

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA**



TESIS

**EFFECTO DEL ESTRÉS HÍDRICO SOBRE COMPONENTES DE LA PARED CELULAR EN
PERICARPIO DE MAÍZ (*Zea mays* L.)**

PRESENTA

ELEAZAR LUGO CRUZ

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA EN CIENCIAS
EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA**

Escobedo, N. L.

Julio de 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE AGRONOMÍA



TESIS

**EFFECTO DEL ESTRÉS HÍDRICO SOBRE COMPONENTES DE LA PARED
CELULAR EN PERICARPIO DE MAÍZ (*Zea mays* L.)**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA EN
CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA**

PRESENTA

ELEAZAR LUGO CRUZ

Escobedo, N. L.

Julio de 2014

ESTA TESIS FUE REVISADA Y APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN
CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

COMITÉ PARTICULAR

Dr. Guillermo Niño Medina
Director

Dr. Humberto Rodríguez Fuentes
Co-Asesor

Dr. Juan Antonio Vidales Contreras
Co-Asesor

Dr. Ernesto Javier Sánchez Alejo
Subdirector de Estudios de Posgrado e Investigación

DEDICATORIA

A Dios todo poderoso

Por ser luz infinita, verdad y amor por encima de toda forma y más allá de toda ciencia, así como por darme el privilegio de superación, terminando una meta más en mi camino.

A mis padres

Eliazar Lugo Encinia y Virginia Cruz Pérez

Por haberme dado la vida, ejemplo de amor, honradez, tenacidad y espíritu de servicio, valores que atesoro y lucho cada vez por mantener y engrandecer. Así como por permitirme tener la satisfacción de realizarme gracias al producto de su amor y esfuerzo.

A mis hermanos

José Francisco, Brenda Yaneth, Ricardo y Perla Lizeth, por la unidad y apoyo entre hermanos que hemos mantenido como un legado de familia.

A mis familiares y amigos

Por el cariño y la amistad que me han brindado en los momentos prósperos y adversos.

A mis profesores

Quisiera rendirle un homenaje a ese grupo de hombres y mujeres que sin egoísmo compartieron conmigo sus conocimientos y creo que la mejor manera de honrarles es siguiendo su ejemplo.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León por el apoyo tanto económico como académico para la culminación de este trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para la obtención del grado.

A la Subdirección de Estudios de Posgrado e Investigación de la FAUANL, por los apoyos aportados en el desarrollo de los estudios de maestría.

Al Dr. Guillermo Niño Medina por dirigir este trabajo de tesis; por sus conocimientos, consejos, apoyo y gran amistad.

Al Ph. D. Francisco Zavala García por su entusiasta participación y el interés mostrado en el trabajo de tesis.

Al Ph. D. Emilio Olivares Sáenz por su colaboración en el presente trabajo y sus experiencias compartidas.

Al Dr. Humberto Rodríguez Fuentes por sus comentarios y sugerencias para afinar el trabajo de tesis.

Al Dr. Juan Antonio Vidales Contreras por su participación y apoyo en el presente trabajo así como su asesoría acertada.

Al Dr. Roberto Carranza de la Rosa por sus enriquecedoras aportaciones a este trabajo, por su valioso tiempo y su admirable disposición.

Al Dr. José Elías Treviño Ramírez por compartir sus conocimientos para mejorar el trabajo de la investigación.

Al personal docente, administrativo y de intendencia de la Facultad de Agronomía en Escobedo, la Ascensión y Marín por su gran apoyo y buenos deseos.

A mis compañeros y amigos.

ÍNDICE

| CAPÍTULO | PÁG |
|--|-----|
| INDICE DE CUADROS..... | ix |
| INDICE DE FIGURAS..... | xi |
| INDICE DEL APÉNDICE..... | xii |
| RESUMEN..... | xiv |
| SUAMARY..... | xv |
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 16 |
| 1.1. Hipótesis General..... | 19 |
| 1.1.1. Hipótesis Específicas..... | 19 |
| 1.2. Objetivo General..... | 20 |
| 1.2.1. Objetivos Específicos..... | 20 |
| 2. REVISIÓN DE LITERATURA..... | 21 |
| 2.1. Importancia del Maíz..... | 21 |
| 2.1.1. Origen..... | 22 |
| 2.1.2. Descripción Botánica..... | 22 |
| 2.1.3. Principales Usos del Grano..... | 24 |
| 2.1.4. Importancia del Pericarpio y Pared Celular..... | 26 |

| | |
|---|----|
| 2.2. Importancia del Estudio del Estrés Hídrico en el Cultivo de Maíz.. | 27 |
| 2.3. Respuestas de la Planta de Maíz al Estrés Hídrico..... | 29 |
| 2.4. Influencia del Estrés Hídrico sobre la Pared Celular..... | 34 |
| 2.4.1. Compuestos fenólicos..... | 36 |
| 2.4.2. Arabinoxilanos..... | 42 |
| 3. MATERIALES Y METODOS..... | 47 |
| 3.1. Producción de Grano en Campo..... | 47 |
| 3.2. Obtención de Pericarpio..... | 48 |
| 3.3. Extracción de Compuestos Fenólicos | 48 |
| 3.3.1. Fenoles Totales..... | 49 |
| 3.3.2. Capacidad Antioxidante..... | 49 |
| 3.3.3. Ácidos Fenólicos..... | 50 |
| 3.4. Contenido de Proteína..... | 51 |
| 3.5. Contenido de Lignina..... | 52 |
| 3.6. Extracción de Arabinoxilanos..... | 53 |
| 3.7. Análisis estadístico..... | 54 |
| 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 55 |
| 4.1. Producción de Grano..... | 55 |
| 4.2. Fenólicos totales y Capacidad Antioxidante..... | 58 |
| 4.3. Ácidos Fenólicos..... | 61 |
| 4.4. Contenido de Proteína y Lignina..... | 67 |
| 4.5. Arabinoxilanos..... | 71 |

| | |
|----------------------|----|
| 5. CONCLUSIONES..... | 73 |
| 6. BIBLIOGRAFIA..... | 74 |
| 7. APÉNDICE..... | 88 |

INDICE DE CUADROS

| Cuadro | Título | Pagina |
|--------|--|--------|
| 1 | Contenido de compuestos fenólicos en granos de cereales..... | 39 |
| 2 | Datos climáticos en el área de estudio durante el ciclo de crecimiento del cultivo..... | 55 |
| 3 | Producción de grano de los genotipos Cebú, DK-2027 y DK-2034 bajo riego y estrés hídrico..... | 57 |
| 4 | Comparación de medias de la concentración y capacidad antioxidante de compuestos fenólicos de pericarpio de maíz bajo condiciones de riego y estrés hídrico..... | 60 |
| 5 | Comparación de medias de la concentración de ácidos fenólicos de pericarpio de maíz bajo condiciones de riego y estrés hídrico..... | 62 |
| 6 | Comparación de medias de la concentración de lignina y proteína de pericarpio de maíz bajo condiciones de riego y estrés hídrico..... | 70 |

| | | |
|---|--|----|
| 7 | Comparación de medias para porcentaje de extracción de arabinosilanos de pericarpio de maíz bajo condiciones de riego y estrés hídrico | 71 |
|---|--|----|

INDICE DE FIGURAS

| Figura | Título | Pagina |
|--------|--|--------|
| 1 | Ruta biosintética de precursores de lignina..... | 41 |
| 2 | Estructura química de arabinoxilanos..... | 44 |
| 3 | Estructura química de dímeros (a) y trímeros (b) del ácido ferúlico, identificados en geles de arabinoxilanos..... | 45 |
| 4 | Cromatogramas de estándares de ácidos fenólicos que indican el tiempo de retención (min)..... | 63 |
| 5 | Cromatograma de ácidos fenólicos obtenidos de pericarpio de maíz producido con: a) riego, b) estrés hídrico..... | 66 |

INDICE DEL APÉNDICE

| Apéndice | Título | Pagina |
|----------|--|--------|
| A1 | ANVA para la producción de grano de los genotipos Cebú, DK-2027, DK-2034 bajo dos condiciones de humedad: estrés hídrico y riego..... | 88 |
| A2 | ANVA para la concentración de fenoles totales en el pericarpio de maíz de los híbridos Cebú, DK-2027, DK-2034 bajo condiciones de estrés hídrico y riego..... | 88 |
| A3 | ANVA del porcentaje de inhibición de DPPH el pericarpio de maíz de los híbridos Cebú, DK-2027, DK-2034 bajo condiciones de estrés hídrico y riego..... | 89 |
| A4 | ANVA de la concentración de ácido <i>cis</i> -ferúlico en el pericarpio de maíz de los híbridos Cebú, DK-2027, DK-2034 bajo condiciones de estrés hídrico y riego..... | 89 |

| | | |
|----|--|----|
| A5 | ANVA de la concentración de ácido <i>trans</i> -ferúlico en el pericarpio de maíz de los híbridos Cebú, DK-2027, DK-2034 bajo condiciones de estrés hídrico y riego..... | 90 |
| A6 | ANVA de la concentración de ácido cumárico en el pericarpio de maíz de los híbridos Cebú, DK-2027, DK-2034 bajo condiciones de estrés hídrico y riego..... | 90 |
| A7 | ANVA de la concentración de lignina en el pericarpio de maíz de los híbridos Cebú, DK-2027, DK-2034 bajo condiciones de estrés hídrico y riego..... | 91 |
| A8 | ANVA de la concentración de proteína en el pericarpio de maíz de los híbridos Cebú, DK-2027, DK-2034 bajo condiciones de estrés hídrico y riego..... | 91 |
| A9 | ANVA del porcentaje de extracción de arabinosilanos en el pericarpio de maíz de los híbridos Cebú, DK-2027, DK-2034 bajo condiciones de estrés hídrico y riego..... | 92 |

RESUMEN

El cultivo del maíz es uno de los más importantes de México, su grano contiene componentes como celulosa, lignina, proteína, arabinosilanos y polímeros fenólicos en las paredes celulares del pericarpio principalmente. Existe poca información sobre el comportamiento de estos compuestos producidos bajo estrés hídrico, por lo que es conveniente caracterizarlos para encontrar posibles usos en la industria farmacéutica y/o alimentaria, así como en programas de mejoramiento genético. El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto del estrés hídrico aplicado a partir de la etapa R1 (estigmas visibles) sobre la producción de grano, el contenido de fenoles totales y su capacidad antioxidante, el contenido de lignina, proteína total, arabinosilanos, ácido caféico, ácido cumárico, ácido *cis*-ferúlico, ácido *trans*-ferúlico y ácido sinápico en extractos obtenidos del pericarpio de maíz de los híbridos Cebú, DK-2027 y DK-2034. Los resultados mostraron que el estrés hídrico disminuyó la producción de grano, la capacidad antioxidante y la concentración de los ácidos *trans*-ferúlico y cumárico en los genotipos evaluados. El estrés hídrico aumentó el contenido de proteína solamente en el genotipo DK-2027. El estrés hídrico no afectó significativamente la concentración de arabinosilanos, fenoles totales, lignina, ácido *cis*-ferúlico, ácido sinápico y ácido cafeico en todos los genotipos.

Palabras clave: Maíz, estrés hídrico, compuestos fenólicos, proteína, lignina, capacidad antioxidante, arabinosilanos.

SUMMARY

Corn is one of the most important crops in the world; the corn kernel contains components as cellulose, lignin, protein, arabinoxylans and phenolic polymers in the cell walls of pericarp mainly. There is little information on the physicochemical behavior of these compounds produced on water stress, so it is useful to characterize these compounds for possible uses in the pharmaceutical and food industries also on breeding program. The objective was to determine if there are differences in the concentration of cell wall components of the pericarp three maize hybrids grown under normal irrigation and water stress applied since the stage R1 on grain production, the total phenolic content and antioxidant activity, lignin, protein, arabinoxylans and concentration of caffeic, coumaric, *cis*-ferulic, *trans*-ferulic and sinápico acids in extracts obtained from the pericarp of Cebú, DK-2027 and DK-2034 maize hybrids. The results show that water stress decreased: grain yield, antioxidant activity and *trans*-ferulic and coumaric acids concentration in all genotypes. This stress increased the protein content only in DK-2027 genotype. Water stress did not affect the concentration of arabinoxylans, *cis*-ferulic acid, total phenols and lignin in the genotypes evaluated in this study. Furthermore, sinápico and caffeic acids were found at trace levels in all treatments.

Keywords: Corn, water stress, phenolic compounds, antioxidant capacity, protein, arabinoxylans lignin.

1. INTRODUCCIÓN

La pared celular en maíz consiste en una mezcla compleja de polisacáridos y otros polímeros secretados por la célula. Dicho grupo de compuestos proporcionan resistencia mecánica, mantiene la forma, controla la expansión, regula el transporte y proporciona funciones de protección para la célula. Entre los principales componentes se encuentran: celulosa, arabinoxilanos, proteínas, polímeros fenólicos y lignina (Bidlack *et al.*, 1992; UNLPAM, 2013). Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de las plantas, de los que se han identificado más de 8000 que difieren en estructuras químicas y en actividad (Caballero, 2004). Los ácidos fenólicos pueden ser divididos en dos grupos; los derivados del ácido hidroxibenzoico que incluyen los ácidos *p*-hidroxibenzoico, protocatecuico, vanílico, gálico, siríngico y elágico, y los derivados del ácido hidroxicinámico entre los que se encuentran los ácidos clorogénico, cumárico, caféico, ferúlico y sinápico. Estos ácidos se encuentran principalmente unidos a diferentes componentes de la pared celular como celulosa, lignina y proteínas (Macancela, 2012). Además, dichos compuestos químicos son indispensables para su funcionamiento y otros son útiles en los mecanismos de defensa bajo situaciones de tensión y contra el ataque de organismos patógenos (Cabrera-Soto *et al.*, 2009).

Asimismo, presentan interés nutricional por su contribución al mantenimiento de la salud humana debido a las propiedades benéficas de su actividad antioxidante. Un antioxidante es una sustancia que aun en concentraciones más bajas que el sustrato oxidable, disminuye significativamente o inhibe la oxidación del sustrato (Ruiz *et al.*, 2008). La actividad antioxidante de distintos polifenoles se puede considerar como la actividad biológica responsable del efecto preventivo que se les atribuye sobre determinadas enfermedades cardiovasculares y el cáncer (Zavaleta *et al.*, 2013). Una de las principales fuentes de compuestos fenólicos es el grano de maíz, el cual contiene más fenoles totales y mayor poder antioxidante que cereales como trigo, arroz y avena, sin embargo, su contenido puede variar según el genotipo (Adom y Liu, 2002). El principal compuesto fenólico del maíz es el ácido ferúlico, que representa alrededor del 85% de los fenólicos totales y se encuentra principalmente en el pericarpio del grano en forma libre o esterificado a los heteroxilanos que constituyen la hemicelulosa (De la Parra *et al.*, 2007; Niño-Medina *et al.*, 2009). De igual manera, el maíz es el cultivo más producido en el mundo. En el periodo 2011-2012 se produjeron más de 887 millones de toneladas, siendo E.U.A., China, Brasil, Argentina y México los países con mayor producción. México ocupó el cuarto lugar en producción mundial de maíz durante los años 2007 al 2010 llegando hasta el séptimo en el 2011. En el 2012 se recuperó la quinta posición con más de 21 millones de toneladas producidas (SAGARPA, 2012; USDA, 2012).

Algunos de los requerimientos óptimos para el crecimiento y desarrollo de tal cultivo son temperaturas de 25 a 32 °C para su desarrollo, mientras que para la germinación requiere temperaturas 10 a 21°C. Así mismo, requiere de suelos francos con pH 6-7 (INIFAP, 2012). Se ha observado que cuando la cantidad de agua disponible en el suelo es inferior al 50%, es probable que el cultivo se encuentre bajo condiciones de estrés hídrico (CIMMYT, 2013). En este sentido, es considerado que la floración y las etapas iniciales del período de llenado de grano son críticas para la determinación de su rendimiento. Por lo tanto, las temperaturas altas, frecuentemente asociadas con sequías durante estas etapas, afectan los procesos de polinización, fecundación, así como el desarrollo del grano (Rincón-Tuexi *et al.*, 2006). Así mismo, siendo la falta de agua el principal factor limitante de la producción de cultivos en todo el mundo, conocer cómo las plantas presentan mecanismos que les permiten producir cosechas bajo estas condiciones de producción, puede ser una herramienta básica en los programas de mejoramiento genético. Además, existe poca información sobre el comportamiento fisicoquímico de componentes de la pared celular del grano de maíz producido en condiciones de estrés hídrico, lo cual es de gran importancia para ampliar sus aplicaciones en la industria alimentaria y/o farmacéutica. Por tal motivo, dichos compuestos siguen siendo investigados y nueva información sobre su concentración, estructura química, nuevas fuentes, y sus aplicaciones se están reportando. En este sentido, la utilización de componentes de la pared celular ha llevado a una creciente atención y se están ofreciendo nuevas ventajas para futuras aplicaciones (Niño-Medina *et al.*, 2009).

1.1. Hipótesis General

El estrés hídrico aplicado durante el desarrollo del grano de maíz afecta la producción de grano y la concentración de componentes de la pared celular del pericarpio.

1.1.1. Hipótesis Específicas

El estrés hídrico aplicado durante el desarrollo del grano (R1-R6) afecta la producción de grano, el contenido de proteína, lignina y arabinosilanos en el pericarpio de los híbridos de maíz Cebú, DK-2027 y DK-2034.

Existen cambios en la concentración de ácido *trans*-ferúlico, ácido *cis*-ferúlico, ácido cumárico, ácido caféico y ácido sinápico en pericarpio de maíz de los híbridos Cebú, DK-2017 y DK-2034 cultivados bajo riego normal y estrés hídrico durante la etapa de formación de grano (R1-R6).

La concentración de fenoles totales y la capacidad antioxidante en extractos fenólicos obtenidos del pericarpio de maíz de los híbridos Cebú, DK-2017 y DK-2034 es afectada por el estrés hídrico aplicado en la etapa de formación del grano (R1-R6).

1.2. Objetivo General

Evaluar el efecto del estrés hídrico sobre la producción de grano y la concentración de componentes de la pared celular en extractos obtenidos de pericarpio de tres híbridos de maíz.

1.2.1. Objetivos Específicos

Determinar los cambios en la producción de grano y el contenido de proteína, lignina y arabinosilanos en el pericarpio de los híbridos de maíz Cebú, DK-2027 y DK-2034 cultivados bajo estrés hídrico en la etapa de formación de grano (R1-R6).

Analizar la concentración de ácido *trans*-ferúlico, ácido *cis*-ferúlico, ácido cumárico, ácido caféico y ácido sinápico en pericarpio de maíz de los híbridos Cebú, DK-2017 y DK-2034 cultivados bajo estrés hídrico durante la etapa de formación de grano (R1-R6).

Evaluar la concentración de fenoles totales y la capacidad antioxidante en extractos fenólicos obtenidos del pericarpio de maíz de los híbridos Cebú, DK-2017 y DK-2034 cultivados en condiciones de estrés hídrico en la etapa de formación del grano (R1-R6).

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Importancia del Maíz

Actualmente el maíz es el cultivo más producido en el mundo. En el periodo 2011-2012 se produjeron más de 887 millones de toneladas, siendo E.U.A., China, Brasil, Argentina y México los países con mayor producción (AMIS, 2012). Desde el punto de vista alimentario, económico y social, el maíz es el cultivo más importante de México. Dicho país ocupó el cuarto lugar en producción mundial de grano de maíz durante los años 2007 al 2010 (SAGARPA, 2012), llegando hasta el séptimo en el 2011, debido a la intensa sequía y heladas que se presentaron en ese año. Sin embargo, gracias a mejores condiciones climatológicas observadas en el 2012 se recuperó la quinta posición con más de 21 millones de toneladas producidas (USDA, 2012). Aunque se cubre prácticamente la totalidad de la demanda del maíz blanco con la producción nacional, México es deficitario en maíz amarillo, que tiene diversos usos, principalmente pecuario, por lo cual se tienen requerimientos de importación superiores a los 7 millones de toneladas promedio anual (SIAP, 2012).

2.1.1. Origen

México es el centro de origen y diversidad del maíz. Dicha planta se originó hace 8,000 años en la parte llamada anteriormente Mesoamérica. La teoría general más aceptada sobre el origen del maíz, es la que postula que el teocintle anual mexicano fue el ancestro del maíz cultivado, el cual fue originado mediante el proceso de domesticación llevada a cabo por la intervención humana (Kato *et al.*, 2009).

2.1.2. Descripción Botánica

El maíz (*Zea mays L*) es una planta C4 anual alógama, perteneciente a la familia de las gramíneas (Poaceae). El desarrollo de la planta de maíz se puede clasificar en etapas vegetativas (V) y reproductivas (R). Las subdivisiones de las etapas V se designan numéricamente a través de V (n), donde (n) representa la última etapa de la hoja antes de VT (Abendroth *et al.*, 2012).

Etapas fenológicas del maíz:

Emergencia. El coleoptilo emerge de la superficie del suelo.

V1. Es visible el cuello de la primera hoja.

V2. Es visible el cuello de la segunda hoja.

Vn. Es visible el cuello de la hoja número “n”. (“n” es igual al número definitivo de hojas que tiene la planta; “n” generalmente fluctúa entre 16 y 22, pero para la floración se habrán perdido las 4 a 5 hojas de más abajo.)

VT. Es completamente visible la última rama de la panícula.

R0. Antesis o floración masculina. El polen se comienza a arrojar.

R1. Son visibles los estigmas. El óvulo R1 o grano está casi completamente sumergido en los materiales circundantes de la mazorca (glumas, lemas y paleas) y es de color blanco en el exterior. Además, el material interno del núcleo en R1 es claro y tiene muy poco líquido presente.

R2. Etapa de ampolla. Los granos se llenan con un líquido claro y se puede ver el embrión.

R3. Etapa lechosa. Los granos se llenan con un líquido lechoso blanco.

R4. Etapa masosa. Los granos se llenan con una pasta blanca. El embrión tiene aproximadamente la mitad del ancho del grano.

R5. Etapa dentada. La parte superior de los granos se llena con almidón sólido y, cuando el genotipo es dentado, los granos adquieren la forma dentada. En los tipos tanto cristalinos como dentados es visible una “línea de leche” cuando se observa el grano desde el costado.

R6. Madurez fisiológica. Una capa negra es visible en la base del grano. La humedad del grano es generalmente de alrededor del 35%.

No todas las plantas en el campo llegan al mismo tiempo a una etapa en particular. Por lo tanto, se asume que el cultivo alcanza una etapa específica cuando al menos el 50% de las plantas presentan las características correspondientes (CIMMYT, 2013; Nielsen, 2013).

2.1.3. Principales Usos del Grano

El grano de maíz es considerado botánicamente un cariósido. Está compuesto aproximadamente por un 70 a 75% de almidón, 8 a 10% de proteína y 4 a 5% de aceite, contenidos en tres principales estructuras: el germen (embrión), el endospermo y el pericarpio. El germen constituye el 10 al 12% del peso seco y contiene el 83% de los lípidos y el 26% de la proteína del grano. El endospermo constituye el 80% del peso seco y contiene el 98% del almidón y el 74% de las proteínas del grano. El pericarpio constituye el 5 al 6% del peso seco e incluye todos los tejidos de cobertura exterior, formado principalmente de fibras vegetales (INTA, 2010). La diversidad de usos del maíz requiere de características específicas en la calidad de sus granos. La industria del refinamiento del maíz se basa en la separación de los componentes químicos del grano (almidón, aceite, proteína y fibra) generando productos que valen más que el grano en bruto.

El maíz blanco se utiliza principalmente para la elaboración de alimentos, como tortillas y tamales, así como aceite comestible o fabricación de barnices, pinturas, cauchos artificiales y jabones. El maíz amarillo se puede utilizar para consumo humano, sin embargo, tiene como destino principal el consumo pecuario y la producción de almidones.

Asimismo, se ha incrementado el uso mundial del maíz para la elaboración de biocombustibles, como el etanol. Para estas aplicaciones, se utilizan diversos genotipos de maíz, lo cual permite seleccionar el grano que mejor se adapte a las necesidades de clima y producción. Sin embargo, algunos factores como la calidad y sabor de la tortilla ha propiciado que algunas variedades criollas no puedan ser desplazadas, por encima de los criterios de productividad y rentabilidad (Corcuera, 2012; NCGA, 2013). Actualmente se observa una tendencia hacia la producción de maíz con características de calidad diferenciadas que permitan satisfacer los variados aspectos de la demanda. Estas características están directamente asociadas con el uso final del producto y justifican su comercialización con identidad preservada, en contraposición al grueso de la producción. Los progresos en la utilización del maíz dependerán de la nueva información que se produzca sobre las interrelaciones de las propiedades físicas, químicas y biológicas del grano de maíz con el genotipo, el ambiente y el manejo pre y poscosecha (INTA, 2010).

2.1.4. Importancia del Pericarpio y la Pared Celular

El pericarpio se divide en cuatro capas: epidermis, mesocarpio, células cruzadas y células tubulares. Dicha estructura está compuesta por 77.7% fibra, 9.1% proteína, 7.3% almidón, 1% grasa y 4.4% de otras sustancias. Estos compuestos se encuentran principalmente en la pared celular. Los principales componentes de la pared celular en el grano de maíz son: celulosa, arabinosilanos, proteínas estructurales, polímeros fenólicos y lignina (Bidlack *et al.*, 1992; UNLPAM, 2013). Estas sustancias son importantes en las células del pericarpio, ya que por ser esta estructura la parte más externa del grano, representan una barrera física de protección contra daños mecánicos. Además, tanto la dureza del endospermo, como las características del pericarpio se conjugan y determinan la tolerancia del grano hacia diferentes plagas. En general, los maíces suaves con pericarpio delgado son los menos tolerantes. Además, las características fisicoquímicas del grano de maíz determinan en primera instancia las condiciones del proceso de nixtamalización y la calidad de la tortilla. Dentro de las características físicas, destacan lo referente a la dureza y el espesor del pericarpio, ya que definen los requerimientos de cocción. Generalmente los maíces suaves requieren tiempos de nixtamalización menores que los duros, lo cual contribuye a reducir los gastos energéticos del proceso.

En el pericarpio se encuentran precursores de color, que al contacto con la solución alcalina en que se realiza la nixtamalización, le confieren a la harina nixtamalizada una pigmentación amarilla, que bajo los actuales patrones de consumo de tortilla blanca, resulta indeseable.

A pesar de esto, se acepta la importancia que tiene el pericarpio solubilizado en la nixtamalización, sobre las características de plasticidad y cohesividad de la masa, pues la harina producida por la industria después de la eliminación de este componente, requiere de la adición de carboxi-metilcelulosa (CMC), con el fin de mejorar la plasticidad de la masa, así como la absorción de agua de la harina (Palma, 1996).

En México, las industrias productoras de harina de maíz nixtamalizado, tales como Maseca y Minsa, generan anualmente grandes cantidades de pericarpio de maíz (20000 a 46000 toneladas por empresa), este material contiene compuestos importantes que pueden dar un uso alternativo a este subproducto (Morales-Ortega *et al.*, 2013).

2.2. Importancia del Estudio del Estrés Hídrico en el Cultivo de Maíz

En México más del 82% de la superficie cultivada con maíz esta bajo temporal. La productividad de maíz bajo temporal ha crecido en un 35%, con rendimientos que aumentaron desde 1.63 ton ha⁻¹ a 2.2 ton ha⁻¹. Sin embargo, en la agricultura bajo temporal las plantas frecuentemente afronta periodos de estrés hídrico, lo cual afecta el rendimiento y desarrollo del grano de manera diferente dependiendo de su intensidad y del momento de ocurrencia en relación a la etapa de crecimiento del cultivo (PIONEER, 2012; SIAP, 2012).

La falta de agua representa el principal factor limitante de la producción de cultivos en todo el mundo. La disponibilidad de agua para la agricultura está destinada a disminuir ya que la prioridad es la gente, la industria y, finalmente, la agricultura. Naturalmente, estas dificultades serán más pronunciadas en zonas agrícolas en el semiárido. En este sentido, una estrategia para el futuro es la obtención de plantas que poseen la capacidad de realizar una alta productividad en condiciones de estrés hídrico. Esto explica la creciente investigación relacionada con el efecto del estrés hídrico sobre el crecimiento, la expresión de genes, las vías de señalización, la respiración, cierre de los estomas, la reducción de la tasa de fotosíntesis y la acumulación de osmolitos dentro de las células (Leucci *et al.*, 2008). Además, la carencia de alimentos se vuelve cada vez más grande, debido a ello es necesario que entendamos cómo los organismos de las especies cultivadas presentan mecanismos que les permiten producir cosechas bajo diferentes condiciones de producción.

Dicho conocimiento puede ser una herramienta básica en los programas de mejoramiento genético en el desarrollo de criterios de selección. Además, debido a la importancia que tiene proveer valor agregado a los productos agrícolas, es necesaria una determinada calidad del producto final, la cual no sólo se logra a través del procesamiento industrial postcosecha, sino que también depende de la calidad del producto primario (composición química, aptitud industrial, nutricional o sanitaria), variable fuertemente afectada por el genotipo, el ambiente y el manejo de los cultivos.

Por lo tanto, entender los patrones morfológicos, anatómicos y fisiológicos de los cultivos puede contribuir al estudio y análisis de los factores determinantes de dicha calidad, lo cual ayudaría a proponer alternativas y permitir tomar decisiones prácticas que optimicen el desarrollo y crecimiento de las plantas (Reyes y Martínez, 2004; Varela, 2011).

2.3. Respuestas de la Planta de Maíz al Estrés Hídrico

Los ciclos estrés/respuesta son situaciones que se dan de forma rutinaria a lo largo de la vida de las plantas. El concepto de estrés en sí mismo es relativo, ya que una determinada situación medioambiental puede resultar estresante para unas especies y no para otras. La resistencia de la planta a la sequía hace referencia a su capacidad para crecer satisfactoriamente en condiciones de estrés hídrico. Se distinguen tres mecanismos de adaptación de las plantas al estrés hídrico:

- **Mecanismos de escape:** capacidad de la planta para completar su ciclo de vida antes del déficit hídrico sea más severo.
- **Mecanismos de desplazamiento o evitación de la deshidratación:** capacidad de la planta para mantener un potencial hídrico relativamente alto en condiciones de estrés hídrico atmosférico o del suelo, mediante el cierre estomático o ajuste osmótico.
- **Mecanismos de tolerancia a la deshidratación:** capacidad de la planta para reducir la actividad química del agua; concentrar solutos y moléculas y producir modificaciones en las membranas celulares.

La exposición de las plantas a un ambiente con limitaciones de agua durante varios estadios de desarrollo activa múltiples cambios fisiológicos y bioquímicos. El crecimiento de la planta puede ser inhibido por niveles de estrés moderado que inducen una reducción en el crecimiento y división celular, que son los procesos más sensibles al estrés hídrico, seguidos por la fotosíntesis.

La primera respuesta de la planta a un déficit hídrico es el cierre de los estomas para evitar las pérdidas de agua por transpiración. El cierre estomático produce un descenso en la concentración de CO₂ disponible en las hojas y, como consecuencia, un descenso en la tasa fotosintética debido a la disminución de la actividad de la ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa. Una disminución de los niveles intracelulares de CO₂ da lugar a una sobreproducción de los componentes de la cadena de transporte electrónico y genera especies reactivas de oxígeno (ERO). Estos compuestos aunque son tóxicos para la planta y deben ser eliminados, pueden actuar como mensajeros secundarios en la traducción de la señal en la respuesta al estrés hídrico.

Las ERO son formas parcialmente reducidas del oxígeno. Su formación es un proceso normal, inevitable y constante en organismos que poseen un metabolismo energético basado en reacciones de oxidación-reducción, ya que son producto de multitud de reacciones químicas imprescindibles para la vida celular (Farooq *et al.*, 2009). Existen numerosas ERO, entre ellas podemos encontrar radicales libres, como el anión superóxido (O₂⁻), y el radical hidroxilo (HO).

Por otro lado, entre las formas no radicales encontramos el peróxido de hidrogeno (H_2O_2) y el oxígeno siglete (O_2). El anión superóxido también puede reaccionar con radicales como el óxido nítrico (NO) generando peroxinitrito ($OONO^-$), precursor de otros potentes agentes oxidantes que reciben el nombre de especies reactivas del nitrógeno. Por este motivo, la generación de ERO va inevitablemente unida a la producción de dichas especies (Xoconostle-Cázares *et al.*, 2011). A pesar del papel fisiológico que desempeñan algunos ERO, también pueden dar lugar a reacciones de oxidación indeseadas, contra las cuales los organismos han desarrollado defensas antioxidantes. Cuando se produce un desequilibrio entre el balance de ERO y las defensas antioxidantes se produce un estrés oxidativo, el cual genera daño en los tejidos.

Cualquier alteración de las condiciones óptimas del cultivo incide de forma negativa en la fisiología de la planta, se altera la cadena de transporte electrónico y genera un incremento en la tasa de producción de ERO (Montoliu, 2010). De forma general, los efectos que provocan las ERO son la Inhibición de enzimas, la reacción con pigmentos tipo clorofila produciendo su degradación, la peroxidación de lípidos y la fragmentación del ADN producida por la reacción de los radicales hidroxil con las bases nitrogenadas, que es un efecto de las ERO muy difícil de reparar.

El mantenimiento de las ERO a un nivel compatible con el funcionamiento celular normal se lleva a cabo por diversas actividades enzimáticas (catalasa, superóxido dimutasa, ascorbato peroxidasa y glutatión reductasa) en combinación con otras moléculas de carácter no proteico con capacidad antioxidante como son los compuestos fenólicos (Xoconostle-Cázares *et al.*, 2011).

Otra de las principales reacciones de la planta frente al déficit hídrico es el ajuste osmótico (AO), el cual consiste en la acumulación de solutos y la disminución del potencial hídrico total de la célula; como resultado, las células pueden absorber agua y mantener su actividad fisiológica.

La acumulación en la célula de un gama de moléculas/iones osmóticamente activos incluyendo azúcares solubles, alcoholes, prolina, glicinabetaína, ácidos orgánicos, calcio, potasio y iones cloruro, puede contribuir a mantener la turgencia, factor importante para el crecimiento durante el estrés hídrico. En general, las enzimas son sensibles a las altas concentraciones de iones, como el Na^+ , por lo tanto, la acumulación de iones durante el ajuste osmótico ocurre principalmente en la vacuola, mientras que en el citoplasma se acumulan solutos que no afectan negativamente la funcionalidad de macromoléculas celulares (Silva-Robledo *et al.*, 2007). La acumulación de osmolitos compatibles también tiene como consecuencia la osmoprotección, que está dada por la capacidad estabilizadora de algunos de estos solutos sobre macromoléculas como las proteínas y los sistemas de membrana celulares.

Otra de las respuestas al déficit hídrico generalmente incluye la alteración en la expresión de proteínas. Estos cambios generalmente están relacionados con el aumento o la disminución de la expresión de genes específicos que codifican proteínas. Entre las proteínas más importantes por su efecto protector potencial están las LEA (abundantes durante la embriogénesis tardía), las involucradas en las vías de síntesis de los osmolitos y las que funcionan como antioxidantes. Se ha encontrado que las proteínas LEA protegen las proteínas y membranas a la deshidratación, es decir, el agua mantiene la estructura de proteínas y fosfolípidos, y es posible que proteínas tales como las LEA D-11 y D-13, las cuales forman una estructura en "randomcoil" (aminoácidos orientados al azar), sustituyan el agua y mantengan la estructura de proteínas y membranas en ausencia de esta.

Otro grupo de proteínas que se sobre-expresan durante el estrés hídrico son las enzimas antioxidantes que, junto con compuestos fenólicos, detoxifican a las plantas de los radicales libres, además de las proteínas de choque térmico, las proteínas transportadoras de iones y aquellas que permiten el transporte de agua (acuaporinas), las proteasas, las proteínas kinasas, las fosfatasas, las proteínas involucradas en el metabolismo de los fosfolípidos y los factores transcripcionales (Moreno, 2009).

2.4. Influencia del Estrés Hídrico sobre la Pared Celular

El estrés hídrico plantea desafíos únicos para las células que dependen de un esqueleto hidrostático y una pared celular rica en polisacáridos para el crecimiento y desarrollo. Las propiedades de las paredes celulares también juegan un papel importante en varias respuestas al estrés hídrico, incluyendo la evitación a la deshidratación. El conocimiento de cómo la pared celular está adaptada a la pérdida de agua es de interés en el desarrollo de una comprensión general de la tolerancia al estrés hídrico y de relevancia en las estrategias relacionadas con la mejora de los cultivos. Los cambios en la concentración de componentes de la pared celular durante dicho estrés pueden modificar las propiedades en los tejidos de la planta.

El agua controla la presión de turgencia, lo que afecta directamente la extensibilidad de las paredes celulares. La célula ha demostrado que responde a los cambios de dicha presión mediante el relajamiento o endurecimiento de su pared. Dicha deformación se puede cuantificar por su módulo elástico, ϵ . De tal forma que ϵ es el cambio de presión requerida para causar una unidad de cambio en el volumen celular. Cuando ϵ es bajo, la pared celular cambia fácilmente, por lo que una pérdida de agua hará un gran cambio en volumen, pero un pequeño cambio en la turgencia, debido a que la pared celular se encoge y se continúa apretando el citoplasma.

Por tal motivo, la tolerancia a la sequía es el resultado de dichos procesos, en donde la pared celular de los tejidos que son esenciales para mantener en crecimiento se afloja, permitiendo de este modo que importantes puntos de crecimiento, tales como vértices, sigan creciendo a presiones de turgencia inferiores. Por el contrario, los tejidos que no son esenciales para el crecimiento se hacen rígidos.

Los mecanismos que rigen el respectivo aflojamiento y endurecimiento de las paredes celulares parece ser el resultado de diferentes procesos, por lo que constituyen una respuesta de estrés compleja.

Por ejemplo, a paredes celulares flexibles, se asocia una disminución de pH, la cual es regulada por la presencia de extensinas y enzimas sintetizadoras de xiloglucanos y arabinanos (Verslues *et al.*, 2006). Además, canales de agua también han sido implicados en la facilitación del transporte de agua a las paredes celulares. Por el contrario, se ha observado que durante el estrés hídrico la acumulación de compuestos fenólicos y monómeros de lignina hacen que la pared sea cada vez más inflexible y rígida, lo que da lugar a una interrupción del crecimiento y menor pérdida de agua en estas áreas. En este sentido, es evidente que la concentración de dichos compuestos en la pared celular durante el estrés hídrico es diferente dependiendo del tejido en la planta (Moore *et al.*, 2008).

2.4.1. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de las plantas, de los que se han identificado más de 8000, los cuales difieren en estructura química y en actividad (Caballero, 2004). Una molécula fenólica es característica de una especie vegetal o incluso de un órgano o tejido de esa planta. En el grano de maíz, estos compuestos están localizados en el pericarpio principalmente. Dichos metabolitos poseen por lo menos un anillo aromático en su estructura con uno o más grupos hidroxilo, y son útiles en los mecanismos de defensa a estreses bióticos y abióticos; además presentan interés nutricional por su contribución al mantenimiento de la salud humana, debido a las propiedades benéficas de su actividad antioxidante (Rao *et al.*, 2000). Un antioxidante es una sustancia que aun en concentraciones más bajas que el sustrato oxidable, disminuye significativamente o inhibe la oxidación del sustrato (Ruíz *et al.*, 2008).

La capacidad o actividad antioxidante se refiere a la capacidad de un compuesto para reaccionar con radicales libres (RL). Los RL son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón libre, además son muy reactivos ya que tienden a captar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electromagnética. Una vez que el RL ha conseguido sustraer el electrón que necesita, la molécula estable que se lo cede se convierte a su vez en un RL por quedar con un electrón desapareado, iniciándose así una reacción en cadena que termina destruyendo las células.

Se ha observado que la producción de RL induce la acción de la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL) la cual inicia la síntesis de compuestos fenólicos. La acción de PAL es fundamental para la fisiología de las plantas, y su actividad aumenta cuando las plantas se les somete a situaciones de estrés, como la falta de agua, frío, infecciones fúngicas o bacterianas y radiaciones UV (González, 2013).

Dentro de los cereales, el grano de maíz es una fuente importante de compuestos fenólicos, los cuales contienen alta capacidad antioxidante. Sin embargo, esta concentración depende del genotipo y los métodos de extracción y cuantificación utilizados (Cuadro 1).

Existe consenso que la actividad antioxidante de dichos compuestos resulta de una combinación de sus propiedades quelantes de hierro y secuestradoras de radicales libres. La capacidad antioxidante descrita para distintos polifenoles se puede considerar como la actividad biológica responsable del efecto preventivo que se les atribuye sobre determinadas enfermedades, como son las enfermedades cardiovasculares y el cáncer (Zavaleta *et al.*, 2013). Las principales clases de polifenoles se definen de acuerdo a la naturaleza de su estructura: ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos y lignanos.

Los ácidos fenólicos pueden ser divididos en dos grupos, los derivados del ácido hidroxibenzoico que incluyen los ácidos *p*-hidroxibenzoico, protocatecuico, vanílico, gálico, siríngico y elágico, y los derivados del ácido hidroxicinámico entre los que se encuentran los ácidos clorogénico, *p*-cumárico, cafeico, ferúlico y sinápico.

Dichos ácidos se encuentran principalmente unidos a diferentes componentes de la pared celular como celulosa, lignina, proteínas y arabinosilanos (Macancela *et al.*, 2012). Además, éstos compuestos químicos están ampliamente distribuidos en las plantas como producto de su metabolismo secundario, algunos de los cuales son indispensables para su funcionamiento y otros son útiles en los mecanismos de defensa bajo situaciones de tensión y contra el ataque de organismos patógenos (Cabrera-Soto *et al.*, 2009). De la misma forma, los flavonoides se han clasificado en varias clases de acuerdo con las variantes que existen en su estructura química, estos son; chalconas, flavonas, flavonoles, flavanonas, flavanonoles, antocianidinas, catequinas, epicatequinas, auronas, isoflavonoides, pterocarpanos y rotenoides.

La estructura común de los flavonoides consiste en dos anillos aromáticos enlazados a través de tres carbonos que usualmente forman un compuesto heterocíclico oxigenado. Por otra parte, los estilbenos se han encontrado en cantidades bajas en la dieta de humanos. Sin embargo, uno de ellos, el resveratrol, que se reveló durante la selección de plantas medicinales, ha recibido recientemente gran atención por sus propiedades anticancerígenas. Por último, los lignanos son producidos por una dimerización oxidativa de dos unidades de fenilpropanol; están presentes en la naturaleza en forma libre, mientras sus derivados glucósidos están menos distribuidos. El único alimento que contiene cantidades considerables de lignanos es la linaza y aceite de linaza, que contiene 3.7 g kg^{-1} MS de secoisolariciresinol y pequeñas cantidades de matairesinol.

Otros cereales, granos, frutas y algunas verduras también contienen trazas de estos mismos lignanos, pero las concentraciones en las semillas de lino son 1000 veces más altas que las concentraciones en estos otros alimentos (Manach *et al.*, 2004; Dikes y Rooney, 2007; D' Archivio *et al.*, 2007).

Cuadro 1. Contenido de compuestos fenólicos en granos de cereales.

| Cereal | Contenido ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) | Referencia |
|---------------------------|---|-----------------------------------|
| Maíz amarillo | 4180 | Guo y Beta, 2013 |
| Sorgo rojo | 4000 | Dikes y Rooney, 2007 |
| Arroz | 2820 | Guo y Beta, 2013 |
| Cebada | 2740 | Guo y Beta, 2013 |
| Maíz rojo | 2600 | Dikes y Rooney, 2007 |
| Maíz blanco | 2000 | Dikes y Rooney, 2007 |
| Trigo | 1550 | Guo y Beta, 2013 |
| Pericarpio de maíz blanco | 1124-1313 | Cabrera-Soto <i>et al.</i> , 2009 |
| Pericarpio de trigo | 1258-3157 | Vaher <i>et al.</i> , 2010 |
| Avena | 1180 | Guo y Beta, 2013 |

MS= Materia seca.

El principal compuesto fenólico en el grano de maíz es el ácido ferúlico, que representa alrededor del 85% y se concentra en el pericarpio del grano en forma libre o esterificada a los arabinoxilanos que constituyen la hemicelulosa de la pared celular (Adom y Liu, 2002; De la Parra *et al.*, 2007).

El ácido ferúlico, ácido 3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-2-propenoico, es un derivado del ácido cinámico extremadamente abundante en la naturaleza. Se encuentra presente en frutas, vegetales, granos de maíz, trigo, frijol, nueces, pastos, flores y otros tipos variados de vegetación. Es muy abundante en maíz (1 g kg^{-1}) y en trigo (0.5 g kg^{-1}). En el grano de maíz se puede aislar del pericarpio obtenido en los procesos de molienda húmeda, con un rendimiento de alrededor del 2% (p/p). En plantas, el ácido ferúlico proporciona rigidez a la pared celular entrecruzando las cadenas de hemicelulosa. Participa en la regulación del crecimiento y proporciona protección contra el ataque de aves, insectos, virus y hongos.

El ácido ferúlico y sus derivados, son miembros reconocidos del grupo de antioxidantes fenólicos naturales. Muchas funciones y usos potenciales de estos compuestos son producto de esta propiedad. Estudios epidemiológicos han asociado el consumo de estos compuestos con una reducción en la incidencia de enfermedades crónicas como las cardiovasculares, diabetes y cáncer, por lo que ha incrementado el interés en los estudios del contenido químico de diferentes cereales y de sus variedades (Gámez y Sánchez-González, 2006). Además, el ácido ferúlico es un precursor de la lignina (Figura 1), la cual participa en la rigidez de la pared celular durante el estrés hídrico. La lignina es un polímero altamente ramificado que resulta de la unión de varios ácidos y alcoholes fenilpropílicos (cumarílico, coniferílico y sinapílico). Existe una escasa información sobre los efectos de la sequía sobre la biosíntesis de la lignina.

Los estudios realizados indican que el contenido de este compuesto no es modificado durante el estrés hídrico ligero, debido a que altos niveles de lignina en las regiones de alargamiento podría afectar negativamente el crecimiento después de la rehidratación (Vincent *et al.*, 2005; Álvarez *et al.*, 2008). Lee *et al.* (2007) reportaron que el estrés hídrico severo aumentó las concentraciones de compuestos fenólicos y lignina en hojas de trébol blanco (*Trifolium repens* L.). Wu y Cosgrove (2000) y Fan *et al.* (2006) reportaron que en raíces de maíz sometidas a tratamientos de sequía, las paredes celulares de la región apical se mantuvieron en un estado flexible, por lo que este tejido continúa creciendo lentamente, incluso en bajos potenciales hídricos. En contraste, en la región de alargamiento de la raíz, las paredes celulares se hicieron rígidas, lo que resulta en el cese del crecimiento.

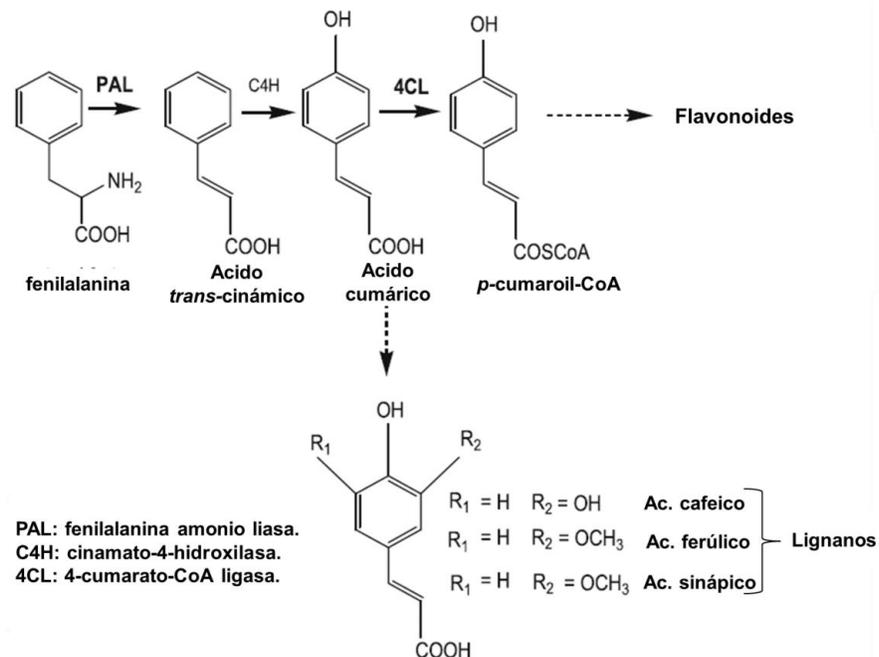


Figura 1. Ruta biosintética de precursores de lignina (Bandurska *et al.*, 2012).

Bandurska *et al.* (2012) reportaron un incremento en la actividad de PAL, disminuciones en la concentración de ácidos fenólicos y la inhibición del crecimiento en la base de la raíz y hojas de cebada sometidas a déficit hídrico. Estos resultados, indican indirectamente la participación de dichos fenoles en los procesos metabólicos responsables de la lignificación de las paredes celulares durante el estrés hídrico.

2.4.2. Arabinoxilanos

Los arabinoxilanos (AX) son polisacáridos neutros no amiláceos de los granos de cereales. Fueron reportados por primera vez en la harina de trigo y desde entonces han sido de interés para los químicos y tecnólogos de cereales debido a su importante capacidad tecnológica en la molienda, fermentación y elaboración de pan y cerveza (Izydorczyk y Biliaderis, 2007). Este polisacárido también ha generado interés en la investigación, debido a sus beneficios nutricionales como la fibra soluble e insoluble, sus propiedades antioxidantes, y por las potenciales aplicaciones del gel arabinoxilano (Katapodis *et al.*, 2003; Carvajal-Millan *et al.*, 2005). Los AX están constituidos por una cadena principal lineal de β -(1-4)-D-xilopiranosil constituyentes de α -L-arabinofuranosil unidos a través de O-3 y/o O-2, a cada tres posiciones de los residuos de xilosa aproximadamente. Algunos de los residuos de arabinosa están ligados a O-5 con ácido ferúlico mediante un enlace éster, por tal motivo son llamados arabinoxilanos ferulados (Figura 2).

Además, pueden contener residuos de glucosa, manosa o galactosa. Estos polisacáridos han sido clasificados como extraíbles en agua (WEAX) o no extraíbles en agua (WUAX). Los WEAX son extraíbles a temperatura ambiente, mientras que los WUAX requieren de un tratamiento alcalino para su extracción. Además, su peso molecular varía de 10 a 10000 kDa en WEAX y supera los 10000 kDa para WUAX. En maíz los WEAX se encuentran principalmente en el endospermo, y los WUAX se ubican tanto en la capa aleurona como en el pericarpio (Niño-Medina et al., 2009).

La cantidad de arabinoxilanos en un tejido vegetal puede variar dependiendo del género, así como por los factores ambientales y los estadios de desarrollo de la fuente. En general, el contenido de WEAX es menor (0.5 a 3.0% p/p) en el endospermo que el de WUAX (20 a 30%, p/p) en el pericarpio de los mismos (Izydorczyc y Biliaderis, 2007). Los arabinoxilanos pueden formar geles bajo la acción de ciertos agentes oxidantes (enzimas lacasa/O₂ o peroxidasa/H₂O₂).

El ácido ferúlico esterificado en los arabinoxilanos está involucrado en esta gelificación oxidativa. La desaparición del ácido ferúlico y la formación de di-FA y tri-FA durante la etapa inicial de gelificación de arabinoxilanos muestran el papel central de este ácido fenólico en el proceso (Vansteenkiste *et al.*, 2004; Carvajal-Millan *et al.*, 2005). Diferentes formas de di-FA se han identificado en arabinoxilanos gelificados (Figura 3). Los geles de arabinoxilanos puede ser matrices adecuadas para la administración de insulina (Berlanga-Reyes *et al.*, 2009).

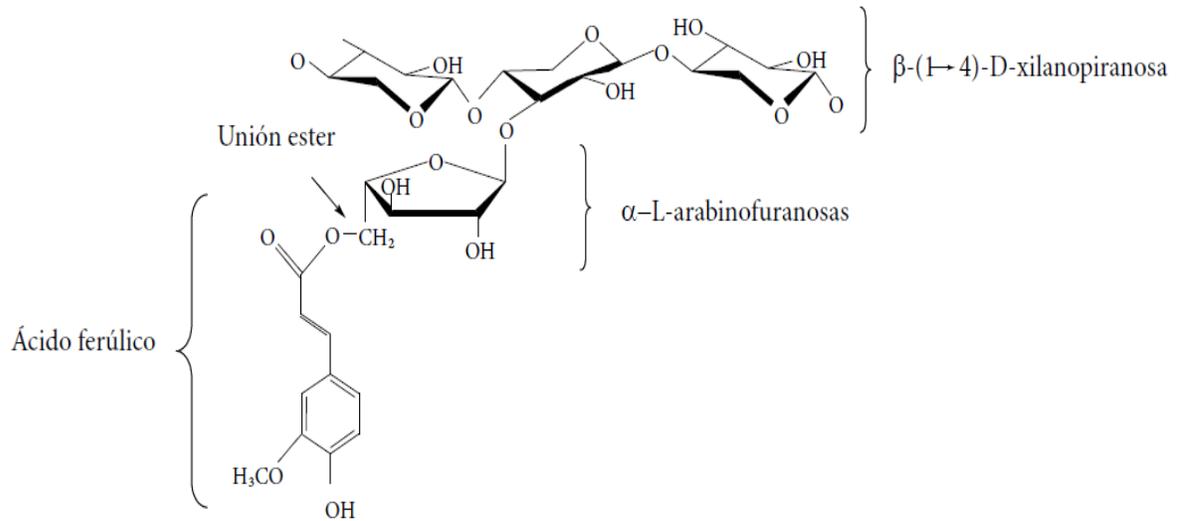


Figura 2. Estructura química de arabinoxilanos (Niño-Medina *et al.*, 2010).

A diferencia de la mayoría de los geles de polisacáridos, el proceso de gelificación en arabinoxilanos y las propiedades del gel, se rigen por el establecimiento tanto de enlaces covalentes (puentes di-FA, tri-FA) y por interacciones débiles (hidrógeno). Estas propiedades dependen de las características estructurales de los arabinoxilanos, como el peso molecular, la proporción arabinosa/xilosa, así como el contenido ácido ferúlico. Por lo tanto, dichos geles son generalmente fuertes, se forman rápidamente, son estables tras el calentamiento y no exhiben sinéresis después de mucho tiempo de almacenamiento. Además, su estructura macroporosa con tamaños de malla que varía desde 200 a 400 nm, su ambiente acuoso y su naturaleza como fibra dietética, podrían brindarles potenciales aplicaciones en el suministro de proteínas en el colon.

Sin embargo, es necesario realizar estudios complementarios acerca de otras propiedades funcionales de los arabinoxilanos ferulados, como las probióticas y antioxidantes que puedan adquirir cuando la planta es sometida a estrés hídrico.

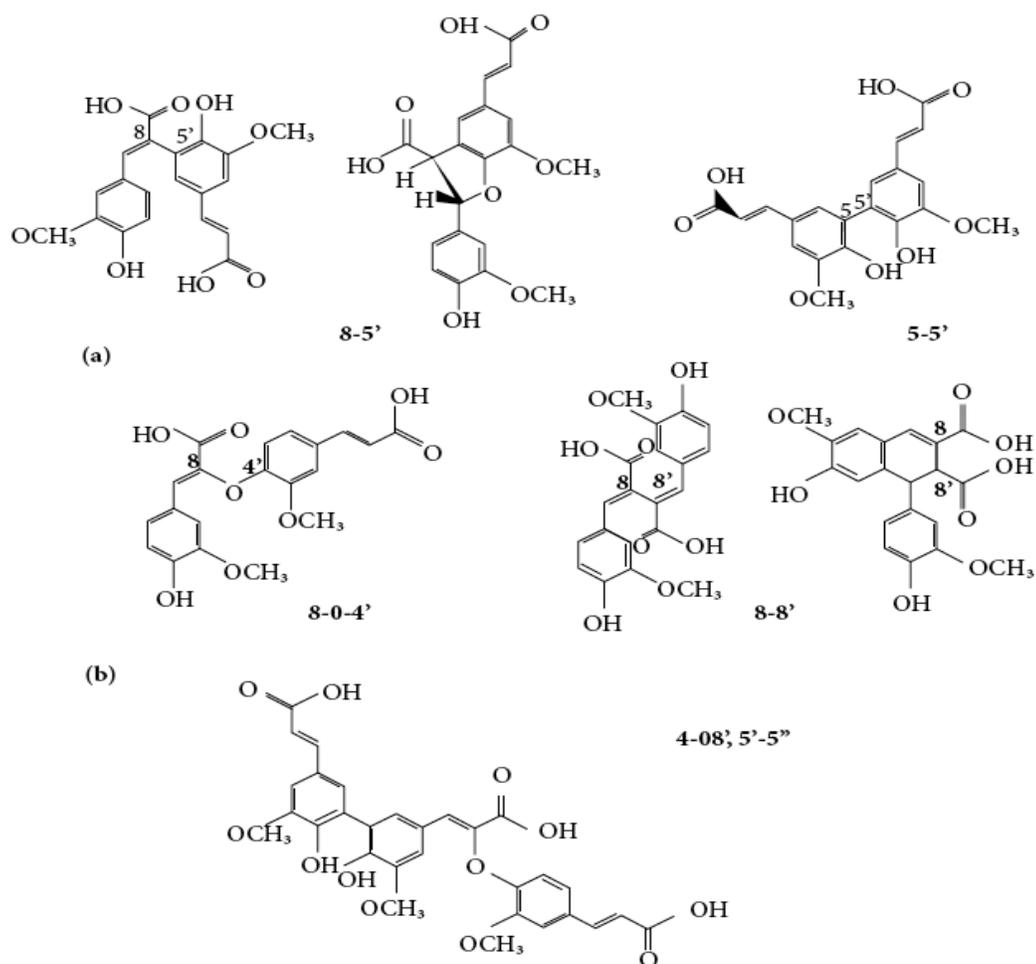


Figura 3. Estructura química de dímeros (a) y trímeros (b) del ácido ferúlico, identificados en geles de arabinoxilanos (Morales-Ortega *et al.*, 2013).

Existen pocos estudios sobre la dinámica del contenido de arabinosilanos en condiciones de estrés hídrico. Sin embargo, las investigaciones indican que los AX cambian según el tejido analizado, debido a que participan directamente en la flexibilidad de la pared celular, lo cual protege las células de la desecación (Li *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2010). La generación de nuevo conocimiento sobre este polisacárido y sus geles podría sentar las bases para su aplicación como biomaterial en la industria agroalimentaria, biomédica o cosmética, que le permitiría dar valor agregado a los cereales o subproductos de cereales de los cuales puede ser extraído (Van Laere *et al.*, 2000; Carvajal-Millan *et al.*, 2005).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Producción de Grano en Campo

La semilla de maíz de los híbridos Cebú (ASGROW[®]), DK-2027 y DK-2034 (DEKALB[®]) utilizada para el estudio, fue donada por la compañía MONSANTO[®] y cultivada en el campo experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León (FAUANL), en Marín, Nuevo León, su ubicación geográfica es 25° 52' 13.5" L. N. y 100° 02' 22.5" L. W. y con una altitud de 355 msnm. La siembra se realizó el 29 de febrero del 2013 en un suelo arcilloso, donde las constantes hídricas correspondientes de capacidad de campo (CC) y del punto de marchitez permanente (PMP) fueron del 27 y 12% respectivamente. Las condiciones del clima durante el desarrollo del cultivo se muestran en el Cuadro 2.

Las unidades experimentales constaron de 4 surcos de 5 m de longitud espaciados a 0.8 m, se estableció una distancia entre plantas de 0.2 m en hilera sencilla. Se aplicaron dos tratamientos de humedad: riego y estrés hídrico. En el tratamiento de riego, la CC del suelo se mantuvo por encima del 60% durante todo el ciclo, mientras que el tratamiento de estrés hídrico consistió en suspender el riego de manera permanente a partir de la etapa R1 (estigmas visibles) hasta la etapa R6 (madurez fisiológica). Aunque en esta etapa se registraron precipitaciones que acumularon 88 mm, no aumentaron los tratamientos con estrés hídrico a niveles óptimos de humedad, ya que dichas precipitaciones se registraron en diferentes eventos (Cuadro 2).

La cosecha se realizó el día 17 de Julio del 2013 cuando el maíz presentó 16-14% de humedad en el grano. El rendimiento de grano fue estimado a partir de la cosecha de 10 m lineales de plantas en los dos surcos centrales de cada unidad experimental.

3.2. Obtención de Pericarpio

El grano de cada unidad experimental fue remojado en agua durante 2 h y triturado en un molino eléctrico. Después, cada muestra se suspendió en 5 L de agua, se desprendió el pericarpio de forma manual y fue recuperado utilizando un tamiz. Finalmente el pericarpio fue lavado con acetona, secado a 40°C durante 48 h, molido y tamizado a un tamaño de partícula ≤ 0.5 mm (malla 35).

3.3. Extracción de Compuestos Fenólicos

Se realizó de acuerdo a la metodología desarrollada por Inglett y Chen (2011) con modificaciones. Se suspendieron 50 mg de pericarpio en 3 mL de NaOH 2M, la muestra se purgó con flujo de argón durante 30 s, fue tapada y agitada durante 2 h. Enseguida la muestra fue ajustada a pH 2.5 con HCl concentrado y centrifugada a 4629g durante 10 min. El sobrenadante fue recuperado y los compuestos fenólicos fueron extraídos con 7 mL de dietiléter en dos ocasiones. Los extractos de dietiléter fueron evaporados a 40°C utilizando flujo de argón. El extracto seco fue resuspendido en 5 mL de metanol al 80%.

3.3.1. Fenoles Totales

Se utilizó la metodología propuesta por Chun y kim (2004) con modificaciones. Se tomaron 0.2 mL del extracto, se agregaron 2.6 mL de agua destilada y 0.2 mL del reactivo Folin-Ciocalteu (F-C). Después de 5 min se agregaron 2 mL de Na₂CO₃ 2N y se dejó reaccionar por 90 min en oscuridad. Finalmente se tomó la absorbancia de las muestras a una longitud de onda de 750 nm en un espectrofotometro UV/Vis Jenway 7315; la concentración de fenoles totales fue calculada en base a una curva de calibración establecida con ácido ferúlico como estándar en concentraciones de 0 hasta 200 mg L⁻¹, el resultado se expresó como microgramos equivalentes de ácido ferúlico por gramo de muestra ($\mu\text{g EAF g}^{-1}$).

3.3.2. Capacidad Antioxidante

El ensayo de decoloración del radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) fue utilizado de acuerdo con lo establecido por Brand-Williams *et al.* (1995). El ensayo se llevó a cabo adicionando 1.4 mL de la solución DPPH (6×10^{-5} M en metanol al 80%) a 0.1 mL del extracto. La reacción se dejó durante 30 min en condiciones de oscuridad. Transcurrido este tiempo se tomó la absorbancia de las muestras a una longitud de onda de 515 nm en un espectrofotometro UV/Vis Jenway 7315. Metanol al 80% fue utilizado para el ajuste a cero y para el control.

El resultado se reportó como porcentaje de inhibición del DPPH utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{A_c - A_e}{A_c} \times 100$$

A_c = absorbancia del control y A_e = absorbancia de la muestra.

3.3.3. Ácidos Fenólicos

Se empleó la metodología descrita por Zhao *et al.* (2005) con modificaciones. Los ácidos fenólicos fueron analizados utilizando un equipo de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) Agilent Technologies 1260 Infinity con bomba cuaternaria modelo G1311C y detector de arreglo de diodos modelo G4212B. La separación de compuestos se llevó a cabo utilizando una columna Supelco Nucleosil C18 (5 μ M, 250 mm x 3 mm), la fase móvil consistió en metanol (solvente A) y agua con 0.1% ácido acético (solvente B) con flujo de 0.8 mL min⁻¹ a 35 °C, utilizando gradiente en los solventes de la fase móvil. Las concentraciones de ácidos fenólicos fueron calculadas en base a una curva de calibración establecida con estándares de ácido *trans*-ferúlico, *cis*-ferúlico, cumárico, caféico y sinápico, en concentraciones de 0 a 50 mg L⁻¹, detectados a una longitud de onda de 325 nm. Los resultados fueron expresados como microgramos del ácido fenólico por gramo de muestra; el estándar de ácido *cis*-ferúlico fue preparado a partir de una solución de ácido *trans*-ferúlico (200 mg L⁻¹) con tratamiento de luz ultravioleta durante 2 h encontrándose una conversión del 62.5%.

3.4. Contenido de Proteína

Se determinó mediante el método Kjeldahl (AOAC, 2002) que es el método oficial más usado para la determinación del contenido de proteína en granos. Para la digestión se utilizó un microdigestor dentro de la campana de extracción. En los tubos de digestión se disolvieron 0.2 g de pericarpio, 5 mL de ácido sulfúrico concentrado y 3.5 g de mezcla catalizadora, la cual fue preparada con 3 g de sulfato cúprico y 97 g de sulfato de potasio. Una vez que la muestra cambió a un color verde-azul claro, se retiró del digestor y después de 1 min se agregaron 20 mL de H₂O bidestilada caliente. Se destiló utilizando 25 mL de hidróxido de sodio al 33%. Fueron recuperados 30 mL de destilado en 20 mL de ácido bórico al 4% con dos gotas de indicador de proteína. La muestra colectada en el destilador se tituló con HCl (0.1 N) hasta que cambió a un color rosado claro. Al final se determinaron el porcentaje de nitrógeno y proteína utilizando las siguientes fórmulas:

$$\%N = \frac{(\text{mL HCl gastados en titulación}) \times 0.1 (\text{N del HCl}) \times 0.014 (\text{Peso atómico del N})}{\text{g de muestra}} \times 100$$

$$\%P = \%N * 6.25$$

3.5. Contenido de Lignina

Para dicho análisis se utilizó la metodología propuesta por ANKOM (2013). Se pesaron bolsas de papel filtro F57 ANKOM (W1), enseguida fueron pesados 0.5 g de pericarpio dentro de la bolsa (W2), se preparó un blanco el cual consistió en una bolsa vacía tratada exactamente igual que la muestra. Las bolsas fueron selladas, sumergidas y presionadas en acetona durante 10 min para extraer la grasa. Después de eliminar el excedente de acetona, las bolsas se colocaron dentro de la estufa a 105°C durante 30 min. Una vez transcurrido este tiempo se pasaron a un analizador de fibra ANKOM 200/220, el cual utiliza 1.8 L de solución ácido detergente. El proceso de extracción de fibra se mantuvo por 75 min a partir de que el equipo alcanzó los 100°C. En seguida se eliminó la solución ácido detergente y se realizaron tres enjuagues de 5 min con 1.8 L de H₂O bidestilada a 70°C. Las bolsas se secaron con acetona por 4 min y se introdujeron en la estufa durante 4 h a 105°C. Una vez registrados los pesos después de la estufa (W3), fue calculado la corrección (C) dividiendo el peso después de la extracción de la bolsa que fue utilizada como blanco entre su peso inicial. Se utilizó la siguiente fórmula para determinar el porcentaje de lignina (%L):

$$\%L = \frac{W3 - (W1 \times C)}{W2 \times \%MS}$$

3.6. Extracción de Arabinoxilanos

El pericarpio fue desgrasado durante 4 h utilizando 100 mL de acetona, fue suspendido en buffer de fosfatos preparado con fosfato de sodio monobásico anhidro 0.1 M. En seguida se sometió a un tratamiento enzimático para eliminación de almidón y proteína, utilizando 300 μ L de α -amilasa (pH 6.0, 30 min, 80°C) y 300 μ L de proteasa alcalina (pH 7.5, 30 min, 60 °C), el ajuste de pH durante el tratamiento enzimático se lleva a cabo con NaOH 0.5M y HCl 1M. La muestra se enjuagó con agua a 70°C, etanol y acetona, y fue secado a 40°C durante una noche. En 5 g de este pericarpio se realizaron extracciones alcalinas de arabinosilanos utilizando 100 mL de NaOH 0.5 M durante 4 h, las extracciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente. Los arabinosilanos extraídos fueron liofilizados a 0.52 mBar a -49°C durante 1 día. Al final, el porcentaje de extracción se obtuvo utilizando la fórmula $\%AX = (PMI - PMF / PMF) * 100$, donde el porcentaje de arabinosilanos es igual al peso inicial de la muestra antes del tratamiento alcalino menos el peso del extracto seco liofilizado, dividido entre este peso final y multiplicado por cien.

3.7. Análisis Estadístico

Se utilizó un diseño experimental de bloques al azar en localidades. Las condiciones de humedad representaron cada localidad. Se establecieron cuatro repeticiones de los tratamientos Cebú, DK-2027 y DK-2034. El análisis de los datos se llevó a cabo con el programa de Diseños Experimentales FAUANL. Para la comparación de medias de las variables analizadas en campo (producción de grano) y laboratorio (ácidos *trans*-ferúlico, ácido *cis*-ferúlico, ácido cumárico, arabinosilanos, fenoles totales, capacidad antioxidante, proteína y lignina) se utilizó la prueba Tukey con $\alpha=0.05$.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

Cuadro 2. Datos climáticos en el área de estudio durante el ciclo de crecimiento del cultivo (INIFAP, 2014).

| Mes | Temperatura media (°C) | Precipitación acumulada (mm) | Evaporación potencial (mm) | Velocidad del viento (km h-1) | Humedad relativa (%) |
|-------|------------------------|------------------------------|----------------------------|-------------------------------|----------------------|
| Marzo | 20.7 | 3.0 | 78.0 | 4.7 | 44.6 |
| Abril | 23.5 | 47.8 | 96.6 | 5.4 | 56.6 |
| Mayo | 25.8 | 78.0 | 135.5 | 5.1 | 62.3 |
| Junio | 28.4 | 10.6 | 63.2 | 4.3 | 59.6 |

4.1. Producción de Grano

El estrés hídrico aplicado a partir de la fase R1 disminuyó significativamente ($p \leq 0.05$) la producción de grano en los genotipos evaluados. Sin embargo, el nivel de efecto varió entre ellos. La producción de grano decreció un 38%, 31%, 28% en los híbridos DK-2027, Cebú y DK-2034 respectivamente. Además, el híbrido DK-2027 obtuvo mayor rendimiento en los dos tratamientos (Cuadro 3; Apéndice A1). Resultados similares se han reportado por Giménez (2012) quien determinó la disminución del rendimiento generada por la ocurrencia del estrés hídrico. El rendimiento sin deficiencias de agua osciló entre 13.5 y 15.3 t ha⁻¹.

Las deficiencias hídricas durante: el periodo crítico, el llenado de grano y la etapa vegetativa con el periodo crítico, provocaron pérdidas de rendimiento significativas ($p \leq 0.05$) aproximadas al 50%, 30% y 56% en cada caso. Similarmente, Ghooshchi *et al.* (2008) encontraron que el rendimiento de grano en maíz disminuyó debido al déficit de agua en etapas de pre-floración, floración y llenado de grano en un 12.5, 42 y 22.5% respectivamente, por lo que las etapas de crecimiento más sensibles al estrés hídrico son la floración y la post-floración.

Aydinsakir *et al.* (2013) reportaron rendimientos de 7.43 y 9.35 ton ha⁻¹ en dos variedades de maíz (Ant-190 y Safak) con niveles de humedad en el suelo por encima del 60% de CC. Sin embargo, la producción de grano disminuyó conforme aumentó el déficit hídrico por debajo de esta humedad de 14 a 81% en la variedad Ant-190 y de 11 a 61% en la variedad Safak. De la misma forma, Hajjabaiei y Azizi (2012) encontraron reducciones promedio de 31.7% en rendimiento de grano en 14 híbridos de maíz cultivados en condiciones de déficit hídrico. Los resultados se deben principalmente a que el estrés hídrico ocasiona una asincronía entre los órganos florales, lo cual disminuye el número de granos por planta. Además, las deficiencias de agua en la etapa de llenado de grano reducen la tasa fotosintética y aceleran la senescencia foliar afectando fundamentalmente el peso del grano (Zarco-Perelló *et al.*, 2005).

Cuando las deficiencias ocurren en las primeras etapas del llenado, los efectos sobre el rendimiento son mayores que en las etapas posteriores, debido a que el embrión recién formado es susceptible de aborto en situaciones de estrés, afectando el número final de granos. Sin embargo, cada genotipo responde de manera diferente ante el déficit hídrico, por lo que la producción de grano depende también del genotipo analizado (Irmak *et al.*, 2000; Pejić *et al.*, 2011).

Cuadro 3. Producción de grano de los genotipos Cebú, DK-2027 y DK-2034 bajo riego y estrés hídrico.

| Genotipo | Grano (ton ha ⁻¹) | |
|----------|--------------------------------|--------------------------------|
| | Riego | Estrés hídrico |
| DK-2027 | 6.15 ^a _b | 3.82 ^a _a |
| Cebú | 4.69 ^b _b | 3.24 ^b _a |
| DK-2034 | 3.69 ^b _b | 2.65 ^b _a |

Superíndice con letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística significativa entre genotipos.

Subíndice con letras diferentes en la misma fila indican diferencia estadística significativa entre tratamientos de humedad.

Tukey con $\alpha=0.05$.

4.2. Fenoles Totales y Capacidad Antioxidante

El contenido de fenoles totales de los extractos del pericarpio no cambió ($p \leq 0.05$) en los tratamientos con déficit hídrico. Sin embargo, se observó que dichas concentraciones fueron ligeramente superiores en el tratamiento de riego (Cuadro 4; Apéndice A2). Asimismo, el estrés hídrico disminuyó significativamente ($p \leq 0.05$) la capacidad antioxidante en los tres híbridos analizados (Cuadro 4; Apéndice A3).

Resultados similares se han reportado por Ruiz *et al.* (2008) quienes no encontraron correlación entre la concentración de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de granos de maíz. Las concentraciones de fenoles totales oscilaron entre 8,450 y 29,980 $\mu\text{g ECAT g}^{-1}$. Cada compuesto fenólico tiene diferente capacidad para estabilizar radicales libres, por lo que la capacidad antioxidante en un tejido depende del contenido y tipo de polifenoles y otras moléculas antioxidantes que contenga.

Se ha observado, que el contenido de estos compuestos depende en gran medida del estado hídrico de la planta, el genotipo y el tejido analizado. Por ejemplo; Cabrera-Soto *et al.* (2009) cuantificaron la concentración de fenoles solubles (FS) e insolubles (FI) en el pericarpio, endospermo y germen del grano de maíz. Se trabajó con dos genotipos experimentales (HE y H-161) y tres híbridos comerciales (Oso, Sable y Leopardo). El contenido de FS fue más elevado en el germen, seguido del pericarpio y endospermo. Por el contrario, el mayor contenido de FI se presentó en el pericarpio, seguido del germen y endospermo.

En el pericarpio, los FI tuvieron un intervalo de 872.2 a 1037.8 $\mu\text{g EAG g}^{-1}$ y los FS en el pericarpio 232.4 a 334 $\mu\text{g EAG g}^{-1}$. De las diferentes estructuras del grano analizadas, se encontró mayor contenido de fenoles totales en el pericarpio de los genotipos estudiados. Además, se reportó que los fenoles totales en vino elaborado a partir de plantas de *Vitis vinifera L.* expuestas a déficit hídrico, aumentaron en promedio en un 26% y 46% en relación con el testigo, durante la primera y segunda temporada de estudio, respectivamente, encontrándose los mayores incrementos en tratamientos sin ningún riego (Ferreyra *et al.*, 2001).

Petridis *et al.* (2012) indicaron que el estrés hídrico influye en parámetros fisiológicos y bioquímicos en hojas de cuatro variedades de olivo (*Olea europaea L.*). La limitación de agua al 33% de CC durante 60 días incrementó el contenido de compuestos fenólicos y su actividad antioxidante en las variedades analizadas. Fisher *et al.* (2013) también reportaron un aumento de la capacidad antioxidante en extractos de semillas de plantas de *Chenopodium quinoa* expuestas a estrés hídrico. Asimismo, se ha reportado diferencias en la concentración de fenoles totales y capacidad antioxidante en las estructuras aéreas de *Salvia officinalis L.* bajo diferentes condiciones hídricas; con riegos a 100% de CC, estrés hídrico moderado (EHM) a 50% de CC y estrés hídrico severo (EHS) a 25% de CC. La capacidad antioxidante aumento a 17.77 y 61.48% en EHM y EHS respectivamente. Además, el contenido de fenoles incrementó en los dos tratamientos con déficit de agua, dicho incremento fue más pronunciado bajo estrés hídrico moderado.

De acuerdo al método de F-C el tratamiento control obtuvo 2.02 mg EAG g⁻¹. Bajo EHM encontraron incrementos de 4 veces más de polifenoles que el control y bajo estrés severo 3 veces más. Según el método HPLC se encontraron contenidos de 0.9, 2.2 y 1.4 mg g⁻¹ en el control, estrés moderado y estrés severo respectivamente (Bettaieb *et al.*, 2011). La diferencia en el contenido de fenoles totales reportada por los métodos F-C y HPLC, se debe al cambio en la estructura de los ácidos fenólicos durante la extracción alcalina, obteniendo así vainillina, 4-hidroxibenzaldehído y siringaldehído a partir de los ácidos ferúlico, cumárico y sinápico respectivamente. Estos compuestos siguen reaccionando en el ensayo F-C debido a que el anillo aromático mantiene sus propiedades, sin embargo, ya no pueden ser detectados en el análisis HPLC en base a su estructura original (Dobberstein y Bunzel, 2010).

Cuadro 4. Comparación de medias de la concentración y capacidad antioxidante de compuestos fenólicos de pericarpio de maíz bajo condiciones de riego y estrés hídrico.

| Tratamiento | Fenoles Totales (µg EAF g ⁻¹) | | | Capacidad Antioxidante (%Inh DPPH) | | |
|-----------------------|--|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| | Cebú | Dk-2027 | Dk-2034 | Cebú | Dk-2027 | Dk-2034 |
| Riego | 20097 ^a _a | 16264 ^a _a | 14949 ^a _a | 50.2 ^a _a | 54.4 ^a _a | 51.9 ^a _a |
| Estrés hídrico | 13765 ^a _a | 13753 ^a _a | 13395 ^a _a | 44.5 ^a _b | 45.3 ^a _b | 47.5 ^a _b |

Superíndice con letras diferentes en la misma fila indican diferencia estadística significativa entre genotipos.

Subíndice con letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística significativa entre condiciones de humedad.

Tukey con α= 0.05.

Se ha encontrado que la respuesta fisiológica de las plantas frente al estrés hídrico es multigénica, ya que varios procesos vinculados a los mecanismos de tolerancia se ven afectados, tales como la producción de compuestos osmóticamente activos, la producción de ERO y los mecanismos de defensa antioxidante, así como mecanismos que implican modificaciones morfológicas (Alemán *et al.*, 2010). En este sentido, los compuestos fenólicos son importantes en la resistencia de las plantas al estrés ambiental y en particular al estrés oxidativo. Durante el déficit hídrico, la absorción de dióxido de carbono se reduce a causa del cierre de los estomas, lo que resulta en la exposición de los cloroplastos a un exceso de energía de excitación y un aumento en la formación de ERO. Esto último puede iniciar proceso de peroxidación lipídica, destrucción de la clorofila, la oxidación de proteínas y daños en los ácidos nucleicos. Estos ERO normalmente son rescatados por una serie de antioxidantes incluyendo los fenoles y enzimas antioxidantes (Petridis *et al.* 2012).

4.3. Ácidos Fenólicos

Los tiempos de retención de los estándares de ácidos fenólicos se muestran en la Figura 4. Los ácidos fenólicos predominantes en el pericarpio fueron *trans*-ferúlico, *cis*-ferúlico y cumárico en los tratamientos evaluados (Figura 5). El ANVA (Apéndice A4) no mostró diferencias estadísticas ($p \leq 0.05$) en la concentración del ácido *cis*-ferúlico en ningún tratamiento. Además, los ácidos caféico y sinápico se encontraron en concentraciones trazas en los tres genotipos (Figura 5).

El contenido de los ácidos *trans*-ferúlico y cumárico obtuvieron decrementos significativos ($p \leq 0.05$) en condiciones de estrés hídrico en los tres genotipos (Apéndice A5; Apéndice A6). La concentración del ácido *trans*-ferúlico disminuyó en un 27%, 21% y 27% en Cebú, DK-2027 y DK-2034 respectivamente. De igual forma, se observó una disminución en la concentración de ácido cumárico pero en mayor proporción, ya que alcanzó disminuciones 40%, 25% y 34% respectivamente. Además, se encontraron mayores concentraciones de ácido cumárico ($p \leq 0.05$) en el híbrido DK-2034 independientemente del tratamiento aplicado (Cuadro 5; Apéndice A6).

Cuadro 5. Comparación de medias de la concentración de ácidos fenólicos de pericarpio de maíz bajo condiciones de riego y estrés hídrico.

| Ácidos Fenólicos ($\mu\text{g g}^{-1}$) | | | | | | |
|---|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Genotipo | <i>trans</i> -ferúlico | | Cumárico | | <i>cis</i> -ferúlico | |
| | Riego | Estrés hídrico | Riego | Estrés hídrico | Riego | Estrés hídrico |
| Cebú | 6910 ^a _a | 4995 ^a _b | 780 ^b _a | 562 ^b _b | 1565 ^a _a | 1164 ^a _a |
| DK-2027 | 6158 ^a _a | 4867 ^a _b | 832 ^{ab} _a | 685 ^{ab} _b | 1217 ^a _a | 943 ^a _a |
| DK-2034 | 5834 ^a _a | 4260 ^a _b | 969 ^a _a | 722 ^a _b | 1101 ^a _a | 1157 ^a _a |

Superíndice con letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística significativa entre genotipos.

Subíndice con letras diferentes en la misma fila indican diferencia estadística significativa entre condiciones de humedad.

Tukey con $\alpha=0.05$.

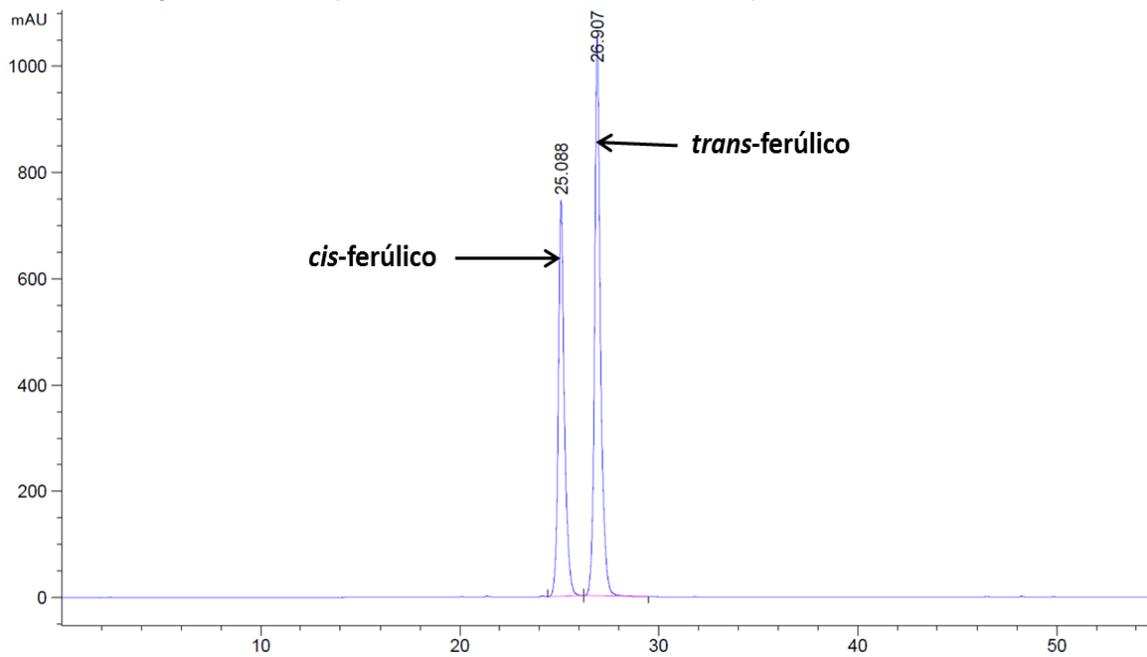
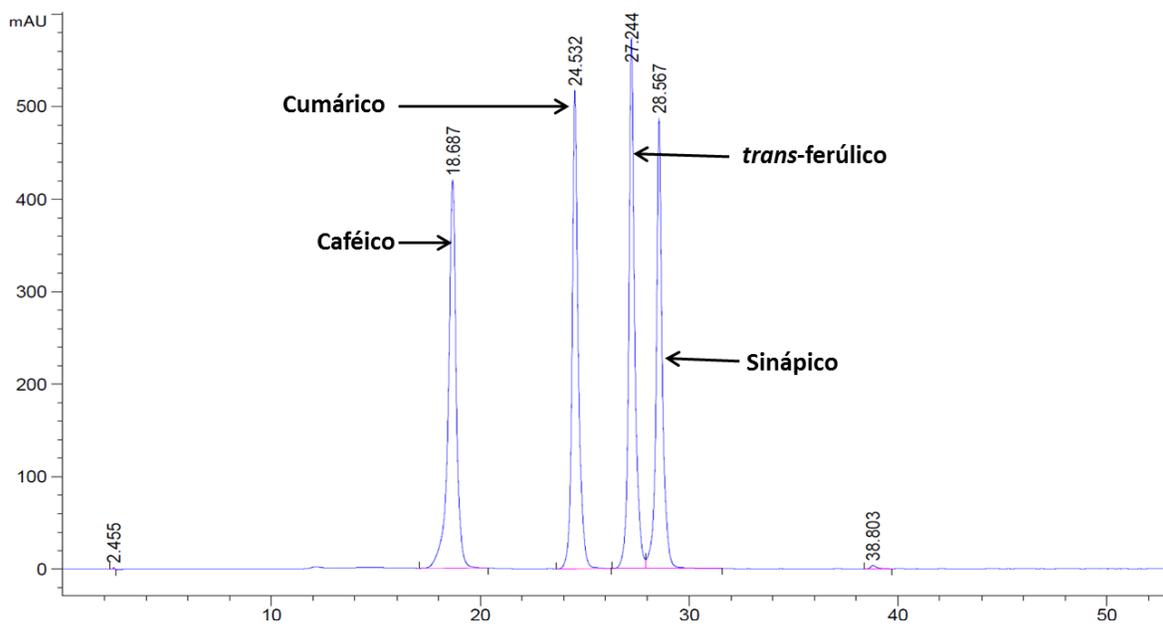


Figura 4. Cromatogramas de estándares de ácidos fenólicos que indican el tiempo de retención (min).

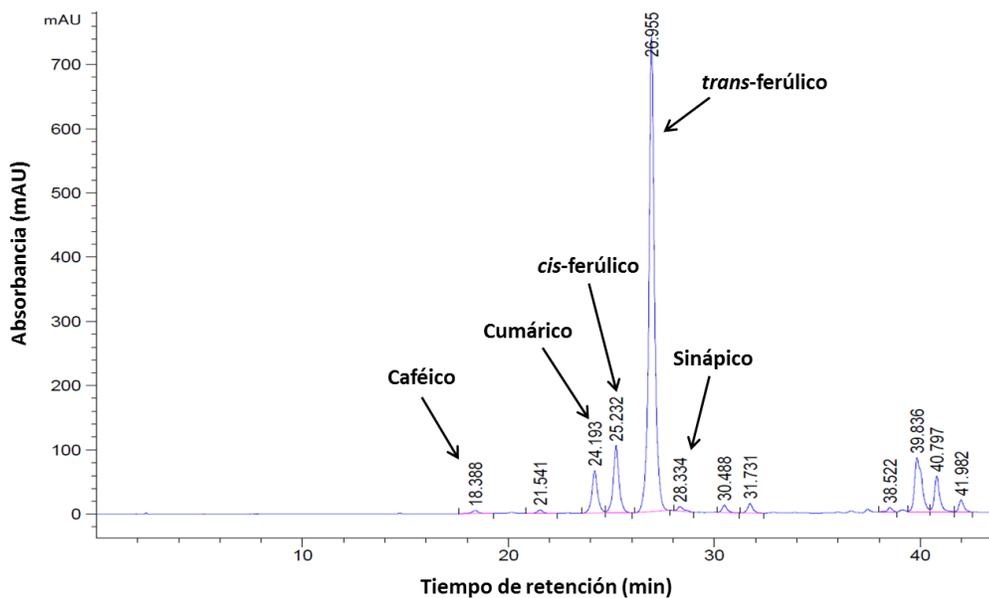
Estos resultados coinciden con Pedreschi y Cisneros-Zevallos (2007), quienes utilizaron hidrolisis alcalina para la extracción de ácidos fenólicos en genotipos de maíces andinos morados, encontrando como ácidos fenólicos principales el ácido ferúlico y *p*-cumárico. Asimismo, Chiremba *et al.* (2012) encontraron al ácido ferúlico y *p*-cumárico como los ácidos fenólicos predominantes del salvado de cuatro genotipos de maíz blanco. En este estudio, las concentraciones de dichos compuestos variaron significativamente ($p \leq 0.05$) entre los genotipos; el contenido de ácido ferúlico osciló entre 3592 y 4779 $\mu\text{g g}^{-1}$ en variedades duras y de 2193 a 3517 $\mu\text{g g}^{-1}$ en variedades suaves.

Hura *et al.* (2008) observaron que cuando las plantas de maíz fueron expuestas a estrés hídrico, el contenido del ácido ferúlico en la hoja aumentó en la variedad Tina, mientras que en las variedades Ankora y Nova disminuyó. En este sentido, la concentración de ácidos fenólicos depende también de la tolerancia al estrés hídrico que muestran los distintos genotipos. La acumulación de estos compuestos fenólicos en la hoja puede indicar la activación de reacciones de defensa a dicho estrés, ya que los fenólicos pueden funcionar como fotoprotectores, limitando la entrada de luz al mesófilo y de esta forma reducir la excitación de la clorofila durante el déficit de agua.

Bettaieb *et al.* (2011) han reportado cambios en la concentración de ácido ferúlico y ácido *p*-cumárico en extractos de las estructuras aéreas de *Salvia officinalis L.* bajo condiciones de control (riegos a 100% de CC), estrés hídrico moderado (riegos a 50% de CC) y estrés hídrico severo (riegos a 25% de CC). Fueron encontrados contenidos de 66.01, 119.08 y 69.42 mg g⁻¹ de ácido ferúlico en el control, estrés moderado y estrés severo respectivamente. Asimismo, el ácido *p*-cumárico obtuvo concentraciones de 27.16, 47.42 y 12.13 mg g⁻¹ respectivamente.

De la misma forma, fueron investigados los cambios en las concentraciones de ácidos fenólicos durante el enrollamiento de las hojas de *Setosa ctenanthe* bajo estrés hídrico. Después de 35 días de tratamiento, todas las hojas se enrollaron y el experimento se detuvo. El contenido de ácido *cis-p*-cumárico y *trans-p*-cumárico en extractos de hojas sometidas a condiciones de déficit hídrico incrementó de 27.7 a 38.2 mg 100 g⁻¹ y 17.7 a 19.7 mg 100 g⁻¹. Por el contrario, la concentración de ácido ferúlico disminuyó de 25.1 a 18.3 mg 100 g⁻¹ (Ayaz *et al.*, 2000). Se ha observado que durante el estrés hídrico se forman uniones entre ácidos fenólicos (e.g. dímeros, trímeros, tetrámeros), las cuales pueden disminuir las propiedades antioxidantes de estos compuestos, sin embargo, estas uniones participan en la rigidez de la pared celular, lo cual disminuye el crecimiento en algunos tejidos y permite menor pérdida de agua (Moore *et al.*, 2008, Adalakun *et al.*, 2012).

a)



b)

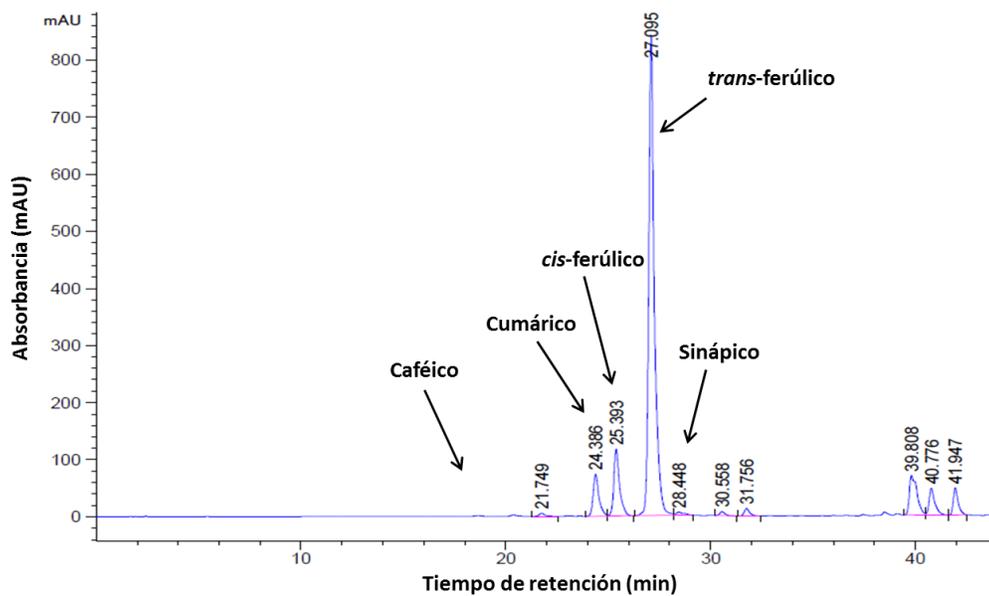


Figura 5. Cromatograma de ácidos fenólicos obtenidos de pericarpio de maíz producido con: a) riego, b) estrés hídrico.

Los cambios en el contenido de ácidos fenólicos también han sido asociados con la modificación de la actividad de la fenilalanina amoníaco-liasa (PAL). En general, PAL cataliza la transformación de la L-fenilalanina en el ácido *trans*-cinámico, que es el intermediario en la primera biosíntesis de compuestos fenólicos. La actividad de esta enzima aumenta durante el estrés hídrico y es considerada por la mayoría de los autores a ser una de las principales líneas de aclimatación celular contra el estrés en plantas (Bandurska *et al.*, 2012). Además, debido a que el ácido ferúlico en su forma *trans* es el más abundante en maíz, el cambio a forma *cis* pudo ocasionarse por el tratamiento alcalino durante el proceso de extracción.

4.4. Contenido de Proteína y Lignina

El estrés hídrico durante la etapa de formación de grano no cambió la concentración de lignina en el pericarpio de los genotipos evaluados (Apéndice A7), sin embargo, el análisis de varianza mostró significancia ($p \leq 0.05$) en la interacción entre genotipos y tratamientos de humedad para la concentración de proteína (Apéndice A8). El estrés hídrico aumentó ($p \leq 0.05$) el porcentaje de proteína solamente en el tratamiento DK-2027 (Cuadro 6).

Estos resultados son similares a los reportados en la base de datos del SIAP (2012), con concentraciones de lignina en el grano de cinco variedades de maíz, que van de 0.12% a 0.14% MS.

Asimismo, se ha reportado que las hojas de maíz durante el estrés por sequía acumularon enzimas como PAL y ácido cafeico-O-metiltransferasa. Estas enzimas controlan la producción de monómeros de lignina en la síntesis de la pared celular. Por lo tanto, el contenido de lignina en dichas hojas sometidas a estrés hídrico fue menor que en las plantas de control con riego, lo que indica una adaptación al déficit hídrico, ya que el mantenimiento de altos niveles de lignina en la región de alargamiento de la hoja podría afectar negativamente el crecimiento después de la rehidratación (Vincent *et al.*, 2005).

Asimismo, se observó una reducción en la cantidad de ácido ferúlico y un aumento de ácido *p*-cumárico y cafeico en la savia del xilema de maíz después de 12 días de déficit de agua. Además, una disminución de la actividad de la peroxidasa aniónica, la cual cataliza las reacciones entre el peróxido de hidrógeno y alcoholes de cinamilo para formar radicales fenoxi necesarios para polimerizar y formar lignina. Debido a lo anterior, el aumento de los precursores de lignina en la savia del xilema, así como la reducción de la actividad peroxidasa aniónico podría ser una indicación de que la sequía disminuye la biosíntesis de la lignina en el maíz (Álvarez *et al.*, 2008).

Distintos resultados fueron encontrados por Lee *et al.* (2007) donde encontraron un incremento en la concentración de lignina en hojas de trébol blanco (*Trifolium repens* L.) sometidas a estrés hídrico durante 28 días. Estos resultados mostraron cambios en el contenido de lignina a partir del día 21 cuando el potencial hídrico disminuyó hasta -2.27 MPa.

Por otra parte, al igual que en la presente investigación, Riccardi *et al.* (1998) encontraron una interacción significativa entre el genotipo y el déficit hídrico en cuanto al contenido de proteínas en hojas de maíz; donde 78 proteínas de 413 encontradas cambiaron (incrementaron o disminuyeron) por el estrés hídrico; 50 de estas incrementaron, y de estas 10 solo se presentaron en las plantas estresadas. Otras 23 proteínas disminuyeron y 5 no mostraron efecto en ningún genotipo. 38 proteínas mostraron diferente respuesta de acuerdo al genotipo; 5 fueron sintetizadas solo por un genotipo. Las otras 33 mostraron efectos de la interacción del genotipo y el tratamiento de humedad.

Vera-Guzmán *et al.* (2012) también observaron diferencias en la concentración de proteína en el grano de setenta genotipos de maíz. Las concentraciones variaron de 9.3 a 16.8% MS.

Aydinsakir *et al.* (2013) encontraron que el contenido de proteína en el grano de maíz fue influenciado por el nivel de humedad en el suelo. En tal estudio, el %P disminuyó significativamente ($p \leq 0.05$) de 13.5 a 5% y 13.3 a 8.1% en las variedades Ant-190 y Safak respectivamente.

Estas diferencias fueron observadas cuando los niveles de humedad se redujeron por debajo del 50% CC a partir de la etapa de VT. Las disminuciones son debidas a que el déficit hídrico, disminuye la actividad de algunas de las enzimas que forman proteínas. Además el agua facilita la producción y translocación de asimilados hacia el grano.

Cuadro 6. Comparación de medias de la concentración de lignina y proteína de pericarpio de maíz bajo condiciones de riego y estrés hídrico.

| | Lignina (%) | | | Proteína (%) | | |
|-----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | Cebú | Dk-2027 | Dk-2034 | Cebú | Dk-2027 | Dk-2034 |
| Riego | 0.107 ^a | 0.104 ^a | 0.125 ^a | 14.06 ^a | 13.14 ^b | 14.97 ^a |
| Estrés hídrico | 0.102 ^a | 0.119 ^a | 0.134 ^a | 14.63 ^a | 15.26 ^a | 14.97 ^a |

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística significativa entre tratamientos de humedad.

Tukey con $\alpha=0.05$

Por otra parte, Oktem (2008) señalaron que el contenido de proteína en el grano de maíz de la variedad “Reward” se incrementó conforme aumentó el estrés hídrico, mientras que Adrienn and János (2012) no encontraron cambios en la concentración de proteína en el grano de maíz de los genotipos “Debreceni 377” y “Mv 277” bajo condiciones de estrés hídrico y sin fertilización con nitrógeno. Por lo que, además del déficit hídrico, el contenido de proteína en el maíz está determinado por el genotipo analizado.

4.5. Arabinoxilanos

El Cuadro 7 muestra los porcentajes de extracción de arabinoxilanos en los tratamientos. El ANVA no mostró diferencias significativas en el porcentaje de extracción en los tratamientos con estrés hídrico, sin embargo si existen diferencias estadísticas ($p \leq 0.05$) en el contenido de estos compuestos entre los genotipos analizados (Apéndice A9). El híbrido Cebú obtuvo el mayor porcentaje de extracción bajo las dos condiciones de humedad. Dichos resultados son similares a los encontrados por Carvajal-Millan *et al.* (2007) donde encontraron rendimientos de extracción de arabinoxilanos en pericarpio de maíz del 13% en 4 h de tratamiento alcalino, mientras que Niño-Medina *et al.* (2010) reportan porcentajes de extracción de 28%.

Cuadro 7. Comparación de medias para porcentaje de extracción de arabinoxilanos de pericarpio de maíz bajo condiciones de riego y estrés hídrico..

| Genotipo | % Extracción AX | |
|----------|---------------------------------|---------------------------------|
| | Estrés hídrico | Riego |
| Cebú | 23.70 ^a _a | 23.40 ^a _a |
| DK-2027 | 20.30 ^a _b | 18.85 ^a _b |
| DK-2034 | 17.20 ^a _b | 17.83 ^a _b |

Superíndice con letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística significativa entre tratamientos de humedad.

Subíndice con letras diferentes en la misma fila indican diferencia estadística significativa entre genotipos.

Tukey con $\alpha=0.05$.

Además, resultados similares fueron reportados por Zhang *et al.* (2010) quienes encontraron que el contenido total de arabinoxilanos en el grano de dos variedades de trigo de primavera (Superb y AC Crystal) fue influenciado por el efecto del déficit hídrico (impuesto a partir de la elongación de tallo) y la temperatura (modificada a partir de la etapa de embuche).

Asimismo, estos autores encontraron que con déficit hídrico y temperaturas de 22/12 (°C noche/día) la concentración total de arabinoxilanos aumentó significativamente ($p \leq 0.01$) de 6.45 a 7.08% en Superb y de 6.49 a 7.55% en AC Crystal. Mientras que, con temperaturas de 32/22 (°C noche/día) el contenido total de arabinoxilanos disminuyó significativamente ($p \leq 0.01$) de 7.95 a 7.29% en la variedad AC Crystal.

Li *et al.* (2009) indicaron que las diferencias genéticas y el ambiente son importantes factores para determinar la concentración de arabinoxilanos totales en el grano de trigo. En dicho estudio reportaron variaciones significativas ($p \leq 0.05$) desde 3.09 a 4.04% en genotipos de primavera y de 3.94 a 4.70% en genotipos de invierno. Los arabinoxilanos ferulados participan en el incremento de la flexibilidad de la pared celular durante el déficit hídrico. La pared celular flexible se encoge a niveles bajos de agua en la célula, lo cual permite mantener la presión de turgencia, evitar plasmólisis y mantener el crecimiento del tejido. La concentración de estos polisacáridos depende de la sensibilidad del genotipo al déficit hídrico, así como las características genéticas de la especie en estudio.

5. CONCLUSIONES

1. El estrés hídrico aplicado durante la etapa de formación de grano (R1-R6) disminuyó significativamente ($p \leq 0.05$) la producción de grano, la capacidad antioxidante, el contenido de ácido *trans*-ferúlico y ácido cumárico en los tres híbridos evaluados.
2. La concentración de lignina, fenoles totales y ácido *cis*-ferúlico no mostraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) como efecto del tratamiento de estrés hídrico aplicado durante la etapa de formación de grano (R1-R6) en los genotipos analizados.
3. El estrés hídrico aplicado durante la etapa de formación de grano (R1-R6) generó diferencias significativas en el porcentaje de proteína; el genotipo DK-2027 presentó mayor contenido ($p \leq 0.05$).
4. Los ácidos cafeico y sinápico presentaron una concentración a nivel traza, la cual fue no significativa ($p \leq 0.05$) en los tratamientos evaluados.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Abendroth, L.J., R.W. Elmore, M.J. Boyer, and S.K. Marlay. 2012. Corn growth and development. Iowa state University. University Extension. Disponible en: <http://www.agronext.iastate.edu/corn/production/management/growth>(Febrero, 2012).
- Adelakun, O.E., T. Kudanga, A. Parker, I.R. Green, M.L. Roes-Hill, S.G. Burtona. 2012. Laccase-catalyzed dimerization of ferulic acid amplifies antioxidant activity. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 74:29-35.
- Adom, K., and R.H. Liu. 2002. Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21):6182-6187.
- Adrienn, V.S., N János. 2012. Effects of nutrition and water supply on the yield and grain protein content of maize hybrids. *Australian Journal of Crop Science*, 6(3):381-390.
- Alemán, S., A. Domínguez, D. Domínguez, L. Fuentes, K. Miranda, Y. Pérez, B. Pernía, D. Sosa, M. Sosa, y D. Infante. 2010. Estudio anatómico y bioquímico en materiales cubanos y venezolanos de *Phaseolus vulgaris* L. bajo condiciones de estrés hídrico. *Revista de Estudios Transdisciplinarios*, 2(1):89-99.
- Álvarez, S., E.L. Marsh, S.G. Schroeder and D.P. Schachtman. 2008. Metabolomic and proteomic changes in the xylem sap of maize under drought. *Plant Cell Environment*, 31:325-340.

- AMIS. 2012. AgriculturalMarketInformationSystem. Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Disponible en: <http://www.amis-outlook.org> (Junio, 2012).
- ANKOM. 2013. Method for determining acid detergent lignin in the beakers. Disponible en: https://www.ankom.com/media/documents/Method_8_Lignin_in_beakers_3_13_13.pdf (Agosto, 2013).
- AOAC. 2002. Association of Official Agricultural Chemists. Official Method 2001.11. Protein (Crude) in animal feed, forage (plant tissue), grain and oil seeds. Disponible en: http://www.aoac.org/iMIS15_Prod/AOAC_Member/Member_Home.aspx (Agosto, 2013).
- Ayaz, F.A., A. Kadioglu, and R. Turgut. 2000. Water stress effects on the content of low molecular weight carbohydrates and phenolic acids in *Ctenanthesetosa* (Rosc.) Eichler. Canadian Journal of Plant Science, 80:373-378.
- Aydinsakir, K., S. Erdal, D. Buyuktas, R. Bastug, and R. Toker. 2013. The influence of regular deficit irrigation applications on water use, yield, and quality components of two corn (*Zea mays L.*) genotypes. Agricultural Water Management, 128:65-71.
- Bandurska, H., M. Pietrowska-Borek, and M. Cieslak. 2012. Response of barley seedlings to water deficit and enhanced UV-B irradiation acting alone and in combination. ActaPhysiologiaePlantarum, 34:161-171.

- Berlanga-Reyes, C.M., E. Carvajal-Millán, J. Lizardi-Mendoza, A. Rascón-Chu, Márquez-Escalante, and A.M. Martínez-López. 2009. Maize arabinoxylan gels as protein delivery matrices. *Molecules*, 14:1475-1482.
- Bettaieb, I., I. Hamrouni-Sellami, S. Bourgou, F. Limam, and B. Marzouk. 2011. Drought effects on polyphenol composition and antioxidant activities in aerial parts of *Salvia officinalis* L. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33:1103-1111.
- Bidlack, J., M. Malone, and R. Benson. 1992. Molecular structure and component integration of secondary cell walls in plants. *Proceedings of the Oklahoma Academy of Science*, 72:51-56.
- Brand-Williams, W., M.E Cuvelier., and C.Berset. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 28:25-30.
- Caballero, C. 2004. Efectos de terpenoides naturales y hemisintéticos sobre *Leptinotarsa decemlineata* (say) (Coleoptera: Chrysomelidae) y *Spodoptera exigua* (hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Ciencias Biológicas. 107 p.
- Cabrera-Soto, M.L., Y. Salinas-Moreno, G.A. Velázquez-Cardelas, y T.E. Espinosa. 2009. Contenido de fenoles solubles e insolubles en las estructuras del grano de maíz y su relación con propiedades físicas. *Agrociencia*, 43(8):827-839.
- Carvajal-Millán, E., A. Rascón-Chu, J.A. Márquez-Escalante, V. Micard, N.P. De León, and A. Gardea. 2007. Maize bran gum: Characterization and functional properties. *Carbohydrate Polymers*, 69:280-285.

- Carvajal-Millán, E., B. Guigliarelli, and V. Belle. 2005. Storage stability of laccase arabinoxylan gels. *Carbohydrate Polymers*, 59:181-188.
- Chiremba, C., L.W. Rooney, and T. Beta. 2012. Microwave-assisted extraction of bound phenolic acids in bran and flour fractions from sorghum and maize cultivars varying in hardness. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60:4735-4742.
- Chun, K.O., and Kim, D.O. 2004. Consideration on equivalent chemicals in total phenolic assay of chlorogenic acid-rich plums. *Food Research International*, 37:337-342.
- CIMMYT. 2013. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. Bases de datos de precios y producción agrícola. Doctor maíz. Disponible en: <http://maizedoctor.cimmyt.org/index.php/es/problemasdeproduccion/148?task=view> (Agosto 2013).
- Corcuera, V.R. 2012. Desarrollo y evaluación de nuevo germoplasma de maíz (*ZeamaysL.*) para uso especial en Argentina. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. 312 p.
- D'Archivio, M., C. Filesi, R.D. Benedetto, R. Gargiulo, C. Giovannini, and R. Masella. 2007. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann Ist Super Sanità* 43(4):348-361.
- De la Parra, C., S.O. Serna, and R. Hai. 2007. Effect of processing on the phytochemical profiles and antioxidant activity of corn for production of masa,

- tortillas, and tortilla chips. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(10): 4177-4183.
- Dikes, L. and L.W. Rooney. 2007. Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits. *Cereal Food World*, 52(3):105-111.
- Dobberstein, D. y M. Bunzel. 2010. Separation and detection of cell wall-bound ferulic acid dehydrodimers and dehydrotrimers in cereals and other plant materials by reversed phase high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58:8927-8935.
- Fan, L., R. Linker, S. Gepstein, E. Tanimoto, R. Yamamoto, and P.M. Neumann. 2006. Progressive inhibition by water deficit of cell wall extensibility and growth along the elongation zone of maize roots is related to increased lignin metabolism and progressive stelar accumulation of wall phenolics. *Plant Physiology*, 140:603–612.
- Farooq, M., A. Wahid, N. Kobayashi, D. Fujita, and S.M.A. Basra. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*, 29:185-212.
- Ferreya, R., G. Selles, J. Peralta, L. Burgos, y J. Valenzuela. 2001. Efecto del estrés hídrico aplicado en distintos periodos de desarrollo de la vid Cvar. Cabernet Sauvignon en la producción y calidad del vino. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. Agua, Vida y Desarrollo. Santiago de Chile, 1-10 p.

- Fisher, S., R. Wilckens, J. Jara, and M. Aranda. 2013. Variation in antioxidant capacity of quinoa (*Chenopodium quinoa Will*) subjected to drought stress. *Industrial Crops and Products*, 46:341-349.
- Gómez, N., y M. Sánchez-González. 2006. Extracción químico enzimática del ácido ferúlico presente en diferentes variedades de maíz mexicano. Edición especial. *Revista Salud Pública y Nutrición*, 11:1-28.
- Ghooshchi, F., M. Seilsepour, and P. Jafari. 2008. Effects of water stress on yield and some agronomic traits of maize [SC301]. *Journal of Agricultural and Environmental*, 4(3):302-305.
- Giménez, L. 2012. Producción de maíz con estrés hídrico provocado en diferentes etapas de desarrollo. *Agrociencia Uruguay*, 16(2):92-102.
- González, M. E. 2013. Efecto del estrés hídrico en hierbabuena (*Menthapiperita*) sobre polifenoles y capacidad antioxidante de infusiones. Tesis profesional. Universidad Autónoma de Querétaro. Santiago de Queretaro, Queretaro. 68 p.
- Guo, W., y T. Beta. 2013. Phenolic acid composition and antioxidant potential of insoluble and soluble dietary fibre extracts derived from select whole-grain cereals. *Food Research International*, 51:518-525.
- Hajibabaei, M., and F. Azizi. 2012. Effect of phenologic and leaf morphologic characteristics of new maize hybrids in drought stress. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences*, 3(9):1966-1973.
- Hura, T., K. Hura and S. Grzesiak. 2008. Contents of total phenolics and ferulic acid, and PAL activity during water potential changes in leaves of maize single-cross

- hybrids of different drought tolerance. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 194:104-112.
- Inglett, G.E., Chen, D. 2011. Contents of phenolics and flavonoids and antioxidant activities in skin, pulp, and seeds of miracle fruit. *Journal of Food Science*, 76(3):479-482.
- INIFAP. 2012. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Pacifico Centro. Requerimientos agroecológicos de cultivos. Disponible en: <http://www.inifapcirpac.gob.mx/PotencialProductivo/Jalisco/Norte/RegionNorteReqAgroecologicos.pdf> (Octubre 2012).
- INTA. 2010. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Cadena de valor agregado. Alternativas de transformación e industrialización. Disponible en: <http://inta.gob.ar/documentos/maiz.-cadena-de-valor-agregado.-alternativas-de-transformacion-e-industrializacion> (Octubre 2012).
- Irmak, S., D.Z. Haman, and R. Bastug. 2000. Determination of crop water stress index for irrigation timing and yield estimation of corn. *Agronomy Journal*, 92:1221-1227.
- Izydorczyk, S., and C.G. Biliaderis. 2007. Functional food carbohydrates. Arabinoxylans: technological and nutritional functional plant polysaccharides. *Functional food carbohydrates*. Primera edición. CRC Press, Boca Raton. 249-291 p.

- Katapodis, P., M. Vardakou, E. Kalogeris, D. Kekos, B.J. Macris, and P. Christakopoulos. 2003. Enzymic production of a feruloylated oligosaccharide with antioxidant activity from wheat flour arabinoxylan. *European Journal of Nutrition*, 42:55–60.
- Kato, T.A, C. Mapes, L.M. Mera, J.A. Serratos, y R.A. Bye. 2009. Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. Primera edición. Universidad Nacional Autónoma México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F. 116 p.
- Lee, B.R., K.Y. Kim, W.J. Jung, J.C. Avice, A. Ourry, and T.H. Kim. 2007. Peroxidases and lignification in relation to the intensity of water-deficit stress in white clover (*Trifolium repens L.*). *Journal of Experimental Botany*, 58(6):1271-1279.
- Leucci, M.R., M. Lenucci, G. Piro, and G. Dalessandro. 2008. Changes in cell wall polysaccharides during water stress in wheat genotypes varying in drought tolerance. *Options Méditerranéennes*, 81:223-225.
- Li, S., C.F. Morris, and A.D. Bettge. 2009. Genotype and environment variation for arabinoxylans in hard winter and spring wheat of the U.S. Pacific Northwest. *Cereal Chemistry*, 86(1):88-95.
- Macancela, J. 2012. Inhibición del crecimiento y de la biosíntesis de micotoxinas de mohos del G° *Fusarium* mediante el uso de ácidos fenólicos. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad de Zaragoza, Facultad de Agronomía. 45 p.

- Manach, C., A. Scalbert, C. Morand, C. Remesy, and L. Jiménez. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79:727-47.
- Montoliu, A. 2010. Respuestas fisiológicas de los cítricos sometidos a condiciones de estrés biótico y abiótico. Aspectos comunes y específicos. Tesis Doctoral. Universidad de Jaume, España. 196 p.
- Morales-Ortega, A., G. Niño-Medina, E. Carvajal-Millán, A. Gardea-Bejar, P. Torres-Chávez, Y. López-Franco, A. Rascón-Chu, y J. Lizardi-Mendoza. 2013. Los arabinoxilanos ferulados de cereales. Una revisión de sus características fisicoquímicas y capacidad gelificante. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(4):439-446.
- Moore, J.P., M. Vire-Gibouin, J.M. Farrant, and A. Driouich. 2008. Adaptations of higher plant cell walls to water loss: drought vs desiccation. *Physiologia Plantarum*, 134:237-245.
- Moreno F., L.P. 2009. Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. Una revisión. *Agronomía Colombiana*, 27(2):179-19.
- NCGA. 2013. National Corn Growers Association. The world of corn. Disponible en: <http://www.ncga.com/upload/files/documents/pdf/WOC%202013.pdf> (Febrero, 2013).
- Nielsen, R.L. 2013. Grain fill stages in corn. Disponible en: <http://www.agry.purdue.edu/ext/corn/news/timeless/grainfill.html> (Febrero, 2013).

- Niño-Medina, G., E. Carvajal-Millán, J. Lizardi, A. Rascon-Chu, J.A. Marquez-Escalante, A. Gardea, A.L. Martinez-Lopez, and V. Guerrero. 2009. Maize processing waste water arabinoxylans: gelling capability and cross-linking content. *Food Chemistry*, 115:1286–1290.
- Niño-Medina, G., E. Carvajal-Millán, A. Rascon-chu, V.G. Marquez-Escalante, and E. Salas-Muñoz. 2010. Feruloylated arabinoxylans and arabinoxylan gels: structure, sources and applications. *Phytochemistry Reviews*, 9:111-120.
- Oktem, A. 2008. Effect of water shortage on yield, and protein and mineral compositions of drip-irrigated sweet corn in sustainable agricultural systems. *Agricultural Water Management*, 95:1003-1010.
- Palma, M. 1996. Importancia del pericarpio en las características de masa y tortillas de maíz. Tesis Profesional. Universidad Autónoma Chapingo. 73 p.
- Pedreschi, R., and L. Cisneros-Zevallos. 2007. Phenolic profiles of Andean purple corn (*Zea mays L.*). *Food Chemistry*, 100:956-963.
- Pejić, B., B. Maheshwari, S.Šeremešić, R.Stričević, M. Pacureanu-Joita, M.Rajić, and B.Ćupina. 2011. Water-yield relations of maize (*Zea mays L.*) in temperate climatic conditions. *Maydica*, 56:315-321.
- Petridis, A., I. Therios, G. Samouris, S. Koundouras, and A. Giannakoula. 2012. Effect of water deficit on leaf phenolic composition, gas exchange, oxidative damage and antioxidant activity of four Greek olive (*Olea europaea L.*) cultivars. *Plant Physiology and Biochemistry*, 60:1-11.

- PIONEER. 2012. Rendimiento del grano del maíz en relación al estrés durante las distintas etapas de desarrollo. Disponible en: www.pioneer.com (Noviembre 2012).
- Rao, A.V., and S. Agarwal. 2000. Role of antioxidant lycopene in cancer and heart disease. *Journal of the American College of Cardiology*, 19(5):563-569.
- Reyes, J.M., y D. Martínez. 2004. Introducción a la ecofisiología de cultivos. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Segunda edición. Puebla, Puebla. 108 p.
- Riccardi, F., P. Gazeau, D. De Vienne, and M. Zivy. 1998. Protein changes in response to progressive water deficit in maize. *Plant Physiology*, 1117:1253-1263.
- Rincón-Tuexi, J.A., S. Castro-Nava, J.A. López-Santillán, A.J. Huerta, C. Trejo-López, y F. Briones-Encinia. 2006. Temperatura alta y estrés hídrico durante la floración en poblaciones de maíz tropical. *Phyton*, 75:31-40.
- Ruiz, N.A., F. Rincón, V.M. Hernández, J. Figueroa, y M.G. Loarca. 2008. Determinación de compuestos fenólicos y su actividad antioxidante en granos de maíz. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 31(3):29-34.
- SAGARPA. 2012. Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx> (Marzo, 2012).

- SIAP (2012) Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Secretaria de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación. http://w4.siap.gob.mx/sispro/IndModelos/SP_AG/Maiz/INF_GRAL.pdf (Mayo 2014).
- Silva-Robledo, H., M. Ortiz-Lizana y E. Acevedo-Hinojosa. 2007. Relaciones hídricas y ajuste osmótico en trigo. *Agrociencia*, 41:23-34.
- UNLPAM. 2013. Facultad de Agronomía. Pared celular. Disponible en: <http://www.agro.unlpam.edu.ar/catedras-pdf/PARED%20CELULAR.pdf> (Noviembre, 2013).
- USDA. 2012. United States Department of Agriculture. Disponible en: <http://www.usda.gov> (Junio, 2012).
- Vaher, M., K. Matso, T. Levandi, K. Helmja, y M. Kaljurand. 2010. Phenolic compounds and the antioxidant activity of the bran, flour and whole grain of different wheat varieties. *Procedia Chemistry*, 2:76-82.
- Van Laere, K.M., R. Hartemink, M. Bosveld, H.A. Schols, and A.G.Voragen. 2000. Fermentation of plant cell wall derived polysaccharides and their corresponding oligosaccharides by intestinal bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48:1644–1652.
- Vansteenkiste, E., C. Babot, X. Rouau, and V. Micard. 2004. Oxidative gelation of feruloylated arabinoxylan as affected by protein. Influence on protein enzymatic hydrolysis. *Food Hydrocolloids*, 18:557-564.

- Varela, S. 2011. La ecofisiología vegetal: una disciplina que nos permite tomar decisiones de manejo ante condiciones ambientales desfavorables. *Presencia*, 56:25-28.
- Vera-Guzmán, A.M., J.L. Chávez-Servia, y J.C. Carrillo-Rodríguez. 2012. Proteína, lisina y triptófano en poblaciones nativas de maíz mixteco. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 35(5):7-13.
- Verslues, P.E., M. Agarwal, S. Katiyar-Agarwal, J. Zhu and Jian-Kang Zhu. 2006. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *The Plant Journal*, 45:523–539.
- Vincent, D., C. Lapierre, B. Pollet, G. Cornic, L. Negroni, and M. Zivy. 2005. Water deficits affect caffeate O-methyltransferase, lignification, and related enzymes in maize leaves. A proteomic investigation. *Plant Physiology*, 137:949-960.
- Wu, Y., and D.J. Cosgrove. 2000. Adaptation of roots to low water potentials by changes in cell wall proteins. *Journal of Experimental Botany*, 51:1543-1553.
- Xoconostle-Cázares, F.A. Ramírez-Ortega, L. Flores-Elenes, and R. Ruiz-Medrano. 2011. Drought tolerance in crop plants. *American Journal of Plant Physiology*, 1:1-16.
- Zarco-Perelló, E., V.A. González-Hernández, M.A. López-Peralta, y Y. Salinas-Moreno. 2005. Marcadores fisiológicos de la tolerancia a sequía en maíz (*Zea mays L.*). *Agrociencia*, 39:517-528.

- Zavaleta, J., A.M. Muñoz, T. Blanco, C. Alvarado-Ortiz, y B. Loja. 2013. Capacidad antioxidante y principales ácidos fenólicos y flavonoides de algunos alimentos. Universidad de San Martín de Porres. Facultad de Medicina Humana. Disponible en: <http://www.medicina.usmp.edu.pe> (Mayo, 2013).
- Zhang, B., W. Liu, S.X. Chang, and A.O. Anyia. 2010. Water-deficit and high temperature affected water use efficiency and arabinoxylan concentration in spring wheat. *Journal of Cereal Science*, 52:263-269.
- Zhao, X.Y., M.Y. Ding, and D.L. Liu. 2005. Phenolic acids analysis in *LigusticumChuanxiong* using HPLC. *Journal of Chromatographic Science*, 43:389-393.

7. APÉNDICE

Apéndice A1. ANVA para la producción de grano de los genotipos Cebú, DK-2027, DK-2034 bajo dos condiciones de humedad: estrés hídrico y riego.

| FV | GL | SC | CM | F | P>F |
|--------------|----|-----------|-----------|---------|-------|
| Trat Humedad | 1 | 15.424194 | 15.424194 | 17.5649 | 0.006 |
| R<L> | 6 | 2.138458 | 0.356410 | | |
| Genotipo | 2 | 13.301178 | 6.650589 | 7.5736 | 0.008 |
| Hum x Gen | 2 | 1.756256 | 0.878128 | 1.8102 | 0.205 |
| Error | 12 | 5.821320 | 0.485110 | | |
| Total | 23 | 38.441406 | | | |

CV=17.2%

Apéndice A2. ANVA para la concentración de fenoles totales en el pericarpio de maíz de los híbridos Cebú, DK-2027, DK-2034 bajo condiciones de estrés hídrico y riego.

| FV | GL | SC | CM | F | P>F |
|--------------|----|-----------|----------|--------|-------|
| Trat Humedad | 1 | 72066560 | 72066560 | 5.6383 | 0.054 |
| R<L> | 6 | 48009216 | 8001536 | | |
| Genotipo | 2 | 32033792 | 16016896 | 1.2531 | 0.321 |
| Hum x Gen | 2 | 25563136 | 12781568 | 1.3608 | 0.293 |
| Error | 12 | 112710144 | 9392512 | | |
| Total | 23 | 290382848 | | | |

CV=19.9%

Apéndice A3. ANVA del porcentaje de inhibición de DPPH el pericarpio de maíz de los híbridos Cebú, DK-2027, DK-2034 bajo condiciones de estrés hídrico y riego.

| FV | GL | SC | CM | F | P>F |
|--------------|----|------------|------------|---------|-------|
| Trat Humedad | 1 | 244.683594 | 244.683594 | 20.7380 | 0.004 |
| R<L> | 6 | 170.984375 | 28.497396 | | |
| Genotipo | 2 | 31.066406 | 15.533203 | 1.3165 | 0.304 |
| Hum x Gen | 2 | 23.597656 | 11.798828 | 0.9355 | 0.578 |
| Error | 12 | 151.351563 | 12.612630 | | |
| Total | 23 | 621.683594 | | | |

CV=19.9%

Apéndice A4. ANVA de la concentración de ácido *cis*-ferúlico en el pericarpio de maíz de los híbridos Cebú, DK-2027, DK-2034 bajo condiciones de estrés hídrico y riego.

| FV | GL | SC | CM | F | P>F |
|--------------|----|---------|--------|--------|-------|
| Trat Humedad | 1 | 255232 | 255232 | 2.2940 | 0.179 |
| R<L> | 6 | 477436 | 79572 | | |
| Genotipo | 2 | 368528 | 184264 | 1.6562 | 0.231 |
| Hum x Gen | 2 | 222520 | 111260 | 1.9084 | 0.190 |
| Error | 12 | 699604 | 58300 | | |
| Total | 23 | 2023320 | | | |

CV=20.2%

Apéndice A5. ANVA de la concentración de ácido *trans*-ferúlico en el pericarpio de maíz de los híbridos Cebú, DK-2027, DK-2034 bajo condiciones de estrés hídrico y riego.

| FV | GL | SC | CM | F | P>F |
|--------------|----|----------|----------|---------|-------|
| Trat Humedad | 1 | 15233856 | 15233856 | 77.8763 | 0.000 |
| R<L> | 6 | 2830080 | 471680 | | |
| Genotipo | 2 | 3281536 | 1640768 | 8.3877 | 0.006 |
| Hum x Gen | 2 | 391232 | 195616 | 0.3451 | 0.719 |
| Error | 12 | 6802624 | 566885 | | |
| Total | 23 | 28539328 | | | |

CV=13.6%

Apéndice A6. ANVA de la concentración de ácido cumárico en el pericarpio de maíz de los híbridos Cebú, DK-2027, DK-2034 bajo condiciones de estrés hídrico y riego.

| FV | GL | SC | CM | F | P>F |
|--------------|----|----------|----------|---------|-------|
| Trat Humedad | 1 | 249696.0 | 249696.0 | 47.4843 | 0.001 |
| R<L> | 6 | 104031.0 | 17338.5 | | |
| Genotipo | 2 | 121976.0 | 60988.0 | 11.5980 | 0.002 |
| Hum x Gen | 2 | 10517.0 | 5258.5 | 0.3107 | 0.742 |
| Error | 12 | 203124.0 | 16927.0 | | |
| Total | 23 | 689344.0 | | | |

CV=17.1%

Apéndice A7. ANVA de la concentración de lignina en el pericarpio de maíz de los híbridos Cebú, DK-2027, DK-2034 bajo condiciones de estrés hídrico y riego.

| FV | GL | SC | CM | F | P>F |
|--------------|----|----------|----------|--------|-------|
| Trat Humedad | 1 | 0.000288 | 0.000288 | 1.2964 | 0.299 |
| R<L> | 6 | 0.002622 | 0.000437 | | |
| Genotipo | 2 | 0.002704 | 0.001352 | 6.0921 | 0.015 |
| Hum x Gen | 2 | 0.000444 | 0.000222 | 1.0669 | 0.376 |
| Error | 12 | 0.002496 | 0.000208 | | |
| Total | 23 | 0.008553 | | | |

CV=12.4%

Apéndice A8. ANVA de la concentración de proteína en el pericarpio de maíz de los híbridos Cebú, DK-2027, DK-2034 bajo condiciones de estrés hídrico y riego.

| FV | GL | SC | CM | F | P>F |
|--------------|----|-----------|----------|--------|-------|
| Trat Humedad | 1 | 4.824219 | 4.824219 | 2.0016 | 0.206 |
| R<L> | 6 | 2.673828 | 0.445638 | | |
| Genotipo | 2 | 2.672852 | 1.336426 | 0.5545 | 0.593 |
| Hum x Gen | 2 | 4.820313 | 2.410156 | 4.4656 | 0.035 |
| Error | 12 | 6.476563 | 0.539714 | | |
| Total | 23 | 21.467773 | | | |

CV=5.06%

A9. ANVA del porcentaje de extracción de arabinosilanos en el pericarpio de maíz de los híbridos Cebú, DK-2027, DK-2034 bajo condiciones de estrés hídrico y riego.

| FV | GL | SC | CM | F | P>F |
|--------------|----|------------|-----------|---------|-------|
| Trat Humedad | 1 | 0.769531 | 0.769531 | 0.3400 | 0.585 |
| R<L> | 6 | 36.756836 | 6.126139 | | |
| Genotipo | 2 | 149.606445 | 74.803223 | 33.0522 | 0.000 |
| Hum x Gen | 2 | 4.526367 | 2.263184 | 0.2882 | 0.758 |
| Error | 12 | 94.219727 | 7.851644 | | |
| Total | 23 | 285.878906 | | | |

CV=13.8%