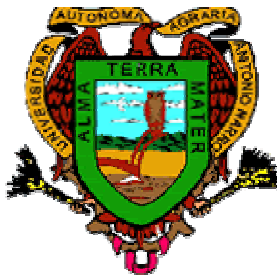


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
“ANTONIO NARRO”**



**DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL  
DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y ALIMENTOS**

**“Determinación de la Capacidad Antioxidante de los Extractos de  
Tejidos Verdes de Plantas de Diez Genotipos de Maíz (*Zea mays* L.)”**

**Por:  
ARICELDA URIBE LÓPEZ**

**TESIS**

**Presentada como Requisito Parcial para  
Obtener el Título de:**

**INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México  
Diciembre de 2007**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
ANTONIO NARRO**

**DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL  
DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y ALIMENTOS**

**“Determinación de la Capacidad Antioxidante de los Extractos de  
Tejidos Verdes de Plantas de Diez Genotipos de Maíz (*Zea Mays L.*)”**

**Por:  
ARICELDA URIBE LÓPEZ**

**TESIS**

**Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador  
como requisito parcial para obtener el título de:**

**INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**APROBADA**

\_\_\_\_\_  
**Lic. Laura Olivia Fuentes Lara  
Presidente del jurado**

\_\_\_\_\_  
**Dr. Adalberto Benavides Mendoza  
Sinodal**

\_\_\_\_\_  
**Dra. Norma Angélica Ruiz Torres  
Sinodal**

\_\_\_\_\_  
**Dr. Froylán Rincón Sánchez  
Sinodal**

\_\_\_\_\_  
**Ing. José Rodolfo Peña Oranday  
Coordinador de la División de Ciencia Animal**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.**

**Diciembre 13 de 2007**

## INDICE

Contenido	Pág.
<b>INDICE DE CUADROS</b>	i
<b>INDICE DE FIGURAS</b>	ii
<b>INDICE DE APÉNDICE</b>	ii
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	iv
<b>DEDICATORIAS</b>	v
<b>CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN</b>	1
Objetivo General	3
Objetivos Específicos	3
<b>CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA</b>	4
Estrés Oxidativo	4
Especies reactivas del oxígeno	5
Radicales Libres	7
Sistema de Defensa Antioxidante	9
Evaluación de la Actividad Antioxidante	12
Métodos para la Evaluación de la Actividad Antioxidante	14
Global	
Método de la Capacidad Antioxidante Equivalente a Trolox	14
Actividad Antioxidante en Vegetales	16
Los Antioxidantes en la Dieta	18
<b>CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	21
Descripción del Sitio Experimental	21
Materiales Utilizados	21
<b>Estudio 1. Prueba de Germinación</b>	22
Variables Evaluadas	23
<b>Estudio 2. Experimento Agronómico</b>	25
Siembra	25
Mediciones Anatómicas	25

Conteo de Estomas y Células Tabloides	25
Biomasa	26
Variables Evaluadas	27
<b>Estudio 3. Experimento de Análisis Químicos</b>	28
Determinación de la Capacidad Antioxidante Total	28
Análisis Bromatológico	30
Determinación de Humedad	30
Determinación de Proteína Cruda (Método Macro Kjeldhal)	30
Determinación del Extracto Etéreo	31
Determinación de Fibra Cruda	32
Determinación del Contenido de Cenizas Totales	33
Método para Análisis de Minerales Esenciales	33
Azúcares Totales	34
Variables Evaluadas	36
Modelo Estadístico	36
Análisis Estadístico	37
<b>CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	38
<b>Estudio 1. Prueba de Germinación</b>	38
<b>Estudio 2. Experimento Agronómico</b>	43
<b>Estudio 3. Experimento de Análisis Químicos</b>	56
<b>CAPÍTULO V. CONCLUSIONES</b>	66
<b>CAPÍTULO VI. LITERATURA CITADA</b>	68

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>		<b>Pág.</b>
1.	Constituyentes bioactivos presentes en frutos tropicales y su actividad antioxidante total (CAT).	17
2.	Relación de genotipos de maíz utilizados en el estudio.	21
3.	Curva para azúcares totales. <sup>+</sup>	34
4.	Variables evaluadas en prueba de germinación en semillas de siete genotipos de maíz contrastantes.	40
5.	Variables de vigor evaluadas en semillas de siete genotipos de maíz.	42
6a.	Morfología de las plantas de diez genotipos de maíz (Primer Muestreo).	44
6b.	Morfología de las plantas de diez genotipos de maíz (Segundo Muestreo).	45
7	Densidad e índice estomático en plantas de diez genotipos de maíz.	47
8a.	Determinación de biomasa en plantas de diez genotipos de maíz (segundo muestreo).	51
8b.	Determinación de biomasa en plantas de diez genotipos de maíz (Primer Muestreo).	52
9a.	Determinación de biomasa en plantas de diez genotipos de maíz (Primer Muestreo).	54
9b.	Determinación de biomasa en plantas de diez genotipos de maíz (Segundo Muestreo).	55
10.	Determinación de la capacidad antioxidante total en el extracto de plantas de diez genotipos de maíz.	57
11.	Calidad bromatológica de plantas de diez genotipos de maíz contrastantes.	61
12.	Contenido de minerales de plantas de diez genotipos de maíz.	62
13.	Correlación entre la actividad antioxidante total en plantas y, actividad antioxidante y compuestos fenólicos, determinados en grano de maíz.	64

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Pág.</b>
1.	Balance Oxido-Reducción.	10
2.	Clasificación de los antioxidantes.	10

## ÍNDICE DE APÉNDICE

<b>Figura</b>		<b>Pág.</b>
1.	Germinación al primer conteo en semillas de siete genotipos de maíz contrastantes.	76
2.	Porcentaje de plántulas normales de siete genotipos de maíz contrastantes.	76
3.	Porcentaje de semillas sin germinar de siete genotipos de maíz contrastantes.	77
4.	Longitud de radícula de siete genotipos de maíz.	77
5.	Peso seco de plántula de siete genotipos de maíz contrastantes.	78
6.	Diámetro de tallo de planta, en diez genotipos de maíz contrastantes.	78
7.	Altura de planta, en diez genotipos de maíz contrastantes.	79
8.	Número de hojas en diez genotipos de maíz contrastantes.	79
9.	Diámetro de tallo, en diez genotipos de maíz contrastantes.	80
10.	Altura de planta, en diez genotipos de maíz contrastantes.	80
11.	Número de hojas en plantas de diez genotipos de maíz contrastantes.	81

12.	Índice estomático abaxial de hojas de diez genotipos de maíz contrastantes.	81
13.	Índice estomático adaxial de hojas de diez genotipos de maíz contrastantes.	82
14.	Densidad estomática abaxial de hojas de diez genotipos de maíz contrastantes.	82
15.	Densidad estomática adaxial de hojas de diez genotipos de maíz contrastantes.	83
16.	Peso fresco aéreo de plantas de diez genotipos de maíz.	83
17.	Peso fresco aéreo de plantas de diez genotipos de maíz contrastantes.	84
18.	Peso fresco de raíz de diez genotipos de maíz contrastantes.	84
19.	Peso fresco total de diez genotipos de maíz contrastantes.	85
20.	Peso seco aéreo de plantas de diez genotipos de maíz contrastantes.	85
21.	Peso seco de raíz en plantas de diez genotipos de maíz contrastantes.	86
22.	Peso seco total de planta en diez genotipos de maíz contrastantes.	86
23.	Capacidad antioxidante total (CAET $\text{mmol g}^{-1}$ ) en el extracto de plantas de diez genotipos de maíz.	87
24.	Calidad bromatológica de plantas de diez genotipos de maíz contrastantes.	87
25.	Contenido de azúcares totales en plantas de diez genotipos de maíz.	88

## AGRADECIMIENTOS

A mi **Alma Mater**, por haberme brindado la oportunidad de formarme como ingeniero y facilitar los medios para culminar con éxito esta empresa.

A la **Lic. Laura Olivia Fuentes Lara**, por la confianza y el apoyo para poder realizar el presente trabajo de investigación. Por su paciencia y sus enseñanzas valiosas.

Al **Dr. Adalberto Benavides Mendoza**, por el apoyo y facilidades brindadas para la realización de este trabajo de investigación.

A la **Dra. Norma Angélica Ruiz Torres**, por su valioso apoyo brindado para la realización del presente trabajo, así como por la confianza demostrada.

Al **Dr. Froylán Rincón Sánchez**, por facilitar el material genético para este trabajo y el interés mostrado en el desarrollo de la presente investigación.

A la **Dra. Rosa Elia Margarita Hernández Valencia**, por su apoyo, motivación y esfuerzo, para la culminación del presente trabajo; y la amistad sincera brindada hacia mi persona.

Para **TA. Norma Leticia Portos Gaona, TLQ. Carlos Alberto Arévalo Sanmiguel, MC. Mildred Inna Marcela Flores Verastegui**; por el apoyo y asesoría brindados durante la realización de la investigación.



## DEDICATORIAS

*A mis padres **Sra. Susana López Lomelí y Sr. Julián Uribe Flores**; gracias por formarme como una persona de bien, capaz e independiente, y orgullosa de sus raíces.*

*A mis abuelos **Agustina (+) y Francisco (+), Margarita (+) y José**; porque están siempre presentes en mi vida y han trascendido por sus buenos ejemplos.*

*A mis hermanos **Daniela Roxana, Irene y Francisco**; por su apoyo incondicional y porque los quiero.*

*A mi sobrina **Mariela Medina Uribe**; eres una persona muy especial, realiza tus metas, cuenta con migo.*

*A mi hija **Karla Nayara Rivera Uribe**; gracias. Eres lo más grande en mi vida, llegaste para ser fuente de luz. **“Se lo que quieras ser, pero siempre: se feliz”**.*

*A mi esposo **Carlos Enrique Rivera Cruz**; eres el ejemplo de la constancia, el amor al prójimo y a la familia. Gracias por estar siempre conmigo, por ser mi compañero y por amarme como soy.*

A todos **mis amigos de la Universidad**; gracias por escucharme en mis momentos felices y en los instantes que no lo fueron tanto.

A **mis amigos**, originarios del estado de **Nayarit**, gracias por su apoyo en todos los aspectos. Por su impulso y ayuda para dar este gran paso.

¡Animo, **Coras**!

**“Si en la lucha el destino te derriba  
Si todo en tu camino es cuesta arriba  
Si tu sonrisa es ansia insatisfecha  
Si es mucha tu faena y vil cosecha  
Si a tu caudal se contraponen diques  
Date una tregua pero ¡no claudiques!”**

**Rudyard Kipling**

## RESUMEN

El presente estudio de investigación, fue realizado en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en el periodo comprendido de Febrero de 2007 a Octubre de 2007. Con el objetivo de determinar la capacidad antioxidante de los extractos de tejidos verdes de plantas en diez genotipos de maíz obtenidos de las líneas 15 y 17 (las cuales pertenecen a una población enana), las líneas 41, 42 y 52 (son consideradas líneas Quality Protein Maize, QPM), Población Azul, y los genotipos: 102-38-1-2, 104-15-1-1 y 104-31-4-1 (que son líneas S<sub>3</sub> derivadas de una población subtropical). Se evaluó el contenido nutricional de la planta y se correlacionó el valor de la capacidad antioxidante total en planta (CATP), y el contenido de compuestos fenólicos del grano (CFG) y la capacidad antirradical en grano (CAG),

Se determinó la capacidad antioxidante del extracto de las plantas de maíz, obteniéndose que los genotipos 102-38-1-2 y 104-15-1-1 son las muestras con mayor capacidad antioxidante total, expresada en equivalentes Trolox, con 0.09 mmol g<sup>-1</sup>. Se obtuvo el rango de variación para la capacidad antioxidante total, de los extractos de las plantas de maíz en los genotipos estudiados, con valores mínimos de 0.03 mmol g<sup>-1</sup> en el genotipo 17x52, y máximos de 0.09 mmol g<sup>-1</sup>, valor obtenido por los genotipos 102-38-1-2 y 104-15-1-1. Se evaluó el contenido nutricional de la planta mostrando valores para materia seca total de 95.4 %, proteína cruda 29.3 %, extracto etéreo 3 %, fibra cruda 24.4 %, cenizas totales 15.2 % y azúcares totales 1.0 g/L. Se correlacionó el valor de la capacidad antioxidante total (equivalente a Trolox) de los extractos de las plantas de maíz (CATP), con el contenido de compuestos fenólicos (CFG) y la capacidad antirradical (CAG), ambas determinadas en el grano, para lo cual se encontraron índices de Pearson para las relaciones: CATP – CFG de -0.19126, para CATP – CAG de 0.31325 y en CFG – CAG de -0.35156; siendo no significativos en todos los casos.

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

En la última década se han acumulado evidencias que permiten afirmar que los radicales libres y el conjunto de especies reactivas que se les asocian juegan un papel central en el equilibrio homeostático de los seres vivos.

Cuando el aumento intracelular de especies reactivas del oxígeno sobrepasa las defensas antioxidantes de la célula se produce el estrés oxidativo, a través del cual se induce el daño a las moléculas biológicas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (Gutteridge y Halliwell, 1999).

Un antioxidante es una sustancia capaz de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres mediante la liberación de electrones en un sistema biológico, mismos que son captados por los radicales libres (Finkel y Holbrook, 2000).

En los últimos años se ha investigado hasta qué punto el consumo de sustancias antioxidantes contrarresten el papel de los radicales libres, así como su presencia en los alimentos. Sin embargo, los mecanismos antioxidantes y su interacción con los tejidos no han sido completamente elucidados (Doulis, *et al.*, 1997; May, *et al.*, 1998; Noctor, *et al.*, 1998). Así mismo, la literatura referente al impacto de prácticas agrícolas que

modifiquen los niveles de metabolitos secundarios en las plantas, como los antioxidantes es escasa (Asami, *et al.*, 2003).

Kalt y Kushad (2000) señalan que el aumento de los niveles de antioxidantes de la dieta de frutas y hortalizas en precosecha, es un área de gran interés y representa una oportunidad para los investigadores en el área agrícola y de alimentos; por otra parte Benavides *et al.* (2002) (citado por Rancaño, 2005) mencionan que es posible manipular los mecanismos de defensa de las plantas y los niveles de fitoquímicos antioxidantes específicos por medio de la ingeniería genética, la manipulación ambiental, o la aplicación exógena de evocadores químicos que actúan como señalizadores y promotores de oxidación controlada.

Considerando la importancia que el maíz tiene en la dieta de los mexicanos es necesaria la búsqueda de mecanismos que incrementen la capacidad y el contenido de antioxidantes de este alimento milenario. De lograrse esto se podrá contribuir al incremento del valor, nutricional y económico, del grano en los nichos de mercado en México y en el ámbito mundial, por lo anteriormente descrito, se planteó la realización del presente trabajo, cuyos objetivos son los siguientes:

## **Objetivo General**

Determinar el potencial antioxidante de los extractos de tejidos verdes de plantas de diez genotipos de maíz contrastantes en las características químicas del grano.

## **Objetivos Específicos**

- Obtener el rango de variación del potencial antioxidante en los genotipos evaluados.
- Evaluar el contenido nutricional de la planta de maíz.
- Correlacionar el valor de la capacidad antioxidante total de los tejidos verdes con la capacidad antirradical y el contenido de compuestos fenólicos del grano cosechado en campo.

## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### **Estrés Oxidativo**

El estrés oxidativo y la protección antioxidante, son de interés en agronomía, la ciencia de los alimentos y la medicina. El estrés oxidativo es un estado celular en el cual se encuentra alterada la homeostasis óxido-reducción intracelular, es decir el balance entre prooxidantes y antioxidantes. Este desbalance se produce a causa de una excesiva producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) y/o por deficiencia en los mecanismos antioxidantes, conduciendo a un daño celular.

Se ha estimado que aproximadamente un 2 por ciento del oxígeno consumido por un organismo normal formará ERO, de las cuales varias son radicales libres. Cuando la generación de ERO sobrepasa las barreras de defensa antioxidantes del organismo, se produce un daño por lesión química de las estructuras biológicas y a este proceso se le denomina estrés oxidativo. El daño oxidativo que estas especies pueden producir en las macromoléculas biológicas es de graves consecuencias. Reaccionan con lípidos, proteínas, carbohidratos y ADN en el interior de las células y con componentes de la matriz extracelular, por lo que pueden desencadenar un daño irreversible que si es muy extenso, puede llevar a la muerte celular.

## Especies reactivas del oxígeno

Las especies reactivas del oxígeno (ERO), como el radical anión súper oxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), el radical hidroxilo ( $OH^{\cdot}$ ) y el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) son productos universales del metabolismo aerobio.

En plantas, las ERO son generadas a velocidades significantes por reacciones intrínsecas a la fotosíntesis, fotorespiración, fosforilación oxidativa, oxidación de ácidos grasos y muchos otros tipos de oxidación (Alscher *et al.*, 1997).

En situaciones en que exista una mayor actividad metabólica, como en las etapas del crecimiento y desarrollo activo, o lesiones en el tejido vivo, ocurre una mayor demanda tisular de oxígeno y parte de este se metaboliza, generándose un alto número de sustancias oxidantes.

El peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) participa en el metabolismo celular y también tiene una función secundaria como señalizador en la regulación del crecimiento y desarrollo; así como en la respuesta al estrés (Foyer *et al.*, 1997). No obstante, el  $H_2O_2$  puede ser convertido, vía reacciones tipo Fenton a el peligroso radical hidroxilo, que ejerce efectos tóxicos dentro de la célula (Fridovich, 1986).

Existe un apropiado balance intracelular entre la generación de ERO y su eliminación en todas las células. Esta homeostasis oxido-



reducción, requiere la eficiente coordinación de reacciones entre los diferentes compartimentos celulares y esta es controlada por una compleja red de prooxidantes y antioxidantes. Los últimos incluyen antioxidantes no enzimáticos como el ascorbato, vitamina E, glutatión reducido y  $\beta$ -caroteno, y moléculas hidrofóbicas (carotenoides, tocoferoles y xantofilas), y enzimas detoxificadoras que operan en los diferentes organelos celulares (Noctor y Foyer, 1998). Estas enzimas incluyen a súperoxido dismutasas, catalasas y ascorbato peroxidasas. La actividad enzimática antioxidante ha sido usada como base para seleccionar poblaciones de maíz con resistencia a bajas temperaturas (Hodges *et al.*, 1997).

Según Foyer *et al.* (1997) incrementos en ERO son típicas respuestas de las plantas a estrés biótico y abiótico. Así mismo, las altas temperaturas pueden alterar el sistema integrado de antioxidantes, enzimáticos y no enzimáticos involucrados en la detoxificación de ERO.

Las especies reactivas del oxígeno, producen diversas acciones sobre el metabolismo de los principios inmediatos, que pueden ser el origen del daño celular si actúan:

1. Sobre los lípidos poliinsaturados de las membranas produciendo pérdida de fluidez y lisis celular como consecuencia de la peroxidación lipídica.

2. Sobre los glúcidos, alterando las funciones celulares como las asociadas a la actividad de las interleuquinas y la formación de prostaglandinas, hormonas y neurotransmisores.
3. Sobre las proteínas, produciendo inactivación y desnaturalización.
4. Sobre los ácidos nucleicos mediante la modificación de bases produciendo mutagénesis y carcinogénesis.

Por otra parte debe de tenerse en cuenta que los organismos vivos utilizan a los radicales libres para la destrucción de bacterias y patógenos invasores.

Para ser efectivos, los antioxidantes deben estar cerca de los sitios de producción de oxidantes y cerca de los sitios con riesgo de daño oxidativo. No obstante, el mecanismo antioxidante y sus complejas interacciones entre los tejidos no ha sido completamente elucidado (Doulis *et al.*, 1997).

### **Radicales Libres**

En los últimos años se ha registrado gran interés por los radicales libres (RL) y la función que cumplen en el organismo. Un radical libre es

cualquier especie química, con existencia propia y altamente reactiva, generada por las reacciones bioquímicas de oxidación-reducción que ocurren como parte del metabolismo celular normal, y por la exposición a contaminantes ambientales como luz ultravioleta y el humo de cigarro y que además contiene electrones desapareados en los orbitales que participan de los enlaces químicos; por lo tanto, cuando un orbital contiene un único electrón, se dice que ese electrón está desapareado.

Los radicales libres pueden ser formados tanto por la pérdida como por la ganancia de un electrón. En el primer caso se trata de una oxidación y en el segundo, de una reducción. También se forman radicales cuando se rompe la unión covalente entre dos átomos, de modo que los dos electrones que son compartidos por la unión se separan, y queda uno en cada átomo.

Sea cual fuere el mecanismo de la formación de un radical, el electrón en más o en menos, desestabiliza al átomo, ya que aumenta su contenido energético y lo torna muy reactivo. Como su tendencia espontánea es volver al estado de menor energía, cediendo o recibiendo electrones, reacciona rápidamente con otros átomos o moléculas que se encuentren cercanos a fin de alcanzar su estabilidad electroquímica (Finkel y Holbrook, 2000).

Las principales especies de radicales libres que se presentan en el cuerpo humano incluyen: radical súperoxido ( $\text{O}_2^-$ ), radical hidroxilo ( $\text{OH}^-$ ), radical oxido nítrico ( $\text{NO}^-$ ) y radical peroxilo ( $\text{ROO}^-$ ).

La vida media biológica del radical libre es de microsegundos, pero tiene la capacidad de reaccionar con todo lo que este a su alrededor provocando un gran daño a moléculas, membranas y tejidos.

### **Sistema de Defensa Antioxidante**

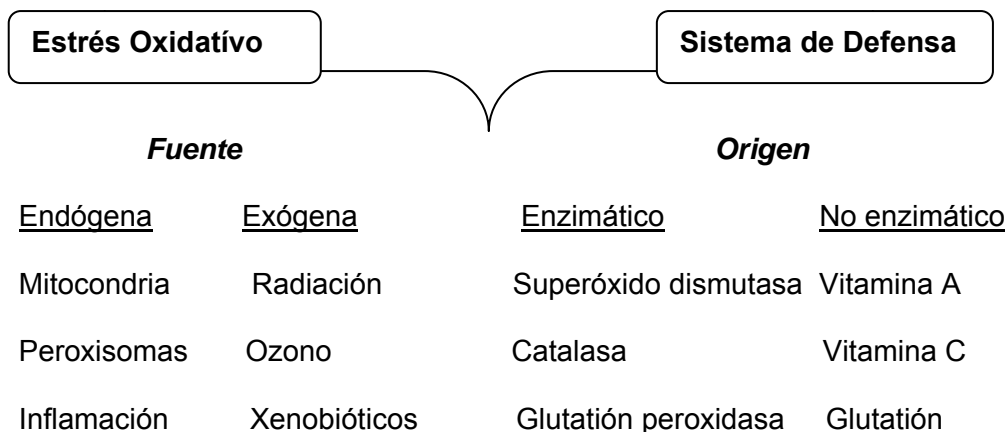
Las reacciones de oxidación son esenciales en los procesos metabólicos celulares. Dichas reacciones involucran la transferencia de electrones que producen RL. Esta situación es incompatible con la vida, a menos que existan en las células mecanismos de defensa que neutralicen los RL.

Para mantener un balance oxido-reducción, los organismos se protegen de la toxicidad de los agentes oxidantes de diferentes maneras, incluyendo el uso de antioxidantes (Figura 1).

A estas defensas se les denomina antioxidantes y se considera como tal a cualquier sustancia que en concentraciones normales posea una afinidad mayor que cualquier otra molécula para interactuar con un radical libre. El antioxidante al colisionar con él, le cede un electrón

oxidándose y transformándose en un radical libre débil no tóxico (Rodríguez *et al.*, 2003).

**Figura 1. Balance Oxido-Reducción.**



No todos los antioxidantes actúan de esta manera, los llamados enzimáticos catalizan o aceleran reacciones químicas que utilizan sustratos que reaccionan con los RL. De lo dicho anteriormente se deduce que los antioxidantes pueden ser enzimáticos o no. Estos se clasifican en endógenos (se encuentran en el organismos y son sintetizados por sus células) y exógenos (ingresan a través de la dieta) (Figura 2).

**Figura 2. Clasificación de los antioxidantes.**

<b>ANTIOXIDANTES</b>		
<b>Exógenos</b>	<b>Endógenos</b>	
	<b>Enzimáticos</b>	<b>No enzimáticos</b>
Vitamina C	Catalasa	Glutación
Vitamina E	Superóxido dismutasa	Coenzima Q
Flavonoides	Peroxidasas	Ácido tiótico

Existe una primera línea de defensa antioxidante constituida por enzimas y eliminadores de RL (Jacob, 1995).

Enzimas:

- La citocromo oxidasa está encargada de evitar la reducción univalente del oxígeno.
- La superóxido dismutasa está especializada en captar el radical anión superóxido mediante una dismutación y así convertirlo en peróxido de hidrógeno.
- Catalasa y peroxidasas (glutación peroxidasa y glutación reductasa) que neutralizan al  $H_2O_2$  y lo convierten en agua.

Eliminadores de RL:

- La vitamina E o tocoferol neutraliza al radical  $OH^\cdot$  por su ubicación en las membranas donde su protección es particularmente importante.
- La vitamina C, por su carácter reductor, reacciona rápidamente en el  $O_2^\cdot$  y con el  $OH^\cdot$ , también es captor del oxígeno singlete y del ion hipoclorito.
- El glutación, además de captar el  $H_2O_2$  como substrato de la glutación peroxidasa, también capta al  $O_2$  y al  $OH^\cdot$ .

- La transferrina y la ceruloplasmina son transportadoras de metales de transición, hierro y cobre respectivamente, que son generadores de RL.

Este sistema defensivo, no es totalmente efectivo, por lo que hay involucrada una segunda línea constituida por:

- Sistemas reparadores de biomoléculas que reparan el daño producido al ADN y que pudieran propiciar trastornos genéticos o cancerígenos.
- Sistemas eliminadores de componentes celulares oxidados como las macroproteinasas y las endonucleasas.

### **Evaluación de la Actividad Antioxidante**

Actualmente se requiere de la evaluación de la capacidad antioxidante para determinar la eficiencia de los antioxidantes naturales, en relación a la protección de productos vegetales contra el daño oxidativo y pérdida de su valor comercial y nutricional.

La búsqueda de métodos más específicos, que proporcionen una información química que sea directamente relacionada con el deterioro oxidativo de alimentos y muestras biológicas, podría ser el objeto de futuras investigaciones (Sánchez-Moreno, 2002).

Las características esenciales de cualquier prueba de evaluación de la capacidad antioxidante son un sustrato adecuado en el cual pueda ser monitoreada la inhibición de la oxidación, un iniciador de la oxidación (radical libre) y una adecuada medición del punto final de la oxidación, la que puede llevarse a cabo por métodos químicos, instrumentales o sensoriales (Arnao *et al.*, 1999; Robards *et al.*, 1999).

A pesar de la diversidad de métodos existentes para la evaluación de la actividad antioxidante, hay necesidad de estandarizarlos para diferentes productos y así obtener medidas comparables.

Prior *et al.* (2005) revisaron los métodos disponibles para medir actividad antioxidante sugiriendo tres ensayos para estandarizar su determinación, a saber, la capacidad de absorbancia del radical oxígeno (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*; ORAC) y la capacidad antioxidante equivalentes Trolox (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*; TEAC), que utilizan AAPH (2,2'-Azobis (2-amidino-propane) dihydrochloride) y ABTS (2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline- 6-sulfonic acid)) como generadores de radicales libres, respectivamente, y el método de Folin-Ciocalteu, cuyo fundamento está sustentado en una reacción de óxido-reducción, por lo que se considera una forma de medir actividad antioxidante en función del contenido de fenoles en productos vegetales.



El uso normal de Trolox, como un estándar permite al ensayo ser llamado TEAC; los resultados son expresados como equivalentes Trolox, que es la concentración de la solución Trolox (mmol/L) con un potencial antioxidante equivalente a 1.0 mmol/L de solución de la sustancia bajo investigación.

### **Métodos para la Evaluación de la Actividad Antioxidante Global**

Los trabajos publicados al respecto datan en su mayoría de finales de los años noventa. A continuación se expone una breve relación de ellos.

1. Ensayo TRAP (Total Radical-Trapping Parameter).
2. Captura del anión súper oxido.
3. Método del radical 2,2 -diphenil- 1- picrilhidracil (DPPH).
4. Ensayo FRAP, (Ferric-Reducing Antioxidant Power).
5. Método ORAC, (Oxygen Radical Absorbance Capacity).
6. Método del 3-etilbenzotiazoline-6-sulfonato (ABTS).
7. Método del n,n-dimetil-pfenilenddiamina (DMPD).
8. Método de la Capacidad Antioxidante Equivalente a Trolox TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity).

### **Método de la Capacidad Antioxidante Equivalente a Trolox.**

Este método es conocido como TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) o método ABTS. Se basa en la inhibición de la absorbancia del catión radical 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato) ( $ABTS^{\cdot+}$ ), el

cual tiene un espectro de absorción a una longitud de onda característica mostrando una absorción máxima principal a 415 nm, y una absorción máxima secundaria a 660, 734 y 820 nm. El método original se basó en la activación de metmioglobina, actuando como peroxidasa, con  $H_2O_2$  mediante la formación del radical ferrilmioglobina, el cual entonces oxida el compuesto fenotiazina ABTS, formando el catión radical  $ABTS^{\cdot+}$

El uso normal de Trolox, como un estándar permite al ensayo ser llamado TEAC; los resultados son expresados como equivalentes Trolox, que es la concentración de la solución Trolox (mmol/L) con un potencial antioxidante equivalente a 1.0 mmol/L de solución de la sustancia bajo investigación.

Ya que, el catión radical  $ABTS^{\cdot+}$  se puede disolver en un medio acuoso y en un medio de etanol acidificado este ensayo es capaz de probar la actividad antioxidante de compuestos hidrofílicos y lipofílicos. Este método se ha utilizado para evaluar los efectos antioxidantes en hortalizas y plantas medicinales chinas, en colectas de albahaca, y en frutos tropicales entre otros cultivos.

Estos ensayos difieren uno de otro en término de sustratos, pruebas, condiciones de reacción y métodos de cuantificación. Es extremadamente difícil comparar los resultados de diferentes ensayos.

Los antioxidantes pueden reducir radicales principalmente por dos mecanismos: transferencia de un electrón y transferencia de un átomo de hidrogeno. ABTS, FRAP y DPPH son métodos que cuantifican la transferencia de un electrón, y ORAC y TRAP cuantifican la transferencia de un átomo de hidrógeno.

### **Actividad Antioxidante en Vegetales**

La capacidad antioxidante celular está dada por mecanismos a través de los cuales la célula anula la reactividad y/o inhibe la generación de radicales libres (Tornalley y Vasak, 1985; Greenwald, 1990; Palamanda y Kerhrer, 1992). La capacidad antioxidante de una muestra depende de la naturaleza y concentración de los antioxidantes naturales presentes y así mismo de la interacción de este compuesto con otros, presentes en el alimento.

Varios estudios sobre la evaluación de la capacidad antioxidante en frutos han revelado aspectos interesantes en relación al comportamiento de los constituyentes antioxidantes. Eberhardht *et al.* (2000) en un estudio realizado en manzanas, demostraron que la vitamina C por sí sola aporta menos del 0.4 % de la actividad antioxidante total del fruto, sugiriendo que la mezcla compleja de antioxidantes en las frutas proporcionan beneficios sobre la salud, principalmente a través de la combinación de efectos aditivos y/o sinérgicos.

Cao *et al.* (1996) y Wang *et al.* (1996) realizaron estudios en frutas y hortalizas, demostrando que la mayor parte de la actividad antioxidante proviene principalmente del contenido de flavonoides y otros compuestos fenólicos.

La actividad antioxidante ha sido reportada (Wu *et al.*, 2004; Rivera-López *et al.*, 2005; Cuadro 1) como capacidad antioxidante total (CAT), que corresponde a la suma de antioxidantes lipofílicos (L-ORAC, L) y antioxidantes hidrofílicos (H-ORAC, H). Destacan entre estos frutos el mango y el plátano, con los valores más altos de CAT (10,02 y 8,79  $\mu\text{mol ET/g}$ , respectivamente).

**Cuadro 1. Constituyentes bioactivos presentes en frutos tropicales y su actividad antioxidante total (CAT).**

Fruto	Vitaminas		$\beta$ -caroteno ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )	Fenoles Totales (mg EAG/g)	ORAC		CAT ( $\mu\text{mol ET/g}$ )
	(mg/100g)				( $\mu\text{mol ET/g}$ )		
	C	E	L	H			
Plátano	8.7	0.10	26	2.31	0.66	8.13	8.79
Mango	27.7	1.12	445	2.66	0.14	9.88	10.02
Piña	16.9	-	31	1.74	0.29	7.64	7.93
Papaya	61.8	0.73	374	-	-	4.5	4.5

Fuente: Wu *et al.*, 2004; Rivera-López *et al.*, 2005. - No Disponible. Equivalentes Acido Gálico (EAG), Equivalentes Trolox (ET), Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC), Actividad Antioxidante Total (CAT).

Sin embargo, esta actividad antioxidante total *in vitro* no necesariamente refleja las condiciones fisiológicas celulares, ni considera la biodisponibilidad y metabolismo de sus componentes.

La capacidad antioxidante de frutas y hortalizas puede ser influenciada por factores genéticos, así como por el medio ambiente, Prior *et al.* (1998) encontraron diferencias de hasta 3.3 veces entre especies y cultivares de arándano y fresa. También encontraron diferencias de 2.6 y hasta 10 veces en la capacidad antioxidante entre cultivares de espinaca, pimiento verde y brócoli, respectivamente. Esta variabilidad entre hortalizas puede ser explicada por la influencia de la especie y el cultivar.

### **Los Antioxidantes en la Dieta**

Como ya se ha mencionado, en el organismo se produce un equilibrio entre oxidantes y antioxidantes, cuando este equilibrio se rompe a favor de los oxidantes, se produce el estrés oxidativo, el cual está implicado en muchos procesos fisiopatológicos (enfermedades, envejecimiento celular, etc.). Por lo tanto es de vital importancia el consumo de alimentos que contengan antioxidantes naturales y mantener así el equilibrio antes marcado, inclinándonos incluso a favor de los antioxidantes.

Además, si tenemos en cuenta, que durante la vida está presente este equilibrio pero que a medida que el individuo envejece dicho balance se vuelca a favor de los oxidantes, es de vital importancia el consumo de alimentos ricos en antioxidantes naturales para contrarrestar estos efectos (Cao *et al.*, 1998).

Es bien conocido que dietas ricas en frutas y vegetales son capaces de prevenir o disminuir el efecto de ciertas enfermedades crónicas degenerativas, incluidas las cardiovasculares y el cáncer.

Con esta idea en mente, muchos científicos han investigado las propiedades fitonutracéuticas de los productos agrícolas, específicamente se han centrado en su capacidad antioxidante natural.

Los antioxidantes naturales mas ampliamente estudiados son los flavonoides, polifenoles, carotenoides, fibra, vitaminas (A, B, C, E), tocoferoles, calcio y selenio. Estos compuestos y elementos pueden actuar independientemente o en combinación como agentes protectores mediante una variedad de mecanismos.

Estudios epidemiológicos demuestran que el consumo de frutas y hortalizas tiene un efecto protector en muchos pacientes que han sobrevivido a procesos patológicos, ya que han mostrado una relación inversamente proporcional entre el consumo de hortalizas y la incidencia de estos desórdenes (Ames *et al.*, 1993; Steinmetz y Potter, 1996; Ness y Powels, 1997; Joshipura *et al.*, 1999).

En uno de estos (Gey *et al.*, 1991) se determinó la cantidad de antioxidantes plasmáticos ( $\alpha$ -tocoferol, ascorbato, vitamina A, carotenoides y selenio) presentes en 16 poblaciones con cardiopatía

isquémica, observándose que la incidencia de mortalidad muestra una relación inversa con el nivel de tocoferol.

Actualmente se ha encontrado que muchos metabolitos secundarios sintetizados en las plantas, son una fuente de compuestos con capacidad antioxidante; tales como tocoferoles, carotenoides, flavonoides, y vitamina C entre otros. Por lo que recientemente se ha determinado el nivel de antioxidantes en frutas, hortalizas, especias, plantas medicinales, y en alimentos procesados (Prior y Cao, 2000; Tosun *et al.*, 2003). Sin embargo, la literatura referente al impacto de prácticas agrícolas que modifiquen los niveles de metabolitos secundarios en las plantas, como los antioxidantes es escasa (Asami *et al.*, 2003).

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### **Descripción del Sitio Experimental**

El presente trabajo de investigación se realizó en los túneles de invernadero del Departamento de Horticultura, en el Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas, en el Laboratorio de Citogenética, y en el Laboratorio de Nutrición y Alimentos de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” (UAAAN) ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, cuyas coordenadas geográficas son: 25° 22' latitud Norte y 101° 01' longitud Oeste del meridiano de Greenwich, a una altura de 1754 msnm.

#### **Materiales Utilizados**

##### **Material Vegetativo**

Se utilizaron diez genotipos (cruzas simples) de semilla de maíz (*Zea mays* L.):

Las líneas 15 y 17, pertenecen a una población enana; las líneas 41, 42 y 52 son consideradas líneas Quality Protein Maize (QPM), Población Azul (Pob Azul), y los genotipos: 102-38-1-2, 104-15-1-1 y 104-31-4-1, que son líneas S<sub>3</sub> derivadas de una población subtropical.



**Cuadro 2. Relación de genotipos de maíz utilizados en el estudio.**

<b>Entrada</b>	<b>Descripción</b>	<b>Origen</b>	<b>Color</b>	<b>Año</b>
1	15x41	Tepalcingo	Blanco	2005
2	15x42	Tepalcingo	Blanco	2005
3	15x52	Tepalcingo	Blanco	2005
4	17x41	Tepalcingo	Blanco	2005
5	17x42	Tepalcingo	Blanco	2005
6	17x52	Tepalcingo	Blanco	2005
7	Pob Azul	Celaya	Azul	2003
8	102-38-1-2	Tepalcingo	Amarillo	2006
9	104-15-1-1	Tepalcingo	Blanco	2006
10	104-31-4-1	Tepalcingo	Naranja	2006

### **ESTUDIO 1. Prueba de Germinación**

El establecimiento de esta prueba se realizó en el Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas.

Se colocaron 25 semillas de los genotipos (1, 2, 4, 7, 8, 9, 10) en papel anchor previamente humedecido, con tres repeticiones por cada uno. Se les cubrió con papel similar, se enrolló e identificó cada muestra, se colocaron en bolsas de plástico y se introdujeron en una cámara de germinación LAAB-LINE BIOTRONETT con una temperatura de 25 °C. La

duración de la prueba fue de 7 días. Contando las semillas germinadas al cuarto y séptimo día.

### **Variables Evaluadas**

- Porcentaje de germinación

Se realizó el conteo del número de semillas germinadas: al cuarto día denominándose primer conteo y, al séptimo día de inicio de la prueba. El resultado es reportado en porcentaje.

- Porcentaje de plántulas normales

Después del periodo de germinación que es de siete días, a través de un conteo se determino el porcentaje de plántulas normales, entendiendo a estas, como las plántulas que cuentan con potencial para desarrollarse en forma continua y convertirse en plantas satisfactorias cuando se les cultiva en suelo de buena calidad y en condiciones optimas (ISTA, 1985).

- Porcentaje de plántulas anormales

Se considera bajo esta denominación a las plántulas que no muestran el potencial de desarrollarse para convertirse en una planta normal cuando se les cultiva en suelos de buena calidad y en condiciones favorables de humedad, temperatura y luz. La determinación se realizo de manera visual (ISTA, 1985).

- Porcentaje de semillas sin germinar

Entran en esta clasificación aquellas semillas que no han logrado germinar al concluir el periodo de una prueba ordinaria de germinación (7 días) (ISTA, 1985), se determina mediante conteo visual.

- Longitud de plúmula

Se tomaron 10 plantas por repetición, las cuales fueron tomadas al azar, a estas se les midió la longitud de plúmula con una regla graduada, los datos obtenidos se reportan en centímetros, sacando el promedio.

- Longitud de radícula

Para esta variable se tomaron las mismas plántulas que se usaron para medir la variable anterior, pero en este caso se midió la longitud de radícula de cada una de las plantas con una regla graduada, los resultados se reportan en centímetros y enseguida se calcula el promedio.

- Peso seco de plántula

De igual manera en esta variable, las plántulas utilizadas para medir las variables de longitud de plúmula y radícula fueron usadas para esta determinación. Se colocaron dentro de una bolsa de papel estraza y después se llevaron a una estufa a 65 °C por 24 horas. Al cumplirse las 24 horas, las plántulas se sacaron de la estufa, se les separó de la bolsa y se pesaron, expresando los resultados en  $\text{gramos} \cdot \text{plántula}^{-1}$ .

## **ESTUDIO 2. Experimento Agronómico**

### **Siembra**

Esta actividad se llevó a cabo el día 26 de abril del año 2007, en los túneles del Departamento de Horticultura. Se colocaron 2 semillas (por cada uno de los genotipos) en cada maceta de plástico de 20 L, rellenas de sustrato Peat Moss más perlita (en proporción 3:1) humedecido, más 10 g de fertilizante 17-17-17 a cada una, previa identificación, contando con 17 repeticiones de cada genotipo. Con un espacio entre filas de macetas de 0.75 m y 0.5 m entre cada planta. Cuando las semillas germinaron se realizó el aclareo dejando 1 planta por maceta.

### **Mediciones Anatómicas**

Se realizaron cada semana a partir de la cuarta hoja. Para ello se eligieron al azar 5 plantas de cada genotipo. Con un flexómetro se midió la altura desde la base del tallo hasta el ápice de la hoja más larga. Mediante un vernier se registró el diámetro del tallo a una altura de tres centímetros de la base del tallo para evitar interferencia con la maceta, además de realizar un conteo del número de hojas en cada planta muestreada.

### **Conteo de Estomas y Células Tabloides**

Para este análisis se tomaron tres impresiones foliares mediante la técnica del esmalte (D'Ambrogio, 1986), que consistió en colocar una capa de esmalte de uñas transparente sobre la parte que se analizó (la parte media de la cuarta hoja totalmente extendida con dirección al Oriente), se deja secar unos segundos y con un trozo de cinta adhesiva se recoge la

impresión, esta es montada sobre un portaobjetos para su posterior análisis al microscopio.

Las impresiones se tomaron de la zona abaxial y adaxial en las hojas de dos plantas en uno de los muestreos realizados. Para realizar el conteo se empleó un microscopio con un aumento de 40X.

Para determinar la densidad estomática se calculó primero el diámetro del campo visual (ocular), para esto se dividió el diámetro del ocular entre el objetivo, (18X / 40X) el cual se utilizó para obtener el área. Se procede para transformar con un regla de tres para determinar el número de estomas por unidad de área ( $\text{mm}^2$ ). El diámetro del campo visual fue de 0.45 mm.

### **Biomasa**

Se realizaron 2 muestreos los días 16 y 28 de mayo, colectando 4 plantas por genotipo para su análisis.

- Peso fresco aéreo y raíz. Para cada muestreo las plantas fueron seleccionadas al azar, se lavaron las raíces para retirar el sustrato adherido a estas y se separó la parte aérea de la raíz para ser pesadas posteriormente por separado en una balanza analítica.
- Peso seco aéreo y raíz. Después de determinar el peso fresco de la parte aérea y de la raíz, las muestras se colocaron en papel de

estruza y se metieron a la estufa a secar a una temperatura de 60 °C por dos días, previamente secas se volvieron a pesar para obtener el peso seco.

### **Variables Evaluadas**

- Altura de planta, reportada en centímetros, desde la base del tallo hasta el ápice de la hoja más larga.
- Diámetro del tallo, reportado en milímetros.
- Número de hojas totalmente extendidas.
  
- Índice Estomático. Para esta variable se realizó el conteo de estomas y células tabloides colocando las láminas en un microscopio compuesto. Para calcular el total se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Índice Estomático} = \frac{\text{No. Estomas}}{\text{No. Estomas} + \text{Cel. Tabloides}} \times 100$$

- Densidad Estomática. La frecuencia o densidad estomática que es el número de estomas por unidad de área (mm<sup>2</sup>).

$$\text{Densidad Estomática} = \frac{\text{Número de Estomas}}{\text{Unidad de Área (mm}^2\text{)}}$$

- Peso fresco: aéreo, raíz y total de planta, reportado en gramos.
- Peso seco: aéreo, raíz y total de planta, reportado en gramos.

### **ESTUDIO 3. Experimento de Análisis Químicos**

#### **Determinación de la Capacidad Antioxidante Total**

La determinación de la concentración de antioxidantes se realizó mediante la utilización del kit “Total Antioxidant Status Kit Assay” (Calbiochem, San Diego, CA, USA) (Miller *et al.*, 1993), en el Laboratorio de Nutrición y Alimentos de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”.

Se colectaron 2 plantas (hojas) por genotipo en un muestreo realizado el 28 de mayo. Las muestras, se depositaron en bolsas de polietileno transparente de 20 X 30 cm previamente etiquetadas y se guardaron en un termo con hielo, para evitar el deterioro de la muestra. Posteriormente se trasladaron al laboratorio para su análisis.

En el laboratorio se pesaron 5 g de muestra, se colocaron en un mortero, previamente congelado, al que se le agregó 10 ml de buffer de fosfatos con pH = 7 y se molió vigorosamente. El extracto obtenido se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos.

Adicionalmente se utilizó un espectrofotómetro Leitz Modelo 340-800, con capacidad para medir absorbancia a 600 nm, una centrífuga Clay Adams Modelo 420225, un termo-baño Felisa<sup>®</sup> Modelo FE 373 para controlar la temperatura (a 37 °C). Para realizar el análisis de las muestras se prepararon los tres reactivos incluidos en el kit de la siguiente manera: al

cromógeno y al sustrato se le agregaron 10 ml y 7.5 ml de buffer con pH de 7.0 respectivamente; al estándar se le agregó 1 ml de agua destilada.

El espectrofotómetro se ajustó a 600 nm y el sustrato diluido ( $H_2O_2$ ) y el cromógeno se equilibraron a 37 ° C exactamente 5 minutos antes de usarse. Primero se preparó un blanco agregando 20  $\mu$ l de agua desionizada en una celda más 1 ml del cromógeno. En otra celda, se agregó 20  $\mu$ l del estándar (Trolox) más 1 ml de cromógeno, y se leyó la absorbancia inicial ( $A_0$ ) en ambas celdas. Posteriormente se analizaron los extractos de las hojas, colocando 20  $\mu$ l de extracto, más 1 ml de cromógeno para cada muestra, después se añadieron 200  $\mu$ l del sustrato ( $H_2O_2$ ) diluido a cada celda, se mezclaron bien y se tomó el tiempo de inicio simultáneamente. La absorbancia (A) se midió después de tres minutos del desarrollo de color.

Para calcular los niveles de antioxidante en las muestras se usó la concentración del estándar Trolox (1.87mM) de acuerdo al kit utilizado. Se determinó el gradiente de A para las muestras, el estándar y el blanco:  $\Delta A = A - A_0$ . Después se calculó la Capacidad Antioxidante Equivalente a Trolox (CAET) en cada muestra usando la fórmula siguiente:

$$\text{“CAET” (mM)} = \frac{1.87\text{mM} * (\Delta A \text{ del blanco} - \Delta A \text{ de la muestra})}{(\Delta A \text{ del blanco} - \Delta A \text{ del estándar})}$$

El resultado de cada muestra se expresó como mmol de Equivalente Trolox·g<sup>-1</sup> de peso fresco de muestra.



## **Análisis Bromatológico**

A fin de determinar el contenido nutricional de la planta de maíz (extracto etéreo, proteína cruda, fibra cruda, materia seca total y cenizas totales) mediante análisis proximal (AOAC, 1980) se tomaron las muestras obtenidas de la determinación de materia seca, cuantificación de azúcares totales por método colorimétrico (Dubois *et al.* 1956), y para el contenido de minerales por espectrofotometría de absorción atómica.

- **Determinación de Materia Seca Total**

Se colocaron crisoles en la estufa (Marca Thelco, modelo 27) a 105 °C por 12 horas, transcurrido este tiempo se sacaron los crisoles de la estufa y se colocaron en un desecador de 10-20 min hasta peso constante y en seguida se pesaron en la balanza analítica y se registró el peso. Posteriormente se le agregaron 2 g de muestra y se colocaron en la estufa por 24 horas, por último se peso el crisol con muestra (AOAC, 1980).

$$\% \text{ Materia Seca Total} = \frac{\text{Peso Crisol con Muestra Seca} - \text{Peso del Crisol Solo}}{\text{Peso de la Muestra}} \times 100$$

- **Determinación de Proteína Cruda (Método Macro Kjeldhal)**

Consistió en colocar 1 g de muestra seca y molida en un matraz Kjeldhal, se adicionó la mezcla de selenio (catalizador), 6 perlas de vidrio y 30 ml de ácido sulfúrico concentrado. Se colocó el matraz en el digestor Kjeldhal en la parrilla de calentamiento hasta que la muestra cambió de color café oscuro a verde claro (Sistema Kjeldhal, marca Labconco). Se permitió que la temperatura del matraz bajara a 30-35 °C, para continuar con

la metodología. Previamente en un matraz Erlenmeyer con 50 ml de ácido bórico, se añadieron 5 a 6 gotas de indicador mixto y se colocó la manguera de destilador dentro del matraz. Se agitó el matraz Kjeldhal con cuidado, se adicionó lentamente 110 ml de hidróxido de sodio al 45 % y 4 ó 5 granallas de zinc, con cuidado se llevó al aparato de destilación Kjeldhal y se recibe hasta 300 ml de solución en el matraz Erlenmeyer. La titulación se realizó con ácido sulfúrico 0.1 N (viraje a color rosa pálido) (AOAC, 1980).

$$\% \text{ N} = \frac{(\text{ml Gasto de Muestra} - \text{ml del Blanco}) (\text{Normalidad del Ácido}) (0.014)}{\text{g de Muestra}} \times 100$$

$$\% \text{ PC} = (\% \text{ N}) (6.25^*)$$

\*6.25 = factor para convertir el nitrógeno en proteína

- **Determinación del Extracto Etéreo**

Se determinó de acuerdo al método Soxleth, que consiste en la extracción de compuestos no polares por medio de calor.

Se colocaron en una estufa los matraces bola fondo plano con tres perlas de vidrio por 12 h, transcurrido este tiempo se sacaron de la estufa y se colocaron en un desecador de 10-20 min hasta peso constante. En un papel filtro se pesaron 4 g de muestra y se colocaron dentro de un dedal de celulosa. A los matraces bola, se les agregó 250 ml de solvente éter de petróleo y se colocaron con el sifón Soxleth por 5 h, se dejó enfriar, posteriormente se retiró el dedal con pinzas y se recuperó el solvente

excedente. Se colocaron los matraces en la estufa hasta peso constante, se sacaron, se enfriaron el desecador y se pesaron (AOAC, 1980).

$$\% \text{ Extracto etéreo} = \frac{\text{Peso del Matraz con Grasa} - \text{Peso del Matraz Solo}}{\text{g de Muestra Seca}} \times 100$$

- **Determinación de Fibra Cruda**

Se pesaron 2 g de muestra molida y desengrasada, se colocaron en un vaso de Bercellius, se agregó 100 ml de ácido sulfúrico al 25 %, se colocó el vaso en el digestor Labconco, y se abrió el sistema de enfriamiento, y se encendió la parrilla y se calentó a temperatura entre 80-90 °C. Cuando la muestra empezó a hervir se tomó el tiempo hasta 30 min. Se filtró la muestra sobre tela de lino y se lavó con agua caliente hasta quitar la reacción ácida. Se vació la muestra en el vaso de Bercellius agregando 100 ml de hidróxido de sodio al 25 % y cuando empezó hervir se dejó por 30 min., la muestra se retiró, filtró y lavó con agua caliente, hasta quitar reacción alcalina y se colocó la muestra en un crisol, dejándolo en la estufa durante 12 hrs. Se sacó el crisol, se enfrió y pesó, para colocarlo en la mufla durante 2 hrs y posteriormente enfriarlo y pesar nuevamente. Se pre incineró la muestra, se metio a la mufla por un tiempo de 3 hrs a 600 °C, se sacó y enfrió en un desecador durante 15 min y se pesó finalmente.

$$\% \text{ Fibra Cruda} = \frac{\text{Peso del Crisol con Muestra Seca} - \text{Peso del Crisol con Ceniza}}{\text{Peso de la Muestra}} \times 100$$

- **Determinación del Contenido de Cenizas Totales**

Se colocaron crisoles en la estufa (Marca Thelco, modelo 27) a 105 °C por 12 horas, transcurrido este tiempo se sacaron los crisoles de la estufa y se colocaron en un desecador de 10-20 min hasta peso constante y en seguida se pesaron en la balanza analítica y se registró el peso. Se pesaron 2 g de la muestra seca, y se llevó a preincinerar, posteriormente las muestras pre incineradas se colocaron en la mufla a 600 ° durante 2 h. Se retiraron, se enfriaron por 20 min en un desecador y se pesaron.

$$\% C = \frac{\text{Peso del Crisol con Ceniza} - \text{Peso del Crisol Solo}}{\text{g de Muestra}} \times 100$$

- **Método para Análisis del Contenido de Minerales Esenciales**

El contenido de nitrógeno en el extracto vegetal se analizó mediante el método Macro Khjeldal, el resto de los minerales serán analizados mediante espectrofotometría de absorción atómica.

#### Digestión de Muestras para Minerales Esenciales

Para realizar este procedimiento, las muestras vegetales fueron conservadas en una estufa calibrada a 55°C por 24 horas para la pérdida de humedad y trabajar con muestras secas. Con la finalidad de proceder a realizar los análisis respectivos de minerales como Potasio (K), Calcio (Ca), Cobre (Cu), Hierro (Fe) , Zinc (Zn), Magnesio (Mg), Manganeso (Mn), Boro (B), se realizó previamente la digestión de la muestra, para lo cuál se molió 1 g de tejido seco y se colocó en un vaso de precipitado de 50 ml, posteriormente se agregaron 10 ml de ácido perclórico al 70% y 30 ml de

ácido nítrico al 69% y se colocaron las muestras en una parrilla de calentamiento hasta asegurar que las muestras tomaran un color transparente y que ya no se observaran sólidos. Posteriormente, las muestras a temperatura ambiente, se filtraron y se aforaron con agua desionizada en un matraz de aforación de 100 ml, para realizar la toma de lecturas de cada uno de los minerales anteriormente mencionados.

En el caso del Nitrógeno, los datos se obtuvieron de la determinación de proteína.

- **Azúcares Totales**

Análisis realizados con muestras secas, empleando el método descrito por Dubois, M., Guilles, K. A. Hamilton, J. K, Rebers, P. A. y Smith, F. (1956). "Colorimetric method for determination of sugars and related substances".

**Cuadro 3. Curva para azúcares totales.<sup>+</sup>**

<b>Tubos</b>	0	1	2	3	4	5
<b>Solución Madre</b>	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1
<b>(Sacarosa)</b>						
<b>Agua Destilada</b>	1	0.8	0.6	0.4	0.2	0
<b>Fenol Sulfúrico</b>	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml

<sup>+</sup>Rango de la curva a 1 g/L, con sacarosa.

Se identificaron los tubos a utilizar según el cuadro anterior y se agregó para el caso del tubo cero: 0 ml de solución madre, 1 ml de agua destilada y 2 ml de fenol sulfúrico y así sucesivamente para los 5 tubos restantes de acuerdo a lo señalado, se puso en un baño de hielo para evitar que los azúcares se oxiden y/o que las muestras se quemen al agregar el fenol, y agua. En este baño se agregó el fenol sulfúrico dejándolo caer lentamente por las paredes para no quemar la muestra.

Para el análisis en seco, se tomó 1 g de muestra y se diluyó con 10 ml de H<sub>2</sub>O destilada, se agitó por 20 min. Posteriormente se filtró, recibiendo el filtrado en un baño con hielo, esto con la finalidad de evitar que los azucares se oxiden, y se tomó la muestra (1 ml).

En un baño con hielo se colocó un tubo, se adicionó 1 ml de muestra, se temperizó por 1 min. Enseguida se adicionaron 2 ml de fenol sulfúrico lentamente por las paredes del tubo. Se agitaron los tubos en el baño de hielo hasta la aparición de una coloración amarilla. Si es muy concentrado se va hasta color café, (si es muy intenso el color café se hace una dilución 1:50 ó 1:100). Se pusieron los tubos en baño María a ebullición por 5 min. Posteriormente se sacaron y enfriaron a temperatura ambiente. Las muestras se leyeron a 480 nanómetros en absorbancia.

**Reactivos:** Solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a una concentración de 1 mg/ml en fenol, debe usarse durante las 24 horas siguientes a la preparación (0.018 g de fenol en 18 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado).

## **Variables Evaluadas**

- Capacidad Antioxidante Total. El resultado de la determinación se expreso como mmol de Equivalentes Trolox·g<sup>-1</sup> de peso fresco de muestra.
- Contenido porcentual de: extracto etéreo, proteína cruda, fibra cruda, materia seca total y cenizas totales, cuantificación de azúcares totales expresados en g·L y el contenido de minerales expresado en % para el caso del Nitrógeno y en partes por millón (ppm) para los restantes.

## **Modelo Estadístico**

Se utilizó un modelo completamente al azar con el siguiente modelo lineal:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = Valor observado

$\mu$  = Efecto de la media general

$T_i$  = Efecto del i-ésimo genotipo

$\epsilon_{ij}$  = Error experimental

## **Análisis Estadístico**

Los datos obtenidos de la presente investigación fueron sometidos a análisis de varianza, utilizando el diseño completamente al azar, con diferente número de repeticiones dependiendo de la variable evaluada. También se realizaron pruebas de comparación de medias mediante la prueba de diferencia mínima significativa al nivel de significancia de 0.05 % de probabilidad para todas las variables evaluadas. Los análisis se realizaron utilizando el Paquete de Diseños Experimentales, Versión 2.5 de la Facultad de Agronomía, UANL (Olivares, 1994).



## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### ESTUDIO 1. Prueba de Germinación

##### Primer conteo (PC)

De acuerdo al análisis de varianza (ANVA), los tratamientos mostraron diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ). Los resultados de la comparación de medias, en base a la prueba de Diferencia Mínima Significativa (DMS) ( $P \leq 0.05$ ), muestran que el mejor tratamiento fue el genotipo 15x42 con un porcentaje de germinación de 66.66 %, seguido por el genotipo 102-38-1-2 con un porcentaje de 40.00 % y finalmente los genotipos 15x41, 17x41 y Pob Azul con un porcentaje de 30.66 %, 34.66 % y 26.00 % respectivamente (Cuadro 4, Apéndice 1).

##### Plántulas Normales (PN)

En el ANVA los tratamientos mostraron diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ). Los resultados de la comparación de medias, en base a prueba DMS ( $P \leq 0.05$ ), señalan como los mejores tratamientos al 104-15-1-1 y 104-31-4-1 con un porcentaje de plántulas normales de 94.66 % en ambos casos, el tratamiento 15x42 con promedio de 92.00 % y el 15x41 con promedio de 88.00 % (Cuadro 4, Apéndice 2).

Este dato es también tomado como porcentaje de germinación y de acuerdo a las normas de certificación publicadas por el [Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas \(SNICS\)](#), citado por Torres (2004) la germinación mínima es de 85 %, por lo que las semillas se encontraron dentro de los parámetros establecidos.

#### Plántulas Anormales (PA)

El ANVA muestra en los tratamientos diferencias no significativas ( $P > 0.05$ ). Los tres tratamientos con menor porcentaje de plántulas anormales son: 15x42 con 1.33 %, seguido por el tratamiento 102-38-1-2 y 104-31-4-1 con un promedio de 2.66 % en los dos casos (Cuadro 4).

#### Semillas sin Germinar (SSG)

De acuerdo al ANVA los tratamientos mostraron diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ). En base a los resultados de la comparación de medias, prueba DMS ( $P \leq 0.05$ ), se observa que el tratamiento con un mayor porcentaje de semillas sin germinar fue el 102-38-1-2 con 44.00 %, seguido por los tratamientos Pob Azul con un promedio de 20.00 % y el 17x41 que son estadísticamente iguales, y finalmente los tratamientos 15x41 y 15x42 con un promedio de 6.66 % en ambos casos, así como el 104-31-4-1 con 2.66 % y el 104-15-1-1 con 0.00 %, siendo los últimos cuatro genotipos estadísticamente iguales (Cuadro 4, Apéndice 3).

**Cuadro 4. Variables evaluadas en prueba de germinación en semillas de siete genotipos de maíz contrastantes.**

No.	Genotipo	PC (%)	PN (%)	PA (%)	SSG (%)
1	15x41	30.66 bc	88.00 a	5.33 a	6.66 c
2	15x42	66.66 a <sup>&amp;</sup>	92.00 a	1.33 a	6.66 c
3	17x41	34.66 bc	70.66 b	13.33 a	16.00 b
4	Pob Azul	26.00 bc	64.00 b	16.00 a	20.00 b
5	102-38-1-2	40.00 b	53.33 c	2.66 a	44.00 a
6	104-15-1-1	8.00 d	94.66 a	5.33 a	0.00 c
7	104-31-4-1	24.00 c	94.66 a	2.66 a	2.66 c
<b>ANVA</b>		**	**	NS	**
<b>C.V.</b>		25.56 %	6.27 %	107.36 %	37.03 %

<sup>&</sup>Los promedios seguidos por la misma literal son estadísticamente iguales, según DMS ( $P \leq 0.05$ ). Primer Conteo = PC, Plántulas Normales = PN, Plántulas Anormales = PA, Semillas Sin Germinar = SSG.

#### Longitud de Plúmula (LP)

De acuerdo al ANVA, los tratamientos no mostraron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ). Los valores medios de los genotipos indican que el mejor tratamiento fue el genotipo 102-38-1-2 con un promedio de 9.33 cm, seguido por el tratamiento 15x42 con un promedio de 9.07 cm y el tratamiento 104-31-4-1 con un promedio de 8.80 cm (Cuadro 5).

Este dato como indicativo de vigor enfatiza la superioridad de los genotipos 15x42 y 104-31-4-1 que obtuvieron un porcentaje de germinación superior al 92.00 %, plántulas normales, así como valores superiores de 0.05 g en peso seco de plántula. No obstante el genotipo 102-38-1-2 obtuvo el mayor valor de longitud de plúmula y de semillas sin germinar 44.00 %.

Un alto porcentaje de germinación, y un excelente vigor de plántula son características deseables de calidad de la semilla en cualquier cereal; ambas características permiten a una plántula tolerar mejor las enfermedades y le confieren una mayor fortaleza para emerger del suelo (Brar *et al.*, 1992), citado por Valadez *et al.* (2007). El vigor de plántula es una característica determinada por factores genéticos, pero influenciada por el ambiente (Anda y Pinter, 1994) citado por Valadez *et al.* (2007).

#### Longitud de Radícula (LR)

De acuerdo al ANVA, los tratamientos mostraron diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ). Los resultados de la comparación de medias, prueba DMS ( $P \leq 0.05$ ), indican que el mejor tratamiento fue el genotipo 104-15-1-1 con un promedio de 18.84 cm, seguido por el tratamiento 15x42 con un promedio de 17.29 cm, así mismo el tratamiento 104-31-4-1 con un promedio de 17.21 cm y el genotipo 102-38-1-2 con 17.17 cm, siendo los cuatro tratamientos estadísticamente iguales (Cuadro 5, Apéndice 4).

Layne (2007) en un estudio realizado con maíz, encontró que: las radículas más grandes se desarrollaron en plantas provenientes de las semillas más grandes. El tamaño de la semilla parece ser un factor de importancia ligado al proceso del crecimiento de las plántulas.

**Cuadro 5. Variables de vigor evaluadas en semillas de siete genotipos de maíz.**

No.	Genotipo	PFP (g)	PSP (g)	LPLU (cm)	LRAD (cm)
1	15x41	0.45 a <sup>&amp;</sup>	0.04 bcd	8.25 a	13.97 cd
2	15x42	0.55 a	0.05 ab	9.07 a	17.29 ab
3	17x41	0.42 a	0.04 cd	7.81 a	13.40 d
4	Pob Azul	0.44 a	0.04 d	7.69 a	15.49 bc
5	102-38-1-2	0.34 a	0.04 d	9.33 a	17.17 ab
6	104-15-1-1	0.62 a	0.06 a	7.98 a	18.84 a
7	104-31-4-1	0.34 a	0.05 bc	8.80 a	17.21 ab
<b>ANVA</b>		NS	**	NS	**
<b>C.V.</b>		24.44 %	13.55 %	32.25 %	20.93 %

<sup>&</sup>Los promedios seguidos por la misma literal son estadísticamente iguales, según DMS ( $P \leq 0.05$ ). Peso Fresco Plántula = PFP, Peso Seco Plántula = PSP, Longitud Plúmula = LPLU, Longitud Radícula = LRAD.

#### Peso Fresco de Plántula (PFP)

Para esta variable, el ANVA demostró que entre los tratamientos no existen diferencias significativas ( $P > 0.05$ ). No obstante, el tratamiento con mayor peso fresco de plántula fue el 104-15-1-1 con promedio de 0.62 g, seguido por el tratamiento 15x42 con un promedio de 0.55 g y el tratamiento 15x41 con promedio de 0.45 g (Cuadro 5).

#### Peso Seco de Plántula (PSP)

En el ANVA los tratamientos mostraron diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ). Los resultados de la comparación de medias, por medio de la prueba DMS ( $P \leq 0.05$ ), señalan que los mejores tratamientos fueron el 104-15-1-1 con un promedio de 0.06 g y el tratamiento 15x42 con un promedio de 0.05 g, siendo estadísticamente iguales, y el

tratamiento 104-31-4-1 con promedio de 0.05 g (Cuadro 5, Apéndice 5). Interpretándose a estos genotipos como de alto vigor, de acuerdo a los valores numéricos obtenidos, reafirmando de esta manera su alta calidad.

## **ESTUDIO 2. Experimento Agronómico**

### **Mediciones Anatómicas**

#### Primer Muestreo

##### Diámetro de Tallo (DT)

De acuerdo ANVA los tratamientos mostraron diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ). Los resultados de la comparación de medias, DMS ( $P \leq 0.05$ ), señalan como el mejor tratamientos al genotipo Pob Azul con un promedio de 18.76 mm, seguido por los tratamientos 17x42 con un promedio 17.26 mm y el 104-15-1-1 con un promedio de 17.10 mm (Cuadro 6a, Apéndice 6).

##### Altura de Planta (AP)

En el ANVA, los tratamientos mostraron diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ). La comparación de medias, DMS ( $P \leq 0.05$ ), señala como los mejores tratamientos a los genotipos: Pob Azul con promedio de 57.62 cm, 17x42 con 54.52 cm, 17x52 con promedio de 54.23 cm, siguiendo el 15x52 con 53.20 cm (Cuadro 6a, Apéndice 7).

## Número de Hojas (NH)

De acuerdo al ANVA los tratamientos mostraron diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ). Los resultados de la comparación de medias, en base a DMS ( $P \leq 0.05$ ), señala como mejores tratamientos al genotipo Pob Azul con un promedio de 5.00 hojas, al 104-15-1-1 con 5.00 hojas y el 104-31-4-1 con un promedio de 4.80 hojas (Cuadro 6a, Apéndice 8).

**Cuadro 6a. Morfología de las plantas de diez genotipos de maíz (Primer Muestreo).**

No.	Genotipo	DT (mm)	AP (cm)	NH
1	15x41	12.04 c	48.07 c	4.00 c
2	15x42	12.05 c	44.92 cd	4.40 b
3	15x52	13.88 c	53.20 ab	4.00 c
4	17x41	13.68 c	40.26 de	4.00 c
5	17x42	17.26 ab	54.52 a	4.40 b
6	17x52	15.16 bc	54.23 a	4.00 c
7	Pob Azul	18.76 a <sup>&amp;</sup>	57.62 a	5.00 a
8	102-38-1-2	12.70 c	39.28 e	4.00 c
9	104-15-1-1	17.10 ab	49.03 bc	5.00 a
10	104-31-4-1	14.40 bc	40.84 de	4.80 a
<b>ANVA</b>		**	**	**
<b>C.V.</b>		16.98 %	8.03 %	6.49 %

<sup>&</sup>Los promedios seguidos por la misma literal son estadísticamente iguales, según DMS ( $P \leq 0.05$ ). Diámetro Tallo = DT, Altura Planta = AP, Numero Hojas = NH.

## Segundo Muestreo

### Diámetro de Tallo (DT)

Según el ANVA, los tratamientos mostraron diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ). Los resultados de la comparación de medias, DMS ( $P \leq 0.05$ ), señalan como el mejor tratamiento al genotipo 104-15-1-1 con promedio de 28.92 mm y después el tratamiento 17x52 con promedio 25.17 mm, siendo estadísticamente iguales (Cuadro 6b, Apéndice 9).

**Cuadro 6b. Morfología de las plantas de diez genotipos de maíz (Segundo Muestreo).**

No.	Genotipo	DT (mm)	AP (cm)	NH
1	15x41	21.32 c	73.22 bcd	6.00 cde
2	15x42	21.03 c	72.95 bcd	6.40 bc
3	15x52	21.83 bc	86.86 a	5.60 e
4	17x41	22.86 bc	64.75 e	6.00 cde
5	17x42	20.45 c	78.01 b	6.40 bc
6	17x52	25.17 ab	93.37 a	5.80 de
7	Pob Azul	23.18 bc	88.97 a	6.80 ab
8	102-38-1-2	21.58 bc	67.95 de	6.20 cd
9	104-15-1-1	28.92 a <sup>&amp;</sup>	75.18 bc	7.00 a
10	104-31-4-1	21.12 c	70.30 cde	7.00 a
<b>ANVA</b>		**	**	**
<b>C.V.</b>		13.02 %	6.67 %	6.13 %

<sup>&</sup>Los promedios seguidos por la misma literal son estadísticamente iguales, según DMS ( $P \leq 0.05$ ). Diámetro Tallo = DT, Altura Planta = AP, Numero Hojas = NH.



### Altura de Planta (AP)

De acuerdo al análisis de varianza (ANVA) los tratamientos mostraron diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ). Los resultados de la comparación de medias, realizados con la prueba DMS ( $P \leq 0.05$ ), señalan que los mejores tratamientos fueron los tratamientos: 17x52 con un promedio 93.37 cm, Pob Azul con un promedio de 88.97 cm y el tratamiento 15x52 con un promedio de 86.86 cm (Cuadro 6b, Apéndice 10).

### Número de Hojas (NH)

De acuerdo al análisis de varianza (ANVA) los tratamientos mostraron diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ). Los resultados de la comparación de medias, DMS ( $P \leq 0.05$ ), corroboran como los mejores tratamientos a 104-15-1-1 con un promedio 7.00 hojas y al genotipo 104-31-4-1 con un promedio de 7.00 hojas, así como a Pob Azul con 6.80 hojas, siendo los tres estadísticamente iguales (Cuadro 6b, Apéndice 11).

### Índice Estomático Abaxial (IEAB)

Los tratamientos mostraron diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ), según muestra el ANVA. La comparación de medias, DMS ( $P \leq 0.05$ ), arroja como mejores tratamientos a Pob Azul con un promedio 25.45 % y al genotipo 15x42 con un porcentaje de 24.84 % (Cuadro 7, Apéndice 12).

**Cuadro 7. Densidad e índice estomático en plantas de diez genotipos de maíz.**

No.	Genotipo	IEAB (%)	IEAD (%)	ABDE (Estomas·mm <sup>-2</sup> )	ADDE (Estomas·mm <sup>-2</sup> )
1	15x41	23.17 abc	14.45 e	66.03 ab	39.48 b
2	15x42	24.84 ab	17.62 cd	61.84 abcd	46.82 ab
3	15x52	22.42 bcd	17.76 cd	54.48 d	39.48 b
4	17x41	23.90 abc	18.31 bc	65.19 ab	45.77 b
5	17x42	23.87 abc	17.19 cd	63.25 abc	43.32 b
6	17x52	22.94 abc	20.56 ab	58.16 bcd	46.82 ab
7	Pob Azul	25.45 a <sup>&amp;</sup>	20.79 a	63.59 abc	44.72 b
8	102-38-1-2	24.23 abc	18.31 bc	60.44 bcd	44.72 b
9	104-15-1-1	19.89 d	14.63 e	55.55 cd	39.83 b
10	104-31-4-1	21.78 cd	15.84 de	69.15 a	53.80 a
<b>ANVA</b>		**	**	*	**
<b>C.V.</b>		17.02 %	20.20 %	21.38 %	25.61 %

<sup>&</sup>Los promedios seguidos por la misma literal son estadísticamente iguales, según DMS (P≤0.05). Índice Estomático Abaxial = IEAB, Índice Estomático Adaxial = IEAD, Densidad Estomática Abaxial = ABDE, Densidad Estomática Adaxial = ADDE.

#### Índice Estomático Adaxial (IEAD)

De acuerdo al ANVA los tratamientos mostraron diferencias altamente significativas (P<0.01). Los resultados de la comparación de medias, en base a la prueba DMS (P≤0.05), señalan como los mejores tratamientos a Pob Azul con un promedio 20.79 % y al genotipo 15x52 con un porcentaje de 17.76 % (Cuadro 7, Apéndice 13).

#### Densidad Estomática Abaxial (ABDE)

De acuerdo al análisis de varianza (ANVA) los tratamientos mostraron diferencias significativas (P<0.05). Los resultados de la

comparación de medias, en base a la prueba DMS ( $P \leq 0.05$ ), señalan como los mejores tratamientos a 104-31-4-1 con un promedio 69.15 estomas·mm<sup>-2</sup>, al genotipo 15x41 con una media de 66.03 estomas·mm<sup>-2</sup> y al 17x41 con 65.19 estomas·mm<sup>-2</sup> (Cuadro 7, Apéndice 14).

#### Densidad Estomática Adaxial (ADDE)

De acuerdo al análisis de varianza (ANVA) los tratamientos mostraron diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ). La comparación de medias, en base a la prueba DMS ( $P \leq 0.05$ ), señala como los mejores tratamientos a 104-31-4-1 con 53.80 estomas·mm<sup>-2</sup> y a los genotipos 17x52 y 15x42, con valores de 46.82 estomas·mm<sup>-2</sup> en promedio cada tratamiento (Cuadro 7, Apéndice 15).

Los estomas son muy frecuentes en las partes verdes aéreas de las plantas, particularmente en las hojas (Esau, 1972). Generalmente cada milímetro cuadrado tiene unos 100 estomas, aunque el número puede ser 10 veces mayor y se han reportado cifras de 2230 (Howard, 1969) citado por Hernández (2005).

La frecuencia o densidad estomática que es el número de estomas por unidad de área (mm<sup>2</sup>), presenta una gran componente de variación ambiental, por lo que puede diferir entre plantas de la misma especie, entre hojas de la misma planta y entre sectores de la misma hoja (Esau, 1972).

En maíz, alfalfa y tomate la densidad estomática adaxial (haz) oscila entre 25 y 169, mientras que en la superficie abaxial (envés) los valores van de 23 a 203 estomas  $\text{mm}^{-2}$  (Verdugo *et al.*, 1999) citado por Hernández (2005). En otras especies como el manzano es posible encontrar valores superiores a 1,000 estomas  $\cdot\text{mm}^{-2}$  (Rodríguez-Aranda *et al.*, 2002) citado por Hernández (2005). Para el trigo (*Triticum aestivum*) se reportaron rangos de 84 a 132 y de 74 a 95 estomas  $\cdot\text{mm}^{-2}$ , adaxial y abaxial, respectivamente (Benavides *et al.*, 2003) citado por Hernández (2005).

Rojas y Rovalo (1979) reportan que en el área abaxial de la hoja de maíz se encuentran 89 estomas  $\cdot\text{mm}^{-2}$  y en el área adaxial 45 estomas  $\cdot\text{mm}^{-2}$ . Ramírez (2006), encontró un índice estomático de 15.5 % y 53.16 estomas  $\cdot\text{mm}^{-2}$  en el área adaxial, y un índice estomático de 16.21 % y 56.11 estomas  $\cdot\text{mm}^{-2}$  en el área abaxial.

Los valores para el índice estomático y densidad estomática, encontrados en esta investigación, se encuentran entre los rangos mencionados anteriormente.

## **Biomasa**

### Primer Muestreo

#### Peso Fresco Aéreo (PFA)

En el ANVA para esta variable, los tratamientos mostraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ). Los resultados de la comparación de medias, en base a la prueba DMS ( $P \leq 0.05$ ) arrojan que el mejor tratamiento fue el genotipo Pob Azul con un promedio 23.91 g, seguido por el tratamiento 17x52 con un promedio de 21.93 g y el tratamiento 104-15-1-1 con un promedio de 19.67 g (Cuadro 8a, Apéndice 16).

#### Peso Fresco Raíz (PFR)

De acuerdo al ANVA, los tratamientos no mostraron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ). El mejor tratamiento fue el genotipo 17x52 con un promedio de 6.85 g, seguido por el tratamiento 104-15-1-1 con un promedio 6.25 g, y el tratamiento 17x41 con un promedio de 5.05 g (Cuadro 8a).

#### Peso Fresco Total (PFT)

En el ANVA, para esta variable, los tratamientos no mostraron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ). Los resultados indican que el mejor tratamiento fue el genotipo Pob Azul con un promedio de 28.33 g, seguido por el tratamiento 104-15-1-1 con un promedio 25.93 g y el tratamiento 17x52 con un promedio de 25.60 g (Cuadro 8a).

**Cuadro 8a. Determinación de biomasa en plantas de diez genotipos de maíz (Primer Muestreo).**

No.	Genotipo	PFA (g)	PFR (g)	PFT (g)
1	15x41	17.18 abcd	4.43	21.62
2	15x42	11.61 d	3.56	15.17
3	15x52	17.65 abcd	6.85	24.51
4	17x41	18.59 abcd	5.05	23.65
5	17x42	16.34 bcd	3.45	19.80
6	17x52	21.93 ab	3.66	25.60
7	Pob Azul	23.91 a <sup>§</sup>	4.42	28.33
8	102-38-1-2	13.37 cd	4.26	17.63
9	104-15-1-1	19.67 abc	6.25	25.93
10	104-31-4-1	15.25 bcd	4.68	19.93
<b>ANVA</b>		*	NS	NS
<b>C.V.</b>		28.44 %	36.93 %	28.60 %

<sup>§</sup>Los promedios seguidos por la misma literal son estadísticamente iguales, según DMS ( $P \leq 0.05$ ). Peso Fresco Aéreo = PFA, Peso Fresco Raíz = PFR, Peso Fresco Total = PFT.

#### Peso Seco Aéreo (PSA)

De acuerdo al ANVA los tratamientos no mostraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ). Los resultados obtenidos muestran que el mejor tratamiento fue el genotipo Pob Azul con un promedio de 2.59 g, seguido por el tratamiento 104-15-1-1 con un promedio 2.55 g, y el tratamiento 17x52 con un promedio de 2.49 g (Cuadro 8b).

#### Peso Seco Raíz (PSR)

En esta variable, el ANVA no señala diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) para los tratamientos. Los resultados de la comparación de

medias, prueba DMS ( $P \leq 0.05$ ), indica como los mejores tratamientos, al genotipo 15x41 con un promedio de 0.82 g, al genotipo 15x52 con un promedio 0.80 g, y los tratamientos 104-15-1-1 con un promedio de 0.59 g y 17x41 con 0.58 g (Cuadro 8b).

**Cuadro 8b. Determinación de biomasa en plantas de diez genotipos de maíz (Primer Muestreo).**

No.	Genotipo	PSA (g)	PSR (g)	PST (g)
1	15x41	2.47	0.82 a <sup>&amp;</sup>	2.89
2	15x42	1.15	0.53 b	1.68
3	15x52	2.02	0.80 a	2.83
4	17x41	1.63	0.58 ab	2.22
5	17x42	1.75	0.41 b	2.24
6	17x52	2.49	0.43 b	2.93
7	Pob Azul	2.59	0.49 b	3.08
8	102-38-1-2	1.55	0.40 b	1.95
9	104-15-1-1	2.55	0.59 ab	3.14
10	104-31-4-1	2.14	0.51 b	2.65
<b>ANVA</b>		NS	*	NS
<b>C.V.</b>		33.61 %	31.84 %	28.62 %

<sup>&</sup> Los promedios seguidos por la misma literal son estadísticamente iguales, según DMS ( $P \leq 0.05$ ). Peso Seco Aéreo = PSA, Peso Seco Raíz = PSR, Peso Seco Total = PST.

#### Peso Seco Total (PST)

De acuerdo al ANVA los tratamientos no mostraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ). Los resultados de la comparación de medias, en base a DMS ( $P \leq 0.05$ ), nos muestra que el mejor tratamiento fue el genotipo 104-15-1-1 con un promedio de 3.14 g, seguido por el

tratamiento Pob Azul con un promedio 3.08 g, y el tratamiento 17x52 con un promedio de 2.93 g (Cuadro 8b).

### Segundo Muestreo

#### Peso Fresco Aéreo (PFA)

El ANVA muestra que entre los tratamientos existen diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ). Los resultados de la comparación de medias, en base a la prueba DMS ( $P \leq 0.05$ ), señala que los mejores tratamientos fueron el genotipo Pob Azul con un promedio 214.65 g y el tratamiento 17x52 con un promedio de 214.24 g, y el tratamiento 104-15-1-1 con un promedio de 199.63 g, siendo iguales estadísticamente (Cuadro 9a, Apéndice 17).

#### Peso Fresco Raíz (PFR)

En este ANVA los tratamientos mostraron diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ). La comparación de medias, prueba DMS ( $P \leq 0.05$ ), indica que los mejores tratamientos fueron el genotipo 17x41 con un promedio de 62.50 g y el tratamiento 15x52 con 57.31 g, seguidos por los tratamientos 17x42 y 104-15-1-1 con 55.49 g y 54.51 g respectivamente, no habiendo diferencias estadísticas entre los cuatro genotipos (Cuadro 9a, Apéndice 18).



## Peso Fresco Total (PFT)

De acuerdo al ANVA los tratamientos mostraron diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ). Los resultados de la comparación de medias, DMS ( $P \leq 0.05$ ), señalan que los tres mejores tratamientos fueron el genotipo 104-15-1-1 con promedio de 254.14 g, 17x52 con un promedio de 250.12 g y el tratamiento Pob Azul con un promedio 249.95 g, seguidos por 17x41 con 215.50 g y 17x42 con 214.30 g, siendo estadísticamente iguales los genotipos (Cuadro 9a, Apéndice 19).

**Cuadro 9a. Determinación de biomasa en plantas de diez genotipos de maíz (Segundo Muestreo).**

No.	Genotipo	PFA (g)	PFR (g)	PFT (g)
1	15x41	106.44 cde	44.78 abc	151.23 bcd
2	15x42	88.06 e	27.19 cd	115.25 d
3	15x52	149.77 bcd	57.31 a	207.08 abc
4	17x41	152.99 bcd	62.50 a	215.50 ab
5	17x42	158.80 abc	55.49 ab	214.30 ab
6	17x52	214.24 a <sup>&amp;</sup>	35.87 bcd	250.12 a
7	Pob Azul	214.65 a	35.30 bcd	249.95 a
8	102-38-1-2	126.75 cde	23.14 d	149.90 bcd
9	104-15-1-1	199.63 ab	54.51 ab	254.14 a
10	104-31-4-1	97.54 de	41.36 abcd	138.90 cd
<b>ANVA</b>		**	**	**
<b>C.V.</b>		25.86 %	33.62 %	25.88 %

<sup>&</sup>Los promedios seguidos por la misma literal son estadísticamente iguales, según DMS ( $P \leq 0.05$ ). Peso Fresco Aéreo = PFA, Peso Fresco Raíz = PFR, Peso Fresco Total = PFT.

## Peso Seco Aéreo (PSA)

Según el ANVA los tratamientos mostraron diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ). El análisis de la comparación de medias, con prueba DMS ( $P \leq 0.05$ ), indica que el mejor tratamiento fue el genotipo 17x52 con un promedio de 26.01 g, seguido por los tratamientos Pob Azul con 22.83 g y 104-15-1-1 con un promedio 21.04 g, siendo iguales estadísticamente (Cuadro 9b, Apéndice 20).

**Cuadro 9b. Determinación de biomasa en plantas de diez genotipos de maíz (segundo muestreo).**

No.	Genotipo	PSA (g)	PSR (g)	PST (g)
1	15x41	11.59 cd	3.81 abc	15.41 bcd
2	15x42	10.16 d	2.51cd	12.67 d
3	15x52	17.37 bc	4.55 ab	21.93 abc
4	17x41	18.89 b	4.42 abc	23.32 ab
5	17x42	17.40 bc	4.74 a	22.14 ab
6	17x52	26.01 a <sup>&amp;</sup>	3.48 abc	29.50 a
7	Pob Azul	22.83 ab	3.24 abcd	26.08 a
8	102-38-1-2	11.93 cd	1.48 d	13.42 d
9	104-15-1-1	21.04 ab	4.10 abc	26.65 a
10	104-31-4-1	10.58 d	2.64 bcd	13.98 cd
<b>ANVA</b>		**	*	**
<b>C.V.</b>		25.90 %	38.49 %	27.00 %

<sup>&</sup>Los promedios seguidos por la misma literal son estadísticamente iguales, según DMS ( $P \leq 0.05$ ). Peso Seco Aéreo = PSA, Peso Seco Raíz = PSR, Peso Seco Total = PST.

### Peso Seco Raíz (PSR)

De acuerdo al ANVA los tratamientos mostraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ). La comparación de medias, en base a la prueba DMS ( $P \leq 0.05$ ), detecto que el mejor tratamiento fue el genotipo 17x42 con un promedio de 4.74 g, seguido por el tratamiento 15x52 con un promedio 4.55 g (Cuadro 9b, Apéndice 21).

### Peso Seco Total (PST)

Para el ANVA, los tratamientos mostraron diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ). Los resultados de la comparación de medias, DMS ( $P \leq 0.05$ ), arrojan que los mejores tratamientos son el genotipo 17x52 con promedio de 29.50 g, el tratamiento 104-15-1-1 con promedio 26.65 g y el tratamiento Pob Azul con 26.08 g, seguidos por 17x41 y 17x42 con 23.42 g y 22.14 g respectivamente, siendo iguales estadísticamente los cinco genotipos (Cuadro 9b, Apéndice 22).

## **ESTUDIO 3. Experimento de Análisis Químicos**

### **Capacidad Antioxidante Total**

El ANVA no arrojó diferencias significativas ( $P > 0.05$ ). Los mejores tratamientos son los genotipos 102-38-1-2 y 104-15-1-1 con promedio de 0.09 CAET  $\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$  en ambos tratamientos, y los genotipos 17x42 y 104-31-4-1 con 0.08 CAET  $\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$  en ambos genotipos (Cuadro 10, Apéndice 23).

**Cuadro 10. Determinación de la capacidad antioxidante total en el extracto de plantas de diez genotipos de maíz.**

<b>No.</b>	<b>Genotipo</b>	<b>CAET mmol g<sup>-1</sup></b>
1	15x41	0.06 a <sup>&amp;</sup>
2	15x42	0.05 a
3	15x52	0.05 a
4	17x41	0.07 a
5	17x42	0.08 a
6	17x52	0.03 a
7	Pob Azul	0.06 a
8	102-38-1-2	0.09 a
9	104-15-1-1	0.09 a
10	104-31-4-1	0.08 a
<b>ANVA</b>		NS
<b>C.V.</b>		55.74 %

<sup>&</sup>Los promedios seguidos por la misma literal son estadísticamente iguales, según DMS (P≤0.05). Capacidad Antioxidante Equivalentes Trolox = CAET.

Los genotipos que mostraron mayor capacidad antioxidante total fueron, en orden decreciente, los amarillos (102-38-1-2), blancos (104-15-1-1), naranjas (104-31-4-1) y la población azul (Pob Azul).

Las células de las hojas de maíz tienen diferente capacidad de defensa antioxidante a temperaturas óptimas de crecimiento y esta diferencia es más pronunciada a temperaturas subóptimas (Doulis *et al.*, 1997). Dicha capacidad está dada por detoxificadores enzimáticos como glutatión reductasa, dehidroascorbato reductasa, ascorbato peroxidasa

(usa al ascorbato como donador de electrones para la reducción de  $\text{H}_2\text{O}_2$ ), súper óxido dismutasa (dismuta el  $\text{O}_2^-$  a  $\text{H}_2\text{O}_2$  y  $\text{O}_2$ ) y catalasa (en células fotosintéticas convierte a  $\text{H}_2\text{O}_2$  en  $\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{O}_2$ ), y detoxificadores no enzimáticos como: ascorbato, glutatión y moléculas hidrofóbicas (tocoferoles, carotenoides y xantófilas) (Noctor y Foyer, 1998).

En un estudio realizado con el objetivo de evaluar la capacidad antioxidante total de 24 alimentos convencionales y nueve propios de la región del Estado de Chiapas (Gutiérrez *et al*, 2007), se encontró que: los vegetales propios de la región, que manifestaron mayores valores de CAT fueron la calabacita con un valor de  $30.07 \text{ mmol g}^{-1}$ , más alto que el resto de los alimentos evaluados, lo que puede deberse al contenido de fotoquímicos, como los carotenoides y sustancias fenólicas. Otros vegetales que presentaron altos valores de poder antioxidante fueron: remolacha cruda en  $24.92 \text{ mmol g}^{-1}$ , el aguacate con 22.40, 21.42 para el berro, el chile con 19.15, la cebolla en 17.11 y 18.64  $\text{mmol g}^{-1}$  para la lechuga. La remolacha es rica en compuestos fenólicos particularmente antocianinas mientras el aguacate contiene vitamina E. Se concluye que los valores mayores de la CAT se obtuvieron en la calabacita, el betabel y el aguacate como vegetales tradicionales y en la verdolaga, la yerba buena, la jamaica y la chaya entre los alimentos regionales. Dentro de las frutas se destacaron, por sus valores de actividad antioxidante, la guayaba, la papaya, la manzana y la naranja.

Debido a que los antioxidantes han sido estudiados por una variedad de disciplinas desde la ciencia clínica hasta la ciencia de los polímeros, se ha generado una gran cantidad de métodos (de 25 a 100), lo que hace difícil comparar los resultados y crea una necesidad de estandarización de los mismos.

Sin embargo, los valores encontrados en esta investigación están en concordancia con la actividad antioxidante reportada por Wu *et al.* (2004), Rivera-López *et al.* (2005) y Gutiérrez *et al.* (2007) como capacidad antioxidante total (CAT), que corresponde a la suma de antioxidantes lipofílicos (L-ORAC, L) y antioxidantes hidrofílicos (H-ORAC, H). Destacan entre estos frutos el mango y el plátano, con los valores más altos de CAT (10,02 y 8,79  $\mu\text{mol ET/g}$ , respectivamente).

No obstante, esta actividad antioxidante total *in vitro* no necesariamente refleja las condiciones fisiológicas celulares, ni considera la biodisponibilidad y metabolismo de sus componentes.

### **Análisis Bromatológico**

Para la realización de este análisis, se molieron y mezclaron cuatro plantas de cada tratamiento. Debido al bajo peso de planta individualmente, no era posible analizarlas de esta manera, por lo que se realizó lo antes mencionado (cuatro plantas por tratamiento). Por lo tanto

los datos obtenidos, no se pueden analizar estadísticamente por no ser muestras reales.

Al realizar el cálculo del promedio de los valores obtenidos para las variables bromatológicas se observa que:

Para materia seca total (MST), el genotipo 17x52 mostró un promedio de 95.4 %, la Pob Azul 95.2 % y el 104-15-1-1 con 95.1 % (Cuadro 11, Apéndice 24).

En cuanto a proteína cruda (PC) los tres mejores genotipos son el 15x42 con promedio de 29.3 %, 17x52 con promedio 24.6 % y el 104-15-1-1 con 24.5 % (Cuadro 11, Apéndice 24).

Para extracto etéreo (EE), el genotipo 15x52 mostró un promedio de 3 %, 17x42 con 3 % y el 102-38-1-2 con 2.9 % (Cuadro 11, Apéndice 24).

Respecto a fibra cruda (FC), 15x52 mostró un promedio de 24.4 %, el 17x52 con 23.9 % y los genotipos 15x41, 17x42, 104-31-4-1 con 22.9 % (Cuadro 11, Apéndice 24).

En la determinación de cenizas totales (C), los mejores promedios los obtuvieron los genotipos: Pob Azul con 15.2 %, 17x52 y 15x42 con 14.9 % (Cuadro 11, Apéndice 24).

Los genotipos 104-31-4-1, 15x41 y 104-15-1-1 mostraron los valores más altos de azúcares totales (AT), con 1.0, 0.08 y 0.07 g/L (Cuadro 11, Apéndice 25).

**Cuadro 11. Calidad bromatológica de plantas de diez genotipos de maíz contrastantes.**

<b>Genotipo</b>	<b>M S T (%)</b>	<b>P C (%)</b>	<b>E E (%)</b>	<b>F C (%)</b>	<b>A T (g/L)</b>	<b>C (%)</b>
15x41	94.9	22.9	2.6	22.9	0.08	12.9
15x42	94.7	29.3	2.8	21.2	0.04	14.9
15x52	94.3	23.9	3.0	24.4	0.06	13.1
17x41	94.5	22.1	2.4	21.8	0.04	14.6
17x42	94.7	22.9	3.0	22.9	0.04	14.4
17x52	95.4	24.6	2.8	23.9	0.05	14.9
Pob Azul	95.2	24.1	3.2	22.4	0.05	15.2
102-38-1-2	95.0	22.0	2.9	21.2	0.04	13.8
104-15-1-1	95.1	24.5	2.7	19.2	0.07	13.7
104-31-4-1	94.9	24.4	3.0	22.9	0.10	13.4

Materia Seca Total = MST, Proteína Cruda = PC, Extracto Etéreo = EE, Azúcares Totales = AT, Cenizas = C. gramos/Litro = g/L.

En cuanto al contenido de minerales de las muestras analizadas para Nitrógeno (N), Potasio (K), Calcio (Ca), Magnesio (Mg), Manganeseo (Mn), Hierro (Fe), Cobre (Cu) y Zinc (Zn), los resultados se muestran en el Cuadro 12.

En un experimento llevado a cabo en la Estación Experimental "Alfredo Volio Mata" de la Universidad de Costa Rica (Amador y Boschini,



1999) con el objetivo de conocer el rendimiento de biomasa de la planta de maíz. En la hoja, la proteína cruda fue superior a 20% en los primeros 80 días y disminuyó paulatinamente hasta un 14% al final del periodo. El contenido de cenizas totales en el tallo fue superior a 22% en los primeros 80 días e inferior a 11 % después de los 120 días.

**Cuadro 12. Contenido de minerales de plantas de diez genotipos de maíz.**

<b>Genotipo</b>	<b>N (%)</b>	<b>K (ppm)</b>	<b>Ca (ppm)</b>	<b>Mg (ppm)</b>	<b>Mn (ppm)</b>	<b>Fe (ppm)</b>	<b>Cu (ppm)</b>	<b>Zn (ppm)</b>
15x41	3.8	28000	83.0	5000	95	225	1.5	75.0
15x42	3.4	26500	125.0	4500	160	215	3.5	95.0
15x52	3.2	24000	137.0	6500	165	460	2.0	115.0
17x41	3.6	15500	114.0	2000	50	575	28.0	275.0
17x42	3.7	28000	122.5	3500	150	290	6.5	335.0
17x52	4.0	23500	161.5	5000	205	550	7.5	190.0
Pob Azul	3.5	27500	159.5	5000	170	280	9.0	235.0
102-38-1-2	4.0	23500	261.0	5000	175	270	18.0	125.0
104-15-1-1	3.3	29500	127.5	4500	115	335	9.0	140.0
104-31-4-1	3.7	20500	107.0	3500	80	245	11.0	105.0

Nitrógeno = N, Potasio = K, Calcio = Ca, Magnesio = Mg, Manganeso = Mn, Hierro = Fe, Cobre = Cu, Zinc = Zn. Partes por Millón = ppm.

Hernández (1994) reporta un contenido de 1.9 % de extracto etéreo, 26.83 % de fibra cruda y 13.3 % de cenizas, determinadas en un análisis de la calidad nutritiva del maíz como forraje verde y ensilado.

Espinoza *et al.* (2004) analizando mediante análisis bromatológico de la parte aérea de maíz hidropónico como alimento para ganado

vacuno, determinó 7.39 % de extracto etéreo y 33.54 % de proteína cruda.

La concentración de nitrógeno en las hojas del maíz tropical tiende a ser baja generalmente del 1-4% (Pearson y Hall, 1984) comparado con los cereales como el trigo. La eficiencia del uso del nitrógeno en la fotosíntesis es mayor en el maíz de modo que una comparativamente baja concentración intrínseca no limita la productividad relativa a otros cultivos; a niveles subóptimos de abastecimiento de nitrógeno la eficiencia de conversión es seriamente afectada.

Los valores determinados en este trabajo para materia seca total, proteína cruda, extracto etéreo, fibra cruda, cenizas totales y azúcares totales, se encuentran dentro de las medias encontradas en trabajos similares.

Justafresa (1974) citado por Hernández (1994) menciona que el maíz es uno de los forrajes más interesantes para el ganado, pues su valor nutritivo no únicamente esta en el tallo, sino también en el grano; valor nutritivo que, aumenta o disminuye según el estadio o etapa de desarrollo en que se encuentre la planta al momento de ser cortada.

De Alba (1979) citado por Hernández (1994) reporta como las causas de diferencia entre los valores nutricionales de los alimentos y forrajes que sobresalen a: el estado de desarrollo del cultivo al momento

del corte, la influencia de factores genéticos y ambientales, el método de análisis usado y el trato dado a la muestra antes y dentro del laboratorio.

### **Análisis de Correlación**

El análisis de correlación, entre la capacidad antioxidante total en planta (CATP) y el contenido de compuestos fenólicos obtenido a partir del grano (CFG) arrojó, de acuerdo al coeficiente de correlación de Pearson, un índice de -0.19126. En cuanto a la correlación entre la CATP y la capacidad antirradical en grano (CAG), se obtuvo un índice de 0.31324; así mismo, para la relación entre CFG y CAG, el índice de correlación fue de -0.35156. Siendo los valores obtenidos no significativos en todos los casos (Cuadro 13).

**Cuadro 13. Correlación entre la capacidad antioxidante total en planta y, actividad antioxidante y compuestos fenolicos, determinados en grano de maíz.**

	<b>(CATP)</b>	<b>(CFG)</b>	<b>(CAG)</b>
<b>(CATP)</b>	1.0000	-0.19126	0.31325
<b>(CFG)</b>	-0.19126	1.0000	-0.35156
<b>(CAG)</b>	0.31325	-0.35156	1.0000
	0.5515	0.5515*	0.3215*
	0.3215	0.2625	0.2625*

\* No Significativo. Capacidad Antioxidante Total en Planta = CATP, Compuestos Fenólicos Grano = CFG, Capacidad Antirradical Grano = CAG.

En los extractos de plantas, se encontró como los genotipos con más altos valores de capacidad antioxidante a: 102-38-1-2 y 104-15-1-1 con promedio de 0.09 CAET  $\text{mmol g}^{-1}$ , y a los genotipos 17x42 y 104-31-4-1 con 0.08 CAET  $\text{mmol g}^{-1}$ . Los genotipos que mostraron mayor capacidad antioxidante total fueron, en orden decreciente, los amarillos (102-38-1-2), blancos (104-15-1-1), naranjas (104-31-4-1) y la población azul (Pob Azul).

En un estudio realizado previamente en grano de maíz por Hernández (2007) se dedujo que la cantidad de compuestos fenólicos totales presentes en las muestras de maíz no está relacionada de manera directa con la actividad antioxidante y el contenido de antocianinas ( $r = -0.028$  y  $r = 0.071$ , respectivamente), mientras que para la capacidad antioxidante y el contenido de antocianinas existe una correlación de  $r = 0.612$ . Señala además, que los compuestos fenólicos, las antocianinas y la actividad antioxidante lograron diferenciar a los materiales genéticos con base en su composición química y características del grano de maíz.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES

En base a los objetivos planteados y a los resultados obtenidos de la presente investigación, se originan las siguientes conclusiones:

- Se determinó el potencial antioxidante de los extractos de las plantas de maíz, obteniéndose que los genotipos 102-38-1-2 y 104-15-1-1 son las muestras con mayor capacidad antioxidante total, expresado en equivalentes Trolox, con  $0.09 \text{ mmol g}^{-1}$ .
- Se obtuvo el rango de variación para la capacidad antioxidante total, equivalente a Trolox, de los extractos de las plantas de maíz en los genotipos estudiados, presentando valores mínimos de  $0.03 \text{ mmol g}^{-1}$  en el genotipo 17x52, y máximos de  $0.09 \text{ mmol g}^{-1}$ , valor obtenido por los genotipos 102-38-1-2 y 104-15-1-1.
- Se evaluó el contenido nutricional de la planta mostrando valores para materia seca total de 95.4 %, proteína cruda 29.3 %, extracto etéreo 3 %, fibra cruda 24.4 %, cenizas totales 15.2 % y azúcares totales 1.0 g/L.

- Se correlacionó el valor de la capacidad antioxidante total (equivalente a Trolox) de los extractos de las plantas de maíz (CATP), con el contenido de compuestos fenólicos (CFG) y la capacidad antirradical (CAG), ambas determinadas en el grano, para lo cual se encontraron índices de Pearson para las relaciones: CATP – CFG de -0.19126, para CATP – CAG de 0.31325 y en CFG – CAG de -0.35156; siendo no significativos en todos los casos.

## CAPÍTULO VI

### LITERATURA CITADA

Alscher, R. G. Donahue, J. L. Cramer, C. L. 1997. Reactive Oxygen Species and Antioxidants: Relationships in Green Cells. *Physiol. Plant.* 100:24-233.

Amador, A. L. y Boschini, C. 1999. Fenología Productiva y Nutricional de la Planta de Maiz Cultivada para la producción de Forraje. XI congreso nacional agronomico. Costa Rica. Disponible On Line: Junio 2007. [http://www.mag.go.cr/congreso\\_agronomico\\_XI/a50-6907-III\\_560.pdf](http://www.mag.go.cr/congreso_agronomico_XI/a50-6907-III_560.pdf)

Ames, B. M. Shigena, M.K. Hagen, T.M. 1993. Oxidants, Antioxidants and the Degenerative Disease of Aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 7915-7922.

Arnao, M. B. Cano A. Acosta, M. 1999. Methods to Measure the Antioxidant Activity in Plant Material. A Comparative Discussion. *Free Radical Res.* 31: 589-596.

Asami, K. D. Hong, Y. J., Barrett, D. M., Mitchel, A. E. 2003. Comparison of the Total Phenolic and Ascorbic Acid Content of Freeze-Dried and Air-Dried Marionberry, Strawberry, and Corn Grow Using Conventional, Organic, and Sustainable Agricultural Practices. *J. Agric. Food Chem.* 51: 1237-1241.

Association of Official Agricultural Chemists (AOAC.). 1980. Official Methods of Analysis. 13Th Ed. A. O. A. C., Washigton. 1018, Pp.

Cao, G., Prior, R. L. 1998. Comparison of Different Analytical Methods for Assessing Total Antioxidant Capacity of Human Serum. *Clinical Chemistry* 44(6): 1309-1315.

Cao, G., Sofic E, Prior, R. L. 1996. Antioxidant Capacity of Tea and Common Vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 44: 3426-3431.

D'Ambrogio, A. 1986. *Manual de Técnicas en Histología Vegetal*, Ed Hemisferio Sur. Buenos Aires, 86 pp.

Doulis, A. G., Debin, N., Kingston – Smith, A. H., Foyer, C. H. 1997. Differential Localization of Antioxidants in Maize Leaves. *Plant Physiology*. 114:1031-1037.

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., Smith, F. 1956. Calorimetric Method For Determination Of Sugars And Related Substances. *Analyt. Chim.*, 28: 350-356.

Eberhardt, M. V., Lee, C. Y., Liu, R. H. 2000. Antioxidant activity of fresh apples. *Nature* 405: 903-904.

Esau, K. *Anatomía Vegetal*. 1972. Segunda Edición, Ediciones Omega S.A. Barcelona, España. Pp. 179-181

Espinoza, F. *et al.* 2004. Uso del Forraje de Maíz (*Zea Mays*) Hidropónico en la Alimentación de Toretos Mestizos. *Zootecnia Trop.*, 22(4):303-315.

Finkel, T., Holbrook, N. J. 2000. Oxidants, Oxidative Stress and the Biology of Ageing. *Nature*. 408: 239-247.

Foyer, C. H., Lopez-Delgado, H., Dat, J. F., Scott, I. M. 1997. Hydrogen Peroxide and Glutathione–Associated Mechanisms of Acclimatory Stress Tolerance and Signalling. *Physiol. Plant.* 100:241-254.



Fridovich, I. 1986. Biological Effects of the Superoxide Radical. Arch. Biochem. Biophys. 247: 1-11.

Gey KF, *et al.* 1991. Inverse Correlation between Plasma Vitamin E and Mortality form Ischemic Heart Disease in Cross-Cultural Epidemiology. Am J Clin Nutr. 53:326S-34S.

Greenwald, R. 1990. Current Approaches to the Development of Oxygen Radical Scavengers. Drugs of Today. 26, pp. 299-307.

Gutierrez Z., Á., Ledesma R., Luis, Garcia G., I. *et al.* 2007. Capacidad Antioxidante Total en Alimentos Convencionales y Regionales de Chiapas, México. Rev Cubana Salud Pública. Ene.-Mar., vol.33, no.1 [Consultado Noviembre 2007]. ISSN 0864-3466. Disponible [On line]: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-34662007000100008&lng=es&nrm=iso](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-34662007000100008&lng=es&nrm=iso).

Gutteridge, J., Halliwell, B. 1999. Reactive Oxygen Species in Biological Systems, Pp. 189 – 218. New York, USA: D.L. Gilbert and C.A. Colton, Eds.

Hernandez, C. J. 1994. Determinación de la Calidad Nutritiva de Girasol (*Heliantus Annuus* L), Maiz (*Zea Mays* L.), y Sorgo (*Sorghum Vulgare* Pers.) como Forraje Verde y Ensilaje. Tesis Licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México.

Hernández, R. V. M. 2007. Determinación de fenoles y la actividad antioxidante de 39 genotipos de maíz. Tesis licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México.

Hernandez, V. R. E. M. *et al.* 2005. Micronorfología de la Epidermis Foliar de Plantas Sanas y Enfermas de *Agave tequilana* (Weber). Tesis Doctoral. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México.

Hodges DM, Andrews CJ, Johnson DA, Hamilton RI.1997. Antioxidant Enzyme Responses to Chilling Stress in Differentially Sensitive Inbred Maize Lines. *Journal of Experimental Botany* 48, 1105–1113.

International Seed Testing Association (ISTA). 1985. International Rules for Seed Testing. *Seed Sci. & Technol.*, 13: 299 – 355.

Jacob, R. A. 1995. The Integrated Autoxidant System. *Nutr Res.* 1995.15:755 - 766.

Joshiyura, K. J., Ascherio, A., Manson, J. E., Stampfer, M. J., Rimm, E. B., Speizer, F. E., Hennekens, Ch., Spiegelman, D., Willet, W. C. 1999. Fruit and Vegetable Intake in Relation to Risk of Ischemic Stroke. *J. Amer. Med. Assn.* 282 (13): 1233-1239.

Kalt, W.; Kushad, M. M. 2000. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Plants and Human Health: Introduction to the Colloquium. *Hort Science.* 35 (4): 572.

Layne-Garsaball, José A.; Méndez-Natera, Jesús Rafael; Mayz-Figueroa, Juliana. 2007. Influence of Corn (*Zea Mays L.*) Seed Size on Seedling Growth under Saline Conditions. ISSN 0718-3429. *Idesia (Chile)* Vol. 25, N° 2; 23-35, Octubre 2007. Versión On-Line: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0718-34292007000200004&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-34292007000200004&lng=es&nrm=iso).

May MJ, Vernoux T, Leaver C, Van Montagu M, Inzé D. 1998. Glutathione Homeostasis in Plants: Implications for Environmental Sensing and Plant Development. *J Exp Bot* 49: 649-667

Miller, N. J.; Rice-Evans, C.; Davies, M. J.; Gopinathan, V.; Milner, A. 1993. A Novel Method for Measuring Antioxidant Capacity and Its

Application to Monitoring the Antioxidant Status in Premature Neonates. *Clinical Science* 84(4): 407-412.

Ness, A. R., Powels, J. W. 1997. Fruit and Vegetables, and Cardiovascular Disease: A Review. *Inter. J. Epidemiol.* 26(1): 1-13.

Noctor, G., Arisi, A. C. M., Jouanin, L., Kunert, K. J., Rennenberg, H., Foyer, C. H. 1998. Glutathione: Biosynthesis, Metabolism and Relationship to Stress Tolerance Explored in Transgenic Plants. *J Exp Bot* 49: 623-647

Noctor, G., Foyer, C. H. 1998. Ascorbate and Glutathione: Keeping Active Oxygen under Control. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49: 249-279.

Olivares Saenz, Emilio. 1994. Paquete de Diseños Experimentales, FAUANL. Versión 2.5. Facultad de Agronomía, UANL. Marín, NL. Mexico.

Palamada, J. y Kehrer, J. 1992. Inhibition of Protein Carbonyl Formation and Lipid Peroxidation by Glutathione in Rat Liver Microsomes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 293 pp. 103-109.

Pearson, C.J. & Hall, A.J. 1984. Maize and Pearl Millet. *In* C.J. Pearson, Ed. *Control of Crop Productivity*, P. 141-158. New York, NY, USA. Academia Press. On line: Octubre, 2007. <http://www.fao.org/DOCREP/003/X7650S/x7650s05.htm>.

Prior, R. L., Cao, G. 2000. Antioxidant Phytochemicals in Fruits and Vegetables: Diet and Health Implications. *Hortscience*. 35(4): 588-591.

Prior, R. L., Cao, G., Martin, A., Sofic, E., McEwen, J., O'Brien, C., Lischner, N., Ehlenfeldt, M., Kalt, W., Krewer, G., Mainland, C. M. 1998. Antioxidant Capacity As Influenced By Total Phenolic and Anthocyanin

Content, Maturity and Variety of Vaccinium Species. *J. Agr. Food Chem.* 46: 2686-2693.

Prior, R. L., Wu, X., Schaich, K. 2005. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *J. Agric. Food Chem.* 53: 4290-4302.

Ramirez, V. G. G. 2006. Efecto de la Irradiacion Laser y Salinidad sobre el Crecimiento y Contenido de Nutrientes en Maiz (*Zea Mays*). Tesis Licenciatura. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, Mexico.

Rancaño, A. H. 2005. Influencia de Señalizadores de Estres en Hortalizas y su Relacion con Antioxidantes. Tesis Maestria. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, Mexico.

Rivera López, J., Vázquez Ortiz, F., Ayala Zavala, F., Sotelo Mundo, R., González Aguilar, G. 2005. Cutting Shape and Storage Temperature Affect Overall Quality of Fresh-Cut Papaya Cv. "Maradol". *J. Food Sci.* 70: 482-489.

Robards, K., Prenzler, P. D., Tucker, G., Swatsitang, P., Glover, W. 1999. Phenolic Compounds and Their Role in Oxidative Processes in Fruits. *Food Chem.* 66: 401-436.

Rodríguez Carrasco, Bárbara B. 2003. Estrés Oxidativo y Sistema de Defensa Antioxidante. *Revista de Ciencias Médicas. La Habana.* 9 (2).

Rojas, M. y M. Rovalo. 1979. *Fisiología Vegetal Aplicada.* Mc Graw-Hill de México, S.A. de C.V. México, D.F.

Sánchez Moreno, C. 2002. Review: Methods Used To Evaluate The Free Radical Scavenging Activity In Foods And Biological Systems. *Food Sci. Tech. Int.* 8: 121-137.

Steinmetz, K. A., Potter, J. D. 1996. Vegetables, Fruit, and Cancer Prevention: A Review. *J Am Diet Assoc.* 96(10):1027-39.

Thornalley, P. J., Vasak, M. 1985. Possible Role for Metallothionein in Protection against Radiation-Induced Oxidative Stress. Kinetics and Mechanism of Its Reaction with Super Oxide and Hydroxide Radicals. *Biochimica et Biophysica Acta* 827, pp 36-44.

Torres, T. M. A. 2004. Identificación y Cuantificación de Proteínas en Semillas de Maíz Relacionadas con Germinación y Vigor. Tesis Maestría. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, Mexico.

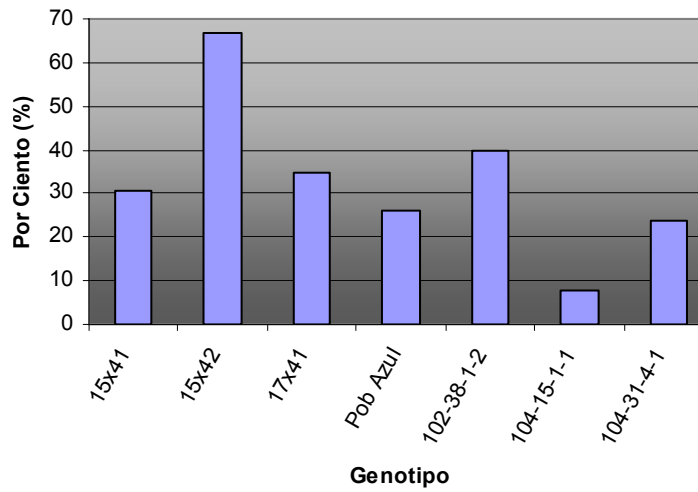
Tosun, I., Ustun, N. S. 2003. An Investigation about Antioxidant Capacity of Fruit Nectars. *Pakistan. Journal of Nutrition* 2(3):167-169.

Valadez, G. J. Et Al. 2007. Seed Sizes, Invigorization Substances, And Vigor Tests In Cold Tolerant Sorghums. *Agrociencia* 41: 169-179.

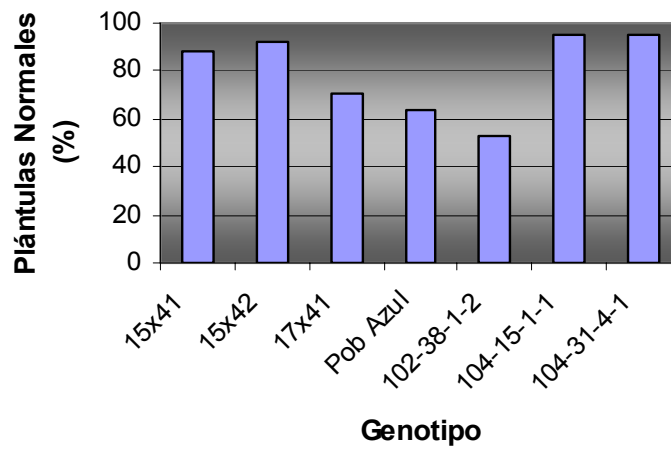
Wang, H., Cao, G., Prior, R. L. 1996. Total Antioxidant Capacity of Fruits. *J. Agric. Food Chem.* 44: 701-705.

Wu, X., Beecher, G. R., Holden, J. M., Haytowitz, D. B., Gebhardt, S. E., Prior, R. L. 2004. Lipophilic and Hydrophilic Antioxidant Capacities of Common Foods In The United States. *J. Agric. Food Chem.* 52: 4026-4037.

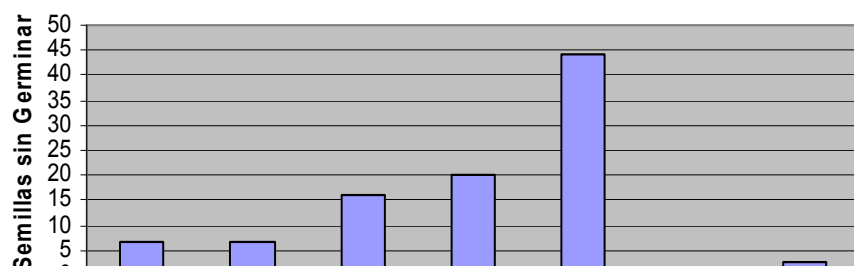
# APÉNDICE



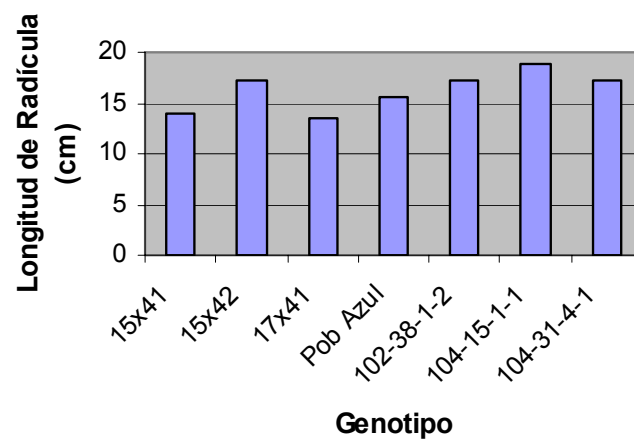
**Figura 1. Germinación al primer conteo en semillas de siete genotipos de maíz contrastantes.**



**Figura 2. Porcentaje de plántulas normales de siete genotipos de maíz contrastantes.**



**Figura 3. Porcentaje de semillas sin germinar de siete genotipos de maíz contrastantes.**



**Figura 4. Longitud de radícula de siete genotipos de maíz.**



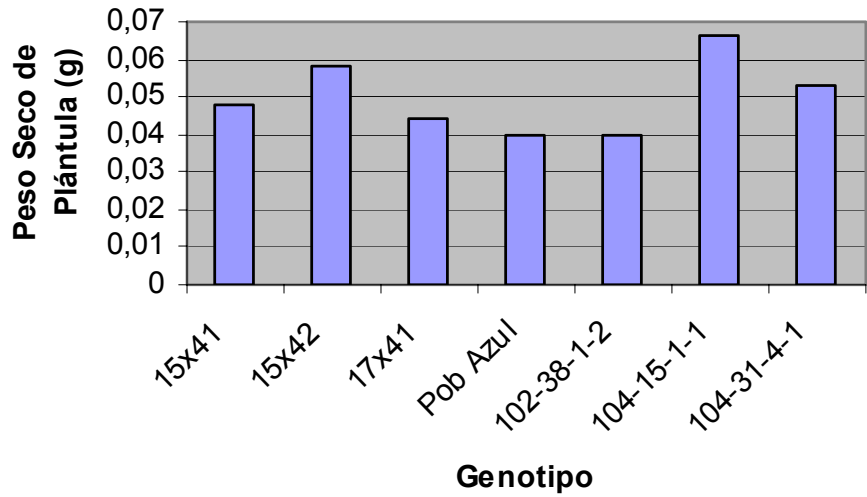


Figura 5. Peso seco de plántula de siete genotipos de maíz contrastantes.

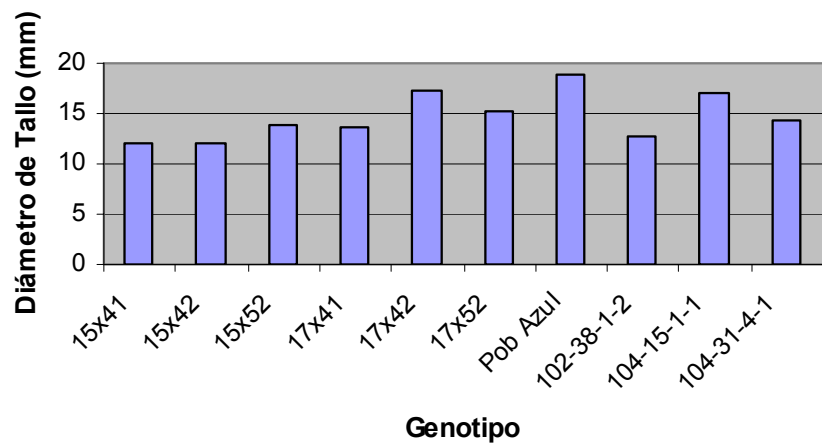


Figura 6. Diámetro de tallo de planta, en diez genotipos de maíz contrastantes.

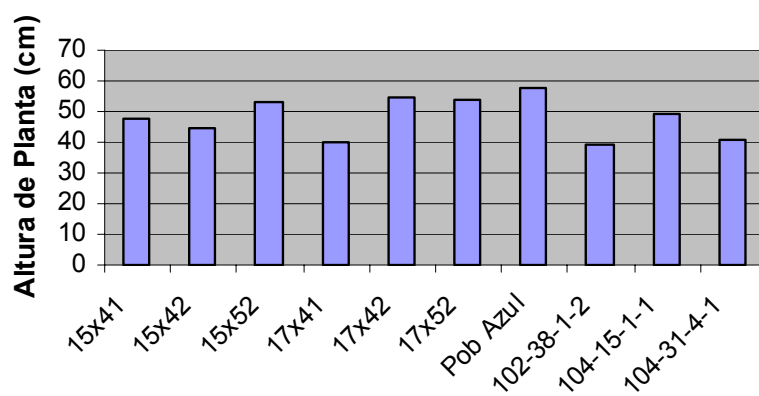


Figura 7. Altura de planta, en diez genotipos de maíz contrastantes.

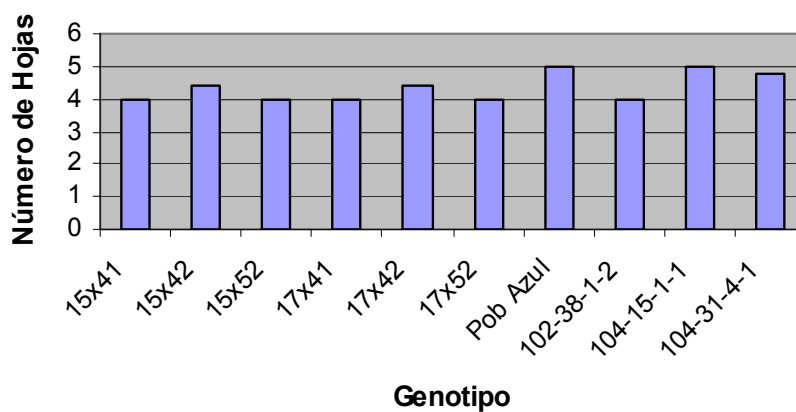
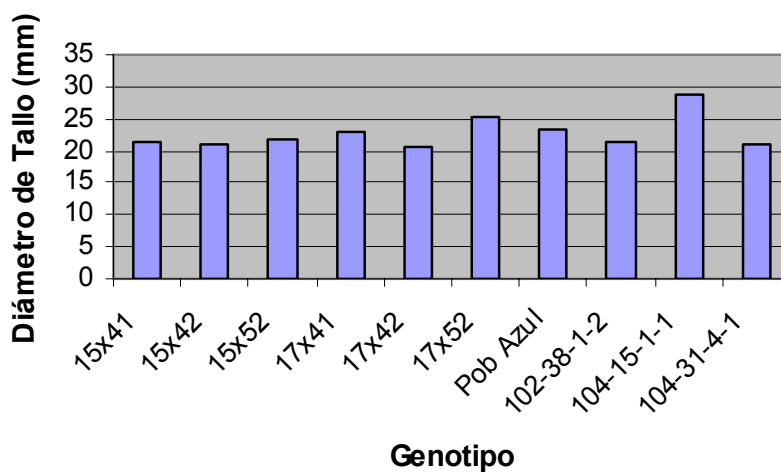
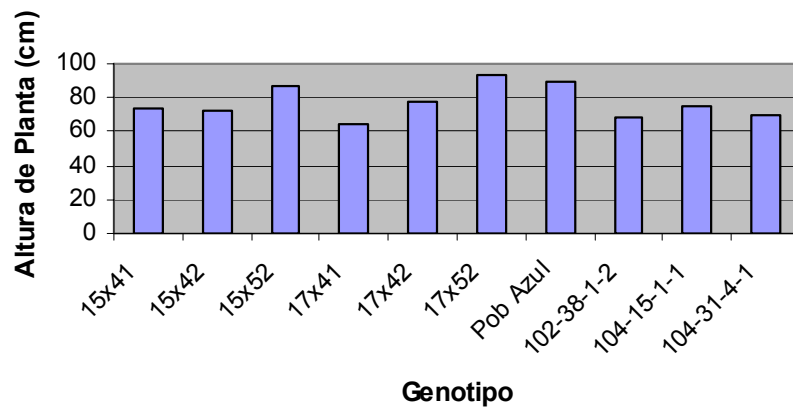


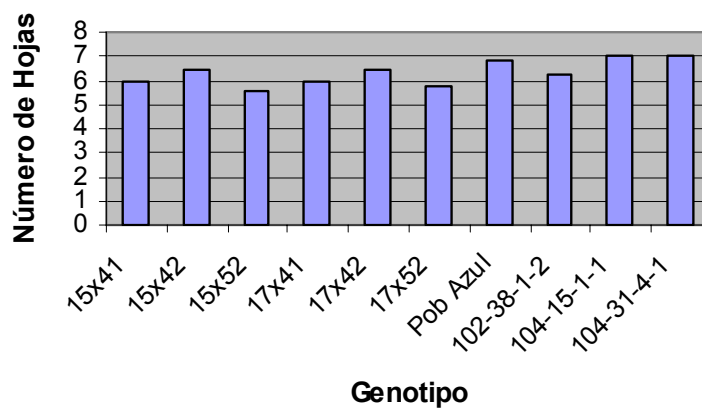
Figura 8. Número de hojas en diez genotipos de maíz contrastantes.



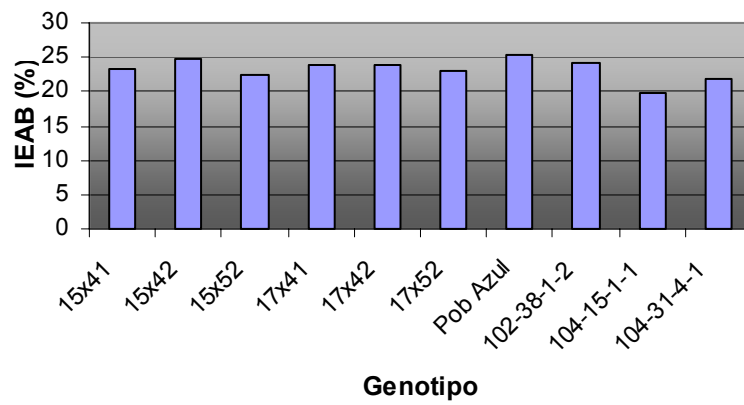
**Figura 9. Diámetro de tallo, en diez genotipos de maíz contrastantes.**



**Figura 10. Altura de planta, en diez genotipos de maíz contrastantes.**



**Figura 11. Número de hojas en plantas de diez genotipos de maíz contrastantes.**



**Figura 12. Índice estomático abaxial de hojas de diez genotipos de maíz contrastantes.**

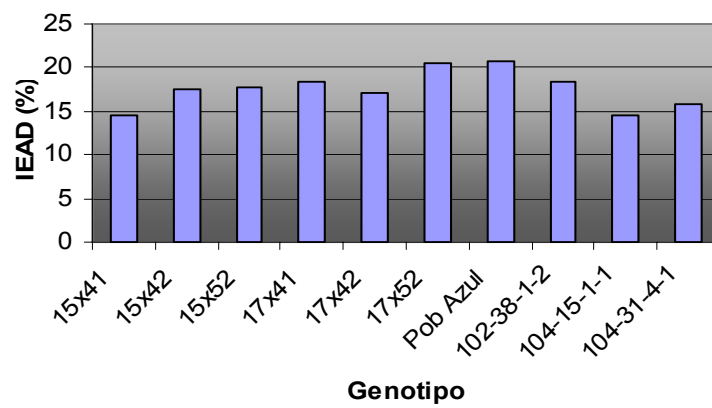


Figura 13. Índice estomático adaxial de hojas de diez genotipos de maíz contrastantes.

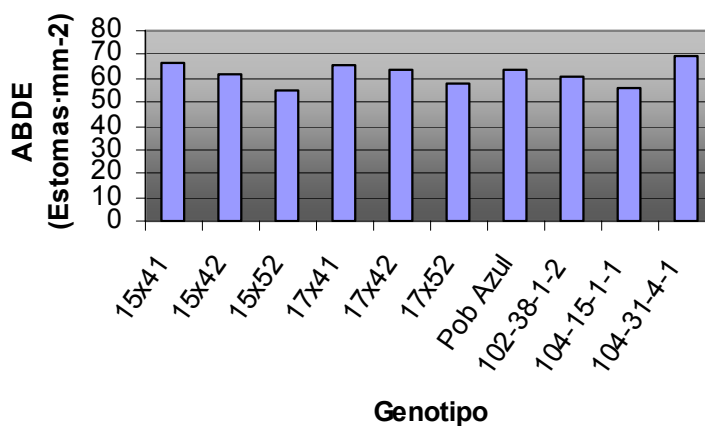


Figura 14. Densidad estomática abaxial de hojas de diez genotipos de maíz contrastantes.

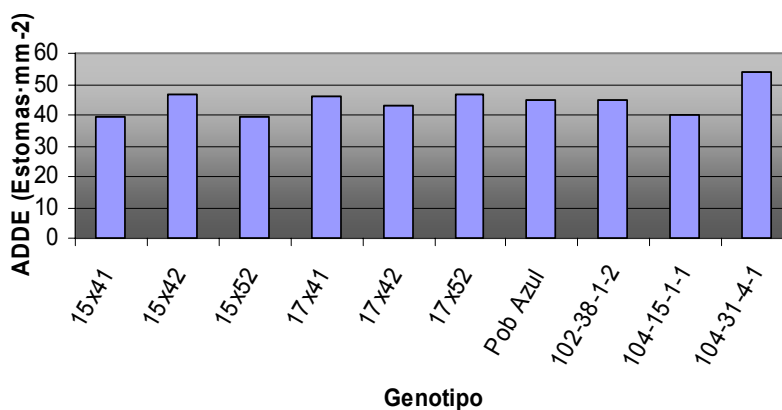
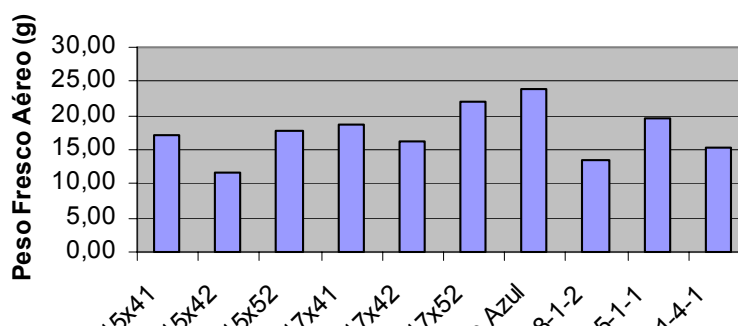


Figura 15. Densidad estomática adaxial de hojas de diez genotipos de maíz contrastantes.



maíz.  
Figura 16. Peso fresco aéreo de plantas de diez genotipos de

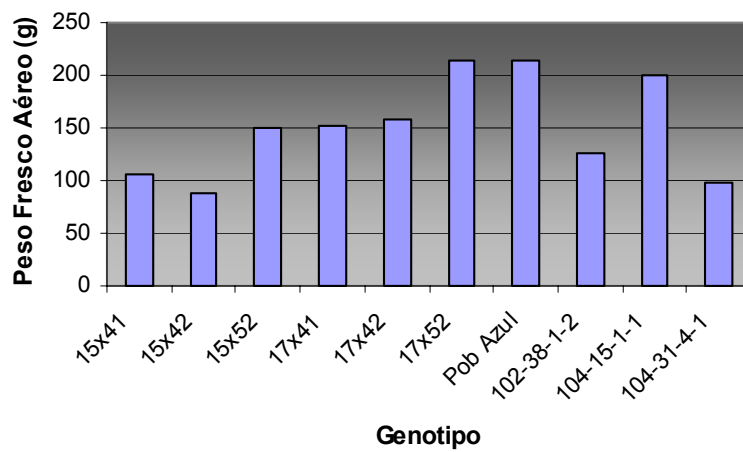
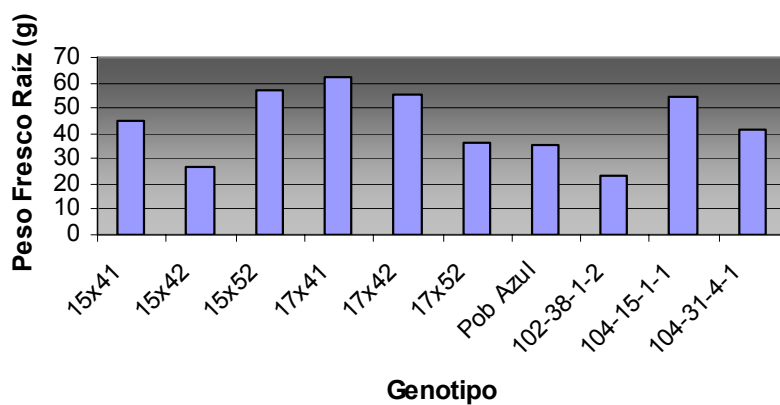
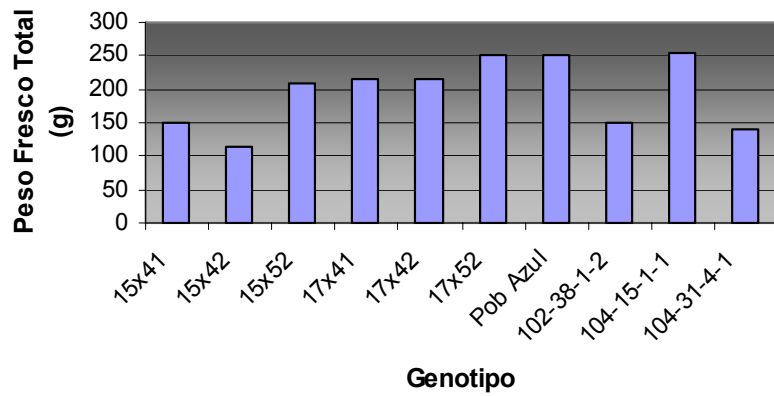


Figura 17. Peso fresco aéreo de plantas de diez genotipos de  
maíz contrastantes.



**Figura 18. Peso fresco de raíz de diez genotipos de maíz contrastantes.**



**Figura 19. Peso fresco total de diez genotipos de maíz contrastantes.**

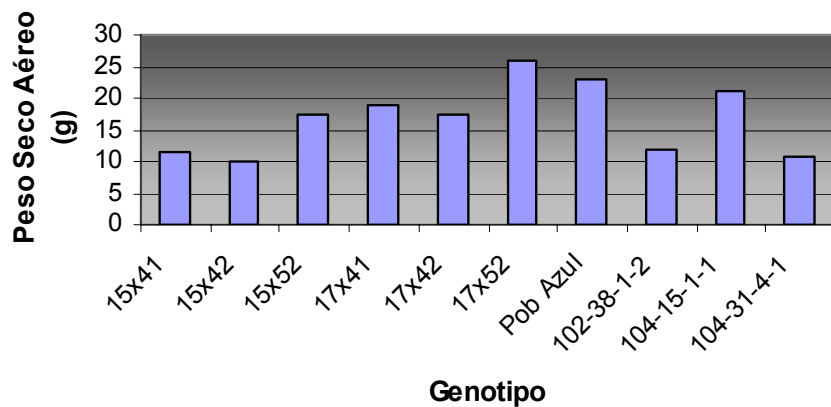


Figura 20. Peso seco aéreo de plantas de diez genotipos de maíz contrastantes.

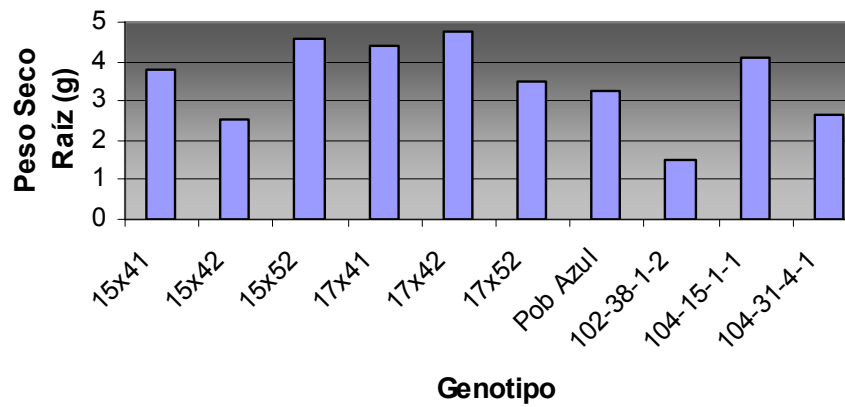
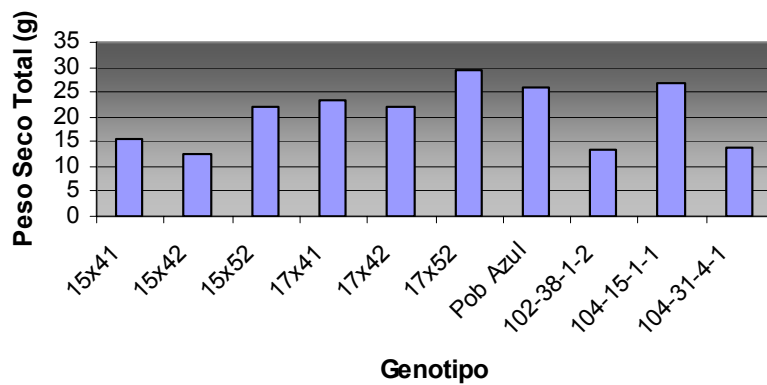
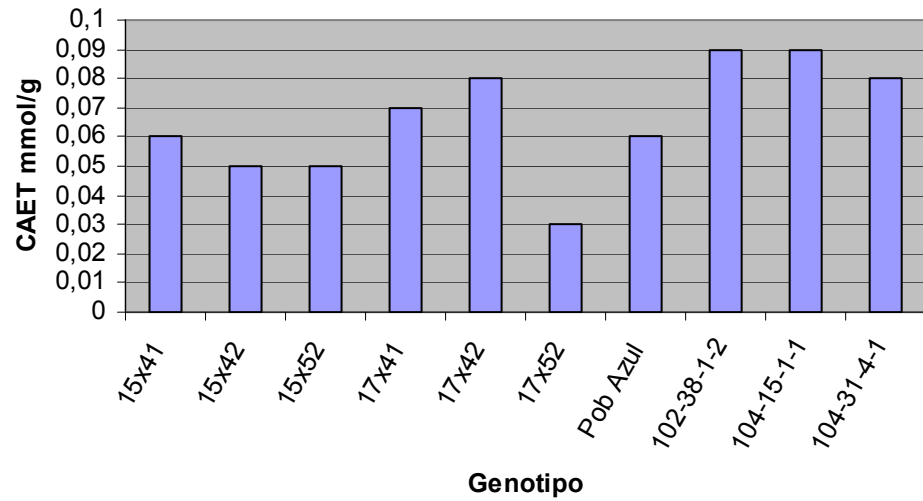


Figura 21. Peso seco de raíz en plantas de diez genotipos de maíz contrastantes.

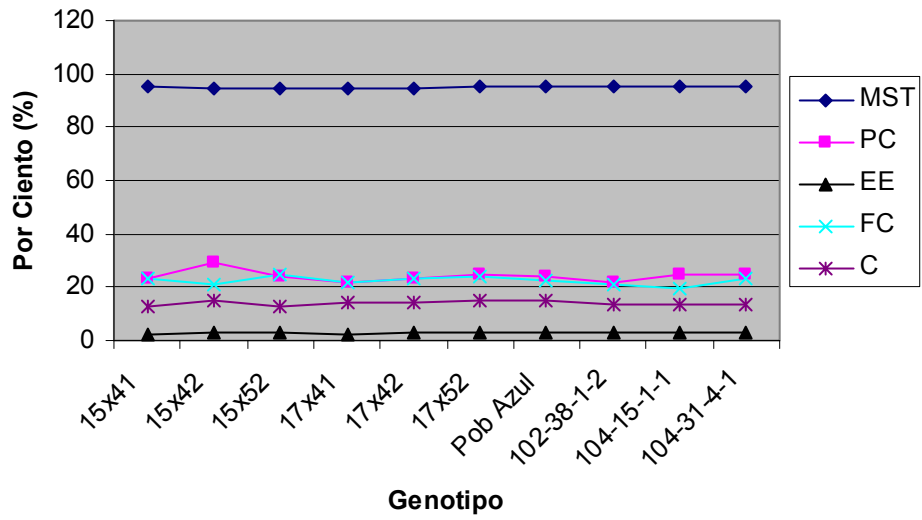




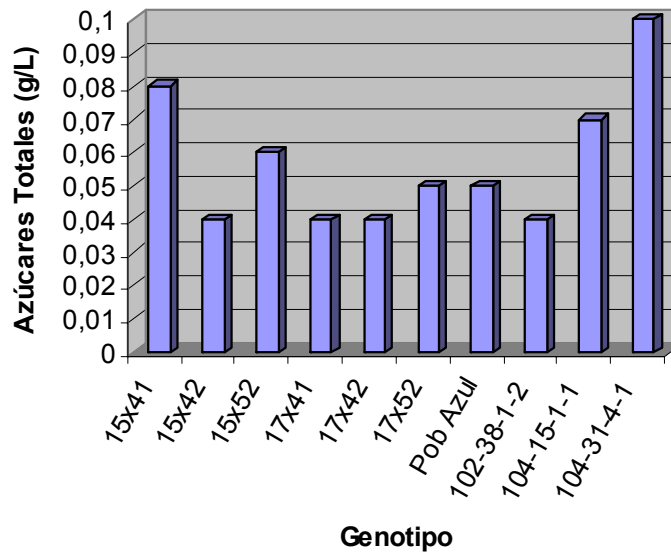
**Figura 22. Peso seco total de planta en diez genotipos de maíz contrastantes.**



**Figura 23. Capacidad antioxidante total (CAET mmol g<sup>-1</sup>) en el extracto de plantas de diez genotipos de maíz.**



**Figura 24. Calidad bromatológica de plantas de diez genotipos de maíz contrastantes.**



**Figura 25. Contenido de azúcares totales en plantas de diez genotipos de maíz.**