

CONTENIDO DE CAROTENOIDES DEL GRANO DE MAÍZ HÍBRIDO CULTIVADO EN INVERNADERO CAROTENOID CONTENT OF HYBRID CORN GROWN IN GREENHOUSE

M. García Flores[§]; R.J.H. Sawers; G.M.L. Ruiz Aguilar; J.P. Délano Frier; A. Tiessen

Laboratorio de Metabolómica y Fisiología Molecular. Departamento de Ingeniería Genética. Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Irapuato, Guanajuato. México. [§]Autor responsable: masterfoodscience@live.com recibido: 29 de abril de 2015, aceptado 1 de noviembre de 2015.

Artículo Científico

RESUMEN

Los carotenoides son pigmentos vegetales de importancia comercial por su diversidad de aplicaciones en la industria de los alimentos, como avicultura, farmacéutica, lácteos y panificación. La salud humana obtiene beneficios de los carotenoides, al elevar la calidad de vida debido a sus propiedades antioxidantes. Tres híbridos de maíz blancos: Puma, Oso y Leopardo, y dos amarillos: Dow 2A120 y Dow 2B150, fueron cultivados y mejorados con autopolinización bajo condiciones de invernadero en Irapuato, Guanajuato, México. En ellos se evaluó el contenido total de carotenoides en granos de maíz por la técnica de espectrometría VIS-UV, con un rango de

lectura de 300 a 600 nm. La concentración total de carotenoides en los granos de cada variedad, en el orden descrito antes, fue: 9.21, 9.28, 8.94; 9.16 y 9.50 U.A./ μ g P.S., respectivamente. Además, se registraron el peso y altura de espiga, altura de planta, peso de mazorca y peso de granos. El análisis estadístico se hizo con Minitab 16 y arrojó la ecuación de regresión lineal múltiple con el factor contenido de carotenoides como respuesta: F teórico: 5617.49; F calculado: 8.58; $R^2 = 99.53\%$.

Palabras clave: Carotenoides, maíz, biofortificación, vitamina A, regresión lineal múltiple, mejoramiento.

ABSTRACT

Carotenoids are plant pigments commercially important for its diversity of applications in the food industry, including poultry, pharmaceutical, dairy, and bakery. In the field of human health great benefits of carotenoids are obtained, such as improving the quality of life due to its antioxidant properties. Three corn hybrids, White: Puma, Bear and Leopard, and two yellow: Dow 2A120 and Dow 2B150, were cultivated and improved with the technique of self-pollination under greenhouse conditions in the city of Irapuato, Guanajuato, evaluating their total content through carotenoid spectrometry UV - VIS on a reading range

from 300 to 600 nm. The total concentration of carotenoids in the grains of each variety in the order described above, was: 9.21, 9.28, 8.94; 9.16 and 9.50 ua / g D.W. Agronomic plant data such as weight and height of spike, plant height, weight of the cob and grain weight were recorded, the statistical analyzes were done with Minitab 16 obtaining the multiple linear regression equation with carotenoids factor as response: theoretical F: 5617.49; calculated F: 8.58; $R^2 = 99.53\%$.

Key words: Carotenoids, corn, biofortification, vitamin A, multiple linear regression, improvement.

INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es una planta alta monocotiledónea, que pertenece a la tribu Maydeae de las Poaceas (antes *Gramineae*) más conocidas como gramíneas. Esta especie vegetal fue domesticada por los indígenas de Mesoamérica en tiempos prehistóricos a partir de Teocinte (Beadle, 1939). La historia del maíz, como se conoce en la actualidad, inicia con la agricultura hace 10,000 años, aproximadamente. De manera continua, la selección

sistemática de características de interés en algunas variedades, propició la modificación gradual de Teocinte a la forma actual de la planta de maíz, principal cereal cultivado en el mundo, ya que prospera en una diversidad amplia de regiones climáticas en alrededor de 160 países. Debido a que el maíz es una planta C_4 y que tiene una fisiología especializada con anatomía *kranz*, se adapta fácilmente a climas cálidos y secos. Sin embargo, por

medio de mejoras genéticas alcanzadas mediante hibridación, han permitido al maíz crecer también en climas fríos; las latitudes donde se cultiva varían entre 58° N y 40° S y las altitudes van desde bajo el nivel del mar hasta más de los 3,000 m, en regiones con 250 mm hasta 5,000 mm de lluvia por año (Dowswelle *et al.*, 1996). La producción mundial de este cultivo es mayor que la de arroz y trigo. En 2010, el volumen de producción fue de 844 mil millones de toneladas métricas (tm) en una superficie aproximada de 162 millones de hectáreas. Los diez países con la mayor producción son: Estados Unidos (316 millones de tm), China (177 millones de tm), Brasil (56 millones de tm), México, Argentina, Indonesia, India (21.72 millones de tm), Francia, Sudáfrica y Ucrania (FAO, 2012). A nivel mundial, el maíz se emplea principalmente en alimentación, seguida por la elaboración de alimentos y materia prima en la industria. El maíz es el cereal de mayor consumo humano en África, Sudamérica y algunas partes de Asia y también es usado como forraje en la alimentación de ganado. Los avances recientes en biofortificación, han logrado desarrollar el maíz con proteína de alta calidad (QPM) y maíces con precursores activos de la vitamina A, importantes en el proceso de mejora del contenido de proteína y vitamina A en las dietas alimenticias (Chaudhary *et al.*, 2014).

La planta de maíz es una de las grandes multiplicadoras naturales; tiene gran capacidad para convertir cantidades altas de energía radiante del sol en energía química estable. Dicha energía se almacena en forma de celulosa, aceite y almidón en la planta y granos. Al término de las etapas de desarrollo cada planta forma entre 300 y 800 granos. El grano de maíz se forma por la acumulación de productos de la fotosíntesis, absorción radical y metabolismo de la planta en la inflorescencia femenina conocida como jilote. El grano consiste de cuatro estructuras físicas principales: endospermo, germen o embrión, película externa de la semilla o pericarpio y el punto de inserción al olote (Lawton y Wilson, 1987; Prasanna *et al.*, 2001). El pericarpio consiste principalmente de hemicelulosa, celulosa y lignina. El endospermo es el componente mayor (80-85%), seguido por el germen (9-10%) y pericarpio (5-6%); su componente principal es el almidón (~70%) y pequeñas cantidades de proteína (8-11%) (Lawton y Wilson, 1987; Prasanna *et al.*, 2001), con una cantidad relativamente baja de grasa. El endospermo está formado por un número grande de células, con gránulos de almidón

embebidos en una matriz proteica continua. La pared celular está formada por β -glucanos y arabinoxylanos, proteínas y ácidos fenólicos. Los cuerpos proteínicos están constituidos mayoritariamente por una fracción proteica rica en prolamina, conocida como zeína. En el grano existen dos tipos de endospermo, harinoso y víteo. El primero contiene gránulos de almidón no compactados alrededor de la fisura central, mientras que el endospermo víteo tiene gránulos de almidón compactados, más pequeños y orientados en dirección periférica. El germen tiene un elevado contenido de grasa (~33%) y de niveles de proteína (18-19%) y minerales (Watson, 1987). El aceite del germen es relativamente estable debido a la presencia de antioxidantes naturales y es muy apreciado para consumo humano por su composición de ácidos grasos, oléico y linoléico. El maíz contiene varios compuestos bioactivos como carotenoides, antocianinas, tocoferoles y compuestos fenólicos con propiedades que previenen enfermedades y promueven la salud.

El color del grano de maíz varía de blanco a amarillo, rojo, azul, púrpura, etc. Los granos azules, púrpuras y rojos son ricos en antocianinas con propiedades bioactivas y antioxidantes (Adom y Liu, 2002). De acuerdo al color de grano de maíz, los contenidos de carotenoides, antocianinas y fenoles se presentan en proporciones diferentes. El pericarpio muestra el mayor contenido de antocianinas, mientras que la aleurona tiene pequeñas cantidades (Moreno *et al.*, 2005). El maíz presenta una variación natural amplia en el contenido de carotenoides en el grano con algunos genotipos que acumulan alrededor de 66.0 $\mu\text{g/g}$ (Harjes *et al.*, 2008). Los carotenoides presentes en el grano de maíz, de mayor a menor concentración son: luteína, zeaxantina, β -caroteno, β -cryptoxantina y α -caroteno. El maíz amarillo contiene mayor concentración de carotenoides que el maíz harinoso. Por lo general, los carotenoides precursores de la vitamina A constituyen sólo de 10-20% del total de los carotenoides del grano de maíz, mientras que la luteína y zeaxantina representan del 30-50% cada uno. En un maíz típico, el total en contenido de carotenoides precursores, como son α -caroteno, β -caroteno y β -cryptoxantina, varían de 0-1.3, 0.13-2.7 y 0.13-1.9 nmol/g, respectivamente (Kurilich y Juvik, 1999). El maíz tiene un alto contenido de ácidos fenólicos; el ácido ferúlico es un fitoquímico importante y su contenido es variable, dependiendo del tipo de maíz. Los maíces con alto contenido de carotenoides

tienen una concentración mayor de ácido ferúlico comparado con el maíz blanco, amarillo, rojo o azul. La mayor parte del ácido ferúlico en maíz se encuentra en forma ligada a otros compuestos (Adom y Liu, 2002). El volumen de los fenoles (ácidos fenólicos, flavonoides y aminas conjugadas) está concentrado en el pericarpio, aleurona y germen con trazas en el endospermo (Sen *et al.*, 1994).

De manera global, aproximadamente la tercera parte de niños de preescolar y 15% de mujeres embarazadas, presentan deficiencias de vitamina A (WHO, 2009). El problema se vuelve más severo en países en desarrollo, debido a que su población basa su dieta alimenticia en un solo cereal para su sustento, por ejemplo, en África y el Sureste Asiático tienen la tasa más alta en deficiencia de vitamina A (WHO, 2009). Las consecuencias de la deficiencia de vitamina A son ceguera, crecimiento lento del niño y aumento de morbilidad y mortalidad (Sommer y West, 1996; Shankar *et al.*, 1999; Rice *et al.*, 2004; Maida *et al.*, 2008). Además, la interacción del contenido de vitamina A con el contenido de hierro y zinc ha sido bien documentada (Hess *et al.*, 2005). El metabolismo del hierro es afectado negativamente por la deficiencia de vitamina A en la dieta, por lo que el hierro no es incorporado de forma efectiva en la hemoglobina (Hodges *et al.*, 1978). La deficiencia concurrente de vitamina A y hierro ha sido detectada en infantes en África del Sur (Oelofse *et al.*, 2008), islas Marshall (Palafox *et al.*, 2003) y Côte d'Ivoire (Hess, 2003), y en mujeres embarazadas de India, Nepal y Malawi (Pathak *et al.*, 2003; Dreyfuss *et al.*, 2000; R van den Broek y Letsky, 2000). De igual forma, el aporte de zinc es considerado inadecuado en un 30% de la población en 46 países africanos (Hotz y Brown, 2004). La deficiencia de zinc reduce la absorción intestinal de grasas y vitaminas solubles en grasas, incluyendo vitamina A, como retinol en ratones. La biofortificación es el desarrollo de cultivos vegetales con cantidades sustanciales de micronutrientes, mediante mejores prácticas de hibridación y biotecnología moderna, a fin de reducir la deficiencia de vitamina A y micronutrientes, de manera particular del hierro y zinc. En áreas rurales de países en desarrollo, la biofortificación de cultivos de cereales es la única vía factible, porque asegura el cumplimiento de los objetivos propuestos. Debido a que el maíz es

el tercer cereal alimenticio en el mundo (FAPRI, 2009) y el principal cereal consumido en países africanos (FAOSTAT, 2010), es un cultivo que califica para el proceso de biofortificación. Un aspecto relevante a considerar, antes de diseñar un programa de mejoramiento del contenido de carotenoides provitamina A, hierro y zinc en el maíz, es establecer la cantidad de micronutrientes a incrementar en la biofortificación. Esta cantidad está relacionada con la biodisponibilidad del aporte del nutriente para el cuerpo y su utilización en funciones fisiológicas o de almacenamiento (Jackson, 1977; Fraser y Bamley, 2004). Existen numerosos factores que influyen en la biodisponibilidad; después de considerarlos, se ha establecido que al menos 15 μg de β -caroteno/g de peso seco de grano, 60 mg/kg de hierro y 55 mg/kg de zinc son requeridos para el maíz fortificado con impacto en la nutrición (Graham *et al.*, 1999; Pixley *et al.*, 2013).

Los forrajes frescos son más importantes en la crianza de animales, porque proveen alimento nutritivo y barato. La actividad económica de producción de leche, depende principalmente de la disponibilidad de forrajes verdes y nutritivos. El maíz está considerado como uno de los mejores forrajes: crece rápido, produce suficiente biomasa, es apetecible, rico en nutrientes e incrementa peso corporal y calidad de la leche de ganado vacuno (Sattar *et al.*, 1994). Además, el maíz se cultiva todo el año y no contiene compuestos sin calidad nutricional; en cambio, contiene altas concentraciones de proteína y minerales y es muy digerible (Gupta *et al.*, 2004). Maíces especiales como el maíz dulce o maíz bebé, tiene doble propósito porque proveen forraje y elotes; la planta posee características propias para ensilaje, ya que contiene suficientes cantidades de azúcares solubles necesarios para una adecuada fermentación (Allen *et al.*, 2003). El objetivo del presente trabajo consiste en evaluar el contenido de carotenoides en el grano de las variedades de maíz cosechados mediante la técnica de espectrometría VIS-UV y hacer un análisis estadístico mediante regresión múltiple de la variable de respuesta carotenoides, asociada a datos agronómicos como peso de espiga, altura de espiga, altura de planta, peso de mazorca y peso total de granos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los materiales de maíz utilizados en el experimento bajo condiciones de invernadero fueron maíz blanco (Puma, Oso y Leopardo) y maíz amarillo (Dow2A120 y Dow2B150). Puma, Oso y Leopardo tienen el vigor necesario y el desarrollo inicial para germinar más rápido, al mostrar emergencia rápida y respuesta suficiente ante condiciones desfavorables, así como a la siembra en seco o labranza mínima. Dow2A120 y Dow2B150, son híbridos para plantaciones de alta tecnología; brindan estabilidad y potencial de rendimiento, y son ideales para la zona de transición templada-subtropical.

El cultivo de maíces en invernadero se hizo en instalaciones del CINEVESTAV-IPN, en Irapuato, Guanajuato, México, con coordenadas geográficas: 20° 51' - 20° 30' N y 101° 08' - 101° 33' O, su territorio tiene una altitud media de 1728 metros sobre el nivel del mar (msnm). Las semillas de maíz se esterilizaron de acuerdo al siguiente procedimiento: lavados en solución de etanol al 96% durante 5 min y en solución de etanol (ETOH) 96% + Twin 20 (1 gota) y se agitaron por 10 min. Finalmente se hicieron dos lavados con agua desionizada. La fumigación del invernadero se hizo el día 13 de Octubre. Las variedades de maíz se sembraron el 14 de Octubre de 2011 en 25 bloques de 4 macetas cada uno, distribuidos al azar. Las macetas se formaron con bolsas de polietileno con capacidad de 4 Kg cada una y el sustrato utilizado consistió de una mezcla de vermiculita y peatmoss en una relación 1:1. Se cosecharon 20 plantas en etapa de madurez fisiológica (Juárez-Colunga, 2012). Al inicio y al final de todas las filas, de 4 macetas cada una, se sembró la variedad Puma con la finalidad de eliminar el efecto de borde. La emergencia fue completada a 6 días de la siembra, y el raleo a los 24 días de la siembra. El agua se aplicó en el sistema de riego por goteo dos veces por semana durante 16 semanas. La fertilización química se hizo cada ocho días a partir de la segunda semana después de la siembra con la formulación líquida de N-P-K y Urea en las semanas 4, 13 (inicio de floración), 14, 15 y 16 después de la siembra. La autopolinización se hizo a los 93 días de la fecha de siembra, previo trabajo de cubrimiento de las flores femeninas con bolsas de papel glassine y captura del polen de la flor masculina para su

aplicación en cada una de las plantas. Al término de la tercera semana de floración, se eliminó la espiga de cada una de las plantas con el objeto de elevar el rendimiento de grano. La cosecha se hizo a los 133 días de la fecha de siembra y se registraron los datos agronómicos. Los granos de maíz se resguardaron en el invernadero en bolsas de papel para polinizar marca Lawson No. 502.

El proceso reproductivo de los híbridos en el presente estudio se hizo con la técnica de autopolinización en la F₂, para el desarrollo de las características agronómicas deseables en el programa de mejoramiento dirigido a incrementar el contenido de carotenoides en los granos de maíz.

El experimento establecido en el invernadero fue realizado bajo un modelo completamente aleatorio y que de acuerdo con el resultado de las pruebas de normalidad obtenidas con valores de probabilidad igual o menores a $p=0.05$, se confirmará la homogeneidad de varianzas entre tratamientos para cada una de las variables, lo que permitió hacer el análisis estadístico de los datos obtenidos con un nivel de confianza al 95%. Se utilizó el método de regresión paso a paso hacia delante y hacia atrás con alfa de entrada = 0.10 y alfa de salida = 0.15 para cada variable.

La técnica de extracción de carotenoides empleó las soluciones y procedimientos siguientes: a) Etanol + butilhidroxitolueno (BHT) 0.1%, pesar 0.1 g de BHT y añadirlo a 100 mL de etanol absoluto grado cromatografía líquida de alta presión (HPLC). b) Hidróxido de potasio (KOH) 80%, pesar 8 g de hidróxido de potasio (KOH) y añadirlo a 10 mL de agua desionizada. La harina de maíz se obtuvo con la molienda de granos de cada variedad en la cantidad de 100 mg, siguiendo con la etapa de extracción de los carotenoides contenidos en la fase líquida. A continuación se presenta la técnica de extracción de carotenoides: a) Pesaje de 50 mg (-1, +9) de harina de grano de maíz en un tubo eppendorf, debidamente etiquetado (tubo A); b) Agregar 500 μ L de etanol+BHT 0.1%; c) Mezcla en vortex; d) Calentamiento en termomixer a 80°C, durante 5 min; e) Añadir 10 μ L de KOH 80%; f) Mezcla en vortex; g) Calentamiento en Termomixer a 80°C durante 10 min; h) Colocar en hielo; i) Adición de 250 μ L de hexano; j) Incorporación de 500 μ L de agua desionizada; k) Mezcla en vortex;

l) Centrifugación a 12.0 Krpm, 4°C por 5 min; m) Extracción de la fase superior 200 µL y vaciado en tubo nuevo y etiquetado (tubo B); n) En el tubo A por segunda ocasión se agregaron 250 µL de hexano (sin agua); o) Mezcla en vortex (hasta que disolverse la pastilla); p) Centrifugación a 12.0 Krpm, 4°C por 5 min; q) Extracción de la fase superior de 200 µL y vaciado en el tubo B; r) Del tubo B se extrajeron 400 µL y se vaciaron en un tubo nuevo (tubo C); s) Evaporación del hexano del tubo C en la bomba de vacío por 30 min, aproximadamente; una vez evaporado el hexano, se tapó el tubo y se mantuvo frío a -5°C; t) El contenido del tubo C se re-suspendió al agregar 200 µL de etanol absoluto grado HPLC; u)

Centrifugación durante 1 min, 4°C a 12.0 Krpm; v) Extracción de 100 µL y vaciado en pozos de placa *sarsted* debidamente identificados; w) Registro en el lector de placas VIS-UV en el rango de 300 a 600 nm; x) Cálculo de la concentración en unidades de absorbancia por µg.

Los datos obtenidos en las actividades de medición, se tabularon para aplicar las siguientes herramientas estadísticas: prueba de normalidad de Anderson-Darling, prueba de homogeneidad de varianzas de Bartlett, regresión paso a paso hacia adelante y hacia tras con valores de alfa de entrada igual a 0.10 y de salida de 0.15 y regresión lineal múltiple, disponibles en el software Minitab 16.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con los valores de distribución de los híbridos en el área de siembra y la prueba de normalidad Anderson-Darling para la variable carotenoides presentados en el Cuadro 1 y Figura 1, valores de prueba estadística $p=0.05$ y $AD=0.741$, se obtuvieron como variables significativas a incluir en el modelo de regresión múltiple, la altura de espiga (H_{espiga}), coeficiente: 0.05140 y número de hojas por planta (L_{planta}), coeficiente: 0.54443, sin ajustar la intersección de la recta de regresión con valores de probabilidad 0.002 y 0.000, respectivamente. La ecuación de regresión que se señala, sólo presenta factores positivos, H_{espiga} y L_{planta} sin término constante. En el análisis de homogeneidad de varianzas para los predictores con la prueba de Bartlett con un valor estadístico de prueba de 3.24, se aceptó la hipótesis nula debido a que se obtuvo un valor $p=0.198$ mayor al nivel de significancia de 0.05, que confirma la homogeneidad de varianza entre los factores de predicción de la recta de regresión. El coeficiente de determinación o medida de la bondad de ajuste del modelo de regresión, es el siguiente: $R^2=99.56\%$, R^2 ajustado= 99.54% , R^2 de predicción= 99.53% . El valor de F teórica es de 5617.49 y de F calculada es de 8.58, rechazando la hipótesis nula y concluyendo que el término de regresión es significativo en el modelo de regresión múltiple. Respecto a las variables predictoras, se presentan valores de probabilidad cercanos a cero, menores a $p=0.05$, por lo que se concluye que son importantes en la predicción de la variable de respuesta carotenoides en el modelo de regresión. Para conocer la agrupación

de los híbridos por sus valores de medias de la variable carotenoides y utilizando el método de comparación de Fisher, a un nivel de confianza simultánea de 72.36%, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, en la que las medias de los tratamientos son diferentes de acuerdo a los siguientes grupos, A: Dow2B150, B: Oso, Puma y Dow 2A120, C: Leopardo; asimismo, se compararon las medias de los tratamientos con Tukey a un nivel de confianza de 99.33% y de Dunnett, sin encontrar diferencias entre medias de tratamientos debido a que dichas pruebas presentan valores en los intervalos de confianza mayores, con lo que se acepta la hipótesis nula y validado por el análisis de varianza que presenta un valor de $F=1.37$ y $p=0.260$ y como éste último valor es mayor a $p=0.05$ entonces se rechaza la hipótesis alternativa, siendo iguales las medias de la variable carotenoides. Al analizar la tabla de comparación del método de Fisher, se observa que el híbrido Dow2B150 presentó el mayor contenido de carotenoides, seguido por Oso, Puma, Dow2A120 y Leopardo. El rango en el contenido de carotenoides varió entre 9.470 y 8.942 UA/µg de peso seco. En la Figura 2, mediante el uso de la herramienta Excel de Microsoft, se puede observar el nivel de carotenoides para cada híbrido sembrado en grupos de cuatro macetas, donde se presenta el valor promedio global y las barras de error estándar.

En la Figura 3 se presenta el espectrograma VIS-UV de una muestra de carotenoides de la variedad Dow2B150 con el valor de integración más alto, en

comparación con las demás gráficas registradas (Figuras no mostradas).

Cuadro 1. Análisis estadístico experimental con Minitab 16. a) Ecuación de regresión obtenida con la opción de regresión múltiple; b) Análisis de varianza; c) Análisis de medias por el método de Fisher.

a) Ecuación de regresion						
Carotenoides = 0.0514047 H_Espiga + 0.54443 L_Planta						
Resumen del modelo						
S= 0.626737	R-cuad. = 99.56%	R-cuad. (ajustado) = 99.54%				
PRESS = 20.7854	R-cuad.(pred.) = 99.53%					
b) Análisis de varianza						
Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
Regresion	2	4413.09	4413.09	2206.54	5617.49	0.000000
H_espiga	1	4375.19	3.82	3.82	9.73	0.003003
L_planta	1	37.90	37.90	37.90	96.49	0.000000
Error	50	19.64	19.64	0.39		
Falta de ajuste	47	19.15	19.15	0.41	2.49	0.247080
Error puro	3	0.49	0.49	0.16		
Total	52	4432.73				
Anova unidireccional Carotenoides vs Nombre de Híbrido						
Fuente	GL	SC	CM	F	P	
Nombre	4	1.608	0.402	1.37	0.260	
Error	47	13.819	0.294			
Total	51	15.427				
S = 0.5422	R-cuad. = 10.42%		R-cuad. (ajustado) = 2.80%			
c) Análisis de medias por el método de Fisher						
Nombre	N	Media	Agrupación			
Dow 2B	10	9.4970	A			
Oso	10	9.2770	A B			
Puma	12	9.2075	A B			
Dow 2 ^a	10	9.1620	A B			
Leopardo	10	8.9420	B			
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.						
Intervalos de confianza individuales de Fisher del 95%						

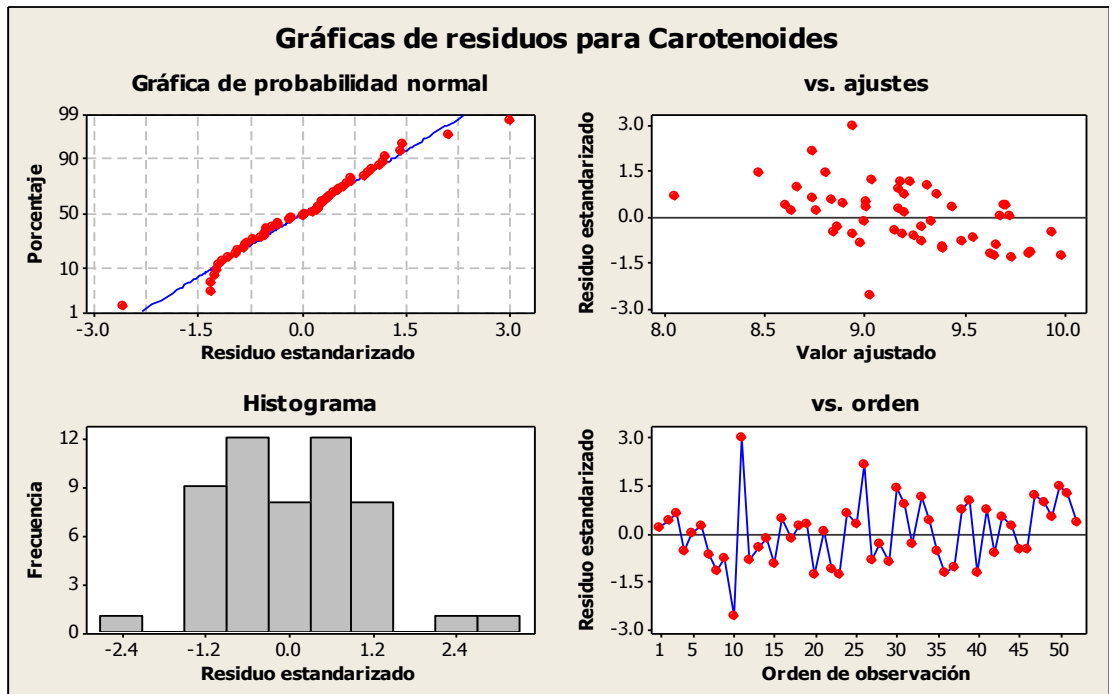


Figura 1. Gráficas de residuos estandarizados que resultan de la prueba de Normalidad a los valores de la variable Carotenoides. Prueba de normalidad aplicada, Anderson-Darling ($p=0.05$, $AD=0.741$) de los datos.

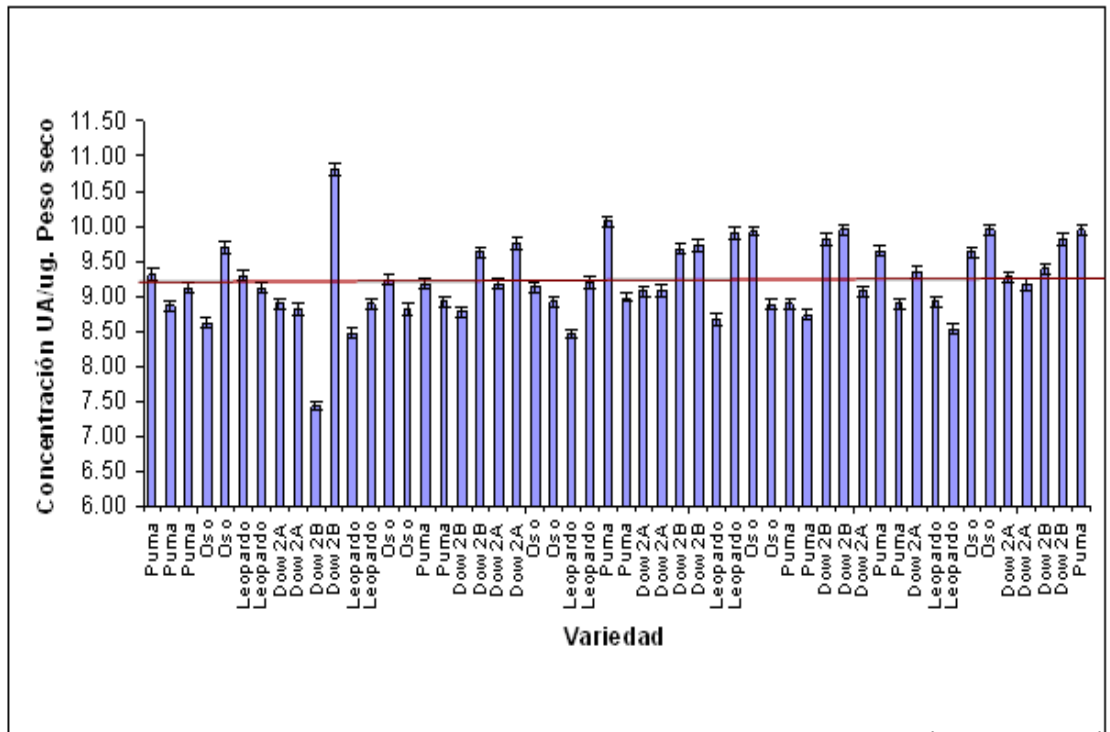


Figura 2. Contenido de carotenoides de cada una de los híbridos de maíz en $UA/\mu g$ de peso seco.

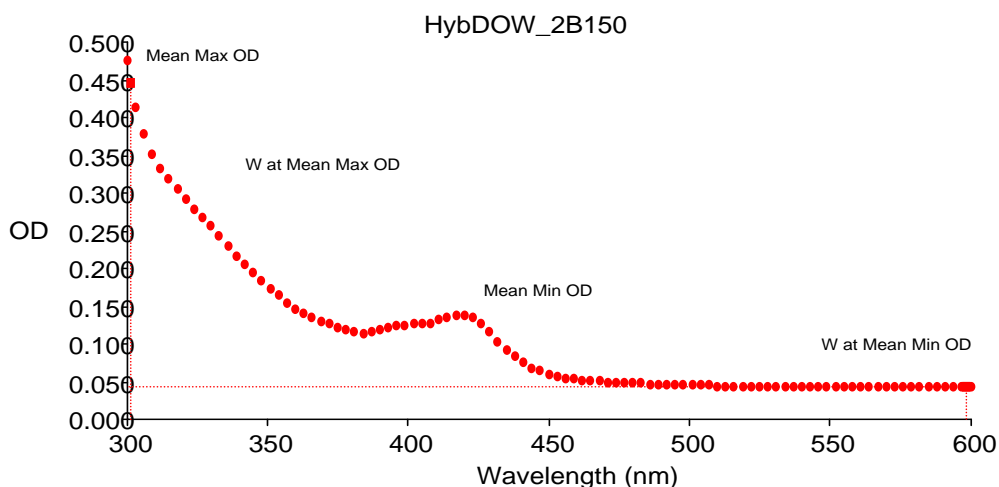


Figura 3. Espectrograma VIS-UV de una muestra de carotenoides del híbrido Dow2B150.

CONCLUSIONES

El experimento permitió seguir avanzando en la estrategia de biofortificación de los granos de maíz. Los datos de las características agronómicas de la planta de maíz permitieron determinar la ecuación de regresión y además, fue posible establecer diferencias cuantitativas entre los híbridos en estudio. El método de lectura en el rango de luz VIS-UV es económico y permite la obtención de datos de manera rápida y confiable. La aplicación de la prueba de normalidad de Anderson-Darling, la prueba de Bartlett para homogeneidad de varianzas, la regresión paso a paso hacia delante y hacia atrás y la regresión lineal múltiple de Minitab16, son opciones que generan la información

que se requiere para tomar decisiones acerca de la funcionalidad del modelo de regresión para fines de predicción.

La ecuación de regresión lineal múltiple representa una herramienta estadística para fines de predicción del rendimiento agronómico y contenido de metabolitos como son los carotenoides. Esta ecuación, permitirá estimar los resultados esperados del contenido de carotenoides en los maíces en las etapas posteriores de hibridación de las variedades en estudio.

Martín García Flores agradece el apoyo otorgado por el CONACYT para la realización de estudios de Doctorado en el programa de Biotecnología de Plantas del CINVESTAV-Unidad Irapuato.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adom KK; Liu RH (2002). Antioxidant activity of grains. *J Agric Food Chem* 50: 6182–6187.
- Allen MS; Coors JG; Roth GW (2003). Corn silage. *In: Buxton DR; Muck R; Harrison J (eds) Silage science and technology*. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, pp. 547–608.
- Beadle G (1939). Teosinte and origin of maize. *J Hered.* 30: 245–247.
- Chaudhary DP; Kumar S; Yadav OP (2014). Nutritive Value of Maize: Improvements, Applications and Constraints. *In: Chaudhary DP; Kumar S; Singh S (eds.) Maize: Nutrition Dynamics and Novel Uses. Chapter 1. Volume 1.1st. Edition. Springer India 2014. DOI 10.1007/978-81-322-1623-0_1*. New Delhi. pp. 3-17.
- Dowswell CR; Paliwel RL; Cantrell RP (1996). *Maize in the third world*. Westview Press, Boulder, 268 p.
- Dreyfuss ML; Stoltzfus RJ; Shrestha JB; Pradhan EK; LeClerq SC; Khatri SK; Shrestha SR; Katz J; Albonico M; West KP Jr (2000). Hookworms, malaria and vitamin A deficiency contribute to anemia and iron deficiency among pregnant women in the plains of Nepal. *J Nutr* 130: 2527–2536.
- FAO Statistical Yearbook (2012). World food and agriculture. <http://www.fao.org/docrep/015/i2490e/i2490e00.htm>.
- FAOSTAT (2010). Available from: <http://faostat.fao.org/site/368/default.aspx#ancor>.
- Food Balance Sheets
- Fraser PD; Bramley PM (2004). The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Prog Lipid Res* 43: 228–265.
- Graham R; Senadhira D; Beebe S; Iglesias C; Monasterio I (1999). Breeding for micronutrient density in edible portions of staple food crops: conventional approaches. *Field Crops Res* 60: 57–80.
- Gupta BK; Bhardwaj BL; Ahuja AK (2004). Nutritional value of forage crops of Punjab. Punjab Agricultural University Publication, Ludhiana.
- Harjes CE; Rocheford TR; Bai L; Brutnell TP; Kandianis CB; Sowinski SG; Stapleton AE; Vallabhaneni R; Williams M; Wurtzel ET; Yan J; Buckler ES (2008). Natural genetic variation in lycopene epsilon cyclase tapped for maize biofortification. *Science* 319: 330–333.
- Hess SY (2003). Interactions between iodine and iron deficiencies. Thesis/Dissertation, Swiss Federal Institute of Technology, Zürich, Diss ETH No. 15002.
- Hess SY; Thurnham DI; Hurrell RF (2005). Influence of provitamin A carotenoids on iron, zinc and vitamin A status. *HarvestPlus Technical Monograph series 6*. HarvestPlus, Washington, DC, pp. 28.
- Hodges RE; Sauberlich HE; Canham JE; Wallace DL; Rucker RB; Mejia LA; Mohanram M (1978). Hematopoietic studies in vitamin A deficiency. *Am J Clin Nutr* 31: 876–885.
- Hotz C; Brown K (2004). Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. *Food Nutr Bull* 25(1): 194–195.
- Hukkeri SB; Shukla NP; Rajput RK (1977). Effect of levels of soil moisture and nitrogen on the fodder yield of oat on two types of soils. *Indian J Agron* 47: 204–209.
- Iqbal A; Ayub M; Zaman H; Ahmed R (2006). Impact of nutrient management and legume association on agroqualitative traits of maize forage. *Pak J Bot* 38: 1079–1084.
- Jackson MJ (1997). The assessment of bioavailability of micronutrients: introduction. *Eur J Clin Nutr* 51: S1–S2.
- Juárez-Colunga S (2012). The stem as a dynamic carbohydrate reservoir in maize. *Tesis de Maestría*. Cinvestav. Irapuato.
- Kurilich AC; Juvik JA (1999). Quantification of carotenoid and tocopherol antioxidants in *Zea mays*. *J Agric Food Chem* 47: 1948–1955.
- Lawton JW; Wilson CM (1987). Proteins of the kernel. *In: Johnson LA; White PJ (eds) Corn chemistry and technology*. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, pp. 313–354.
- Maida JM; Mathers K; Alley CL (2008). Pediatric ophthalmology in the developing world. *Curr Opin Ophthalmol* 19: 403–408.
- Moreno YS; Hernandez DR; Velazquez AD (2005). Extraction and use of pigments from maize grains (*Zea mays* L.) as colorants in yogurt. *Arch Latinoam Nutr* 55: 293–298.
- Oelofse A; Van Raaij JM; Benade AJ; Dhansay MA; Tolboom JJ; Hautvast JG (2002). Disadvantaged black and coloured infants in two urban communities in the Western Cape, South Africa differ in micronutrient status. *Public Health Nutr* 5: 289–294.
- Palafox NA; Gamble MV; Dancheck B; Ricks MO; Briand K; Semba RD (2003). Vitamin A deficiency, iron deficiency, and anemia among preschool children in the Republic of the Marshall Islands. *Nutrition* 19: 405–408.
- Pathak P; Singh P; Kapil U; Raghuvanshi RS (2003). Prevalence of iron, vitamin A, and iodine deficiencies amongst adolescent pregnant mothers. *Indian J Pediatr* 70: 299–301.
- Pixley K; Palacios-Rojas N; Babu R; Mutale R; Surles R; Simpungwe E (2013). Biofortification of Maize with Provitamin A Carotenoids. *In: Tanumihardjo SA (ed.) Carotenoids and Human Health. Chapter 17*. Springer Science+Business Media. DOI 10.1007/978-1-62703-203-2_17. New York. pp. 271-292.
- Prasanna BM; Vasal SK; Kassahun B; Singh NN (2001). Quality protein maize. *Curr Sci* 81: 1308–1319.
- R van den Broek N; Letsky EA (2000). Etiology of anemia in pregnancy in south Malawi. *Am J Clin Nutr* 72: 247S–256S.
- Rice AL; West KP; Black RE (2004). Vitamin A deficiency. *In: Ezzati M; Lopez AD; Rodgers A; Murray CJL (eds) Comparative quantification of health risks: global and regional burden of disease attributable to selected major risk factors, vol 1*. World Health Organization, Geneva
- Sattar MA; Haque MF; Rahman MM (1994). Intercropping maize with broadcast rice at different row spacing. *Bang J Agric Res* 19: 159–164.
- Sen A; Bergvinson D; Miller S; Atkinson J; Gary FR; Thor AJ (1994). Distribution and microchemical detection of phenolic acids, flavonoids, and phenolic acid amides in maize kernels. *J Agric Food Chem* 42: 1879–1883.
- Shankar AH; Genton B; Semba RD; Baisor M; Paino J; Tamja S; Adiguma T; Wu L; Rare L; Tielsch JM; Alpers MP; West KP Jr. (1999). Effect of vitamin A supplementation on morbidity due to *Plasmodium falciparum* in young children in Papua New Guinea: a randomised trial. *Lancet* 354: 203–209.
- Sommer A; West KP Jr (1996). *Vitamin A deficiency. Health, survival and vision*. Oxford University Press, New York.
- Watson SA (1987). Structure and composition. *In: Watson SA; Ramstad PE (eds) Corn: chemistry and technology*. American Association of Cereal Chemists, St Paul, pp. 53–82.
- WHO (2009). Global prevalence of vitamin A deficiency in populations at risk 1995–2005. *In: WHO global database on vitamin A deficiency*. World Health Organization, Geneva, pp. 1–55.