



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

RELACIÓN ENTRE LA PROPORCIÓN DE ENDOSPERMO
DURO:BLANDO Y LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS
DE 9 HÍBRIDOS DE SORGO (*Sorghum bicolor* L. Moench)
CULTIVADOS EN EL ESTADO DE MORELOS.

TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA

MARIANA VILLARREAL SILVA

Asesores:

MVZ, MPA. Sergio Ángeles Campos
MVZ, MPA, Ph D. Luis Corona Gochi



México D.F.

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

DEDICATORIA

A mi mamá, con amor.
Por estar conmigo siempre,
por el impulso y la confianza,
por su ejemplo de superación constante.

A mi papá y mis hermanas.
Por el cariño y el apoyo que me han brindado
y por todos los momentos compartidos

A mis maestros:
Por despertar en mí, más amor,
respeto e interés por mi profesión.

A mis amigas: Maru, Diana, Ady, Miros, y Lis.
Por ser mis confidentes
y compañeras incondicionales.

A todos mis amigo(a)s:
Por las vivencias inolvidables
y por el cariño que nos une.

AGRADECIMIENTOS

A la Dirección General de Asuntos de Personal Académico (DGAPA). Por el apoyo brindado a través del proyecto PAPIIT No. IN206006

A mis asesores:

MVZ, MPA. Sergio Ángeles Campos

MVZ, MPA, Ph D. Luis Corona Gochi

A los honorables miembros del jurado:

MVZ, MC. Humberto M. Troncoso Altamirano

MVZ, MC. Francisco A. Castrejón Pineda

MVZ, MC. Yolanda Castañeda Nieto

MVZ, MPA. Agustín R. Bobadilla Hernández

A todo el personal del Laboratorio del DNAB.

A la QA. Águeda García Pérez y

a la Sra Fermina Palma Atlixqueño;

por las enseñanzas, la paciencia y el apoyo brindados.

Al Dr. Arturo Pro, del Colegio de Posgraduados Edo. de Méx.
y al MVZ MPA Manuel Cortés Sánchez de la FMVZ, UNAM;
por la donación de las muestras de híbridos de sorgo.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	3
1.1. Importancia del cultivo del sorgo	3
1.2. Producción mundial de grano de sorgo	3
1.3. Producción nacional de grano de sorgo	4
1.4. Características botánicas del sorgo	5
1.4.1. El género <i>Sorghum</i>	6
1.4.2. Variedades de sorgo para grano	7
1.5. Desarrollo, selección y producción de híbridos de sorgo	8
1.5.1. Influencia genética en la hibridación del sorgo	10
1.6. Composición física del grano de sorgo	11
1.6.1. Germen	12
1.6.2. Pericarpio	12
1.6.3. Endospermo	13
1.6.3.1. Medición directa del endospermo	14
1.6.3.2. Medición indirecta del endospermo	15
1.7. Composición nutrimental del grano de sorgo	16
1.7.1. Almidón	17
1.7.1.1. Composición química del almidón	17
1.7.1.2. Propiedades físicas del almidón	18
1.7.1.3. Gelatinización del almidón	19
1.7.1.4. Digestibilidad del almidón	20
1.7.2. Fibra	23
1.7.3. Proteína	24
1.7.4. Taninos	27
1.7.4.1. Cuantificación de taninos	28
2. JUSTIFICACIÓN	30
3. HIPÓTESIS	30
4. OBJETIVOS	30
5. MATERIAL Y MÉTODOS	31

5.1. Análisis de las características físicas del grano de sorgo	31
5.2. Análisis de las características químicas del grano de sorgo	32
5.3. Determinación de la proporción de endospermo duro:blando	33
5.4. Análisis estadístico	33
6. RESULTADOS	34
6.1. Proporción de endospermo duro:blando	34
6.2. Características físicas del grano de sorgo	35
6.3 Características químicas del grano de sorgo	36
6.4. Correlaciones entre las características fisicoquímicas del grano de sorgo	37
6.5. Ecuaciones de regresión lineal simple	39
7. DISCUSIÓN	44
7.1. Proporción de endospermo duro:blando	44
7.2. Características físicas del grano de sorgo	46
7.3. Características químicas del grano de sorgo	49
8. CONCLUSIONES	54
9. REFERENCIAS	55
10. APÉNDICE	63
10.1 Determinación de la materia seca	63
10.2. Determinación del tamaño de partícula	63
10.3. Determinación de la densidad relativa	65
10.4. Determinación del nitrógeno total por el método de Kjeldahl	66
10.5. Determinación de la fibra detergente neutro con amilasa	67
10.6. Determinación de la fibra detergente ácido con amilasa	69
10.7. Determinación de lignina por método de permanganato y de celulosa por incineración	70
10.8. Determinación del almidón total	72
10.9. Determinación de la digestibilidad enzimática <i>in vitro</i> del almidón	74
10.10. Determinación de taninos por el método de vainillina acidificada	77
10.11. Proporción de endospermo duro:blando, modificación de la técnica de Kirleis <i>et al.</i>	78

ÍNDICE DE CUADROS

Título	Página
Cuadro 1. Clasificación taxonómica del sorgo	7
Cuadro 2. Composición nutritiva del grano de sorgo	16
Cuadro 3. Composición mineral del grano de sorgo	17
Cuadro 4. Aminoácidos contenidos en el grano de sorgo	25
Cuadro 5. Composición y tipos de kafirinas presentes en el grano de sorgo	26
Cuadro 6. Proporción de endospermo duro:blando en 9 híbridos de grano de sorgo	34
Cuadro 7. Promedio, desviación estándar y coeficiente de variación debido a la medición del endospermo utilizando las modificaciones a la técnica de Kirleis (1984)	35
Cuadro 8. Características físicas de 9 híbridos de grano de sorgo	35
Cuadro 9. Tamaño de partícula de 9 híbridos de grano de sorgo	36
Cuadro 10. Características químicas de 9 híbridos de grano de sorgo	37
Cuadro 11. Coeficientes de correlación (Pearson) entre las características fisicoquímicas del grano de sorgo.	38

ÍNDICE DE FIGURAS

Título	Página
Figura 1. Componentes anatómicos que conforman el grano de sorgo	11
Figura 2. Estructura química de los principales componentes del almidón	18
Figura 3. Microfotografía electrónica (3500x) que muestra la matriz proteínica con cuerpos de proteína embebidos rodeando cada gránulo de almidón.	27
Figura 4. Curva de regresión que muestra los valores DRS (<i>Eje y</i>) encontrados y esperados, respecto a EnDU (<i>Eje x</i>)	40
Figura 5. Fotografía de un portaobjetos con granos de sorgo fijados con resina epóxica y cortados con bisturí	46
Figura 5. Microfotografía de un grano de sorgo seccionado que muestra la delimitación entre las áreas de endospermo duro y blando	80

ABREVIATURAS

Reactividad enzimática del almidón insoluble	AlmNS
Reactividad de la amiloglicosidasa (almidón soluble)	AlmS
Base húmeda	BH
Celulosa	CEL
Almidón	ALM
Taninos	TAN
Densidad relativa	DEN
Digestibilidad ruminal esperada	DRS
Endospermo duro	EnDU
Endospermo blando	EnBL
Endospermo duro:blando	EnDU:BL
Fibra detergente ácido	FDA
Fibra detergente neutro	FDN
Hemicelulosa	HEMICEL
Lignina	LIG
Materia seca	MS
Nitrógeno total	NT
Partículas por gramo	P/g
Peso de mil granos	PMG
Proteína cruda (Proteína bruta)	PC
Superficie de área	SA
Tamaño de partícula	TP
Total de nutrientes digestibles	TND

RESUMEN

VILLARREAL SILVA MARIANA. Relación entre la proporción de endospermo duro:blando y las características físico-químicas de 9 híbridos de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) cultivados en el estado de Morelos. (Bajo la dirección de: MVZ MPA Sergio Ángeles Campos, MVZ MPA Ph D Luis Corona Gochi).

En México, el sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) es el principal cereal utilizado en alimentación animal. Se han desarrollado una gran cantidad de híbridos, sin embargo se desconoce la relación de sus características físico-químicas. Se ha sugerido que la proporción de endospermo duro:blando (**EnDU:BL**) es uno de los factores más importantes que limita la digestión del almidón en rumiantes. Los objetivos del presente trabajo fueron: Determinar la proporción de EnDU:BL; analizar características físicoquímicas y calcular las correlaciones existentes entre estas características, utilizando 9 híbridos de grano de sorgo cultivados en el estado de Morelos. La variable: Proporción de EnDU:BL se determinó en 20 imágenes digitales de granos seccionados fijados en portaobjetos con resina epóxica. La diferencia entre la proporción de EnDU:BL se determinó mediante un diseño completamente al azar, encontrándose diferencias ($P < 0.05$) en algunos híbridos. Se calcularon las correlaciones entre las variables: Materia seca (**MS**), peso de mil granos (**PMG**), tamaño de partícula (**TP**), superficie de área (**SA**), partículas por gramo (**P/g**), densidad relativa (**DEN**), nitrógeno total (**NT**), fibra detergente ácido (**FDA**), fibra detergente neutro (**FDN**), celulosa (**CEL**), hemicelulosa (**HEMICEL**), lignina (**LIG**), contenido de almidón (**ALM**), almidón soluble (**AlmS**), almidón insoluble (**AlmNS**), digestibilidad ruminal esperada (**DRS**), taninos (**TAN**); endospermo duro (**EnDU**) y endospermo blando (**EnBL**). Las correlaciones encontradas ($P < 0.05$) fueron: FDA-CEL ($r = 0.75$), FDA-NT ($r = 0.74$), FDA-PMG ($r = -0.67$), FDA-TP ($r = -0.70$), FDA-P/g ($r = 0.79$), DRS-EnBL ($r = 0.69$), DRS-EnDU ($r = -0.69$), DRS-AlmNS ($r = 0.90$), DRS-SA ($r = 0.65$), NT-P/g ($r = 0.81$), NT-TP ($r = -0.80$), NT-LIG ($r = 0.66$), EnDU-AlmNS ($r = -0.73$), EnDU-DEN

($r=0.69$), EnBL-AlmNS ($r=0.73$), EnBL-DEN ($r=-0.69$), AlmS-LIG ($r=0.70$), AlmS-SA ($r=0.65$), AlmS-DEN ($r=-0.65$), PMG-TP ($r=0.88$) y HEMICEL-FDN ($r=0.97$). La proporción de EnDU:BL explicó el 47% de la variación total de la DRS [$DRS=79.6306 - (0.2841 * EnDU)$] ($P<0.05$). Se concluye que existen diferencias en la proporción de EnDU:BL de los híbridos evaluados y que esta característica es la más determinante en la digestibilidad del almidón.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Importancia del cultivo del sorgo

El grano de sorgo es uno de los cinco cereales más utilizados por la humanidad, después del trigo, arroz, maíz y cebada. Es un cereal muy antiguo, cuyo origen se remonta a África y la India; es la base de la alimentación de millones de personas en África y Asia; y, en el resto del mundo se prefiere su utilización para consumo animal.^{1,2,3}

El grano de sorgo ha sido nombrado “*Wonder crop*” (Cultivo maravilla) de la agricultura en zonas áridas y semiáridas; esto se debe a que puede cultivarse exitosamente bajo una gran diversidad de condiciones produciendo tanto grano como forraje en áreas donde el maíz no es capaz de subsistir.^{2,4}

Algunas ventajas del cultivo de sorgo sobre el de maíz son:

- Menor necesidad de agua, por sus largas raíces que permiten aprovechar mejor la humedad del suelo a mayor profundidad; por la facilidad de sus hojas de replegarse y por la protección de sus tallos que hace que conserve mejor la humedad; su coeficiente de transpiración es 55% menor con respecto al maíz. Al terminar el periodo de sequía, los híbridos de sorgo pueden abandonar su estado de vida latente y recobrar su vitalidad. Una cosecha regular de grano puede lograrse con el 50% del agua que requiere el maíz.
- Tolera mejor la salinidad del suelo y por esta amplia tolerancia al pH del suelo puede responder mejor a la aplicación de los fertilizantes.
- Es más resistente a los “gusanos” perforadores del tallo.²

El sorgo es un alimento competente, comparado con el maíz. Aunque ambos tienen características nutritivas similares, el sorgo es una fuente de energía más atractiva porque su precio, generalmente, está por debajo del precio de maíz.⁵

1.2. Producción mundial de grano de sorgo

La producción y consumo mundial de sorgo tienen un comportamiento similar ya que la mayor parte de este producto se consume en los países que se cultiva. El sorgo se emplea con dos fines: alimentación humana y animal. A nivel mundial,

hace cincuenta años, gran parte de la producción de sorgo se utilizaba para consumo humano. Actualmente, la proporción destinada a este fin ha disminuido, aumentando el uso del sorgo para alimentación animal al doble (30 a 60 %).⁶

La producción mundial se grano de sorgo según el USDA (United States Department of Agriculture), durante el periodo de producción 2005/2006 fue de 58,486,000 ton.⁷ El principal país productor durante ese periodo fue Nigeria (10,500,000 ton), seguido por Estados Unidos (9,985,000 ton), India (7,630,000 ton) México (5,500,000 ton) y Sudán (4,275,000ton).⁷

La demanda de sorgo a nivel mundial ha sido el principal motivo para elevar la producción y el comercio internacional del mismo. Esta demanda se encuentra concentrada en los países desarrollados donde se destina el 97% de la producción para consumo animal.⁶ Estados Unidos, México y Japón son los principales países consumidores de sorgo, seguidos por Argentina, los países que formaban la Unión Soviética (Rusia, Estonia, Letonia, Lituania, Belarús, Moldova, Ucrania, Georgia, Armenia, Azerbaijón, Kazajstán, Turkmenistán, Uzbekistán, Kirguistán, Tayikistán) y Venezuela.⁶ Estados Unidos tiene un rendimiento superior al obtenido en México y Argentina, de 3.18 ton/Ha de grano de sorgo.⁶ Además, Estados Unidos es un productor muy importante; en el periodo de producción 2005-2006 fue el segundo país con mayor producción a nivel mundial.⁷

1.3. Producción nacional de grano de sorgo

México es el cuarto productor mundial de sorgo y el principal importador de dicho cereal de Estados Unidos.⁷ Es el segundo cultivo, después del maíz, en importancia en términos de área cultivada y de producción y es el principal grano utilizado en la alimentación animal, ocupando el 13.5% de la superficie total sembrada.⁴

En México, el rendimiento promedio de grano de sorgo es de 2.97 ton/ha ubicándose por arriba del promedio mundial, que es de 2.09 ton/ha. Los principales estados productores son: Tamaulipas, Guanajuato, Michoacán y Sinaloa, con el 32.4, 24.6, 13.0 y 7.4% de la producción total en 2001, respectivamente; dichos estados de la república produjeron el 77.3% del volumen

de la producción nacional en ese año.⁶

La superficie sembrada y cosechada en el estado de Morelos, en 2004, fue de 48,886 Ha. con una producción de 229,626 ton; con esto, el sorgo se colocó como el principal cultivo cíclico del estado para ese año.⁸

La introducción de este cultivo en el país es relativamente reciente. En 1961 se cosecharon 116,993 Ha; cinco años después, la superficie cosechada aumentó 69 %, ⁶ prosperando rápidamente año con año, de modo que, en 2002, se produjeron 6.1 millones de toneladas en 2.2 millones de hectáreas sembradas.⁹

Cabe señalar que la industria nacional de los alimentos balanceados depende básicamente de este grano como fuente de energía, debido a que otros cereales como el maíz y trigo son destinados, principalmente a la alimentación humana. El sorgo se convierte en un producto básico para la producción de alimentos de alto valor nutritivo (carne de pollo, cerdo y huevo), para el ser humano.⁶

El consumo de sorgo se satisface parcialmente con la producción nacional y se complementa con las importaciones provenientes de Argentina y Estados Unidos, que aumentaron considerablemente a partir del TLCAN y se ha facilitado por los altos rendimientos de la producción en esos países a bajos costos de producción, que los hace competitivos y les permite la exportación.⁶

1.4. Características botánicas del sorgo

Los sorgos, por su aplicación, se dividen en cuatro grupos: Sorgos de grano (*Sorghum bicolor* L. Moench); sorgos dulces o de jarabe (*Sorghum saccharatum*); sorgos de escoba (*Sorghum vulgare*, var. *technicum*) y sorgos herbáceos o de forraje como el sorgo del Sudán (*Sorghum sudanense*); Sorgo de Túnez (*S. virgatum*); Sorgo de Alepo (*S. alepense*) y Sorgo negro (*S. alimum*).² En 1753, Linnaeus describió tres especies de sorgo cultivado: *Holcus sorghum*, *Holcus saccharatus* y *Holcus tricolor*. En 1794, Moench separó el género *Sorghum* del género *Holcus*. En 1805, Pearson sugirió el nombre *Sorghum vulgare* para el *Holcus sorghum* (L.) y en 1961, Clayton propuso el nombre *Sorghum bicolor* (L.) Moench para el sorgo cultivado; este es el nombre utilizado desde entonces.^{2,3}

1.4.1. El género *Sorghum*

El sorgo es una gramínea con una gran diversidad genética, por ello, es difícil la clasificación taxonómica del mismo. Pertenece a la familia Poaceae, tribu de las Andropogóneas y a la subtribu Sorghinae. Existen varios subgéneros, entre ellos, el subgénero *Sorghum*, al que pertenecen las especies que se utilizan principalmente para la producción de grano (Cuadro 1).¹⁰ En la actualidad se conoce al sorgo de grano como *Sorghum bicolor* L. Moench, el cual incluye a diversas razas o variedades.¹⁰

La morfología de las plantas del género *Sorghum* corresponde a las siguientes características fundamentales:

Raíz: Las raíces principales se encuentran reunidas en un fascículo. Todas las raíces son fibrosas y recias; presentan un notable desarrollo y profundizan en el suelo en pocas semanas, alcanzando a medir 1 a 1.5 m. de largo.²

Tallo: Según la variedad, alcanza una altura de 0.5 y 1.5 m; en su base, el diámetro es de 1-3 cm.; los nudos suelen ser gruesos y la longitud de los entrenudos se modifica según la variedad. Las plantas de sorgo actuales tienen una menor altura en comparación con las plantas cultivadas antes de 1940. Los sorgos altos han sido reemplazados con “doble enanos” o tipos combinados para facilitar la cosecha mecánica.²

Hoja: El tallo erguido presenta un número de hojas comprendido entre 5 y 24. Estas hojas están provistas de una vaina más larga que los entrenudos a los que cubre y rodea completamente; la vaina termina en una corta lígula membranosa y el limbo de la hoja es de forma lanceolado-acintada con una longitud comprendida entre 30 y 100 cm.²

Inflorescencia: Tiene forma de panícula o panoja, y está constituida por un eje principal con las correspondientes ramificaciones secundarias y terciarias en cuyo extremo están situadas las espigas. Las panojas tienen una longitud de 20-40 cm. Su eje o pedúnculo central puede ser erguido, doblado o arqueado; así mismo, la forma de las panículas es variada: ovaladas, cilíndricas, redondeadas, etc. Por otro lado, si las inflorescencias se encuentran muy juntas, la panícula será

compacta y si están muy separadas, abierta; aunque existen formas intermedias.²

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del sorgo. Tomado de Shiringani (2005)¹⁰

Familia	<i>Poaceae</i>
Tribu	<i>Andropogoneae</i>
Subtribu	<i>Sorghinae</i>
Género	<i>Sorghum</i> Moench
Subgénero	<i>Sorghum</i> <i>Chaetosorghum</i> <i>Heterosorghum</i> <i>Parasorghum</i> <i>Stiposorghum</i>
Especies del subgénero sorghum	<i>Sorghum propinquum</i> <i>Sorghum halepense</i> <i>Sorghum bicolor</i>
Subespecies de sp. S.Bicolor	<i>Sorghum bicolor bicolor</i> <i>Sorghum bicolor drummondii</i> <i>Sorghum bicolor verticilliflorum</i>
Razas de la subsp. S.bicolor bicolor	Bicolor Guinea Durra Kafir Caudatum

Fruto o grano: Es una cariósida de forma redondeada, de diámetro comprendido entre 3-6mm y que en su madurez alcanza diferentes tonalidades y colores a partir de los colores básicos: blanco, gris, amarillo, rojo y azul.²

1.4.2. Variedades de sorgo para grano.

Las diversas variedades de sorgo pueden agruparse en series típicas de las diversas zonas del mundo en donde se ha cosechado el sorgo desde hace varios

milenios, comprendiendo dos grandes grupos: los sorgos chinos del tipo Koaliang y los sorgos africanos y del sur de Asia, de zonas más cálidas y que comprenden las variedades Durra, Kafir, Milo, Hegari y Faterita. En 1874 se introdujo en E.U. el Durra de Egipto, y dos años después el Kafir del sur de África; en 1879 se introdujo el Milo, en 1906 y 1908 las variedades Faterita y Hegari del Sudán. Hasta 1928, todas las variedades eran de altura excesiva por lo que se preferían las especies con pedúnculo de la panoja curvado que favorecía la cosecha manual.²

Las variedades más importantes son: Durra, Kafir, Hegari, Milo, Shallu; Faterita y Kaoliang.²

1.5. Desarrollo, selección y producción de híbridos de sorgo

En 1928, seleccionando híbridos naturales se encontró a la variedad Beaver, que reunía las características de ser una planta pequeña y de panícula erguida, lo que permitía la cosecha mecánica.²

En 1932 se descubrió la posibilidad de la hibridación artificial al descubrir las plantas estériles en su parte masculina (androestériles), pero fue hasta 1956 cuando se emplearon los híbridos comerciales, produciendo la expansión del cultivo de sorgo en toda América.² En 1941 aparecieron nuevas variedades híbridas permitiendo la expansión del cultivo del sorgo en E. U. al tener poca altura y ser de fácil cosecha.²

Las estirpes de sorgo androestériles tienen estambres estériles que no producen polen aunque conservan fértiles los carpelos, es decir, la parte femenina de la flor. Esta androesterilidad solo es transmitida por la semilla de la planta femenina fecundada por el polen de otras plantas hermafroditas fértiles. Así, repitiendo la operación varias veces, se obtienen las estirpes de líneas androestériles que servirán como planta femenina o porta-semilla en la producción de híbridos que cubran las exigencias del desarrollo agrícola.²

La producción de semilla híbrida con estirpes androestériles se realiza en campos debidamente aislados en los que alternan hileras de plantas androestériles con otras de la misma variedad, pero con flores hermafroditas productoras que funcionarán como diseminadoras de polen procurando que

coincidan las épocas de maduración de ambas estirpes. Al presionar las glumas, los estigmas de las flores androestériles salen de la flor donde reciben al polen, transportado por el viento, que proviene de plantas polinizantes. Las semillas producidas por las plantas androestériles son las que tendrán los caracteres de ambos progenitores y deben recogerse con sumo cuidado para no mezclarlas con las de las plantas hermafroditas.²

Los híbridos de sorgo pueden ser de generación abierta (conocida) o bien, de generación cerrada (desconocida). Los primeros son producidos en estaciones experimentales en las que se conoce cuales son los progenitores de cada híbrido, mientras que los segundos son producidos por casas comerciales, que no divulgan la línea de progenitores originarios del híbrido.²

En la hibridación del sorgo se persiguen dos objetivos: La obtención de plantas de menor tamaño con panojas erguidas y con mayor producción de grano. Además, se han obtenido otras ventajas como la adaptación al clima y al suelo.

Una de las propiedades más destacada en los híbridos de sorgo es su gran resistencia a la sequía; algunas variedades resisten hasta 80 días sin recibir ningún aporte de agua. También se han producido variedades con duración de ciclo de cultivo muy diferente, por ejemplo, las variedades muy precoces que permiten dos cosechas anuales, y las tardías que permiten alargar el periodo de cultivo en el periodo de invierno. Por lo general, los híbridos son más precoces que los sorgos comunes. Según la duración de sus ciclos vegetativos, los híbridos se clasifican en tres grupos: De ciclo corto (menos de 90 días), de ciclo intermedio (90 a 120 días) y de ciclo tardío (más de 120 días).²

El desarrollo de híbridos nuevos continua avanzando y creciendo; los híbridos actuales permiten poblaciones de plantas más numerosas con panojas más grandes y mayor tamaño de grano. Estos híbridos, además, son más resistentes a enfermedades y plagas.²

Existen diversas compañías productoras de semillas de híbridos de sorgo en todo el mundo, la empresa Monsanto posee una amplia difusión en nuestro país, distribuyendo híbridos de las marcas Asgrow[®] y Dekalb[®].¹¹ La compañía Pioneer[®]

Hi-Bred Internacional es otra empresa de gran influencia en nuestro país que distribuye semillas de sorgo en México desde 1983.¹²

1.5.1. Influencia genética en la hibridación del sorgo.

Se ha visto que diferentes híbridos pueden presentar valores distintos en su contenido de nutrimentos, tales como: Almidón, proteínas, lípidos, pericarpio u otras características; por esto, existe la idea de que la respuesta de los animales al consumir una u otra variedad de sorgo puede ser distinta. Las diferencias entre híbridos se han estudiado utilizando híbridos de sorgo con distintos tipos de endospermo; híbridos con distinta proporción de amilosa y amilopectina y en híbridos que han sido cultivados en 2 o 3 años consecutivos. Aunque las diferencias entre híbridos en pruebas *in vivo* e *in vitro* existen, esto no ha sido completamente explicado en pruebas de comportamiento animal.¹³

Se ha determinado que el grano producido por líneas diploides (2x) contiene 33% más endospermo que las líneas tetraploides (4x), y una ligera menor proporción de cascarilla. Además, en las líneas 2x, los gránulos de almidón son más pequeños aunque tienen un contenido de aminoácidos muy similar a los 4x.¹⁴

Con respecto a sus progenitores, los híbridos de sorgo tienen un rendimiento en grano muy superior (>50 %) que en algunos casos puede llegar a ser del doble.² Los híbridos de sorgo presentan más almidón que sus antecesores; además, la selección del progenitor femenino influye en el rendimiento y contenido de proteína.¹⁴

Se debe tomar en cuenta que los híbridos actuales son producidos en casas comerciales o en campos de experimentación, donde se seleccionan combinaciones genéticas específicas para obtener las características que son deseables para la siguiente generación, al sembrar estas semillas se producen plantas de características muy homogéneas en todo el cultivo; aún así, el grano cosechado no puede ser utilizado para generar una nueva planta, ya que la fecundación y contenido genético de éstos serán desconocidos y producirán gran heterogeneidad en las características fenotípicas de la planta, es decir, no tendrá un desarrollo y producción similar a la primera generación. Por ello, el agricultor

adquiere estas semillas comerciales y cosecha el grano que solo será utilizado para consumo y no, para la reproducción del sorgo.¹⁵

1.6. Composición física del grano de sorgo

El término grano se aplica al fruto de las gramíneas que se utiliza como alimento en los animales. El nombre técnico del grano es cariósipide. Los granos de sorgo se desarrollan mediante la acumulación de los productos de la fotosíntesis, la absorción a través de las raíces y el metabolismo de la planta de sorgo en la inflorescencia femenina denominada panoja o panícula. Cada grano está comúnmente cubierto por una gluma. Las glumas son un tejido de la planta materna en la panícula que protege el desarrollo del grano después de la polinización.³

La cariósipide o grano del sorgo tiene forma redondeada con puntas muy pequeñas en dos extremos; tiene 3 a 8mm de diámetro y presenta distintas formas, tamaños y colores según la variedad.¹⁰

El grano de sorgo está conformado por tres componentes anatómicos distintos: Pericarpio (cubierta externa), germen (embrión) y endospermo duro y blando (tejido de almacén) como puede verse en la Figura 1.³ La proporción relativa de estos componentes depende, entre otras cosas, de la variedad de sorgo, de las condiciones ambientales y de las prácticas de cultivo.¹⁰

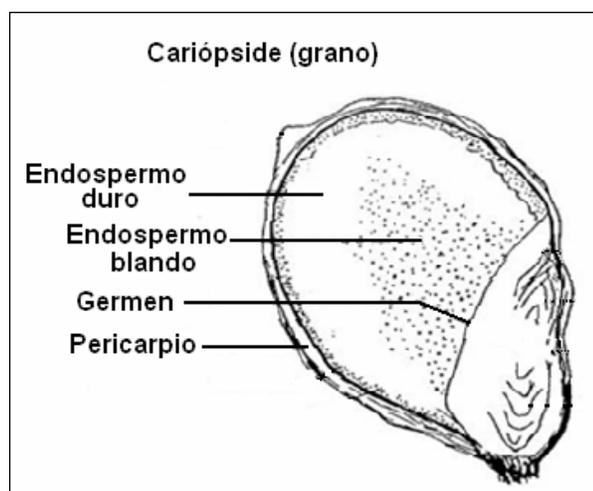


Figura 1. Componentes anatómicos que conforman el grano de sorgo.
Tomada de: Shiringani AL, 2005.¹⁰

1.6.1. Germen

El embrión o germen es una estructura bien definida en el caso del sorgo. Se encuentra rodeado por el endospermo que le sirve como tejido de almacenamiento de energía. La mayor parte de los minerales y el aceite del grano se localizan en el germen, aunque también contiene cierta cantidad de proteínas.¹⁶

1 6.2. Pericarpio

El pericarpio del grano es una cubierta que sirve de protección contra la humedad, insectos y el ataque de hongos; que dañan al grano y disminuyen su calidad. Representa el 3 al 6 % del peso del grano de sorgo¹⁶ y está formado por la cutícula, epidermis, hipodermis y mesocarpio; estas capas son importantes para seleccionar las condiciones del proceso industrial para la eliminación del pericarpio, proceso conocido como *Pearling* (Remoción del pericarpio).¹

La pigmentación del pericarpio y la testa se debe a las antocianidinas responsables de los colores rojo, azul, violeta, naranja y púrpura.^{1,17} Estos pigmentos o precursores de pigmentos, presentes en casi todos los granos de sorgo, están determinados por más de cinco genes distintos que establecen la cantidad de color presente.¹

Al estudiar sorgos con distintos grosores de pericarpio y de similar proporción de endospermo, se encontró que el grosor del pericarpio se relaciona positivamente con el PMG.¹⁴ De igual forma, se ha encontrado que los granos con mayor proporción de EnBL tienen mayor porcentaje de cenizas, sin embargo, esta última característica puede ser indicadora de la presencia de pericarpio, por lo que se dice que contienen mayor cantidad de este.¹⁶

Para permitir la digestión del endospermo, esta cubierta del grano debe romperse y permitir el acceso de los microorganismos ruminales y enzimas. La adhesión del pericarpio al endospermo puede determinar su fermentación o digestión. Cualquier factor que altere el pericarpio (alta temperatura de secado o cosecha prematura) hará más accesible el almidón a las enzimas digestivas y con ello, aumentará la tasa de digestión del mismo. Algunos procesamientos del grano

como el rolado, hojueado al vapor y ensilado reducen la asociación física del pericarpio con el endospermo; aun así, los efectos de la FDN sobre el grado de digestión en rumiantes y en no-rumiantes, pueden presentarse.¹⁶

1.6.3. Endospermo

El endospermo que rodea al germen contiene gran cantidad de almidón almacenado; esto hace a los cereales muy atractivos como fuente de energía. El endospermo del sorgo está rodeado por una capa conocida como aleurona, debajo se encuentra una capa muy delgada de endospermo conocida como endospermo periférico, el EnDU y en la parte central de grano se encuentra el EnBL, en contacto con el germen.¹⁰

La aleurona es una capa simple de células rectangulares localizada debajo del pericarpio, o bien, debajo de la testa, si esta se encuentra presente. Las células de la aleurona contienen gran cantidad de minerales, vitaminas hidrosolubles, enzimas autolíticas, lípidos, cuerpos de proteína y ácido fítico; todos estos compuestos juegan un papel importante durante la germinación del grano.^{10,18}

La diferencia entre el EnDU y el EnBL es notoria a simple vista por las diferencias en color y apariencia de cada uno. Se ha utilizado el término *textura* para referirse a la proporción de la fracción dura (córnea o vítrea) del endospermo con respecto a la fracción blanda (harinosa) del mismo.¹⁹ Esta textura del endospermo se puede expresar como porcentaje de EnDU.²⁰

Se ha sugerido que la textura del endospermo es la característica más importante para determinar, tanto la calidad de un alimento hecho a base de grano de sorgo; como la de los granos mismos. Esta textura está relacionada con el rendimiento en molienda, el tamaño de partícula en la harina y la densidad;²¹ además, tiene gran influencia sobre la calidad de algunos productos comestibles del sorgo.^{20,22,23} La harina de sorgo con una mayor proporción de EnBL tiene un tamaño de partícula más grueso; requiere menor temperatura para la gelatinización del almidón y produce una masa más viscosa, que aquella con mayor proporción de EnDU;^{22,24} además, los híbridos de mayor proporción de

EnDU son menos susceptibles al enmohecimiento por tener mayor resistencia a la absorción de agua.¹⁴

Aunque la dureza física del grano presenta una relación muy estrecha con el tipo de endospermo, la textura del endospermo no debe ser considerada una medida directa de esta dureza.²⁵ Los términos: Dureza física y dureza del endospermo, no deben considerarse como sinónimos. La determinación de la dureza física es una medición común entre los productores de harina de sorgo, se refiere a la compactación morfológica o a la adhesión química entre los componentes celulares;²⁶ esta dureza ha sido medida, en maíz, como la susceptibilidad del grano al rompimiento, debida a fisuras o grietas dentro del endospermo. Estas fisuras son más numerosas en el EnBL por lo que se prefiere en sorgo de mayor proporción de EnDU para evitar el rompimiento del grano durante el proceso de remoción del pericarpio.²⁷ El porcentaje de humedad del grano también influye en su dureza, ya que el agua que entra al endospermo debilita algunas uniones almidón-proteína y esto genera menor resistencia.¹⁰

La proporción de EnDU:BL, también conocida como grado de vitrosidad o dureza, se modifica de acuerdo a la variación genética dentro de la misma especie. En el caso del maíz, esta vitrosidad es mayor para el maíz clasificado como duro (*flint*) que para el dentado (híbrido de una variedad de endodermo duro y una variedad de endospermo blando). La proporción EnDU:BL puede aumentar con la maduración del grano y fertilización con nitrógeno.³ Además, en maíz, se ha visto que la degradabilidad ruminal *in situ* tiene una relación estrecha con la proporción EnDU:BL ($r=0.89$).²⁸ Correa *et al.*²⁹ encontraron que la correlación entre EnDU y la disponibilidad de almidón ruminal *in vitro* en maíz es de 0.93. Corona *et al.*³⁰ establecieron que el 90% de la variación en la DRS se explica por la proporción de EnDU:BL ($DRS = 78.91 - 18.13 * EnDU$; $P < 0.05$) en cuatro híbridos de maíz amarillo con diferente proporción de EnDU:BL (de 55 a 65%).

1.6.3.1. Medición directa del endospermo

Se han desarrollado algunas técnicas para medir la textura del endospermo en el grano de sorgo. Kirleis *et al.*¹⁹ desarrollaron una técnica donde el grano de

sorgo es sumergido en una resina que, al polimerizar, es lijada para así exponer el centro de cada grano; haciendo uso del microscopio estereoscópico se proyecta la imagen del grano seccionado, se traza el contorno de las áreas de EnDU y EnBL y se miden con un planímetro. Este método ha sido considerado sensible y útil para medir la textura del endospermo del grano de sorgo.

El sorgo también ha sido evaluado y clasificado mediante observación visual del tipo de endospermo predominante; aunque esta técnica puede resultar algo arbitraria, debido a que las diferencias entre las variedades dependen del criterio propio de cada observador; es poco menos compleja que la anterior y solo ofrece una clasificación cualitativa del grano. La clasificación reconoce cuatro distintos tipos de grano de sorgo: Sorgo de endospermo blando o harinoso (con mayor proporción de EnBL), sorgo normal (con una proporción equitativa de EnDU:BL), sorgo de endospermo duro o córneo (con mayor proporción de EnDU) y sorgo con endospermo céreo (similar al sorgo de EnDU, con apariencia brillante o engrasada porque contiene más amilopectina).¹³

Se ha encontrado que los granos de sorgo de endospermo céreo y de endospermo blando tienen una digestibilidad similar en rumen, de 80%, y son más digestibles que los sorgos de tipo normal (68.1%) y de tipo endospermo duro (48.4%).¹³ Se ha dicho que estas diferencias se deben a las uniones estrechas entre la matriz proteínica y el almidón, principalmente encontradas en el EnDU.¹⁴

1.6.3.2. Medición indirecta del endospermo

Los métodos indirectos para estimar la textura de endospermo están basados en diferencias de densidad entre la parte vítrea y harinosa del endospermo.¹⁴ Al medir la densidad del grano de sorgo, utilizando, como sustancia de inmersión, una mezcla de tetracloroetileno y keroseno, esta densidad presentó alta correlación negativa ($r=-0.95$) con la textura del endospermo y presentó también relaciones inversamente proporcionales con el porcentaje de granos flotantes, el tamaño de partícula y la dureza del grano.¹⁴ Maxson *et al.* también determinaron la existencia de esta correlación negativa entre la textura del endospermo y la densidad del grano.³¹ Buffo *et al.* determinaron la densidad del

grano de sorgo utilizando un picnómetro volumétrico y encontraron que el contenido de proteína presentaba una relación inversamente proporcional con la densidad; argumentando que esto se debe a que el almidón es más denso que la proteína y con buenas condiciones de crecimiento se depositan más gránulos de almidón en la matriz proteínica; así, la proporción de proteína por gránulo de almidón se reduce y por ello la densidad del grano aumenta.³² Esto supone que los granos más suaves y densos tienen menor contenido de proteína.

1.7. Composición nutrimental del grano de sorgo

El grano de sorgo está compuesto principalmente de almidones, azúcares no amiláceos, proteínas y aceites.¹⁰ El contenido de PC es de 11% (de 7 a 15%), el extracto etéreo de 2.8%, la fibra cruda del 2% y las cenizas de 1.7%. (Cuadro 2).^{33,34} Los almidones y azúcares comprenden aproximadamente 70%.²

Cuadro 2. Composición nutritiva del grano de sorgo

Nutrimento	Cantidad ^c
Materia Seca ^b	89.0 %
Proteína cruda ^b	11.0 %
Proteína digestible (Rumiantes) ^b	6.3 %
Total de nutrimentos digestibles ^b	71.0 %
Fibra cruda ^b	2.0 %
Fibra ácido detergente ^a	6.0 %
Fibra neutro detergente ^a	19.0 %
Extracto etéreo ^b	2.80 %
Cenizas ^b	1.70 %
Energía metabolizable, cerdos ^b	3230 (Kcal/Kg)
Energía metabolizable, aves ^b	3310 (Kcal/Kg)

^aFeedstuffs 1992,³³ ^bFeedstuffs 2006,³⁴ ^cValores expresados en base seca excepto materia seca

Por su alto contenido de almidón, el sorgo, al igual que otros cereales, es una gran fuente de energía, por lo que es muy utilizado en dietas para animales en sistemas de producción intensiva; es un ingrediente común en dietas de finalización en ganado de engorda.^{13,35}

La cubierta del sorgo también contiene ceras y otros compuestos como

vitaminas del complejo B.² Los minerales presentes en el grano son: Ca, P, K, Mg, S, Cl, Na, Fe, Cu, Zn, y Mn (Cuadro 3).³⁴

Cuadro 3. Composición mineral del grano de sorgo

Elemento	Contenido ^a
Calcio	0.04 %
Fósforo	0.29 %
Potasio	0.34 %
Magnesio	0.20 %
Azufre	0.09 %
Cloro	0.09 %
Sodio	0.03 %
Hierro	52.0 ppm
Cobre	14.5 ppm
Zinc	13.7 ppm
Manganeso	12.9 ppm

^aValores expresados en base seca. Tomado de Feedstuffs, 2006.³⁴

En los años previos a la hibridación del sorgo se consideraba que el valor nutritivo del sorgo era del 88% con respecto al maíz amarillo. Al incorporar los diferentes híbridos de sorgo y mejorar las técnicas de procesamiento de este, las ganancias de peso y la eficiencia alimenticia en los animales se incrementaron.² El NRC en su publicación *Nutrient Requirements of Beef Cattle* estimó el valor de energía neta aportada por el sorgo en hojuela es de 97% comparado con el aporte del maíz con el mismo procesamiento.²

1.7.1. Almidón

El principal carbohidrato en los cereales es el almidón, representa el 70 a 80% de los componentes totales en la mayoría de ellos.^{2,21}

1.7.1.1. Composición química del almidón

Es un homopolímero de glucosa formado por dos estructuras moleculares principales: amilosa y amilopectina (Figura 2). La amilosa consiste en cadenas largas de unidades de glucosa unidas por enlaces α -(1-4) que forman una estructura helicoidal rígida.³⁵ La proporción de amilosa se modifica según la especie vegetal. El almidón en cereales comunes contiene 20-30 % de amilosa.²¹ Se ha comprobado que una cantidad mayor de amilosa que de amilopectina en el

almidón, produce una menor digestibilidad enzimática *in vitro*.³⁵

La amilopectina es una estructura ramificada que se encuentra unida a la amilosa por uniones α -(1-6). Esto produce una estructura abierta que es fácilmente atacada por enzimas digestivas.³¹ Es el componente más abundante del almidón en cereales comunes.²⁰

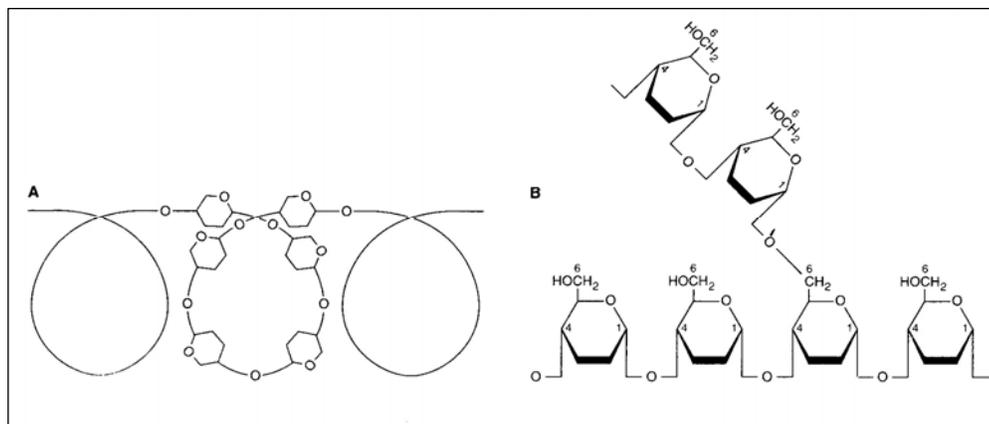


Figura 2. Estructura química de los principales componentes del almidón. A: Amilosa y B: Amilopectina. Tomada de Murray *et al.*, 2004.³⁵

Las unidades de glucosa, fuente principal de energía, están unidas por enlaces glucosídicos α -(1-4) y α -(1-6). Estas uniones, presentes en el almidón, pueden romperse por acción de las enzimas endógenas en el intestino delgado y por enzimas microbianas en el rumen e intestino grueso.³⁵

1.7.1.2. **Propiedades físicas del almidón**

El almidón se encuentra formando gránulos altamente organizados. Cada tipo de cereal presenta gránulos de diferente forma y tamaño, que puede ser desde un submicrón hasta 200 μ m o más. Los gránulos de almidón del sorgo miden entre 2 a 30 μ m y presentan formas esféricas a poligonales.²¹

Los gránulos de almidón son pseudo-cristales que pueden encontrarse en áreas organizadas (regiones cristalinas) y relativamente no-organizadas (regiones amorfas). La región amorfa menos densa que la región cristalina; el agua se mueve libremente a través de ella y el ataque de las amilasas inicia en esta región; en la región cristalina el ataque enzimático es más lento.²¹

Los gránulos de almidón están contenidos dentro de una pared celular; al romperse esta pared, se pueden observar estos gránulos rodeados de cuerpos de proteína, compuestos de prolaminas, que forman una capa continua o discontinua; su asociación física es muy estrecha, por lo que los cuerpos de proteína están embebidos en los gránulos de almidón. Estos cuerpos de proteína están unidos por la matriz proteínica del endospermo,²⁶ compuesta principalmente de glutelinas. La proporción de EnDU:BL del sorgo está relacionada con el contenido de proteína y con la continuidad que presente la matriz proteínica.^{21,30} En el EnDU la matriz proteínica tiene mayor continuidad, los gránulos de almidón son más pequeños, y los cuerpos de proteína que los rodean son más numerosos que en el EnBL.^{21,26}

Los cuerpos de proteína contienen prolaminas con uniones intermoleculares cruzadas, a este tipo de proteínas se les conoce como kafirinas cruzadas. Estas kafirinas disminuyen la digestibilidad de la proteína y de los gránulos de almidón entrecruzados con éstas.²¹ Los cuerpos de proteína deben ser degradados para exponer al almidón a la acción de las amilasas.²¹

Los cuerpos de proteína y la matriz proteínica obstruyen la accesibilidad de las amilasas al almidón; además, debido la naturaleza distinta entre las proteasas animales de equinos, bovinos, aves y cerdos, la digestión del sorgo puede modificarse debido a las diferencias entre las proteasas de cada especie animal para degradar a las proteínas del sorgo.³⁵

1.7.1.3. Gelatinización del almidón.

Los gránulos de almidón, al rotar en un plano de luz polarizada, exhiben una sombra característica; este fenómeno es conocido como birrefringencia. La intensidad de esta, depende del grosor, tamaño, forma, estructura molecular y orientación del gránulo. En general, un gránulo que exhibe birrefringencia se considera en estado nativo.²¹

Los gránulos de almidón se gelatinizan, es decir, sufren una pérdida irreversible de su estructura natural cuando se aplica energía suficiente para romper los puentes de hidrógeno intermoleculares en las áreas cristalinas.

Durante la gelatinización, el almidón absorbe agua, se hincha, se degrada parte de la amilosa, pierde su birrefringencia y se vuelve más accesible a la acción enzimática. La gelatinización inicia en las áreas amorfas del gránulo, y la penetración por calor y humedad en las áreas cristalinas se produce lentamente.²¹

La gelatinización mecánica del almidón se produce durante la molienda del cereal. El almidón resultante, conocido como “dañado”, es más susceptible a la acción de las amilasas.²¹ Durante la gelatinización, algunos cuerpos de proteína que rodean al almidón pueden conservarse intactos y pueden continuar unidos al almidón.²⁶

Al calentar el almidón en agua, los gránulos se hinchan rápidamente y el agua se une al almidón. Cerca de los 100° C, los gránulos se expanden varias veces su tamaño original hasta perder por completo su estructura.²¹

El calor, la humedad, la acción mecánica y la acción química de algunos agentes se utilizan en combinación para procesar y modificar la naturaleza del almidón. Este principio de gelatinización se produce en el grano hojueado al vapor, extrudizado o reconstituido.²¹

Algunos métodos para evaluar el grado de gelatinización son: Determinación de la viscosidad, pérdida de birrefringencia, claridad de la pasta, cambios en turgencia y solubilidad, susceptibilidad a enzimas y calorimetría diferencial entre otros.²¹

1.7.1.4. Digestibilidad del almidón

La estructura y composición de los almidones en los cereales y su interacción con las proteínas representan un papel importante en su digestibilidad.²¹ Las características de la cubierta del grano, pared celular y estructura de la matriz proteínica, pueden alterar la digestión del almidón.³⁵

El sorgo y el maíz tienen una menor velocidad de degradación ruminal en comparación con la cebada y el trigo.^{37,38} Esto puede deberse a la asociación estrecha entre la matriz proteínica, los cuerpos de proteína y el almidón en el sorgo.^{21,39}

Entre los cereales utilizados en alimentación animal, el trigo es el que posee

la capacidad de fermentación más rápida, seguido por la cebada y el maíz; el grano de sorgo tiene la velocidad de fermentación más lenta a nivel ruminal. La digestión ruminal del almidón es la clave para la utilización eficiente del grano en rumiantes. Se ha encontrado que la energía digestible del sorgo en los bovinos tiene una diferencia notable comparado con animales no-rumiantes (cerdos y aves), de 2.32Mcal/Kg a 3.82Mcal/Kg respectivamente, esto puede deberse a que el almidón del sorgo es menos accesible a la degradación enzimática.^{35,37}

Se han estudiado también, diferentes híbridos de sorgo y se ha observado que existen diferencias en los valores de digestibilidad y el comportamiento productivo en los rumiantes.^{40,41,42,43,44}

En el grano de maíz, se ha observado que una mayor proporción de EnDU:BL está correlacionada con la disminución en la digestión del almidón.^{47,30}

Existen diferencias entre las especies animales en su capacidad de digestión del almidón. Esta digestibilidad en el almidón de sorgo, a través de todo el tracto digestivo del ave, es del 99%; que es superior a la del bovino de 87%.³⁵

Además, se han encontrado variaciones entre distintos granos en su degradabilidad en rumen, con valores de: 92 % para avena, 65 % para maíz y 62 % para sorgo.³⁵

El sorgo parece tener el mayor valor de energía disponible para ovejas, cerdos, pollos de engorda y gallinas ponedoras comparado con la cebada, trigo, triticale y avena, excepto en los bovinos, en los cuales, el valor de energía disponible es el más bajo. Esto se debe a que la digestión depende de la capacidad de las enzimas digestivas para romper las uniones químicas específicas de cada componente del grano y a la eficacia y duración del contacto con sus sustratos.³²

Los granos consumidos por rumiantes están expuestos primero a enzimas microbianas que digieren las moléculas de fibra, almidón y proteína antes de pasar al intestino delgado donde son expuestos a amilasas, proteasas y lipasas secretadas por el animal. En cambio, los granos en la alimentación de cerdos y aves primero son expuestos a las enzimas animales y después, en el caso de los

cerdos, a enzimas microbianas del intestino grueso. Las enzimas microbianas en las aves no son tan importantes, aun así, la molleja produce importantes modificaciones estructurales en las paredes celulares que permite la digestión del almidón.³⁵

La accesibilidad de una enzima a los componentes del grano puede ser afectada por el tamaño de partícula y el área de superficie; barreras físicas como paredes celulares y barreras químicas como la estructura rígida de la amilosa; propiedades hidrofóbicas o a la secuencia de aminoácidos de las proteínas. Esto último afecta la digestibilidad de las proteínas y puede influir en la accesibilidad de las enzimas a otros componentes del grano.³⁵ La digestibilidad del almidón también puede afectarse por el tamaño del gránulo de almidón y el grosor de la pared celular del endospermo.³⁵

Las paredes celulares del endospermo están compuestas por un esqueleto de celulosa impregnado de arabinosilanos y β -glucanos solubles e insolubles. Estos compuestos pueden reducir el contacto de las enzimas amilolíticas sobre los gránulos de almidón, se ha demostrado que la cebada, que tiene paredes celulares más gruesas que el sorgo tiene una menor digestibilidad en el intestino delgado del cerdo.³⁵

Los principales factores que afectan la digestibilidad del almidón son: Las condiciones ambientales durante el crecimiento del grano, el grado de encapsulamiento del gránulo de almidón, la variación en el contenido de almidón, la composición de aminoácidos de la matriz proteínica, la interacción proteína-almidón, la integridad celular de las unidades que contienen al almidón, la naturaleza de las enzimas y los factores anti-nutricionales como los taninos entre otros.^{35, 21}

Aunque el maíz y el sorgo proveen casi la misma energía metabolizable, el TND del sorgo es del 95% del valor para el maíz. Esta relativa diferencia nutrimental puede deberse a que el maíz contiene aproximadamente 1% más extracto etéreo, y el sorgo contiene 1% más de PC; además, el almidón de sorgo parece tener mayor adhesión a los cuerpos de proteína que lo rodean, esto puede

actuar como una barrera para el contacto del almidón y las enzimas amilolíticas.^{4,21,45}

Otro factor que puede influir en la digestibilidad del almidón son sus componentes mismos, se ha observado que la digestibilidad del almidón es, generalmente, inversamente proporcional al contenido de amilosa.²¹ Un tipo de sorgo convencional con una proporción de amilosa de 46% presenta una digestibilidad *in vitro* de 30% mientras que en un tipo de sorgo céreo (*waxy*) con 24% de amilosa tiene una digestibilidad *in vitro* de 56%.³⁵

McCollough *et al.*⁴¹ encontraron valores de digestibilidad *in vivo* de almidón, utilizando bovinos de engorda, de 76-77% para grano de sorgo. McGinty y Riggs (1968)⁴⁶ reportaron la digestibilidad *in vivo* del sorgo anti-pájaro (alto en taninos) con un valor de 60%, en bovinos de engorda. Nishimuta *et al.*⁴⁷ evaluaron la digestibilidad *in vivo* del almidón aislado procedente de granos de sorgo; obteniendo valores de 78% para sorgo común, 82% para sorgo céreo (*waxy*) y 82.8% para sorgo hetero-amarillo en ovinos. Hibberd *et al.*⁴⁸ estudiaron la digestibilidad del almidón aislado de sorgo *in vitro*, descrito como desaparición de MS, encontrando valores de 87-92% para el sorgo anti-pájaro; 98-100% para sorgo tipo EnBL, y de 88-100% para sorgo céreo; en este trabajo también se evaluó la digestibilidad *in vitro* del grano molido, indicando valores de 51-58% para el sorgo anti-pájaro, de 84-85% para sorgo del tipo EnBL y de 91-94% para sorgo céreo.^{48,49}

1.7.2. Fibra

La fibra puede definirse como la parte de la planta que no puede ser digerida por las enzimas producidas en el estómago e intestino delgado de animales no-rumiantes, por ello, la fibra regula el movimiento del alimento a través del tracto digestivo de los animales. Los principales componentes de la fibra son: celulosa, hemicelulosa, lignina y pectinas; las cuales se encuentran localizadas principalmente en el pericarpio y la aleurona. La fibra se divide en fibra soluble y fibra insoluble.⁹ El sorgo contiene 6.5 a 7.9% de fibra insoluble y 1.1 a 1.23% de fibra soluble. La mayoría de la fibra del sorgo es insoluble, y aproximadamente el

82.6 % se localiza en el pericarpio. La fibra en el pericarpio realiza funciones estructurales y de protección.¹⁰

El sorgo contiene polisacáridos no amiláceos (PNA), principalmente localizados en el pericarpio y las paredes celulares del endospermo con una proporción que va de 2 a 7% dependiendo de la variedad. Estos polisacáridos están formados principalmente de arabinosilanos y otros β -glucanos representando el 40-55% del total de PNA. Los otros β -glucanos comprenden la celulosa y otros.³ El sorgo también contiene polímeros de pared celular como la lignina con una proporción de 20% del total de la pared celular.³

La FDN es considerada como el residuo de extracción constituida por los elementos de la pared celular vegetal, es decir, celulosa, hemicelulosa y lignina. En la determinación de la FDN con amilasa se utiliza un detergente para disolver las proteínas y alguna materia nitrogenada; EDTA, para quelar al calcio y remover pectinas a 100° C; el trietilenglicol para remover alguna materia no fibrosa de los alimentos concentrados y la amilasa termoestable para remover el almidón (Ver apéndice Cap. 10.5).⁵⁰

Una solución de un detergente cuaternario acidificado es utilizada para disolver los solubles celulares, hemicelulosa y minerales solubles dejando un residuo de celulosa, lignina y proteína dañada por calor y una porción de proteína de la pared celular y minerales (cenizas). La FDA es reconocida como el residuo remanente después de esta extracción (Ver apéndice, Cap10.6).⁵⁰

1.7.3. Proteína

De todos los componentes del grano de sorgo, la proteína es la más variable; puede contener 7-15 % de PC aprox.^{3,10} Los distintos aminoácidos contenidos en las proteínas del sorgo y su disponibilidad se muestran en el Cuadro 4 donde puede observarse que, el sorgo común, tiene bajo contenido de aminoácidos esenciales como lisina (0.27 %) y metionina (0.10 %).³⁴

El 80% de la proteína del grano se localiza en el endospermo y está compuesta por glutelinas y prolaminas entre las cuales se encuentran las kafirinas cruzadas. La proteína restante (20 %) se localiza en el germen y está formada por

albúminas y globulinas.³⁵ Las kafirinas comprenden el 50-70 % del total de las proteínas del sorgo⁵¹ y la proporción de glutelinas-kafirinas en este grano es de 1:2.5.⁵²

Cuadro 4. Aminoácidos contenidos en el grano de sorgo ^{a,b}

Metionina	0.10 % (89)
Lisina	0.27 % (78)
Cisteína	0.20 % (83)
Triptofano	0.09 % (--)
Treonina	2.27 % (82)
Isoleucina	0.60 % (88)
Histidina	0.27 % (87)
Valina	0.53 % (87)
Leucina	1.40 % (94)
Arginina	0.40 % (74)
Fenilalanina	0.45 % (91)

^a Porcentaje de disponibilidad entre paréntesis. ^b Tomado de: Feedstuffs, 2006.³⁴

Se ha dicho que la proteína del sorgo es menos digerible. Esto puede deberse a diferencias en la digestibilidad de cada tipo de kafirina presente en mayor proporción. Se sabe que, de todos los tipos de kafirinas presentes en el sorgo, las α -kafirinas son las más digestibles y que, conforme aumentan las γ -kafirinas, disminuye la digestibilidad de las proteínas del sorgo.⁵¹

Existen algunas teorías que explican las diferencias que existen en la digestibilidad de la proteína de acuerdo al tipo de kafirina predominante, como la presencia de una capa periférica resistente al ataque enzimático formada por γ - y β -kafirinas que impiden el acceso a las α -kafirinas; además, las γ - y β -kafirinas forman complejos de enlaces disulfuro intermoleculares muy numerosos durante el desarrollo del grano, difíciles de romper por las proteasas. Otra posible causa de la baja digestibilidad de estas proteínas es que las γ -kafirinas se localizan en la base de los plegamientos de los cuerpos proteínicos formando una estructura invaginada muy cerrada que contribuye a limitar el acceso de las enzimas a las α -kafirinas. Cada kafirina ($-\alpha$, $-\beta$, $-\gamma$, $-\delta$) tiene una composición de aminoácidos diferente, aunque en todas ellas prevalece la ausencia de la lisina, un aminoácido

limitante,⁵³ por ello, la proteína del sorgo es considerada de baja calidad, especialmente para los animales no-rumiantes (Cuadro 5).⁵⁴

Cuadro 5. Composición y tipos de kafirinas presentes en el grano de sorgo ^a

Tipos kafirina	Masa molecular	Aminoácidos residuales	Composición aminoácidos	Comportamiento polimerización
α	26,000–27,000	240–250	Ricas en aminoácidos no-polares, sin Lis, 1 Trp, 10 repeticiones	Monómeros, oligómeros y polímeros
β	18,745	172	Ricas en Met, Cis, 2 Trp	Monómeros y polímeros
γ	20,278	193	Ricas en Pro, Cis, His, Asp, Trp, sin Lis, Asn. 4 repeticiones	Oligómeros y polímeros
δ	12,961	114	Ricas en Met, sin Lis, 1 Trp	Desconocido

Lis: Lisina, Trp: Triptofano, Met: Metionina, Cis: Cisteína, Pro: Prolamina, His: Histidina, Asp: Aspartato, Asn: Asparagina. ^aTomado de: Belton *et al.*(2006)⁵⁴

El efecto de la baja calidad de la proteína del sorgo no se observa en los rumiantes debido a que la microflora del rumen puede transformar la proteína de baja calidad y el nitrógeno no-proteínico en proteína microbiana de buena calidad.³⁵

Como se ha dicho, la matriz proteínica y los cuerpos proteínicos embebidos en el endospermo, pueden formar una capa continua alrededor de cada gránulo de almidón, como puede observarse en la Figura 3.³⁵ Es probable que la solubilidad y digestibilidad de las proteínas del sorgo influya en la digestibilidad del endospermo, en los rumiantes aunque esto no ha sido explicado totalmente.⁴⁹

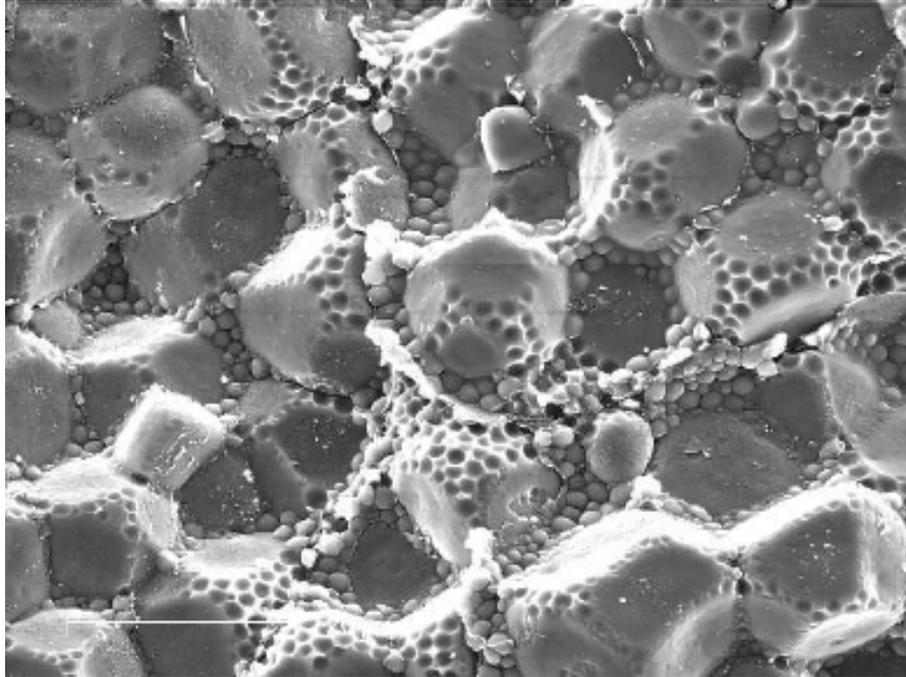


Figura 3. Microfotografía electrónica (3500x) que muestra la matriz proteínica con cuerpos de proteína embebidos rodeando cada gránulo de almidón. Puede verse como los cuerpos de proteína dejan indentaciones en los gránulos. Tomada de Black (2001).³⁵

1.7.3. Taninos

Los compuestos fenólicos constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, son metabolitos secundarios de las plantas y engloban más de 8,000 compuestos. Los compuestos fenólicos se pueden agrupar en diferentes clases dependiendo de su estructura química básica, dentro de esta clasificación se encuentran los taninos y flavonoides, entre otros.¹⁷

Los flavonoides constituyen el grupo más importante con más de 5000 compuestos. Son sustancias con una estructura química que permite una multitud de variantes: Flavonoles, flavonas, isoflavonoides, catequinas, dihidrocalconas, antocianidinas, leucoantocianidinas o flavandiolo y proantocianidinas o taninos condensados (no-hidrolizables).

Los taninos son compuestos fenólicos hidrosolubles con peso molecular comprendido entre 500 y 3000 daltones. Estos compuestos, por su gran número de grupos hidroxilo, son capaces de unirse a proteínas y otras macromoléculas. Pueden clasificarse en dos grupos: taninos hidrolizables y no-hidrolizables o

taninos condensados.¹⁷ En el sorgo se localizan en el pericarpio y testa. Aunque el endospermo no contiene taninos, se ha observado que estos, pueden unirse al almidón e influir en la inhibición de la acción enzimática sobre este.^{1,45} Los taninos protegen al grano del ataque de insectos y pájaros.⁵⁵ Son los responsables de los distintos colores que presenta la harina de diversas variedades de sorgo.⁵⁶ Para eliminar el pericarpio y los pigmentos asociados a ésta se realiza una molienda y tamizado, aunque se ha visto que la harina sigue presentando cierta coloración pues algunos pigmentos también están presentes en testa y germen. Los sorgos con testa pigmentada tienen un alto contenido de taninos condensados.¹⁴

En el pasado, la manipulación genética logró obtener sorgos altos en taninos con el fin de evitar la pérdida de la cosecha por el ataque de pájaros. El sorgo con alto contenido de taninos disuade el ataque de los pájaros debido a la astringencia que provocan las proantocianidinas.¹⁷

Al utilizar estos sorgos altos en taninos para consumo animal se observaron problemas como rechazo del alimento, baja digestibilidad, menor tasa de crecimiento y menor digestibilidad de la proteína, inhibición enzimática, e inclusive se mencionan casos de muerte en aves.^{17,40,46,48,57,58,59,60,61}

La mayoría de estos estudios se realizaron entre 1970 y 1980 debido a la aparición de estos problemas, principalmente en granjas avícolas, lo que ocasionó que el sorgo fuera sustituido por maíz en las dietas animales; esta es una de las razones por las que no se utilizaba el sorgo en el pasado.⁶² En la actualidad, se ha controlado la producción de sorgo mejorado las variedades para que no contengan alto contenido de estos compuestos.⁶³ Desde 1982, se han publicado estudios de variedades modernas de sorgo donde se determinaron que los taninos contenidos en estas, no influyeron negativamente en el aumento de peso en pollos de engorda.⁶⁴ Además, en estudios más recientes se ha demostrado que algunas variedades de sorgo de alta digestibilidad pueden tener una conversión alimenticia más eficiente que el maíz común.⁶⁵

1.7.4.1. Cuantificación de taninos

Existen muchos métodos químicos para cuantificar taninos condensados.

Estos métodos generalmente son inexactos, ya que existe gran similitud entre los taninos y el resto de los compuestos fenólicos. Estos dos grupos son difíciles de separar cuantitativamente aunque difieren mucho en su efecto en los animales.⁵⁹

Las primeras técnicas desarrolladas para la cuantificación de compuestos fenólicos son las técnicas espectrofotométricas. El método de vainillina acidificada con HCl⁶⁶ es muy utilizado para medir cuantitativamente taninos condensados en el grano de sorgo. La principal ventaja de este método parece ser su especificidad, ya que determina compuestos flavan-3-ol, dihidrocalconas y proantocianidinas que tienen una unión simple en la posición 2,3 y poseen grupos metahidroxilo libres en el anillo B, además, la vainillina reacciona a la presencia de leucantocianidinas.^{1,17} En cambio, los métodos de oxidación-reducción como el Método Folin-Denis o el Método de Azul Prusia, detectan cualquier compuesto fenólico presente y con una sensibilidad muy variable.⁶⁶

2. JUSTIFICACIÓN

Aún cuando se ha establecido que algunas características físicas y químicas del grano de sorgo tienen cierta relación con la proporción de EnDU:BL; no se ha determinado el efecto de éstas características en la digestión del almidón en el mismo; por lo que, el establecimiento de estas relaciones es importante para evaluar las diferencias en el valor nutritivo de los híbridos de grano de sorgo.

3. HIPOTÉISIS

- La proporción de EnDU:BL en distintos híbridos de sorgo es diferente.
- Existe alguna relación significativa entre las características fisicoquímicas y la proporción de EnDU:BL de granos de distintos híbridos de sorgo.
- La digestión enzimática *in vitro* del almidón está determinada por las características fisicoquímicas de híbridos de grano de sorgo.

4. OBJETIVOS

Determinar la proporción de EnDU:BL; analizar y calcular las correlaciones existentes entre ésta proporción de EnDU:BL y las características físicas: MS, PMG, TP, SA, P/g y DEN y químicas: NT, FDN, FDA, CEL, HEMICEL, LIG, TAN, ALM, AlmS, AlmNS y DRS; en 9 híbridos comerciales de grano de sorgo cultivados en el estado de Morelos, México.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en el Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica (DNAB) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. Se utilizaron muestras de 9 híbridos comerciales de grano de sorgo cultivado en el Estado de Morelos y cosechado en 2004. Los híbridos utilizados fueron: Pioneer 8282 (P-8282), Pioneer 8418 (P-8418), Dekalb 2000 (DK-2000), Asgrow Kilate (Kilate), Asgrow Ámbar (Ámbar), Asgrow Marfil (Marfil), WAC-685, Sorghum Partners Inc. KS955 (KS955) y Dekalb D-65 (D-65).

El análisis de las muestras se realizó en el Laboratorio de Bromatología del DNAB. Las muestras se conservaron en refrigeración a 4° C hasta su análisis. Se obtuvo una muestra contractual de cada híbrido utilizando el método de cuarteo, que fue limpiada manualmente para retirar cualquier material extraño. Todos los análisis se realizaron por duplicado en todos los híbridos.

Para la determinación de la proporción de EnDU:BL se utilizaron 20 fotografías digitales de cada híbrido; se montaron 20 granos en portaobjetos fijados con resina epóxica de acuerdo con la modificación de la técnica de Kirleis *et al.*¹⁹ que se describe en el apéndice, Cap. 10.11.

Los análisis físicos realizados fueron: MS⁶⁷, PMG⁶⁸, DEN con picnómetro volumétrico y TP⁶⁹; y los análisis químicos: NT⁶⁷, FDA⁶⁷, FDN^{70,71}, CEL⁶⁷, LIG⁶⁷, ALM⁷², AlmS⁷⁵, AlmNS⁷⁵ y TAN^{66,73}. El contenido de HEMICEL se determinó como la sustracción entre el contenido porcentual de FDA y FDN. El cálculo de la DRS se obtuvo mediante la fórmula reportada por Rodríguez *et al.* (2001)⁷⁴ que se muestra en el apéndice, Cap. 10.8.

5.1. Análisis de las características físicas del grano de sorgo.

Materia seca: La determinación de la materia seca se realizó mediante la técnica descrita por el AOAC (1990)⁶⁷, método oficial No. 934.01 (Ver apéndice, Cap. 10.1).

Peso de mil granos: Se realizó la determinación de PMG mediante la técnica del Rice Knowledge Bank (2004)⁶⁸ como se describe: Se contaron 1000

granos enteros escogidos al azar y se pesaron en la balanza analítica. Esta prueba se realizó en dos muestras de cada híbrido y se obtuvo el promedio el resultado de las dos repeticiones.

Densidad relativa: Se determinó la densidad relativa de los granos de sorgo en un picnómetro volumétrico. (Ver apéndice, Cap. 10.2).

Tamaño de partícula: La determinación del TP se realizó mediante la técnica de Baker y Herrman (2002)⁶⁹ (Ver apéndice, Cap. 10.3).

5.2. Análisis de las características químicas del grano de sorgo

Nitrógeno total: Para la determinación del NT se utilizó el método de Kjeldahl descrito por el método oficial No. 955.04b del AOAC (1990)⁶⁷ (Ver apéndice, Cap. 10.4).

Fibra detergente neutro: La determinación de la FDN se realizó mediante una adaptación de la técnica de Goering y Van Soest (1970)⁷⁰ y Van Soest *et al.*(1991)⁷¹ (Ver apéndice, Cap 10.5).

Fibra detergente ácido: La determinación de la FDA se realizó mediante una adaptación del método oficial No. 963.18c del AOAC (1990);⁶⁷ (Ver apéndice, Cap. 10.6).

Celulosa: La determinación de la celulosa se realizó mediante el método oficial No. 913.18d del AOAC (1990);⁶⁷ (Ver apéndice, Cap. 10.7.2).

Lignina: La determinación de la lignina se realizó mediante el método oficial No. 913.18d del AOAC (1990);⁶⁷ (Ver apéndice, Cap. 10.7.1).

Contenido de almidón: Para la determinación del contenido de almidón, se utilizó la técnica descrita por Zinn (1990)⁷² (Ver apéndice, Cap. 10.8).

Digestibilidad *in vitro* del almidón (Almidón soluble e insoluble): Se determinó el AlmS, AlmNS y se calculó la DRS mediante la técnica descrita por Rodríguez *et al.* (2001)⁷⁴ (Ver apéndice 1, Cap. 10.9.1 y 10.9.2)

Contenido de taninos: La determinación del contenido de TAN se realizó mediante la modificación a la técnica de vainillina acidificada con HCl descrita por Price *et al* (1978)⁶⁶ utilizando blancos para vainillina, como lo señalan Price *et al* (1977)⁷³ (Ver apéndice 1, Cap. 10.10).

5.3. Determinación de la proporción de endospermo duro:blando

Para la determinación de la proporción de EnDU:BL se realizó una modificación a la técnica descrita por Kirleis *et al.*¹⁹ (Ver apéndice, Cap 10.11).

5.4. Análisis estadístico

Para calcular la diferencia entre los híbridos en la Proporción de EnDU:BL se utilizó cada fotografía, que cumpliera con las características mencionadas en la técnica (Ver apéndice, Cap. 10.10), como la unidad experimental. Los datos obtenidos de la proporción de EnDU:BL se analizaron de acuerdo a un diseño completamente al azar, mediante el procedimiento de modelos general lineal (GLM) del Programa SAS,⁷⁶ y las diferencias entre medias se evaluaron mediante la prueba de Tukey con valor de significancia ($P < 0.05$).⁷⁷

Para calcular la variación causada por la medición de la proporción de EnDU y EnBL debidas a las modificaciones de la técnica de Kirleis *et al.*¹⁹ se delimitó y midió cinco veces una fotografía del mismo grano, calculando sus áreas de EnDU y endospermo total, obteniendo el promedio, desviación estándar y coeficiente de variación para las 5 mediciones.⁷⁷

Las medias obtenidas de las 20 fotografías de cada híbrido del % EnDU y % EnBL se utilizaron para determinar las correlaciones simples (r de Pearson) entre esta medición y los resultados obtenidos en el resto de las características fisicoquímicas medidas.

Se utilizó el modelo de correlación lineal simple⁷⁸ para calcular los coeficientes de correlación de Pearson para todas las variables medidas entre una y otra: EnDU, EnBL, MS, PMG, TP, SA, P/g, DEN, NT, FDA, FDN, CEL, HEMICEL, LIG, ALM, AlmS, AlmNS y DRS; con el programa Statistix Ver. 8.⁷⁸

Se utilizó el modelo de regresión lineal simple⁸⁰ para las características que presentaron un valor significativo ($p < 0.05$) de correlación simple de Pearson utilizando el programa Statistix Ver. 8.⁷⁸ mediante la ecuación: $\hat{y} = B_0 + B_1 (x_i)$.⁷⁹

6. RESULTADOS

6.1. Proporción de Endospermo Duro:Blando

Los resultados obtenidos de las diferencias entre medias en la prueba de Tukey⁷⁷ se muestran en el Cuadro 6. El porcentaje de EnDU promedio de los 9 híbridos fue de 47.68% con un rango de 44.18 a 52.24%. El porcentaje de EnDU observado para el híbrido WAC-685 fue mayor ($P < 0.05$) en 6.25, 7.28, 7.52 y 8.06% respecto a los híbridos P-8282, DK-2000, KS-955, y Ámbar. No se observaron diferencias ($P < 0.05$) entre WAC-685, Kilate, D-65, P-8418 y Marfil; sin embargo, WAC-685, Kilate y D-65 fueron diferentes ($P < 0.05$) respecto a KS-955, Ámbar y DK-2000.

Cuadro 6. Proporción de EnDU y EnBL de 9 híbridos de sorgo grano.

<i>Híbrido</i>	<i>Num. de fotografías</i>	<i>EnDU* promedio</i>	<i>EnBL* promedio</i>
WAC-685	20	52.24 ^a	47.76 ^a
D-65	20	50.79 ^{ab}	49.21 ^{ab}
KILATE	20	50.51 ^{ab}	49.49 ^{ab}
P-8418	20	48.64 ^{abc}	51.36 ^{abc}
MARFIL	20	47.12 ^{abc}	52.88 ^{abc}
P-8282	20	45.99 ^{bc}	54.01 ^{bc}
DK-2000	20	44.96 ^c	55.04 ^c
KS-955	20	44.72 ^c	55.28 ^c
ÁMBAR	20	44.18 ^c	55.82 ^c
Promedio		47.68	52.32
Desviación Estándar		2.98	2.98

* Literales distintas en la misma columna indican diferencias significativas entre medias ($P < 0.05$). EnDU: Endospermo Duro, EnBL: Endospermo blando.

El coeficiente de variación calculado para la prueba de proporción de EnDU:BL fue de 0.86 % para EnBL y de 0.25%, es decir que, para ambas

mediciones, fue menor a 1% (Cuadro 7).

Cuadro 7. Promedio, desviación estándar y coeficiente de variación debido a la medición del endospermo utilizando las modificaciones a la técnica de Kirleis *et al.*¹⁹

	Endospermo Blando (Píxeles)	Endospermo Total (Píxeles)
Promedio (n = 5)	1,788,231	2,699,497
Desviación estándar	15,537	6,795
Coeficiente de variación	0.86%	0.25%

6.2. Características físicas del grano de sorgo

El contenido de MS, PMG, TP, DEN, SA y P/g para los híbridos estudiados se reportaron en base húmeda y se muestran en el Cuadro 8. Los promedios de MS, PMG y DEN fueron 92.47 % \pm 0.49, 24.61 g \pm 1.56 y 1.299 g/cm³ \pm 0.02, respectivamente.

Cuadro 8. Características físicas de 9 híbridos de grano de sorgo

Híbrido	PMG g.	MS %	TP μ m	DEN g/cm ³
<i>P-8282</i>	22.37	92.43	3145	1.298
<i>DK-2000</i>	24.05	92.09	3237	1.263
<i>Kilate</i>	27.75	93.16	3290	1.309
<i>D-65</i>	24.20	92.45	3161	1.308
<i>WAC-685</i>	24.38	92.81	3167	1.318
<i>Ámbar</i>	25.98	91.65	3193	1.275
<i>P-8418</i>	23.88	92.31	3147	1.323
<i>KS-955</i>	25.29	92.21	3168	1.307
<i>Marfil</i>	23.55	93.13	3100	1.286
<i>Promedio</i>	24.61	92.47	3179	1.299
<i>Desviación estándar</i>	1.56	0.49	55.82	0.02

PMG: Peso de mil granos, MS: Materia Seca, TP: Tamaño de Partícula (Diámetro Medio Geométrico), DEN: Densidad Relativa.

El promedio del diámetro medio geométrico expresado como TP fue de 3179 μ m \pm 55.82. Los valores calculados de P/g fueron de 22 a 27 y de SA de 15.2-16.5 cm²/g (Cuadro 9).

Cuadro 9. Tamaño de partícula de 9 híbridos grano de sorgo

% Grano de sorgo entero									
	P-8282	Marfil	Ámbar	Kilate	KS-955	DK-2000	WAC-685	D-65	P-8418
>4.76 mm	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4.75-4.00 mm	0.03	0.00	0.00	0.04	0.00	0.03	0.08	0.02	0.00
3.99-3.36 mm	13.80	7.35	22.81	37.99	17.56	29.03	18.49	14.61	12.88
3.35-2.83 mm	84.55	90.06	75.50	61.59	81.23	70.41	79.19	85.18	86.48
2.82-2.38 mm	1.30	2.03	1.35	0.31	0.83	0.35	1.65	0.13	0.46
2.37-2.00 mm	0.28	0.47	0.27	0.06	0.33	0.16	0.56	0.05	0.16
<2.00 mm	0.04	0.09	0.06	0.01	0.04	0.02	0.03	0.01	0.02
% Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
TP (μm)	3145	3100	3193	3290	3168	3237	3167	3161	3147
SA ($\text{cm}^2/\text{g.}$)	16.0	16.5	16.3	15.2	15.8	16.0	15.7	15.5	15.5
P/g.	26	27	25	22	25	24	25	25	25
Desv.E.G.	1.09	1.10	1.10	1.09	1.09	1.09	1.09	1.07	1.07

TP: Tamaño de Partícula expresado como Diámetro Medio Geométrico, SA: Superficie de área, P/g: Partículas por gramo, Desv E.G: Desviación Estándar Geométrica.

6.3. Características químicas del grano de sorgo

Los valores encontrados de NT, FDN, FDA, CEL, HEMICEL, LIG, ALM, AlmS, AlmNS y TAN se muestran en el Cuadro 10. Todos estos valores se encuentran en porcentaje de MS.

El promedio de NT fue de 1.31 % \pm 0.07; de FDN de 19.17 % \pm 2.07; de FDA de 8.30 % \pm 0.49; de CEL 3.63 % \pm 0.41; de HEMICEL 10.87 % \pm 2.08; de LIG 4.54 % \pm 0.31, de ALM 69.58 % \pm 1.41; de AlmS 6.00 % \pm 0.49; de AlmNS 47.74 % \pm 2.14 y de la DRS de 66.04 % \pm 1.24.

Los valores obtenidos en la prueba de TAN con la prueba de vainillina modificada⁶⁵ al corregir con los blancos,⁷² fueron muy bajos (0.0000 a 0.0015 %, expresados en equivalentes de Catequina), por lo que se considera que los 9 híbridos no contenían taninos extractables.

Cuadro 10. Características químicas de 9 híbridos de grano de sorgo.^a

Híbrido	NT %	FDN %	FDA %	CEL %	HEMI CEL %	LIG %	ALM %	AlmS %	Alm NS %	DRS %	TAN (eqCat)
<i>P-8282</i>	1.32	19.03	8.62	3.94	10.41	4.52	68.19	5.98	52.03	68.42	0.0025
<i>DK-2000</i>	1.29	14.65	7.69	3.02	6.96	4.48	68.64	6.06	47.67	66.31	0.0015
<i>KILATE</i>	1.15	20.08	7.51	3.32	12.57	4.12	70.82	5.75	47.08	65.38	0.0005
<i>D-65</i>	1.25	21.80	8.30	3.91	13.50	4.28	71.78	5.65	46.07	64.31	0.0012
<i>WAC-685</i>	1.36	19.59	8.17	3.49	11.43	4.51	67.52	5.70	44.74	65.32	0.0000
<i>ÁMBAR</i>	1.32	20.02	8.09	3.12	11.93	4.94	70.27	7.19	49.85	67.14	0.0000
<i>P-8418</i>	1.36	18.39	8.93	3.98	9.46	4.77	70.65	5.83	46.57	65.00	0.0000
<i>KS-955</i>	1.36	20.97	8.45	4.14	12.51	4.24	69.68	5.64	48.15	65.98	0.0000
<i>MARFIL</i>	1.39	17.95	8.90	3.72	9.06	5.00	68.71	6.22	47.47	66.55	0.0000
Media	1.31	19.17	8.30	3.63	10.87	4.54	69.58	6.00	47.74	66.04	0.00
Desv Est	0.07	2.07	0.49	0.41	2.08	0.31	1.41	0.49	2.12	1.24	0.00

^a Valores reportados en base seca. NT: Nitrógeno total, FDN: Fibra detergente neutro, FDA: Fibra detergente ácido, CEL: Celulosa, HEMICEL: Hemicelulosa, LIG: Lignina, ALM: Almidón, AlmS: Almidón soluble, AlmNS: Almidón insoluble, DRS: Digestibilidad ruminal esperada, TAN: Taninos (expresados como equivalentes de catequina). Desv Est: Desviación estándar.

6.4. Correlaciones entre las características fisicoquímicas del grano de sorgo

Los coeficientes de correlación lineal (r de Pearson) encontrados entre los valores de todas las características medidas en los híbridos se muestran en el Cuadro 11. Las características físicas y químicas que estuvieron correlacionadas ($P < 0.05$) fueron:

FDA-CEL	($r = 0.75$)	FDA-NT	($r = 0.74$)	FDA-PMG	($r = -0.67$)
FDA-TP	($r = -0.70$)	FDA-P/g	($r = 0.79$)	DRS-EnBL	($r = 0.69$)
DRS-EnDU	($r = -0.69$)	DRS-AlmNS	($r = 0.90$)	DRS-SA	($r = 0.65$)
NT-TP	($r = -0.80$)	NT-P/g	($r = 0.81$)	NT-LIG	($r = 0.66$)
EnBL-AlmNS	($r = 0.73$)	EnBL-DEN	($r = -0.69$)	EnDU-AlmNS	($r = -0.73$)
EnDU-DEN	($r = 0.69$)	AlmS -LIG	($r = 0.70$)	AlmS-SA	($r = 0.65$)
AlmS-DEN	($r = -0.65$)	PMG-TP	($r = 0.88$)	HEMICEL-FDN	($r = 0.97$)

Cuadro 11. Coeficientes de correlación simple (Pearson) entre las características físicoquímicas del grano de sorgo

	ALM	CEL	EnBL	EnDU	FDA	FDN	HEM	LIG	MS	NT	PMG	DRS	Alm S	Alm NS	TAN	TP	SA	P/g.	
CEL	0.14																		
<i>P</i>	0.71																		
E B	-0.14	-0.11																	
<i>P</i>	0.72	0.77																	
E D	0.14	0.11	-1.00																
<i>P</i>	0.72	0.77	0.00																
FDA	0.10	0.75	0.10	-0.10															
<i>P</i>	0.80	0.02	0.79	0.79															
FDN	0.49	0.48	-0.34	0.34	0.10														
<i>P</i>	0.18	0.19	0.37	0.37	0.80														
HEM	0.51	0.30	-0.36	0.36	0.14	0.97													
<i>P</i>	0.16	0.43	0.34	0.34	0.72	0.00													
LIG	-0.24	0.14	0.33	-0.33	0.55	-0.34	-0.46												
<i>P</i>	0.53	0.72	0.38	0.38	0.13	0.38	0.21												
MS	0.14	0.15	-0.65	0.65	0.02	0.07	0.07	-0.21											
<i>P</i>	0.71	0.70	0.06	0.06	0.95	0.85	0.87	0.59											
NT	-0.54	0.32	0.32	0.32	0.74	-0.21	-0.38	0.66	-0.23										
<i>P</i>	0.13	0.40	0.40	0.40	0.03	0.59	0.31	0.05	0.55										
PMG	0.47	-0.42	-0.13	0.13	-0.67	0.34	0.50	-0.38	0.08	-0.61									
<i>P</i>	0.20	0.26	0.73	0.73	0.05	0.37	0.17	0.31	0.83	0.08									
DRS	-0.54	-0.13	0.69	-0.69	0.13	0.29	-0.32	0.36	-0.26	0.26	-0.32								
<i>P</i>	0.13	0.74	0.04	0.04	0.74	0.45	0.40	0.33	0.50	0.50	0.39								
AlmS	-0.02	-0.54	0.58	-0.58	-0.05	0.16	-0.15	0.70	-0.52	0.18	0.12	0.54							
<i>P</i>	0.97	0.13	0.11	0.11	0.91	0.68	0.70	0.04	0.15	0.65	0.76	0.14							
AlmNS	-0.15	0.03	0.73	-0.73	0.13	-0.08	-0.11	0.19	-0.41	0.04	0.22	0.90	0.49						
<i>P</i>	0.69	0.94	0.02	0.02	0.75	0.84	0.78	0.62	0.28	0.92	0.56	0.00	0.18						
TAN	0.18	-0.30	-0.01	0.01	-0.49	-0.34	-0.22	-0.42	-0.13	-0.50	-0.13	-0.16	-0.21	-0.05					
<i>P</i>	0.65	0.43	0.98	0.98	0.18	0.37	0.56	0.26	0.74	0.17	0.74	0.67	0.60	0.90					
TP	0.43	-0.32	-0.30	0.30	-0.70	0.41	0.57	-0.56	0.17	-0.80	0.88	-0.22	-0.07	-0.04	-0.04				
<i>P</i>	0.25	0.40	0.43	0.43	0.04	0.27	0.11	0.11	0.67	0.01	0.00	0.56	0.85	0.92	0.93				
SA	-0.49	-0.20	0.64	-0.64	0.30	-0.38	-0.45	0.72	-0.23	0.61	-0.39	0.65	0.66	0.43	-0.16	-0.48			
<i>P</i>	0.18	0.60	0.06	0.06	0.41	0.31	0.22	0.03	0.55	0.08	0.29	0.05	0.05	0.24	0.68	0.18			
P/g.	-0.37	-0.35	0.34	-0.34	0.79	0.10	0.29	0.74	-0.08	0.81	0.70	0.40	0.31	0.25	-0.33	-0.92	0.79		
<i>P</i>	0.31	0.36	0.37	0.37	0.01	0.79	0.45	0.02	0.84	0.00	0.04	0.28	0.41	0.52	0.38	0.00	0.01		
DEN	0.23	0.64	-0.69	0.69	0.30	0.58	0.51	-0.34	0.40	-0.04	0.06	-0.54	-0.65	-0.44	-0.40	0.25	-0.72	-0.22	
<i>P</i>	0.55	0.06	0.03	0.03	0.42	0.10	0.16	0.37	0.29	0.92	0.87	0.14	0.05	0.24	0.28	0.52	0.03	0.56	

En **Negritas**: Correlación significativa ($P < 0.05$), *P*: Valor de significancia, ALM: Almidón, CEL: Celulosa, EnBL: Endospermo Blando, EnDU: Endospermo Duro, FDA: Fibra Detergente Ácido, FDN: Fibra Detergente Neutro, HEM: Hemicelulosa, LIG: Lignina, MS: Materia Seca, NT: Nitrógeno Total, PMG: Peso de mil granos, DRS: Digestibilidad Ruminal Esperada, AlmS: Almidón soluble, AlmNS: Almidón Insoluble, TAN: Taninos, TP: Tamaño de Partícula (Diámetro Medio Geométrico), SA: Superficie de área, P/g: Partículas por gramo, DEN: Densidad Relativa

6.5. Ecuaciones de regresión lineal simple.

Aún cuando se estableció una gran cantidad de correlaciones significativas, algunas no son precisamente relaciones debidas a diferencias entre híbridos, sino al tipo de prueba realizada; por ejemplo, las relaciones entre la DRS-AlmS y entre DRS-AlmNS se deben a que el valor de DRS se calculó a partir de una fórmula que incluye los valores de AlmS y AlmNS, lo mismo ocurre con la relación entre HEMICEL-FDN ya que la hemicelulosa se calcula a través de la resta de la FDN y la FDA; la relación entre la FDA-CEL es obvia, debido a que en la prueba para determinar la celulosa, se incineró el residuo obtenido en la prueba de FDA y la fórmula para obtener el porcentaje de CEL utiliza el peso de la FDA. En el caso de las relaciones con ED y EB, los coeficientes de correlación tienen la misma intensidad pero en sentido contrario, es decir, si la relación con alguna característica fue inversamente proporcional para EnBL, entonces, era directamente proporcional para EnDU con el mismo valor absoluto, por esto, no fue necesario establecer ecuaciones para ambos (EnDU y EnBL) y se resolvió determinar solo las ecuaciones que incluyeran a uno de ellos, seleccionando al EnDU. Así, se calcularon las ecuaciones para el resto de las correlaciones significativas encontradas, y no, para las correlaciones ya mencionadas.

Las ecuaciones de regresión lineal simple establecidas corresponden a las correlaciones de: DRS-EnDU, DRS-SA, EnDU-AlmNS, EnDU-DEN, AlmS-LIG, AlmS-SA, AlmS-DEN, NT-TP, NT-P/g, NT-LIG, FDA-NT, FDA-PMG, FDA-TP, FDA-P/g y PMG-TP.

a) Ecuación para DRS-EnDU.

$$\text{DRS esperada} = 79.6309 - (0.2849 * \text{EnDU})$$

Esta ecuación y la correlación inversamente proporcional encontrada entre EnDU-DRS señalaron que por cada 1% que aumentó el EnDU, la DRS disminuyó 0.28% ($p < 0.04$). El coeficiente de determinación ($r^2 = 0.47$) indicó que el 47% de la variación total de la DRS puede deberse a la variación en el contenido de EnDU (Figura 4).

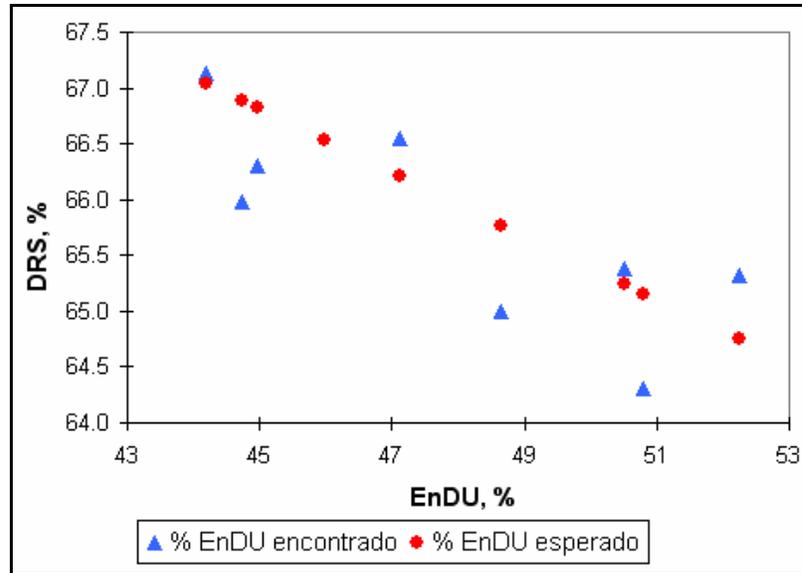


Figura 4. Curva de regresión que muestra los valores DRS (*Eje y*) encontrados y esperados, respecto a EnDU (*Eje x*).

b) Ecuación para DRS-SA:

$$\text{DRS esperada} = 35.0927 + (1.9548 * \text{SA})$$

Esta ecuación y la correlación positiva encontrada entre EnDU-DRS señalaron que por cada cm^2/g que aumentó la SA, se incrementó la DRS 1.9548 % ($p < 0.05$). El coeficiente de determinación ($r^2 = 0.42$) indicó que el 42 % de la variación total de la DRS se puede explicar mediante esta ecuación.

c) Ecuación para AlmNS-EnDU

$$\text{AlmNS esperado} = 72.8770 - (0.5272 * \text{EnDU})$$

Esta ecuación y la correlación negativa entre EnDU-AlmNS señalaron que por cada 1 % que se incrementó el EnDU, el AlmNS disminuyó 0.5272 % ($p < 0.05$). El coeficiente de determinación ($r^2 = 0.54$) indicó que el 54 % de la variación total del AlmNS puede explicarse por el tipo de endospermo presente en el grano.

d) Ecuación para DEN-EnDU:

$$\text{DEN esperada} = 1.0755 + (0.0047 * \text{EnDU})$$

La ecuación y la correlación positiva establecidas entre la DEN y el EnDU señalaron que por cada 1 % que aumentó el EnDU, la DEN aumentó 0.0046 g/cm^3 ($p < 0.05$). El coeficiente de determinación ($r^2 = 0.48$) indicó que el 48% de la variación total de la DEN se debe al tipo de endospermo presente en el grano.

e) Ecuación para AlmS-LIG

$$\text{AlmS esperado} = 1.0154 + (1.0986 * \text{LIG})$$

La ecuación y la correlación positiva establecidas entre el AlmS y LIG señalaron que por cada 1 % que aumentó la LIG, el AlmS aumentó 1.0986% ($p < 0.05$). El coeficiente de determinación ($r^2 = 0.48$) indicó que el 48% de la variación total del AlmS puede calcularse mediante esta ecuación.

f) Ecuación para AlmS-SA

$$\text{AlmS esperado} = -6.4262 + (0.7849 * \text{SA})$$

La correlación establecida indicó que la relación entre AlmS y SA es directamente proporcional. Aunque la variable dependiente debió establecerse como SA, se prefirió como variable dependiente al AlmS ya que la prueba para determinar AlmS es más compleja; así se consideró más útil una ecuación que predijera AlmS ($p < 0.05$). En este caso, la ecuación establecida explica el 44% de la variación en el AlmS ($r^2 = 0.44$).

g) Ecuación para AlmS-DEN

$$\text{AlmS esperado} = 26.7694 - (15.99 * \text{DEN})$$

La relación entre AlmS y DEN es inversamente proporcional. Al igual que en la ecuación anterior, la variable dependiente fue establecida como AlmS para obtener una ecuación que pudiera predecir el AlmS por medio de técnicas más sencillas como lo es, la determinación de la DEN. La ecuación establecida ($p = 0.05$) explicó el 43 % de la variación total del AlmS ($r^2 = 0.43$).

h) Ecuación para TP-NT

$$\text{TP esperado} = 3961.7861 - (597.7094 * \text{NT})$$

Esta ecuación y la correlación inversamente proporcional encontrada entre TP-NT señalaron que por cada 1 % que aumentó el NT, disminuyó el TP 597.7094 μm ($p < 0.05$). El coeficiente de determinación ($r^2 = 0.63$) indicó que el 63 % de la variación total del TP puede ser explicada por esta ecuación.

i) Ecuación para P/g-NT

$$\text{P/g esperadas} = 6.4323 + (14.0363 * \text{NT})$$

Esta ecuación y la correlación directamente proporcional encontrada entre

P/g-NT señalaron que por cada 1 % que aumentó el NT, aumentaron 14.0363 P/g ($p < 0.05$). El coeficiente de determinación ($r^2 = 0.66$) indicó que el 66 % de la variación total de las P/g puede explicarse por esta ecuación.

j) Ecuación para NT-LIG

$$\text{NT esperado} = 0.5884 + (0.1590 * \text{LIG})$$

La ecuación y la correlación directamente proporcional encontrada entre NT-LIG indicaron que por cada 1 % que aumentó el contenido de LIG, el % de NT aumentó 0.1590% ($p < 0.05$). El coeficiente de determinación ($r^2 = 0.44$) señaló que el 44 % de la variación en el contenido de NT puede deberse al contenido de LIG en las muestras.

k) Ecuación para NT-FDA

$$\text{NT esperado} = 0.40 + (0.11 * \text{FDA})$$

La ecuación y la correlación directamente proporcional encontradas entre NT-FDA señaló que por cada 1 % que aumentó la FDA, el valor de NT se incrementó 0.11 % ($p < 0.05$). El coeficiente de determinación ($r^2 = 0.53$) señaló que el 53 % de la variación de NT puede deberse al contenido de FDA.

l) Ecuación para PMG-FDA

$$\text{PMG esperado} = 42.2002 - (2.1210 * \text{FDA})$$

La ecuación establecida y la correlación directamente proporcional encontrada entre PMG-FDA señaló que por cada 1 % que aumentó la FDA, el valor de PMG aumentó 2.1210 g ($p < 0.05$). El coeficiente de determinación ($r^2 = 0.45$) señaló que el 45 % de la variación de PMG puede deberse al contenido de FDA.

m) Ecuación para FDA-TP

$$\text{TP esperado} = 4056.2446 - (105.7782 * \text{FDA})$$

La ecuación establecida y la correlación inversamente proporcional encontrada entre TP-FDA señaló que por cada 1 % que aumentó la FDA, el TP disminuyó 105.7782 μm ($p < 0.05$). El coeficiente de determinación ($r^2 = 0.86$) señaló que el 86 % de la variación de TP se debe al contenido de FDA.

n) Ecuación para P/g-FDA

$$P/g \text{ esperadas} = 7.7171 + (2.0618 * FDA)$$

La ecuación y la relación directamente proporcional encontradas para P/G-FDA indican que por cada 1 % que aumentó el contenido de FDA, el valor de P/G aumentó 2.0618 el número de P/g ($p < 0.05$). El coeficiente de determinación obtuvo un valor de $r^2 = 0.62$, que indicó que el 62 % de la variación en P/g puede deberse al contenido de FDA de las muestras.

o) Ecuación para TP-PMG

$$TP \text{ esperado} = 2438.07 + (29.65 * PMG)$$

Esta ecuación y la correlación positiva encontrada entre TP-PMG señalan que, por cada gramo que aumente el PMG, el TP aumenta $29.65 \mu\text{m}$ ($p = 0.001$). El coeficiente de determinación ($r^2 = 0.77$) indicó que el 77 % de la variación total del TP puede ser explicada por la ecuación establecida.

Como se lograron establecer correlaciones entre las características fisicoquímicas medidas y se generaron ecuaciones de regresión lineal simple, se probó obtener una ecuación de regresión lineal múltiple por pasos (*Stepwise linear regression*) con el programa Statistix Ver. 8;⁷⁸ estableciendo como variables independientes: EnDU, EnBL, MS, TP, DEN, PMG, SA, P/g, NT, CEL, HEMICEL, LIG, ALM, FDA y FDN; y como variable dependiente la DRS; pero esta ecuación no pudo establecerse.

7. DISCUSIÓN

7.1. Proporción de endospermo duro:blando

El promedio de los 9 híbridos para porcentaje de EnDU fue de 47.68% \pm 2.98 con un rango de 44.9 a 52.24%. Kirleis *et al.*¹⁹ encontraron valores de 9-16%, 26-29%, 45-51%, 58.3-62% hasta 63% de EnDU en cinco distintas variedades de sorgo grano; Chandrashekar y Kirleis²⁶ calcularon el EnDU utilizando una ecuación de predicción basada en la densidad del grano en 9 híbridos, obteniendo valores de 8, 38, 41, 43, 48, 50, 54, 57 y 58%; los valores encontrados en el presente estudio coinciden con algunos híbridos mencionados por estos autores, aunque, los híbridos aquí utilizados presentaron valores de 52.24 a 44.96%, que son más homogéneos y menos dispersos que los señalados por aquellos autores. El híbrido WAC-685 obtuvo la mayor proporción de EnDU respecto a los híbridos P-8282, KS-955, Ámbar y DK-2000; los híbridos Kilate y D-65 obtuvieron valores superiores a los híbridos mencionados y similares al híbrido WAC-685 ($P < 0.05$). Se ha mencionado que la proporción de EnDU:BL, también conocida como grado de vitrosidad o dureza, se modifica de acuerdo a la variación genética dentro de la misma especie, como se ha demostrado en el maíz, donde esta vitrosidad es mayor para la variedad de maíz duro (*flint*) que para la variedad maíz dentado; también se ha dicho que la proporción EnDU:BL puede aumentar conforme aumenta la maduración del grano y su fertilización con nitrógeno.³ Estas diferencias entre la proporción de EnDU:BL influyen en la digestibilidad del grano como lo demostraron Correa *et al.*²⁹ que encontraron una correlación entre EnDU y la disponibilidad de almidón ruminal *in vitro* en maíz de 0.93.²⁹ y Corona *et al.*³⁰ que encontraron que el 90% de la variación en la DRS se explica por la proporción de EnDU:BL ($DRS = 78.91 - 18.13 * \text{EnDU}$; $P < 0.05$) en cuatro híbridos de maíz amarillo con diferencias en proporción de EnDU:BL (de 55 a 65%).

Aunque la técnica de Kirleis *et al.*¹⁹ es muy útil para medir cuantitativamente las áreas de EnDU y EnBL de grano de sorgo, el uso del planímetro requiere de experiencia para su utilización; se necesita mucha precisión manual durante las

mediciones; además, durante el trazo con el planímetro por todo el perímetro, las mediciones pueden variar notablemente por cualquier interrupción o movimiento brusco de la mano, por lo que se recomienda medir tres o más veces la misma área y promediar los valores más próximos (al menos dos) para tener un valor más exacto. Esto limita en cierta forma la utilización de ésta técnica, además, la proyección en papel de la imagen obtenida en el microscopio con el uso de un microscopio y una cámara lúcida requiere de un espacio dentro del laboratorio donde el microscopio no tenga ningún movimiento y permanezca siempre orientado en el mismo eje respecto al sitio de proyección (una hoja fija a la pared donde se dibujan los contornos). Otro factor que podría considerarse impráctico es el de lijar las muestras para exponer el germen y endospermo; ya que hace más largo este proceso.

La modificación realizada en este trabajo a ésta técnica, sustituyendo la exposición del centro del germen y endospermo con lija por el corte con bisturí (Figura 5); la sustitución de la proyección de la cámara lucida por el uso de microfotografías digitales y la sustitución de la medición de las áreas con el planímetro por el uso de la computadora y el software Adobe® Photoshop® Elements⁷⁶ puede hacer a la técnica, más práctica y rápida, debido a varias razones: las fotografías pueden ser evaluadas en cualquier momento, se pueden revertir las modificaciones hechas en las mismas sin alterar la imagen original; la delimitación de las áreas no requiere de un trazo o movimiento de la mano continuo a través de todo el perímetro del área a medir; el microscopio, la computadora y la cámara son aparatos cada vez más utilizados en el laboratorio, que permiten el cálculo de las áreas de EnDU y EnBL de una modo tan eficiente a la que se puede realizar con el planímetro.

Kirleis *et al.*¹⁹ reportan cierta dificultad para distinguir las áreas de EnBL y EnDU en sorgos con mayor proporción de EnBL, el uso de fotografías de alta definición puede hacer que esta dificultad sea menor. Se ha estudiado previamente el corte longitudinal con bisturí y la extracción de las fracciones de endospermo genera valores similares a la exposición del endospermo con lija, con

poca variación en el maíz (<1%).⁸⁰ En el presente trabajo, se observó un coeficiente de variación menor a 1% lo que indica que la delimitación de las áreas de la forma aquí utilizada, puede considerarse confiable.



Figura 5. Fotografía de portaobjetos con granos de sorgo fijados con resina epóxica y cortados con bisturí.

Aunque la extracción y separación de las fracciones de endospermo que parece ser una técnica más exacta⁸¹ que la técnica de Kirleis *et al.*¹⁹ no pudo realizarse en los híbridos de sorgo, ya que el tamaño y forma del mismo hicieron muy complicada su manipulación.

7.2. Características físicas del grano de sorgo

Materia Seca. El promedio encontrado en este trabajo de 92.47% es superior a los valores reportados por Feedstuffs (2006)³⁴ de 89%, por McCollough⁴⁰ de 87.7-91.4%; por Yang y Seib⁸² de 86.67% \pm 0.18; además supera al promedio reportado por Drinah⁸³ en 10 híbridos de sorgo de 90.3%. Esto puede deberse a que el sorgo, como el resto de los alimentos está sujeto a cambios por las condiciones de almacenamiento previas al análisis; aunque también puede deberse a la proporción de EnDU:BL que presenta cada híbrido. Rooney y

Pflugfelder²¹ mencionaron que, durante el desarrollo del grano, el agua se moviliza y almacena mayormente en el EnBL debido a su estructura más laxa; esto no puede ser explicado por los resultados obtenidos en este estudio ya que la correlación entre EnBL-MS no fue significativa ($r=0.65$; $p=0.06$); un mayor número de híbridos y mediciones podrían ayudar a explicar si esta relación existe realmente.

Tamaño de Partícula. Dentro de la descripción del sorgo, algunos autores mencionan el diámetro del grano, como en el caso de Bennet² que menciona un diámetro de 3-6mm y Dicko³ de 4-8mm, aunque ninguna menciona al método de medición utilizado. La prueba de TP se describe como una herramienta útil para conocer el diámetro y grado de molienda en las partículas de harina o del grano rolado.⁶⁹ Para el grano entero es mucho menos frecuente el uso de ésta prueba, por lo que, los resultados obtenidos en este estudio pueden ser útiles como una nueva referencia sobre esta determinación. El valor de TP promedio fue de 3.179 ± 0.005 mm, este se encontró cerca del valor mínimo (3mm) señalado por Bennet (1990)², lo anterior indicaría que los híbridos utilizados en este trabajo son de talla pequeña; sin embargo, la variación observada muestra que es necesario medir un mayor número de híbridos y variedades de sorgo cultivadas bajo las mismas condiciones. Como se observa en el Cuadro 11, el TP presentó correlaciones significativas con algunas otras determinaciones como NT, FDA y PMG, lo que indica que la determinación del TP en grano entero puede utilizarse como prueba alternativa para valorar al sorgo.

Peso de Mil Granos. El valor promedio encontrado ($24.61g \pm 1.56$), fue similar a los valores de 20-30g registrados por Magness *et al.*⁸⁴ y menor al valor promedio publicado por Buffo *et al.*³² de 31.21 ± 2.79 , en 46 híbridos evaluados. Debe señalarse que la técnica para la determinación del PMG utilizada por estos autores es distinta a la empleada en el presente trabajo, ya que ellos contaron y pesaron 100 granos y el resultado lo multiplicaron por 10. En cambio, en la presente investigación, se contaron y pesaron 1000 granos al azar, como lo marca la técnica del Rice Knowledge Bank.⁶⁸ La medición del PMG es una medida

relativa del tamaño del grano, lo anterior quedó demostrado por el presente estudio ya que la correlación registrada entre el TP y el PMG fue de 0.88, y un coeficiente de determinación $r^2=0.77$ por lo que la ecuación de regresión establecida entre estas dos variables fue: $TP = 2438.07 + (29.65 * PMG)$, tales valores de TP promedio, esto no han sido establecidos en trabajos previos, por lo que la ecuación puede servir de referencia para determinaciones posteriores del tamaño y peso del grano entero de sorgo.

Densidad Relativa. El promedio de DEN ($1.299 \text{ g/cm}^3 \pm 0.02$) es inferior a los valores de DEN reportados por McCollough⁴¹ que registró la densidad medida con picnómetro multivolumétrico por desplazamiento de nitrógeno de 1.37-1.39 g/cm^3 . Buffo *et al.*³² estudiaron 46 híbridos y registraron la densidad absoluta del sorgo medida con picnómetro multivolumétrico de 1.347 ± 0.016 ; la cual es similar a la DEN obtenida por Chandrashekar y Kirleis²⁶ de 1.14 a 1.37 g/cm^3 estos últimos resultados coinciden con los valores encontrados en el presente estudio, sin embargo aquellos autores utilizaron sorgo sin pericarpio y testa; además, no describieron la técnica utilizada para medir la densidad. Estas diferencias entre las técnicas utilizadas para medir DEN, así como las diferencias entre las sustancias utilizadas (Nitrógeno, xileno, agua destilada, etc.) hacen difícil la comparación entre los valores encontrados con el resto de la información publicada al respecto. Se puede suponer que la determinación de la densidad con agua subestima el valor de la DEN, y esto puede deberse a que la penetración a los poros del grano depende de la tensión superficial del agua y de otras interacciones que puedan ocurrir durante el contacto del grano con el agua, como la formación de burbujas, o la disolución de algún componente del pericarpio; que no fueron medidas ni controladas; esto podría comprobarse evaluando distintas técnicas y soluciones utilizadas para la medición de la DEN en el sorgo.

De acuerdo con Chandrashekar y Kirleis,²⁶ la determinación de la densidad es útil para calcular la proporción de EnDU en el grano de sorgo. Los coeficientes de correlación encontrados aquí para DEN-EnBL ($r=-0.69$) y DEN-EnDU($r=0.69$); coinciden con esto. Maxson *et al.*³¹ obtuvieron una correlación entre DEN-EnDU

mayor a la del presente estudio ($r=-0.95$ $p<0.001$), aún cuando los valores de encontrados aquí son inferiores, tuvieron un valor de correlación consistente. La ecuación calculada ($DEN = 1.0755 + 0.0047*EnDU$) obtuvo un avalor de determinación de 48%; que indicó que el aumento en la proporción de ENDU aumenta la DEN del grano y que el 48% de este cambio puede ser explicado por esta ecuación. Esta relación directamente proporcional entre DEN-EnDU ha sido atribuida a que el EnDU contiene una mayor proporción de proteínas³⁰ y la matriz está en forma continua,³⁴ lo que provoca una estructura más compacta. Algunos autores han mencionado que existe una relación entre NT-DEN como Buffo *et al.*³² que encontraron una correlación entre Densidad-PC de 0.53; esto no está bien aclarado ya que otros autores como Dorsey-Redding *et al.*²⁷ encontraron una correlación entre Densidad-PC de $r=-0.33$ y $r=-0.39$ en el maíz; en este trabajo no se encontró alguna correlación ($P<0.05$) con NT.

7.3. Características químicas del grano de sorgo

Nitrógeno Total. Los valores registrados en este trabajo tuvieron un promedio de 1.31% ± 0.07 con valores entre 1.15 a 1.39% los cuales coinciden con Chandrashekar *et al.*²⁶ quienes obtuvieron valores entre 1.32-1.39%; sin embargo, son inferiores a los valores (registrados como PC y convertidos a NT dividiéndolos entre 6.25) publicados por otras fuentes: 1.67-2.06% (Mossé *et al.*),⁵² 1.76% (Feedstuffs, 2006),³⁴ 1.98% (NRC, 1985),⁸⁵ 1.78-2.64% (Hibberd),⁴⁹ y 2.02-2.32 (Bello).²³ Aunque se ha dicho que un menor porcentaje de proteína puede deberse a condiciones favorables en el cultivo que permiten un mayor almacenamiento de almidón en el grano durante su desarrollo;³² en el presente estudio, la correlación encontrada entre ALM y PC no fue significativa, por lo que no puede comprobarse lo explicado anteriormente por Buffo *et al.*³² Se ha estudiado que el contenido de nitrógeno puede modificarse por medio del control agronómico de los cultivos del sorgo; la cantidad de proteína contenida en el grano varía de acuerdo a las condiciones ambientales, fertilización del suelo, temperatura y genotipo.^{2,10,82}

Fracciones de la Fibra. La determinación de FDN y FDA en los cereales no es muy común debido a que: a) Su contenido de fibra es muy bajo y b) el sorgo es

utilizado en las dietas como fuente de energía y el aporte de fibra es cubierto por el resto de los componentes de la ración; comúnmente, solo se menciona el contenido de FC y no, el contenido de sus fracciones; por ejemplo, el cuadro de alimentos de Feedstuffs (2006)³⁴ señala un contenido de FC de 2% en el sorgo. Los valores encontrados aquí, de 19.17% de FDN y 8.3% de FDA son muy similares a los valores encontrados en Feedstuffs (1993),³³ de 19% de FDN y 6% de FDA. Se sabe que la mayor parte de la fibra se encuentra en el pericarpio (82.3%) y que la mayoría de esta puede considerarse fibra insoluble. Además, el sorgo contiene lignina, que constituye el 20% de la pared celular.³ Esta evaluación de las fracciones de la fibra podría ser útil para determinar la cantidad de pericarpio presente.

Las correlaciones establecidas entre FDA-CEL($r=0.75$), FDA-NT($r=0.74$) y entre LIG-NT($r=0.66$) se deben a que, en la determinación de la FDA⁶⁷ se aísla un material insoluble conocido como FDA que contiene principalmente CEL, LIG y Nitrógeno ligado a ésta.⁸⁶ La relación entre NT-LIG tiene especial importancia, debido a que el nitrógeno unido a la LIG es completamente inutilizable debido a que forma uniones que no pueden romperse por acción enzimática.⁸⁶ Debe recordarse que, cuando la valoración de la proteína de un alimento se basa en el análisis de PC del análisis químico proximal, se determinan todos los compuestos nitrogenados y no indica el contenido de proteína verdadera o proteína digestible; por lo tanto, el porcentaje de NT es poco consistente para un diagnóstico confiable del contenido y calidad de la proteína; la relación encontrada entre LIG-NT ilustra estas afirmaciones.

Para comprender la relación entre FDA-PMG y FDA-TP se debe tomar en cuenta que los valores de FDA son proporcionales al resto de los componentes del grano, lo que no ocurre en el caso del PMG y el TP. También puede suponerse que granos más pequeños, tengan una proporción de pericarpio y testa mayor debido a una acumulación deficiente de otros compuestos nutritivos como almidón o proteína, durante el desarrollo del grano. La relación establecida entre HEMICEL-FDN se debió a que la determinación de la hemicelulosa se basó en la

sustracción del valor de FDA al valor de FDN; tomando en cuenta cuales son los principales componentes de la FDN: Celulosa, hemicelulosa y lignina, se considera entonces que, conforme aumenta el valor de la hemicelulosa, aumenta la cantidad de FDN contenida en el grano, esto debería ocurrir también y ocasionar una relación positiva entre CEL-FDN y HEMICEL-FDN; esto no ocurre así, ya que el valor de hemicelulosa es solo teórico, a diferencia del valor de celulosa y lignina que son calculados mediante procedimientos de laboratorio y que incluyen a otros compuestos no determinados, como es el caso del sílice y minerales para la lignina o de nitrógeno asociado y cutína,⁸⁶ por ello estas relaciones no se establecen tan fácilmente.

Almidón. El promedio de ALM (69.58%) obtenido en los híbridos de la presente investigación es inferior al los valores encontrados por Yang y Seib⁸² (74.9-79.4%) y es superior a los valores reportados por Black *et al.*³⁵ (63%). Al respecto, Drinah⁸³ publicó promedios de 67.4% y 73.6% para híbridos cultivados y cosechados en dos años subsecuentes. Hibberd *et al.*⁴⁸ mencionaron un promedio de ALM de 61.9-83% que atribuyeron a la diferencia genética entre híbridos y a las prácticas de fertilización. El tipo de análisis utilizado también pudo provocar estas diferencias entre los valores de almidón encontrados en el presente trabajo y en estudios anteriores; ya que algunos están basados en el análisis No.76-11 descrito por el AOAC (1990)⁶⁷ En la presente investigación se utilizó la técnica descrita por Zinn (1990).⁷² El contenido de ALM no presentó ninguna correlación significativa con el resto de las características medidas, por lo que, no es posible estimar el valor de la cantidad de almidón contenido en el grano por medio de determinaciones indirectas del resto de los compuestos y coincide con la idea expuesta por Hibberd *et al.*⁴⁸ quienes señalan que el contenido de almidón no afecta la digestibilidad del mismo, sino que son otros factores los que pueden modificar la digestibilidad del almidón como la proporción de EnDU:BL evaluada en este estudio, y que sí estuvo correlacionada con la DRS y con el AlmNS. La ausencia de relación entre el contenido de almidón y el resto de las características medidas en este trabajo, sugieren que la acumulación de almidón en el grano es

independiente del resto de los componentes del mismo.

Digestibilidad Ruminal *In vitro* del Almidón. La digestibilidad *in vitro* del almidón (estimada como DRS) obtuvo un promedio de 66.04%, éste valor es inferior al encontrado por Salinas *et al.*⁸⁷ de 72.1% para sorgo rolado, esto se debe a que el AlmS, en el presente trabajo, tuvo un valor (6.0 %) que resultó inferior al valor obtenido (9.0%) por aquellos autores. Aún así, la cantidad de AlmS fue superior al valor obtenido por Zinn,⁸⁸ de 5.03 % para sorgo molido. El valor de AlmNS (47.74%) fue inferior al valor reportado por Salinas *et al.*⁸⁷ de 64.7% para sorgo rolado.

La digestibilidad ruminal *in vitro* obtenida en este trabajo es superior a otros valores publicados por Black³⁵ de digestibilidad *in situ* de 62%, y de digestibilidad *in vitro* para sorgos *céreo*, *no-céreo* y normal de 56, 36 y 30% respectivamente; sin embargo, los valores de digestibilidad ruminal pudieron variar por las diferencias en el método utilizado para su estimación, que se han encontrado en las determinaciones *in vivo* (por la especie animal) *in situ* (por el sitio de canulación) e *in vitro* (por el tipo de enzimas o líquido ruminal utilizado).

La correlación encontrada en el presente trabajo de DRS-EnDU ha sido publicada por algunos autores en maíz. Corona *et al.*³⁰ establecieron una ecuación de regresión: $DRS = 78.91 - (18.13 * EnDU)$, con la que pudo explicarse que el 90% de la variación de la DRS en el maíz debido a la diferencia en la proporción de EnDU:BL. Correa *et al.*²⁹ obtuvieron una correlación de 0.93 entre EnDU-DRS; Philippeau *et al.*²⁸ indicaron una correlación entre la degradabilidad ruminal *in situ* y el EnDU de 0.89. La causa de esta correlación se atribuyó a que el EnBL, por su estructura más laxa, permite una mayor accesibilidad de las enzimas digestivas al almidón;⁴⁹ además, puede deberse a que en el EnDU, la matriz proteínica que rodea el almidón del sorgo y del maíz es más densa y esto contribuya a la menor digestibilidad de esta porción.^{39,21} Corona *et al.*³⁰ registraron mayor contenido de nitrógeno en la porción de EnDU, lo cual confirma lo anterior; sin embargo, en el presente trabajo no se determinó el contenido de nitrógeno por cada fracción sino en todo el grano y no se observó alguna relación entre NT-DRS, y NT-EnDU. Esto

último coincide con Hibberd *et al.*⁴⁹ quienes señalaron que no puede establecerse la relación entre Digestibilidad-PC porque la proteína contenida en el almidón no es exactamente el factor que influye en la digestibilidad del grano, sino que son otros factores en conjunto; como la solubilidad y digestibilidad de la proteína; los que modifican esta digestibilidad. Otros autores mencionan que el tipo de encapsulamiento de gránulos de almidón y el porcentaje y tipo de kafirinas presentes también influyen en esta relación.^{35,51,53,62} Existen muchos factores, además de los ya mencionados, como las diferencias en la accesibilidad y tiempo de unión de las enzimas a su sustrato y la proporción de amilopectina y amilosa que también producen cambios en la digestibilidad del almidón.⁴⁹ Si se consideran que son muchos y muy diversos todos los factores involucrados en la digestibilidad del almidón, se explica porque el valor de determinación para la correlación encontrada en el presente trabajo es de 47%, esto señala que diferencia en la digestibilidad del almidón de sorgo depende 47% de la proporción de EnDU:BL.

Taninos. El Método de vainillina acidificada modificado⁶⁶ seleccionado para determinar taninos ha sido calificado anteriormente como el más específico y confiable,⁷³ siempre que se utilicen blancos para color de fondo ya que los pigmentos del sorgo tienen una longitud de onda igual a la longitud de onda de la vainillina (630nm). Tomando en cuenta estas recomendaciones;⁷³ en el presente estudio se obtuvieron valores muy bajos de taninos expresados como equivalentes de catequina, por lo que se asumió que los 9 híbridos de sorgo no contenían taninos extractables. Durante muchos años se estudió y comprobó que el sorgo podía contener una cantidad variables de taninos, y que conforme aumentaba su contenido se presentaban respuestas adversas en la producción animal; con el paso del tiempo, se han creado variedades modernas de sorgo que no contienen taninos o que los contienen en muy bajas cantidades;⁶³ a esto puede atribuirse, el hecho de no encontrar taninos en los híbridos utilizados en esta investigación. Aunque actualmente existen híbridos “altos en taninos”; su cultivo es cada vez menor y comúnmente la empresa productora de semillas conoce esta característica de contenido de taninos y la reporta a sus clientes.

8. CONCLUSIONES

- Se encontraron diferencias en la proporción de EnDU:BL entre algunos híbridos de grano de sorgo.
- Existen múltiples relaciones significativas entre las distintas características físicas y químicas del grano de sorgo que pueden ser determinadas por medio de ecuaciones de regresión lineal simple, como las establecidas en este trabajo.
- La proporción de EnDU:BL es una de las variables determinantes en la predicción de la digestibilidad ruminal del almidón de sorgo; ya que, al aumentar el contenido de EnDU, la DRS disminuye proporcionalmente; en donde el 47% de las diferencias encontradas en la digestibilidad ruminal del almidón del sorgo son atribuibles a la proporción de EnDU:BL, este valor puede servir como un indicador de la digestibilidad de híbridos de grano de sorgo.
- Las modificaciones realizadas a la técnica de Kirleis *et al.*¹⁹ para la determinación de la proporción de EnDU:BL en el presente estudio pueden utilizarse como una nueva herramienta para conocer la proporción de EnDU:BL por medio de imágenes digitales para el análisis de híbridos de sorgo, que puede ser útil en estudios posteriores.

Recomendaciones

- Evaluar una mayor cantidad de híbridos para establecer la relación de sus características fisicoquímicas con la proporción de endospermo duro:blando y la digestibilidad del almidón.
- Estudiar híbridos de grano de sorgo cultivados bajo condiciones similares de medio ambiente, manejo del cultivo, fertilización, etc.

9. REFERENCIAS

1. Hahn DH, Rooney LW. Effect of genotype on tannins and phenols of sorghum. *Cereal Chemistry* 1986;63(1):4-8.
2. Bennet WF, Tucker BB, Maunder AB. *Modern Grain Sorghum Production*. 1a ed. Iowa State University Press, USA, 1990.
3. Dicko MH, Gruppen H, Traoré AS, Voragen AGJ, van Berkel WJH. Review Sorghum grain as human food in Africa: Relevance of content of starch and amylase activities. *African Journal of Biotechnology* 2006;5(5):384-395. Disponible en: <http://www.academicjournals.org/ABJ>.
4. Serna SO. Refinación del almidón y producción de jarabes glucosados a partir de sorgo y maíz. *Transferencia* 1998;42:1-5. Disponible en: [http://transferencia.mty.itesm.mx/Transferencia 42/eli-01.htm](http://transferencia.mty.itesm.mx/Transferencia%2042/eli-01.htm).
5. Ibar L. *Sorgo, cultivo y aprovechamiento*. 1a ed. Aedos, México, 1984.
6. Caamal CI, Ávila DJA. Situación y perspectivas del sorgo en el contexto del TLCAN. Universidad Autónoma Chapingo 2004; INEGI 1980 – 2001. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola de los EUM. México. Disponible en: <http://207.248.177.15/pics/p/p1763/SORGO290204.pdf>.
7. United States Department of Agriculture. Foreign Agricultural Service Circular Series. Grain: World Markets and Trade. World sorghum production, consumption and stocks. March 2007; FAS-USDA. Disponible en: https://www.fas.usda.gov/grain/circular/2007/03-07/graintoc.htm#CIRCULAR_MODIFICATIONS.
8. Oficina Estatal de Información para el Desarrollo Rural Sustentable. Morelos. Superficie sembrada y cosechada, volumen y valor de la producción agrícola de cultivos cíclicos por principales cultivos. Ciclo agrícola Primavera-Verano 2004 y 2005. OEIDRUS Morelos. Disponible en: http://www.oeidrus.morelos.gob.mx/info_agro1.htm
9. Muñoz LA, Fernández A. Formación y evaluación de híbridos experimentales sorgo para grano. En: Universidad Agraria Antonio Narro. Resultados de

- proyectos de investigación. UAAAN, 2003:458-463; 5 páginas. Disponible en: <http://www.uaaan.mx/DirInv/Rdos2003/sorgo/evalsorgo.pdf>
10. Shiringani AL. Evaluation of hard endosperm, bird-proof sorghum [(*Sorghum bicolor* L. (Moench)]. and its effect on food quality. (Dissertation Thesis Master Degree of Science in Agriculture.) Bloemfontein: University of Free State, 2005. Disponible en: <http://etd.uovs.ac.za/ETD-db/theses/available/etd-09122006-111434/unrestricted/ShiringaniAL.pdf>.
 11. Monsanto company. Copyright 2004 - 2007. Disponible en <http://www.monsanto.com>.
 12. Pioneer® A Dupont Company. Copyright 2001 – 2006. Disponible en: <http://www.pioneer.com>.
 13. Stock RA. Nutritional benefits of specialty grain hybrids in beef feedlot diets. *Journal of Animal Science* 1999;82, Supplement 2:208-212.
 14. Anglani C. Sorghum endosperm texture - A review. *Plants foods for human nutrition* 1998 52:67-76.
 15. House LR. El sorgo. Universidad Autónoma Chapingo. 1a Ed. Gaceta, México, 1982.
 16. Owens FN, Zinn RA. Corn Grain for Cattle: Influence of Processing on Site and Extent of Digestion. In: *Proceedings of the 19th Annual Southwest Nutrition & Management Conference*. Phoenix AZ. 2005;86-112
 17. Martínez-Valverde I, Periago MJ, Ros G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 2000;50(1):5-18. Disponible en: http://www.nutidcionemexico.org.mx/alan2000_1_1.pdf
 18. Waniska RD, Poe JH, Bandyopadhyay R. Effects of growth conditions on grain molding and phenols in sorghum caryopsis. *Journal of Cereal Science* 1989;10:217-225.
 19. Kirleis AW, Crosby KD, Housley TL. A method for quantitatively measuring vitreous endosperm area in sectioned sorghum grain. *Cereal Chemistry* 1984;61:556–558.

20. Campang GB, Kirleis AW. Relationships of sorghum grain hardness to selected physical and chemical measurements of grain quality. *Cereal Chemistry* 1984;61(2):100-105.
21. Rooney LW, Pflugfelder RL. Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. *Journal of Animal Science* 1986;63:1607-1623.
22. Aboubacar A, Hamaker BR. Physicochemical properties of flours that relate to sorghum couscous quality. *Cereal Chemistry* 1999;76(2):308-311.
23. Bello AB, Waniska RD, Gomez MH, Rooney LW,. Starch solubilization and retrogradation during preparation of Tó (a food gel) from different sorghum cultivars. *Cereal Chemistry* 1995;72(1):80-84.
24. Campang GB, Griffith JE, Kirleis AW. Note: Modified adhesion test for measuring stickiness of sorghum porridges. *Cereal Chemistry* 1982;29:234.
25. Pedersen JF, Martin CR, Felker FC, Steele JL. Application of the Single Kernel Wheat Characterization Technology (SKWCT) to sorghum grain. *Cereal Chemistry* 1996;73(4):421-423.
26. Chandrashekar A, Kirleis AW. Influence of protein on starch gelatinization in Sorghum. *Cereal chemistry* 1988;65(6):457-462.
27. Dorsey-Redding C, Hurburgh CR, Johnson LA, Fox SR. Relationships among maize quality factors. *Cereal Chemistry* 1991;68(6):602-605.
28. Phillipeau C, Le Deschault de Monredon F, Michalet-Doreau B. Relationship between ruminal starch degradation and the physical characteristics of corn grain. *Journal of Animal Science* 1999;77:238-243.
29. Correa CES, Shaver RD, Pereira MN, Lauer JG, Kohn K. Relationship between corn vitreousness and ruminal in situ starch degradability. *Journal of Dairy Science* 2002;85:3008-3012.
30. Corona L, Owens FN, Zinn RA. Impact of corn vitreousness and processing of site and extent of digestion by feedlot cattle. *Journal of Animal Science* 2006;84:3020-3031.
31. Maxson Ed, Fryar WB, Rooney LW, Krishnaprasad MN. Milling properties of

- sorghum grain with different proportions of corneous to floury endosperm. *Cereal Chemistry* 1971;48:478-490.
32. Buffo RA, Weller CL, Parkhurst AM. Relationships among grain sorghum quality factors. *Cereal Chemistry* 1998;75(1):100-104.
 33. Allen R. Special Report. Typical composition of feeds for cattle and sheep. *Feedstuffs Reference Issue and Buyers guide* 1993;65(30):24-30.
 34. Dale N, Batal A. Feedstuffs ingredient analysis table: 2007 Edition. En: 2007 *Feedstuffs Reference Issue and Buyers guide* 2006;78(38).
 35. Black JL. Quality feed grains – Research highlights and opportunities. Wanganoo, Australia. Disponible en: <http://www.regional.org.au/au/abts/2001/m3/black.htm>
 36. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper. *Bioquímica ilustrada*. 16a ed. El manual moderno, México, 2003.
 37. Ørskov ER. Starch digestion and utilization in ruminants. *Journal of Animal Science* 1986;63:1634-1648.
 38. Herrera-Saldaña RE, Huber JT, Poore MH. Dry matter, crude protein and starch degradability of five cereal grains. *Journal of Dairy Science* 1990;73:2386-2393.
 39. McAllister TA, Phillippe RC, Rode LM, Cheng KJ. Effect of the protein matrix on the digestion of cereal grains by ruminal microorganisms. *Journal of Animal Science* 1993;71:205-212
 40. McCollough RL, Riley JG, Crake CL, Brent BE. Digestibility of seven hybrid grain sorghums and two hybrid corns. *Journal of Animal Science*. 1972;35:270-
 41. McCollough Riley RL, Drake CL, Roth GM. Feeding value of seven hybrid grain sorghums and two hybrid corn. *Journal of animal science* 1972;35:270-271.
 42. Streeter MN, Wagner DG, Hibberd CA, Owens FN. Comparison of corn with four sorghum grain hybrids: Site and extent of digestion in steers. *Journal of Animal Science* 1990;68(10):3429-3440.
 43. Streeter MN, Wagner DG, Owens FN, Hibberd CA. The effect of pure and partial yellow endosperm sorghum grain hybrids on site and extent of digestion

- in beef steers. *Journal of Animal Science* 1991;69(6):2571-2584.
44. Wester TJ, Gramlich SM, Britton RA, Stock RA. Effect of grain sorghum hybrid on *in vitro* rate of starch disappearance and finishing performance of ruminants. *Journal of Animal Science* 1992;70:2866-2876.
 45. Davis AB, Hosney RC. Grain sorghum condensed Tannins II. Preharvest changes. *Cereal chemistry* 1979a;56(4):314-316.
 46. McGinty DD, Riggs JK. Variation in digestibility of sorghum grain varieties. *Journal of Animal Science* 1968;27:1170.
 47. Nishimuta JF, Sherrod LB, Furr RD. Digestibility of regular, waxy and white sorghum grain rations by sheep. *Journal of Animal Science*. 1969;28:860-861.
 48. Hibberd CA, Wagner DG, Schemm RL, Mitchell Jr ED, Hintz RL, Weibel DE. Nutritive characteristics of different varieties of sorghum and corn grain. *Journal of Animal Science* 1982;55(3):665-672.
 49. Hibberd CA, Wagner DG, Schemm RL, Mitchell Jr ED, Weibel DE, Hintz RL. Digestibility characteristics of isolated starch from sorghum and corn grain. *Journal of Animal Science* 1982;55(6):1490-1497.
 50. Tejada I. Control de calidad y análisis de alimentos para animales. Sistema de educación continua en producción animal, A.C. México, 1992.
 51. Hicks C, Bean SR, Lookhart GL, Pedersen JF, Kofoed KD, Tuinstra MR, Genetic analysis of kafirins and their phenotypic correlations with feed quality traits, *In vitro* digestibility and seed weight in grain sorghum. *Cereal chemistry* 2001;78(4):412-416.
 52. Mossé J, Huet J-C, Baudet J. The amino acid composition of whole sorghum grain in relation to its nitrogen content. *Cereal Chemistry* 1988;65(4):271-277.
 53. Oria MP, Hamaker BR, Shull JM. Resistance of sorghum α -, β - and γ -kafirins to pepsin digestion. *Journal of agriculture and food chemistry* 1995;43:2148-2153.
 54. Belton PS, Delgadillo I, Halford NG, Shewryc PR. Review. Kafirin structure and functionality. *Journal of Cereal Science* 2006;4(3):272-286.
 55. Hahn DH, Rooney LW, Faubion JM. Sorghum phenolic acids, their HPLC

- separation and their relation to fungal resistance. *Cereal Chemistry* 1983;60:255-259.
56. Subramanian V, Hosney RC, Bramel-Cox P. Factors affecting the color and appearance of sorghum starch. *Cereal Chemistry* 1984;61(1):69-73
 57. Hahn DH, Rooney LW, Earp CF. Tannins and phenols of sorghum. *Cereal Foods World* 1984;29:757.
 58. Yapar Z, Clandinin DR. Effect of tannins in rapeseed meal on its nutritional value for chicks. *Poultry Science* 1972;52:222-228.
 59. Davis AB, Hosney RC. Grain sorghum condensed Tannins I. Isolation, estimation and selective adsorption by starch. *Cereal Chemistry* 1979b;56(4):310-314.
 60. Saba WJ, Hale WH, Theurer B. *In vitro* rumen fermentation studies with a bird resistant sorghum grain. *Journal of Animal Science* 1972;35(5):1607-1623.
 61. Chung K-T, Wong T-Y, Wei C-I, Huang Y-W, Lin Y. Tannins and human health. A review. *Critical review of food science* 1998;38(6):421-464.
 62. Weaver CA, Hamaker BR, Axtell JD. Discovery of grain plasm high uncooked and cooked *in vitro* protein digestibility. *Cereal Chemistry* 1998;75:665-670.
 63. Dowling LF, Arndt C, Hamaker BR. Economy Viability of high digestibility sorghum as feed for market broilers. *Agronomy Journal* 2002;94(5):1050-1058.
 64. Hulan HW, Proudfoot FG. Nutritive value of sorghum grain for broilers chickens. *Canadian Journal of Animal Science* 1982;62:869-875.
 65. Hancock JD, Bramel-Cox PJ, Smith KR, Healy BJ, Klopfenstein CF, Witt MD. Selection for increased *in vitro* digestibility improves the feeding value of sorghum grain. *Journal of Animal Science* 1990;90(Supplement 1):320.
 66. Price ML, Van Scoyoc S, Butler LA. Critical evaluation of the vanillin for tannin in sorghum grain. *Journal of Agriculture Food Chemistry* 1978;26(5):1214-1218.
 67. Association of Analytical Chemist. *Official Methods of Analysis*. 15th ed. USA, AOAC, 1990.
 68. Rice knowledge bank. 1000 Grain Weight. International Rice Research Institute

- 1998-2004. Disponible en: http://www.knowledgebank.irri.org/troprice/default.htm#1000_Grain_Weight_phys_milled.htm.
69. Baker S, Herrman T. Evaluating particle Size. Feed Manufacturing 2002. Kansas State University Agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service. Disponible en: <http://www.oznet.ksu.edu>
 70. Goering HK, Van Soest PJ. Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications) USDA Agricultural Research Service. Handbook 1970; 379.
 71. Van Soest PJ, Robertson JB, Lewia BA. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science 1991;74:3583 – 3597
 72. Zinn RA. Influence of flake density on the comparative feeding value of steam-flaked corn for feedlot cattle. Journal of Animal Science 1990;68:767-775.
 73. Price ML, Butler LG. Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain. Journal of Agriculture and Food Chemistry 1977;25(6):1268-1273.
 74. Rodríguez S, Calderón JF, Zinn RA. Variation in ruminal starch digestion due to dry rolling versus steam flaking corn and sorghum can be reliably predicted based on changes in starch solubility and 6-H amylase reactive insoluble starch. Proceedings. Western Section, American Society of Animal Science 2001;52: 529-530.
 75. Knoll T, Hamburg M, Pauliger M, Rys C, Schaefer S, Hildt M, *et al.* Adobe Photoshop Elements. Adobe Systems Incorporated. © 1989-2001. U.S, patents pending.
 76. Statistical Analysis System. SAS/STAT User's guide. [Computer program] 4th ed. Version 6. Cary (North Caroline) USA: SAS Institute; 1990.
 77. Cochran WG, Cox GM. Experimental designs. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, 1957.
 78. Statistix for Windows. Version 8.0, Tallahassee, (Florida) USA. Analytical software [on CD].

79. Montgomery DC, Peck EA. Introduction to linear regression analysis. New York: John Wiley & sons, 1982.
80. Louis-Alexandre A, Mestres C, Faure J. Measurements of endosperm vitreousness of corn: A quantitative method and its application to African cultivars. *Cereal Chemistry* 1991;68(6):614-616.
81. Robutti JL, Hosney RC, Wassom CE. Modified opaque-2 corn endosperms II. Structure viewed with a scanning electron microscope. *Cereal Chemistry* 1974;51:173-179.
82. Yang P, Seib PA. Low-Input Wet-Milling of Grain Sorghum for readily Accessible Starch and Animal Feed. *Cereal Chemistry* 1995;72(5):498-503.
83. Drinah BG, Banda-Nyirenda, Vohra P, Ingebretson KH. Nutritional evaluation of some varieties of sorghums (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Cereal chemistry* 1987;64(6):413-417.
84. Magness JR, Markle GM, Compton CC. Food and Feed Crops of the United States, New Jersey Agricultural Experiment Station 1971. Bulletin 828:1971.
85. National Research Council. Nutrient Requirement of Sheep. NRC, 1985.
86. Bach A, Calsamiglia S. La fibra en los rumiantes, química o física? [En línea] XXII Curso de Especialización FEDNA. Barcelona, 2006;99-113. Disponible en: http://www.etsia.upm.es/fedna/capitulos/06CAP_VI.pdf
87. Salinas J, Álvarez EG, Zinn RA. Influence of tempering on the feeding value of steam-flaked sorghum for feedlot cattle. Proceedings. Western section, American Society of Animal Science 1999;50:325-330.
88. Zinn RA. Comparative feeding value of steam-flaked corn and sorghum in finishing diets supplemented with or without sodium bicarbonate. *Journal of Animal Science* 1991;69:905-916.

10. APÉNDICE

10.1. Determinación de materia seca

Adaptada de: AOAC 934.01 (1990).⁶⁷

Se pesaron 100g de muestra de grano entero en taras de cartón. Estas muestras fueron secadas en un horno de aire forzado marca Ríos-Rocha HS-62 a 70-80°C durante 24hr. Se retiraron las muestras del horno y se colocaron en un desecador por 20min. Se registró el peso de las taras con muestra. La materia seca fue calculada por las siguientes fórmulas:

$$1) \% \text{ Humedad} = \frac{\text{TMF} - \text{TMD}}{\text{TMF} - \text{Tara}} \times 100$$

Donde:

Tara = Peso en gramos de la tara vacía

TMF = Peso en gramos de la tara con muestra fresca

TMD = Peso en gramos de la tara con muestra deshidratada

$$2) \% \text{ MS} = 100 - \% \text{ Humedad}$$

Las muestras secas de grano por híbrido de ambas repeticiones fueron mezcladas, después fueron molidas y tamizadas con criba USBS #10 (1680 micrones). Estas muestras fueron conservadas en frascos de vidrio de tapa hermética.

10.2. Determinación del tamaño de partícula.

Adaptada de Baker y Herrman (2002).⁶⁹

Se utilizaron muestras de 100g de grano entero. Se seleccionaron y pesaron 6 diferentes cribas vacías y limpias. Las cribas utilizadas fueron: USBS #4 (4760µm), USBS #5 (4000µm), USBS #6 (3360µm), USBS #7 (2830µm), USBS #8 (2380µm) y USBS #10 (2000µm). Estas cribas se colocaron una sobre otra, de mayor a menor abertura; debajo de la última criba se utilizó un recipiente para contener las partículas que pudieran atravesar todas las cribas; este grupo de cribas se colocó en un Agitador de Cribas W. S. Tyler Modelo RX-812; el tiempo de agitación se estableció en 10 min. Se retiraron las cribas del agitador para

pesar cada criba y el recipiente; mediante sustracción se obtuvo el peso de la muestra que estaba contenida en cada uno. Las cribas y el recipiente fueron limpiados con aire a presión entre cada muestra.

El tamaño de partícula promedio del material retenido en una criba se calculó como el promedio geométrico del diámetro de abertura de dos cribas adyacentes mediante la fórmula:

$$d_i = (d_u * d_o)^{0.5}$$

Donde:

d_i = Diámetro de la *iésima* criba

d_u = Diámetro de abertura de la criba a través de la cual pasaron los granos

d_o = Diámetro de abertura de la criba a través de la cual no pasaron los granos

El TP promedio se calculó con base en el peso de la muestra. Esto se hizo utilizando la fórmula:

$$d_{gw} = \log^{-1} \left(\frac{\sum (W_i \log d_i)}{\sum W_i} \right)$$

Donde:

d_{gw} = Diámetro medio geométrico (TP)

W_i = Peso de la muestra contenida en la *iésima* criba

La desviación estándar geométrica se calculó mediante la fórmula:

$$S_{gw} = \log^{-1} \left(\frac{\sum W_i (\log d_i - \log d_{gw})^2}{\sum W_i} \right)^{0.5}$$

Donde:

S_{gw} = Desviación estándar geométrica

El número de partículas por gramo (P/g) y la superficie de área (SA) fueron calculados a partir del TP (d_{gw}) y la desviación estándar geométrica (S_{gw}). Para estos cálculos se consideró que los factores para una forma cúbica son: $\beta_s=6$ y $\beta_v=1$. Se utilizó el valor de densidad obtenido en la prueba de DEN en cada híbrido. Como la DEN está expresada en g/cm³ fue necesario convertir el d_{gw} en centímetros, esto se hizo multiplicando el valor de d_{gw} por 0.0001. El cálculo de SA y P/g se realizó utilizando las fórmulas:

$$P/g = \frac{1}{\delta \beta_v} \exp \{ [4.5 (\ln S_{gw})^2] - 3 (\ln d_{gw}) \}$$

$$SA (cm^2) = \frac{\beta_s}{\delta \beta_v} \exp \{ 0.5 [\ln (S_{gw}^2)] - \ln d_{gw} \}$$

10.3. Determinación de la densidad relativa (DEN).

Se lavó y secó perfectamente un picnómetro volumétrico Gay Lussac de 25 ml (LabGlass) y se llenó hasta el aforo con agua destilada a temperatura de 20°C ±1 (misma temperatura para todas las muestras), se secó perfectamente por el exterior; se pesó y se registró el peso como (PPH₂O). Se agregaron aprox. 2g ±0.01 de muestra de grano entero, se agitó para expulsar las burbujas de aire atrapadas en el fondo y se colocó la tapa del picnómetro desalojando agua, así, el nivel del agua volvía al aforo y se registró nuevamente el peso del picnómetro que ahora contenía agua y la muestra sumergida como M₂. Se sumó el valor obtenido del peso del picnómetro con agua (PPH₂O) más el peso de la muestra en gr y se registró como M₁. Para calcular la DEN del grano se utilizaron las fórmulas:

$$M_1 = (PPH_2O) + gr \text{ Muestra}$$

$$M_0 = M_1 - M_2,$$

Donde:

M₀ = Masa del agua desplazada

La fórmula de Densidad relativa es:

$$DEN = \frac{\frac{\text{Masa del sólido}}{\text{Volumen del sólido}}}{\frac{\text{Masa del agua}}{\text{Volumen del agua}}}$$

Como el volumen del sólido y el volumen del agua desplazada teóricamente son idénticos, la fórmula queda así:

$$DEN = \frac{\text{Masa del sólido}}{\text{Masa del agua}}$$

Entonces:
$$\text{DEN} = \frac{\text{g. de Muestra}}{M_0}$$

10.4. Determinación del nitrógeno total por el método de Kjeldahl.

Adaptado de: AOAC 955.04b (1990).⁶⁷

Reactivos:

Mezcla catalizadora. Se mezclaron 200g de sulfato de potasio (grado reactivo); 20g de sulfato de cobre pentahidratado (grado reactivo) y 5g de selenio metálico en polvo (grado reactivo).

Ácido bórico (H_3BO_3 4 %), 1L: Se disolvieron 40g de H_3BO_3 en agua destilada, se colocó en la parrilla de calentamiento y se agitó hasta disolverlo, se dejó enfriar a temperatura ambiente.

Hidróxido de sodio (NaOH) al 50 %: Se pesaron 500g de NaOH grado reactivo y se agregaron a 500 ml de agua destilada fría, se disolvió con varilla de vidrio para evitar la cristalización del NaOH.

Indicador de verde de bromocresol: En un matraz volumétrico de 1000 ml se disolvió 1g de verde de bromocresol en aprox. 950 ml de agua destilada, el indicador debía presentar un color azul marino intenso. Con algunas gotas (Aprox. 6) de ácido sulfúrico al 10 % virar el pH de la solución para que presentara un color verde intenso y se aforó.

Indicador de fenolftaleína: Se disolvieron 5 g de fenolftaleína en 500 ml de etanol al 96 % y se aforó a 1 L con agua destilada.

Solución valorada de ácido clorhídrico 0.1 N (2L): Se colocaron 500 ml de agua destilada un matraz volumétrico de 2000 ml. Se agregaron 17.5 ml de ácido clorhídrico al 36.5 a 38 % y se aforó a 2 L.

Se utilizaron las muestras molidas provenientes de la prueba de MS, conservadas en el horno de aire forzado a 50° C por 24hr. Se pesaron muestras de 1 g que se colocaron en matraces Kjeldahl, se agregó 1 g de mezcla catalizadora y 20 ml de ácido sulfúrico (grado reactivo) por las paredes. Estas muestras fueron digeridas en un Digestor Kjeldahl por 1 hr. Después, se dejaron enfriar y se agregaron a cada matraz Kjeldahl: 400 ml de agua, algunas gotas de indicador de fenolftaleína

y 50 ml de solución de NaOH 50 %. En matraces Erlenmeyer con 50 ml de H₃BO₃ 4 % e indicador de verde de bromocresol al 10 %, se destilaron las soluciones contenidas en los matraces Kjeldahl hasta obtener 100 a 150 ml de solución en los matraces Erlenmeyer. Esta solución obtenida se tituló con ácido clorhídrico 0.1 N hasta el vire de color (verde a azul). Se registró la cantidad de ácido clorhídrico utilizado y se calculó el NT contenido en cada muestra mediante la fórmula:

$$\text{NT} = \frac{\text{ml HCl gastados en la titulación} \times \text{Normalidad del HCl} \times 0.014}{\text{g. muestra}} \times 100$$

10.5. Determinación de la fibra detergente neutro con amilasa, por reflujo.

Adaptada de Goering y Van Soest (1970)⁶⁹ y de Van Soest *et al.*(1991).⁷⁰

Reactivos:

Solución detergente neutro (1 L). Se colocaron 500 ml de agua destilada en un vaso de precipitado con capacidad de 1 L. Se colocó dentro una barra magnética y se agitó en una platina de agitación. Se añadieron: 30 g de Lauril sulfato de sodio USP, 18.6111 g de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) sal disódica; 6.8100 g de borato de sodio decahidratado (Na₂B₄O₇·10H₂O) grado reactivo; 4.5611 g de fosfato de sodio dibásico anhidro (Na₂HPO₄) grado reactivo. Se agregó lentamente el remanente de agua destilada al contenedor para evitar la formación de espuma del detergente. Cuando se hubieron añadido aprox. tres cuartas partes del agua destilada, se agregaron 10 ml de trietilenglicol grado reactivo, que reduce la formación de espuma. Se mantuvo en agitación durante 12 hr y se utilizó el calor de platina para disolver completamente todos los componentes. La solución fue conservada a 20° C para evitar su precipitación. Se ajustó su pH con HCl o NaOH para obtener un valor de pH que estuviera dentro del rango de 6.9-7.1.

Acetona (CH₃COCH₃) grado reactivo.

Sulfito de sodio anhidro (Na₂SO₃) grado reactivo.

α-amilasa termoestable al 1 %.

Procedimiento:

Se colocaron crisoles de Gooch en horno de aire forzado a 100° C por 24hr. Al sacarlos del horno se colocaron en campanas de desecación y se pesaron después de 20 min registrando el peso como W1. Se utilizaron las muestras molidas provenientes de la prueba de MS, estas muestras fueron conservadas en horno de aire forzado por 24 hr. Se homogeneizaron las muestras y se pesaron 0.25 g de muestra de cada híbrido y duplicado. El peso de la muestras se registró como W2. Se mezclaron con 0.25 g de sulfito de sodio en tubos de ensaye. Se colocaron los tubos en gradillas y se les agregaron 20 ml de solución detergente neutro, agitando cada uno para suspender la muestra y el sulfito de sodio. Se colocaron en baño María a 95°C. Se les agregó 0.1 ml de α -amilasa (Sigma A3306). Se utilizaron canicas para tapar cada tubo a partir de la ebullición de las muestras. Se mantuvieron en ebullición durante 60 min agregando 5 ml de solución detergente neutro para separar la muestra adherida en las paredes del tubo. Se retiraron las muestras del baño María y se dejaron enfriar por 1min para filtrarlas. Los crisoles de Gooch se precalentaron con agua destilada hirviendo, filtrando con vacío. Se decantó cuidadosamente el contenido de cada tubo en el crisol correspondiente y se filtró con vacío. Se enjuagó el tubo con agua destilada hirviendo, para coleccionar todo su contenido, vaciando en el crisol de Gooch. Se filtró y lavó dos veces el residuo en los crisoles con agua destilada caliente y después con 30 ml de acetona permitiendo enjuagar durante 2 min. Después de filtrar la acetona con vacío, se colocaron los crisoles en el horno de aire forzado a 100°C durante 8hr y se pesaron registrando su peso como W3. Las fórmulas para calcular el porcentaje de FND contenido en las muestras fueron:

$$\% \text{ FDN con amilasa expresado en MS} = \frac{W3 - W1}{W2} \times 100$$

Donde:

W1 = Peso del crisol en gramos

W2 = peso inicial de la muestra en gramos

W3 = peso seco del crisol y de la fibra (residuo) en gramos

10.6. Determinación de la fibra detergente ácido con amilasa, por reflujo.

Adaptada de AOAC 973.18c (1990).⁶⁷

Reactivos:

Ácido sulfúrico (HCl) 1.00N ± 0.005 N (1L). En un matraz de 1L sumergido en agua fría; que contenía 500 ml de agua, se agregaron 27.7 ml de HCl (51,04 g) de 95-98 % de pureza (grado reactivo) y se aforó. Se dejó enfriar la solución y se aforó nuevamente.

Solución ácido detergente. Se utilizó 1 L de HCl 1.00 N para disolver 20 g de cetil trimetil bromuro de amonio (CTBA), grado reactivo.

Acetona (CH₃COCH₃) grado reactivo

α-amilasa termoestable Sigma A3306

Procedimiento:

Se colocaron crisoles de Gooch en horno de aire forzado a 100° C por 24 hr. Al sacarlos del horno, se colocaron en campanas de desecación para enfriarlos y se pesaron después de 20 min registrando el peso como W1. Se utilizaron las muestras molidas provenientes de la prueba de MS, que fueron conservadas en horno de aire forzado por 24 hr a 50° C. Se homogeneizaron las muestras y se pesaron 0.25 g de muestra de cada híbrido y duplicado. El peso de la muestras se registró como W2. Se colocaron los tubos en gradillas y se les agregaron 20 ml de solución detergente ácido, agitando cada uno para suspender la muestra. Se colocaron en baño María a 95° C. Se agregó a cada tubo, 0.1 ml de α-amilasa termoestable. Se utilizaron canicas para tapar cada tubo a partir de la ebullición de las muestras. Se mantuvieron en ebullición durante 1 hr agregando 5 ml de solución detergente ácido para separar la muestra adherida en las paredes del tubo. Se retiraron las muestras del baño María y se dejaron enfriar por 1 min para filtrarlas. Los crisoles de Gooch se precalentaron con agua destilada hirviendo, filtrando con vacío. Se decantó cuidadosamente el contenido de cada tubo en el crisol correspondiente y se filtró con vacío. Se enjuagó el tubo con agua destilada hirviendo, para colectar todo su contenido, vaciando en el crisol de Gooch. Se filtró

y lavó dos veces el residuo en los crisoles con agua destilada caliente y después con acetona permitiendo enjuagar durante 2 min. Después de filtrar la acetona con vacío, se colocaron los crisoles en el horno a 100° C durante 8 hr y se pesaron registrando su peso como W3. Las fórmulas para calcular el porcentaje de FNA contenido en las muestras fueron:

$$\% \text{ FDA con amilasa (FDA) expresado en MS} = \frac{W3 - W1}{W2} \times 100$$

Donde:

W1 = Peso del crisol en gramos

W2 = peso inicial de la muestra en gramos

W3 = peso seco del crisol y de la fibra (residuo) en gramos

10.7. Determinación de celulosa por incineración y de lignina por el método de permanganato.

Adaptada de AOAC 973.18d (1990).⁶⁷

10.7.1. Determinación de lignina.

Reactivos:

Solución saturada de permanganato de potasio (1L): En un matraz volumétrico de 1 L se disolvieron 50 g de permanganato de potasio (KMnO₄) grado reactivo, en agua destilada, se aforó a 1 L, se mantuvo en agitación constante y se conservó protegida de la luz directa.

Solución amortiguadora de lignina (1 L): En un matraz volumétrico, se disolvieron 6.0 g de nitrato férrico nonahidratado (Fe(NO₂)₃ 9H₂O) grado reactivo y 0.15 g de nitrato de plata (AgNO₃) en 100 ml de agua destilada. Se combinó esta mezcla con 500 ml de ácido acético glacial (CH₃COOH) grado reactivo y 5.0 g de acetato de potasio (C₂H₃KO₂) grado reactivo. Se agregaron 400 ml de alcohol butílico terciario ((CH₃)₃COH) grado reactivo y se mezcló la solución.

Solución combinada: Se mezclaron la solución de KMnO₄ saturada y la solución amortiguadora de lignina con relación de 2:1 por volumen. Se verificó que la mezcla presentara un color morado intenso y estuviera libre de precipitados.

Solución desmineralizadora (1 L): Se disolvieron 50 g de ácido oxálico puro

(C₂H₂O₄) (deshidratado a 50 ° C) en 700 ml de alcohol etílico al 96 % (C₂H₅OH). Se agregaron 50 ml de ácido clorhídrico (HCl) concentrado grado reactivo, (aprox. 12 N) y se mezcló con 250 ml de agua destilada.

Acetona (CH₃COCH₃) grado reactivo.

Procedimiento:

La muestra que se utilizó fue el residuo de la FDA contenido en el crisol Gooch. Se colocó el crisol en una bandeja de vidrio, con agua fría (2-3 cm de profundidad) sin mojar el residuo dentro de los crisoles. Se llenaron los crisoles con aprox. 25 ml de solución combinada (sin llegar hasta el borde superior del crisol) y se ajustó el nivel de agua de la bandeja para controlar el flujo de la solución a través de los crisoles. Se agitaron con varillas cortas de vidrio y se dejaron reposar a 20-25° C por 90 min ± 10 agregando solución combinada cada vez que fuera necesario, para mantener el nivel de la solución constante. Cada crisol fue colocado en embudo de filtración para remover por vacío la solución combinada contenida en ellos. Se colocaron nuevamente en la bandeja, y se les agregó solución desmineralizadora hasta la mitad, se filtró esta solución con vacío y se repitió este proceso dos veces más, dejando actuar la solución desmineralizadora durante 5min antes de ser filtrada. Se colocaron los crisoles en el embudo de vacío y se les enjuagó con una corriente fina de solución desmineralizadora hasta que el color del residuo fuera blanco. Los crisoles fueron lavados y filtrados dos veces seguidas con alcohol etílico al 80 % y después, del mismo modo, con acetona. Se filtraron hasta la sequedad con vacío y se colocaron en horno de aire forzado a 100° C durante 24 hr. Se sacaron del horno a un desecador por 20 min y se pesaron registrando el peso como W4.

Para calcular la lignina en base seca, se aplicó la siguiente fórmula:

$$\%LIG \text{ (base seca)} = \frac{W3 - W4}{W2} \times 100$$

Donde:

W2 = Peso en gramos de la muestra utilizada en la determinación de FDA.

W3 = Peso en gramos del crisol y del residuo seco.

W4 = Peso en gramos del crisol después de la oxidación.

10.7.2. Determinación del contenido de celulosa.

Se incineraron las muestras procedentes de la determinación de lignina, contenidas en los crisoles; a 525° C por 3 hr. Se dejaron enfriar; primero, dentro de la mufla apagada y después, en un desecador. Se pesaron los crisoles y se registró el peso como W5. Para calcular la cantidad de celulosa en Base Seca (BS) de la muestra se aplicó la fórmula:

$$\% \text{ CEL (base seca)} = (W4 - W5) / W2 \times 100$$

Donde:

W5 = Peso en gramos del crisol después de la incineración.

10.8. Determinación del almidón total.

Adaptado de Zinn (1990).⁷²

Reactivos:

Sulfato de zinc (ZnSO₄) al 15 %: Se pesaron 150 g de ZnSO₄ y se aforó a 1 L con agua destilada.

Solución buffer. Se pesaron 9.91 g de acetato anhídrido de sodio (16.44 g de la forma trihidratada) y 7.27 ml de ácido acético glacial y mezclaron en matraz volumétrico. Se aforó a 1 L con agua destilada.

Solución buffer-enzima: Se preparó diariamente, pesando enzima suficiente para tener 0.55 mg de amiloglucosidasa de *Aspergillus niger* (Sigma A-7420) por cada tubo. Se agregó a esta, 10 ml de solución buffer por cada tubo.

Solución glucotall: Se mezclaron 940 ml de ácido acético glacial, 60 ml de 0-Toluidina al 98 % (Sigma 466190) y 5 g de Tiourea (JT Baker 4123-01) y esta mezcla se conservó en frasco ámbar con tapa.

Procedimiento:

Las muestras de grano fueron molidas con criba USBS #40 (420 μm). Se colocaron 0.15 g de muestra molida en tubos de cultivo de 20 ml con tapa por duplicado (dos tubos por cada híbrido). Se utilizó un tubo para blanco y se prepararon dos juegos para soluciones estándar: El primero de almidón (JT Baker 4006-1), formado por dos tubos, uno con 0.09 g y otro con 0.135 g de almidón; y el segundo de dextrosa

(JT Baker 1916-01): formado por dos tubos, uno con 0.09 g de dextrosa y otro con 0.135 g de dextrosa.

Se agregaron 10 ml de agua destilada a todos los tubos, se taparon, se agitaron con agitador tipo vórtex y se incubaron en baño María a $100^{\circ}\text{C} \pm 5$ durante 3 hr agitando con vórtex cada 10 min durante los primeros 30 min y cada 30 min por el tiempo restante. Al terminar la incubación, se sacaron del baño María y se dejaron en reposo por 24 hr.

Se adicionaron 10 ml de solución buffer-enzima y una gota de tolueno a cada tubo y se agitaron con vórtex. Se incubaron en baño María a 50°C (sin exceder 55°C) durante 3 hr agitando con vórtex cada 20 min. Los tubos fueron retirados del baño María y se agregaron 2 ml de ZnSO_4 al 15 % a cada uno. Después de agitarlos con vórtex, fueron colocados en un agua con hielo por 10 min.

Se filtraron 0.3 ml del contenido de cada tubo, con papel filtro #4 (Whatman 1004-125), en un tubo de ensayo; solo el contenido de los tubos de soluciones estándar y de blanco se filtraron en dos tubos, teniendo así, dos repeticiones por cada tubo estándar y blanco.

Se tomaron 50 μl del filtrado en tubos de ensayo y se agregaron 4 ml de solución glucotall, se agitaron los tubos con vórtex, se taparon con canicas y se incubaron en baño María a $100^{\circ}\text{C} \pm 5$ por 10 min. Se retiraron los tubos del baño y se colocaron en agua con hielo por 5 min.

Se dejaron en la campana de extracción por 10 min y se agitaron con vórtex. Se realizó la lectura en el espectrofotómetro UV/Vis previamente ajustado a una longitud de onda de 630 nm; primero se ajustó el espectrofotómetro con el blanco y se realizó la lectura de las muestras estándar de almidón y dextrosa y posteriormente, las muestras de sorgo.

El contenido de almidón se obtuvo mediante la curva de regresión establecida con los estándares de almidón y dextrosa.

10.9. Determinación de la digestibilidad enzimática *in vitro* del almidón.

Adaptado de Rodríguez et al. (2001).⁷⁴

10.9.1. Reactividad de la amiloglucosidasa (AlmS).

Reactivos:

Sulfato de zinc (ZnSO₄) al 15 %: Se pesaron 150 g de ZnSO₄ (grado reactivo) y se aforó a 1 L con agua destilada.

Solución buffer: Se pesaron 9.91 g de acetato anhidro de sodio (16.44 g de la forma trihidratada) y 7.27 ml de ácido acético glacial y mezclaron en matraz volumétrico. Se aforó a 1 L con agua destilada.

Solución buffer-enzimas: Se preparó diariamente, pesando enzima suficiente para tener 0.55 mg de amiloglucosidasa de *Aspergillus niger* (Sigma A-7420) por cada tubo. Se agregó a esta, 10 ml de solución buffer por cada tubo.

Solución glucotall: Se mezclaron 940 ml de ácido acético glacial, 60 ml de 0-Toluidina al 98 % (Sigma 466190) y 5 g de Tiourea (JT Baker 4123-01) y esta mezcla se conservó en frasco ámbar con tapa.

Procedimiento:

Las muestras de grano fueron molidas con criba USBS #40 (420 µm). Se colocaron 0.50 g de muestra molida en tubos de cultivo de 20 ml con tapa por duplicado (dos tubos por cada híbrido). Se utilizó un tubo para blanco y se prepararon dos juegos para soluciones estándar: El primero de almidón (JT Baker 4006-1), formado por dos tubos, uno con 0.09 g y otro con 0.135 g de almidón; y el segundo de dextrosa (JT Baker 1916-01): formado por dos tubos, uno con 0.09 g de dextrosa y otro con 0.135 g de dextrosa. Se agregaron 10 ml de agua destilada y 10 ml de solución buffer-enzima a cada tubo y una gota de tolueno, agitando con vórtex. Se incubaron en baño María a 39° C (sin exceder 45° C) por 4 hr. agitando cada 20 min. Al sacar las muestras del baño María se agregaron 2 ml de ZnSO₄ al 15 %, se agitaron y se colocaron en agua con hielo por 10 min.

Se filtraron 0.3 ml aprox. del contenido de cada tubo, con papel filtro #4 (Whatman 1004-125), en un tubo de ensayo; solo el contenido de los tubos de soluciones

estándar y de blanco se filtraron en dos tubos, teniendo así, dos repeticiones por cada tubo estándar y blanco. Se tomaron 100 µl del filtrado en tubos de ensayo y se agregaron 4ml de solución glucotall, se agitaron los tubos con vórtex, se taparon con canicas y se incubaron en baño María a 100° C ± 5 por 10 min. Se retiraron los tubos del baño y se colocaron en agua con hielo por 5 min. Se dejaron en la campana de extracción hasta que alcanzarán la temperatura ambiente y se agitaron con vórtex. Se realizó la lectura en el espectrofotómetro UV/Vis previamente ajustado a una longitud de onda de 630 nm; primero se ajustó el espectrofotómetro con el blanco y se realizó la lectura de las muestras estándar de almidón y dextrosa y posteriormente, las muestras de sorgo.

10.9.2. Reactividad enzimática del almidón insoluble (AlmNS)

Reactivos:

Sulfato de zinc (ZnSO₄) al 15 %: Se pesaron 150 g de ZnSO₄ y se aforó a 1 L con agua destilada.

Solución buffer: Se colocaron 8.71 g de fosfato de potasio en un matraz volumétrico y se aforó a 1 L con agua destilada. El pH fue ajustado en 6.0 utilizando unas gotas de cloruro de amonio.

Solución buffer-enzimas: Se preparó diariamente, pesando 0.035 g de carbonato de calcio, 0.55 g de amilogucosidasa de *Aspergillus niger* (Sigma A-7420), 8 mg de α-amilasa de páncreas porcino (Sigma 10080), 8 mg de pancreatina porcina (Sigma P-1625), 2 mg de acromopeptidasa de *Achromobacter lyticus* (Sigma A-3547), y 2 mg de proteasa tipo páncreas bovino (Sigma P-4630) por cada tubo. Se mezclaron con 20 ml de solución buffer por cada tubo.

Solución glucotall: Se mezclaron 940 ml de ácido acético glacial, 60 ml de 0-Toluidina al 98 % (Sigma 466190) y 5 g de Tiourea (JT Baker 4123-01) y esta mezcla se conservó en frasco ámbar con tapa.

Procedimiento:

Las muestras de grano fueron molidas con criba USBS #40 (420 µm). Se colocaron 0.15 g de muestra molida en tubos de cultivo de 20 ml con tapa por duplicado (dos tubos por cada híbrido). Se utilizó un tubo para blanco y se preparó

un juego estándar de dextrosa (JT Baker 1916-01) formado por dos tubos, uno con 0.09 g de dextrosa y otro con 0.135 g de dextrosa. Se agregaron 20 ml de solución buffer-enzimas a cada tubo y una gota de tolueno, agitando con vórtex. Se incubaron en baño María a 39° C (sin exceder 45° C) por 6 hr agitando cada 30 min. Al sacar las muestras del baño María se agregaron 2 ml de ZnSO₄ al 15 %, se agitaron y se colocaron en agua con hielo por 10 min.

Al sacar las muestras del baño María se agregaron 2 ml de ZnSO₄ al 15%, se agitaron y se colocaron en agua con hielo por 10 min. Se filtraron 0.3 ml aprox. del contenido de cada tubo, con papel filtro # 4 (Whatman 1004-125), en un tubo de ensayo; solo el contenido de los tubos de soluciones estándar y de blanco se filtraron en dos tubos, teniendo así, dos repeticiones por cada tubo estándar y blanco. Se tomaron 50 µl del filtrado en tubos de ensayo y se agregaron 4 ml de solución glucotall, se agitaron los tubos con vórtex, se taparon con canicas y se incubaron en baño María a 100°C ± 5 por 10 min. Se retiraron los tubos del baño y se colocaron en agua con hielo por 5 min. Se dejaron en la campana de extracción hasta que alcanzarán la temperatura ambiente (aprox. 27° C) y se agitaron con vórtex. Se realizó la lectura en el espectrofotómetro UV/Vis previamente ajustado a una longitud de onda de 630 nm; primero se ajustó el espectrofotómetro con el blanco y se realizó la lectura de las muestras estándar de dextrosa y posteriormente, las muestras de sorgo. El valor de AlmNS se calculó mediante una curva de regresión.

Para calcular el valor de Digestibilidad Ruminal Esperada (DRS) se calcularon los valores de: Almidón reactivo a la amiloglucosidasa (AGR), almidón reactivo (RS), almidón reactivo insoluble (IRS) y almidón digerible insoluble (ISD) mediante las formulas siguientes:

- $AGR = (AlmS / ALM) * 100;$
- $RS = (AlmNS / ALM) * 100$
- $IRS = (RS - AGR) / 6$
- $ISD = (100 - AGR) * ((IRS / (IRS + 0.5)))$

La DRS se calculó utilizando ecuación:

- $\% \text{ DRS} = (1.32 * \text{AGR}) + (0.93 * \text{ISD})$

10.10. Determinación de taninos por el método de vainillina acidificada

Adaptado de: Price *et al.* (1978)⁶⁶ y Price y Butler (1977).⁷³

Reactivos:

Solución HCl 4 % (1L). Se agregaron 4 ml de ácido clorhídrico (grado reactivo) a un matraz volumétrico de 1 L y se aforó con metanol (99 % grado espectrofotométrico, Sigma M-3641).

Solución HCl 1 % (1L). Se agregó 1 ml de HCl (grado reactivo) en matraz volumétrico de 1 L y se aforó con metanol.

Solución HCl 8 % (1L). Se agregaron 8 ml de HCl (grado reactivo) en matraz volumétrico de 1 L y se aforó con metanol.

Solución de vainillina 4 % (1 L). Se agregaron 4 ml de vainillina (Pura HPLC 98 %, Fluka 94750) a un matraz volumétrico de 1 L y se aforó con metanol.

Solución reactiva de vainillina acidificada: Se preparó diariamente: Se mezclaron volúmenes iguales de solución de vainillina 4 % y solución de HCL 8 %.

D-catequina hidratada (Sigma C-1251).

Procedimiento:

La preparación de reactivos, curva estándar, molienda y el análisis fueron realizados el mismo día para evitar alteraciones en la muestra debido al almacenamiento. Se preparó una curva estándar pesando 100 mg de catequina y se disolvió en 50 ml de metanol. Se prepararon diluciones de 0 a 10 de esta solución utilizando metanol como disolvente. Se transfirió 1 ml de cada dilución a dos tubos, se agregaron 5 ml de solución reactiva de vainillina acidificada y se incubaron todos los tubos a baño maría a 30° C por 20 min. Se retiraron los tubos del baño y se leyeron inmediatamente en el espectrofotómetro ajustado a 500 nm de absorbancia. La curva se trazó utilizando las concentraciones de catequina y la transmisión obtenida.

Las muestras de grano fueron molidas y tamizadas con criba USBS # 40

(420 μm). Se mezclaron 200mg de muestra molida con 10 ml de solución HCl 1%, en tubos de cultivo con tapa. Los tubos se incubaron a 30° C en baño María durante 20 min, agitándolos constantemente con vórtex. Después de la incubación, se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 min. Se tomó una alícuota del sobrenadante en tubos de ensayo y se agregaron 5 ml de reactivo de vainillina acidificada a 30° C; en tubos con una segunda alícuota de sobrenadante se agregaron 5 ml de HCl 4 % a 30° C (estas segundas alícuotas con HCl 4% fueron los blancos para cada alícuota con reactivo de vainillina acidificada del híbrido correspondiente). Se incubaron todos los tubos a 30° C por 20 min. Se ajustó el espectrofotómetro a 500 nm de absorbancia (**Abs**). La lectura de la Abs se realizó leyendo primero tubo con el blanco y después el tubo con reactivo de vainillina acidificada del híbrido correspondiente, así, se restó la Abs del primero al segundo, esto se hizo en todos los tubos. Las diferencias debidas al peso se corrigen con la fórmula:

$$\text{Abs} = \frac{\text{Abs obtenida} \times 200}{\text{peso de muestra en g}}$$

Al comparar los valores obtenidos de Abs para las muestras en la curva estándar de catequina, se tomó la concentración de catequina a ese valor de Abs y se multiplicó por 0.42 (Factor de equivalencia entre taninos y catequina) para obtener la concentración de taninos.

10.11. Proporción de endospermo duro:blando (EnDU:BL); modificación de la técnica de Kirleis *et al.*¹⁹

Se obtuvo una muestra de aprox. 50 granos utilizando el método de cuarteo, eliminando los granos rotos. Se prepararon portaobjetos cubriendo la superficie con resina epóxica conocida como poliéster, inmediatamente se colocaron sobre esta, 10 granos de sorgo de un mismo híbrido en cada portaobjetos dejando suficiente espacio entre ellos hasta montar 50 granos, procurando tener el eje longitudinal del grano (tomando el germen como referencia), en una orientación paralela a la línea horizontal de la superficie del portaobjetos. Aproximadamente la mitad de cada grano debía sobresalir del poliéster y el resto debía estar sumergido

en este. Los portaobjetos se dejaron polimerizar durante 24 hr a temperatura ambiente (24-26° C). Después, cada grano fue cortado con un bisturí por la mitad, retirando la parte que sobresalía del poliéster, para así exponer el centro de cada grano, dejando ver el germen y las áreas de EnDU y EnBL (Figura 5). Se seleccionaron 20 granos de cada híbrido que presentaron las siguientes características: Integridad de la superficie de corte, regularidad de los bordes del grano, exposición completa del centro del germen y estado sano de cada grano, para la selección de los mismos no se tomaron en cuenta diferencias de color, tamaño o forma. Los portaobjetos fueron conservados en refrigeración a 4° C hasta la toma de fotografías.

La técnica utilizada por Kirleis *et al.*¹⁹ refirió el uso de un microscopio de luz, una fuente de luz externa y una cámara lúcida, proyectando la superficie de corte del grano en una papel, dibujando los bordes y después midiendo con un planímetro (aparato utilizado para medir áreas) las áreas de endospermo total y EnDU y mediante la sustracción entre estas dos mediciones, se calculó el área de EnBL; estableciéndose así la proporción de EnDU:BL en cada grano. En el presente estudio, se reemplazó el uso de la proyección con cámara lucida y el planímetro por el uso de fotografías digitales tomadas con cámara digital y el software Adobe® Photoshop® Elements.⁷⁵

Se realizó la toma de una fotografía por cada grano de los 20 seleccionados por híbrido con una cámara Canon Power Shot S70 y un microscopio estereoscópico Leica Z100 con adaptador de cámara Leica DS150, enfocando manualmente cada toma, sin flash y ajustando el contraste de blancos al modo "exterior". Cada fotografía fue editada con el software Adobe® Photoshop® Elements.⁷⁵ Se delimitaron las áreas de EnDU, germen y EnBL con la herramienta "lápiz" de color negro (saturación de color 0 %, tonos: azul verde y rojo al 0 %, brillo 0 %, color No. 000000) y grosor de línea de 5 píxeles. Las líneas trazadas debían ser continuas porque esto afectaba la selección de las áreas y su medición posterior en píxeles. (Figura 5).



Figura 6. Microfotografía de un grano de sorgo seccionado que muestra la delimitación entre las áreas de endospermo duro y blando

Se calcularon las áreas de EnDU y EnBL con la herramienta “Varita mágica”; con esta herramienta se seleccionaron los píxeles similares en tonalidad e intensidad de brillo, es por ello que las áreas deben estar completamente delineadas con un color de contraste. Primero se seleccionó el área del EnBL, esto se observó, por una línea punteada que resalta al tener marcada el área deseada, para ampliar esta selección se utilizó la herramienta “Agregar a la selección” ya que algunas zonas, debido a cambios de tono, son excluidas de la selección aunque se encuentren dentro del área considerada como ENBL. También se utilizó la herramienta “Aumentar” para que el área seleccionara llegué hasta los límites de cada área delineada. Cuando las líneas punteadas mostraban que el área total del EnBL que se delineó al principio estaba seleccionada, se observaba en el histograma de saturación de color, dentro del apartado “Imagen” dentro de la barra de inicio, el número de píxeles que se encontraban dentro de la selección, se registró el valor obtenido y se procedió a seleccionar el área de EnDU con la herramienta “Agregar a la selección” y con la herramienta “Aumentar” se seleccionó toda el área delineada considerada como EnDU. Se revisó de nuevo el

número de píxeles que se encontraron dentro de esta área, obteniéndose el número de píxeles de endospermo total. Por medio de una sustracción matemática se obtuvo el número de píxeles del EnDU y, con base en este, se calculó la proporción en porcentaje de EnDU y EnBL respecto al endospermo total.