



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

CONTENIDO DE NITRATO EN
HOJAS DE AMARANTO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

B I O L O G A

P R E S E N T A :

VERONICA ALVARADO RODRIGUEZ

Ciudad Universitaria

1992

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

	Página
RESUMEN	
1. INTRODUCCION	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1 Importancia del Amaranto	3
2.2 Taxonomía y Características Botánicas	4
2.3 Origen de las Especies de <i>Amaranthus</i>	6
2.4 Importancia Alimenticia de las Hojas de Amaranto	6
2.5 Nitrato en la Dieta Humana	9
2.6 Toxicidad y Metabolismo del Nitrato/Nitrito	10
3. OBJETIVO	13
4. MATERIALES Y METODOS	14
4.1 Material Biológico	14
4.2 Método de Cuantificación de Nitrato	16
4.3 Reactivos	19
4.4 Análisis Estadístico	19
5. RESULTADOS	22
5.1 Contenido de Nitrato en Hojas de Diferentes Edades	22
5.2 Contenido de Nitrato en Primordios Foliare	22
5.3 Contenido de Nitrato en Hojas Primarias Apicales	26
5.4 Contenido de Nitrato en Hojas Primarias Medias	30
6. DISCUSION	37
7. CONCLUSIONES	47
8. BIBLIOGRAFIA	48

RESUMEN

Las hojas jóvenes de amaranto están incluidas en la dieta común de algunos mexicanos. En México, estas hojas se consumen fritas o como sopa; en ambos casos el contenido total de NO_3^- se conserva. Este ión puede llegar a ser tóxico, ya que en el metabolismo es reducido a NO_2^- que a su vez puede tener dos efectos, uno como oncogénico al reaccionar con otras sustancias (aminas) para formar compuestos N-nitrosos y otro como agente causante de la metahemoglobinemia, enfermedad muy común en niños. El propósito del presente estudio fue determinar el contenido de NO_3^- en hojas de diferente edad, haciendo énfasis en los primordios foliares, de 4 especies de amaranto y de 14 colectas que son comúnmente consumidas en México. Los niveles de NO_3^- fueron determinados mediante el método colorimétrico de Cataldo; los datos fueron analizados estadísticamente con el método de diagramas de caja. Los contenidos de NO_3^- encontrados fueron mayores en los primordios foliares que en las otras hojas estudiadas. Los valores de las 14 colectas aquí estudiadas fluctúan entre 2.95% p.s. y 0.37% p.s., de las cuales sólo los primordios foliares de *A. hypochondriacus* colecta 652 y de *A. cruentus* colecta 791 pueden ser consumidos por los humanos, debido a que sus contenidos de NO_3^- son menores que los reportados en la literatura como tóxicos. Sin embargo, si las hojas se hierven, y el agua de cocción es desechada, los primordios foliares de todas las colectas anteriores pueden ser consumidas. Aunque el material biológico estudiado fue cultivado bajo condiciones homogéneas, el

contenido de NO_3^- fue diferente entre las especies y entre las 14
colectas.

1. INTRODUCCION

El amaranto representa un cultivo de gran potencial en las regiones de escasos recursos, desde el punto de vista de la nutrición puede aprovecharse como alimento tanto su grano como su parte aérea, lo cual lo hace un cultivo de mayor rendimiento en relación con otros cultivos, que únicamente son productores de un sólo recurso. Tiene la capacidad de crecer en condiciones de sequía en el trópico y regiones semiáridas, debido a su metabolismo C4. Así mismo, las hojas del amaranto son consumidas en diferentes partes del mundo en donde los recursos son limitados, gracias a que su práctica agrícola permite su cultivo en pequeños jardines o parcelas, además de que tiene una gran capacidad de rebrote. Desafortunadamente las hojas de amaranto tienen sustancias como el NO_3^- , que pueden llegar a ser nocivas para la salud, sobre todo si estas hojas se consumen crudas en ensaladas o como sopa, ya que de esta manera los niveles de NO_3^- son mantenidos.

Debido a las cualidades de este cultivo, en la actualidad existe un gran interés por seleccionar tipos de amaranto que posean las características óptimas, tanto para la práctica agronómica como para la nutricional.

Por tal razón, es necesario cuantificar el contenido de NO_3^- presente en los tipos de amaranto cultivados y consumidos en México, con el fin de encontrar y posteriormente seleccionar los tipos que tengan el menor contenido de NO_3^- .

Las determinaciones se realizaron en hojas de amaranto de diferentes edades dentro de una misma planta: a) Primordios foliares, existe una predilección de la gente por consumir las

hojas más jóvenes*, por lo que surge la pregunta, si tal vez estas hojas tengan las mejores características nutritivas dentro de la planta, entre ellas un menor contenido de NO_3^- y que hayan sido seleccionadas de manera empírica para el consumo humano. b) Hojas maduras, se ha propuesto la utilización de la parte aérea del amaranto como recurso forrajero. Es decir, si las cualidades nutricionales de la planta son buenas, se puede aprovechar el grano y las hojas más jóvenes como alimento humano, y el resto de las hojas como complemento en la alimentación de animales.

Desde el punto de vista del aprovechamiento del amaranto, el material colectado se puede agrupar en dos grandes categorías no taxonómicas, el que es comúnmente utilizado como grano y el que es utilizado como verdura, de los cuales es de nuestro interés cuantificar el contenido de NO_3^- , para determinar si existe selección de producción reflejada por los niveles de NO_3^- entre estos dos grupos.

Con la finalidad de apoyar este trabajo, fue necesario hacer una revisión de la literatura relacionada con el contenido de NO_3^- en amaranto, el metabolismo de $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ en el cuerpo humano y los valores de ingesta de NO_3^- considerados como aceptables en una dieta humana.

* Se aclara que el estado de desarrollo de los primordios foliares utilizados en el presente trabajo, fue anterior al que la gente de algunas regiones de México acostumbra comer. Y la colecta se llevó a cabo cuando la planta estaba en una etapa fenológica de floración (el grupo de verdura) o la de llenado de grano (grupo de grano), es decir, la época de su mayor consumo ya había pasado

2. ANTECEDENTES

2.1 Importancia del Amaranto

El amaranto fue una planta de gran importancia social, económica y religiosa para muchas civilizaciones antiguas de América. Algunos pueblos conservan ciertas tradiciones en las cuales aún juega un papel relevante. En mayor o menor escala, el amaranto se ha utilizado a lo largo del tiempo a manera principalmente de grano, como verdura, para extraer colorantes, como símbolos religiosos y de planta de ornato (Sauer, 1950). Debido a su alto valor nutritivo, el amaranto ha despertado actualmente un gran interés en diversas ramas de la ciencia, por lo que se están llevando a cabo programas de investigación para su aprovechamiento.

Registros arqueobotánicos de semillas de amaranto encontrados en cuevas en el Valle de Tehuacán, Puebla, que están fechadas entre los 4000 y 2500 años A.C. sugieren que su domesticación es muy antigua (Sauer, 1969).

En la época prehispánica, el amaranto era uno de los cultivos más importantes para diferentes civilizaciones de México, Centro y Sur de América, dentro de las que destaca la cultura Azteca (National Research Council, 1984).

Sauer (1950) hizo una recopilación de información acerca de la historia del amaranto de grano, a partir de registros históricos, desde la época prehispánica hasta información reciente. En los códices de la colonia y cartas informativas de los conquistadores se indica el uso de semillas llamadas "huauhtli", las cuales eran muy probablemente semillas de amaranto. El grano del amaranto era muy importante para la

alimentación y también en las ceremonias religiosas. A partir de la conquista española, el cultivo del amaranto fue prohibido debido a que su uso religioso significaba creencias diferentes al cristianismo. Por lo que este cultivo solamente sobrevivió en pocas áreas de cultivo en México y los Andes.

2.2 Taxonomía y Características Botánicas

El género *Amaranthus* L. pertenece a la familia Amaranthaceae A. L. Jussieu (Tabla 1), la cual está formada por aproximadamente 60 géneros (Feine et al, 1979, Robertson, 1981).

Este género está formado por plantas anuales, frecuentemente malezas. Hojas alternas, más o menos suculentas, de color verde, rojizo o amarillo, con peciolo generalmente elongados. Presencia de inflorescencias densas terminales y/o axilares compuestas, dicasios arreglados en espigas, tirsos, panículas o glómérulos, las unidades de la inflorescencia frecuentemente están rodeadas por hojas reducidas. Las plantas pueden ser monoicas o dioicas. Tienen una distribución casi cosmopolita, son muy abundantes como malezas en los campos de cultivo y en lugares perturbados. La mayoría de las especies son originarias de América (Robertson, 1981).

Los amarantos estudiados en el presente trabajo pertenecen a la sección *Amaranthus* (Tabla 1), que incluye a los amarantos de grano domesticados, los de tinción, muchos de los ornamentales domesticados y las malezas más comunes (Sauer, 1967).

Tabla 1. Ubicación taxonómica del amaranto.

ORDEN	Caryophyllales
FAMILIA	Amaranthaceae A. L. Jussieu
GENERO	Amaranthus L.
SECCION	Amaranthus
ESPECIE	A. <i>cruentus</i> L.
ESPECIE	A. <i>caudatus</i> L.
ESPECIE	A. <i>hypochondriacus</i> L.
ESPECIE	A. <i>hybridus</i> L.

2.3 Origen de las Especies de *Amaranthus*

El origen de la especie *Amaranthus hybridus* L. es probablemente el sureste del Norte de América, y crece comúnmente en esta área incluyendo México, Centro América y norte de Sur América. *A. hypochondriacus* L. es originario del Norte de América, ha sido seleccionado como cultivo de grano y se usa comúnmente para hacer el dulce de "alegría". En el sur de México y Guatemala se originó *A. cruentus* L. y fue domesticado para su uso como cultivo de grano principalmente, aunque también es común su utilización como planta ornamental, de tinción y como verdura. El probable origen de *A. caudatus* L. es la región de los Andes, generalmente es utilizado como grano (Sauer, 1967).

2.4 Importancia Alimenticia de las Hojas de Amaranto

Además de la calidad nutritiva del grano del amaranto, su parte aérea constituye una buena fuente de alimento, tanto para consumo humano como para el ganado (Grubben y Van Sloten, 1981). Se han hecho estudios nutricionales, comparando espinaca y amaranto, en donde se demuestra que el amaranto tiene un mayor contenido de cenizas, fibra cruda, calcio y NO_3^- , mientras que la espinaca tiene valores mayores de proteína cruda y oxalato; en cuanto al fósforo total sus valores son comparables en ambos vegetales (tabla 2) (Gómez et al., 1986). La composición de amino ácidos revela que en general la proteína de las hojas de amaranto son de buena calidad, gracias a los altos niveles de lisina (Hill y Rawate, 1982; Prakash y Pal, 1991) Es importante resaltar que las hojas de amaranto contienen niveles altos de proteína, calcio y ácido ascórbico, lo cual aumenta el valor alimenticio requerido

Tabla 2. Comparación de la calidad alimenticia del amaranto y la espinaca (Gómez *et al.*, 1986).

	Espinaca	Amaranto (3 especies)
Humedad	n.d.*	10.83-11.16
Cenizas (% b. s.)	16.1	20.56-22.15
Nitrato (% b.s.)	1.22	1.15-2.05
Ac. oxálico (% b.s.)	9.30	2.24-3.92
Fibra cruda (% b.s.)	6.40	12.31-13.01
Proteína cruda (% b.s.)	34.4	23.0-26.44
Fósforo total (% b.s.)	0.55	0.43-0.54
Calcio (% b.s.)	1.0	1.55-2.10
Lisina disponible (g/16gN)	n.d.*	4.01-4.29

*n.d. No determinado por los autores.

en las dietas humanas (Hill y Rawate, 1982).

Si se compara el contenido de calcio, cenizas, NO_3^- , oxalatos, proteína y fibra de semillas (Bertoni et al, 1984.), con respecto a los valores obtenidos para hojas, se observa que éstos son mayores en el caso de las hojas, mientras que el contenido de lisina disponible es mayor en semillas (Gómez et al, 1986).

En términos de productividad, es común encontrar que las hojas de las especies de *Amaranthus* tengan una alta producción de proteína extraíble, es decir, el amaranto puede producir alrededor de 1750 kg de proteína por hectárea. En comparación con otras plantas de amaranto, las hojas de *A. caudatus* y *A. hybridus* poseen un nivel más alto de proteína extraíble, el cual asciende a 70-75% (Carlsson, 1977).

En México, los primordios foliares de amaranto son comúnmente consumidos (Bye, 1981; Mapes, 1988), esto es debido a que estas hojas crecen rápidamente después de ser cosechadas, generalmente se obtienen de parcelas o de solares (Bye, 1981; Hill y Rawate, 1982). Existen diferentes formas de preparación, cocidas como sopa, cocidas en agua tibia y enjuagadas, fritas o en ensaladas. En algunas regiones rurales de bajos recursos en la República, como en la Sierra Norte de Puebla y en la Sierra Tarahumara (Sureste de Chihuahua) representan uno de los alimentos principales en su dieta en ciertas pocas del año (julio-agosto), en las que otras fuentes de alimentación no están disponibles, siendo el consumo de aproximadamente 100 g de hojas frescas, por adulto, diariamente. En esta zona se acostumbra comer este vegetal en forma de caldo principalmente o frito sin previa cocción (Bye, 1981; Mapes, 1988); lo cual constituye una buena fuente de

proteínas, minerales, etc. Sin embargo, las hojas de amaranto también contienen sustancias tóxicas o antinutricionales, tales como el NO_3^- y el oxalato entre otras, las cuales podrían restringir su utilización en la alimentación (Feine *et al.*, 1979; Hill y Rawate, 1982; Bertoni *et al.*, 1984; Gómez *et al.*, 1986).

2.5 Nitrato en la Dieta Humana

Existen algunos reportes de la cantidad de NO_3^- estimado en una dieta humana y de los niveles permisibles considerados dentro de los límites de seguridad (tabla 3). Según consideraciones de la FAO/OMS^a, el NO_3^- puede llegar a ser tóxico si se consume en cantidades mayores a 125 mg/kg de peso corporal diarios (Davidson *et al.*, 1979). White (1975) reporta que la ingesta común de NO_3^- calculado en la dieta de residentes norteamericanos, en donde no se presentan problemas aparentes relacionados con el NO_3^- , es alrededor de 100 mg por día, de la cual el 81.2% se deriva de fuentes vegetales; por lo que propone que se necesitarían 100 g de hojas para igualar este nivel de ingesta. Por su parte, otros autores coinciden en el hecho de que la fuente primaria de NO_3^- en la comida, proviene de los vegetales y embutidos (Wolff y Wasserman, 1972; Thomas, 1986); por otro lado, Glidewell (1990) propone que la cerveza representa una fuente adicional de NO_3^- , especialmente si está fabricada con agua que contenga niveles relativamente altos de NO_3^- , también menciona que el agua, además de las verduras y los conservadores de la carne, son otra posible fuente importante de NO_3^- y NO_2^- cuyos valores pueden ser muy variables (Forman *et al.*, 1985).

^aFAO/OMS Organización para la Alimentación y la Agricultura
Organización Mundial de la Salud.

La ingesta diaria de NO_3^- calculada por Knight et al. (citado en Florin et al, 1990) es de 107.88 mg (1.74 μmoles), para la población Inglesa, aunque se menciona que existe una amplia variación de ingesta individual. Otro reporte del promedio de NO_3^- ingerido diariamente es de 95 mg, lo cual es comparable con valores descritos para otros países (Glidewell, 1990).

Tabla 3. Cantidad de Nitrato estimado en una dieta humana y límites establecidos como no tóxicos.

Fuente	Cantidad de Nitrato
FAO/OMS [*]	125 mg/kg de peso corporal diarios
White ^{**}	100 mg/día=aprox. 100g de hojas frescas
Knight ^{**}	107.88 mg/día
Glidewell ^{**}	95 mg/día

^{*} Límites considerados como no tóxicos
^{**} Niveles de NO_3^- calculados a partir de una dieta común.

Experimentos realizados por Hill y Rawate (1982) y Gómez et al (1986), demuestran que al cocer las hojas de amaranto en agua con sal, la mayoría del contenido de NO_3^- y oxalatos difunden hacia el agua, es decir, si se desecha el agua de cocción esta verdura podría ser consumida sin riesgo. Desafortunadamente, en la forma en la que comúnmente se consume en México, los niveles de NO_3^- se mantienen. Por lo tanto, es necesario buscar tipos agronómicos de amaranto con bajos contenidos de NO_3^- , que permitan su ingesta sin que representen un riesgo para la salud.

2.6 Toxicidad y Metabolismo del Nitrato/Nitrito

El NO_3^- no constituye una sustancia tóxica per se, pero en las vías metabólicas sufre una reducción a NO_2^- (White, 1975;

Glidewell, 1990), el cual puede tener efectos nocivos para la salud.

Existen reportes en donde se menciona que los NO_3^- y NO_2^- han estado implicados como elementos causantes de toxicidad en animales y humanos, sobre todo en niños (Simon, 1966; Wolff y Wasserman, 1972; Jones y Jones, 1977; Smyth, 1977; Rivera et al, 1984; Duffy et al, 1985). En animales el NO_3^- y oxalato de amaranto se han relacionado en adema perirrenal en puercos (Oswiler et al, 1969).

Alrededor del 25% del NO_3^- proveniente de la dieta es absorbido por la saliva (Forman et al, 1988), se sabe que el NO_3^- se puede reducir a NO_2^- en el intestino humano (Tannenbaum, 1979; Witter et al, 1979a y 1979b; Wagner et al, 1983), esta reducción también puede ser realizada por reacciones enzimáticas de algunas especies de bacterias, que se encuentran en la boca y en ocasiones en estómago y vejiga (Tannenbaum et al, 1974).

Los NO_2^- pueden reaccionar con aminas secundarias para formar compuestos conocidos como nitrosaminas, en lugares propicios para la reacción como el intestino y en el estómago principalmente (Wolf y Wasserman, 1972; Tannenbaum, 1979; Witter et al, 1979b; Forman et al, 1988), ya que la acidez favorece la nitración (Wolff y Wasserman, 1972; Forman et al, 1988). En experimentos realizados con animales, se ha demostrado que algunos de estos compuestos son oncogénicos (Davidson et al, 1979).

El NO_3^- ha sido considerado como uno de los agentes etiológicos del cancer gástrico; se ha estimado que casi el 30% de los casos de cancer, son causados por factores presentes en la dieta (Thomas, 1986). También se ha notado una correlación en el

incremento de NO_3^- en el ambiente y el aumento de casos de mortalidad por cancer estomacal en el Reino Unido (Forman et al, 1988).

Recientemente se han hecho experimentos con ratones hembras, en donde son expuestas a concentraciones subletales de NO_3^- de 12.5, 25 y 50 mg/kg de peso corporal, estas dosis fueron administradas en el noveno día de gestación; los resultados demuestran que el NO_3^- no causa reabsorción por parte del embrión, ni mortalidad fetal, pero se provocan deleciones cromosómicas y otros tipos de aberraciones en el hígado del feto y en células de la médula maternas (Nayak et al, 1989). Sin embargo, no existe una clara evidencia de que el NO_3^- sea una agente nocivo para los humanos (Forman et al, 1985).

Desafortunadamente, se sabe relativamente poco sobre la distribución y el metabolismo de estos iones (Witter, et al, 1979a). Por ejemplo, no se ha establecido la proporción de NO_3^- que se reduce a NO_2^- . De esta manera, tampoco se sabe la cantidad de NO_2^- que se puede transformar a compuestos N-nitrosos, y si los niveles de NO_3^- influyen en la cantidad formada de estos compuestos. Además no se tienen datos concretos en relación con la acumulación de estos iones (Tannebaum, 1979 y Witter et al, 1979a).

Por otro lado, los NO_2^- reducen la hemoglobina a metahemoglobina, disminuyendo la eficiencia en el transporte de oxígeno (Wolff y Wasserman, 1972).

A pesar que las hojas de amaranto han sido consumidas por los humanos, en varias partes del mundo, durante siglos, sin problemas aparentes, no se puede ignorar el potencial de los efectos nocivos que están implicados en su consumo (Hill y Rawate, 1982).

3.OBJETIVO

El propósito de este trabajo fue determinar el contenido de NO₃ en hojas de diferentes edades, especialmente de las hojas jóvenes o primordios foliares, de 14 colectas pertenecientes a cuatro especies de amaranto, que son comúnmente consumidas en México.

4. MATERIALES Y METODOS

4.1 Material Biológico

Se seleccionaron catorce colectas correspondientes a *A. hypochondriacus*, *A. hybridus*, *A. cruentus* y *A. caudatus* las cuales fueron sembrados por método directo, en diferentes parcelas, con una densidad de cien plantas en un área de 80 m², en el "Rancho San Francisco" del Centro de Enseñanza y Extensión de Ganadería del Altiplano (C.I.E.E.G.A.), de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, U.N.A.M., localizado en Chalco, Estado de México. El material biológico estudiado fue sometido a las mismas condiciones de cultivo (sin fertilizante y con insecticida). Las semillas fueron sembradas el 21 de mayo de 1990 y la colecta de las muestras fue el 4 y 10 de septiembre del mismo año; es decir, a las 15 semanas de edad aproximadamente.

De cada variedad se eligieron 5 individuos al azar. De cada individuo se seleccionaron hojas de 3 diferentes edades (Fig. 1): hojas jóvenes o primordios foliares (PF), hojas primarias desarrolladas a partir de la parte apical del eje central (primarias apicales-PA), y hojas primarias desarrolladas a partir de la parte media del eje central (primarias medias-PM).

Durante la recolección, las muestras se guardaron en bolsas de plástico negro, para que los niveles de NO₃ no se modificaran por la acción de la NO₃ reductasa. El material fue secado a 40-50°C durante 24 h, en un cuarto de secado, después fue molido en un mortero y la harina se almacenó en bolsas herméticas y se conservó a una temperatura de aproximadamente 20°C.

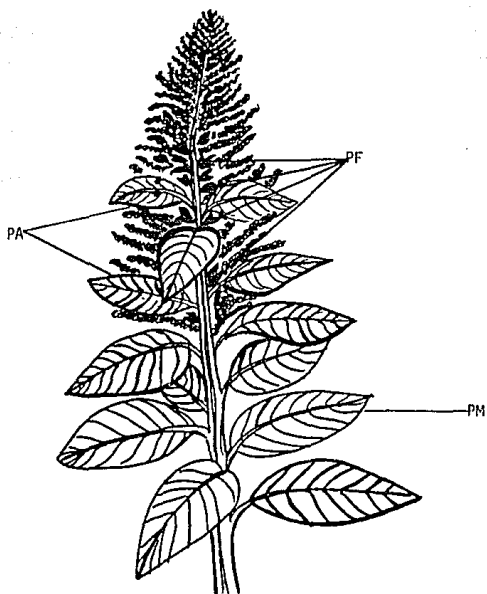
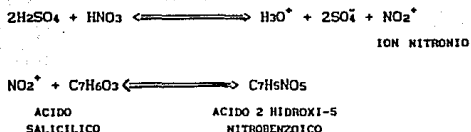


Figura 1. Planta de amaranto que muestra las 3 diferentes edades de hojas analizadas en este trabajo.

El material biológico empleado en el presente estudio será referido como colectas, debido a que pertenecen a una categoría taxonómica menor que la especie, para la que no existe un acuerdo común en su denominación. En la tabla 4 se enlista el material biológico utilizado, en donde se menciona la especie representada por las tres primeras letras, el número de colecta o el banco de germoplasma de procedencia y finalmente, la forma de consumo más común.

4.2 Método de Cuantificación de Nitrato

El contenido de NO_3^- fue determinado por el método de Cataldo *et al* (1975), que está basado en la nitración del ácido salicílico (Morrison y Boyd, 1985; Roberts *et al*, 1974):



A partir de la harina de las hojas de diferentes edades, se obtuvo una muestra de 100 mg, la cual se suspendió y se agitó en 10 ml de agua desionizada, después se calentó a 45°C durante 1 h, en un horno (Vacum-Oven, Precision, GCA corporation). La muestra se colocó en tubos ependorf de 1.5 ml y se centrifugó durante 5 minutos a 10 000 g en una microfuga (Beckman, model J2-21M/E).

Tabla 4. Material Biológico

Especie	Abreviatura	No. Colecta (*)	Utilización más común	Localidad de Colecta	Estado
<i>A. cruentus</i>	cru	M-769	verdura	Zapotitlán de Méndez, Mpio. Z. de Méndez	Puebla
<i>A. cruentus</i>	cru	M-791	verdura	Huahuaxtla, Mpio. Xochitlán	Puebla
<i>A. cruentus</i>	cru	E-1018c-3	grano	Huazulco	Morelos
<i>A. caudatus</i>	cau	BCSC	grano	Ecuador	
<i>A. hybridus</i>	hyr	M-782	verdura	Máquina Vieja, Mpio. Cd. Serdán	Puebla
<i>A. hybridus</i>	hyr	M-783	verdura	Máquina Vieja, Mpio. Cd. Serdán	Puebla
<i>A. hypochondriacus</i>	hyp	M-772	verdura	Huahuaxtla, Mpio. Xochitlán	Puebla
<i>A. hypochondriacus</i>	hyp	M-775	verdura	carr. Zaragoza-Teziutlán, a 24 km de Zacapoaxtla	Puebla
<i>A. hypochondriacus</i>	hyp	M-763	verdura	Xoxonacantla, Mpio. Zacatlán	Puebla
<i>A. hypochondriacus</i>	hyp	M-764	verdura	Xoxonacantla, Mpio. Zacatlán	Puebla
<i>A. hypochondriacus</i>	hyp	E-653	grano	Tulyehualco	D.F.
<i>A. hypochondriacus</i>	hyp	E-652	grano	San Miguel del Milagro	Tlaxcala
<i>A. hypochondriacus</i>	hyp	E-153-5-3	grano	Amilcingo	Morelos
<i>A. hypochondriacus</i>	hyp	E-AG-67	grano	India	

* M: Colecta de Mapeo S.C.; E: Colecta de Ecpitla E.; BCSC: Banco de germoplasma de Sta. Catalina del Ministerio de Agricultura de Ecuador; **BGD: Banco de germoplasma del INIFAP.

En un tubo de ensayo de 50 ml se colocaron 100 microlitros del sobrenadante obtenido a partir de la centrifugación y se le agregaron 400 microlitros de una solución de ácido salicílico al 5% (p/v) diluido en ácido sulfúrico concentrado ('Baker Analyzed' Reactivo). Los tubos de ensayo se agitaron en un vórtex (Thermolyne-Sybron), posteriormente se agregaron 10 ml de hidróxido de sodio 2 M, y se volvió a agitar en el vórtex. Los tubos se mantuvieron en hielo hasta que se enfriaron, ya que esta última reacción es exotérmica. Finalmente se tomó la lectura en un espectrofotómetro (DU-65 Beckman) a 410 nm, utilizando cubetas de plástico de 1 ml.

Con el fin de conocer la relación que existe entre la concentración de NO_3^- y la absorbancia, se construyó una curva patrón, siguiendo los mismos pasos anteriores, y sustituyendo el sobrenadante extraído de la muestra, por concentraciones conocidas de KNO_3 desde 0.2, 1, 2, 4, 6, hasta 16 mM. Como blanco se utilizó una sustancia sin KNO_3 para calibrar el espectrofotómetro. La curva patrón resultó tener una relación lineal, con una $r^2 = 99.32\%$, un coeficiente de correlación de 0.996 y un error estandar de 0.044 (Alder y Roessler, 1977).

Para verificar el buen estado de los reactivos, durante cada sesión se realizó la lectura de dos concentraciones conocidas de KNO_3 , tomadas a partir de la curva patrón, en este caso de 10 y 16 mM. Si los valores de absorbancia de estas dos concentraciones caen dentro del intervalo de predicción de 95% de la curva patrón, se considera que los reactivos están en buen estado.

4.3 Reactivos

Acido Salicilico al 5% (p/v) en Acido Sulfúrico:

En una balanza (Brainwiegh, B3000D-OHAUS) se pesaron 250 mg de ácido salicílico ('Baker Analyzed' Reactivo) y se diluyeron en 0.8 ml de ácido sulfúrico concentrado ('Baker Analyzed' Reactivo).

Hidróxido de Sodio 2 M:

En un vaso de precipitados de 100 ml se pesaron 20 g de hidróxido de sodio en hojuelas (Mallinckrodt, Analytical Reagent) y se disolvieron en 50 ml de agua destilada agitando en un agitador-parrilla (Thermolyne-Sybron, type 1000 stir plate), después se afora en un matraz de 250 ml con agua destilada.

Solución Madre de Nitrato de Potasio:

En un vaso de precipitados de 10 ml se pesaron 0.101 g de KNO_3 ('Baker Analyzed' Reactivo) y se disolvieron en 10 ml de agua destilada en un agitador, posteriormente se aforó en un matraz de 50 ml con agua destilada.

4.4 Análisis Estadístico

Los datos fueron analizados por el método de diagrama de caja con muesca (Chambers et al, 1983 y Salgado, 1990). A través de este análisis estadístico se pretende comparar los diferentes valores de NO_3^- obtenidos para las hojas de 3 edades, entre y dentro las 4 especies de amaranto.

Los diagramas de caja con muesca están diseñados, como ya se dijo, para comparar varios grupos de datos, cada uno de los cuales

está representado por una caja, (fig. 2) que es posible comparar de acuerdo a su localización y dispersión en el diagrama; también se puede observar el sesgo y la densidad de sus colas de distribución, es decir, el rango de distribución que tienen los datos a partir de su mediana (Salgado, 1990).

Este análisis fue elegido, ya que permite formar grupos de datos, tomando en cuenta algún criterio, en este caso el contenido de NO_3^- . También es posible sugerir hipótesis de fenómenos que estén actuando en las poblaciones, son útiles para comparar medianas aunque no se cumplan los parámetros para hacer la prueba de hipótesis, es decir, no se pueden hacer pruebas de hipótesis formales; sin embargo, es posible hacer comparaciones significativas entre los lotes de datos y además nos da un buen nivel de representatividad (Chambers et al, 1983).

La muesca que caracteriza a estos diagramas de caja, está ilustrada simétricamente en las partes laterales de la caja y es lo que nos va a proporcionar un parámetro (la evidencia) para hacer comparaciones válidas. Para calcular el tamaño (posición) de la muesca, se emplea la fórmula:

$$M \pm 1.57 \times \text{IQR} / \sqrt{n}$$

en donde M es la mediana, IQR es el rango intercuartil y n el número de observaciones, para cada grupo de datos. Si las muescas se traslapan, significa que hay algún factor que está relacionado a esos grupos y viceversa, dando un nivel de confianza del 95% (Chambers et al, 1983).

Las cajas están formadas por la mediana, que está

representada por una línea (horizontal) que atraviesa la caja y por la dispersión de los datos, que está indicada por la longitud de la caja (fig. 2); de esta manera, la mediana divide a la caja en lo que se denomina cuarto superior y cuarto inferior, de acuerdo a la posición que tengan los cuartos con respecto a la mediana, se puede visualizar la simetría o sesgo de la distribución. Otras características que poseen las cajas, son los "bigotes" o líneas que salen de la parte central de cualquiera de los dos cuartos y finalmente, los valores extraordinarios indicados por puntos, por medio de los cuales se puede saber la longitud de las colas de distribución (Salgado, 1990).

5. RESULTADOS

5.1 Contenido de Nitrato en Hojas de Diferentes Edades

En la figura 2 se muestra el contenido de NO_3^- en hojas de amaranto de 3 diferentes edades, para las 14 colectas; se puede observar que en los primordios foliares (PF) u hojas más jóvenes, el nivel de NO_3^- es significativamente mayor que en las hojas primarias apicales (PA) y que en las primarias medias, que a su vez son significativamente similares entre sí. En las hojas primarias medias (PM) no se observan valores extremos, mientras que en las hojas primarias apicales se encuentran 4 valores extremos mayores al 1% y en los primordios foliares se encuentran 4 valores extremos que tienden al 3% de NO_3^- . En las hojas primarias medias se observa una distribución homogénea alrededor de la mediana, mientras que las hojas primarias apicales y en los primordios foliares se observa una mayor distribución de datos por arriba de la mediana.

5.2 Contenido de Nitrato en Primordios Foliares

En la figura 3 se ilustra el contenido de NO_3^- en primordios foliares de las diferentes colectas de *A. cruentus*, *A. caudatus*, *A. hypochondriacus* y *A. hybridus*.

Primordios Foliares de *A. cruentus*:

La colecta cru-769 muestra niveles de NO_3^- tendientes al 2.93%, tiene una distribución mayor de valores arriba de la mediana; en *A. cruentus* (cru-791) se observan niveles de NO_3^- de 0.37%, su distribución de valores tiene una tendencia por debajo de la mediana y se observan 2 valores extremos uno por arriba y

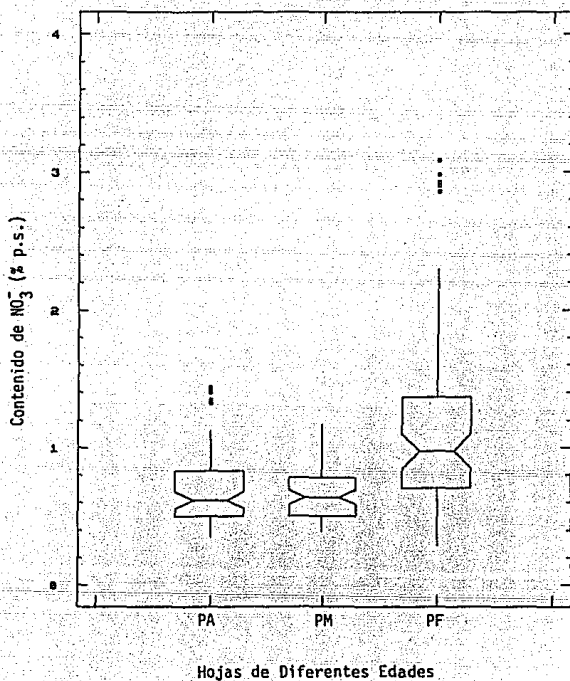


Figura 2. Diagrama de Caja con Muesca que muestra el contenido de NO_3^- en hojas de amaranto de diferentes edades, en las 14 colectas.

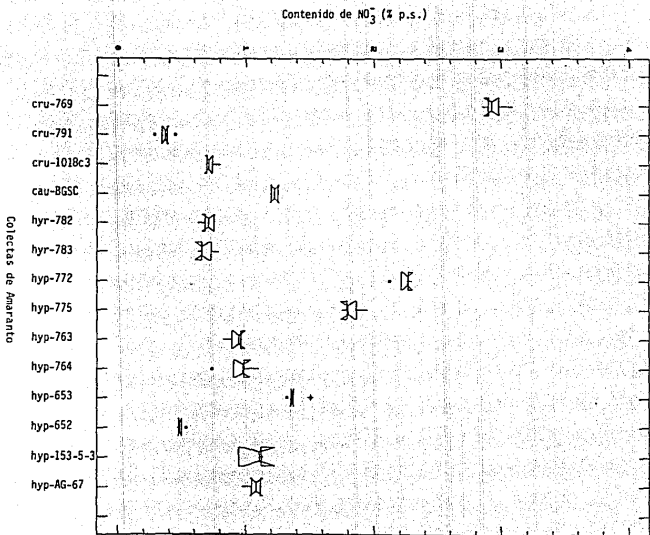


Figura 3. Diagrama de Caja con Huesca que muestra el contenido de NO_3^- en Primordios Foliares de las 14 colectas de amarantho.

otro por abajo de la mediana; en cru-1018c-3 se encuentran valores de NO_3^- de 0.71%, existe una mayor distribución de valores por arriba de la media y NO_3^- se observan valores extremos. En las tres colectas de *A. cruentus* se observan diferencias significativas en los contenidos de NO_3^- , siendo cru-769 aproximadamente 7 veces mayor que cru-791 y 4 veces mayor que cru-1018c-3.

Primordios Foliare de *A. caudatus*:

En la colecta cau-BGSC se encontraron niveles de NO_3^- de 1.23%, tiene una distribución mayor de valores por encima de su mediana.

Primordios Foliare de *A. hybridus*:

La colecta hyr-782 presenta niveles de NO_3^- del 0.71%, que son significativamente similares a hyr-783, en ambos casos los valores tienden a distribuirse por arriba de la mediana.

Primordios Foliare de *A. hypochondriacus*:

Se estudiaron ocho colectas, de los cuales la colecta hyp-772 muestra contenidos de NO_3^- de 2.27%, con valores que tienden a distribuirse por debajo de la mediana y se observa un dato extremo menor a la mediana; hyp-775 presenta niveles de NO_3^- de 1.8%, en donde hay una distribución de valores que tienden a estar por arriba de la mediana; en hyp-763 se observan concentraciones de NO_3^- de 0.95%, existe una mayor distribución de datos por abajo de la mediana; en hyp-764 también se tienen valores de 0.98% de NO_3^- , la distribución de los datos es mayor por debajo de la mediana y se observa un valor extremo menor que ésta; en hyp-653 se pueden

observar contenidos de NO_3^- de 1.37%, hay una mayor distribución de datos por abajo de la mediana, se pueden distinguir 2 valores extremos, uno mayor y otro menor que la mediana; hyp-652 presenta niveles de 0.49% de NO_3^- , la distribución de valores es homogénea y existe un valor extremo por arriba de la mediana; en hyp-153-5-3 se observan niveles de NO_3^- de 1.11%, en donde hay una mayor distribución de valores por debajo de la mediana; hyp-AG-67 presenta contenidos de NO_3^- alrededor del 1.1%, la distribución de valores es homogénea. Las colectas 763, 764 y 153-5-3 de *A. hypochondriacus* no presentan diferencias significativas, las colectas hyp-153-5-3 e hyp-AG-67 son similares significativamente; la colecta hyp-772 presenta los niveles más altos de NO_3^- y la colecta hyp-652 los más bajos.

Comparación de los Primordios Foliareos entre las 4 especies de Amaranto:

Haciendo una observación global de las hojas más jóvenes o primordios foliares de las 4 especies de amaranto, se puede decir que *A. cruentus* (cru-769) presenta los mayores contenidos de NO_3^- , mientras que los valores más bajos obtenidos pertenecen a *A. cruentus* (cru-791), siendo el primero casi 7 veces mayor que este último.

5.3 Contenido de Nitrato en Hojas Primarias Apicales

En la figura 4 se ilustran los contenidos de NO_3^- de las hojas primarias apicales, de 4 especies de amaranto, con sus diferentes colectas.

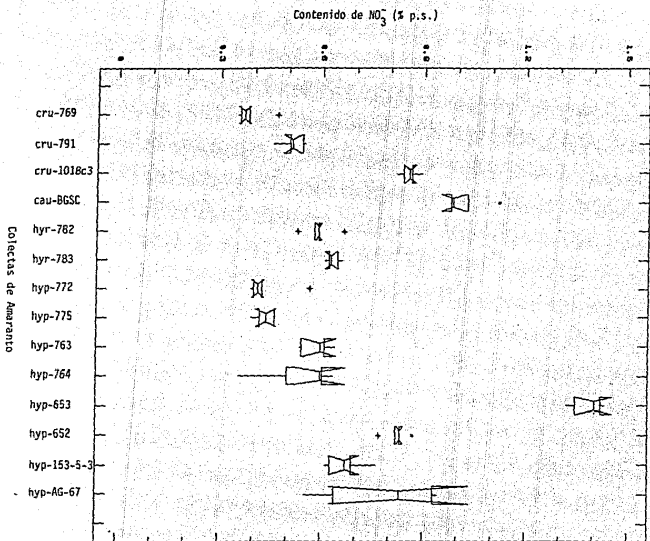


Figura 4. Diagrama de Caja con Muesca que muestra el contenido de NO_3^- en Hojas Primarias Aplicales de las 14 cosechas de Amarantho.

Hojas Primarias Apicales en *A. cruentus*:

Se puede observar que la colecta cru-769 tiene contenidos de NO_3^- de 0.37%, la distribución de los datos es homogénea alrededor de la mediana y presenta un valor extremo mayor que la mediana. La colecta cru-791 contiene niveles de NO_3^- de 0.51%, se observa una mayor distribución de datos por arriba de la mediana. Cru-1018c-3 muestra contenidos de NO_3^- de aproximadamente el 0.86%. Comparando las colectas de *A. cruentus*, se puede destacar que se presentan diferencias significativas entre los tres. Cabe mencionar que cru-1018c-3 tiene los mayores niveles de NO_3^- , siendo éste casi 2.5 veces mayor que cru-769, el cual muestra las menores concentraciones de NO_3^- , dentro de este grupo.

Hojas Primarias Apicales en *A. caudatus*:

En la colecta cau-BGSC se presentan niveles de NO_3^- de 0.99%, hay una mayor distribución de valores por arriba de la mediana y se encuentra un valor extremo por encima de la mediana.

Hojas Primarias Apicales en *A. hybridus*:

La colecta hyr-782 contiene niveles de NO_3^- de 0.59%, hay una tendencia a la distribución de valores por abajo de la mediana y se distinguen 2 valores extremos, uno arriba y otro abajo de la mediana; hyr-783 presenta contenidos de NO_3^- por arriba del 0.63%, se observa una mayor distribución de los datos por encima de la mediana. Entre las dos colectas de *A. hybridus* hay diferencias significativas, aunque los valores en el contenido de NO_3^- son muy cercanos.

Hojas Primarias Apicales en *A. hypochondriacus*:

La colecta hyp-772 tiene niveles de NO_3^- de 0.41%, su distribución de valores es homogénea, se encuentra un valor extremo superior a la mediana; hyp-775 contiene niveles de NO_3^- de 0.44%, la distribución de los valores se nota un poco desviada hacia la parte superior de la mediana, entre estas 2 colectas se observan diferencias significativas; hyp-763 muestra niveles de NO_3^- de alrededor del 0.6%, hay una tendencia a la distribución de los datos por debajo de la mediana; hyp-764 presenta contenido de NO_3^- y comportamiento similar a hyp-763; hyp-653 tiene valores de 1.4% de NO_3^- , hay una mayor distribución de datos por debajo de la mediana; hyp-652 tiene contenidos de NO_3^- de 0.83%, con una mayor distribución de datos por abajo de la mediana y presenta 2 valores extremos uno por arriba y otro por debajo de la mediana; hyp-153-5-3 contiene niveles de NO_3^- de 0.67%, muestra una mayor distribución de valores por abajo de la mediana; hyp-AG-67 presenta contenidos de NO_3^- de 0.83%, se observa una tendencia de la distribución de los datos por abajo de la mediana. En *A. hypochondriacus*, los niveles más altos de NO_3^- registrados pertenecen a hyp-653, siendo estos casi 4 veces mayores que los presentados por las colectas hyp-772 y hyp-775 que tienen los menores niveles. Existe un grupo intermedio formado por las colectas hyp-763, hyp-764, hyp-652, hyp-153-5-3 e hyp-AG-67, en las cuales no hay diferencia significativa entre las colectas hyp-652, hyp-153-5-3 e hyp-AG-67; hyp-764 es similar a hyp-763 y además los valores de la primera presentan similitud significativa con las colectas hyp-153-5-3 e hyp-AG-67.

Comparación de hojas Primarias Apicales entre las 4 especies de Amaranto:

A. hypochondriacus (hyp-653) muestra las mayores concentraciones, mientras que *A. cruentus* (cru-769) presenta los menores, siendo el primero casi 5 veces mayor que el segundo.

5.4 Contenido de Nitrato en Hojas Primarias Medias

La figura 5 muestra los valores de NO_3^- obtenidos para las 4 especies de amaranato y sus colectas.

Hojas Primarias Medias en *A. cruentus*:

La colecta cru-769 presenta contenidos de NO_3^- de 0.46%, hay una mayor distribución de los datos por abajo de la mediana; cru-791 tiene niveles de NO_3^- de 0.78%, tiene una distribución de valores por arriba de la media; mientras que cru-1018c-3 tiene niveles de NO_3^- de 0.74%, tiene una mayor distribución de valores por arriba de la mediana. Los niveles más altos obtenidos pertenecen a cru-791 y los menores a las hojas de cru-769, siendo cru-791 casi 2 veces mayor que cru-769.

Hojas Primarias Medias en *A. caudatus*:

A. caudatus (cau-BGSC) tiene niveles de NO_3^- del 1.13%, se observa una mayor distribución de datos por abajo de la mediana.

Hojas Primarias *A. hybridus*:

En la colecta hyr-782 se alcanzan niveles de NO_3^- de 0.59%, en donde hay una tendencia a la distribución de datos por arriba de la mediana y se observa un valor extremo, que es menor a la mediana; hyr-783, presenta contenidos de NO_3^- de 0.63%, la

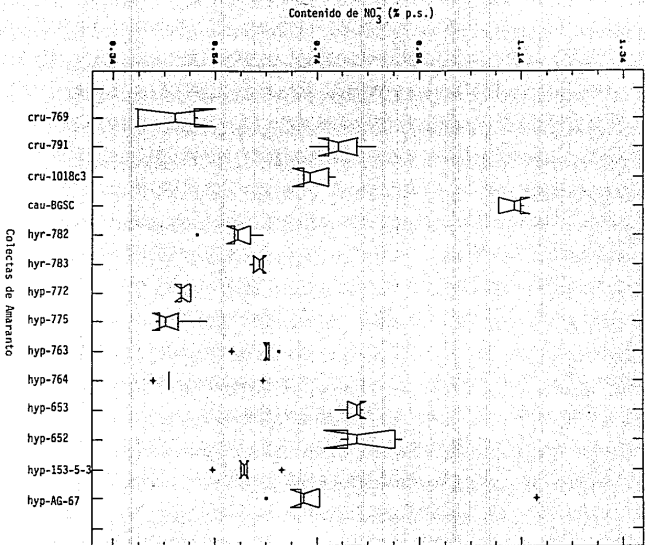


Figura 5. Diagramas de Caja con Huera que muestra el contenido de NO_3^- en Hojas Primarias Hecidas de las 14 colectas de Amarantho.
 Colectas de Amarantho

distribución de valores tiende a estar por abajo de la mediana. A pesar de que los valores de NO_3^- entre estas 2 colectas están muy cercanos, existe diferencia significativa entre ambas.

Hojas Primarias Medias en *A. hypochondriacus*:

La colecta hyp-772 tiene niveles de NO_3^- del 0.47%, la distribución de valores tiende a estar por arriba de la mediana. En hyp-775 se observan contenidos de NO_3^- de 0.44%, hay una mayor distribución de valores por arriba de la mediana. Hyp-763 presenta niveles de NO_3^- de 0.64%, su distribución de valores está por arriba de la mediana, se observan 2 valores extremos, uno que es superior y otro inferior a la mediana; hyp-764 tiene niveles de NO_3^- de 0.45%, su distribución es homogénea, existen 2 valores extremos, uno por arriba y otro por debajo de la mediana; en hyp-653 se tienen niveles de NO_3^- de 0.82%, la mayoría de los datos se distribuyen por abajo de la mediana; hyp-652 presenta contenidos de NO_3^- del 0.82%, los datos tienden a distribuirse por arriba de la mediana; hyp-153-5-3 tiene niveles de NO_3^- de 0.6%, la distribución de valores es homogénea y presenta 2 valores extremos, uno mayor y otro menor que la mediana; en hyp-AG-67 se tienen valores del 0.71%, hay una mayor distribución de los datos por arriba de la mediana, existen 2 valores extremos, uno por abajo y otro por arriba de la mediana, este último alcanza un valor de aproximadamente 1.15%. Se encuentran similitudes entre los contenidos de NO_3^- de las colectas hyp-775 e hyp-764, y entre las colectas hyp-653 e hyp-652, los menores contenidos de NO_3^- se encuentran en hyp-775 y los mayores en hyp-652.

Comparación de Hojas Primarias Medias entre las 4 Especies de Amaranto:

Se puede observar que los niveles más bajos pertenecen a *A. cruentus* (cru-769) y los más altos a *A. caudatus* (cau-BGSC). La mayoría de las colectas tienen contenidos de NO_3^- por abajo del 1%.

En la tabla 5 (a,b,c) se muestran los contenidos de NO_3^- correspondientes a la media y la mediana de cada uno de los valores obtenidos para las tres edades de hojas en las diferentes colectas de amaranto. Se puede observar que no existen diferencias grandes entre la media y la mediana, por lo que podemos sugerir que nuestros datos se distribuyen en forma casi simétrica.

En la figura 6 se representan los valores de las medias del contenido de NO_3^- en hojas de diferentes edades de las 14 colectas de amaranto por separado.

Tabla 5a. Valores de la media y mediana del contenido de NO₃ (% p.s.) de primordios foliares en las 14 colectas de amaranto.

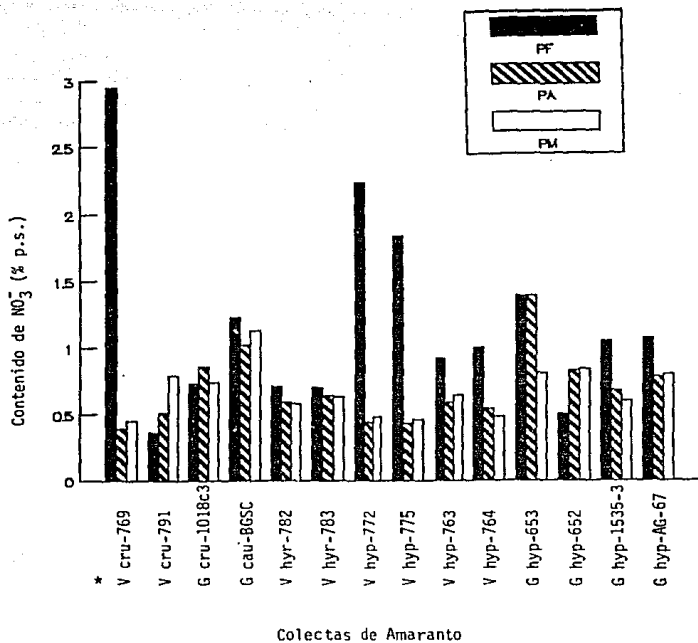
COLECTA	MEDIA	MEDIANA
cru-769	2.95	2.93
cru-791	0.37	0.37
cru-1018c-3	0.73	0.71
cau-BGSC	1.22	1.23
hyr-782	0.70	0.71
hyr-783	0.69	0.66
hyp-772	2.24	2.27
hyp-775	1.83	1.80
hyp-763	0.92	0.95
hyp-764	0.94	0.98
hyp-653	1.39	1.37
hyp-652	0.49	0.49
hyp-153-5-3	1.05	1.11
hyp-AG-67	1.07	1.08

Tabla 5 b. Valores de la media y mediana del contenido de NO₃ (% p.s) de hojas Primarias Apicales en las 14 colectas de amaranto.

COLECTA	MEDIA	MEDIANA
cru-769	0.39	0.37
cru-791	0.51	0.51
cru-1018c-3	0.85	0.86
cau-BGSC	1.02	0.99
hyr-782	0.59	0.59
hyr-783	0.63	0.63
hyp-772	0.44	0.41
hyp-775	0.44	0.44
hyp-763	0.59	0.60
hyp-764	0.54	0.60
hyp-653	1.39	1.40
hyp-652	0.82	0.83
hyp-153-5-3	0.67	0.67
hyp-AG-67	0.78	0.83

Tabla 5 c. Valores de la media y mediana del contenido de NO_3^- (% p.s.) de hojas Primarias Medias en las 14 colectas de amaranto.

COLECTA	MEDIA	MEDIANA
cru-769	0.45	0.46
cru-791	0.79	0.78
cru-1018c-3	0.74	0.73
cau-BGSC	1.12	1.13
hyr-782	0.58	0.59
hyr-783	0.62	0.63
hyp-772	0.48	0.47
hyp-775	0.46	0.44
hyp-763	0.63	0.64
hyp-764	0.48	0.45
hyp-653	0.81	0.82
hyp-652	0.84	0.82
hyp-153-5-3	0.60	0.60
hyp-AG-67	0.80	0.71



*V amaranto utilizado como verdura
 G amaranto utilizado como grano

Figura 6. Gráfica que muestra los valores de las medias de NO_3^- en las hojas de diferentes edades, de las 14 colectas de amaranto.

6. DISCUSION

En la tabla 6 se muestra el contenido de NO_3^- en hojas de amaranto reportado en otros estudios, el cual es menor al encontrado en este trabajo (Der Marderosian *et al*, 1980; Devadas y Mallika, 1991, Prakash y Pal, 1991) esta diferencia probablemente se deba al hecho de que en el presente trabajo, las hojas fueron analizadas por separado, según la edad, es decir, dependiendo de su localización dentro de la planta y de su estado de desarrollo, mientras que los otros autores utilizaron una mezcla de las hojas de diferentes edades o no lo especifican, lo cual homogeneiza los valores. Gómez (1986) coincide con los rangos de NO_3^- obtenidos en este estudio (Tabla 6). Hill y Rawate (1982) en su estudio de contenido de nitratos en hojas de especies de amaranto reportó un rango muy amplio (Tabla 6). El contenido de nitrato encontrado en la espinaca es mayor que cualquiera de los datos reportados para amaranto (Gupta y Wagle, 1988) (Tabla 6). Las diferencias en los contenidos de NO_3^- de las hojas de amaranto reportados por diversos autores, podrían deberse a que el método de cuantificación utilizado no es preciso o a que las condiciones del material biológico no son las mismas, tanto lo relacionado a su cultivo como al estado fisiológico de la planta, los que no son reportadas en la mayoría de los trabajos. En lo referente al factor, de precisión de cuantificación de este ión, es muy claro que el Método Colorimétrico de Cataldo *et al* (1975), para cuantificar NO_3^- es preciso ya que la curva patrón muestra una buena confiabilidad.

Existen factores que favorecen la acumulación de NO_3^- en las plantas, como los factores ambientales, genéticos, de muestreo, madurez, etc. (Wolff y Wasserman, 1972); por lo tanto, cabe

Tabla 6. Contenido de NO_3^- en hojas de amaranto reportado por otros autores.

Autor	Contenido de NO_3^- en muestras de amaranto
Gómez et al, 1986	1.15-2.05 (% b.s.)
Devadas y Mallika 1991	0.55-1.00 (% b.s.)
Prakash y Pal, 1991	0.108-0.156 (% b.s.)
Der Marderosian et al, 1980	0.43-0.54 (% b.s.)
Hill y Rawate, 1982	0.76-4.42 (% b.s.)
Gupta y Wagle, 1988	5.35 (% b.s.) ^a

^a Muestra de espinaca

esperar una gran variación en los datos presentados en los diferentes trabajos (en este caso de amaranto) sean diferentes entre sí.

Dentro de las hojas de una misma planta existe una variación en los contenidos de NO_3^- (Fig. 2), misma que se puede observar individualmente en la mayoría de las hojas pertenecientes a las 14 colectas (Fig. 6). Esta diferencia se presenta en amarantos de diferentes especies, cultivadas bajo las mismas condiciones, lo cual sugiere que, independientemente de los factores que intervengan en la acumulación de NO_3^- en la planta, existe una distribución diferencial de este ión.

Los resultados del presente trabajo demuestran que los primordios foliares tienen los niveles de NO_3^- más altos, con respecto a las hojas maduras. Los NO_3^- son obtenidos a partir del suelo, en la planta el NO_3^- es reducido a NO_2^- , esta reacción es catalizada por la enzima nitrato reductasa y finalmente el NO_2^- es transformado a amonio (NH_4^+) mediante la acción de la nitrito reductasa. La síntesis de nitrato reductasa es inducida por los niveles de NO_3^- y su actividad está regulada por la luz (Salisbury y Ross, 1978; Blevins, 1989); una posible explicación al contenido de NO_3^- diferencial en las hojas de amaranto, es que la actividad de la nitrato reductasa sea menor debido al estado de inmadurez de los primordios foliares, y que los altos niveles de NO_3^- presentes en las hojas jóvenes (exportados por las hojas maduras) se acumulen por la ausencia de nitrato reductasa o por su menor actividad. Para poder aclarar este punto, es necesario hacer un estudio, en donde

se cuantifique la nitrato reductasa en los diferentes estados de madurez de las hojas y la relación que existe con el contenido de NO_3^- presente, además de la disponibilidad de este ión para entrar en contacto con la enzima. Por otra parte, es importante tomar en cuenta que el área de incidencia de luz de las hojas maduras es mayor que el área expuesta por los primordios foliares, ya que estos últimos no están totalmente expandidos y hay otras hojas que les producen sombra; por lo tanto, en las hojas maduras habría una mayor actividad en la nitrato reductasa y menores niveles de NO_3^- .

Tomando en cuenta los niveles de NO_3^- desde el punto de vista de la utilización de las 14 colectas, es decir, las plantas productoras de verdura (8 colectas) y las productoras de grano (6 colectas) (Figura 6), se puede distinguir que dentro del grupo de verdura se encuentran los valores de NO_3^- más variables, teniendo los mayores valores de NO_3^- la colecta cru-769 (2.93%) y los menores la colecta cru-791 (0.37%). Tal vez esta amplia variabilidad encontrada dentro de este grupo de amaranto se deba, a que existe selección empírica ejercida por los agricultores, hacia las plantas que cumplan con otras características relacionadas con la calidad de la hoja, como sabor, textura, etc. En general, en las plantas del grupo de grano se observan contenidos de NO_3^- alcanzados son menores al 1.5% y mayores o iguales al 0.5%, en su mayoría alrededor del 1%.

Los bajos contenidos de NO_3^- encontrados en los primordios foliares, de los amarantos de grano con respecto a los de los amarantos para verdura, se pueden deber a que hay una mayor exportación de fotosintatos de las hojas maduras hacia los sitios

de demanda. Para entender y aclarar este fenómeno, es importante hacer un monitoreo del contenido de NO_3^- de estos dos grupos de amaranto, durante el ciclo de vida de la planta, para así determinar qué tanto NO_3^- es requerido por este proceso.

Anteriormente se mencionó que las plantas de amaranto colectadas se encontraban en una etapa fenológica de floración o en la de llenado de grano. De acuerdo con este hecho y con los resultados encontrados por Der Harderosian (1980), en donde la cuantificación de NO_3^- demuestra el mayor contenido de este ión a las 12 semanas aproximadamente de haber sido sembradas y posteriormente disminuye paulatinamente, por lo que podríamos considerar que en este estudio se hizo una subestimación de los niveles de NO_3^- ingeridos en los primordios foliares, que son consumidos en nuestro país. Es decir, si nuestras colectas fueron hechas en plantas con un estado fenológico avanzado (a las 15 semanas de su siembra) y se encontraron niveles altos de NO_3^- , se podría pensar que los niveles contenidos en las hojas que comúnmente se consumen podrían ser mayores que los encontrados aquí.

De acuerdo con Bye (1981), el promedio diario de ingesta de hojas jóvenes de amaranto en la Sierra Tarahumara, es de aproximadamente 100 g de hojas frescas, en época de escasez de recursos alimenticios. Considerando este hecho, el contenido de NO_3^- de todos los tipos de amaranto aquí estudiado, no excede los valores recomendados por la FAO/OMS de 125 mg/kg de peso corporal (Davidson et al, 1979). Por lo tanto, todos los tipos de amaranto antes mencionados podrían ser utilizados como fuente de proteína.

Se sabe que el NO_3^- puede ser reducido a NO_2^- en el intestino humano (Witter et al, 1979a y 1979b; Wagner et al, 1983). Sin embargo, se sabe muy poco sobre la distribución precisa y metabolismo de estos iones (Witter et al, 1979a). Por ejemplo, no se ha establecido la proporción de NO_3^- que se reduce a NO_2^- . De la misma forma, no se sabe la cantidad de NO_2^- que se podría convertir a compuestos carcinogénicos N-nitrosos, y si el NO_3^- ingerido afecta la cantidad de compuestos N-nitrosos formados. Debido a que existen otras fuentes de NO_3^- en el régimen alimenticio (Witter et al, 1979b; Davidson, 1979), se propone evitar el uso de amaranto con valores mayores al 1% de peso seco (Tabla 5a).

Simon (1966), indica que la espinaca utilizada para la alimentación infantil, no debe contener más de 300 mg de NO_3^- por kilogramo de hojas frescas. En consecuencia, ninguno de los tipos de amaranto estudiados, pueden ser utilizados como comida para niños menores de 3 meses de edad, a menos que sean cocidas y se elimine el agua de cocción (Tabla 7).

Cabe aclarar que las sugerencias presentadas en el presente trabajo se refieren específicamente a las hojas de amaranto, que son consumidas en las formas en las que no se extrae el contenido de NO_3^- , ya sean fritas sin previa cocción, crudas o en caldo. Por lo tanto, si el agua de cocción es desechada no existe ningún motivo para limitar su consumo.

Se discutirán principalmente los primordios foliares de amaranto, que se encuentran en una etapa inmediata anterior a la de los primordios foliares que se consumen en algunas zonas de nuestro país. Con el fin de comparar estos datos con los valores reportados de NO_3^- ingeridos por adulto, se transformaron las

Tabla 7. Valores promedio del contenido de nitrato en primordios foliares de las 14 colectas de amaranto.

COLECTA	NO ₃ ⁻ g/100g(p.f.)	NO ₃ ⁻ g/200g(p.f.)
cru-769	0.590	1.179
cru-791	0.072	0.143
cru-1018c-3	0.146	0.291
cau-BGSC	0.245	0.490
hyr-782	0.141	0.282
hyr-783	0.139	0.278
hyp-772	0.447	0.894
hyp-775	0.367	0.733
hyp-763	0.184	0.368
hyp-764	0.199	0.398
hyp-653	0.277	0.554
hyp-652	0.099	0.198
hyp-153-5-3	0.211	0.421
hyp-AG-67	0.213	0.426

medias de los contenidos de NO₃ para los primordios foliares estimados en g/100g de hojas secas a contenido de NO₃ en g/100 de hojas frescas, que es lo que se estima que se podría consumir en un día (Bye, 1981), además se hicieron los cálculos para una ingesta hipotética de 200g de hojas (Tabla 7).

White (1975) reporta que la ingesta común de NO₃ es de alrededor de 100 mg diarios. Según los datos de la tabla 7 pertenecientes al supuesto de una ingesta de 200 g de hojas frescas se puede observar que todas las colectas de amaranto sobrepasan esta cantidad calculada. Suponiendo que el consumo diario de hojas jóvenes de amaranto fuera de 100 g en peso fresco (Bye, 1981) solamente se recomendaría consumir los primordios foliares de *A. cruentus* (791) y *A. hypochondriacus* (652).

Según White (1975) los 100 mg de NO₃ ingeridos están formados en su mayoría por vegetales y embutidos. En comparación con la cantidad de NO₃ estimada por este autor, *A. hypochondriacus* (652) abarcaría el total de esta cantidad, mientras que *A. cruentus* (791) permitiría tener alguna otra fuente de NO₃ adicional al amaranto, ya sea otro tipo de vegetales o de embutidos, agua o cerveza cuyos niveles de NO₃ son variables en las diferentes regiones del mundo de acuerdo con Glidewell (1990).

Es necesario tomar en cuenta que los cálculos de White (1975) están hechos a partir de una dieta que incluye diferentes tipos de vegetales, frutas, leche y sus derivados, pan, agua y embutidos. Sin embargo, en algunas regiones de México el amaranto es consumido como verdura y en ocasiones constituye uno de los principales componentes de la dieta. Es decir, para la recomendación de su consumo, es necesario tomar en cuenta la

frecuencia y cantidad de consumo, todos los elementos que constituyen la dieta del individuo, la forma de cocinarlo, la edad del individuo, estado de salud, etc. Por ejemplo, Thomas (1986) menciona una hipótesis que propone que la vitamina C (ácido ascórbico) bloquea la reacción del NO_2^- con aminas secundarias y terciarias para formar nitrosaminas, lo que indica que en cierta medida, algunos efectos nocivos de las sustancias contenidas en los alimentos se pueden contrarrestar con algún otro elemento de la dieta. Tomando en cuenta la edad del individuo, se ha demostrado que existe un incremento en los niveles de NO_3^- y NO_2^- conforme esta aumenta (Forman et al, 1985). Para que los agentes carcinógenos puedan actuar en las células del epitelio gástrico, debe haber algún daño en la mucosa protectora del estómago (Forman et al, 1985), es decir estos agentes actúan de manera diferencial en cada organismo.

Haciendo referencia a las sustancias anticarcinogénicas, como la vitamina C (ácido ascórbico) que generalmente están asociadas con los vegetales (Forman et al, 1985), se puede pensar en la posibilidad que en caso de que haya algún efecto nocivo para la salud, causado directamente por el $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ ingerido mediante los vegetales, pueda ser contrarrestado por estas sustancias que inhiben la reacción de la nitración, es decir, los vegetales, que constituyen la principal fuente de NO_3^- no son tan dañinos como lo son los embutidos u otras fuentes de NO_3^- que no cuentan con agentes anticancer. Por ejemplo, en el estudio hecho por Forman et al, (1988) en el Reino Unido, se indica que existe un mayor consumo de embutidos en la región de mayor riesgo de cancer que en la región de menor riesgo.

Es importante tomar en cuenta que la acumulación de NO_3^- es promovida por el fertilizante, en los experimentos realizados por Der Haderosian et al, (1980) se demuestra que los valores de NO_3^- son 2 ó 3 veces menores que las plantas cultivadas con fertilizante. Por su parte Glidwell (1990), menciona que mientras más nitrógeno se le agregue a un cultivo, mayor será su contenido de NO_3^- . Los fertilizantes basados en nitrógeno, además de aumentar los niveles de NO_3^- en los cultivos, también pueden percolarse a través del suelo y llegar al manto de agua, del cual se aprovecha el agua para beber (Forman et al, 1988).

Existen otros trabajos en donde se duda de los efectos directos oncogénicos del NO_3^- y NO_2^- , Forman et al (1988) discuten que debido a los resultados obtenidos en sus estudios, no hay evidencia de que la exposición al NO_3^- sea un factor determinante en la etiología del cancer gástrico. Tampoco se han hallado evidencias para relacionar al NO_3^- y al cancer gástrico, es decir, se encontró que existía la correlación de que los individuos con mayor riesgo de tener cancer gástrico, tenían una dieta menor de NO_3^- que los individuos de menor riesgo. Con lo cual se menciona la posibilidad de que existan otros elementos como sustratos en la reacción de la nitración, sobre los cuales actúa el NO_3^- y el NO_2^- , y que su presencia sea decisiva en la formación de compuestos N-nitrosos (Forman et al, 1985).

7. CONCLUSIONES

Las hojas jóvenes o primordios foliares presentaron un mayor contenido de NO_3^- en relación a las hojas primarias apicales y a las hojas primarias medias, las cuales tienen niveles de NO_3^- similares entre sí.

De acuerdo con las recomendaciones de la FAO/OMS (Davidson et al, 1979), todas las colectas de amaranto aquí analizadas pueden ser consumidas por los humanos, sin importar su forma de preparación.

Según la estimación de otros autores (tabla 3) sobre la cantidad de NO_3^- consumido en una dieta normal, solamente se pueden consumir sin riesgo los primordios foliares de *A. cruentus* (791) y de *A. hypochondriacus* (652), en una cantidad de aproximadamente 100g por día.

El material biológico aquí estudiado fue cultivado bajo condiciones uniformes. Sin embargo, los contenidos de NO_3^- fueron diferentes entre las especies y entre las colectas, lo cual sugiere una capacidad diferencial para acumular este ión.

Se sugiere que los niños menores de 3 meses pueden consumir amaranto, siempre y cuando éste sea hervido y el agua de cocción sea desechada.

BIBLIOGRAFIA

Alder, H. L. and E. B., Roessler. 1977. Introduction to Probability and Statistics. W. H. Freeman and Company (eds.). San Francisco. 426 p.

Bertoni M. H., R. G. Gómez, P. Cattaneo y G. Covas. 1984. Estudios sobre Semillas de Especies Americanas de *Amaranthus*-II- Harinas de extracción de *A. caudatus*, *A. cruentus* y *A. mantegazzianus*. *An. Asoc. Química Argentina*. 72(6), 597-605.

Blevins D. G. 1989. Plant Nitrogen Metabolism. Poulton J. E., J. T. Romeo and E. E. Conn (eds.). Plenum Publishing Corporation. E.U.A. 1-41 pp

Bye R. A. 1981. Quelites- Ethnoecology of Edible Greens- Past, Present, and Future. *Journal Ethnobiology*. 1(1), 109-123.

Carlsson R. 1977. *Amaranthus* Species and Related Species for Leaf Protein Concentrate Production. Proc. First *Amaranth* Seminar. Rodale press. Inc., Emmaus, Pa., U.S.A., 83-99.

Cataldo D. A., M. Haroon, L. E. Shrader, and V. L. Youngs. 1975. Rapid colorimetric determination of Nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. *Commun. Soil Science and Plant Analysis*. 6(1), 71-80.

Chambers J. M., W. S. Cealeland, B. Kleiner, and P. A. Tukey. 1983.

Graphical Methods for Data Analysis. Wadsworth Int.
Group and Dubxbury press. Belmont, California. 395pp

Davidson S., P. Passmore, J. F. Brock, and A. S. Truswell. 1979.

Human Nutrition and Dietetics. Churchill Livingstone.
Edinburgh, London. 641 p.

Der Marderosian A. D., J. Beutler, W. Pfender, J. Chambers, R.

Yoder, E. Weisteiger, and J. P. Senft. 1980. Nitrate and
Oxalate Content of Vegetable Amaranth. Rodale Research
Report 80-4. Rodale Press, Inc., Emmaus, Pa., USA.
31-41.

Devadas V. S., and V. K. Mallika. 1991. Review of Research on

Vegetable and Tuber Crops AMARANTHS. Kerala Agricultural
University Press. Thrissur, Kerala. 59 p.

Duffy S. J., E. A. León, M. D. Gavier, F. J. Blanco Viera, C. N.

Corbellini y M. Morra. 1985. Intoxicación por *Amaranthus*
quitensis (Yuyo colorado) en Bovinos. *Veterinaria*
Argentina. 2(20), 943-949.

Felne L. B., R. R. Harwood, C. S. Kauffman, and J. P. Senft.

1979. Amaranth: Gentle Giant of the Past and Future.
41-64. In Gary A. Richie (Ed.). New Agricultural Crops
AAAS Selected Symposium. Westview Press, Boulder Co.,
USA.

- Florin T. H., G. Neale, and J. H. Cummings. 1990. The effect of dietary nitrate on nitrate and nitrite excretion in man. *British Journal of Nutrition*. 64, 387-397.
- Forman D., S. Al-Dabbagh, and R. Doll. 1985. Nitrates, Nitrites and Gastric Cancer in Great Britain. *Nature*. 313, 620-625.
- Forman D., S. Al-Dabbagh, T. Knight, and R. Doll. 1988. Nitrate Exposure and the Carcinogenic Process. *Ann.-N-Y-Acad.-Sci.* 534, 597-603.
- Glidewell C. 1990. The Nitrate/Nitrite Controversy. *Chemistry in Britain*. 26, 137-140.
- Gómez R. G.; M. H. Bertonl y G. Covas. 1986. Composición Química General y Contenido de Oxalatos y Nitratos Totales y Romanentes Después de Cocción del Follaje en Especies Americanas de Amarantos (*Amaranthus* spp.) *An. Asoc. Química Argentina*. 74(4), 333-338.
- Grubben G.J.H., and D. H. van Sloten. 1981. Genetic Resources of Amaranths-A Global Plan of Action-.International Board for Plant Genetic Resources (eds.), Rome, Italy. 57 p.
- Gupta K., and D. S. Wagle. 1988. Nutritional and Antinutritional

Factors of Green Leafy Vegetables. *American Chemical Society*, 36, 472-474.

Hill R. M. and P. D. Rawate. 1982. Evaluation of Food Potential, Some Toxicological Aspects, and Preparation of a Protein Isolate from the Aerial Part of Amaranth (Pigweed). *Journal of Agricultural Food Chemistry* . 30, 465-469.

Jones T. O., and D. R. Jones. 1977. Nitrate/Nitrite Poisoning of Cattle From Forage Crops. *Veterinary Record*. 101, 266-267.

Mapes C., E. Sandoval, S. Bardales, and R. Bye. 1988. El Amaranto Como Quelite: Comparación de estrategias de domesticación. En Reyna T. T. (Ed.). *Investigaciones Recientes Sobre Amarantos*. Instituto de Geografía, UNAM. México, D. F. 45-54 p.

Morrison R. T. y R. N. Boyd. 1985. *Química Orgánica*. Fondo Educativo Interamericano. México. 1375 p.

National Research Council. 1984. *Amaranth: Modern Prospects for an Ancient Crop*. National Academy Press, Washington, D. C.

Nayac B. N., M. Ray, and T. V. N. Persaud. 1989. Maternal and Fetal Chromosomal Aberrations in Mice Following Prenatal Exposure to Subembriotoxic Doses of Lead Nitrate. *Acta Anat.* 135, 185-188.

Osweller G. D., W. B. Buck, W. J. Bicknell. 1969. Production of Perirenal Edema in Swine with *Amaranthus retroflexus*. *American Journal of Veterinary Research*. 30(4), 557-566.

Parkash D., and M. Pal. 1991. Nutritional and Antinutritional Composition of Vegetable and Grain Amaranth Leaves. *Journal Sci. Food Agric*. 57, 573-583.

Rivera M., R. Angulo, M. Lorenzo, M. Ferro y J. Villalón. 1984. Reporte de Intoxicación en Bovinos Jóvenes por el *Amarantus viridis* (Bledo Blanco). *Revista Cubana de Ciencia Veterinaria*. 15(3 y 4), 335-338.

Roberts J. D., R. Stewart y M. C. Caserio. 1974. Química Orgánica -De Metano a Macromoléculas-. Fondo Educativo Interamericano, S.A., E.U.A. 744 P.

Robertson K. R. 1981. The Genera of Amaranthaceae in the Southeastern United States. *Journal of the Arnold Arboretum*. (62)3, 267-294.

Salgado U.I. 1990. El Análisis exploratorio de Datos en las Poblaciones de Peces. Fundamentos y Aplicaciones. Escuela Nacional de Estudios Profesionales (ENEP)-Zaragoza, UNAM.

Salisbury F. B., and C. W. Ross. 1978. Plant Physiology. Wadsworth Publishing Company, USA. 192-205.

- Sauer J. D. 1950. Grain Amarantha. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 37, 561-633.
- Sauer J. D. 1967. The Grain Amaranths and Their Relatives: A Revised Taxonomic and Geographic Survey. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 54, 103-137.
- Sauer J. D. 1969. Identity of Archeologic Grain Amaranths from the Valley of Tehuacán, Puebla, México. *American Antiquity*. 34(1), 80-81.
- Simon C. 1966. Nitrite Poisoning From Spinach. *The Lancet*. 7442(2), 872.
- Smyth P. J. 1977. The Toxic Hazards of some Pasture Plants and Vegetables to Rumiants Animals. *Irish Veterinary Journal*. 31, 175-180.
- Tannenbaum S. R., A. J. Sinskey, M. Weisman, and W. Bishop. 1974. Nitrite in Human Saliva. Its Possible Relationship to Nitrosamine Formation. *Journal of the National Cancer Institute*. 53(1), 79-84.
- Tannenbaum S. R. 1979. Nitrate and Nitrite: Origin in Humans. *Science*. 205, 1333-1334.
- Thomas J. S. 1986. Food in the Aetiology of Cancer. *Human Nutrition: Applied Nutrition*. 40A, 262-271.

Thomas J. S. 1986. Food in the Aetiology of Cancer. *Human Nutrition: Applied Nutrition*. 40A, 262-271.

Wagner D. A., V. R. Yang, and S. R. Tannenbaum. 1983. Mammalian Nitrate Biosynthesis: Incorporation of $^{15}\text{NH}_3$ into nitrate is enhanced by endotoxin treatment. *Proceedings of the National Academy Science, USA*. 80, 4518-4521.

White J. W. 1975. Relative Significance of Dietary Sources of Nitrate and nitrite. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 23(5), 886-891.

Witter J. P., S. J. Gatley, and E. Balish. 1979a. Distribution of Nitrogen-13 from Labeled Nitrate ($^{13}\text{NO}_3$) in Humans and Rats. *Science*. 204, 411-413.

Witter J. P., S. J. Gatley, and E. Balish. 1979b. *Sin titulo*. *Science*. 205, 1335-1337.

Wolff I. A., and A. E. Wasserman. 1972. Nitrates, Nitrites and Nitrosamines. *Science*. 177(4043), 15-19.