998. Council directive 98/83/EC of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption. *Official Journal of the European Communities*, L330, 32-54. Luxembourg, Luxembourg. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:31998L0083&from=EN> (Retrieved: February 2023).
- Coupé RH, Kalkhoff SJ, Capel PD, Gregoire C. 2012. Fate and transport of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters of agricultural basins. *Pest Management Science* 68 (1):16–30. <https://doi.org/10.1002/ps.2212>
- de Carvalho Marques JG, da Silva Verissimo KJ, Soares Fernandes B, de Melo Ferreira SR, Lima Montenegro SMG, Motteran F. 2021. Glyphosate: a review on the current environmental impacts from a Brazilian perspective. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 107 (3): 385–397. <https://doi.org/10.1007/s00128-021-03295-4>
- del Castillo I, Neumann AS, Lemos FS, de Bastiani MA, Oliveira FL, Zimmer ER, Rêgo AM, Hardoim CCP, Antunes LCM, Lara FA *et al.* 2022. Lifelong exposure to a low-dose of the glyphosate-based herbicide Roundup® causes intestinal damage, gut dysbiosis, and behavioral changes in mice. *International Journal of Molecular Sciences* 23 (10): 5583. <https://doi.org/10.3390/ijms23105583>
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2018. Los contaminantes agrícolas: una grave amenaza para el agua del planeta. Roma, Italia. <https://www.fao.org/documents/card/en/c/CA0146EN> (Retrieved: January 2022).
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2022. FAOSTAT. Uso de plaguicidas. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Roma, Italia. <https://www.fao.org/faostat/es/#home> (Retrieved: February 2022).
- González-Ortega E, Fuentes-Ponce MH. 2022. Dinámica del glifosato en el suelo y sus efectos en la microbiota. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 38: 127–144. <https://doi.org/10.20937/rica.54197>
- González-Villarreal F, Arriaga-Medina JA. 2020. Agua y producción de alimentos en México. *Impluvium* 13: 2–3.
- Hernández-Ríos I, Vasco-Leal JF, Mosquera-Artamonov JD, Acosta-Osorio AA, Torres-Aquino M, García-Herrera EJ. 2018. Uso del glifosato y los cultivos transgénicos resistentes. *AgroProductividad* 11 (4): 112–117.
- Hernández-Sierra R, García-Luzón D, Romero-Zepeda H. 2021. Uso del glifosato en México: problemas ecológicos e implicaciones éticas. *Revista Iberoamericana de Bioética* (17): 01–12. <https://doi.org/10.14422/rib.i17.y2021.007>
- Hoang TT, Qi C, Paul KC, Lee M, White JD, Richards M, Auerbach SS, Largo E, Shrestha S, Wang T *et al.* 2021. Epigenome-wide DNA methylation and pesticide use in the agricultural lung health study. *Environmental Health Perspectives* 129 (9): 097008. <https://doi.org/10.1289/ehp8928>
- IARC (International Agency for Research on Cancer). 2015. Monographs volume 112: evaluation of five organophosphate insecticides and herbicides. Lyon, France. <https://www.iarc.who.int/wp-content/uploads/2018/07/MonographVolume112-1.pdf> (Retrieved: February 2023).
- Liu Z, Shangguan Y, Zhu P, Sultan Y, Feng Y, Li X, Ma J. 2022. Developmental toxicity of glyphosate on embryo-larval zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 236: 113493. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113493>

- Mas LI, Aparicio VC, de Gerónimo E, Costa JL. 2020. Pesticides in water sources used for human consumption in the semiarid region of Argentina. *SN Applied Sciences* 2: 691. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-2513-x>
- Mohamed M, Aliyat FZ, Ben Messaoud B, Simone C, Marina M, Filippo G, Laila N, Jamal I. 2021. Effects of pesticides use (glyphosate & paraquat) on biological nitrogen fixation. *Water, Air and Soil Pollution* 232 (10): 419. <https://doi.org/10.1007/s11270-021-05367-x>
- Nunes Rezende EC, Melo Carneiro F, Ballico de Moraes J, Jubé Wastowski B. 2021. Trends in science on glyphosate toxicity: a scientometric study. *Environmental Science and Pollution Research* 28 (40): 56432–56448. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14556-4>
- Page ER, Cerrudo D, Westra P, Loux M, Smith K, Foresman C, Wright H, Swanton CJ. 2012. Why early season weed control is important in maize. *Weed Science* 60 (3): 423–430. <https://doi.org/10.1614/ws-d-11-00183.1>
- Rendón-von Osten J, Dzul-Caamal R. 2017. Glyphosate residues in groundwater, drinking water and urine of subsistence farmers from intensive agriculture localities: a survey in Hopelchén, Campeche, Mexico. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 14 (6): 595. <https://doi.org/10.3390/ijerph14060595>
- Reynoso-Camargo EK. 2020. Evaluación espacio-temporal del herbicida glifosato en aguas de la localidad de Tenampulco, Puebla, para la modelación de la exposición humana. *Academia Journals* 2 (1): 2-54. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.11863.50084>
- Ruíz-Toledo J, Sánchez-Guillen D. 2014. Efecto de la concentración de glifosato presente en cuerpos de agua cercanos a campos de soya transgénica sobre la abeja *Apis mellifera* y la abeja sin aguijón *Tetragonisca angustula*. *Acta Zoológica Mexicana* 30 (2): 408–413. <https://doi.org/10.21829/azm.2014.302114>
- Salazar-López NJ, Aldana-Madrid ML. 2011. Herbicida glifosato: usos, toxicidad y regulación. *BIOtecnia* 13 (2): 23–28. <https://doi.org/10.18633/bt.v13i2.83>
- Salazar-López NJ, Silveira Gramont MI, Zuno Floriano FG, Rodríguez-Olibarría G, Hengel M, Aldana-Madrid ML. 2016. Dissipation of glyphosate from grapevine soils in Sonora, México. *Terra Latinoamericana* 34 (4): 385–391.
- Savini S, Bandini M, Sannino A. 2019. An improved, rapid, and sensitive ultra-high-performance liquid chromatography-high-resolution orbitrap mass spectrometry analysis for the determination of highly polar pesticides and contaminants in processed fruits and vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 67 (9): 2716–2722. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b06483>
- Schreinemachers P, Tipraqsa P. 2012. Agricultural pesticides and land use intensification in high-, middle- and low-income countries. *Food Policy* 37 (6): 616–626. <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2012.06.003>
- Tarboush NA, Almomani DH, Khabour, Azzam MI. 2022. Genotoxicity of glyphosate on cultured human lymphocytes. *International Journal of Toxicology* 41 (2): 126–131. <https://doi.org/10.1177/10915818211073514>
- Tataridas A, Kanatas P, Chatzigeorgiou A, Zannopoulos S, Travlos I. 2022. Sustainable crop and weed management in the era of the EU green deal: a survival guide. *Agronomy* 12 (3): 589. <https://doi.org/10.3390/agronomy12030589>
- van Bruggen AHC, He MM, Shin K, Mai V, Jeong KC, Finckh MR, Morris JG. 2018. Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. *Science of the Total Environment* 616-617: 255–268. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.309>
- Zaller JG, Weber M, Maderthaner M, Gruber E, Takács E, Mörtl M, Klátyik S, Győri J, Römbke J, Leisch F, Spangl B, Székács A. 2021. Effects of glyphosate-based herbicides and their active ingredients on earthworms, water infiltration and glyphosate leaching are influenced by soil properties. *Environmental Sciences Europe* 33: 51. <https://doi.org/10.1186/s12302-021-00492-0>
- Zirena-Vilca F, Gosgot-Angeles W, Campos-Quiroz CN, Zamalloa-Cuba WA. 2018. Glifosato en cuerpos hídricos: problema ambiental. *Revista de Investigaciones Altoandinas* 20 (3): 325–332. <https://doi.org/10.18271/ria.2018.396>

Zhang L, Rana I, Shaffer RM, Taioli E, Sheppard L. 2019. Exposure to glyphosate-based herbicides and risk for non-Hodgkin lymphoma: A meta-analysis and supporting evidence. *Mutation Research-Reviews in Mutation Research* 781: 186–206. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2019.02.001>

IMPACTOS DEL GLIFOSATO (ROUNDUP®) EN EL AMBIENTE Y LA SALUD HUMANA

María de Lourdes **Fernández-Peña**¹, Arturo **Pérez-Vázquez**^{1*}, María del Refugio **Castañeda-Chávez**², Pablo **Díaz-Rivera**¹, Eusebio **Ortega-Jiménez**¹, Gustavo **López-Romero**¹

¹ Colegio de Postgraduados Campus Veracruz. Carretera Federal Xalapa-Veracruz km 88.5, Tepetates, Manlio F. Altamirano, Veracruz, México. C. P. 91690.

² Tecnológico Nacional de México. Instituto Tecnológico de Boca del Río. Carretera Veracruz-Córdoba km 12, Boca del Río, Veracruz, México. C. P. 94290.

* Autor para correspondencia: parturo@colpos.mx

RESUMEN

El uso de productos químicos para el control de plagas está ampliamente extendido a nivel mundial en la agricultura comercial, a pesar de sus impactos en la salud humana y la biodiversidad. El glifosato es el herbicida más utilizado y cuyos efectos adversos a la salud humana y el ambiente ocasionan polémica en el ámbito técnico-científico. El objetivo de este ensayo fue identificar las principales investigaciones relacionadas con el herbicida glifosato y registrar su impacto en la biota, el ambiente y la salud pública. Para ello, se realizó una búsqueda bibliográfica, limitándose a artículos científicos alojados en Scopus del período de 1980 a mayo 2022. Los criterios de búsqueda fueron: glifosato, Roundup®, toxicidad, impacto ambiental, salud humana, contaminación del agua, agua subterránea y superficial y fuentes difusas. Se encontró un total de 1607 artículos publicados, teniendo un incremento del 178 % de la producción científica en los últimos diez años. Los países líderes con el mayor número de publicaciones en el tema del glifosato fueron países desarrollados que presentan una agricultura de tipo intensiva. México ocupa el dieciseisavo lugar, con 29 (1.8 %) artículos científicos para el período estudiado, donde solo el 17 % corresponde a estudios en cuerpos de agua. Con base en la literatura consultada y el mapa de coocurrencias, los elementos que tienen relación con el impacto en los cuerpos de agua por glifosato son el tipo de agricultura, la ubicación de los campos agrícolas, las precipitaciones y las características del área de captación.

Palabras clave: contaminación difusa, toxicidad, agricultura, plaguicidas, agroecosistemas.

INTRODUCCIÓN

El uso de plaguicidas en la agricultura se ha incrementado considerablemente desde mediados del siglo pasado. Un ejemplo de ello son los herbicidas, cuyo uso se ha incrementado en los últimos 20 años. Este aumento en el uso de plaguicidas en la agricultura, sus efectos ambientales y en la salud pública fue indicado por primera vez por Rachel Carson en su libro "La primavera silenciosa". Esto motivó un cambio de paradigma, dando lugar a movimientos como la agricultura orgánica, la emergencia de programas educativos en temas ambientales y una fuerte corriente ambientalista

Citation: Fernández-Peña ML, Pérez-Vázquez A, Castañeda-Chávez MR, Díaz-Rivera P, Ortega-Jiménez E, López-Romero G. 2023. Impactos del glifosato (Roundup®) en el ambiente y la salud humana. *Agrociencia* 57(4): 836-859. doi.org/10.47163/agrociencia.v57i4.2844

Editor in Chief:

Dr. Fernando C. Gómez Merino

Received: July 13, 2022.

Approved: March 23, 2023.

Published in *Agrociencia*:

June 07, 2023.

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



a nivel mundial. A pesar de ello, en algunos países se mantiene una tendencia de uso al alza y en otros a la baja (Schreinemachers y Tipraqsa, 2012). Países como Austria, Vietnam, Francia y Alemania han establecido políticas agroecológicas con el propósito de reducir la dependencia en el uso de plaguicidas, la contaminación ambiental y sus efectos en la salud humana (Tataridas *et al.*, 2022).

Desde el enfoque de la agricultura convencional, las plantas denominadas malezas se consideran indeseables al competir por la radiación solar y los nutrientes del suelo, lo que impacta en el rendimiento de los cultivos (Page *et al.*, 2012). Para su erradicación se han empleado diversas estrategias de control, entre ellas la aplicación de glifosato. Este es el de mayor uso a nivel mundial y está clasificado como un herbicida sistémico de amplio espectro, no selectivo, cuyo origen se remonta a los años setenta, patentado por la empresa Monsanto bajo el nombre comercial de Roundup® (Beckie *et al.*, 2020). La prohibición del glifosato en los países mencionados es debido a sus efectos tóxicos identificados en la salud humana y en la biota, ya sea por contacto directo o indirecto. Se reporta que el glifosato es un compuesto potencialmente cancerígeno, así como un detonador de daños graves en los organismos y el ambiente (de Carvalho Marques *et al.*, 2021). Otros autores indican que su uso está asociado con la contaminación ambiental, la reducción drástica de la población de abejas (Ruíz-Toledo y Sánchez-Guillen, 2014), la afectación del ciclo de los nutrientes del suelo, especialmente del carbono y fósforo, y contaminación de los cuerpos de agua y la biota acuática (van Bruggen *et al.*, 2018). Por tanto, el objetivo de este ensayo fue identificar las principales investigaciones relacionadas con la aplicación de glifosato y su impacto en la biota, el ambiente y la salud humana, bajo la hipótesis de que el efecto del Roundup® sobre el ambiente es aún vago y no concluyente.

Uso en la agricultura

El glifosato es un herbicida de amplio espectro, no selectivo, de acción foliar, post-emergente y sistémico, el cual tomó una gran relevancia después de la introducción de cultivos transgénicos. El uso masivo e intensivo del glifosato en la agricultura a nivel mundial se debe en gran medida a su disponibilidad y bajo precio en el mercado de agroquímicos. De acuerdo con Benbrook (2016), la utilización del glifosato tuvo un considerable aumento a nivel mundial; tan solo de 1993 a 2019 (26 años), el uso de herbicidas se triplicó, incluyendo el del glifosato (Figura 1).

El principal uso del glifosato como herbicida es eminentemente agrícola, el cual es utilizado para eliminar plantas de hoja angosta y ancha y especies leñosas, principalmente en cultivos de maíz, frijol, trigo, cítricos, tomate, vid, algodón, soya, sorgo, caña de azúcar y papa, en cultivos ornamentales y plantaciones forestales (Hernández-Ríos *et al.*, 2018). Se reporta que los cultivos transgénicos han generado un incremento en el uso del glifosato, entre los que se incluye el maíz, algodón, soya, papa y canola (Benbrook, 2016).

El glifosato también presenta un uso no agrícola, para controlar malezas al borde de carreteras, caminos, jardines o predios baldíos en zonas urbanas, o bien en lagunas y presas para controlar malezas acuáticas (Salazar-López y Aldana, 2011). En el mercado

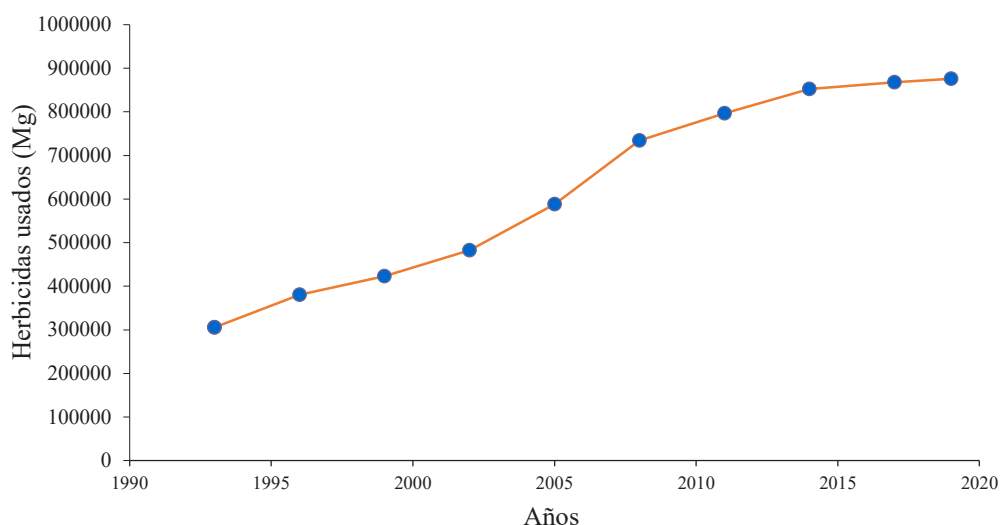


Figura 1. Herbicidas usados (Mg) en el período de 1990 a 2019 en Canadá y América Latina (FAO, 2022).

de herbicidas, el glifosato es el ingrediente activo de cientos de productos. De acuerdo a COFEPRIS, algunos de los nombres comerciales son: Roundup, Faena, Novasato, Glyfos, Glissan, Gabycord, Lazer, Yierbasato, Sanfosato, Glyfan, Glifobest, Unifo-sato, Shadow, Suprim, Lafam, Takle, Arraza, Yerbimat, Mamba, Sankill, Aquamaster, Ramrod, Velfosato, Eurosato, Durango y Cacique 480.

Impacto en la calidad del agua

El agua es un recurso fundamental para garantizar la seguridad alimentaria a través de la agricultura (González-Villarreal y Arriaga-Medina, 2020). Sin embargo, actualmente los cuerpos de agua a nivel mundial presentan un alto grado de contaminación y eutrofización debido al uso de insumos en la agricultura, entre ellos fertilizantes y plaguicidas (FAO, 2018). Mantener la calidad del agua es vital en términos ambientales y para la salud humana en el planeta, particularmente en tiempos donde el agua tiende a ser un recurso escaso y altamente contaminado.

Existe evidencia que señala de que el glifosato es uno de principales contaminantes de aguas superficiales y subterráneas. Su presencia en altas concentraciones en los cuerpos de agua se asocia a la agricultura intensiva y extensiva donde es frecuente el uso de glifosato (Mas *et al.*, 2020). Salazar-López *et al.* (2016) señalan que la principal vía de acceso a los cuerpos de agua es a través de fuentes difusas, es decir, a través de escorrentías de los campos agrícolas. Zirena-Vilca *et al.* (2018) indicaron que las partículas de glifosato y su metabolito el ácido aminometilfosónico (AMPA) pueden permanecer en el agua en su fase particulada o disolverse totalmente. Es importante señalar que muchos cuerpos de agua son utilizados para abastecimiento público de agua potable, y aun cuando se someten a tratamiento, no todos los residuos son detectados y eliminados.

Impacto en la biota

El glifosato afecta a todo organismo terrestre o acuático que de manera indirecta entra en contacto con éste. Se ha reportado que el glifosato afecta a la comunidad microbiana del suelo, lo cual podría alterar los ciclos biogeoquímicos (Mohamed *et al.*, 2021) y el crecimiento y reproducción de las lombrices de tierra, poniendo en riesgo el ciclo de nutrientes y de los suelos. En peces, anfibios y reptiles se han documentado efectos adversos, como son trastornos endocrinos, hepatotoxicidad, genotoxicidad, neurotoxicidad, cardiotoxicidad, alteraciones morfológicas, alteraciones en el desarrollo embrionario y mortalidad (Nunes Rezende *et al.*, 2021). En el caso de las abejas, el uso del glifosato está asociado con la disminución de su población (Ruíz-Toledo y Sánchez-Guillen, 2014), lo cual pone en riesgo la producción agrícola de cultivos que requieren de polinización.

Impacto en la salud humana

La absorción de glifosato en el ser humano puede ocurrir por exposición directa o indirecta, ya sea a través de la piel por su uso continuo y sin medidas de protección durante su manipulación, y de manera indirecta por la ingesta de productos contaminados. En 2015, la Agencia Internacional de Investigación contra el Cáncer (IARC, 2015), entidad adscrita a la Organización Mundial de la Salud (OMS), declaró al glifosato como un compuesto probablemente cancerígeno, controversia que aún sigue en análisis. Existen estudios que señalan la presencia de residuos de glifosato, así como su principal metabolito de degradación, el ácido aminometilfosfónico (AMPA), presente en alimentos. Sin bien no es un compuesto bioacumulable, si representa una amenaza para la salud pública si las concentraciones rebasan los límites máximos permisibles establecidos por el *Codex Alimentarius*.

Existe una amplia gama de trastornos y enfermedades humanas asociadas a las formulaciones de herbicidas a base de glifosato. Algunos investigadores señalan entre las principales anomalías detectadas son: alteraciones metabólicas, daño al DNA, daño renal, trastorno por déficit de atención con hiperactividad (TDAH), Alzheimer, Parkinson, autismo, Síndrome del Intestino Permeable, linfoma no Hodgkin y anencefalia (Zhang *et al.*, 2019). En México, Rendón-von Osten y Dzul-Caamal (2017) reportaron residuos de glifosato en orina de trabajadores agrícolas y aguas subterráneas, así como en muestras de agua embotellada. En el año 2018, en los Estados Unidos, se dio a conocer el caso de un trabajador agrícola que había desarrollado cáncer terminal (linfoma no Hodgkin) por la exposición frecuente a productos como Roundup® y Ranger Pro® (Hernández-Sierra *et al.*, 2021).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una búsqueda sistemática de referencias científicas de los últimos cuarenta años en la base de datos de Scopus. Los criterios de búsqueda fueron: glifosato, Roundup®, toxicidad, impacto ambiental y salud humana. Dicha búsqueda, limitada a artículos científicos, arrojó un total de 1607 referencias. Con la asistencia de Scopus se

obtuvo el análisis bibliométrico, el cual dio a conocer la producción científica por año y los principales países con mayor número de artículos publicados. Posteriormente, tomando como unidad de análisis las palabras clave más utilizadas dentro del título y *abstract* de cada artículo científico, se realizó un mapa de coocurrencias utilizando el programa VOSviewer versión 1.16.17. Dentro de la red se ubicaron las palabras clave de la búsqueda y se visualizaron sus redes de ego (todas las conexiones que entran y salen de dichos nodos).

Para obtener una visualización del mapa, VOSviewer aplica la técnica de normalización de la fuerza de asociación, el mapeo VOS o visualización de similitudes y, finalmente, la técnica de agrupación. Una agrupación (clúster) es un conjunto de nodos estrechamente relacionados según el tipo de vínculo que se analiza; cada nodo es asignado exactamente a un clúster. Finalmente, se realizó una segunda búsqueda específica de artículos relacionados con la contaminación del agua por glifosato. Para ello, se tomaron como criterios de búsqueda los términos: contaminación de agua, agua subterránea y superficial, fuentes difusas, glifosato y Roundup®. Esta nueva búsqueda arrojó un total de 172 referencias y se realizó un mapa de coocurrencias utilizando el programa VOSviewer versión 1.16.17.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis bibliométrico

La producción científica relacionada con el impacto del uso del glifosato en el período de 1980 a 2022 tuvo un considerable aumento a partir del año 2010, lo cual tiene una estrecha relación con el incremento del uso de herbicidas a base de glifosato en los últimos veinte años. En los últimos diez años, la producción científica aumentó 178 % (Figura 2). Tan solo en el primer cuatrimestre del 2022 se identificaron cincuenta y seis

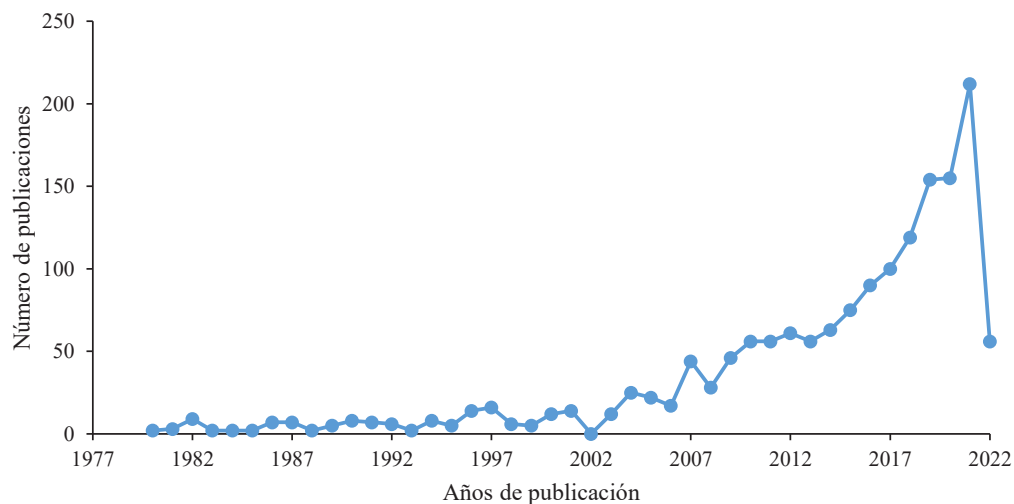


Figura 2. Artículos científicos publicados a nivel mundial relacionados con el uso e impacto del glifosato en los últimos cuarenta años.

Los impactos ambientales provienen, en su mayoría, del alto uso del glifosato en los campos agrícolas y se relacionan con la contaminación de los suelos, de las aguas superficiales y subterráneas, de los alimentos y, además, con alteraciones en la biota y en el ser humano. Existen reportes de la presencia de glifosato en alimentos como la miel, frutas, cereales, fórmulas lácteas, legumbres y hortalizas (Savini *et al.*, 2019). Esto evidencia que el glifosato no se degrada totalmente y que parte de este compuesto pasa directamente a los alimentos, a los organismos terrestres y acuáticos después de su aplicación y al ser humano por contacto directo e indirecto. En los últimos años (2010–2022) se ha dado conocer que el glifosato provoca alteraciones en la biota y en el ser humano (Cuadro 1). Las patologías presentadas podrían promover el desarrollo de cáncer y otras enfermedades.

Cuadro 1. Impactos del glifosato en la biota y en el ser humano.

Organismo	Efectos	Referencia
Nemátodos y lombrices	Mortandad en exposiciones superiores a los 1.76 mg L ⁻¹ , cambios en el comportamiento, crecimiento y reproducción.	Zaller <i>et al.</i> , 2021.
Crustáceos	Reducción de tamaño en estado juvenil, disminución de la tasa de crecimiento, daños a la capacidad reproductiva y baja tasa de supervivencia.	Bordin <i>et al.</i> , 2022.
Microalgas, algas y pastos marinos	Disminución del contenido de clorofila, fotosíntesis y respiración.	Kittle and McDermid, 2016.
Abejas (<i>Apis mellifera</i>)	Disminución de la capacidad cognitiva y provoca muerte celular en larvas.	Balbuena <i>et al.</i> , 2015.
Peces	Eclosión prematura, disminución cardíaca, deficiencia de vejiga natatoria, malformación del cuerpo, cambios en el comportamiento y estrés oxidativo.	Liu <i>et al.</i> , 2022.
Ratas y liebres	Cambios morfológicos y funcionales en el intestino y del comportamiento.	del Castillo <i>et al.</i> , 2022.
Humano	Irritación ocular severa, irritación cutánea moderada, genotoxicidad, neurotoxicidad, enfermedades neurodegenerativas.	Tarboush <i>et al.</i> , 2022.

Palabras clave: impactos en el agua

La red de coocurrencias de las palabras clave referente a la contaminación del agua por glifosato muestra que las palabras más mencionadas y centrales fueron “glifosato” y “contaminación”, alrededor de las cuales se observan otros términos secundarios como agricultura, agua potable, agua superficial y subterránea, residuos, ecotoxicología, animales, aplicaciones, suelo, entre otros. Estas presentan una fuerte relación y ocupan un lugar central en la red de palabras clave (Figura 4). Los resultados señalan

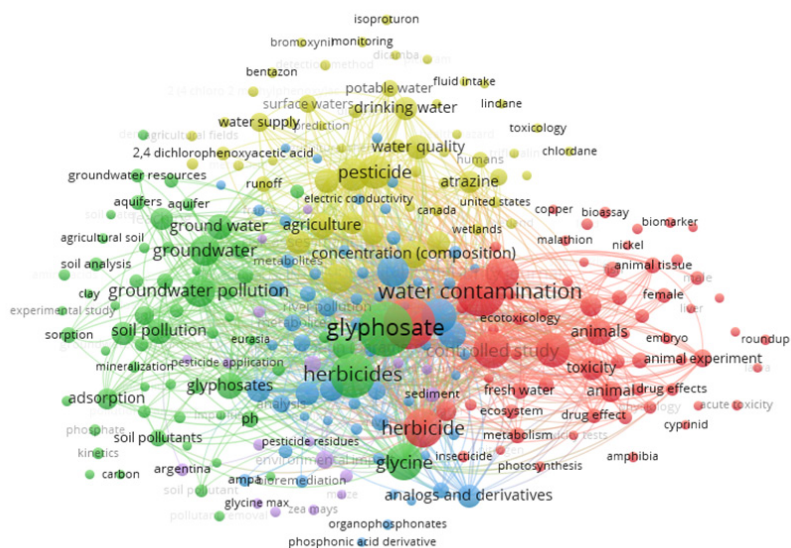


Figura 4. Red de coocurrencias de palabras clave enfocadas a la contaminación del agua por glifosato.

que el glifosato, así como otros herbicidas, tienen estrecha relación con su uso intensivo en la agricultura y se asocian con la contaminación del agua, muchas veces derivado de una contaminación de tipo difusa.

Existe evidencia que el glifosato está presente en cuerpos de agua, lo cual puede representar un riesgo para la vida acuática y la salud humana, ya que se han encontrado concentraciones por arriba del límite máximo permisible que establece la Unión Europea (Cuadro 2). Para el caso específico de México, el número de publicaciones que

Cuadro 2. Ocurrencia del glifosato en recursos hídricos a nivel mundial.

País	Matriz	FE (%)	C (µg L)	LMP [†] (µg L)	Referencias
Países de la Unión Europea	Agua superficial Agua subterránea	28.9 1.3	<0.003–50 <0.01–24	0.1 0.1	Horth and Blackmore, 2009.
México	Agua subterránea y superficial	100	0.13–36.7	0.1	Ruíz-Toledo and Sánchez-Guillen, 2014.
Estados Unidos	Varios tipos de agua	39.4	<0.02–476	0.1	Battaglin <i>et al.</i> , 2014.
México	Agua potable embotellada	86.7	<0.05–0.78	0.1	Rendón-von Osten and Dzul-Caamal, 2017.
México	Agua embotellada, superficial y subterránea	63.8	0.1–4.3	0.1	Reynoso-Camargo <i>et al.</i> , 2020.

LMP: límite máximo permisible; FE: frecuencia de detección; C: concentración. [†]Unión Europea (Council of the European Union, 1998).

evalúan la presencia de este contaminante en cuerpos de agua son cinco. Sin embargo, los hallazgos encontrados son alarmantes, ya que no solo se ha encontrado su presencia en agua superficial, sino también en agua embotellada y en agua subterráneas de abastecimiento público, principalmente en localidades alejadas de zonas urbanas (Rendón-von Osten y Dzul-Caamal, 2017; Reynoso-Camargo *et al.*, 2020).

La presencia de glifosato en aguas superficiales de ríos y lagos, así como en aguas subterráneas se debe a la lixiviación de este compuesto presente en el suelo por eventos de lluvia o riego de los campos agrícolas, debido a la propiedad de este herbicida de ser altamente hidrosoluble (González-Ortega y Fuentes-Ponce, 2022). Mörtl *et al.* (2013) observaron este efecto en muestras de agua tomadas en diferentes sitios de Hungría, encontrando mayores concentraciones en muestras de agua superficiales y subterráneas durante la época de lluvias dentro del Condado de Bekés, el cual se caracteriza por ser una región con una agricultura de tipo intensiva, mientras que en aguas superficiales del Río Danubio durante la época de secas se registraron concentraciones relativamente bajas. Battaglin *et al.* (2014) señalaron que las concentraciones de glifosato se asocian al aumento de su uso, principalmente en cultivos transgénicos como la soya, algodón y maíz.

Las concentraciones de glifosato y metabolitos en los cuerpos de agua tienen estrecha relación con la ubicación de los campos agrícolas, el tipo de agricultura (bajos o altos insumos), la precipitación y las características del área de captación. Todo ello en conjunto determina la cantidad de glifosato que llega a los cuerpos de agua y por ende el grado de contaminación. Coupé *et al.* (2012) señalaron que las cuencas hidrográficas que corren mayor riesgo por el transporte de glifosato son aquellas con altas tasas de aplicación y precipitaciones que resultan en escorrentía superficial.

CONCLUSIONES

Los estudios relacionados con la presencia de glifosato en cuerpos de agua, en alimentos y su impacto a la salud humana y a la biota han aumentado a nivel mundial. En los últimos diez años (2011–2021) el número de publicaciones se triplicó en comparación al 2010. En México, de las 1607 referencias publicadas mundialmente durante el período (1980–2022), solo se participó con el 1.8 %, representado por publicaciones relacionadas a la toxicidad en alimentos, la salud humana y la biota (83 %) y la contaminación de cuerpos de agua (17 %). Sin embargo, a pesar de ser la prohibición del uso de glifosato en la agricultura una prioridad nacional, aún son pocos los estudios realizados en el tema y su potencial efecto en el ambiente y la salud.

De la red de coocurrencias de las palabras clave se observa que las palabras con mayor frecuencia fueron glifosato o Roundup® y su relación a toxicidad, contaminación, agricultura, agua superficial, agua subterránea, agua potable, suelos, peces, anfibios, humanos y animales de laboratorio. El glifosato, al ser un compuesto hidrosoluble, tiene la capacidad de contaminar con rapidez los cuerpos de agua. Su presencia tiene estrecha relación con la cercanía a los campos agrícolas, el uso de insumos, la cantidad de herbicida aplicado y las precipitaciones. Finalmente, es necesario aumentar

la investigación científica haciendo énfasis en cuerpos de agua, recurso hídrico vital para garantizar la seguridad alimentaria, ya que se encuentran en estado de escasez y sobrexplotación.

REFERENCIAS

- Balbuena MS, Tison L, Hahn ML, Greggers U, Menzel R, Farina WM. 2015. Effects of sublethal doses of glyphosate on honeybee navigation. *Journal of Experimental Biology* 218 (17): 2799–2805. <https://doi.org/10.1242/jeb.117291>
- Battaglin WA, Meyer MT, Kuivila KM, Dietze JE. 2014. Glyphosate and its degradation product AMPA occur frequently and widely in U. S. soils, surface water, groundwater, and precipitation. *Journal of the American Water Resources Association* 50 (2): 275–290. <https://doi.org/10.1111/jawr.12159>
- Beckie HJ, Flower KC, Ashworth MB. 2020. Farming without glyphosate. *Plants* 9 (1): 96. <https://doi.org/10.3390/plants9010096>
- Benbrook CM. 2026. Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environmental Sciences Europe* 28: 3. <https://doi.org/10.1186/s12302-016-0070-0>
- Bordin ER, Munhoz RC, Panico PP, de Freitas AM, Ramsdor WA. 2022. Effects of environmentally relevant concentrations of atrazine and glyphosate herbicides, isolated and in mixture, on two generation of the freshwater microcrustacean *Daphnia magna*. *Ecotoxicology* 31 (6): 884–896. <https://doi.org/10.1007/s10646-022-02554-2>
- Council of the European Union. 1998. Council directive 98/83/EC of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption. *Official Journal of the European Communities*, L330, 32-54. Luxembourg, Luxembourg. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:31998L0083&from=EN> (Recuperado: febrero 2023).
- Coupé RH, Kalkhoff SJ, Capel PD, Gregoire C. 2012. Fate and transport of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters of agricultural basins. *Pest Management Science* 68 (1):16–30. <https://doi.org/10.1002/ps.2212>
- de Carvalho Marques JG, da Silva Veríssimo KJ, Soares Fernandes B, de Melo Ferreira SR, Lima Montenegro SMG, Motteran F. 2021. Glyphosate: a review on the current environmental impacts from a Brazilian perspective. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 107 (3): 385–397. <https://doi.org/10.1007/s00128-021-03295-4>
- del Castillo I, Neumann AS, Lemos FS, de Bastiani MA, Oliveira FL, Zimmer ER, Rêgo AM, Haridoim CCP, Antunes LCM, Lara FA *et al.* 2022. Lifelong exposure to a low-dose of the glyphosate-based herbicide Roundup® causes intestinal damage, gut dysbiosis, and behavioral changes in mice. *International Journal of Molecular Sciences* 23 (10): 5583. <https://doi.org/10.3390/ijms23105583>
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2018. Los contaminantes agrícolas: una grave amenaza para el agua del planeta. Roma, Italia. <https://www.fao.org/documents/card/en/c/CA0146EN> (Recuperado: enero 2022).
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2022. FAOSTAT. Uso de plaguicidas. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Roma, Italia. <https://www.fao.org/faostat/es/#home> (Recuperado: febrero 2022).
- González-Ortega E, Fuentes-Ponce MH. 2022. Dinámica del glifosato en el suelo y sus efectos en la microbiota. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 38: 127–144. <https://doi.org/10.20937/rica.54197>
- González-Villarreal F, Arriaga-Medina JA. 2020. Agua y producción de alimentos en México. *Impluvium* 13: 2–3.
- Hernández-Ríos I, Vasco-Leal JF, Mosquera-Artamonov JD, Acosta-Osorio AA, Torres-Aquino M, García-Herrera EJ. 2018. Uso del glifosato y los cultivos transgénicos resistentes. *Agro-Productividad* 11 (4): 112–117.
- Hernández-Sierra R, García-Luzón D, Romero-Zepeda H. 2021. Uso del glifosato en México: problemas ecológicos e implicaciones éticas. *Revista Iberoamericana de Bioética* (17): 01–12. <https://doi.org/10.14422/rib.i17.y2021.007>

- Hoang TT, Qi C, Paul KC, Lee M, White JD, Richards M, Auerbach SS, Largo E, Shrestha S, Wang T *et al.* 2021. Epigenome-wide DNA methylation and pesticide use in the agricultural lung health study. *Environmental Health Perspectives* 129 (9): 097008. <https://doi.org/10.1289/ehp8928>
- IARC (International Agency for Research on Cancer). 2015. Monographs volume 112: evaluation of five organophosphate insecticides and herbicides. Lyon, France. <https://www.iarc.who.int/wp-content/uploads/2018/07/MonographVolume112-1.pdf> (Recuperado: febrero 2023).
- Liu Z, Shangguan Y, Zhu P, Sultan Y, Feng Y, Li X, Ma J. 2022. Developmental toxicity of glyphosate on embryo-larval zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 236: 113493. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.113493>
- Mas LI, Aparicio VC, de Gerónimo E, Costa JL. 2020. Pesticides in water sources used for human consumption in the semiarid region of Argentina. *SN Applied Sciences* 2: 691. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-2513-x>
- Mohamed M, Aliyat FZ, Ben Messaoud B, Simone C, Marina M, Filippo G, Laila N, Jamal I. 2021. Effects of pesticides use (glyphosate & paraquat) on biological nitrogen fixation. *Water, Air and Soil Pollution* 232 (10): 419. <https://doi.org/10.1007/s11270-021-05367-x>
- Nunes Rezende EC, Melo Carneiro F, Ballico de Moraes J, Jubé Wastowski B. 2021. Trends in science on glyphosate toxicity: a scientometric study. *Environmental Science and Pollution Research* 28 (40): 56432–56448. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14556-4>
- Page ER, Cerrudo D, Westra P, Loux M, Smith K, Foresman C, Wright H, Swanton CJ. 2012. Why early season weed control is important in maize. *Weed Science* 60 (3): 423–430. <https://doi.org/10.1614/ws-d-11-00183.1>
- Rendón-von Osten J, Dzul-Caamal R. 2017. Glyphosate residues in groundwater, drinking water and urine of subsistence farmers from intensive agriculture localities: a survey in Hopelchén, Campeche, Mexico. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 14 (6): 595. <https://doi.org/10.3390/ijerph14060595>
- Reynoso-Camargo EK. 2020. Evaluación espacio-temporal del herbicida glifosato en aguas de la localidad de Tenampulco, Puebla, para la modelación de la exposición humana. *Academia Journals* 2 (1): 2-54. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.11863.50084>
- Ruíz-Toledo J, Sánchez-Guillen D. 2014. Efecto de la concentración de glifosato presente en cuerpos de agua cercanos a campos de soya transgénica sobre la abeja *Apis mellifera* y la abeja sin aguijón *Tetragonisca angustula*. *Acta Zoológica Mexicana* 30 (2): 408–413. <https://doi.org/10.21829/azm.2014.302114>
- Salazar-López NJ, Aldana-Madrid ML. 2011. Herbicida glifosato: usos, toxicidad y regulación. *BIOtecnia* 13 (2): 23–28. <https://doi.org/10.18633/bt.v13i2.83>
- Salazar-López NJ, Silveira Gramont MI, Zuno Florianio FG, Rodríguez-Olibarría G, Hengel M, Aldana-Madrid ML. 2016. Dissipation of glyphosate from grapevine soils in Sonora, México. *Terra Latinoamericana* 34 (4): 385–391.
- Savini S, Bandini M, Sannino A. 2019. An improved, rapid, and sensitive ultra-high-performance liquid chromatography-high-resolution orbitrap mass spectrometry analysis for the determination of highly polar pesticides and contaminants in processed fruits and vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 67 (9): 2716–2722. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b06483>
- Schreinemachers P, Tipraqsa P. 2012. Agricultural pesticides and land use intensification in high-, middle- and low-income countries. *Food Policy* 37 (6): 616–626. <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2012.06.003>
- Tarboush NA, Almomani DH, Khabour, Azzam MI. 2022. Genotoxicity of glyphosate on cultured human lymphocytes. *International Journal of Toxicology* 41 (2): 126–131. <https://doi.org/10.1177/10915818211073514>
- Tataridas A, Kanatas P, Chatzigeorgiou A, Zannopoulos S, Travlos I. 2022. Sustainable crop and weed management in the era of the EU green deal: a survival guide. *Agronomy* 12 (3): 589. <https://doi.org/10.3390/agronomy12030589>

- van Bruggen AHC, He MM, Shin K, Mai V, Jeong KC, Finckh MR, Morris JG. 2018. Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. *Science of the Total Environment* 616-617: 255–268. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.309>
- Zaller JG, Weber M, Maderthaner M, Gruber E, Takács E, Mörtl M, Klátyik S, Győri J, Römbke J, Leisch F, Spangl B, Székács A. 2021. Effects of glyphosate-based herbicides and their active ingredients on earthworms, water infiltration and glyphosate leaching are influenced by soil properties. *Environmental Sciences Europe* 33: 51. <https://doi.org/10.1186/s12302-021-00492-0>
- Zirena-Vilca F, Gosgot-Angeles W, Campos-Quiroz CN, Zamalloa-Cuba WA. 2018. Glifosato en cuerpos hídricos: problema ambiental. *Revista de Investigaciones Altoandinas* 20 (3): 325–332. <https://doi.org/10.18271/ria.2018.396>
- Zhang L, Rana I, Shaffer RM, Taioli E, Sheppard L. 2019. Exposure to glyphosate-based herbicides and risk for non-Hodgkin lymphoma: A meta-analysis and supporting evidence. *Mutation Research-Reviews in Mutation Research* 781: 186–206. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2019.02.001>



VOLUMEN 57, NÚMERO 4 | 16 DE MAYO - 30 DE JUNIO, 2023 | MÉXICO