



**CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN PARA
EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
CIDIR IPN- UNIDAD OAXACA**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y
APROVECHAMIENTO DE RECURSOS NATURALES
(PRODUCCIÓN Y PROTECCIÓN VEGETAL)**

**COMPUESTOS NUTRICIONALES, POLIFENOLES Y ACTIVIDAD
ANTIOXIDANTE EN GRANOS DE MAÍCES PIGMENTADOS
NATIVOS DE OAXACA**

TESIS

Que para obtener el grado de Maestro en Ciencias

PRESENTA

RAQUEL MARTÍNEZ MARTÍNEZ

DIRECTORES

DR. JOSÉ LUIS CHÁVEZ SERVIA

DRA. ARACELI MINERVA VERA GUZMÁN

Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca

Diciembre 2018



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Oaxaca siendo las 13:00 horas del día 31 del mes de octubre del 2018 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR OAXACA para examinar la tesis titulada:
Compuestos nutricionales, polifenoles y actividad antioxidante en granos de maíces pigmentados nativos de Oaxaca

Presentada por el alumno:

<u>Martínez</u>	<u>Martínez</u>
Apellido paterno	Apellido materno
Nombre(s) <u>Raquel</u>	

Con registro:

B	1	6	0	2	1	3
---	---	---	---	---	---	---

aspirante de:

Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Directores de tesis


Dr. José Luis Chávez Servia


Dra. Araceli Minerva Vera Guzmán


Dr. Celestino Robles Pérez


M. en C. Laura Martínez Martínez


Dr. Teodulfo Aquino Bolaños

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES


Dr. Salvador Isidro Belmonte Jiménez



CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN PARA EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
C.I.I.D.I.R.
UNIDAD OAXACA
I.P.N.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESION DE DERECHOS

En la Ciudad de Oaxaca el día 26 del mes de noviembre del año 2018, el (la) que suscribe Raquel Martínez Martínez alumno (a) del Programa de Maestría en Ciencias en Conservación y Aprovechamiento de Recursos Naturales con número de registro B160213, adscrito al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Oaxaca, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de los Dres. José Luis Chávez Servia y Araceli Minerva Vera Guzmán y cede los derechos del trabajo intitulado Compuestos nutricionales, polifenoles y actividad antioxidante en granos de maíces pigmentados nativos de Oaxaca, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección raq_mm26@hotmail.com. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.




Raquel Martínez Martínez
CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACIÓN PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
C.I.I.D.I.R.
UNIDAD OAXACA
I.P.N.

Nombre y firma

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Politécnico Nacional y al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional CIIDIR IPN- Unidad Oaxaca, por la oportunidad de seguir con mi formación académica.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico para la realización de mis estudios.

A mis directores de Tesis: Dr. José Luis Chávez Servia y Dra. Araceli M. Vera Guzmán por todo su apoyo, consejos y sobre todo, su amistad.

A mis asesores y revisores de Tesis: Dra. Elia Nora Aquino Bolaños, M.C. Laura Martínez Martínez, Dr. Celerino Pérez Robles y Dr. Teodulfo Aquino Bolaños, gracias por sus recomendaciones.

M.C. P. Diego Flores gracias por el apoyo en las actividades de campo para la realización de este trabajo.

A mis compañeros y profesores del CIIDIR, por acompañarme durante mi estancia en este Centro.

A Dra. Aleyda Pérez Herrera por las facilidades en el uso de equipos de laboratorio.

Al Dr. Isidro Morales G. y M.C. Sergio Inés V. por sus consejos y gracias por su amistad.

Flor amiguita, gracias por todo tu apoyo.

Isaura, Rosalía, Lulú, Marisol, Yudith y Fabi, gracias por apoyarme en el laboratorio sin ustedes no hubiera podido terminar.

Dedicatoria

*A Dios, el único digno de recibir
la honra y la gloria.*

*A mis padres y hermanos por todo
su apoyo incondicional.*

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN GENERAL.....	i
GENERAL SUMMARY.....	ii
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
1.1 Objetivos.....	3
1.2 Referencias.....	4
CAPÍTULO II. ANTECEDENTES.....	6
2.1 Generalidades.....	6
2.2 Estructura y composición nutricional de granos de maíz.....	6
2.2.1 Macro y micro nutrientes minerales.....	7
2.2.2 Compuestos fenólicos.....	8
2.2.3 Flavonoides.....	9
2.2.4 Antocianinas.....	10
2.3 Actividad antioxidante	11
2.4 Referencias.....	13
CAPÍTULO III. VARIACIÓN FENOTÍPICA EN CONTENIDO DE MINERALES EN GRANO DE MAÍCES PIGMENTADOS CONSERVADOS EN COMUNIDADES INDÍGENAS DE MÉXICO.....	18
3.1 Resumen.....	18
3.2 Introducción.....	19
3.3 Materiales y métodos.....	21
3.3.1 Colecta y siembra del germoplasma.....	21
3.3.2 Muestreo de grano y preparación de muestra.....	24
3.3.3 Determinación de minerales.....	24
3.3.4 Análisis estadístico.....	25
3.4 Resultados	26
3.5 Discusión.....	32
3.6 Conclusiones.....	36
3.7 Referencias.....	36
CAPÍTULO IV. COMPUESTOS FENÓLICOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN GRANOS DE MAÍCES PIGMENTADOS NATIVOS DE OAXACA, MÉXICO.....	41

4.1	Resumen.....	41
4.2	Introducción.....	42
4.3	Materiales y métodos.....	45
4.3.1	Colecta y siembra de germoplasma.....	45
4.3.2	Muestreo y preparación de muestra para análisis.....	47
4.3.3	Contenido de antocianinas en maíces azules y rojos.....	47
4.3.4	Contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante.....	48
4.3.5	Análisis estadístico.....	49
4.4	Resultados.....	50
4.5	Discusión.....	58
4.6	Conclusiones.....	61
4.7	Referencias.....	62
	CAPÍTULO V. CONCLUSIONES GENERALES.....	65

ÍNDICE DE CUADROS

CAPÍTULO III		Pág.
Cuadro 3.1	Lista de poblaciones de maíz pigmentado colectado en cinco regiones de Oaxaca, México.	23
Cuadro 3.2	Descripción de sitios de evaluación de poblaciones de maíz pigmentado de Oaxaca, México.	24
Cuadro 3.3	Significancia de cuadrados medios del análisis de varianza del contenido de minerales en 60 poblaciones de granos pigmentados nativos de Oaxaca.	26
Cuadro 3.4	Comparación de medias entre localidad y grupos de color en contenidos de micro y macronutrientes minerales en granos de maíces pigmentados.	27
Cuadro 3.5	Contenido de nutrientes minerales en la interacción entre localidad y grupos de poblaciones con color de grano amarillo, azul y rojo.	27
Cuadro 3.6	Contenido de micronutrientes minerales en grano de maíces pigmentados nativos de Oaxaca, México.	28
Cuadro 3.7	Contenido macronutrientes minerales en maíces pigmentados nativos de Oaxaca.	30
CAPÍTULO IV		
Cuadro 4.1	Lista de poblaciones de maíz pigmentado colectado en cinco regiones de Oaxaca, México.	46
Cuadro 4.2	Descripción de localidades de evaluación de la colección de maíces pigmentados nativos de Oaxaca, México.	47
Cuadro 4.3	Significancia de cuadrados medios en el análisis de varianza del contenido de antocianinas, fenoles, flavonoides y actividad antioxidante, en maíces pigmentados nativos de Oaxaca, México	50
Cuadro 4.4	Contenido promedio de antocianinas monoméricas en maíces agrupados por color de grano, localidades de cultivo e interacción localidad-grupo de color.	51
Cuadro 4.5	Variación del contenido de antocianinas entre poblaciones de maíces azules (AZ) y rojos (RJ), nativos de Oaxaca, México.	52
Cuadro 4.6	Contenido de polifenoles, flavonoides y actividad antioxidante en función de localidades de cultivo y grupos de color de grano.	53
Cuadro 4.7	Variación del contenido de polifenoles y actividad antioxidante entre poblaciones de maíces de grano azul (AZ), rojo (RJ) y amarillo (AM) de Oaxaca, México.	55
Cuadro 4.8	Interacción de localidad de cultivo y grupos de poblaciones por color de grano, respecto al contenido de fenoles, flavonoides y actividad antioxidante.	56

ÍNDICE DE FIGURAS

		Pág.
CAPÍTULO II		
Figura 2.1	Biosíntesis de flavonoides en maíz	10
Figura 2.2	Representación gráfica de la estructura general de una antocianina y el listado de formas más comunes.	10
CAPÍTULO III		
Figura 3.1	Dispersión de poblaciones de maíces pigmentados, en función del contenido de minerales (mg 100 g ⁻¹) en grano y resultado del cultivo en dos localidades de evaluación.	31
CAPÍTULO IV		
Figura 4.1	Dispersión de poblaciones en función del contenido de antocianinas (mg de C3G 100 g ⁻¹ bs) de maíces azules y rojos, con base en dos localidades de Oaxaca, México.	53
Figura 4.2	Dispersión de poblaciones en función del contenido de fenoles (mg EAG 100g ⁻¹ bs) y flavonoides (mg EC g ⁻¹ bs) en maíces cultivados en dos localidades en Oaxaca, México.	57
Figura 4.3	Dispersión de poblaciones de maíces pigmentados en función de la actividad antioxidante (DPPH y FRAP, en µmol ET g ⁻¹ bs), con base en dos localidades de cultivo en Oaxaca, México.	58
ANEXO A	Poblaciones de maíces de granos pigmentados (amarillo, rojo y azul) nativos de Oaxaca utilizados en este estudio	66

RESUMEN GENERAL

México cuenta con una amplia diversidad de maíz, conservada por pequeños agricultores quienes la clasifican por color de grano principalmente. El color se produce por la síntesis de pigmentos en la cutícula y capa de aleurona del grano, y tiene propiedades antioxidantes y nutricionales-nutracéuticas. El objetivo fue evaluar el contenido de micro y macronutrientes minerales, compuestos fenólicos y actividad antioxidante en una colección de poblaciones nativas de maíces pigmentados, a partir de la siembra en dos localidades de los Valles Centrales de Oaxaca, México. Primero, se realizó una colecta de 57 poblaciones de maíces de grano azul, rojo y amarillo, y se complementó con tres variedades comerciales utilizadas como testigos, colección que fue sembrada y cultivada en Santa María Coyotepec y San Agustín Amatengo, Oaxaca, bajo un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. A partir de una muestra de grano seco se determinó el contenido de Cu, Fe, Mn, Zn, P, K, Mg, Na, Ca y S por espectrofotometría de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES), antocianinas, fenoles, flavonoides y actividad antioxidante por espectrofotometría UV-VIS. En los análisis de varianza se determinaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre localidades de siembra, grupos de color de grano, poblaciones e interacciones localidad-grupo y localidad-poblaciones, en todo los minerales excepto Zn. Se determinó que los grupos de color de grano interactúan con el ambiente en Cu, Fe, Ca y Na. También se determinaron diferencias significativas entre localidades, grupos de color de grano, poblaciones e interacciones localidad-grupo y localidad-poblaciones para antocianinas, fenoles, flavonoides y actividad antioxidante, excepto en flavonoides no hubo diferencias entre localidades. El contenido de antocianinas y fenoles estuvo afectado por la localidad de cultivo, y el contenido de antocianinas en maíces de grano azul fue superior a los rojos. Entre grupos de color de grano se determinaron diferencias significativas decrecientes azul > rojo > amarillo en fenoles, flavonoides y actividad antioxidante. Los resultados apoyan la hipótesis de que los agricultores seleccionan y manejan independientemente los maíces con diferente color de grano, y ese manejo afecta también su composición.

Palabras clave: *Zea mays*, interacción genotipo-ambiente, variedades locales, compuestos bioactivos, espectroscopía de emisión óptica y espectroscopía UV-vis.

GENERAL SUMMARY

Mexico has a broad maize diversity, which is preserved and classified by small-scale farmers mainly using the grain color as a phenotypic marker. The color is product of the biosynthesis of pigments in the cuticle and aleurone layers of the grain, and such pigments have antioxidant and nutritional-nutraceutical properties. The aim of this work was to evaluate micro and macronutrients minerals contents, phenolic compounds, and antioxidant activity in a pigmented maize collection from native populations of Oaxaca, Mexico. Fifty-seven populations of blue, red and yellow maize and three commercial varieties were cultivated in a randomized complete block design with four replications in two locations: Santa Maria Coyotepec and San Agustin Amatengo, Oaxaca. From a sample of dry grain, Cu, Fe, Mn, Zn, P, K, Mg, Na, Ca and S contents were determined using an inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES), and the anthocyanins, phenols, flavonoids and antioxidant activity contents quantified by spectroscopy UV-visible. In the analysis of variance, significant differences were determined among locations, grain color groups, populations, interaction location-groups and location-populations over all minerals except in Zn. The grain color groups interact significantly with locations or environments for Cu, Fe, Ca and Na. In addition, significant differences were determined among locations, grain color groups, populations, location-groups and location-populations interactions in relation to anthocyanins, phenols, flavonoids and antioxidant activity, except for flavonoids between locations. The anthocyanins and phenol contents was affected significantly by crop location, and specifically the populations of blue color presented major content of anthocyanins than red grain. Among grain color groups were detected significant differences having hierarchical patterns blue > red > yellow for phenols, flavonoids and antioxidant activity. Results support the hypothesis referred to farmers about independent selecting and managing of maize by grain color because such management also influence the grain composition.

Key words: *Zea mays*, genotype-environment interaction, landraces, bioactive compounds, spectroscopy of optical emission and spectroscopy UV-vis.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN GENERAL

En México, el maíz forma parte fundamental de la dieta, y se obtiene una gran diversidad de productos y subproductos, con variadas formas de preparación y procesado para su consumo (Fernández-Suárez *et al.*, 2013). En 2017, se generó una producción de un poco más de 21.5 mill. de toneladas de grano, y Oaxaca participó con 1.8% del total, mediante la siembra de 552 mil hectáreas de las que 89% de la superficie sembrada se utilizaron semillas nativas (SIAP, 2017). Es de considerar que, la producción de maíz en México se genera con siembras de semillas nativas multiplicada por los propios agricultores al seleccionar año con año (no mejoradas formalmente) y cultivar mediante técnicas tradicionales, en condiciones de temporal y en pequeñas superficies (Herrera *et al.*, 2002; SIAP, 2017).

La diversidad de nichos agroecológicos en Oaxaca favorecen la amplia diversidad fenotípica y genética del maíz, y se evidencia con una alta diversidad de poblaciones, razas, ciclos de cultivo o precocidades, tamaños de planta y mazorca, de formas, tamaños, densidad y colores de grano desde blancos, amarillo, azul, rojo, pintos a naranja, entre otros (Aragón-Cuevas *et al.*, 2006). La diversidad fenotípica inter e intraracial en maíz se puede evaluar mediante caracteres agromorfológicos (Chávez-Servia *et al.*, 2011; Flores-Pérez *et al.*, 2016), composición química de grano (Cázares-Sánchez *et al.*, 2015; Vera-Guzmán *et al.*, 2012), marcadores genéticos (Pressoir y Berthaud, 2004; Reif *et al.*, 2006) y respuestas adaptativas agroecológicas (Ruiz-Corral *et al.*, 2006), independientemente de las coloraciones de grano. No obstante, el color de grano es uno de los caracteres distintivos usados por los agricultores para diferenciar y manejar agronómicamente sus tipos de maíces, colores que están asociados con usos y formas de consumo especiales, y recae en los pigmentados un alto valor socio-cultural más que económico.

México es uno de los principales países con mayor consumo de maíz, el consumo anual *per cápita* de maíz es de 120 kg, el cual convierte al maíz en un grano básico para la alimentación, cubriendo el 46% de las necesidades calóricas, aportando nutrientes a la dieta diaria como carbohidratos (principalmente almidón), fibra cruda, lípidos, proteínas (aminoácidos),

vitaminas, macro y micro minerales (FAO, 1993; Utrilla-Coello *et al.*, 2007; Cázares-Sánchez *et al.*, 2011).

En el caso de granos pigmentados, aporta compuestos nutraceuticos presentes en pigmentos localizados en la cutícula y capa de aleurona (Espinosa-Trujillo *et al.*, 2009; Paulsmeyer *et al.*, 2017). Estas coloraciones hacen diferente la composición química a los granos pigmentados de los granos blancos o cremas. Por ejemplo, los granos de color azul y rojo se caracterizan por poseer antocianinas y carotenos (Salinas *et al.*, 2003; López-Martínez *et al.*, 2009); entre maíces, la mayor concentración de carotenoides (zeaxantinas y luteínas) se registran en granos amarillos (Egesel *et al.*, 2003; Ndolo *et al.*, 2013), y en particular los tipos pintos (azul-blanco-amarillo-rojo-naranja) aportan mayor concentración de pigmentos al combinar diferentes coloraciones de grano. Las antocianinas y carotenoides confieren al grano y sus productos, una alta actividad antioxidantes y nutraceuticas, debido a la capacidad de capturar radicales libres, potencial redox o quelación de metales (Leopoldini *et al.*, 2011; Ali *et al.*, 2013). Los maíces de grano azul ha mostrado eficacia en la reducción de problemas cardiovasculares, reducen la presión arterial, triglicéridos, colesterol, estrés oxidativo y prevención de algunos tipos de cáncer (Guzmán-Gerónimo *et al.*, 2012; Serna-Saldívar, 2013; Guzmán-Gerónimo *et al.*, 2017; Herrera-Sotero *et al.*, 2017a). De igual manera se ha documentado que los maíces pigmentados nativos poseen mayor contenido de proteína y minerales que las variedades comerciales (Bodi *et al.*, 2008; Vera-Guzmán *et al.*, 2012). Por lo que, es relevante documentar su composición química de grano y aprovechar sus aportaciones nutricionales y nutraceuticas en la dieta.

Hasta décadas recientes los maíces pigmentados han despertado mayor interés, previamente en todas las evaluaciones de composición de grano, solo se incluían granos blancos o amarillos. Un ejemplo de esta marginalización de maíces pigmentados, es evidente en el catálogo nacional de variedades vegetales de 2017, donde se registraron 1331 variedades de maíz donde menos de 5% corresponde a maíces de granos pigmentados, amarillo principalmente (SNICS, 2017). Los mercados de maíz en México centran su atención en grano blanco y a veces amarillo. Por esta y otras razones, la mayor diversidad genética de maíces pigmentados sigue en manos de los pequeños agricultores, en pequeñas áreas y con rendimientos y composición de grano desconocido o sin documentarse. Este hecho trae consigo un inminente riesgo de pérdida o erosión, o en su defecto una diversidad subutilizada o subaprovechada. El presente trabajo, se planteó con el propósito de una revalorización de la composición del grano pigmentado a partir de una colección de muestras poblacionales provenientes de diferentes regiones de Oaxaca. Las preguntas que se plantearon en este trabajo fueron las siguientes: ¿la composición promedio del

grano cambia de una localidad de cultivo a otra?, en este trabajo afirmamos que los campesinos manejan independientemente su maíces de granos pigmentados por lo que se planteó responder ¿si la selección y manejo de maíces pigmentados es independiente, ese manejo diferenciado ha hecho que entre los colores de grano se tenga composición diferente?, ¿hay interacciones significativas entre localidad de siembra y la respuesta diferencial por color de grano?, y ¿hay diferencias en composición de grano entre poblaciones colectadas en diferentes regiones?. Todo esto ayudará a formular estrategias de conservación y aprovechamiento de la diversidad de maíces pigmentados, ya sea por los propios agricultores o por los fitomejoradores.

1.1 Objetivos

Objetivo general

Evaluar el contenido de micro y macronutrientes minerales, compuestos fenólicos y actividad antioxidante en una colección de poblaciones nativas de maíces pigmentados, a partir de la siembra en dos localidades de los Valles Centrales de Oaxaca.

Objetivos específicos

Determinar la variación entre y dentro de grupos de maíces amarillos, rojos y azules, en función del contenido de micro y macronutrientes minerales en grano, con base en la siembra en dos localidades de cultivo.

Determinar la variación entre y dentro de grupos de maíces amarillos, rojos y azules, con base en contenidos de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en grano, a partir de la siembra en dos localidades de cultivo.

1.2 Referencias

- Ali HM, Almagribi W, Al-Rashidi MN, 2016. Antiradical and reductant activities of anthocyanidins and anthocyanins, structure–activity relationship and synthesis. *Food Chem.* 194:1275-1282.
- Aragón-CF, Taba S, Hernández JM, Figueroa J de D, Serrano AJV y Castro HF, 2006. Catálogo de maíces criollos de Oaxaca. INIFAP-SAGARPA. Libro Técnico Núm. 6. 334 p.
- Bódi Z, Pepó P, Kovács A, Széles É, Györi Z, 2008. Macro- and microelement contents of blue and red kernel corns. *Cereal Res. Commun.* 36:147-155.
- Cázares-Sánchez E, Chávez-Servia JL, Salinas-Moreno Y, Castillo-González F, Ramírez-Vallejo P, 2015. Variación de la composición química de grano en variedades nativas de maíz de Yucatán. *Agrociencia* 49:15-30.
- Chávez JL y Diego P, 2011. Familias campesinas y variación fenotípica de poblaciones nativas de maíz en la región de Tlaxiaco, Oaxaca. *Des. Amb. Cult.* 1:28-38.
- Egesel CD, Wong JC, Lambert RJ, Rocheford TR, 2003. Combining ability of maize inbreds for carotenoids and tocopherols. *Crop Sci* 43: 818-823.
- Espinosa-Trujillo E, Mendoza-Castillo MC, Castillo GF, Ortiz-Cereceres F, Delgado AJ Carrillo A, 2009. Acumulación de antocianinas en pericarpio y aleurona del grano y sus efectos genéticos en poblaciones criollas de maíz pigmentado. *Rev. Fitotec. Mex.* 32 (4): 303-309.
- FAO, 1993. Maize in human nutrition series No. 25. Rome Italy. 50 p.
- Fernández-Suárez R, Morales-Chávez LA, Gálvez-Mariscal A, 2013. Importancia de los maíces nativos de México en la dieta Nacional. Una revisión indispensable. *Rev. Fitotec. Méx.* 36: 275-283.
- Flores-Pérez L, López PA, Gil-Muñoz A, Santacruz-Varela A, Chávez-Servia JL, 2015. Variación intra-racial de maíces nativos del altiplano de Puebla, México. *Rev. Fac. de Cienc. Agr.* 47:1-17.
- Guzmán-Gerónimo RI, Alarcón-Zavala TM, Silva-Hernández E, Meza-Alvarado JE, Herrera-Mezas Oliart-Ros RM, Chávez-Servia JL, 2012. Polifenoles totales, antocianinas, actividad antioxidante de maíz azul y su efecto en ratas Wistar con síndrome metabólico inducido. In: 3er. Congreso Internacional de Biología, Química y Agronomía, Septiembre. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, México.
- Guzmán-Gerónimo RI, Alarcón Aparicio E, García Barradas O, Chávez-Servia JL, Alarcón-Zavaleta T, 2017. Chemical, antioxidant, and cytotoxic properties of native blue corn extract. In: Badria FA (ed.), *Natural Products and Cancer Drug Discover.* InTech, Rijeka, Croatia. pp: 67-77.
- Herrera BE, Macías A, Díaz R, Valadez M, Delgado A, 2002. Uso de semilla criolla y caracteres de mazorca para la selección de semilla de maíz en México. *Rev. Fitotec. Mex.* 25:17-24.
- Herrera-Sotero MY, Cruz-Hernández CD, Trujillo-Carretero C, Rodríguez-Dorantes M, García-Galindo HS, Chávez-Servia JL, Oliart-Ros RM, Guzmán-Gerónimo RI, 2017a. Antioxidant and antiproliferative activity of blue corn and tortilla from native maize. *Chem Cent. J.* 11:110.
- Leopoldini M, Russo N, Toscano M, 2011. The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chem.* 125: 288-306.
- López-Martínez LX, Oliart-Ros RM, Valerio-Alfaro G, Lee CH, Parkin KL, García HS, 2009. Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *Food Sci. Tech.* 42: 1187-1192.
- Ndolo VU, Beta T, 2013. Distribution of carotenoids in endosperm, germ, and aleurone fractions of cereal grain kernels. *Food Chem.* 139:663-671.

- Paulsmeyer M, Chatham L, Becker T, West M, West L, Juvik J, 2017. Survey of anthocyanin composition and concentration in diverse maize germplasms. *J. Agric. Food Chem.* 65: 4341-4350.
- Pressoir G, Berthaud J, 2004. Population structure and strong divergent selection shape phenotypic diversification in maize landraces. *Heredity* 92: 95-101.
- Reif JC, Warburton M L, Xia XC, Hoisington DA, Crossa J, Taba S, Muminović J, Bohn M, Frisch M, Melchinger AE, 2006. Grouping of accessions of Mexican races of maize revisited with SSR markers. *Theor. Appl. Gen.* 113:177-185.
- Ruiz-Corral JA, Ramírez DJL, Flores MFJ, Sánchez G JJ, 2000. Cambio climático y su impacto sobre la estación de crecimiento de maíz en Jalisco, México. *Rev. Fitotec. Mex.* 23: 169-182.
- Salinas-Moreno Y, Martínez-Bustos F, Soto-Hernández M, Ortega-Paczka R, Arellano-Vázquez JL, 2003. Efecto de la nixtamalización sobre las antocianinas del grano de maíces pigmentados. *Agrociencia* 37: 617-628.
- Serna-Saldívar SO, Gutiérrez-Urbe JA, Mora-Rochin S, García-Lara S, 2013. Potencial nutraceútico de los maíces criollos y cambios durante el procesamiento tradicional y con extrusión. *Rev. Fitotec. Mex.* 36 (3): 295-304.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2017. Estadísticas de producción agrícola 2017. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, SAGARPA. Ciudad de México, México. http://siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2018/Atlas-Agroalimentario-2018.
- Utrilla-Coello RG, Agama-Acevedo E, Barba AP, Martínez-Salgado JL, Rodríguez-Ambríz SL, Bello-Pérez LA, 2009. Blue maize: morphology and starch synthase characterization of starch granule. *Plant Foods Hum. Nutr.* 64: 18-24.
- Vera-Guzmán AM, Chávez-Servia JL, Carrillo-Rodríguez JC, 2012. Proteína, lisina y triptófano en poblaciones nativas de maíz mixteco. *Rev. Fitotec. Mex.* 35: 7-13.

CAPÍTULO II

ANTECEDENTES

2.1 Generalidades

El maíz es un cereal de alto valor comercial y de consumo mundial, 40% de un total de 1060 mill. ton es utilizado para consumo humano (FAOSTAT, 2016). El consumo varía entre regiones y países; en América los de mayor nivel de consumo son México, Guatemala y Honduras, oscila de 213.60 a 318.74 g/persona/día. Esto implica que el consumo de calorías en forma de carbohidratos, proteína, minerales y compuesto bioactivos a través del maíz es también alto, y con efectos en la salud de las personas.

En México se siembran 7.567 mill. ha y se cosechan en promedio 21.545 mill. ton, regularmente de maíz blanco (86.9%) y solo 95 mil. ton de otros colores. Actualmente los maíces de granos pigmentados (azul, rojo, amarillo, pintos y variegados) no formaban parte de las estadísticas nacionales. Por ejemplo, en Oaxaca se siembran anualmente 518 mil hectáreas pero no se desagregan por color de grano u algún otro indicador de diversidad fenotípica (SIAP, 2017). Arellano *et al.* (2003) en el estado de México, mencionaron que los granos pigmentados nativos están adaptados a múltiples ambientes y alcanzan rendimiento de 2.9 a 5.4 t ha⁻¹. Debido a su importancia comercial, el mayor número de investigaciones sobre composición de grano de maíz se ha centrado en grano amarillo y blanco, y solo en la última década en maíz azul. En México como centro de origen, domesticación y diversificación del maíz, poco se conoce sobre la variación en compuestos bioactivos en relación a la diversidad de variedades tradicionales de grano pigmentado que siembran los agricultores en pequeñas parcelas de cultivo y fundamentalmente para autoconsumo por el bajo precio de mercado.

2.2 Estructura y composición nutricional de granos de maíz

El grano o cariósido de maíz está formado por pericarpio o capa externa, constituye 6% de todo el grano, y se caracteriza por un alto contenido de fibra cruda (87%), desagregada en hemicelulosa (67%), celulosa (23%) y lignina (0.1%). Aleurona es la segunda capa, del exterior al interior, junto con el pericarpio determinan el color de grano. Después sigue el endospermo donde se almacenan los carbohidratos, con 84%, y por último el germen o embrión con 10% del total, donde se concentran lípidos, proteínas, cenizas, minerales y azúcares.

La composición del grano de maíz varía en su contenido nutrimental. Por ejemplo, Vidal-Martínez *et al.* (2008) reportaron que los maíces comerciales presentan menor contenido de proteínas que los nativos de Nayarit con un contenido promedio de 10.3%, y los de grano azul sobresalieron en contenido de lisina y triptófano. Aunque el maíz es deficiente en estos aminoácidos la contribución a la salud no es despreciable debido a los volúmenes de consumo en las comunidades rurales. En trabajos previos realizados por Vera-Guzmán *et al.* (2012) encontraron poblaciones nativas de granos pigmentados con valores similares o superiores a los maíces mejorados etiquetados como de alta calidad de proteína, con valores de 9.3 a 16.8% de proteína, de 0.40 a 0.60% de lisina y 0.081 a 0.086% de triptófano.

2.2.1 Macro y micro nutrientes minerales

El grano de maíz contiene alto contenido de P, K, Mg (macronutrientes) y en menor proporción Fe, Zn, Mn, Cu y Se (micronutrientes), los que se concentran principalmente en el germen (O'Dell *et al.*, 1972; Rodríguez-Pichiling, 1999; Benitez y Peiffer, 2006; Waters, 2011). Tanto en poblaciones nativas como en híbridos comerciales de maíz se reporta una amplia variabilidad en contenido de Fe y Zn (Menkir, 2008; Prasanna *et al.*, 2011; Guleria *et al.*, 2013; Urías-Lugo *et al.*, 2015). Bodi *et al.* (2008) determinaron valores de 3.3, 38.3, 8.0 y 22.5 mg kg⁻¹ para Cu, Fe, Mn y Zn, respectivamente en poblaciones de Hungría. Nascimento *et al.* (2014) reportaron 2.78 y 2.54 mg 100 g⁻¹ de Fe y Zn, respectivamente, en granos de maíz púrpura de Argentina y Urías-Lugo *et al.* (2015) estimaron 56 mg kg⁻¹ de Fe en maíces azules de la raza Chalqueño en Chihuahua, México, superando a cinco híbridos comerciales. Por otra parte, Cantaluppi *et al.* (2017) registraron que las variedades amarillas en Sudáfrica contenían mayor contenido de Ca que las de grano blanco.

La ingesta de nutrientes minerales a través de la dieta tiene efecto directo en la salud humana debido a que cumplen funciones biológicas específicas y forman parte constituyente de macromoléculas (Welch y Graham, 2004; Fraga, 2005). Por otro lado, la baja ingesta de macro o micronutrientes ocasionan problemas de salud, deficiencias de Zn afecta el sistema inmune y, un consumo bajo de Fe provoca desnutrición en mujeres embarazadas y niños; además, ambos elementos están asociados con anemia y trastornos del desarrollo (FAO/WHO, 2001; Mejia-Rodríguez, 2013).

El contenido de nutrientes minerales en grano de maíz está influenciado por elementos nutricionales presentes en el suelo o bien por el suministro mediante fertilizantes. Por ejemplo, las fertilizaciones con nitrógeno o fósforo influye en la composición de nutrientes en el grano (Feil *et al.*, 2005; Hussaini *et al.*, 2008; Martínez-Ballesta *et al.*, 2009). Adicionalmente, el contenido de minerales en el grano también dependerá de la absorción, translocación y movilización de estos nutrientes a través de la planta y la capacidad de translocación-almacenamiento regulada genéticamente (Waters, 2010). Por ejemplo, durante la formación del grano, en condiciones regulares el P y N continúan su absorción y movilización hacia el grano pero las deficiencias hídricas o de nutrientes, genera remobilización hacia las hojas y no al grano; entonces, el tiempo de llenado se reduce y genera menores dimensiones de grano. Regularmente, el grano alcanza su madurez fisiológica cuando obtiene su máximo tamaño por la acumulación de almidón en el endospermo, incrementa el peso y acumulación de materia seca pero se trastorna el proceso por alguna condición de estrés, y afecta su composición (Liu *et al.*, 2011).

2.2.2 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos (ácidos fenólicos y flavonoides) son sintetizados durante todo el ciclo de las plantas como producto de metabolismos secundarios, y están relacionados con respuestas a factores bióticos y abióticos (Vogt, 2009). El maíz contiene principalmente ácidos fenólicos como *p*-cumárico, ferúlico, sinápico y gálico, y se localizan principalmente en endospermo (Salinas-Moreno *et al.*, 2007), mientras que en pericarpio se concentra principalmente ácido ferúlico, 85% del total en grano, el que se puede encontrar en forma libre o esterificada a heteroxilanas, constituyendo parte de la hemicelulosa de pared celular y es la forma la más abundante en el grano (Adom *et al.*, 2002; Cabrera-Soto *et al.*, 2009; Zilic *et al.*, 2012). Las antocianinas, quercetina, catequina y kaempferol son algunos de los flavonoides reportados en grano (Navarro *et al.*, 2018).

El contenido de fenoles y flavonoides en granos es altamente variable por efecto del genotipo, región de origen del germoplasma y condiciones ambientales, entre otros factores. López-Martínez *et al.* (2009), reportaron menor contenido de fenoles en granos de color rojo (283 a 617 mg 100 g⁻¹) que en granos púrpura (3400 mg 100 g⁻¹), entre dieciocho variedades mexicanas de maíz. Salinas-Moreno *et al.* (2012) determinaron diferencias en fenoles entre razas de maíz;

en Chalqueño fue de 918.9 a 1479.2 mg EAG kg⁻¹ y en Bolita de 875 a 1276.2 mg EAG kg⁻¹. Zilic *et al.* (2012) registraron una alta variación entre grupos de color de grano azul, rojo y amarillo con promedios de 10528.8, 6044 y 5393 mg kg⁻¹, respectivamente. Mex-Álvarez *et al.* (2013) en estudios realizados en harina de maíz morado originario de Campeche, determinaron 1445 mg EAG 100 g⁻¹ seguido del maíz rojo con 354 mg EAG 100 g⁻¹.

Guzmán-Gerónimo *et al.* (2012) estimaron en maíz azul de la raza Mixteco un contenido de fenoles de 142.8 a 203.2 mg EAG 100 g⁻¹; de manera semejante, Herrera-Sotero *et al.* (2017b) evaluaron diferentes poblaciones de maíz rojo Mixteco de Oaxaca con 327 a 373 mg EAG 100 g⁻¹; y Cantaluppi *et al.* (2017) en maíz amarillo en África registraron 130.54 mg 100 g⁻¹ de ácidos fenólicos, superando al blanco. Las evaluaciones de la composición del grano en poblaciones de maíz ayudan a documentar la diversidad fenotípica y parte de la diversidad genética, principalmente en los centros de origen, domesticación y diversificación como Mesoamérica.

2.2.3 Flavonoides

Los flavonoides son compuestos bioactivos presentes en granos de maíz y otros cereales, son sintetizados a través de la vía de fenilpropanoides, regulada genéticamente y controlada por enzimas y rutas específicas para producir diferentes metabolitos: flavones, isoflavones, flavanoles (catequinas), flavonoles, flavanonas, proantocianidinas y antocianinas (Figura 2.1) (Leopoldini *et al.*, 2011; Falcone-Ferreya *et al.*, 2012). Los flavonoides reportados son antocianinas, quercetina, catequina, kaempferol (Navarro *et al.*, 2018). Los flavonoles y flavan-3-ols representadas por quercetina y catequina respectivamente, junto con las proantocianidinas, tienen propiedades antioxidantes y se encuentran en granos de maíces pigmentados y no pigmentados (Chen *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2017). Zilic *et al.* (2012), determinaron variaciones en contenidos de catequina en grano amarillo de 280.5, azul de 307.4 y rojo de 267.5 mg EC kg⁻¹. Catequina tiene un efecto preventivo de enfermedades cardiovasculares como hipertensión, trombogénesis, hiperglicemia e hipercolesterolemia, y propiedades antiinflamatorias (Chen *et al.*, 2017).

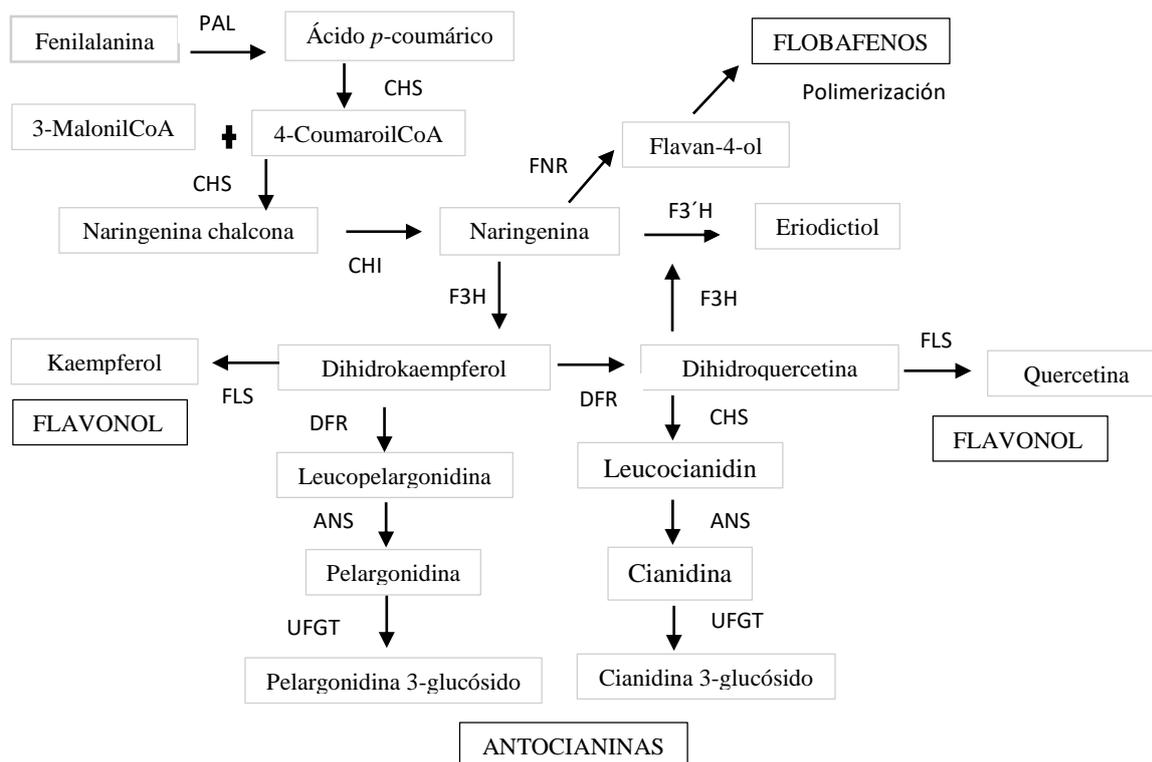
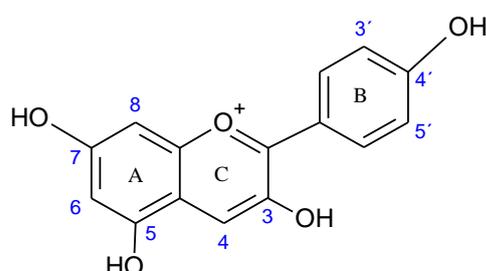


Figura 2.1. Biosíntesis de flavonoides en maíz, PAL (fenilalanina amonio liasa, CHS (chalcona sintasa), CHI (chalcona isomerasa), FNR (flavanona 4-reductasa), FLS (flavonol sintasa), DFR (dihydroflavonol-4-reductasa), ANS (antocianina sintasa), UFGT (UDP-glucosa flavonoide 3-O-glucosiltransferasa), F3'H (flavonoid-3'-hydroxilasa Fuente: Falcone-Ferreyra *et al.* (2012).

2.2.4 Antocianinas

Las antocianinas son flavonoides hidrosolubles, constituida por una molécula de aglicona o antocianidina y un glucósido. En maíz son los responsables de las coloraciones azul, rojo y púrpura de órganos de la planta y granos (Egesel *et al.*, 2003; Meskin *et al.*, 2008; Quispe-Jacobo *et al.*, 2009; Aguilera *et al.*, 2011; Simla *et al.*, 2016) (Figura 2.2). Las antocianinas en grano se concentran en las capas de pericarpio y aleurona con altas variaciones genotípicas y fenotípicas (Salinas *et al.*, 1999; Paulsmeyer *et al.*, 2017).



Aglicona	Grupo sustituyente	
	3'	5'
Pelargonidina	H	H
Cianidina	OH	H
Delfinidina	OH	OH
Peonidina	OCH ₃	H
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃

Figura 2.2 Representación gráfica de la estructura general de una antocianina y el listado de formas más comunes.

Cianidina-3-glucósido (C3G) antocianina no acilada es más común y abundante en granos azul y morado de maíz (Salinas-Moreno *et al.*, 2012; Zilic *et al.*, 2012; Herrera-Sotero *et al.*, 2017a), mientras que en algunas razas de maíz rojo predomina pelargonidina-3-glucósido (Salinas-Moreno *et al.*, 1999). También se han determinado cianidina-3(6''malonilglucósido), cianidina-3-(3''-6''-dimalonilglucósido), pelargonidina-3-(3''-6''malonil glucósido) y cianidina-3-(3''-6''-dimalonil glucósido) (Luo y Wang, 2012; Aoki *et al.*, 2002; Herrera-Sotero *et al.*, 2017), proantocinidinas y formas condensadas de antocianinas-flavanoles (González-Manzano *et al.*, 2008; Herrera-Sotero *et al.*, 2017b). La estructura de las antocianinas determinan sus propiedades de estabilidad, color, potencial biológico y capacidad antioxidante (Hidalgo *et al.*, 2010; Ali *et al.*, 2016; Martín-Bueno *et al.*, 2012).

Salinas *et al.* (2003), en granos rojos de Chiapas, reportaron una variación de 64.7 a 547.7 mg C3G kg⁻¹; Salinas-Moreno *et al.* (2012) señalaron que el contenido de antocianinas difiere entre razas Chalqueño (azul), Bolita (rojo) y Elotes cónicos (azul/morado) con concentraciones de 579.4 a 1042.1, 304.1 a 528 y 997.8 a 1332.2 mg ECG kg⁻¹, respectivamente. En 10 genotipos de maíces pigmentados, Zilic *et al.* (2012) encontraron diferencias en antocianinas, entre grano rojo (15.43 mg C3G kg⁻¹) y azul (378.4 mg C3G kg⁻¹). Herrera-Sotero *et al.* (2017), reportaron concentraciones de 50.1 a 68.1 mg ECG 100 g⁻¹ en granos rojos de maíces originarios de la mixteca oaxaqueña. El contenido de antocianinas en grano pigmentado varía de acuerdo con la población, origen filogenético, altitud, acervos genético y microambiente de cultivo (Salinas *et al.*, 2012), incluyendo incidencia de luz, fertilizaciones y manejo agronómico del cultivo (Jing *et al.*, 2007; Giordano *et al.*, 2018). Por ejemplo, en algunos casos las condiciones elevadas de altitud, alta luminosidad y baja temperatura nocturna favorecen en ciertas poblaciones mayor síntesis y acumulación de antocianinas (Salinas *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2016).

2.3 Actividad antioxidante

El estrés oxidativo es el resultado de una sobreproducción de oxidantes o radicales libres que generan daño celular, y se generan mayores concentraciones en incidencia de enfermedades cardiovasculares y crónico degenerativas, entre otros factores. Los compuestos bioactivos con función antioxidante ayudan a mitigar los daños causados por desórdenes degenerativos. Los compuestos fenólicos, flavonoides, antocianinas, catequinas, flavonoles y ácidos fenólicos, obtenidos a través de extractos de granos procesados o sin procesar de maíz son considerados antioxidantes por secuestrar radicales libres o quelar iones de hierro y cobre debido a la

presencia de grupos hidroxilo en su estructura química y con ello generar estabilización de radicales libres (Adom y Liu 2002; Kedare y Sing, 2011; Kahkonen y Heinonen, 2003; Lui *et al.*, 2011).

Se han desarrollado diversos métodos para evaluar la capacidad antioxidante de compuestos fenólicos, los más utilizados son los métodos de DPPH y FRAP. El método DPPH se emplea para evaluar la capacidad del compuesto o extracto en inhibir el radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracil (DPPH) y formar la hidracina correspondiente. En forma práctica, se observa una reducción en el color del reactivo DPPH y por lo tanto una mayor actividad inhibitoria (Brand Williams, 1995; Salinas-Moreno *et al.*, 2002).

La eficiencia antirradical evaluada a través de antioxidantes polifenólicos es mayor que en monofenólicos. Es decir, la actividad antirradical de compuestos fenólicos es mayor al incrementar el número de grupos hidroxilo (OH); por ejemplo el caso de antocianinas delfinidina y cianidina (Sánchez-Moreno *et al.*, 1999; Ali *et al.*, 2016). Otros flavonoides con 3',4'-dihidroxi en el anillo B, quercetina, catequina y rutina, muestran alta capacidad inhibitoria (Rice-Evans *et al.*, 1996). En extractos de granos pigmentados y otros órganos pigmentados de maíz, están presentes un alto contenido de antocianinas y diversos flavonoides con actividad antirradical (Lui *et al.*, 2011).

El método FRAP (*Ferric Reducing Ability of Plasma*) es utilizado para evaluar la capacidad de compuestos para reducir el complejo férrico Fe^{3+} -TPTZ a su forma ferrosa Fe^{2+} -TPTZ (Benzie y Strain 1996). Cianidina 3-glucósido y delfinidina 3-glucósido continen grupos catecol en el anillo B, los que se asocian con mayor actividad reductora (Jordheim *et al.*, 2007; Ali *et al.*, 2016). La capacidad reductora depende del grado de hidroxilación y conjugación de compuestos fenólicos (Pulido *et al.*, 2000). Las reacciones DPPH y FRAP se comparan con concentraciones de Trólox, un análogo hidrosoluble de α -tocoferol.

Herrera-Sotero *et al.* (2017a) estimó que un conjunto de extractos de maíz rojo mixteco presentaron en promedio actividad antioxidante DPPH de 12.7 $\mu\text{mol ET g}^{-1}$ bs (base seca) y FRAP 2.77 $\mu\text{mol ET g}^{-1}$ bs y en extractos de maíz azul mixteco de 18.5 a 26.8 $\mu\text{mol ET g}^{-1}$ bs. Otros autores también han determinado la actividad antioxidante como el porcentaje de inhibición del radical DPPH, y se reportan hasta 89.5% de inhibición (Salinas-Moreno *et al.*, 2012).

Parte del efecto inhibitorio del crecimiento de células cancerígenas mediante extractos de fenoles, antocianinas y otros flavonoides de granos pigmentados de maíz, se explican por la capacidad antioxidante (Herrera-Sotero *et al.*, 2017, Guzmán Gerónimo *et al.*, 2017), y actividad antiinflamatoria (González-Manzano *et al.*, 2008; Serra *et al.*, 2013). En conjunto ayudan a prevenir estrés oxidativo, envejecimiento, obesidad, diabetes, disminuyen alta presión arterial, colesterol total, triglicéridos y poseen propiedades antimutagénicas, razón por la que se considera al maíz pigmentado como un alimento funcional (Pedreschi *et al.*, 2007; Serna-Saldívar, 2013; Guzmán Gerónimo *et al.*, 2017).

2.4 Referencias

- Adom KK, Liu RH, 2002. Antioxidant activity of grains. *J. Agric. Food Chem.* 50:6182-6187.
- Aguilera-Ortíz M, Reza Vargas MC, Gerardo R, Madinaveitia C, Meza Velázquez JA. 2011. Propiedades funcionales de las antocianinas. *Biotecnia* 13(2): 16-22.
- Ali HM, Almagribi W, Al-Rashidi MN, 2016. Antiradical and reductant activities of anthocyanidins and anthocyanins, structure–activity relationship and synthesis. *Food Chem.* 194:1275-1282.
- Aoki H, Kuze N, Kato Y, 2002. Anthocyanins isolated from purple corn (*Zea mays* L.). *J Foods Food Ingr* 199: 41-45.
- Arellano JL, Tut C, María A, Salinas Y, Taboada OR, 2003. Maíz azul de los Valles Altos de México. I. Rendimiento de grano y caracteres agronómicos. *Rev. Fitotec. Méx.* 26:101-107.
- Benitez-Cadoza CG, Pfeiffer PH, 2006. EL maíz: origen, composición química y morfología. *Materiales Avanzados* 7: 15-20.
- Benzie FF, Strain JJ, 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”. The FRAP assay. *Anal Biochem.* 239:70-76.
- Bódi Z, Pepó P, Kovács A, Széles É, Györi Z, 2008. Macro- and microelement contents of blue and red kernel corns. *Cereal Res. Commun.* 36:147-155.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C, 1995. Use of free a radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT. Food Sci. Techn.* 28(1): 25-30.
- Cabrera-Soto ML, Salinas-Moreno Y, Velázquez-Cardelas GA, Espinosa E, 2009. Contenido de fenoles solubles e insolubles en las estructuras del grano de maíz y su relación con propiedades físicas. *Agrociencia* 43: 827-839.
- Cantaluppi E, Manzi S, Egal AA, Puglisi D, Cassani E, Toschi I, Cesari VT, Landoni M, Scapin A, Pilu R, 2017. Nutritional and phenotypical characterization of two South African maize (*Zea mays* L) varieties sampled in the Qwa-Qwa región. *Maydica* 62(1):1-7.
- Chen C, Somavat P, Singh V, González de Mejía E, 2017. Chemical characterization of proanthocyanidins in purple, blue, and red maize coproducts from different milling processes and their antiinflammatory properties. *Ind. Crops. Prod.*109:464-475.
- Egesel CD, Wong JC, Lambert RJ, Rocheford TR, 2003. Combining ability of maize inbreds for carotenoids and tocopherols. *Crop Sci* 43: 818-823.
- Falcone-Ferreya ML, Rius SP, Casati P, 2012. Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. *Front. Plant Sci.* 3:1-12.

- FAOSTAT, 2016. Area harvested and production 2016. http://www.fao.org/faostat/es/#rankings/countries_by_commodity
- Feil B, Moser SB, Jampatong S, Stamp P, 2005. Mineral composition of the grains of tropical maize varieties as affected by pre-anthesis drought and rate of nitrogen fertilization. *Crop Sci.* 45: 516-523.
- Giordano D, Beta T, Vanara F, Blandino M, 2018. Influence of agricultural management on phytochemicals of colored corn genotypes (*Zea mays* L.)– Part I: Nitrogen fertilization. *J. Agric. Food Chem.* 66(17): 4300-4308.
- González-Manzano S, Pérez-Alonso JJ, Salinas-Moreno Y, Mateus N, Silva AMS, De Freitas V, Santos-Buelga C, 2008. Flavanol-anthocyanin pigments in corn: NMR Characterisation and presence in different purple corn varieties. *J. Food Comp. Anal.* 21: 521-526.
- Guleria SK, Chahota RK, Kumar P, Kumar A, Prasanna BM, Hossain F, Agrawal PK, Gupta HS, 2013. Analysis of genetic variability and genotype × year interactions on kernel zinc concentration in selected Indian and exotic maize (*Zea mays* L.) genotypes. *Indian. J. Agric. Sci.* 83(8):836-41.
- Guzmán-Gerónimo RI, Alarcón-Zavala TM, Silva-Hernández E, Meza-Alvarado JE, Herrera-Mezas Oliart-Ros RM, Chávez-Servia JL, 2012. Polifenoles totales, antocianinas, actividad antioxidante de maíz azul y su efecto en ratas Wistar con síndrome metabólico inducido. In: 3er. Congreso Internacional de Biología, Química y Agronomía, Septiembre. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, México.
- Guzmán-Gerónimo RI, Alarcón Aparicio E, García Barradas O, Chávez-Servia JL, Alarcón-Zavaleta T, 2017. Chemical, Antioxidant, and Cytotoxic Properties of Native Blue Corn Extract. In: Badria FA (ed.), *Natural Products and Cancer Drug Discover*. InTech, Rijeka, Croatia. pp: 67-77.
- Herrera-Sotero MY, Cruz-Hernández CD, Trujillo-Carretero C, Rodríguez-Dorantes M, García-Galindo HS, Chávez-Servia JL, Oliart-Ros RM, Guzmán-Gerónimo RI, 2017a. Antioxidant and antiproliferative activity of blue corn and tortilla from native maize. *Chem Cent. J.* 11:110. <https://doi:10.1186/s13065-017-0341-x>
- Herrera-Sotero MY, González-Cortés F, Juárez-Aguilar E, Rodríguez-Dorantes M, García-Galindo HS, Chávez-Servia JL, Oliart-Ros RM, Guzmán-Gerónimo RI, 2017b. Anthocyanin profile of red maize native from Mixteco race and their antiproliferative activity on cell line DU145. In: Goncalo CJ (ed), *Flavonoids, from biosynthesis to human health*. Intech, Rijeka, Croatia. pp: 393-403.
- Hidalgo M, Sánchez-Moreno C, de Pascual-Teresa S, 2010. Flavonoid–flavonoid interaction and its effect on their antioxidant activity. *Food Chem.* 121: 691-696.
- Hussaini MA, Ogunlela VB, Ramalan AA, Falaki AM, 2008. Mineral composition of dry season maize (*Zea mays* L.) in response to varying levels of nitrogen, phosphorus and irrigation at Kadawa, Nigeria. *World J. Agr. Sci.* 4 (6): 775-780.
- Jing P, Noriega V, Schwartz S, Giusti MM, 2007. Effects of growing conditions on purple corn cob (*Zea mays* L.) anthocyanins. *Agric. Food Chem.* 55:8625-8629.
- Jordheim M, Kjersti Aaby, Torgils Fossen, Skrede G, Oyvind MA, 2007. Molar absorptivities and reducing capacity of pyranoanthocyanins and other anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.* 55: 10591-10598.
- Kahkonen MP, Heinonen M, 2003. Antioxidant activity of anthocyanins and their aglycons. *J. Agric. Food Chem.* 51:3.
- Kedare S, Singh RP, 2011. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J. Food Sci. Techn.* 48(4):412-422.
- Leopoldini M, Russo N, Toscano M, 2011. The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chem.* 125: 288-306.

- Liu K, Ma BL, Luan L, Li C, 2011. Nitrogen, phosphorus, and potassium nutrient effects on grain filling and yield of high-yielding summer corn. *J. Plant Nutr.* 34:1516-1531.
- Liu W, Yin D, Na Li, Xiaogai Hou, Dongmei Wang, Dengwu Li, Jianjun Liu, 2016. Influence of environmental factors on the active substance production and antioxidant activity in *Potentilla fruticosa* L. and its quality assessment. *Scientific Reports* 6:28591.
- López-Martínez LX, Oliart-Ros RM, Valerio-Alfaro G, Lee CH, Parkin KL, García HS, 2009. Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *Food Sci. Tech.* 42: 1187-1192.
- Luo YC, Wang Q, 2012. Bioactive compounds in corn In: *Cereals and Pulses: nutraceutical properties and health benefits*, 1st. Edition Yu, L., Tsao, R., Shahidi, F, Eds; Wiley-Blackwell, Oxford, UK, 85-103.
- Martín Bueno J, Sáez-Plaza P, Ramos-Escudero F, Jiménez AM, Fett R, Asuero AG, 2012. Analysis and antioxidant capacity of anthocyanin pigments. Part II: chemical structure, color, and intake of anthocyanins. *Critical Rev. Anal. Chem.* 42:126-151.
- Martínez-Ballesta MC, Domínguez-Perles R, Moreno DA, Muries B, Alcaraz-López C, Bastias E, García-Viguera C, Carvajal M, 2010. Minerals in plant food: effect of agricultural practices and role in human health. A review. *Agron Sustain Dev* 30: 295-309.
- Mejía-Rodríguez F, Shamah-Levy T, Villalpando S, García-Guerra A, Méndez-Gómez HI, 2013. Iron, zinc, copper and magnesium deficiencies in mexican adults from the national health and nutrition survey. *Salud Pub Mex* 55:275-284.
- Menkir, A. 2008. Genetic variation for grain mineral content in tropical-adapted maize inbred lines. *Food Chem.* 110: 454-464.
- Meskin MS, Bidlack WR, Randolph RK, 2008. *Phytochemicals, aging and health*. Tylor Francis Group. Boca Ratón, Florida: CRC press; 232p.
- Mex-Álvarez RMJ, Bolívar-Fernández NJ, Garma-Quen PM, Tut-Heredia JA, Romero-Guillén KI, 2013. Actividad antioxidante de cinco variedades de maíz cultivadas en Campeche, México. *Bol. Latinoam. Car. Plant. Med. Aromat.* 12(6): 558-571.
- Nascimento AC, Mota C, Coelho I, Gueifão S, Santos M, Matos AS, Gimenez A, Lobo M, Samman N, Castanheira I, 2014. Characterisation of nutrient profile of quinoa (*Chenopodium quinoa*), amaranth (*Amaranthus caudatus*), and purple corn (*Zea mays* L.) consumed in the North of Argentina: Proximates, minerals and trace elements. *Food Chem.* 148:420-426.
- Navarro A, Torres A, Fernández-Aulis F, Peña C, 2018. Bioactive compounds in pigmented maize. In: Fahad S (ed.), *Corn-Production and Human Health in Changing Climate*. InTech, London, UK. pp: 69–91.
- O'Dell BL, De Boland AR, Koirtiyohann SR, 1972. Distribution of phytate and nutritionally important elements among the morphological components of cereal grains. *J. Agric. Food Chem.* 20: 718-723.
- Paulsmeyer M, Chatham L, Becker T, West M, West L, Juvik J, 2017. Survey of anthocyanin composition and concentration in diverse maize germplasms. *J. Agric. Food Chem.* 65: 4341-4350.
- Pedreschi R, Cisneros-Zevallos L, 2007. Phenolic profiles of Andean purple corn (*Zea mays* L.). *Food Chem.* 100:956-963.
- Prasanna BM, Mazumdar S, Chakraborti M, Hossain F, Manjaiah K M, Agrawal PK, Guleria SK, Gupta HS, 2011. Genetic variability and genotype x environment interactions for kernel iron and zinc concentrations in maize (*Zea mays* L) genotypes. *Ind. J. Agric. Sci.* 81:704-11.
- Pulido R, Bravo L, Saura-Calixto F, 2000. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *J. Agric. Food Chem.* 48(8): 3396-3402.

- Quispe JF, Arroyo CK, Gorriti GA, 2011. Características morfológicas y químicas de 3 cultivares de maíz morado (*Zea mays* L.) en Arequipa –Perú. *Rev. Soc. Quím. Perú.* 77(3): 205-217.
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G, 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biol. Med.* 20(7): 933-956.
- Rodríguez-Pichiling C, 1999. Elementos químicos en algunos vegetales comestibles. *Rev. Per. Quím. e Ing Quím.* 2: 90-96.
- Salinas-Moreno Y, Soto M, Martínez-Bustos F, González VH, Ortega R, 1999. Análisis de antocianinas en maíces de grano azul y rojo provenientes de cuatro razas. *Rev. Fitotec. Mex.* 22: 161-174.
- Salinas-Moreno Y, Martínez-Bustos F, Soto-Hernández M, Ortega-Paczka R, Arellano-Vázquez JL, 2003. Efecto de la nixtamalización sobre las antocianinas del grano de maíces pigmentados. *Agrociencia* 37: 617-628.
- Salinas MY, López R JJ, González FBG, Vázquez CG, 2007. Compuestos fenólicos del grano de maíz y su relación con el oscurecimiento de masa y tortilla. *Agrociencia* 41: 295-305.
- Salinas-Moreno Y, Pérez-Alonso JJ, Vázquez-Carrillo G, Aragón-Cuevas F, Velázquez-Cardelas G, 2012. Antocianinas y actividad antioxidante en maíces (*Zea mays* L.) de las razas chalqueño, elotes cónicos y bolita. *Agrociencia* 46: 693-706.
- Serna-Saldívar SO, Gutiérrez-Urbe JA, Mora-Rochin S, García-Lara S, 2013. Potencial nutraceutico de los maíces criollos y cambios durante el procesamiento tradicional y con extrusión. *Rev. Fitotec. Mex.* 36 (3): 295-304.
- Serra D, Paixaó J, Nunes C, Dinis CP, Almeida LM, 2013. Cyanidin-3-Glucoside suppresses cytokine-induced inflammatory response in human Intestinal cells: comparison with 5-Aminosalicylic acid. *PLoS ONE* 8(9): e73001. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073001>
- Simla S, Boontang S, Harakotr B, 2016. Anthocyanin content, total phenolic content and antiradical capacity in different ear components of purple waxy corn at two maturation stages. *Austr. J. Crop Sci.* 10:675-682.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), 2017. Estadísticas de producción agrícola 2017. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, SAGARPA. Ciudad de México, México. http://siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2018/Atlas-Agroalimentario-2018
- Urías-Lugo DA, Heredia JB, Valdez-Torres JB, Muy-Rangel MD, Serna-Saldivar SO, García-Lara S, 2015. Physical properties and chemical characterization of macro- and micro-nutriments of elite blue maize hybrids (*Zea mays* L.). *Cereal Res. Comm.* 43: 95-306.
- Vera-Guzmán AM, Chávez-Servia JL, Carrillo-Rodríguez JC, 2012. Proteína, lisina y triptófano en poblaciones nativas de maíz mixteco. *Rev. Fitotec. Mex.* 35: 7-13.
- Vidal MVA, Vázquez CG, Coutiño EB, Ortega CA, Ramírez DJL, Valdivia BR, Guerrero MJ H, Caro VFJ, Cota AO, 2008. Calidad proteínica en accesiones de maíces criollos de la Sierra de Nayarit, México. *Rev. Fitotec. Mex.* 31(3):15-21.
- Vogt T, 2010. Phenylpropanoid biosynthesis. *Molecular plant* 3(1): 2-20.
- Waters BM, Sankaran RP, 2011. Moving micronutrients from the soil to the seeds: genes and physiological processes from a biofortification perspective. *Agron. Hort. Fac. Pub.* 180: 562-574.
- Welch RM, Graham RD, 2004. Breeding for micronutrients in staple food crops from a human nutrition perspective. *J. Exp. Bot.* 55: 353-364.
- World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations (WHO/FAO), 2004. Vitamin and mineral requirements in human nutrition. WHO/FAO, Geneva, Switzerland, 341 p.

- Zhang R, Long H, Yuanyuan D, Chi J, Zhang Y, Wei Z, Zhang M, 2017. Phenolic content and antioxidant activity of eight representative sweet corn varieties grown in South China. *Int. J. Food Prop.* 20:3043-3055.
- Žilić S, Serpen A, Akıllıoğlu G, Gökmen V, Vančetovic J, 2012. Phenolic compounds, varotenoids, anthocyanins, and antioxidant capacity of colored maize (*Zea mays* L.) kernels. *J. Agric. Food Chem.* 60:1224-123.

CAPÍTULO III

VARIACIÓN FENOTÍPICA EN COMPOSICIÓN DE MINERALES DE GRANO DE MAÍCES PIGMENTADOS CONSERVADOS EN COMUNIDADES INDÍGENAS DE MÉXICO

3.1 Resumen

En décadas recientes los maíces pigmentados han despertado interés por su aportación de compuestos bioactivos y elementos nutricionales para mejorar la salud. Con el objetivo de evaluar el contenido de nutrientes minerales en grano de una colección de maíces pigmentados de Oaxaca, México, se cultivaron 57 poblaciones y tres variedades comerciales en dos localidades. A la cosecha se obtuvo una muestra aleatoria de grano y se cuantificó el contenido de Cu, Fe, Mn, Zn, P, Mg, K, Ca, Na y S, mediante espectrofotometría de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES). Los resultados muestran que la localidad de cultivo influye de manera significativa en el contenido de minerales, y se determinaron diferencias significativas entre poblaciones, grupos de color de grano e interacción poblaciones-localidades en todos los minerales excepto en Zn. Los grupos de color de grano interaccionaron con el ambiente en Cu, Fe, Ca y Na. Entre poblaciones se determinó una variación en todos los elementos excepto en Zn. Los resultados indican que, a partir de las poblaciones sobresalientes de grano azul, rojo y amarillo es posible iniciar un programa de mejoramiento genético.

Palabras clave. *Zea mays*, espectroscopía de emisión óptica, interacción genotipo-ambiente, variedades locales.

3.2 Introducción

México es centro de origen, domesticación y diversificación de maíz, y en parcelas de agricultores se conserva una alta diversidad fenotípica y genética (Kato et al., 2009). En el proceso evolutivo de teosinte al maíz actual, la selección natural y humana ha generado cambios en la diversidad y estructura genética de las poblaciones cultivadas, no solamente en aspectos agronómicos sino también en estructura y composición química de grano (Vigouroux et al., 2002; Wright et al., 2005; Olsen y Wendel, 2013). En tiempos recientes, la selección y manejo de semillas que hacen los agricultores genera fuertes divergencias fenotípicas y genéticas entre poblaciones o variedades locales cultivadas en una misma comunidad o en comunidades diferentes (Pressoir y Berthaud, 2004), y cada comunidad ejerce diferente presión de selección en función de la necesidad de adaptar las poblaciones a parcelas de cultivo (nichos agroecológicos) y usos locales (Perales et al., 2005). Aunque localmente, cada agricultor reconoce y preserva, en su visión, un reducido número de variedades locales de maíz diferenciadas por color de grano, ciclo de cultivo, caracteres de planta, mazorca o grano, a pesar de esto no es un indicador de reducida diversidad genética.

La diversidad fenotípica y genética de maíz en sus centros de origen o diversificación se ha asociado con factores sociales étnicos, manejo de esa diversidad por agricultores y variación ambiental, entre otros (Pressoir y Berthaud, 2004; Perales et al., 2005; Orozco et al., 2016), y genera diferencias en composición química de grano entre variedades locales (Cázares-Sánchez et al., 2015; Vera-Guzmán et al., 2012), cambios que son de enorme importancia para los agricultores y consumidores locales (Fernández-Suárez et al., 2013, Nascimento et al., 2014).

Es de resaltar que los minerales son importantes en la salud humana para diferentes funciones metabólicas específicas y forman parte central de la estructura química de distintas macromoléculas (Welch y Graham, 2004., Fraga, 2005). Por ejemplo, una ingesta deficiente de Zn y Fe se asocia con desnutrición en mujeres embarazadas y niños (WHO/FAO, 2004; Spiller, 2001; Mejía-Rodríguez, 2013). El consumo *per cápita* de maíz es alto en diferentes países de América y África (250 kg/año), el grano aporta a la dieta carbohidratos, fibra cruda, grasas, proteínas, aminoácidos, vitaminas y minerales (WHO/FAO 2004, Utrilla-Coello et al., 2009). El germen aporta mayor contenido de P, K y Mg, y en menor proporción Fe, Zn, Mn, Cu, Na, Ca y Se (O'Dell et al., 1972; Rodríguez-Pichiling, 1999; Benitez y Peiffer, 2006., Waters y

Sankaran, 2010), y varían en función del genotipo, ambiente, manejo de cultivo y sus interacciones.

La acumulación de minerales en el grano de maíz depende de diferentes factores que inician desde la absorción, movilización o remobilización y almacenamiento en grano, en función del estado fenológico de la planta, fertilidad o adición de nutrientes a la planta, estrés biótico o abiótico desde pre-antesis, formación, llenado y maduración de grano (Benke y Stich, 2011; Chen et al., 2016; Zhang et al., 2017a). En diferentes trabajos de fertilización se cuantificó el cambio en contenido de minerales del grano con la adición al suelo o foliar de zinc (Wang et al., 2012), fósforo (Zhang et al., 2017a) y nitrógeno (Feil et al., 2005; Yu-Kui et al., 2008; Chen et al., 2016), entre otros. Complementariamente, Prasanthi et al. (2017) señalan que la composición de minerales en grano de maíz difiere significativamente en función del uso o tipo de maíz; por ejemplo, “baby”, dulce, dentado o procesado como palomitas de maíz, sémola, harina y hojuelas. Suri y Tanumihardjo (2016) remarcan que en el procesamiento del grano para alimento, afecta directamente la biodisponibilidad y asimilación humana; por ejemplo, el remojo y cocción reduce fuertemente la disponibilidad pero con la fermentación y nixtamalización es menos drástica la disminución de minerales.

El contenido de minerales en grano de maíz está fuertemente afectado por el genotipo, ambiente e interacción genotipo ambiente. En maíces tropicales Oikeh et al. (2003, 2004) y Feil et al. (2005) estimaron una mayor magnitud de la varianza ambiental en comparación con el efecto de genotipos e interacción genotipo-ambiente. No obstante, una respuesta contraria fue determinada por Menkir (2008) al evaluar líneas endogámicas de maíz tropical. Los análisis genéticos y mapeos de QTLs han identificado desde 12 a 28 o más regiones cromosómicas asociadas con alto contenido de minerales a través de diferentes ambientes. No obstante, los resultados varían en función del material genético utilizado y número de ambientes evaluados (Jin et al., 2013; Gu et al., 2015; Zhang et al., 2017b). Al respecto Chakraborti et al. (2011) identificaron regiones cromosómicas más definidas para el contenido de hierro y zinc.

Con el propósito de establecer estrategias de conservación y aprovechamiento de maíz nativo con alto contenido de minerales en grano o con fines de mejoramiento genético, es necesario evaluar estos acervos genéticos en función del contenido de micro y macro-nutrientes minerales a ambientes contrastantes, dado que los maíces pigmentados han recibido poco o nula atención. Algunos avances mostrados por Bodí et al. (2008) determinaron que, los maíces de granos

azules presentaron mayores contenidos de minerales que los granos rojos. Cantaluppi et al. (2017) reportaron que variedades nativas de grano amarillo de Sudáfrica presentan mayor contenido de calcio que las de grano blanco. También es pertinente señalar que un alto contenido de minerales en maíces pigmentados complementa nutricionalmente el alto contenido de carotenoides en granos amarillos y rojos o antocianinas en azules (Egesel et al., 2003; López-Martínez et al., 2009; Salinas-Moreno et al., 2012), y proveerán de mayor cantidad de compuestos funcionales en un mismo producto benéfico para la salud, los que han mostrado evidencias de prevención de ciertos tipos de cáncer (Serna-Saldívar, 2010; Guzmán-Gerónimo et al., 2017; Serna-Saldívar et al., 2013; Herrera-Sotero et al., 2017). En este contexto, se planteó el objetivo de evaluar la variación del contenido de minerales en grano de una colección de maíces pigmentados, a partir de la siembra en dos ambientes de cultivo.

3.3 Materiales y métodos

3.3.1 Colecta y siembra de germoplasma

De diciembre 2015 a marzo de 2016 se realizó una colecta de maíces pigmentados preservados por agricultores en 39 municipios de Oaxaca, México y se integró una colección de 57 muestras poblacionales de grano amarillo (30), rojo (13) y azul (14). Todas las poblaciones se realizaron en comunidades de los grupos etnolingüísticos Zapoteco, Mixteco, Mixe y Chinanteco. Al momento de la colecta se registró el nombre del agricultor donante, color visual de grano, características descriptivas de la parcela de cultivo, origen de la semilla y se complementó con una georreferenciación de la comunidad, entre otros aspectos (Cuadro 3.1).

La colección de 57 poblaciones de maíz pigmentado más tres variedades comerciales utilizadas como testigos (VC-42 de grano azul, Tuxpeño Básica y SBA-4032 de grano amarillo), se sembraron en San Agustín Amatengo (julio 5, 2016) y Santa María Coyotepec (julio 21, 2016), Oaxaca, México, bajo un diseño en bloques completos al azar con cuatro repeticiones. Las localidades presentan variaciones climáticas de semiseco a semicálido con precipitaciones anuales de 500 a 700 mm, temperatura anual promedio de 20°C, y suelos de pH alcalino, contenido medio de materia orgánica y condiciones aceptables de fertilidad de suelo (Cuadro

3.2). El experimento se desarrolló en condiciones de temporal complementada con riegos de auxilio y una fertilización básica de 120-100-60 de N, P y K, respectivamente.

Cuadro 3.1. Lista de poblaciones de maíz pigmentado colectado en cinco regiones de Oaxaca, México.

Población ^a	Municipio o comunidad de origen	Altitud (msnm) ^b	Latitud (O)	Longitud (N)	Población ^a	Municipio o comunidad de origen	Altitud (msnm) ^b	Latitud (O)	Longitud (N)
AM05 ^Z	Santo Domingo Xagacia	1672	17° 16' 07"	96° 29' 01"	AM70 ^Z	San Agustín Amatengo	1361	16° 30' 37"	96° 47' 21"
AM06 ^Z	San Pablo Yaganiza	1530	17° 09' 07"	96° 14' 01"	AZ02 ^Z	Santa Catarina Lachatao	2111	17° 16' 05"	96° 28' 19"
AM07 ^Z	San Melchor Betaza	1431	17° 15' 30"	96° 09' 09"	AZ03 ^Z	Santa María Yavesia	1977	17° 14' 03"	96° 25' 46"
AM08 ^Z	Santo Domingo Roayaga	1615	17° 14' 30"	96° 22' 09"	AZ06 ^Z	Santo Domingo Roayaga	1615	17° 14' 30"	96° 22' 09"
AM10 ^Z	San Francisco Cajonos	1650	17° 10' 15"	96° 15' 00"	AZ09 ^M	Santo Domingo Tonalá	1653	17° 40' 40"	98° 01' 19"
AM21 ^Z	Talea de Castro	1642	17° 22' 45"	96° 14' 56"	AZ10 ^M	Silacayoapan	1847	16° 33' 68"	96° 72' 74"
AM22 ^Z	Santa Ana, Miahuatlán	1584	17° 14' 30"	96° 22' 09"	AZ13 ^M	San Pedro Topiltepec	2168	17° 31' 40"	97° 20' 42"
AM23 ^M	Santo Domingo Tonalá	1653	17° 40' 40"	98° 01' 19"	AZ16 ^M	San Juan Ñumi	2065	17° 21' 14"	97° 42' 27"
AM24 ^M	Ixpantepec Nieves	1718	17° 31' 68"	96° 03' 74"	AZ18 ^M	Tlaxiaco	1907	17° 31' 11"	97° 36' 50"
AM26 ^M	Silacayoapan	1847	16° 33' 68"	96° 72' 74"	AZ19 ^M	Santiago Yosondúa	2116	16° 53' 06"	97° 34' 55"
AM27 ^M	Santiago Tamazola	1662	17° 59' 59"	98° 19' 69"	AZ21 ^M	San Miguel Achiutla	1988	17° 18' 48"	97° 28' 34"
AM29 ^M	Santiago Ayuquílilla	1616	17° 57' 28"	98° 00' 44"	AZ23 ^Z	Tlacolula de Matamoros	1624	16° 57' 15"	96° 28' 45"
AM30 ^M	Santiago Cacaloxtepc	1640	17° 41' 17"	97° 56' 31"	AZ24 ^Z	Santo Domingo Teojomulco	1060	16° 30' 57"	97° 13' 16"
AM35 ^M	San Juan Mixtepec	1776	17° 28' 63"	97° 71' 36"	AZ25 ^{Mi}	Totontepec Villa de Morelos	1776	17° 12' 55"	96° 03' 28"
AM37 ^M	Tezoatlán de Segura y Luna	1473	17° 43' 20"	97° 44' 33"	AZ27 ^M	Santa Catarina Tayata	2055	17° 08' 28"	97° 23' 30"
AM40 ^M	Magdalena Peñasco	2062	17° 14' 11"	97° 33' 50"	AZ28 ^M	Silacayoapan	1506	17° 51' 24"	98° 05' 38"
AM41 ^M	Tlaxiaco	1907	17° 31' 11"	97° 36' 50"	RJ01 ^Z	Santa María Yavesia	1977	17° 14' 03"	96° 25' 46"
AM42 ^M	San Mateo Peñasco	1940	17° 09' 20"	97° 32' 00"	RJ02 ^M	San Mateo Peñasco	1940	17° 09' 20"	97° 32' 00"
AM45 ^M	San Miguel Achiutla	1988	17° 18' 48"	97° 28' 34"	RJ03 ^M	San Miguel Achiutla	1859	17° 15' 22"	97° 30' 18"
AM49 ^M	Santa María Tataltepec	1629	17° 05' 55"	97° 24' 50"	RJ04 ^M	San Bartolomé Yucuañe	1830	17° 14' 29"	97° 27' 00"
AM50 ^Z	Tlacolula de Matamoros	1624	16° 57' 15"	96° 28' 45"	RJ05 ^M	San Bartolomé Yucuañe	1830	17° 14' 29"	97° 27' 00"
AM51 ^Z	San Andrés Zabache	1438	16° 36' 25"	96° 51' 27"	RJ06 ^M	San Juan Mixtepec	1776	17° 28' 63"	97° 71' 36"
AM52 ^Z	Santa María Sola	1468	16° 34' 11"	97° 00' 50"	RJ07 ^M	Santiago Cacaloxtepc	1640	17° 41' 17"	97° 56' 31"
AM53 ^Z	Santo Domingo Teojomulco	1257	16° 34' 11"	97° 00' 50"	RJ08 ^M	San Antonino Monte Verde	2213	17° 31' 53"	97° 43' 13"
AM55 ^Z	San Jacinto Tlacoxtepc	1062	16° 31' 11"	97° 23' 15"	RJ09 ^M	Santiago Tamazola	1662	17° 59' 59"	98° 19' 69"
AM58 ^{Mi}	Santa María Tlahuitoltepec	2087	17° 05' 43"	96° 03' 17"	RJ10 ^M	Silacayoapan	1847	16° 33' 68"	96° 72' 74"
AM59 ^{Mi}	Totontepec Villa de Morelos	1776	17° 12' 55"	96° 03' 28"	RJ11 ^M	Silacayoapan	1847	16° 33' 68"	96° 72' 74"
AM60 ^Z	San Juan Comaltepec	707	17° 20' 06"	95° 58' 30"	RJ12 ^M	Ixpantepec Nieves	1718	17° 31' 68"	96° 03' 74"
AM62 ^Z	Santiago Choapan	904	17° 14' 06"	96° 00' 30"	RJ13 ^C	Santiago Jocotepec	278	17° 37' 49"	96° 01' 01"

^aPrefijo de color de grano, AM = amarillo; AZ = azul y RJ = rojo.; Grupo etnolingüístico; ^Z = Zapoteco, ^M = Mixteco, ^{Mi} = Mixe, y ^C = Chinanteco; ^bmsnm = metros sobre el nivel del mar

Cuadro 3.2. Descripción de sitios de evaluación de poblaciones de maíz pigmentado en Oaxaca, México.

Descriptores de sitio y suelo	Localidades	
	San Agustín Amatengo	Santa María Coyotepec
<i>Descriptores de sitio¹:</i>		
Latitud (LN)	16° 30' 37"	16° 57' 58"
Longitud (LO)	96° 47' 21"	96° 42' 23"
Altitud (m.s.n.m)	1361	1518
Temperatura promedio anual (°C)	20.9	20.0
Precipitación promedio anual (mm)	693.8	526.5
Clima	semiseco a semicálido	semiseco a semicálido
<i>Descriptores de suelo²:</i>		
pH (en H ₂ O)	8.30	7.80
C.E (dSm ⁻¹)	0.15	0.22
Materia orgánica (%)	3.0	3.3
P-Olsen (mg kg ⁻¹)	4.8	6.4
K (cmol ₊ kg ⁻¹)	0.9	1.0
Ca (cmol ₊ kg ⁻¹)	27.8	26.4
Mg (cmol ₊ kg ⁻¹)	2.5	4.0
Fe (mg kg ⁻¹)	13.4	36.8
Zn (mg kg ⁻¹)	0.7	0.9
Mn (mg kg ⁻¹)	11.9	10.9
Cu (mg kg ⁻¹)	2.8	5.5
N inorgánico (mg kg ⁻¹)	38.5	29.8

¹CNA, INEGI (2016), ²análisis de suelo en los laboratorios de la Universidad Autónoma Chapingo con base en la Norma NOM-021-RECNAT (2000).

3.3.2 Muestreo de grano y preparación de muestra

En cada localidad se tomó una muestra de 10 mazorcas por población, con base en el diseño experimental de distribución en campo, y se desgranaron de forma manual, se mezcló y obtuvo una muestra compuesta de 500 g de grano y después una submuestra de 100 g para triturarse de manera fina en un molino Apex (Apex Constrution[®], LTD) y posteriormente en molino de granos (Krupps[®], México). Finalmente, la harina se cribó en un tamiz con malla de 500 µm y se almacenó en frascos ámbar a -20 °C hasta su análisis.

3.3.3 Determinación de minerales

Una muestra de 1.5 g de harina de maíz se llevó a peso constante en estufa (Barnstead/Thermolyne Oven series 9000, USA) a 105 °C (AACC 44-15), después se incineró a 570 °C en mufla (Barnstead/Thermolyne 1400, USA) y se llevó a peso constante (AACC 08-01.01), (AACC 1976). Al residuo de ceniza se añadió 3 mL de ácido clorhídrico concentrado

(J.T. Baker[®]), se aforó a 50 mL con agua desionizada y se filtró con papel filtro de poro fino y almacenó en refrigeración hasta su análisis. Complementariamente, se preparó un blanco sin muestra, siguiendo el mismo procedimiento, con el propósito de analizar junto con las muestras y descartar posible contaminación por reactivos.

La cuantificación de micro y macronutrientes (Cu, Fe, Zn, Mn, P, Ca, Mg, K, Na y S), se hizo por espectrometría de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES Thermo Scientific iCAP 6500 DUO, England) con configuración radial y axial, con argón como gas auxiliar y automuestreador (CETAC ASX-520, USA). El análisis se realizó con flujo de gas auxiliar a 0.4 L min⁻¹, 1200 W potencia de RF, 50 rpm en velocidad de análisis con 10 s en la estabilización de bomba peristáltica. La cuantificación, se hizo con base en estándares multielementos de referencia (High Purity Standards[®], USA) de P, Mg, K, Ca, Fe, Na en un intervalo de 1 a 100 mg L⁻¹, y para Cu, S, Mn y Zn de 0.2 a 5 µg mL⁻¹. El límite inferior de detección para Mn, Cu, Zn, Mg, Na, S y Mg, fue de 0.0001, 0.0002, 0.002, 0.003, 0.005, 0.009 y 0.00006 mg L⁻¹, respectivamente, y 0.01 mg L⁻¹ para P, K y Ca. Todos los análisis se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron en mg 100 g⁻¹ base seca.

3.3.4 Análisis estadístico

Se realizaron análisis de varianza combinado para evaluar el efecto de localidad, grupos de color de grano, poblaciones e interacciones localidad-grupos de color y localidad-poblaciones. En este modelo de análisis, se consideró al efecto de poblaciones anidadas en grupos de color de grano, con el fin de evaluar diferencias entre grupos de color y las diferencias entre poblaciones dentro de cada grupo. Complementariamente se hicieron comparaciones múltiples de media por el método de Tukey ($p \leq 0.05$). Todos los análisis se hicieron en el paquete estadístico SAS (SAS Institute, 2002).

3.4 Resultados

En el análisis de varianza se determinaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$, 0.01) entre localidades de evaluación, entre grupos de color de grano (rojo, azul y amarillo) y entre poblaciones, para todos los minerales evaluados, excepto en zinc en grupos de color y poblaciones. En la interacción localidades-grupos de color de grano se detectaron diferencias en Cu, Fe, Ca y Na. En la interacción localidad-poblaciones hubo diferencias significativas en Cu, Fe, Mn, Ca, Na y S. El Na, Fe y S los que presentaron los coeficientes de variación más altos, 34.4, 33.0 y 28.7%, respectivamente (Cuadro 3.3).

Cuadro 3.3. Significancia de cuadrados medios en el análisis de varianza del contenido de minerales en 60 poblaciones de maíces pigmentados nativos de Oaxaca.

Minerales en grano	Fuentes de variación						Error	C.V. (%)
	Localidad (L)	Color (C)	LxC	Poblaciones (P)/C ¹	LxP	Rep./L ¹		
Cu	0.26**	0.08**	0.03*	0.03**	0.02**	0.004 ^{ns}	0.01	16.6
Fe	22.40**	0.60**	1.20**	0.30**	0.20*	0.20 ^{ns}	0.10	33.0
Mn	0.30**	0.05**	0.01 ^{ns}	0.02**	0.01*	0.03**	0.01	15.0
Zn	0.54**	0.04 ^{ns}	0.16 ^{ns}	0.07 ^{ns}	0.04 ^{ns}	0.09 ^{ns}	0.05	12.9
P	893230**	19303**	931 ^{ns}	3583**	2666 ^{ns}	4258*	1948	13.0
Mg	42648**	2041**	132 ^{ns}	375**	291 ^{ns}	475 ^{ns}	225	12.0
K	552377**	76551**	3026 ^{ns}	4426**	2050 ^{ns}	2621 ^{ns}	1957	11.0
Ca	105.4**	21.1**	23.3**	1.5**	1.0**	0.6 ^{ns}	0.5	21.8
Na	125.1**	32.6**	14.9**	0.8**	1.4**	1.1**	0.4	34.4
S	35.9**	22.6**	0.7 ^{ns}	0.9**	0.8**	0.4 ^{ns}	0.2	28.7

¹Indica poblaciones anidadas en grupos de colores de grano y repeticiones anidadas en localidades; ^{ns} = no significativo ($p > 0.05$); *significativo a $p \leq 0.05$; **significativo a $p \leq 0.01$; C.V. = coeficiente de variación.

En la comparación de medias entre localidades de evaluación, se observó que el contenido de Cu, Fe, Mn y S fue significativamente mayor en San Agustín Amatengo que en Santa María pero tuvo un efecto contrario en Zn, Mg, K, P, Ca y Na, respectivamente. Esto indica que las características edafo-climáticas ambientales tiene un efecto significativo en minerales del grano de maíces pigmentados. En relación a la comparación de grupos de color de grano, se observó que regularmente las poblaciones de grano rojo presentan mayor contenido de minerales, excepto en Fe que fue mayor en amarillos y en S sobresalieron los de grano azul (Cuadro 3.4).

Cuadro 3.4. Comparación de medias entre localidad y grupos de color en contenidos de micro y macronutrientes minerales en maíces pigmentados.

Minerales en grano (mg 100 g ⁻¹)	Localidades		Grupo de color de grano (n = muestras)		
	San Agustín Amatengo	Santa María Coyotepec	Azul (16)	Rojo (13)	Amarillo (32)
Cu	0.27 a [†]	0.21 b	0.24 b [†]	0.26 a	0.22 b
Fe	1.55 a	0.79 b	1.07 b	1.08 b	1.24 a
Mn	0.55 a	0.50 b	0.53 ab	0.54 a	0.52 b
Zn	3.2 b	3.5 a	3.5 a	3.3 a	3.2 a
P	292.2 b	395.4 a	332.6 b	350.4 a	347.5 a
Mg	107.7 b	129.8 a	116.2 b	122.2 a	118.9 ba
K	336.6 b	414.3 a	385.8 b	401.2 a	362.4 c
Ca	8.3 b	14.4 a	11.3 b	14.6 a	10.2 b
Na	2.4 b	6.6 a	5.4 b	6.5 a	3.4 c
S	5.0 a	2.7 b	5.5 a	4.6 b	2.9 c

[†]Entre localidades o entre color de grano, medias con la misma letra no difieren significativamente ($p < 0.05$)

En la interacción localidad por grupo de color las diferencias no fueron significativas ($p < 0.05$) para el contenido de Zn, Mn, P, Mg, K y S (Cuadro 3.5). Es decir, en estos minerales hay independencia entre la selección que hacen los agricultores por color de grano con el contenido de estos minerales. El contenido de Cu fue mayor en granos rojos en ambas localidades y en granos azules en San Agustín Amatengo. En la localidad de Santa María se determinó menor contenido de Fe que en San Agustín, lo que indica que las condiciones agroecológicas de Santa María influyeron negativamente en la acumulación de Fe en el grano de todos los materiales evaluados (Cuadro 3.5).

Cuadro 3.5. Contenido de nutrientes minerales en la interacción entre localidad y grupos de poblaciones con color de grano amarillo, azul y rojo.

Minerales (mg 100 g ⁻¹)	San Agustín Amatengo (n)			Santa María Coyotepec (n)		
	Amarillo (32)	Azul (16)	Rojo (13)	Amarillo (32)	Azul (16)	Rojo (13)
Micronutrientes:						
Cu	0.24 bc [†]	0.29 a	0.27 ab	0.20 dc	0.19 d	0.25 ab
Fe	1.54 a	1.58 a	1.57 a	0.94 b	0.64 b	0.60 b
Mn	0.56 a	0.54 a	0.56 a	0.48 a	0.51 a	0.52 a
Zn	2.99 a	6.62 a	3.08 a	3.52 a	3.40 a	3.37 a
Macronutrientes:						
P	295.2 a	277.0 a	300.1 a	400.2 a	380.7 a	400.7 a
Mg	108.9 a	102.0 a	110.8 a	129.0 a	128.4 a	133.5 a
K	327.8 a	342.8 a	353.7 a	397.3 a	422.8 a	448.9 a
Ca	7.4 d	5.1 e	13.9 bc	13.0 c	16.6 a	15.3 ba
Na	1.0 d	2.6 c	5.7 b	5.8 b	7.8 a	7.3 a
S	3.8 a	7.5 a	5.8 a	2.0 a	3.7 a	3.5 a

[†]En renglón, medias con la misma letras no difieren significativamente (prueba de Tukey, $p < 0.05$)

Entre poblaciones de granos pigmentados hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) en todos los minerales evaluados, incluyendo testigos comerciales, excepto en Zn. En micronutrientes en grano se observó que diferentes poblaciones de grano amarillo, azul o rojo superaron significativamente ($p < 0.05$) a los testigos en Cu, Fe y Mn (Tabla 3.6). Entre poblaciones de grano amarillo, la variación fue de 0.10 a 0.32, 0.70 a 2.12 y de 0.45 a 60; en azul de 0.15 a 0.37, 0.52 a 1.64 y 0.46 a 0.60; y en rojo de 0.22 a 0.32, 0.50 a 1.36 y de 0.41 a 0.64 mg 100 g⁻¹, en contenido de Cu, Fe y Mn, respectivamente. Las poblaciones más sobresalientes en micronutrientes fueron: AM58 y AM59 de grano amarillo, AZ24, AZ02 y AZ03 de azul, y RJ02, RJ03, RJ05 y RJ06 de rojo, incluyendo el testigo azul VC-42, todos con valores semejantes en Zn (Cuadro 3.6).

Cuadro 3.6. Contenido de micronutrientes minerales en grano de maíces pigmentados nativos de Oaxaca, México.

Población ID	Cu ¹	Fe ¹	Mn ¹	Zn ¹	Población ID	Cu	Fe ¹	Mn ¹	Zn ¹
AM05	0.24 ¹	0.97	0.46	2.89	AZ02	0.23	1.27	0.58	3.50
AM06	0.24	1.28	0.54	3.28	AZ03	0.29	1.12	0.58	3.28
AM07	0.20	0.86	0.46	2.77	AZ06	0.22	1.37	0.49	3.23
AM08	0.23	1.33	0.56	3.35	AZ09	0.16	1.64	0.50	3.08
AM10	0.22	1.40	0.57	3.29	AZ10	0.19	1.42	0.47	3.29
AM21	0.22	1.94	0.60	3.39	AZ13	0.20	0.71	0.60	3.21
AM22	0.25	1.72	0.59	3.17	AZ16	0.18	1.10	0.46	3.15
AM23	0.23	2.12	0.49	3.60	AZ18	0.20	1.22	0.51	3.09
AM24	0.19	1.91	0.49	3.31	AZ21	0.17	0.52	0.46	2.90
AM26	0.24	1.20	0.53	3.33	AZ23	0.23	0.61	0.51	3.09
AM27	0.24	0.82	0.48	2.76	AZ24	0.37	0.66	0.51	5.19
AM29	0.22	1.05	0.57	3.68	AZ25	0.30	0.75	0.56	3.47
AM30	0.22	0.98	0.51	3.28	AZ27	0.26	1.38	0.54	3.56
AM35	0.23	1.08	0.49	3.06	AZ28	0.15	0.62	0.57	2.90
AM37	0.20	0.99	0.45	3.08	RJ01	0.28	1.25	0.59	2.91
AM40	0.32	1.66	0.54	3.83	RJ02	0.25	1.19	0.58	3.33
AM41	0.26	1.71	0.52	3.37	RJ03	0.27	1.30	0.64	3.74
AM42	0.19	1.20	0.55	3.40	RJ04	0.23	0.50	0.54	3.06
AM45	0.20	0.70	0.52	3.29	RJ05	0.28	1.22	0.59	3.71
AM49	0.23	1.20	0.51	3.11	RJ06	0.27	1.36	0.58	3.38
AM50	0.22	0.95	0.52	3.07	RJ07	0.22	0.92	0.48	3.16
AM51	0.22	1.14	0.51	3.05	RJ08	0.27	0.71	0.56	3.43
AM52	0.21	1.14	0.55	3.33	RJ09	0.26	1.10	0.51	3.00
AM53	0.23	0.76	0.45	3.09	RJ10	0.25	1.16	0.55	3.02
AM55	0.21	1.00	0.49	2.79	RJ11	0.26	0.82	0.53	3.31
AM58	0.30	1.81	0.59	3.45	RJ12	0.25	1.15	0.41	2.96
AM59	0.32	0.82	0.57	3.57	RJ13	0.32	1.11	0.51	3.06
AM60	0.10	0.76	0.56	2.90	VC-42	0.39	1.53	0.62	5.30
AM62	0.16	0.96	0.52	3.32	Tuxpeño	0.22	1.45	0.43	3.15
AM70	0.19	1.26	0.54	3.54	SBA-4032	0.16	1.37	0.48	3.68
DHS-Tukey ²	0.18	1.61	0.18	2.84	DHS-Tukey	0.18	1.61	0.18	2.84

Prefijos ID; AM, AZ y RJ, indican grano amarillo, azul y rojo.¹mg 100 g⁻¹; ²Diferencias entre poblaciones mayor o igual al valor de DHS difieren significativamente (prueba de Tukey, $p \leq 0.05$)

En cuanto a macronutrientes, en cada grupo de color de grano se determinaron poblaciones sobresalientes en dos o más elementos y difieren de color a color. Aunque en general, las poblaciones de color amarillo presentaron intervalos de variación bajos en todos los macroelementos, excepto en P. En P, Mg, K, Ca, Na y S, las poblaciones de grano amarillo oscilaron de 291.7 a 391.5, 100.0 a 130.9, 320.1 a 425.6, 5.5 a 14.5, 1.4 a 6.2 y 1.0 a 5.7 mg 100 g⁻¹, respectivamente; en poblaciones de color azul fue de 311.3 a 377.5, 108.8 a 131.0, 371.1 a 420.4, 7.3 a 18.8, 3.0 a 9.5 y 3.8 a 7.9 mg 100 g⁻¹; y en rojo de 318.4 a 387.9, 107.7 a 143.6, 381.6 a 498.0, 12.4 a 17.8, 2.2 a 7.6 y 0.8 a 6.5 mg 100 g⁻¹, respectivamente (Cuadro 3.7). Todo esto indica que existen poblaciones de grano azul y rojo que superan a las de grano amarillo y a las variedades comerciales utilizadas como testigos en este trabajo. Las poblaciones con potencial en valores de macronutrientes fueron; AM21 y AM58 de grano amarillo; AZ02 y AZ03 de color azul; y RJ01, RJ03 y RJ06 de rojo, y el testigo más competitivo fue VC-42 de grano azul.

Cuadro 3.7. Contenido macronutrientes minerales en maíces pigmentados nativos de Oaxaca.

Población ID	P ¹	Mg ¹	K ¹	Ca ¹	Na	S ¹	Población ID	P ¹	Mg ¹	K ¹	Ca ¹	Na	S ¹
AM05	325.2	110.7	332.2	9.6	3.9	1.8	AZ02	368.0	126.1	399.7	17.2	7.0	6.3
AM06	369.8	127.6	354.3	12.2	3.7	1.1	AZ03	376.9	131.0	415.9	18.8	9.5	6.4
AM07	324.0	108.0	320.1	12.7	5.3	1.7	AZ06	340.2	123.3	377.5	6.8	2.6	3.7
AM08	370.0	126.2	354.7	13.4	2.8	1.6	AZ09	318.8	114.1	391.2	8.5	3.0	6.5
AM10	365.0	124.7	369.5	10.0	2.9	2.1	AZ10	322.9	108.8	387.1	7.3	3.3	3.9
AM21	373.8	130.9	364.3	13.7	4.1	3.0	AZ13	377.5	125.7	420.4	12.0	4.6	3.8
AM22	354.7	117.5	352.7	9.0	3.3	1.5	AZ16	311.3	112.0	366.7	8.4	4.2	5.1
AM23	332.2	111.8	369.5	10.3	4.0	4.3	AZ18	341.2	113.7	420.0	8.4	4.4	5.1
AM24	327.5	112.4	341.8	7.2	2.6	1.8	AZ21	311.3	110.1	354.4	9.9	4.7	3.9
AM26	354.5	119.6	372.1	8.2	2.9	1.8	AZ23	324.2	115.4	374.2	9.9	4.3	4.4
AM27	291.7	100.0	335.6	9.5	2.7	4.5	AZ24	318.7	112.1	394.4	12.0	6.8	7.9
AM29	344.8	119.0	353.6	10.8	3.2	2.3	AZ25	336.7	113.7	379.9	12.9	7.9	5.1
AM30	340.2	116.7	373.3	13.0	4.3	4.2	AZ27	329.5	116.2	380.2	13.6	5.7	5.8
AM35	352.4	117.9	410.9	12.1	4.4	4.3	AZ28	319.7	111.2	371.1	17.4	9.1	5.2
AM37	320.2	110.6	343.5	10.3	3.6	2.1	RJ01	387.9	130.9	420.4	11.8	5.4	3.5
AM40	358.4	120.6	397.2	9.9	6.2	5.7	RJ02	361.4	129.2	384.7	14.4	6.9	3.6
AM41	337.0	120.2	386.7	5.5	3.1	5.4	RJ03	377.1	132.8	428.0	17.8	7.6	6.5
AM42	362.2	124.1	373.8	14.5	3.8	1.9	RJ04	358.5	121.1	400.5	14.5	6.3	2.9
AM45	360.7	123.7	379.6	11.4	3.0	1.0	RJ05	355.0	123.3	411.4	14.7	5.9	4.7
AM49	363.6	122.9	365.2	8.9	3.5	1.4	RJ06	352.0	122.7	425.5	15.4	7.1	6.3
AM50	323.5	113.3	336.0	12.6	4.2	2.1	RJ07	328.1	115.1	389.7	13.5	5.4	4.3
AM51	336.6	114.5	334.2	8.0	2.3	1.7	RJ08	444.1	143.6	498.0	12.4	2.2	0.8
AM52	362.2	121.6	361.5	10.7	3.0	2.2	RJ09	329.9	118.8	394.5	15.0	7.0	5.4
AM53	338.1	117.0	375.9	7.8	3.7	5.5	RJ10	331.4	118.5	396.0	15.3	6.5	4.9
AM55	338.2	120.7	327.2	9.1	4.2	2.4	RJ11	333.2	120.4	394.2	13.7	6.0	4.7
AM58	387.2	127.6	425.6	10.4	4.0	3.9	RJ12	318.4	107.7	381.6	14.9	6.9	4.9
AM59	363.2	126.3	391.3	11.1	2.9	3.9	RJ13	350.8	121.0	362.2	15.0	8.1	4.3
AM60	356.8	119.2	366.6	8.8	1.8	2.6	VC-42	342.9	121.2	388.8	10.4	6.3	7.8
AM62	391.5	129.7	401.5	9.4	1.4	2.3	Tuxpeño	314.0	117.2	332.8	7.8	2.4	4.5
AM70	340.7	116.5	343.1	8.9	2.0	4.0	SBA-4032	341.7	117.9	359.5	10.0	2.7	4.1
DHS-Tukey ²	100.5	34.2	100.7	8.3	5.4	5.0	DHS-Tukey ²	100.5	34.2	100.7	8.3	5.4	5.0

Prefijos ID; AM, AZ y RJ, indican grano amarillo, azul y rojo.¹ mg 100 g⁻¹; ²Diferencias entre poblaciones mayor o igual al valor DHS, difieren significativamente (prueba de Tukey, $p \leq 0.05$).

En la interacción localidad-poblaciones no se detectaron diferencias significativas en Zn, P, Mg, y K. En contraposición, el contenido de Cu, Fe, Mn, Ca, Na y S en grano, las poblaciones difieren significativamente en su estabilidad a través de localidades de evaluación. En la Figura 3.1 se representa, de manera gráfica, la respuesta de poblaciones agrupadas por color de grano en interacción con dos localidades y expresan la estabilidad o variación en respuesta. Por ejemplo, en Fe (Figura 3.1a) sobresalen con mayor contenido y de forma estable ocho poblaciones de grano amarillo, cuatro de grano azul, y las de color rojo porque presentaron mayor contenido de Fe en Santa María Coyotepec pero no en San Agustín Amatengo. Esto indica que es posible iniciar una selección de poblaciones para mayor contenido de Fe, Cu, Ca,

Mn, Na y S a partir de las poblaciones de mayor estabilidad, cuadrantes superiores derechos representados en las gráficas de la Figura 3.1. En este sentido podemos señalar que un alto número de poblaciones de grano rojo fueron estables en valores altos en contenido de Ca, Na y S; algunas poblaciones de amarillo fueron estables en Ca, Cu, Mn y Fe; un patrón semejante se observó para las de color azul en Fe, Cu, Mn, S, Na y Ca. En general, las poblaciones de color azul presentaron mayor estabilidad en su composición de minerales en las dos localidades de evaluación.

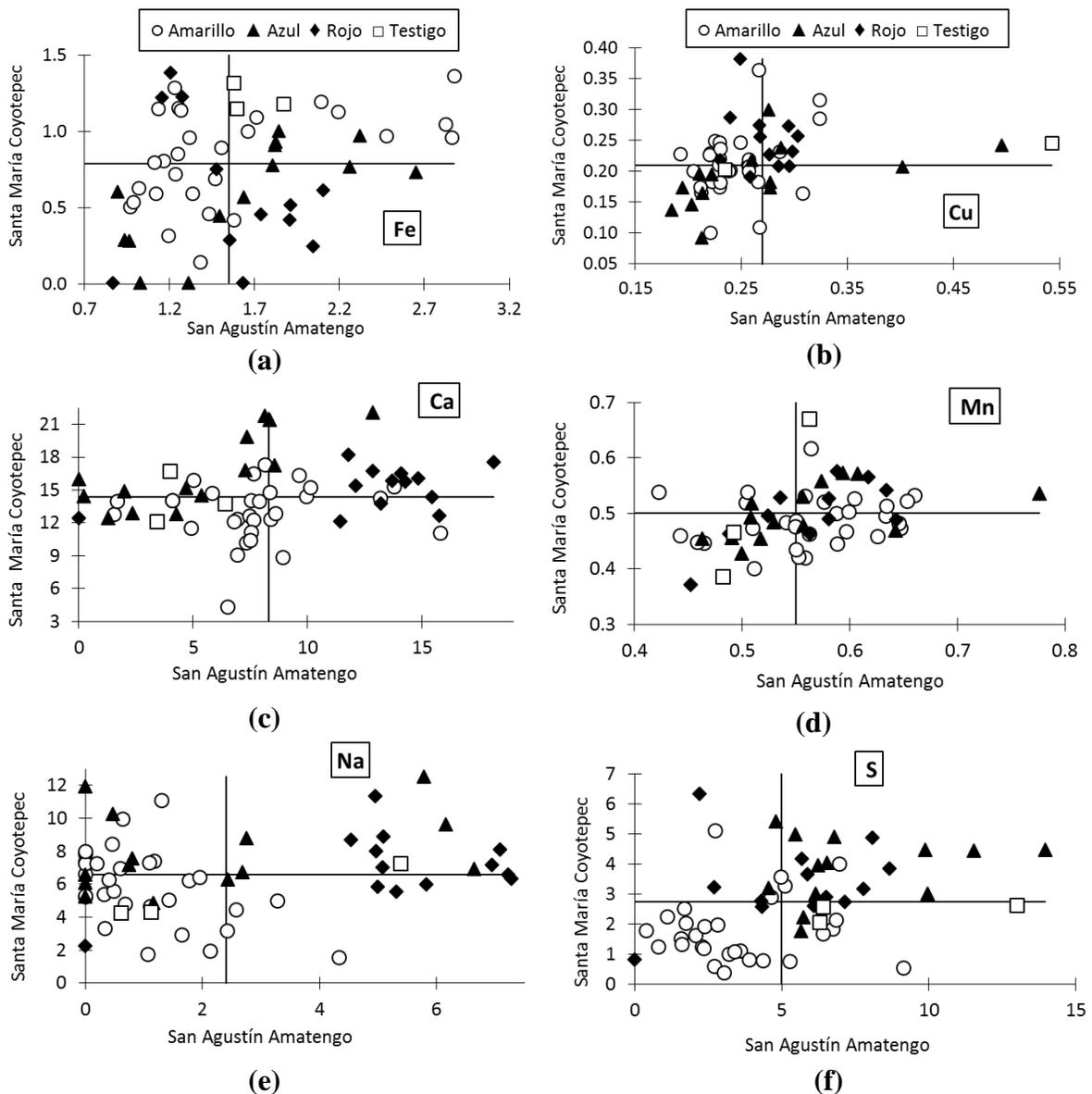


Fig. 3.1. Dispersión de poblaciones de maíces pigmentados, en función del contenido de minerales ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$) en grano y resultado del cultivo en dos localidades de evaluación.

3.5 Discusión

La acumulación de minerales en granos de maíz depende de diversos factores asociados con la fisiología de planta desde la fase vegetativa hasta llenado y maduración de grano. El ambiente y/o prácticas de cultivo (p. ej. aplicación de fertilizantes), el genotipo e interacciones genotipo-ambiente o genotipo-prácticas de cultivo, han sido determinantes en el contenido final de minerales en granos de maíz (Feil et al., 2005; Yu-Kui et al., 2008; Wang et al., 2012; Gu et al., 2015; Zhang et al., 2017b). Es de considerar que la acumulación de minerales en grano depende de la fisiología de la planta de maíz, desde la absorción del suelo, translocación, relaciones de demanda de nutrientes en diferentes órganos (p. ej. expansión foliar, floración, fecundación y multiplicación celular en la futura mazorca, etc.), sequía en llenado de grano y acumulación final en grano (Chen et al., 2016; Zhang et al., 2017a, b). Por todo esto, en el presente trabajo nos referimos, a una estimación del contenido de micro- y macro-nutrientes minerales acumulados en grano como parte del efecto genotípico (poblaciones), ambiental (=localidades de evaluación) e interacciones genotipo-ambiente.

Los resultados muestran que entre localidades o ambientes hubo diferencias significativas en todos los minerales evaluados. En todos los casos la varianza atribuida al efecto de localidades fue mayor que la de poblaciones (genotipos) e interacciones localidades-genotipos. En Santa María Coyotepec seis de diez elementos, presentaron mayor valor que en San Agustín (Cuadro 3.4). Esto indica que el ambiente ejerce una fuerte influencia en la acumulación de minerales en grano, ya sea por influencia ecológica, características físicas y fertilidad de suelo (Cuadro 3.2), y manejo agronómico diferencial o una combinación de todos estos factores, no obstante que se aplicó la misma fórmula de fertilización. Estos resultados coinciden con los reportes de Oikeh et al. (2003) y Feil et al. (2005) en maíces tropicales que presentaron fuerte efecto ambiental en minerales del grano. Esto hace pensar que la evaluación del contenido de minerales en grano de un solo ciclo de cultivo y/o pocos ambientes es insuficiente para determinar la estabilidad de los genotipos a través de ambientes.

El color de grano es un carácter simple que utilizan los agricultores para diferenciar, manejar de manera independiente los tipos de maíz y también para seleccionar sus lotes de semilla en cada

ciclo de cultivo (Perales et al. 2005). Este hecho documentado de manejo independiente de las poblaciones con distinto color de grano, también se reflejó en diferencias en composición promedio de minerales. Por ejemplo, en contenido de Fe, el grupo de poblaciones de grano amarillo fue significativamente superior a las de color azul y rojo, semejante a lo reportado por Oikeh et al. (2003, 2004). En S, los de color azul fueron superiores a rojos y amarillos. En promedio, las poblaciones de grano rojo fueron altas en siete elementos, y mostraron indicios de mayor aislamiento o un manejo especial entre agricultores (Cuadro 3.4). Estos resultados difieren de lo reportado por Bodi et al. (2008) quienes determinaron mayor contenido de P, K, S, Mg, Fe, Cu, Zn en maíces de grano azul que en otros colores. Esto es, el grupo de poblaciones de grano rojo en nuestro resultados o azul en el caso de Bodi et al. (2008), sugieren que hay mayor translocación, quizás demanda y almacenamiento de minerales en maíces de grano negro o rojo, que en colores claros e indicador de un mayor potencial de aprovechamiento y consumo para mejorar la salud en comunidades rurales. Además, los granos pigmentados contribuyen con compuestos bioactivos como carotenoides, antocianinas, fenoles y flavonoides (Urías-Lugo et al. 2015; Herrera-Sotero et al. 2017).

En la interacción grupos de color-localidades de cultivo, se determinaron diferencias significativas en contenido de Cu, Fe, Ca y Na. Esto indica que hubo una respuesta diferencial entre grupos de colores de grano en función del ambiente. Un ejemplo representativo fue el caso de Fe donde en San Agustín Amatengo, los tres grupos (amarillo, rojo y azul) presentaron valores más altos que en Santa María Coyotepec, y el caso contrario fue Ca y Na, en el grupo de granos azules y rojos. En contenido de Cu, el grupo de granos rojos fue alto en ambas localidades. Estas diferencias entre grupos de color de grano a través de localidades, obedecen, en parte, a diferencia en fertilidad del suelo; por ejemplo, en Santa María Coyotepec, el contenido de materia orgánica, P, Mg, Fe y Cu fueron ligeramente mayores que en San Agustín Amatengo (Cuadro 3.2). Esto es, la composición química o fertilidad del suelo suele afectar el contenido de minerales de forma semejante al efecto que se produce con la adición al suelo de mayor cantidad de zinc, nitrógeno o fósforo durante la fertilización del cultivo (Feil et al., 2005; Yu-Kui et al., 2008; Wang et al., 2012; Chen et al. 2016; Zhang et al., 2017a, b).

Los resultados no muestran evidencias de interacción significativa entre grupos de color de grano y localidades de evaluación en Mn, Zn, P, Mg, K y S en grano. Esto indica que la

clasificación del grano por color visual de pericarpio y/o aleurona no siempre se puede asociar con diferencias en composición de minerales en grano. Un hecho semejante documentó Menkir (2008) al evaluar diferentes agrupamientos de 278 líneas endogámicas a través localidades en ocho ensayos de evaluación en Nigeria. No obstante que, Menkir (2008) evaluó líneas homogéneas y en nuestro caso evaluamos poblaciones o variedades del productor con alta heterogeneidad en características de mazorca y grano. Los resultados también mostraron que es alta la variación dentro de cada grupo de color de grano respecto a estos minerales evaluados, hecho que se confirma en los Cuadros 3.6 y 3.7.

Los resultados mostraron alta variación entre poblaciones en contenido de minerales en grano, excepto en Zn y reflejan parte de la diversidad genética entre diferentes acervos genéticos del maíz cultivado por los agricultores de Oaxaca, México. Entre poblaciones de diferente color de grano, se determinó diferente grado de absorción, movilización y acumulación de Cu, Fe y Mn en grano (Cuadro 3.6). No obstante, Zhang et al. (2017a) señalan que la partición y acumulación de micronutrientes en maíz es diferente en función del tipo de órgano u estructura; por ejemplo, Cu, Mn y Fe se acumula en mayor proporción en hojas y brácteas que en grano, a pesar de que se incrementa la demanda en grano a partir de la floración y fecundación de óvulos en la flor femenina (Chen et al., 2016).

Los resultados de micronutrientes minerales presentan patrones diferenciales significativos entre poblaciones y es materia prima para iniciar un programa de mejoramiento genético. La variación entre poblaciones en Fe, Zn, Cu y Mn fue de 0.50 a 2.12, de 2.77 a 5.19, de 0.10 a 0.37 en Cu y de 0.41 a 0.64 mg 100 g⁻¹, respectivamente. Esto valores son semejantes a los valores cuantificados por Feil et al. (2005) en maíz tropical, y en contenido de Fe y Zn coinciden con las estimaciones de Bänzinger y Long (2000) en germoplasma de maíz evaluado en México y Zimbabue, entre otros autores. Con fines de selección de genotipos, aprovechamiento directo o emprender una estrategia de mejoramiento genético, Chakraborti et al. (2011) y Zhang et al. (2017b) consideran como genotipos promisorios a los que poseen 25 mg kg⁻¹ o más de Fe y Zn. Aquí es conveniente señalar que las estimaciones de minerales difieren en función del método de detección o evaluación (proceso de digestión de muestra) y sensibilidad del equipo; espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS), espectrometría de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) o espectrometría de absorción

atómica (AAS), como lo refieren Chakraborti et al. (2011) y Nascimento et al. (2014). A diferencia del maíz blanco, los maíces pigmentados además de micronutrientes minerales aportan compuestos bioactivos de importancia para la salud (Herrera-Sotero et al., 2017).

En macronutrientes las poblaciones se diferencian significativamente, la variación en Ca, Mg, K, Na, P y S fue de 5.5 a 17.8, de 100.0 a 143.6, de 320.1 a 498.0, de 1.4 a 9.5, de 291.7 a 391.5 y de 0.8 a 7.9 mg 100 g⁻¹ (Cuadro 3.7), lo que permite seleccionar las poblaciones promisorias. En maíces azules, los valores determinados en este trabajo en Ca, P, K, Na y Mg fueron semejantes los reportados por Urías-Lugo et al. (2015) y Nascimento et al. (2014) en híbridos y variedades locales de maíces azules de México y Argentina, respectivamente. Este hecho también se repite en los reportes de Qamar et al. (2017) en una variedad de maíz amarillo de Pakistan. Esto es, a pesar de la heterogeneidad de las poblaciones nativas aquí evaluadas, el contenido promedio de macroelementos es similar a las variedades mejoradas y líneas endogámicas evaluadas en otros trabajos (Menkir, 2008; Urías-Lugo et al., 2015), y las diferencias entre poblaciones obedecen, en parte, a la capacidad de translocación y almacenamiento en grano.

En la interacción localidades de evaluación (efecto de ambiente) y poblaciones, se determinaron diferencias significativas en Fe, Cu, Ca, Mn, Na y S, con patrones diferenciales en función del color de grano (Fig. 3.1). Entre poblaciones hubo diferencias en estabilidad de respuesta y se diferenciaron por color de grano. En contenido de Fe sobresalieron diferentes poblaciones de grano amarillo y algunas de color azul tanto en ambas localidades, e indicador de mayor estabilidad, un hecho semejante reportó Qamar et al. (2017) en la comparación de variedades de grano amarillo y blanco. No obstante, los de grano amarillo no se destacaron en Ca, Na y S. Las poblaciones de grano rojo y azul sobresalieron en concentración de Ca, Na y S pero en Mn se expresó una combinación de maíces azules, rojos y amarillos. Estas respuestas fueron semejantes a las reportadas por Menkir (2008) para líneas endogámicas e híbridos de grano blanco y las respuestas indican que es posible iniciar un programa de mejoramiento genético con cada grupo de maíces pigmentado a partir de las poblaciones sobresalientes. Adicionalmente, también podemos señalar que el manejo diferencial por color de grano que hacen los agricultores a sus maíces ha generado aislamientos y diferenciación fenotípica con cargas genéticas de interés para el fitomejorador.

3.6 Conclusiones

Las localidades de cultivo o ambiente y manejo influyeron de manera significativa en el contenido de minerales en grano, y las poblaciones agrupadas por color de grano también mostraron diferencias importantes excepto en zinc e indican un manejo diferencial por color que hacen los agricultores de sus maíces preservados en sus parcelas. Los grupos de color de grano interaccionan con el ambiente en Cu, Fe, Ca y Na. Entre poblaciones se determinó una alta variación en todos los elementos evaluados excepto en Zn y permite seleccionar dentro de maíces azules, rojos y amarillo los de mayor contenido de Fe, Cu, Mn, P, Mg, K, Ca, Na y S. Las poblaciones AZ02 y AZ03 de grano azul y RJ03 y RJ09 de grano de color rojo destacaron por su mayor contenido en micro y macroelementos. En este estudio, las poblaciones interaccionaron con sitios de cultivo en Cu, Fe, Mn, Ca, Na y S. El contenido de zinc cambió significativamente por efecto del ambiente y no por efecto del genotipo o interacciones genotipo-ambiente. Todo esto refleja una alta diversidad fenotípica en composición de minerales en grano de maíces pigmentados preservados por los agricultores tradicionales en Oaxaca, México.

3.7 Referencias

- AACC, 1976. Approved methods of the AACC. American Association of Cereal Chemists. St. Paul MN.
- Bänziger M and Long J, 2000. The potential for increasing iron and zinc density of maize through plant-breeding. *Food Nutr Bull* 21: 397–400.
- Benitez-Cadoza CG and Pfeiffer PH, 2006. EL maíz: origen, composición química y morfología. *Mat Avanz* 7: 15–20.
- Benke A and Stich B, 2011. An analysis of selection on candidate genes for regulation, mobilization, uptake, and transport of iron in maize. *Genome* 54: 674–683.
- Bódi Z, Pepó P, Kovács A, Széles E and Györi Z, 2008. Macro- and microelement contents of blue and red kernel corns. *Cereal Res Commun* 36: 147–155.
- Cantaluppi E, Manzi S, Egal AA, Puglisi D, Cassani E, Toschi I, Cesari VT, Landoni M, Scapin A and Pilu R, 2017. Nutritional and phenotypical characterization of two South African maize (*Zea mays* L) varieties sampled in the Qwa-Qwa region. *Maydica* 62: 1–7.

Cázares-Sánchez E, Chávez-Servia JL, Salinas-Moreno Y, Castillo-González F and Ramírez-Vallejo P, 2015. Variación en la composición del grano entre poblaciones de maíz (*Zea mays* L.) nativas de Yucatán, México. *Agrociencia* 49: 15–30.

Chakraborti M, Prasanna BM, Hossain F, Mazumdar S, Singh AM, Guleria S and Gupta HS, 2011. Identification of kernel iron- and zinc-rich maize inbreds and analysis of genetic diversity using microsatellite markers. *J Plant Biochem Biotechnol* 20: 224–233.

Chen Q, Mu X, Chen F, Yuan L and Mi G, 2016. Dynamic change of mineral nutrient content in different plant organs during the grain filling stage in maize grown under contrasting nitrogen supply. *Eur J Agron* 80: 137–153.

CNA. 2016. Estaciones climatológicas de México. <http://smn.cna.gob.mx/es/climatologia/informacion-climatologica>

Egesel CD, Wong JC, Lambert RJ and Rocheford TR, 2003. Combining ability of maize inbreds for carotenoids and tocopherols. *Crop Sci* 43: 818–823.

Feil B, Moser SB, Jampatong S and Stamp P, 2005. Mineral composition of the grains of tropical maize varieties as affected by pre-anthesis drought and rate of nitrogen fertilization. *Crop Sci* 45: 516–523.

Fernández-Suárez R, Morales-Chávez LA and Gálvez-Mariscal A, 2013. Importancia de los maíces nativos de México en la dieta nacional. Una revisión indispensable. *Rev Fitotec Mex* 36: 275–283.

Fraga CG, 2005. Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. *Mol Aspects Med* 26: 235–244.

Gu R, Chen F, Liu B, Wang X, Liu J, Li P, Pan Q, Pace J, Soomro AA, Lübberstedt T, Mi G and Yuan L, 2015. Comprehensive phenotypic analysis and quantitative trait locus identification for grain concentration, content, and yield in maize (*Zea mays* L.). *Theor Appl Genet* 128: 1777–1789.

Guzmán-Gerónimo RI, Alarcón-Aparicio E, García-Barradas O, Chávez-Servia JL and Alarcón-Zavaleta T, 2017. Chemical, antioxidant, and cytotoxic properties of native blue corn extract. In: Badria, F.A. (Ed.). *Natural Products and Cancer Drug Discovery*, InTech, Rijeka, Croatia. p. 67–77.

Herrera-Sotero MY, Cruz-Hernández CD, Trujillo-Carretero C, Rodríguez-Dorantes M, García-Galindo HS, Chávez-Servia JL, Oliart-Ros RM and Guzmán-Gerónimo RI, 2017. Antioxidant and antiproliferative activity of blue corn and tortilla from native maize. *Chem Central J* 11:110. <https://doi/10.1186/s13065-017-0341-x>

Jin T, Zhou J, Chen J, Zhu L, Zhao Y and Huang Y, 2013. The genetic architecture of zinc and iron content in maize grains as revealed by QTL mapping and meta-analysis. *Breeding Science* 63: 317–324.

Kato TA, Mapes C, Mera LM, Serratos JA and Bye RA, 2009. Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. Universidad Nacional Autónoma de México y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F 116 p.

López-Martínez LX, Oliart-Ros RM, Valerio-Alfaro G, Lee CH, Parkin KL and García HS, 2009. Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *Food Sci Technol* 42: 1187–1192.

Mejía-Rodríguez F, Shamah-Levy T, Villalpando S, García-Guerra A and Méndez-Gómez HI, 2013. Iron, zinc, copper and magnesium deficiencies in Mexican adults from the national health and nutrition survey. *Salud Pub Mex* 55: 275–284.

Menkir A, 2008. Genetic variation for grain mineral content in tropical-adapted maize inbred lines. *Food Chem* 110: 454–464.

Nascimento AC, Mota C, Coelho I, Gueifão S, Santos M, Matos AS, Gimenez A, Lobo M, Samman N and Castanheira I, 2014. Characterisation of nutrient profile of quinoa (*Chenopodium quinoa*), amaranth (*Amaranthus caudatus*), and purple corn (*Zea mays* L.) consumed in the North of Argentina: Proximates, minerals and trace elements. *Food Chem* 148: 420–426.

Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000, 2002. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. Diario Oficial de la Federación. México, D.F 83 p.
<http://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/libros2009/DO2280n.pdf>

O'Dell BL, De Boland AR and Koirtiyohann SR, 1972. Distribution of phytate and nutritionally important elements among the morphological components of cereal grains. *J Agr Food Chem* 20: 718–723.

Oikeh SO, Menkir A, Maziya-Dixon B, Welch RM, Glahn RP and Gauch GJR, 2004. Environmental stability of iron and zinc concentrations in grain of elite early-maturing tropical maize genotypes grown under field conditions. *J Agric Sci* 142: 543–551.

Oikeh SO, Menkir A, Maziya-Dixon B, Welch R and Glahn RP, 2003. Genotypic differences in concentration and bioavailability of kernel-iron in tropical maize varieties grown under field conditions. *J Plant Nutr* 26: 2307–2319.

Olsen KM and Wendel JF, 2013. A bountiful harvest: genomic insights into crop domestication phenotype. *Annu Rev Plant Biol* 64: 47–70.

Orozco-Ramírez Q, Ross-Ibarra J, Santacruz-Varela A and Brush S, 2016. Maize diversity associated with social origin and environmental variation in Southern Mexico. *Heredity* 116: 477–484.

Perales HR, Benz BF and Brush SB, 2005. Maize diversity and ethnolinguistic diversity in Chiapas, Mexico. *Proc Natl Acad Sci USA* 102: 949–954.

Prasanthi PS, Naveena N, Rao MV and Bhaskarachary K, 2017. Compositional variability of nutrients and phytochemicals in corn after processing. *J Food Sci Technol* 54: 1080–1090.

Pressoir G and Berthaud J, 2004. Population structure and strong divergent selection shape phenotypic diversification in maize landraces. *Heredity* 92: 95–101.

Qamar S, Aslam M, Huyop F and Javed MA, 2017. Comparative study for the determination of nutritional composition in commercial and noncommercial maize flours. *Pak J Bot* 49: 519–523.

Rodríguez-Pichiling C, 1999. Elementos químicos en algunos vegetales comestibles. *Rev Peru Ing Quim* 2: 90–96.

- Salinas-Moreno Y, Pérez Alonso JJ, Vázquez-Carrillo G, Aragón-Cuevas F and Velázquez-Cardelas G, 2012. Antocianinas y actividad antioxidante en maíces (*Zea mays* L.) de las razas chalqueño, elotes cónicos y bolita. *Agrociencia* 46: 693–706.
- Serna-Saldivar SO, 2010. Cereal grains, properties, processing and nutritional attributes. Press. Taylor and Francis groups. *Crop Sci* 50: 2649.
- Serna-Saldivar SO, Gutiérrez JA, Mora RS and García LS, 2013. Potencial nutracéutico de los maíces criollos y cambios durante el procesamiento tradicional y con extrusión. *Rev Fitotec Mex* 36: 295–304.
- Spiller GA. 2001. *CRC Handbook of dietary fiber in human nutrition*. CRC Press, Boca Raton, PR, USA. 736 p.
- Suri DJ and Tanumihardjo SA, 2016. Effect of different processing methods on the micronutrient and phytochemical contents of maize: from A to Z. *Compreh Rev of Food Sci* 15: 912–926.
- Uriás-Lugo DA, Heredia JB, Valdez-Torres JB, Muy-Rangel MD, Serna-Saldivar SO and García-Lara S, 2015. Physical properties and chemical characterization of macro- and micro-nutriments of elite blue maize hybrids (*Zea mays* L.). *Cereal Res Commun* 43: 95–306.
- Utrilla-Coello RG, Agama-Acevedo E, Barba de la Rosa AP, Martínez-Salgado JL, Rodríguez Ambríz SL and Bello-Pérez LA, 2009. Blue maize: morphology and starch synthase characterization of starch granule. *Plant Foods Hum Nutr* 64: 18–24.
- Vera-Guzmán AM, Chávez-Servia JL and Carrillo-Rodríguez JC, 2012. Proteína, lisina y triptófano en poblaciones nativas de maíz mixteco. *Rev Fitotec Mex* 35: 7–13.
- Vigouroux Y, McMullen M, Hittinger CT, Houchins K, Kresovich S, Matsuoka Y y Doeblis J, 2002. Identifying genes of agronomic importance in maize by screening microsatellites for evidence of selection during domestication. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:9650–9655.
- Wang J, Mao H, Zhao H, Huang D and Wang Z, 2012. Different increases in maize and wheat grain zinc concentrations caused by soil and foliar applications of zinc in Loess Plateau, China. *Field Crops Res* 135: 89–96.
- Waters BM and Sankaran RP, 2011. Moving micronutrients from the soil to the seeds: genes and physiological processes from a biofortification perspective. *Agron and Hort Fac Pub* 180: 562–574.
- Welch RM and Graham RD, 2004. Breeding for micronutrients in staple food crops from a human nutrition perspective. *J Exp Bot* 55: 353–364.
- World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations (WHO/FAO). 2004. *Vitamin and mineral requirements in human nutrition*. WHO/FAO, Geneva, Switzerland. 341 p.
- Wright SI, Bi IV, Schroeder SG, Yamasaki M, Doebley JF, McMullen MD and Gaut BS, 2005. The effects of artificial selection on the maize genome. *Sci* 308: 1310–1314.
- Yu-Kui R, Shi-Ling J, Fu-Suo Z and Jian-Bo S, 2009. Effects of nitrogen fertilizer input on the composition of mineral elements in corn grain. *Agrociencia* 43: 21–27.

Zhang W, Liu DY, Li C, Chen X-P and Zou C-Q, 2017a. Accumulation, partitioning, and availability of micronutrients in summer maize as affected by phosphorus supply. *Eur J Agron* 86:48–59.

Zhang H, Liu J, Jin T, Huang Y, Chen J, Zhu L, Zhao Y and Guo J, 2017b. Identification of quantitative trait locus and prediction of candidate genes for grain mineral concentration in maize across multiple environments. *Euphytica* 213:90. <https://doi.org/10.1007/s10681-017-1875-7>

CAPÍTULO IV

Compuestos fenólicos y actividad antioxidante en granos de maíces pigmentados nativos de Oaxaca, México

4.1 Resumen

En Oaxaca, México se distribuye una alta diversidad de maíces y se reconoce fenotípicamente por color, formas y dimensiones de grano, mazorca y características de planta. El objetivo fue evaluar el efecto de localidad de cultivo, poblaciones e interacción localidad-poblaciones o genotipo en el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en una colección de maíces pigmentados nativos de Oaxaca. Se sembraron y cultivaron 57 poblaciones de maíz nativo y tres variedades comerciales en San Agustín Amatengo y Santa María Coyotepec, Oaxaca, México, en un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. A partir de una muestra de grano seco se evaluó el contenido de antocianinas, fenoles, flavonoides y actividad antioxidante por DPPH y FRAP. Se determinaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre localidades, grupos de color de grano, poblaciones dentro de grupos e interacciones localidades-grupos y localidades-poblaciones. El contenido de antocianinas, fenoles y actividad antioxidante se afectó por el lugar o ambiente de cultivo. El contenido de antocianinas en el grupo de maíces azules fue significativamente mayor que en granos rojos. Entre grupos de color de grano se determinaron diferencias significativas decrecientes azul > rojo > amarillo en fenoles, flavonoides y actividad antioxidante e interacciones significativas entre localidades y grupos de color de grano. Se determinó una alta variabilidad entre poblaciones en compuestos bioactivos evaluados y actividad antioxidante, e interacciones significativas entre localidades y poblaciones de granos pigmentado. Las poblaciones que sobresalieron en composición y actividad antioxidante fueron: RJ02, RJ03, RJ04, RJ06, AZ10, AZ13, AZ16 y AZ18.

Palabras clave: Interacción genotipo-ambiente, variedades locales, compuestos bioactivos, espectrofotometría, antocianinas.

4.2 Introducción

El maíz es un cereal de alto valor comercial y de consumo mundial, 40% de un total de 1060 mill. ton se utiliza para consumo humano (FAOSTAT, 2017). El consumo varía entre regiones y países; por ejemplo, los de mayor volumen de consumo en África son Lesoto, Malawi y Zambia varía de 325.15 a 433.97; en América son México, Guatemala y Honduras, oscila de 213.60 a 318.74; y en Europa son Moldavia, Bosnia-Herzegovina y Rumania de 110.88 a 251.42 g/persona/día. Esto implica que el consumo de calorías en forma de carbohidratos, proteína, minerales y compuesto bioactivos a través del maíz es también alto, y con efectos en la salud de las personas.

En el mercado mundial de maíz predomina el grano amarillo para uso pecuario y agroindustrial pero en México, el blanco domina el mercado nacional de consumo humano con un promedio anual de siembras de 7.567 mill. ha y se cosechan 21.545 mill. t, solo una baja proporción (< 15%) se siembra con maíces pigmentados (SIAP, 2018), especialmente en los sistemas tradicionales de cultivo donde se conserva *in situ* una amplia diversidad genética y fenotípica, descrita en diferentes coloraciones o características de grano, precocidad, altura de planta y mazorca, fisiología de planta, composición química, valor nutricional y usos de grano (Kato *et al.*, 2009; Vera-Guzmán *et al.*, 2012; Fernández *et al.*, 2013), y esa diversidad se distribuyen esencialmente entre comunidades indígenas o grupos etnolingüísticos (Perales y Golicher, 2014). Debido a la importancia comercial, el mayor número de investigaciones sobre composición de grano de maíz se ha centrado en grano amarillo y blanco, y solo en la última década en maíz azul. En México como centro de origen, domesticación y diversificación del maíz, poco se conoce sobre la variación en compuestos bioactivos en relación a la diversidad de variedades tradicionales de grano pigmentado que siembran los agricultores en pequeñas parcelas de cultivo y fundamentalmente para autoconsumo por el bajo precio de mercado.

Los maíces de granos pigmentados poseen compuestos fenólicos y pigmentos de tipo carotenoides y antocianinas, compuestos asociados con propiedades nutraceuticas con beneficios para la salud, y por ello se considera un alimento funcional. En general, presentan alta actividad antioxidante, función preventiva de cáncer, diabetes, obesidad y desordenes

neurodegenerativos (Navarro *et al.*, 2018; Bañuelos-Pineda *et al.*, 2018). Los carotenoides más evaluados en maíz amarillo son luteína, zexantina, α y β criptoxantina (Prasanthi *et al.*, 2017) y en grano azules, rojos o purpuras las antocianinas mayoritarias son cianidina-3-glucósido (C3G), cianidina-3,5-diglucósido, perlargonidina, peonidina-3-glucósido y sus derivados malonilos, entre otras (Aoki *et al.*, 2002; Pedreschi *et al.*, 2007; Guzmán-Gerónimo *et al.*, 2017; Herrera-Sotero *et al.*, 2017). Los flavonoides son los compuestos menos estudiados y requieren de mayor atención (Navarro *et al.*, 2018).

Los pigmentos se encuentran en la capa de aleurona, pericarpio o en ambas estructuras del grano, difieren en concentración y distribución estructural en el grano (González-Manzano *et al.*, 2008; Espinosa-Trujillo *et al.*, 2009; Salinas-Moreno *et al.*, 2013). La cantidad y variedad de antocianinas o agliconas están influenciadas por el genotipo, ambiente o prácticas de cultivo, interacciones genotipo-ambiente y combinaciones de pigmentos en el grano (Giordano *et al.*, 2018). Salinas-Moreno *et al.* (2012), en las razas mexicanas de elotes cónicos, chalqueño y bolita, reportaron contenidos de antocianinas de 304.1 a 1332 mg de C3G por kg de muestra. De manera similar, en poblaciones de maíz nativo de Colombia, Velásquez-Landino *et al.* (2016) reportaron valores de 1.88 a 70 mg C3G 100 g^{-1} y variaciones en fenoles totales de 538 a 1633 mg equivalentes de ácido gálico (EAG) 100 g^{-1} . Zilic *et al.* (2012) reportó un contenido de fenoles totales de 5393.2 mg kg^{-1} en grano amarillo. Esto indica que, el genotipo es relevante e interactúa con el ambiente o prácticas de cultivo, y poco se ha documentado en las variedades tradicionales de maíz en México, información requerida para promover su consumo y para diseñar estrategias de conservación y aprovechamiento de esa diversidad.

En fenología del maíz, la fase de llenado y maduración de grano es crucial en la síntesis de pigmentos y se puede dividir en cuatro subfases. Por ejemplo, en granos amarillos inicia como grano blanco-crema, después crema-amarillo, amarillo y madura a amarillo-dorado o brillante. Fisiológicamente, Xu *et al.* (2010) reportan que decrece la humedad, contenido de azúcares, fenoles totales y carotenoides con la maduración del grano, pero en la subfase de elote o estado amarillo de grano se determinaron los mayores valores de luteína, zexantina y carotenoides totales. Un hecho homólogo ocurre con la biosíntesis de antocianinas del color azul en grano. Esto indica que alguna condición de estrés biótico o abiótico en esta fase influye en el contenido

final de compuestos bioactivos y puede variar de genotipo a genotipo debido a la variabilidad intrínseca en el tiempo que tarda cada genotipo en concluir esta fase y de cómo interactúa con el ambiente de cultivo. Adicionalmente, Kapcum y Uriyapongson (2017), señalan que la temperatura y tiempo de almacenamiento del grano pigmentado azul produce decremento de antocianinas (p. ej. cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido y peonidina-3-glucósido) pero no decrece en flavonoides ni actividad antioxidante, y recomiendan el consumo en los días posteriores a la cosecha.

La biosíntesis, transporte y/o acumulación de compuestos bioactivos como antocianinas, fenoles y flavonoides, en grano de maíz dependen de múltiples factores, ambientales y prácticas de cultivo, fertilidad de suelo o fertilizaciones, variedad o genotipo, factores epigenéticos e interacciones variedad/genotipo-ambiente (Harrigan *et al.*, 2007; Jing *et al.*, 2007; Khampas *et al.*, 2015; Giordano *et al.*, 2018). Otros factores ambientales que afectan la acumulación de antocianinas, compuestos fenólicos y actividad antioxidante son la cantidad e intensidad de radiación solar, bajas temperaturas y estrés hídrico (Singh, 1999; Chalker-Scott, 1999; Ali-Qasim, 2010; Kishore *et al.*, 2010). En este contexto, el objetivo fue evaluar el efecto de localidad de cultivo, población e interacción localidad-población o genotipo en el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante, en una colección de maíces pigmentados nativos de Oaxaca, México.

4.3 Materiales y métodos

4.3.1 *Colecta y siembra del germoplasma*

Se realizó una colecta de 57 muestras poblacionales de maíces nativos de grano amarillo, rojo y azul, en 39 municipios de cinco regiones de Oaxaca, México (Valles Centrales, Sierra Norte, Sierra Sur, Mixteca y Papaloapan), entre diciembre 2015 y marzo de 2016. Durante la colecta se registró la comunidad, municipio y región de origen, color visual de grano y ubicación georreferenciada de cada comunidad (Cuadro 4.1). Complementariamente a la colección, se agregaron tres variedades comerciales como testigo: VC-42 de grano azul, SBA-4032 y Tuxpeño Básica de grano amarillo. Posteriormente, la colección se sembró en San Agustín Amatengo (julio 5, 2016) y Santa María Coyotepec (julio 21, 2016), Oaxaca, bajo un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. En ambos sitios se utilizó el método tradicional de siembra bajo condiciones de temporal con un riego de auxilio durante el llenado de grano para evitar estrés hídrico, y se aplicó una fórmula de fertilización de 120-100-60 de N, P y K. Se extrajeron muestras de suelo para un análisis edáfico general mediante la NOM-021-RECNAT (2000) (Cuadro 4.2).

Cuadro 4.1. Lista de poblaciones evaluadas de maíz pigmentado nativo de Oaxaca, México.

Población ^a	Municipio y comunidad de origen	Altitud (msnm) ^b	Latitud (O)	Longitud (N)	Población ^a	Municipio y comunidad de origen	Altitud (msnm) ^b	Latitud (O)	Longitud (N)
AM05 ^Z	Santo Domingo Xagacia	1672	17° 16' 07"	96° 29' 01"	AM70 ^Z	San Agustín Amatengo	1361	16° 30' 37"	96° 47' 21"
AM06 ^Z	San Pablo Yaganiza	1530	17° 09' 07"	96° 14' 01"	AZ02 ^Z	Santa Catarina Lachatao	2111	17° 16' 05"	96° 28' 19"
AM07 ^Z	San Melchor Betaza	1431	17° 15' 30"	96° 09' 09"	AZ03 ^Z	Santa María Yavesia	1977	17° 14' 03"	96° 25' 46"
AM08 ^Z	Santo Domingo Roayaga	1615	17° 14' 30"	96° 22' 09"	AZ06 ^Z	Santo Domingo Roayaga	1615	17° 14' 30"	96° 22' 09"
AM10 ^Z	San Francisco Cajonos	1650	17° 10' 15"	96° 15' 00"	AZ09 ^M	Santo Domingo Tonalá	1653	17° 40' 40"	98° 01' 19"
AM21 ^Z	Talea de Castro	1642	17° 22' 45"	96° 14' 56"	AZ10 ^M	Silacayoapan	1847	16° 33' 68"	96° 72' 74"
AM22 ^Z	Santa Ana, Miahuatlán	1584	17° 14' 30"	96° 22' 09"	AZ13 ^M	San Pedro Topiltepec	2168	17° 31' 40"	97° 20' 42"
AM23 ^M	Santo Domingo Tonalá	1653	17° 40' 40"	98° 01' 19"	AZ16 ^M	San Juan Ñumi	2065	17° 21' 14"	97° 42' 27"
AM24 ^M	Ixpantepec Nieves	1718	17° 31' 68"	96° 03' 74"	AZ18 ^M	Tlaxiaco	1907	17° 31' 11"	97° 36' 50"
AM26 ^M	Silacayoapan	1847	16° 33' 68"	96° 72' 74"	AZ19 ^M	Santiago Yosondúa	2116	16° 53' 06"	97° 34' 55"
AM27 ^M	Santiago Tamazola	1662	17° 59' 59"	98° 19' 69"	AZ21 ^M	San Miguel Achiutla	1988	17° 18' 48"	97° 28' 34"
AM29 ^M	Santiago Ayuquillilla	1616	17° 57' 28"	98° 00' 44"	AZ23 ^Z	Tlacolula de Matamoros	1624	16° 57' 15"	96° 28' 45"
AM30 ^M	Santiago Cacaloxtepc	1640	17° 41' 17"	97° 56' 31"	AZ24 ^Z	Santo Domingo Teojomulco	1060	16° 30' 57"	97° 13' 16"
AM35 ^M	San Juan Mixtepec	1776	17° 28' 63"	97° 71' 36"	AZ25 ^{Mi}	Totontepec Villa de Morelos	1776	17° 12' 55"	96° 03' 28"
AM37 ^M	Tezoatlán de Segura y Luna	1473	17° 43' 20"	97° 44' 33"	AZ27 ^M	Santa Catarina Tayata	2055	17° 08' 28"	97° 23' 30"
AM40 ^M	Magdalena Peñasco	2062	17° 14' 11"	97° 33' 50"	AZ28 ^M	Silacayoapan	1506	17° 51' 24"	98° 05' 38"
AM41 ^M	Tlaxiaco	1907	17° 31' 11"	97° 36' 50"	RJ01 ^Z	Santa María Yavesia	1977	17° 14' 03"	96° 25' 46"
AM42 ^M	San Mateo Peñasco	1940	17° 09' 20"	97° 32' 00"	RJ02 ^M	San Mateo Peñasco	1940	17° 09' 20"	97° 32' 00"
AM45 ^M	San Miguel Achiutla	1988	17° 18' 48"	97° 28' 34"	RJ03 ^M	San Miguel Achiutla	1859	17° 15' 22"	97° 30' 18"
AM49 ^M	Santa María Tataltepec	1629	17° 05' 55"	97° 24' 50"	RJ04 ^M	San Bartolomé Yucuañe	1830	17° 14' 29"	97° 27' 00"
AM50 ^Z	Tlacolula de Matamoros	1624	16° 57' 15"	96° 28' 45"	RJ05 ^M	San Bartolomé Yucuañe	1830	17° 14' 29"	97° 27' 00"
AM51 ^Z	San Andrés Zabache	1438	16° 36' 25"	96° 51' 27"	RJ06 ^M	San Juan Mixtepec	1776	17° 28' 63"	97° 71' 36"
AM52 ^Z	Santa María Sola	1468	16° 34' 11"	97° 00' 50"	RJ07 ^M	Santiago Cacaloxtepc	1640	17° 41' 17"	97° 56' 31"
AM53 ^Z	Santo Domingo Teojomulco	1257	16° 34' 11"	97° 00' 50"	RJ08 ^M	San Antonino Monte Verde	2213	17° 31' 53"	97° 43' 13"
AM55 ^Z	San Jacinto Tlacotepec	1062	16° 31' 11"	97° 23' 15"	RJ09 ^M	Santiago Tamazola	1662	17° 59' 59"	98° 19' 69"
AM58 ^{Mi}	Santa María Tlahuitoltepec	2087	17° 05' 43"	96° 03' 17"	RJ10 ^M	Silacayoapan	1847	16° 33' 68"	96° 72' 74"
AM59 ^{Mi}	Totontepec Villa de Morelos	1776	17° 12' 55"	96° 03' 28"	RJ11 ^M	Silacayoapan	1847	16° 33' 68"	96° 72' 74"
AM60 ^Z	San Juan Comaltepec	707	17° 20' 06"	95° 58' 30"	RJ12 ^M	Ixpantepec Nieves	1718	17° 31' 68"	96° 03' 74"
AM62 ^Z	Santiago Choapan	904	17° 14' 06"	96° 00' 30"	RJ13 ^C	Santiago Jocotepec	278	17° 37' 49"	96° 01' 01"

^aPrefijos AM = amarillo; AZ = azul and RJ = rojo, y superíndices indican grupos etnolingüísticos; ^Z = Zapoteco, ^M = Mixteco, ^{Mi} = Mixe, y ^C = Chinanteco; ^bmsnm = metros sobre el nivel del mar.

Cuadro 4.2. Descripción de localidades de evaluación de maíces pigmentados nativos de Oaxaca, México.

Descriptorios de localidad	San Agustín Amatengo	Santa María Coyotepec
Descriptorios de geográfico-ambientales ¹ :		
Latitud norte (LN)	16°30'37"	16° 57' 58''
Longitud oeste (LO)	96°47'21"	96° 42' 23''
Altitud (m.s.n.m)	1361	1518
Temperatura media anual °C	20.9	20.0
Precipitación media anual (mm)	693.8	526.5
Clima municipal	Clima semiseco a semicálido, subhúmedo ACw0, C(w0)	clima semiseco a semicálido Cwb
Descriptorios de suelo ² :		
pH (en H ₂ O)	8.3	7.8
C.E (dSm ⁻¹)	0.15	0.22
Materia orgánica (%)	3.0	3.3
P (mg kg ⁻¹)	4.8	6.4
K (cmol ₊ kg ⁻¹)	0.9	1.0
Ca (cmol ₊ kg ⁻¹)	27.8	26.4
Mg (cmol ₊ kg ⁻¹)	2.5	4.0
Fe (mg kg ⁻¹)	13.4	36.8
Zn (mg kg ⁻¹)	0.7	0.9
Mn (mg kg ⁻¹)	11.9	10.9
Cu (mg kg ⁻¹)	2.8	5.5
N inorgánico (mg kg ⁻¹)	38.5	29.8

¹CNA (2016) e INEGI (2016); ²análisis de suelo en los laboratorios de la Universidad Autónoma Chapingo con base en la norma NOM-021-RECNAT (2000).

4.3.2 Muestreo y preparación de muestra para análisis

A la cosecha, en cada localidad se tomó una muestra aleatoria de 10 mazorcas sanas por población de maíz y se desgranaron manualmente. Posteriormente, se obtuvo una submuestra de 100 g de grano por población, se trituró y molió (Apex Constrution®, LTD y Krups®, México), después la harina se cribó en tamiz con malla de 500 µm y se almacenó en frascos ámbar a -20 °C hasta su análisis.

4.3.3 Contenido de antocianinas en maíces azules y rojos

La extracción de antocianinas monoméricas se realizó a partir de 3 g de harina con etanol al 85% acidificado. El contenido de antocianinas monoméricas se determinó por el método de pH diferencial descrito por Wrolstad (1976). Se midió la absorbancia de la reacción con KCl pH 1 y CH₃COONa pH 4.5 en un espectrofotómetro (Shimadzu UV-1800, Kyoto, Japan), dentro de un intervalo de longitud de onda de 470 a 720 nm, y se realizó por triplicado. La concentración de antocianinas monoméricas (AM) se calculó mediante la ecuación de

Wrolstad (1976). $AM = (A \cdot PM \cdot FD \cdot 1000) / (\epsilon \cdot l)$. Donde; $A = (A_{510} - A_{700})$ pH 1.0 - $(A_{510} - A_{700})$ pH 4.5. Donde, $PM = 449.2$ g/mol peso molecular de cianidina-3-glucósido (C3G), $\epsilon = 26900$ L.mol⁻¹/cm⁻¹ coeficiente de extinción molar de cianidina-3-glucósido, $FD =$ factor de dilución y $l =$ longitud de la celda (1 cm). Los resultados se expresaron como mg equivalentes de cianidina-3-glucósido por 100 g de muestra en base seca (= mg C3G 100 g⁻¹ bs).

4.3.4 Contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante

En el caso de fenoles, flavonoides y actividad antioxidante se evaluó en una extracción con metanol al 80%, a partir de 3 g de harina de maíz de todos los colores de grano. El contenido de fenoles totales se realizó mediante el método descrito por Singleton y Rossi (1965); a 400 μ L del extracto diluido se adicionó agua desionizada, reactivo de Folin-Ciocalteu y se dejó reposar durante 5 minutos. Posteriormente, se agregó Na₂O₃ al 7% e incubó durante 1 h a temperatura ambiente (23 \pm 3 °C). Finalmente se hicieron lecturas por triplicado de absorbancias en un espectrofotómetro UV-vis (Shimadzu UV-1800, Kyoto, Japan), utilizando agua destilada como blanco. El contenido de fenoles totales se calculó como mg equivalentes de ácido gálico por 100 g en base seca (mg EAG 100 g⁻¹ bs), con referencia a una curva de calibración de ácido gálico.

El contenido de flavonoides se realizó por el método Zhishen *et al.* (1999). A 250 μ L del extracto, se adicionó NaNO₂ al 5%, se agitó y dejó reposar durante 5 minutos y se agregó AlCl₃·6H₂O al 10% más NaOH 1M y por último agua desionizada. La absorbancia se registró por triplicado a 510 nm, en referencia a un blanco reactivo. El contenido de flavonoides fue calculado como mg equivalentes de catequina por gramo de muestra seca (mg EC g⁻¹ bs) con base en una curva de calibración de (+)-Catequina.

La actividad antioxidante por DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) se analizó por el método de Brand-Williams *et al.* (1995). A 100 μ L del extracto se adicionó un radical DPPH. La solución se agitó en vórtex y se dejó reposar 30 minutos en oscuridad. Posteriormente se hicieron lecturas por triplicado a 517 nm y se utilizó como referencia metanol al 80%. La actividad antioxidante se registró con base en una curva de calibración de Trolox (ácido 6-

hidroxi-2, 5, 7, 8-tetrametilcroman-2-carboxílico) de 0.13 a 0.79 $\mu\text{mol mL}^{-1}$ y se expresó en $\mu\text{mol ETrolox g}^{-1}$ bs.

Actividad antioxidante por el método FRAP. El poder antioxidante expresado como reducción férrica, se determinó por el método descrito por Benzie y Strain (1999). A 100 μL del extracto se le agregaron 3 mL de reactivo FRAP (buffer de acetato de sodio pH 3.6, TPTZ 10 mM y $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 10 mM), se incubó durante 30 minutos a 37 °C y se registró su absorbancia a 593 nm. La cuantificación de actividad antioxidante, se realizó con base en una curva de calibración de Trolox de 100 a 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$, los resultados se expresaron como $\mu\text{mol ETrolox g}^{-1}$ bs.

4.3.5 Análisis estadístico

Con el objetivo de evaluar las diferencias entre localidades de cultivo, grupos de color de grano, poblaciones anidadas en grupos de color e interacciones localidades-grupos de color y localidades-poblaciones, se realizaron análisis de varianzas para cada variable respuesta con base en el modelo líneas de análisis combinado de bloques al azar. Complementariamente, se hicieron comparaciones múltiples de medias por el método de Tukey ($P \leq 0.05$). Se graficó las interacciones localidad-poblaciones donde cada punto representa las poblaciones en función de las localidades de evaluación (= ejes). Todos los análisis estadísticos se realizaron mediante el paquete estadístico SAS (SAS Inc., 2000).

4.4 Resultados

En este estudio se determinó el contenido de antocianinas en dos grupos de color de grano, rojo y azul. El análisis de varianza detectó diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en el contenido de antocianinas entre localidades, entre grupos de color de grano, poblaciones dentro de grupos e interacciones localidades-grupos de color y localidades-poblaciones (Cuadro 4.3). El contenido de fenoles, flavonoides y actividad antioxidante se determinó en tres grupos de color de grano: rojo, azul y amarillo. El análisis de varianza mostró diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en el contenido de fenoles, flavonoides y actividad antioxidante (DPPH y FRAP) entre grupos de color, entre localidad de cultivo (excepto flavonoides), entre poblaciones, interacción localidad-grupo color e interacción localidades-poblaciones (Cuadro 4.6).

En el análisis de varianza se determinaron diferencias significativas ($p \leq 0.01$) entre localidades de evaluación, poblaciones agrupadas por color de grano, poblaciones anidadas en grupos de color, interacción localidades-grupos e interacción localidades-poblaciones, en todos los caracteres evaluados, excepto entre localidades en contenido de flavonoides totales. El contenido de antocianinas fue evaluado únicamente en muestras de maíces de grano rojo y azul debido a que reportes previos (Espinosa *et al.*, 2009; Zilic *et al.*, 2012) indicaron que están ausentes en granos amarillos donde los carotenoides están acentuados. El coeficiente de variación osciló entre 7.3 y 26.5%, (Cuadro 4.3).

Cuadro 4.3 Significancia de cuadrados medios del análisis de varianza en contenido de antocianinas, fenoles, flavonoides y actividad antioxidante, en maíces pigmentados nativos de Oaxaca, México.

Fuente de variación	Antocianinas monoméricas ¹	Fenoles totales	Flavonoides totales	Actividad antioxidante	
				DPPH	FRAP
Localidades (L)	1129.32**	2037.6**	<0.001 ^{ns}	4.59**	29.09**
Grupos de color de grano (G)	9729.8**	274280.8**	1.288**	179.50**	394.53**
Poblaciones/G ²	1619.3**	2280.1**	0.007**	5.14**	7.02**
L x G	672.5**	3583.4**	0.003**	1.95**	12.50**
L x poblaciones/G ²	79.9**	497.4**	0.003**	2.54**	1.88**
C.V (%)	20.8	7.3	26.5	8.8	9.2

¹El contenido de antocianinas solo se evaluó en maíces de grano azul y rojo; ^{ns}no significativo ($p > 0.05$); **significativo a $p \leq 0.01$; C.V, coeficiente de variación; ²poblaciones anidadas en grupos de color de grano.

El contenido promedio de antocianinas en grano se vio afectado por efecto de localidad de siembra. En Santa María Coyotepec los maíces azules y rojos presentaron significativamente

mayor concentración de antocianinas que en San Agustín Amatengo. Específicamente los de grano azul presentaron mayores valores que los de grano rojo. La interacción significativa denota que los maíces de grano azul presentaron mayor concentración de antocianinas en Santa María, le sigue azules en San Agustín. En forma opuesta, el menor contenido de antocianinas se registró en maíces rojos en San Agustín Amatengo (Cuadro 4.4).

Los resultados de la interacción indican que, el cultivo de maíces azules en Santa María Coyotepec generó mayor contenido de antocianinas y este compuesto se afecta por el efecto ambiental del sitio de cultivo (Cuadro 4.2). En la biosíntesis de metabolitos secundarios, se induce por alguna condición de estrés, la síntesis de la enzima fenilalanina amonio-liasas responsable de catalizar la transformación de L-fenilalanina a ácido *trans*-cinámico, y cambia su actividad debido a factores ambientales como estrés hídrico, temperatura, radiación UV, etc. (Efeoğlu *et al.*, 2010; Vogt, 2010; Chaves y Gutiérrez, 2017). En maíz resalta la síntesis de antocianinas en la última fase del llenado de grano y en consecuencia alguna alteración ambiental o fisiológica en esta subfase influye en el contenido final de antocianinas en grano.

Cuadro 4.4. Contenido promedio de antocianinas monoméricas en maíces agrupados por color de grano, localidades de cultivo e interacción localidad-grupo de color.

Color visual de grano	Santa María Coyotepec	San Agustín Amatengo	<i>Promedios por color</i>
Azul	29.90 a	25.84 b	28.04 a
Rojo	20.70 c	17.95 d	19.30 b
<i>Promedios por localidad</i>	25.93 a	21.98 b	

[†]Entre grupos de color, localidades e interacción localidad-color, medias con la misma letra no difieren significativamente (prueba de Tukey, $p \leq 0.05$) en contenido de antocianinas (mg C3G 100 g⁻¹ bs).

Los resultados muestran una alta variación en contenido de antocianinas entre poblaciones de grano rojo y azul. Los patrones de respuesta dentro de grupo de color visual de grano fue contrastante; primero, cuatro poblaciones de maíz azul y tres de rojo presentaron un contenido superior a 30 mg equivalentes de C3G 100 g⁻¹. Después un grupo de 11 poblaciones presentaron entre 22.7 y 29.5 mg equivalentes de C3G 100 g⁻¹, en contra posición solo tres poblaciones de maíz rojo variaron entre 20.7 y 25.2 mg equivalentes de C3G 100 g⁻¹ pero otras cinco fueron inferiores a 17.3 y dos de ellas prácticamente no había antocianinas, < 1 mg equivalentes de C3G 100 g⁻¹. Esto último indica que, las coloraciones visuales de

rojos tenues o pálidos son también indicadores de baja presencia de antocianinas en grano, como fue el caso de las poblaciones RJ01, RJ02 y RJ04 (Cuadro 4.5).

Cuadro 4.5. Variación del contenido de antocianinas entre poblaciones de maíces azules (AZ) y rojos (RJ), nativos de Oaxaca, México.

Poblaciones de grano azul	Antocianinas (mg C3G 100 g ⁻¹)	Poblaciones de grano rojo	Antocianinas (mg C3G 100 g ⁻¹)
AZ02	30.88	RJ01	4.59
AZ03	25.88	RJ02	0.73
AZ06	28.96	RJ03	34.68
AZ09	22.74	RJ04	0.85
AZ10	29.46	RJ05	17.93
AZ13	28.30	RJ06	36.12
AZ16	32.93	RJ07	17.22
AZ18	26.53	RJ08	20.71
AZ21	37.50	RJ09	13.32
AZ23	28.88	RJ10	22.37
AZ24	26.72	RJ11	25.15
AZ25	25.49	RJ12	31.70
AZ27	26.85	RJ13	15.77
AZ28	22.82		
VC-42	31.81	<i>DSH-Tukey¹</i>	6.66

¹Diferencias entre medias iguales o superiores al valor de la diferencia significativa honesta (DSH de Tukey, $p \leq 0.05$), indica diferencias estadísticas entre medias.

La interacción entre localidades de cultivo y poblaciones respecto al contenido de antocianinas en maíces de grano rojo presentó un contenido proporcional en ambos sitios (Figura 4.1). El contenido de antocianinas en ocho poblaciones de maíz rojo fue inferior a la media en ambas localidades, y solo cuatro poblaciones estuvieron arriba de esos promedios. En contraposición 10 poblaciones de grano azul superaron a las medias (más de 25 y 22 mg de C3G 100 g⁻¹ bs) en Santa María y San Agustín, respectivamente. En función de la tendencia hacia la estabilidad del contenido de antocianinas a través de localidades de cultivo y con referencia a la variedad comercial (VC-42), se reconocieron a dos muestras de grano rojo y dos de grano azul que superan al testigo e indican un potencial para evaluaciones continuas en otros ambientes.

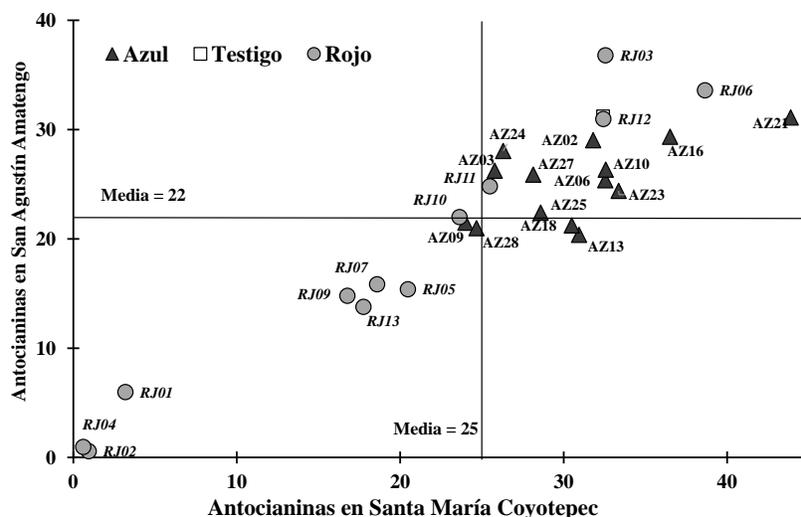


Figura 4.1. Dispersión de poblaciones en función del contenido de antocianinas (mg de C3G 100 g⁻¹ bs) de maíces azules y rojos, con base en dos localidades de Oaxaca, México.

El contenido de fenoles, flavonoides y actividad antioxidante fue evaluado en maíces de grano azul, rojo y amarillo, donde se determinó que la localidad o ambiente de cultivo tuvo un efecto significativo en la concentración de fenoles y actividad antioxidante, y contrariamente la proporción de flavonoides tuvo similar respuesta en Santa María y San Agustín. En estos ensayos de grupos de poblaciones con diferente color de grano se observó un patrón constante decreciente de azul > rojo > amarillo en contenido de fenoles, flavonoides, actividad antioxidante por DPPH y FRAP, respectivamente (Cuadro 4.6). Esto evidencia mayor contenido de compuestos bioactivos y actividad antioxidante en grupo de maíces con grano azul.

Cuadro 4.6. Contenido de polifenoles, flavonoides y actividad antioxidante en función de localidades de cultivo y grupos de color de grano.

Localidad/ grupos de color de grano	Polifenoles (mg EAG 100g ⁻¹)	Flavonoides (mg EC g ⁻¹)	Actividad antioxidante (μmol ET g ⁻¹)	
			DPPH	FRAP
<i>Localidad de cultivo</i>				
Santa María Coyotepec	96.58 a [†]	0.075 a	4.31 a	4.76 a
San Agustín Amatengo	94.98 b	0.075 a	4.14 b	4.53 b
<i>Color de grano</i>				
Azul	123.55 a [†]	0.129 a	4.84 a	5.58 a
Rojo	113.46 b	0.123 b	4.78 b	5.51 b
Amarillo	77.34 c	0.034 c	3.77 c	3.93 c

[†]Entre localidades o entre grupos de color, medias con la misma letra no difieren significativamente (prueba de Tukey, $p < 0.05$).

Los resultados muestran una alta variación entre poblaciones respecto al contenido de fenoles y flavonoides. Entre poblaciones de grano azul el contenido de fenoles fue de 116.8 a 137.4 mg EAG 100g^{-1} , en rojo de 93.2 a 166.0 4 mg EAG 100g^{-1} y en grano amarillo de 69.9 a 86.7 4 mg EAG 100g^{-1} . Un patrón semejante se determinó para el contenido de flavonoides; entre poblaciones de grano azul los valores fueron de 0.10 a 0.18 mg EC g^{-1} , en rojo de 0.08 a 0.19 mg EC g^{-1} y en amarillo de 0.02 a 0.05 mg EC g^{-1} . En ambos casos, las poblaciones de grano amarillo presentaron los menores valores en fenoles y flavonoides. Estos patrones, se repiten en el comportamiento de poblaciones respecto a actividad antioxidante por DPPH y FRAP. Entre poblaciones de grano azul la actividad antioxidante evaluada por DPPH fue de 4.3 a 5.7 $\mu\text{mol ET g}^{-1}$, en rojos de 4.23 a 5.75 $\mu\text{mol ET g}^{-1}$ y en amarillos de 3.12 a 4.51 $\mu\text{mol ET g}^{-1}$. En FRAP, los granos azules variaron de 4.6 a 6.69 $\mu\text{mol ET g}^{-1}$, de grano rojo 3.97 a 8.12 $\mu\text{mol ET g}^{-1}$ y las de grano amarillo de 3.68 a 4.11 $\mu\text{mol ET g}^{-1}$. Esto indica que las poblaciones con mayores contenidos de fenoles y flavonoides presentan una mayor actividad antioxidante (Cuadro 4.7).

Cuadro 4.7. Variación del contenido de polifenoles y actividad antioxidante entre poblaciones de maíces de grano azul (AZ), rojo (RJ) y amarillo (AM) de Oaxaca, México.

Población	Fenoles ¹	Flavonoides ²	Act. Antioxidante ³		Población	Fenoles ¹	Flavonoides ²	Act. Antioxidante ³	
			DPPH	FRAP				DPPH	FRAP
AZ02 ⁴	125.12	0.10	4.43	5.42	AM07 ⁴	71.20	0.02	3.69	3.66
AZ03	121.69	0.14	4.55	4.62	AM08	69.46	0.03	3.98	3.91
AZ06	117.89	0.14	4.56	5.12	AM10	71.57	0.04	3.59	3.70
AZ09	125.46	0.16	4.85	5.31	AM21	74.44	0.04	3.32	3.68
AZ10	122.29	0.13	5.15	5.94	AM22	72.86	0.03	3.84	3.84
AZ13	122.85	0.18	4.71	5.79	AM23	78.81	0.03	3.81	3.96
AZ16	130.05	0.13	5.22	6.29	AM24	78.09	0.04	4.20	4.16
AZ18	137.39	0.12	4.46	6.69	AM26	81.98	0.03	4.51	4.11
AZ21	119.80	0.11	4.36	5.76	AM27	77.01	0.03	4.20	3.68
AZ23	117.06	0.15	4.49	4.99	AM29	74.45	0.03	3.92	3.78
AZ24	122.15	0.10	4.74	5.13	AM30	77.73	0.03	3.97	3.73
AZ25	126.12	0.13	5.04	5.49	AM35	84.06	0.03	3.58	4.04
AZ27	119.82	0.14	4.39	5.64	AM37	81.09	0.04	3.65	4.00
AZ28	116.84	0.13	4.65	5.17	AM40	78.94	0.03	3.17	3.69
VC-42	130.46	0.11	5.70	6.17	AM41	81.54	0.04	3.24	3.97
RJ01	117.21	0.14	4.88	5.67	AM42	73.88	0.04	3.27	3.75
RJ02	113.69	0.16	4.67	5.52	AM45	75.81	0.04	3.17	3.52
RJ03	166.03	0.19	6.75	8.12	AM49	74.18	0.05	3.34	3.82
RJ04	123.20	0.15	5.56	6.50	AM50	72.31	0.05	3.35	3.64
RJ05	108.10	0.09	4.25	5.02	AM51	69.99	0.03	3.44	3.82
RJ06	127.93	0.10	5.45	5.93	AM52	68.19	0.03	3.51	3.68
RJ07	109.83	0.13	4.51	4.94	AM53	81.47	0.05	3.90	4.21
RJ08	120.81	0.09	5.12	5.26	AM55	73.55	0.04	3.39	4.01
RJ09	102.14	0.10	4.26	3.97	AM58	84.40	0.05	4.03	4.31
RJ10	101.63	0.08	4.76	4.59	AM59	85.83	0.03	4.10	4.20
RJ11	93.23	0.11	4.33	5.43	AM60	79.46	0.03	4.02	4.16
RJ12	97.43	0.11	4.66	5.43	AM62	86.66	0.03	4.44	4.20
RJ13	103.75	0.14	4.23	5.41	AM70	79.99	0.03	3.79	3.92
AM05	76.27	0.02	3.73	3.93	Tuxpeño	82.18	0.03	3.92	4.35
AM06	69.94	0.03	3.81	3.83	SBA-4032	88.96	0.04	4.58	4.51
<i>DSH</i>					<i>DSH</i>				
<i>Tukey</i> ⁵	9.534	0.027	0.51	0.58	<i>Tukey</i> ⁵	9.534	0.027	0.51	0.58

¹mg EAG 100g⁻¹; ²mg EC g⁻¹; ³μmol ET g⁻¹; ⁴Prefijos ID; AM, AZ y RJ, indican grano amarillo, azul y rojo. ⁵diferencias entre poblaciones mayores al valor de la diferencia significativa honesta (DSH), son estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$).

Se determinaron interacciones significativas entre localidad de cultivo y grupos de color de grano. En el caso de maíces azules, presentaron mayor respuesta en Santa María que en San Agustín, respecto al contenido de fenoles, flavonoides y actividad antioxidante. Un patrón semejante de composición de fenoles y flavonoides también se observó en maíces de color rojo, y particularmente la actividad antioxidante por DPPH en granos rojos fue semejante en ambas localidades. En el caso del grupo de poblaciones de color amarillo, fueron bajos en todos los compuestos bioactivos y un patrón semejante en ambas localidades (Cuadro 4.8).

Estos resultados muestran indicios de que, los compuestos bioactivos y actividad antioxidante son afectados por las condiciones agroecológicas de la condición de cultivo.

Tabla 4.8. Interacción de localidad de cultivo y grupos de poblaciones de grano, respecto al contenido de fenoles, flavonoides y actividad antioxidante.

Variables de referencia	Santa María Coyotepec			San Agustín Amatengo		
	Azul	Rojo	Amarillo	Azul	Rojo	Amarillo
Fenoles (mg EAG 100 g ⁻¹)	127.3 a ¹	115.0 c	75.6 f	119.1 b	112.0 d	79.1 e
Flavonoides (mg EC g ⁻¹)	0.133 a	0.120 c	0.034 d	0.127 ba	0.126 b	0.036 d
Actividad antioxidante por DPPH ²	4.84 a	4.79 ab	3.90 c	4.69 b	4.89 a	3.63 d
Actividad antioxidante por FRAP ²	5.87 a	5.64 b	3.93 e	5.24 d	5.38 c	3.93 e

¹En hilera, medias con la misma letra no difieren significativamente (prueba de Tukey, P ≤ 0.05). ²en µmol ET/ g base seca.

En las interacciones de localidades de cultivo y poblaciones, en relación a fenoles y flavonoides se determinó que solo algunas poblaciones interaccionan con el ambiente (Figura 4.2). Esto es, el grupo de poblaciones de grano amarillo presentaron valores bajos en fenoles y flavonoides en ambos localidades de cultivo. Algunas poblaciones de grano rojo interaccionaron fuertemente con la localidad de cultivo (RJ10, RJ11 y RJ12) y otras presentaron valores altos (RJ01, RJ02, RJ04 y RJ06). En contraste, todas las poblaciones de maíz azul presentaron valores altos de fenoles y escasa interacción con localidad. En los estimadores del contenido de flavonoides, el patrón fue diferente. En poblaciones de grano amarillo no cambió el comportamiento de valores bajos, incluyendo la variedades comerciales usadas como testigo (Tuxpeño Básica y SBA-4032). Entre las poblaciones de maíz rojo y azul destacan dos de cada color; RJ02, RJ03, AZ13 y AZ06, respectivamente, con contenido de flavonoides superiores a 0.15 mg EC g⁻¹, incluyendo la variedad testigo VC-42 de grano azul. Todo indica que, entre las poblaciones de grano azul o rojo hay germoplasma de interés para iniciar un proceso de mejoramiento genético.

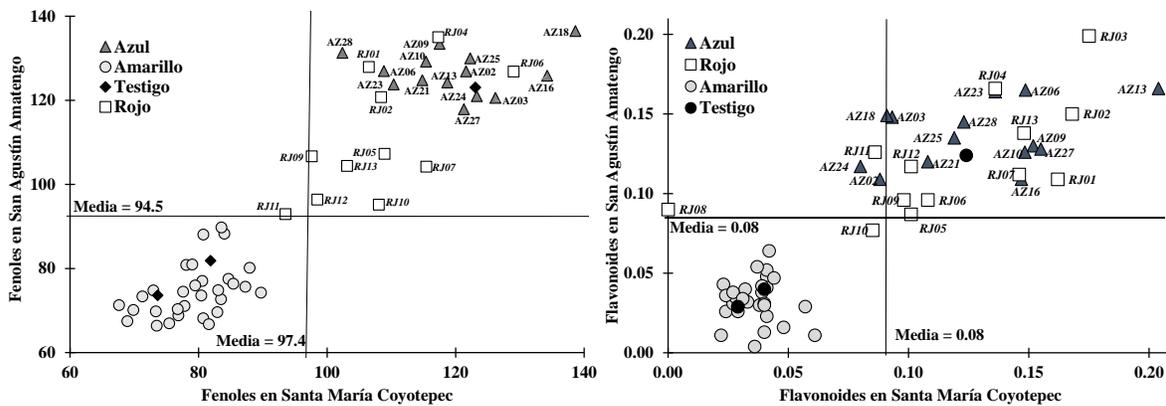


Figura 4.2. Dispersión de poblaciones en función del contenido de fenoles ($\text{mg EAG } 100\text{g}^{-1}$) y flavonoides (mg EC g^{-1}) en maíces cultivados en dos localidades en Oaxaca, México.

La actividad antioxidante ayuda a estimar el potencial de antirradicales libres o capacidad reductora del conjunto de compuesto bioactivos almacenados en granos de maíces pigmentados. Los resultados muestran que hay ciertas relaciones positivas entre la composición de antocianinas, fenoles y flavonoides en granos pigmentados con la actividad antioxidante evaluada por DPPH y FRAP. Hubo mayor diferenciación entre poblaciones de maíces pigmentados en la actividad antioxidante evaluada por DPPH que con FRAP o bien son complementarios los resultados. Sobresalen nueve poblaciones de maíz azul y ocho de rojo, en su actividad antioxidante (Figura 4.3). Las poblaciones RJ02, RJ03, RJ04, RJ06, AZ10, AZ13, AZ16 y AZ18, sobresalieron tanto en contenido de fenoles, flavonoides y mayor actividad antioxidante (Figura 4.2 y 4.3). Las poblaciones de grano amarillo presentaron menor actividad antioxidante y también niveles bajos en fenoles y flavonoides. En algunos estudios relacionados indican que la capacidad reductora FRAP se debe principalmente al grado de hidroxilación y conjugación de los compuestos fenólicos (Pulido *et al.*, 2000).

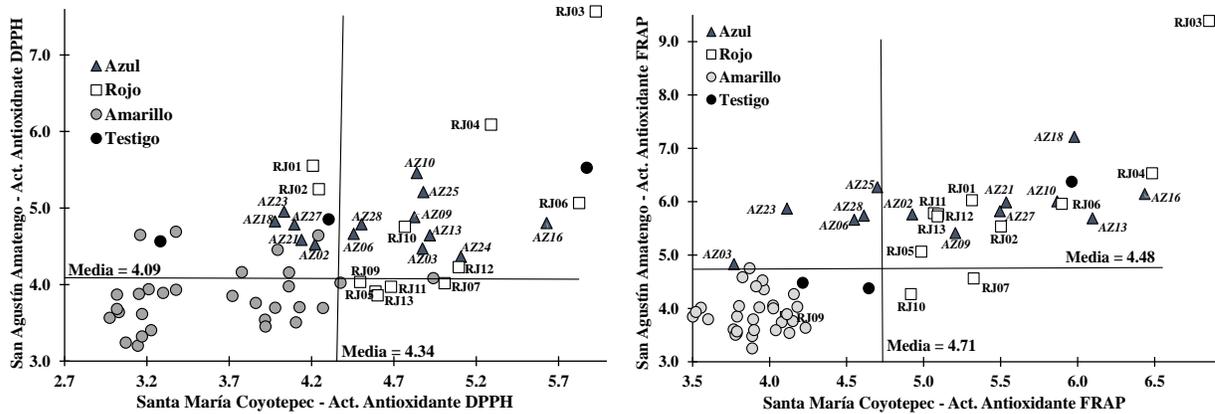


Figura 4.3. Dispersión de poblaciones de maíces pigmentados en función de la actividad antioxidante (DPPH y FRAP, en $\mu\text{mol ET g}^{-1} \text{bs}$), con base en dos localidades de cultivo en Oaxaca, México.

4.5 Discusión

Los maíces pigmentados se reconocen como fuente de compuestos bioactivos (antocianinas, fenoles, flavonoides, provitamina A y carotenoides). En especial las antocianinas presentan propiedades biológicas y antioxidantes de alto interés en la prevención de enfermedades cardiovasculares y cáncer (Herrera-Sotero *et al.*, 2017a; Bañuelos-Pineda *et al.*, 2018) y la composición cambia de genotipo a genotipo de maíz (Guzmán-Gerónimo *et al.*, 2017). En principio, los resultados mostraron que la localidad o ambiente de cultivo influyeron en el contenido de antocianinas y fenoles, y actividad antioxidante en función de la colección de maíces pigmentados nativos de Oaxaca (Cuadro 4.3).

En México los maíces pigmentados se siembran en menos del 10% de la superficie total cultivada con maíz y varían de región a región; por ejemplo, en la región centro de México, Salinas *et al.* (2010) estimaron que el maíz azul ocupa menos de 5% de total de la superficie sembrada. Por otro lado, la preservación del color azul del grano en un lote requiere aislamiento en espacio o tiempo de siembra y/o manejo independiente. Este manejo independiente explica parte de la diferencia en contenido de antocianinas entre grupos de poblaciones de grano azul y rojo, el que es más acentuado en las poblaciones de grano azul (Cuadro 4.4).

Entre localidades de evaluación, grupos de color de grano y en la interacción localidades-grupos de color, se determinaron diferencias significativas en contenido de antocianinas (Cuadro 4.3 y 4.4), y reconociendo que la síntesis y almacenamiento de antocianinas en grano de maíz tiene lugar durante el llenado y maduración de grano (Xu *et al.*, 2010); los resultados indican que, las condiciones ambientales de cultivo durante el llenado y maduración de grano inciden en la concentración promedio de antocianinas y difieren según la coloración e intensidad del grano. En este trabajo, el grupo de poblaciones de grano azul superaron a las de grano rojo y las condiciones agroecológicas de Santa María Coyotepec favorecieron una mayor respuesta (Cuadro 4.4). Este patrón por color de grano de mayor contenido de antocianinas en granos azules que en rojos, también fue reportado por Salinas-Moreno *et al.* (2012) en maíces de Chiapas, México, 6.47 a 54.77 mg ECG 100 g⁻¹ en grano rojo y 21.68 a 90.4 mg ECG 100 g⁻¹ en grano azul, en relación a un estándar de pelargonidina y cianidina. En este trabajo fueron de 19.30 y 28.04 mg C3G 100 g⁻¹, respectivamente, en relación a un estándar de cianidina-3-glucósido.

Entre poblaciones de maíces azules y rojos se determinó una alta variación en antocianinas, en granos azul de 22.74 a 37.5 y en rojo de 0.73 a 36.12 mg equivalentes de C3G 100 g⁻¹, respectivamente. Los resultados muestran que la biosíntesis y almacenamiento de antocianinas en grano también está determinado por la población o genotipo. Un hecho semejante estimaron Salinas *et al.* (2012) entre razas y poblaciones de maíces de Chiapas, México, 21.68 a 90.4 mg C3G 100 g⁻¹; Espinosa *et al.* (2009) en maíces del centro de México, 5.7 a 126.94 mg C3G 100 g⁻¹; López-Martínez *et al.* (2009) en maíces de diferentes regiones de México, 1.54 a 2,720 mg C3G 100 g⁻¹; y también Guzmán-Gerónimo *et al.* (2017) en maíces de la región Mixteca oaxaqueña, 21.4 a 66.9 mg C3G 100 g⁻¹. A pesar de la diferencia en las estimaciones, debidas, en parte, al efecto de la solución de extracción, estándar utilizado y equipo de determinación, todos evidencian diferencias significativas entre poblaciones o genotipos en la capacidad de cada genotipo para sintetizar y almacenar antocianinas en la capa de aleurona del grano (Espinosa *et al.*, 2009), principalmente.

Los resultados muestran que el contenido promedio de flavonoides fue constante a través de localidades de cultivo pero en fenoles cambió y el mayor valor se estimó en Santa María Coyotepec. Esto fue semejante a la respuesta en actividad antioxidante evaluada por DPPH

y FRAP. Entre grupos de color de grano se determinaron diferencias significativas decrecientes de azul > rojo > amarillo en fenoles, flavonoides y actividad antioxidante. Se determinaron interacciones significativas entre localidades y grupos de color de grano; en Santa María Coyotepec se determinaron valores altos de fenoles, flavonoides y actividad antioxidante, esencialmente en poblaciones de grano azul. Por el contrario, el grupo de amarillos fue bajo y constante en ambos ambientes (Cuadro 4.8). Los resultados muestran que, el manejo independiente que dan los agricultores a sus lotes de semilla con diferente color de grano (Badstue *et al.*, 2007), ha generado diferencias en composición de fenoles, flavonoides y actividad antioxidante.

Entre poblaciones de diferente color de grano fue notoria la diferencia significativa en fenoles y flavonoides. Por ejemplo, la variación en fenoles fue 116.8 a 137.4 mg EAG 100 g⁻¹ en azul, en rojo de 93.2 a 166.0 4 mg EAG 100 g⁻¹ y en amarillo de 69.9 a 86.7 4 mg EAG 100 g⁻¹. En flavonoides fue 0.10 a 0.18 mg EC g⁻¹, de 0.08 a 0.19 mg EC g⁻¹ y de 0.02 a 0.05 mg EC g⁻¹, en poblaciones de grano azul, rojo y amarillo, respectivamente. Estos valores están dentro de los estimados por Salinas *et al.* (2017) en contenido de fenoles para poblaciones de maíz de diferentes regiones de México, 59.3 a 82.78 mg EAG 100 g⁻¹; dentro de los valores reportados por Guzmán-Gerónimo *et al.* (2017) en maíces azules de la Mixteca oaxaqueña, 142.8 a 203.2 mg EAG 100 g⁻¹; y superan a los determinados por Prasanthi *et al.* (2017) en diferentes tipos de maíces comerciales de Estados Unidos, 1.26 a 14.53 mg EAG 100 g⁻¹. En todos los casos se presentan una alta variabilidad entre genotipos que puede ser aprovechada directamente en la alimentación. No obstante que, el procesamiento a tortilla u algún otro productos alimentarios, decrecen los valores estimado en grano pero conservan hasta un 40% del total estimado (Prasanthi *et al.*, 2017; Herrera-Sotero *et al.*, 2017).

La interacción de localidades de evaluación y poblaciones tuvo como base la mayor expresión de variabilidad fenotípica en antocianinas, fenoles, flavonoides y su actividad antioxidante, entre muestras de diferente color de grano (Figura 4.1, 4.2 y 4.3). En compuesto bioactivos, las poblaciones de grano azul presentaron siempre un patrón de mayor contenido en Santa María y San Agustín, del lado opuesto se ubicaron a las poblaciones de grano amarillo con valores bajos y entre ambas las de grano rojo. Los resultados muestran que es

posible seleccionar poblaciones de maíz azul y rojo con alto contenido de antocianinas, fenoles y flavonoides para integrar un programa de mejoramiento genético. Entre las poblaciones sobresalientes se destacaron: RJ02, RJ03, RJ04, RJ06, AZ10, AZ13, AZ16 y AZ18, entre otras.

4.6 Conclusiones

Los resultados muestran que, el contenido de antocianinas, fenoles y actividad antioxidante se ven afectadas por sitio o ambiente de cultivo de maíces pigmentados. El contenido de antocianinas en el grupo de maíces azules fue significativamente mayor que en granos rojos. Entre grupos de color de grano se determinaron diferencias significativas decrecientes en azul > rojo > amarillo en fenoles, flavonoides y actividad antioxidante e interacciones significativas entre localidades y grupos de color de grano, y en Santa María Coyotepec se determinaron los mayores valores de antocianinas, fenoles, flavonoides y actividad antioxidante. Se determinó una alta variabilidad entre poblaciones respecto a los compuestos bioactivos evaluados y actividad antioxidante, e interacciones significativas entre localidades y poblaciones de granos pigmentado. Las poblaciones sobresalientes en composición y actividad antioxidante fueron: RJ02, RJ03, RJ04, RJ06, AZ10, AZ13, AZ16 y AZ18 principalmente.

4.7 Referencias

- Ali Q, Ashraf M, Anwar F, 2010. Seed composition and seed oil antioxidant activity of maize under water stress. *J Am Oil Chem Soc* 87:1179-1187.
- Aoki H, Kuze N, Kato Y, 2002. Anthocyanins isolated from purple corn (*Zea mays* L.). *J Foods Food Ingr* 199: 41-45.
- Badstue LB, Bellon MR, Bethaud J, Ramírez A, Flores D, Juárez X. 2007. The dynamics of farmers' maize seed supply practices in the Central Valleys of Oaxaca, Mexico. *World Development* 35:1579-1593.
- Bañuelos-Pineda J, Gómez-Rodiles CC, Cuellar-José R, Aguirre-López LO, 2018. The maize contribution in the human health. In: Fahad S (ed.), *Corn-Production and Human Health in Changing Climate*. InTech, London, UK. pp: 29-48.
- Benzie FF, Strain JJ, 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power". The FRAP assay. *Anal biochem* 239:70-76.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C, 1995. Use of free a radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Techn Food Sci Techn* 28(1): 25-30.
- Chalker-Scot L, 1999. Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. *photochemistry and photobiology* 70(1): 1-9.
- Chaves-Barrantes NF, Gutiérrez-Soto MV, 2017. Respuestas al estrés por calor en los cultivos. I. Aspectos moleculares, bioquímicos y fisiológicos. *Agron Mesoam* 28(1):237-253.
- CNA. 2016. Estaciones climatológicas de México. <http://smn.cna.gob.mx/es/climatologia/informacion-climatologica>.
- Efeoglu B, Ekmekçi Y, Çiçek N, 2009. Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery. *South African J Bot* 75:34-42.
- Espinosa T, Mendoza MC, Castillo F, Ortiz F, Delgado A, Carrillo A, 2009. Acumulación de antocianinas en pericarpio y aleurona del grano y sus efectos genéticos en poblaciones criollas de maíz pigmentado. *Rev Fitotec Mex* 32 (4):303-309.
- FAOSTAT, 2016. Area harvested and production 2016. http://www.fao.org/faostat/es/#rankings/countries_by_commodity
- Fernández-Suárez R, Morales-Chávez LA, Gálvez-Mariscal A, 2013. Importancia de los maíces nativos de México en la dieta Nacional. Una revisión indispensable. *Rev Fitotec Méx* 36:275-283.
- Giordano D, Beta T, Vanara F, Blandino M, 2018. Influence of agricultural management on phytochemicals of colored corn genotypes (*Zea mays* L.)– Part I: Nitrogen fertilization. *J Agric Food Chem* 66:4300-4308.
- González-Manzano S, Pérez-Alonso JJ, Salinas-Moreno Y, Mateus N, Silva AMS, De Freitas V, Santos-Buelga C, 2008. Flavanol-anthocyanin pigments in corn: NMR Characterisation and presence in different purple corn varieties. *J Food Comp Anal* 21: 521-526.
- Guzmán-Gerónimo RI, Alarcón E, García O, Chávez-Servia JL, Alarcón-Zavaleta T, 2017. Chemical, antioxidant, and cytotoxic properties of native blue corn extract. In: Badria FA (ed.), *Natural Products and Cancer Drug Discover*. InTech, Rijeka, Croatia. pp: 67-77.
- Harrigan GG, Stork LG, Riordan SG, Reynolds TL, Ridley WP, Masucci JD, Macisaac S, Steven CH, Orth R, Smith RG, Wen L, Brown WE, Welsch M, Riley R, Mcfarland D,

- Pandravada A, Glenn KC, 2007. Impact of genetics and environment on nutritional and metabolite components of maize grain. *J Agric Food Chem* 55:6177-6185.
- Herrera-Sotero MY, Cruz-Hernández CD, Trujillo-Carretero C, Rodríguez-Dorantes M, García-Galindo HS, Chávez-Servia JL, Oliart-Ros RM, Guzmán-Gerónimo RI, 2017. Antioxidant and antiproliferative activity of blue corn and tortilla from native maize. *Chem Cent J* 11:110.
- Jing P, Noriega V, Schwartz SS, Giusti MM, 2007. Effects of growing conditions on purple corn cob (*Zea mays* L.) anthocyanins. *J Agric Food Chem* 55: 8625-8629.
- Kapcum C, Uriyapongson J, 2018. Effects of storage conditions on phytochemical and stability of purple corn cob extract powder. *Food Sci and Technol* 1-5.
- Kato TA, Mapes C, Mera LM, Serratos JA, Bye RA. 2009. Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. Universidad Nacional Autónoma de México and Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F 116 p.
- Khampas S, Lertrat K, Lomthaisong K, Simla S, Suriharn B, 2015. Effect of location, genotype and their interactions for anthocyanins and antioxidant activities of purple waxy corn cobs. *Turk J Field Crops* 20(1): 15-23.
- Kishore G, Ranjan S, Pandey A, Gupta S, 2010. Influence of altitudinal variation on the antioxidant potential of tartar buckwheat of western Himalaya. *Food Sci Biotechnol* 19(5): 1355-1363.
- López-Martínez LX, Oliart-Ros RM, Valerio-Alfaro G, Lee CH, Parkin KL, García HS, 2009. Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *LWT-Food Sci and Technol* 42:1187-1192.
- Navarro A, Torres A, Fernández-Aulis F, Peña C, 2018. Bioactive compounds in pigmented maize. In: Fahad S (ed.), *Corn-Production and Human Health in Changing Climate*. InTech, London, UK. pp: 69-91.
- Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000, 2002. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. Diario Oficial de la Federación. México, D.F 83 p. <http://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/libros2009/DO2280n.pdf>
- Pedreschi R, Cisneros-Zevallos L, 2007. Phenolic profiles of Andean purple corn (*Zea mays* L.). *Food Chem* 100:956-963.
- Perales H, Golicher D, 2014. Mapping the diversity of maize races in Mexico. *PLoS ONE* 9(12): e114657.
- Prasanthi PS, Naveena N, Rao MV, Bhaskarachary K, 2017. Composition variability of nutrients and physicochemical in corn after processing. *J Food Sci Technol* 54:1080-1090.
- Pulido R, Bravo L, Saura-Calixto F, 2000. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *J Agric Food Chem* 48(8): 3396-3402.
- Salinas MY, Soria JR, Espinosa TE, 2010. Aprovechamiento y distribución de maíz azul en el Estado de México. Folleto Técnico 42. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias 50 p.
- Salinas Y, Cruz FJ, Díaz SA, Castillo F, 2012. Granos de maíces pigmentados de Chiapas, características físicas, contenido de antocianinas y valor nutracéutico. *Rev Fitotec Mex* 35:33-41.

- Salinas Moreno Y, García Salinas C, Coutiño Estrada B, Vidal Martínez VA, 2013. Variabilidad en contenido y tipos de antocianinas en granos de color azul/morado de poblaciones mexicanas de maíz. *Rev Fitotec Mex* 36(3): 285-294.
- Salinas Y, Hernández V, Trejo LI, Ramírez JL, Iñiguez O. 2017. Composición nutricional y compuestos bioactivos en tortilla de poblaciones nativas de maíz con grano azul/morado. *Rev Mex Cien Agr* 8:1483-1496.
- Singleton VL, Rossi JA, 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Amer J Enol and Viticul* 16:144-158.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2017. Estadísticas de producción agrícola 2017. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, SAGARPA. Ciudad de México, México. http://siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2018/Atlas-Agroalimentario-2018
- Velásquez-Ladino Y, Quiñones R, Coy-Barrera E, 2016. Chemical profiling combined with multivariate analysis of unfractionated kernel-derived extracts of maize (*Zea mays* L.) landraces from central Colombia. *Emir J Food Agric* 28(10): 713-724.
- Vera-Guzmán AM, Chávez-Servia JL, Carrillo-Rodríguez JC, 2012. Proteína, lisina y triptófano en poblaciones nativas de maíz mixteco. *Rev Fitotec Mex* 35(5): 7-13.
- Vogt T, 2010. Phenylpropanoid biosynthesis. *Molecular Plant* 3(1): 2-20.
- Wrolstad RE, 1976. Color and pigment analyses in fruit products. Station Bulletin 624. Agricultural Experimental Station of Oregon State University, Corvallis, Oregon, USA.
- Xu J-G, Hu Q-P, Wang X-D, Luo J-Y, Liu Y, Tian C-R, 2010. Changes in the main nutrients, physicochemical and antioxidant activity in yellow corn grain during maturation. *J Agric and Food Chem* 58:5751-5756.
- Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W, 1999. The determination of flavonoids contents in mulberry and their scavenging effects in superoxide radicals. *Food Chem* 64:555-559.
- Žilić S, Serpen A, Akıllıoğlu G, Gökmen V, Vančetovic J, 2012. Phenolic compounds, carotenoids, anthocyanins, and antioxidant capacity of colored maize (*Zea mays* L.) kernels. *J Agric Food Chem* 60:1224-123.

CAPÍTULO V

Conclusiones generales

Las localidades de cultivo o ambiente y manejo influyeron significativamente en el contenido de minerales en grano, y las poblaciones agrupadas por color de grano también mostraron diferencias importantes excepto en zinc e indican un manejo diferencial por color que hacen los agricultores de sus maíces preservados en sus parcelas de cultivo. Los grupos de color de grano interactúan con el ambiente en Cu, Fe, Ca y Na. Entre poblaciones se determinó una alta variación en todos los elementos evaluados excepto en Zn y da pautas para seleccionar dentro de maíces azules, rojos y amarillo con mayor contenido de Fe, Cu, Mn, P, Mg, K, Ca, Na y S. Las poblaciones AZ02 y AZ03 de grano azul y RJ03 y RJ096 de grano de color rojo destacaron por su mayor contenido en micro y macronutrientes. En este estudio, las poblaciones interactuaron con los sitios de cultivo en Cu, Fe, Mn, Ca, Na y S. El contenido de Zn cambió significativamente por efecto del ambiente y no por efecto del genotipo o interacciones genotipo-ambiente. Todo esto refleja una alta diversidad fenotípica en composición de minerales en grano de maíces pigmentados preservados por los agricultores tradicionales en Oaxaca, México.

Los resultados muestran que, el contenido de antocianinas, fenoles y actividad antioxidante se ven afectados por lugar o ambiente de cultivo de los maíces pigmentados. El contenido de antocianinas en el grupo de maíces azules fue significativamente mayor que en granos rojos. Entre grupos de color de grano se determinaron diferencias significativas decrecientes de azul > rojo > amarillo en fenoles, flavonoides y actividad antioxidante e interacciones significativas entre localidades y grupos de color de grano, y en Santa María Coyotepec se determinaron los mayores valores de antocianinas, fenoles, flavonoides y actividad antioxidante. Se determinó una alta variabilidad entre poblaciones respecto a compuestos bioactivos evaluados y actividad antioxidante, e interacciones significativas entre localidades y poblaciones de grano pigmentado. Las poblaciones sobresalientes en composición y actividad antioxidante fueron: RJ02, RJ03, RJ04, RJ06, AZ10, AZ13, AZ16 y AZ18 principalmente.

ANEXOS

A. POBLACIONES DE MAÍCES PIGMENTADOS NATIVOS DE OAXACA UTILIZADOS EN ESTE ESTUDIO



RJ01



AM05



AZ02



RJ02



AM06



AZ03



RJ03



AM07



AZ06



RJ04



AM08



AZ09



RJ05



AM10



AZ10



RJ06



AM21



AZ13



RJ07



AM22



AZ16



RJ08



AM23



AZ18



RJ09



AM24



AZ21



RJ10



AM26



AZ23



RJ11



AM27



AZ24



RJ12



AM29



AZ25



RJ13



AM30



AZ27



AM35



AM37



AZ28



AM40



AM41



AM42



AM45



AM49



AM50



AM51



AM52



AM53



AM55



AM58



AM59



AM60



AM62



AM70