



FACULTAD DE BIOLOGÍA
GRADO EN BIOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA VEGETAL Y ECOLOGÍA

Trabajo Fin de Grado

BIOFORTIFICACIÓN EN HIERRO DE
CEREALES CON USO EN
ALIMENTACIÓN HUMANA

Miguel Serrano Ortiz

Grado en Biología

Junio 2022

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	
2.1. IMPORTANCIA DEL HIERRO EN LA SALUD HUMANA	2
2.2. DEFICIENCIA DE HIERRO	4
2.3. POSIBLES SOLUCIONES. BIOFORTIFICACIÓN	6
2.4. ¿POR QUÉ BIOFORTIFICAR CEREALES?	7
3. BIOFORTIFICACIÓN EN HIERRO DE CEREALES	10
3.1. PRÁCTICAS AGRONÓMICAS	11
3.2. MEJORA VEGETAL	13
3.3. INGENIERÍA GENÉTICA	16
4. ESTRATEGIAS PARA EL FUTURO	
4.1. APLICACIÓN DE NANOFERTILIZANTES	24
4.2. COMBINACIÓN DE GENÉTICA MICROBIANA Y VEGETAL	25
4.3. TRATAMIENTO DE ARROZ BLANCO CON PLASMA FRÍO	25
5. CONCLUSIONES	26
6. BIBLIOGRAFÍA	27

1. INTRODUCCIÓN

Los cereales son la principal fuente de energía para la población mundial, especialmente en países en vías de desarrollo, donde pueden suponer hasta un 60% de la ingesta calórica diaria (FAO, 2003). Sin embargo, en sus versiones más consumidas, son pobres en hierro, por lo que en poblaciones donde basan su dieta en ellos, excluyendo otros alimentos ricos en micronutrientes, existe una alta prevalencia a padecer deficiencia de hierro.

En este trabajo se propone la biofortificación en hierro de cereales como opción eficaz para paliar la deficiencia de hierro existente y ampliamente distribuida por todo el mundo, tanto en países industrializados como, con más incidencia y severidad, en países de bajos recursos. Se estima que unas cinco mil millones de personas son hierro-deficientes y unas dos mil millones de personas padecen anemia por deficiencia de hierro en todo el mundo. Además, en muchas poblaciones de África central y en el Sudeste Asiático, se calcula que más de un 50% de mujeres embarazadas la padecen (WHO, 2000).

El hierro es un micronutriente esencial para el ser humano y su deficiencia puede conllevar graves perjuicios para la salud. Puede causar anemia, la cual se caracteriza por una incapacidad para llevar suficiente oxígeno a los tejidos. Empeora la capacidad física, afecta al sistema inmune, en bebés y niños repercute en la capacidad de atención, memoria y aprendizaje. Además, durante el embarazo supone inconvenientes tanto para la madre como para el futuro neonato (FAO/WHO, 2005).

Dentro de las posibles opciones para solucionar este problema global, la biofortificación presenta varias ventajas respecto a las otras, como la posibilidad de aplicación en países del tercer mundo donde no tienen recursos para adquirir productos comerciales fortificados. Durante el desarrollo de este escrito, se describe en detalle la biofortificación de los tres cereales más producidos y consumidos del mundo: maíz, arroz y trigo, así como los posibles abordajes para su consecución, características y efectos en la acumulación de hierro en el grano.

2. ANTECEDENTES

2.1. IMPORTANCIA DEL HIERRO EN LA SALUD HUMANA

El hierro es un micronutriente esencial para el ser humano, ya que tiene numerosas funciones vitales en el organismo. Es esencial para la producción de hemoglobina, proteína de los glóbulos rojos que transporta oxígeno a través de la sangre, tiene un papel importante en el metabolismo oxidativo, así como en la síntesis de ADN y en el sistema inmune, además de ser una parte integrada de importantes sistemas enzimáticos y vías de señalización en muchos tejidos (FAO/WHO, 2005).

La mayor parte del hierro del organismo se encuentra en la hemoglobina de los eritrocitos, pero está presente en todas las células. Es reversiblemente almacenado dentro del hígado como ferritina y hemosiderina mientras es transportado por el cuerpo mediante la proteína transferrina (FAO/WHO, 2005).

En la dieta humana las principales fuentes de hierro son la hemoglobina y mioglobina procedentes de carnes y pescados, ricos en hierro hemo, y cereales, legumbres, frutas y vegetales, ricos en hierro no hemo. A su vez, el hierro ingerido puede ser más o menos biodisponible, entendiendo como biodisponibilidad la proporción de este hierro que es absorbido y resulta disponible para su uso o reserva (FAO/WHO, 2005).

La biodisponibilidad del hierro depende de factores fisiológicos del individuo como sus niveles de hierro, deficiencias nutricionales, infecciones o desórdenes genéticos y de factores de la dieta, ya que hay factores potenciadores de la absorción de hierro como el ácido ascórbico (vitamina C) o tejidos musculares de carnes rojas, aves y pescados y factores inhibidores como los fitatos, compuestos fenólicos, calcio o proteínas. Por lo tanto, en cuanto a la dieta se podría decir que la absorción de hierro depende del balance entre la cantidad y los factores potenciadores e inhibidores presentes (Hurrell & Egli, 2010).

Además del escaso consumo de hierro en la dieta, una causa común de la deficiencia de hierro es el alto consumo de ácido fítico. Químicamente, los fitatos son sales de hexafosfato de inositol y sirven como forma de almacenamiento de fosfatos y minerales. Estos inhiben fuertemente la absorción de hierro, incluso en pequeñas cantidades. Se encuentran en gran concentración en el salvado de cereales, suponiendo aproximadamente un 90% de los fitatos presentes en las dietas norteamericanas y europeas. Su capacidad inhibitoria de la absorción de hierro disminuye en gran medida su biodisponibilidad, por lo que favorece la aparición de deficiencias de hierro, principalmente en lugares con una dieta basada en cereales (FAO/WHO, 2005).

La ingesta recomendada de hierro difiere entre grupos de población, según sexo y edad, y entre distintos grados de biodisponibilidad del hierro en la dieta, de acuerdo con lo anteriormente explicado. En la siguiente figura se recogen los valores de ingestas recomendadas por la FAO:

Tabla 1.

Ingesta de hierro recomendadas (mg/día) para diferentes biodisponibilidades (FAO/WHO, 2005):

Group	Age (years)	Mean body weight (kg)	Recommended nutrient intake (mg/day) for a dietary iron bioavailability of			
			15%	12%	10%	5%
Infants and children	0.5–1	9	6.2 ^a	7.7 ^a	9.3 ^a	18.6 ^a
	1–3	13	3.9	4.8	5.8	11.6
	4–6	19	4.2	5.3	6.3	12.6
	7–10	28	5.9	7.4	8.9	17.8
Males	11–14	45	9.7	12.2	14.6	29.2
	15–17	64	12.5	15.7	18.8	37.6
	18+	75	9.1	11.4	13.7	27.4
Females	11–14 ^b	46	9.3	11.7	14.0	28.0
	11–14	46	21.8	27.7	32.7	65.4
	15–17	56	20.7	25.8	31.0	62.0
	18+	62	19.6	24.5	29.4	58.8
Postmenopausal		62	7.5	9.4	11.3	22.6
Lactating		62	10.0	12.5	15.0	30.0

Se puede observar que, a menor biodisponibilidad, una mayor cantidad de hierro es necesaria para suplir los requerimientos fisiológicos. Por este motivo es importante una dieta variada y con buen balance entre factores potenciadores e inhibidores de la absorción de hierro, hecho que resulta difícil sobre todo en poblaciones con bajos recursos, donde presentan una mayor prevalencia a déficits en hierro. También presentan una mayor prevalencia las mujeres en edad fértil, ya que tienen unas mayores pérdidas de hierro debido a la menstruación (FAO/WHO, 2005).

2.2. DEFICIENCIA DE HIERRO

El organismo tiene algunos mecanismos para mantener el balance de hierro y prevenir su deficiencia, principalmente accediendo a sus reservas. Llegado a un punto crítico, se desarrolla la deficiencia de hierro. Lo que ocurre durante el desarrollo de un balance negativo de hierro, en sujetos que ya no tienen hierro movilizable en sus reservas, es que habrá una disminución de la producción de hemoglobina, con un resultante decremento del número de glóbulos rojos en sangre, lo que se denomina anemia. La anemia comienza a ser grave cuando existe cierta incapacidad para llevar suficiente oxígeno a los tejidos (FAO/WHO, 2005).

La causa más frecuente es una insuficiente ingesta de hierro en la dieta, la cual no cubre los requerimientos fisiológicos. Es uno de los déficits nutricionales más frecuentes en el mundo, la OMS estima que unos dos mil millones de personas padecen anemia en todo el mundo, entre las cuales presentan mayor vulnerabilidad y prevalencia mujeres y niños (Kennedy et al., 2003).

En poblaciones que soportan largas temporadas con deficiencia de hierro se ha visto una reducción de la capacidad física, recuperable con una posterior ingesta normal de hierro. Afecta también al sistema inmune, ya que influye en la síntesis de células de este sistema de defensa, por lo que aumenta la vulnerabilidad frente a infecciones. En bebés y niños existe una relación negativa entre la deficiencia en hierro y el comportamiento, la capacidad de atención, la memoria y el aprendizaje (Kennedy et al., 2003).

La deficiencia durante el embarazo puede suponer severas consecuencias tanto para la madre como para el feto, ya que las mujeres hierro-deficientes tienen mayor riesgo de mortalidad durante el parto y existe una mayor incidencia de neonatos con bajo peso corporal. Además, la falta de hierro durante fases tempranas del desarrollo del cerebro puede suponer daños irreparables en células cerebrales (Kennedy et al., 2003). En la siguiente figura se representa un mapa en el que se indican las zonas del mundo con mayor prevalencia de anemia por deficiencia de hierro en mujeres embarazadas:

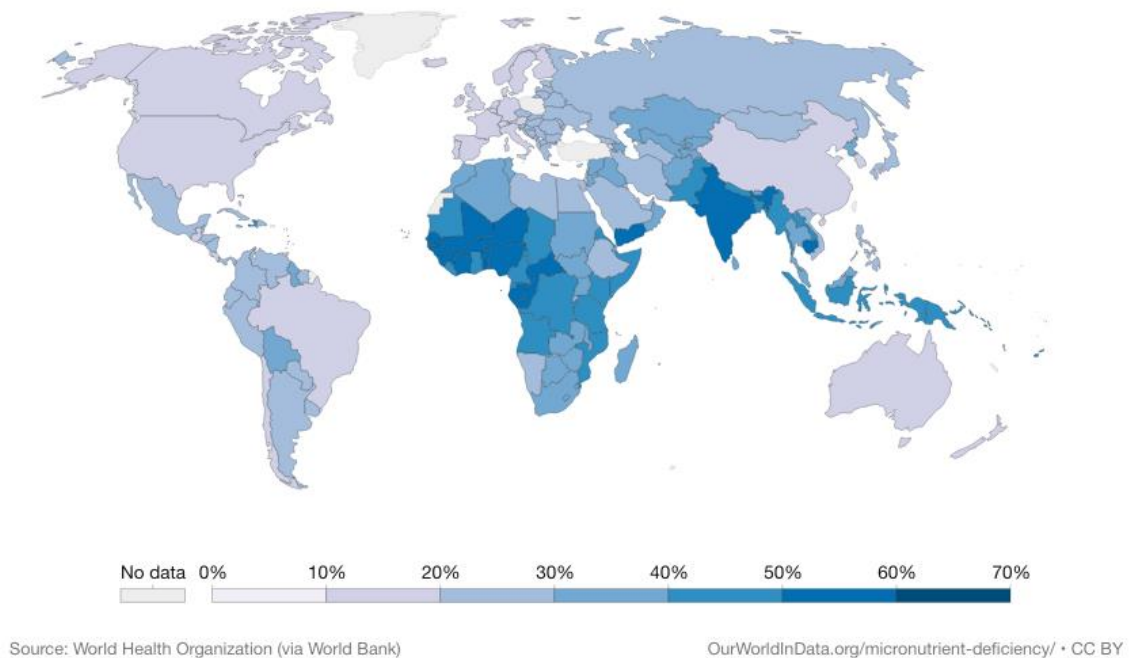


Figura 1: Prevalencia global de anemia en mujeres embarazadas (Ritchie & Roser, 2017).

Podemos observar que la mayor prevalencia se encuentra en gran parte de África central y en el Sudeste Asiático, con más de un 50% de mujeres embarazadas afectadas. Coincide con zonas donde viven muchas poblaciones de bajos recursos, en las cuales su alimentación se basa casi exclusivamente en cereales como arroz o maíz, con bajo contenido en hierro.

2.3. POSIBLES SOLUCIONES. BIOFORTIFICACIÓN

Debido a la problemática ya comentada que supone a nivel mundial la deficiencia de hierro, tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo, es de gran importancia el estudio y la aplicación de alternativas que puedan paliar el problema.

La deficiencia de hierro puede ser solventada mediante: suplementación, fortificación de productos alimentarios o mejora de la educación nutricional de la población para incrementar la cantidad de hierro absorbido en la dieta, mejorando su biodisponibilidad por su contexto en la dieta. Dependiendo del país que se trate, será mejor una solución u otra (Huang et al., 2012).

Conociendo la realidad mundial y las dificultades que entraña, la biofortificación en hierro se antoja como una gran opción para mejorar la salud y el bienestar de muchas poblaciones, sobre todo las que basan su alimentación en el consumo de cereales.

La biofortificación consiste en la mejora del valor nutricional y mineral de los cultivos con el propósito específico de mejorar la nutrición humana, consiguiendo la producción de variedades de cultivos con mayor contenido de determinados nutrientes, en este caso de hierro, o bien con una mayor biodisponibilidad. Es un método económico y eficaz, mientras que la fortificación convencional requiere de aditivos artificiales, la biofortificación implica la síntesis o acumulación de hierro por parte de la planta. Es posible mediante prácticas agronómicas, mejora convencional o biotecnología moderna (Huang et al., 2012).

2.4. ¿POR QUÉ BIOFORTIFICAR CEREALES?

Un cereal es una planta gramínea cultivada principalmente por su grano, muy utilizada en la alimentación humana y animal. Los cereales más producidos y que más contribuyen a la alimentación humana son el maíz, arroz y trigo, pero existen multitud de ellos como la cebada, avena, mijo, centeno, sorgo y muchos más. Gracias a su contenido en almidón, carbohidratos de descomposición lenta y vitaminas, fibra dietética, proteínas y minerales (en sus versiones integrales) son la fuente más importante de energía y nutrientes y han sido, por lo tanto, un elemento indispensable para la alimentación de la humanidad a lo largo de la historia (Espinoza, 2018).

Actualmente los cereales tienen presencia en todo el mundo, en los cinco continentes. Su mayor o menor nivel de producción depende de las posibilidades que ofrece la agronomía y la demanda de la población. En cuanto a los tres cereales más cultivados y consumidos por los humanos: se estima que el arroz ocupa aproximadamente 165 millones de hectáreas, el maíz 197 y el trigo 222 (Orús, 2022). Se calcula que juntos proveen el 60% de las calorías necesarias en la dieta diaria, por lo que podría decirse que “alimentan al mundo” y son el sostén de la humanidad, principalmente en el mundo subdesarrollado (FAO, 2003).

Según la FAO, en 2021 se produjeron y consumieron aproximadamente 2800 millones de toneladas de cereales, de los cuales los siguientes tres cereales suponen un 89% (FAO, 2022):

Maíz: ampliamente distribuido por todo el mundo, con una producción total anual (2021) de 1192 millones de toneladas y un consumo de 1197, la mayor de todos los cereales. Es la base de la alimentación de los pueblos centroamericanos. Las variedades de mayor importancia en alimentación humana son el maíz “duro” y el “dentado” amarillo o blanco (Espinoza, 2018). Aporta principalmente energía por su alto contenido en carbohidratos, el contenido en hierro de su grano es de 0.5mg por 100g, lo que supone un 3% de la ingesta diaria recomendada (USDA, 2019).

Arroz: Alimento básico para más de la mitad de la población mundial, segundo cereal más cultivado después del maíz, con una producción y consumo anual (2021) de 520 millones de toneladas. Los mayores consumidores a nivel mundial son Asia del este, Asia del Sur, Sudeste asiático y África Subsahariana, donde muchas poblaciones basan la mayoría de su dieta en este alimento. Su valor nutricional difiere según se consuma el grano entero (“arroz integral”) o el grano desprovisto de la cáscara, el salvado y el germen, estructuras en las que se concentran la mayoría de los micronutrientes del grano, como el hierro, (“arroz blanco”). Debido a la mayor vida útil del arroz blanco, este es el que más se consume, conllevando serias deficiencias a las poblaciones que basan su dieta en él y excluyen otro tipo de alimentos ricos en micronutrientes (Espinoza, 2018). Principalmente proporciona energía, debido a su alto contenido en almidón, carbohidrato complejo. El contenido en hierro del arroz integral es de 1.8mg, lo que supone un 10% de la cantidad diaria recomendada. Sin embargo, la cantidad de hierro presente en el grano de arroz blanco es 0.8mg por cada 100g, un 4% de la ingesta diaria recomendada (USDA, 2019).

Trigo: es cultivado en todo el mundo debido a su versatilidad en cuanto a condiciones climáticas. Los productos derivados de este cereal, principalmente la harina, han sido el alimento básico de poblaciones de Europa, Norte de África y Asia durante varios milenios. Es uno de los cereales que se denominan panificables, debido a que contiene gluten, proteína que permite la elaboración de pan. En 2021 tuvo una producción de 777 millones de toneladas y un consumo de 779 (Espinoza, 2018). Al igual que sucede con el arroz, existen diferencias entre la harina de trigo integral y la harina refinada, siendo esta la más consumida. En su valor nutricional, predomina el aporte de carbohidratos, de la misma manera que el resto de los cereales refinados. Presenta un contenido de hierro muy pobre, 0.2mg por cada 100g, representando un 1% de la cantidad diaria recomendada (USDA, 2019).

En la siguiente figura se representa de manera gráfica la cantidad de hierro, por 100g, presente en las formas más consumidas de los tres cereales anteriormente comentados, frente a la cantidad diaria recomendada (CDR) según una estimación promedio para una dieta de 2000 kcal., aunque difiere significativamente dependiendo de su biodisponibilidad y el grupo de edad, sexo o demás factores individuales que afecten a los requerimientos de hierro en el que se encuentre el sujeto, según National Institutes of Health (NIH, 2022):



Figura 2: Representación gráfica de la cantidad presente de hierro en arroz, trigo y maíz frente a una CDR promedio (USDA, 2019; NIH, 2022)

Debido a la pobreza en hierro de los cultivos alimentarios básicos, comentada anteriormente, las poblaciones con bajos recursos del mundo que subsisten con una dieta monótona de cereales son muy prevalentes y vulnerables a las enfermedades causadas por esta deficiencia de hierro. Es por esto por lo que, la biofortificación en hierro de cereales es un método eficaz, económico y sostenible para paliar esa deficiencia global.

3. BIOFORTIFICACIÓN EN HIERRO DE CEREALES

La biofortificación de cultivos de cereales se puede llevar a cabo mediante tres abordajes distintos: la intervención o prácticas agronómicas, la mejora vegetal y la ingeniería genética (Huang et al., 2012).

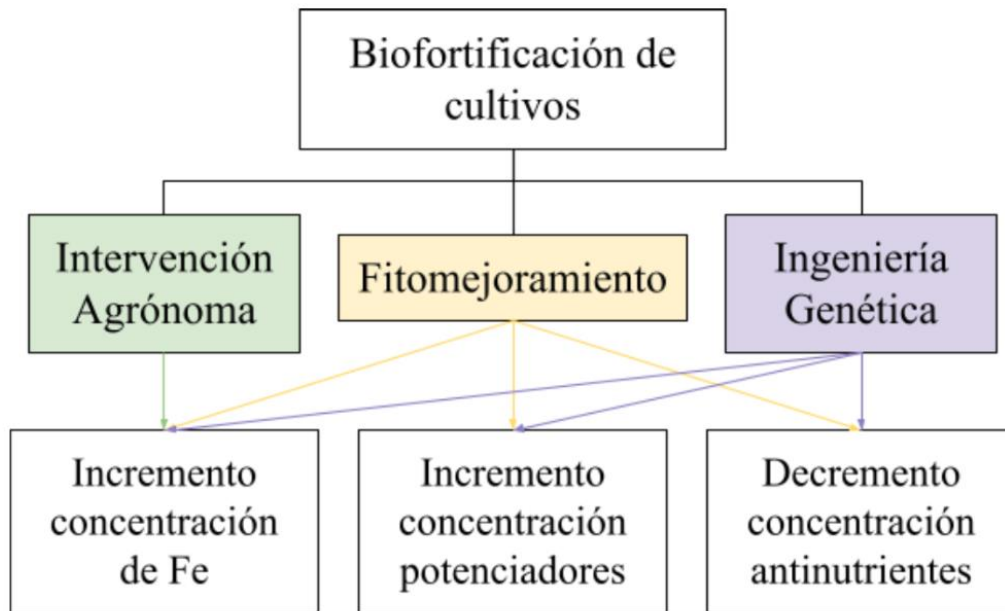


Figura 3: Representación esquemática de los distintos abordajes posibles para la biofortificación de cultivos.

En los tres abordajes se busca: incrementar la concentración de hierro en los tejidos comestibles de los cultivos, sólo mediante mejora vegetal e ingeniería genética se consigue además aumentar la cantidad de compuestos potenciadores de la absorción de hierro y/o disminuir el contenido de antinutrientes, que inhiben la absorción de hierro (Huang et al., 2012).

3.1. PRÁCTICAS AGRONÓMICAS

Los agricultores han aplicado tradicionalmente fertilizantes minerales al suelo para mejorar la salud de las plantas, pero dentro de algunos límites, se puede seguir la misma estrategia para incrementar la acumulación mineral, en este caso de hierro, dentro de los granos de cereales para propósitos nutricionales (Rengel, Batten, & Crowley, 1999). En cuanto a esos límites se puede destacar que, esta estrategia sólo funciona si la deficiencia de hierro del grano es consecuencia de la ausencia del mineral en el suelo y si el fertilizante contiene el mineral rápida y fácilmente movilizable. De hecho, aunque la planta llegue a ser capaz de captar y almacenar el hierro, puede que lo acumule en las hojas pero no en las semillas, o acumularlo de una forma no disponible, sin tener de esta manera impacto en la nutrición humana (Frossard et al., 2000).

En el suelo, el hierro tiene una muy baja movilidad, ya que se une rápidamente a partículas del suelo, siendo inaccesible para la planta. Por lo tanto, cuando se aplica como fertilizante en la forma de sulfato de hierro (II) o FeSO_4 , manera convencional en la que se aplica, ese Fe (II) se convierte a Fe (III), pasando a ser indisponible para la absorción de la planta. Por ello, el uso de prebióticos como quelatos de hierro o nitrógeno junto con los fertilizantes de hierro podría mejorar la absorción de la planta (Huang et al., 2012).

En suelos pobres, carentes de macronutrientes para la planta como nitrógeno, fósforo y potasio, la aplicación de fertilizantes NPK (ricos en estos tres elementos) pueden promover la captura de hierro, aunque esto también depende de otros factores del suelo como el pH (Rengel et al., 1999). Además, la removilización de nitrógeno e hierro desde tejidos vegetativos de la planta a la semilla es llevada a cabo por mecanismos similares, mostrando una correlación positiva entre las concentraciones de hierro y nitrógeno en el grano. En consecuencia, la mejora de los niveles de nitrógeno en cereales resultó en un aumento significativo de la acumulación de hierro en brotes (Waters et al., 2009). La disponibilidad del hierro en la rizosfera también puede ser incrementada por la acidificación del suelo con azufre elemental, con el beneficio añadido de la fertilización con azufre de los cultivos (Huang et al., 2012).

Por otro lado, se ha visto que la fertilización más efectiva para la captación de hierro podría ser, a diferencia de las comentadas anteriormente, vía foliar. La aplicación foliar con spray de FeSO_4 o quelatos de hierro permiten la captación directa de hierro a través de las hojas. Aunque la fertilización foliar incrementa el rendimiento del cultivo en mayor medida que el contenido de hierro en el grano, podría ser una práctica de fertilización que puede aumentar el contenido de hierro en los granos (Rengel et al., 1999).

Entre las prácticas agronómicas para la biofortificación en hierro se encuentra el uso de sideróforos, compuestos quelantes de metales sintetizados y secretados por microorganismos en respuesta a deficiencias de hierro. Los microorganismos del suelo y las interacciones entre estos y las plantas tienen un rol fundamental en la captación de nutrientes de las plantas, principalmente a través de sus efectos sobre la solubilización de metales, como el hierro, en la rizosfera. Los sideróforos se acumulan en mayores concentraciones en la rizosfera, y se ha demostrado que proporcionan hierro a las plantas cuando se suministran a concentraciones similares a las utilizadas para el suministro de Fe con agentes quelantes sintéticos como EDTA o EDDHA. Algunos sideróforos fúngicos, como la rizoferrina y el ácido rodotorúlico, son fácilmente utilizados por las plantas y se ha estudiado su uso como biofertilizantes de micronutrientes. Aunque estos compuestos no se produzcan en altas concentraciones en la rizosfera, su producción durante la descomposición de la materia orgánica puede movilizar cantidades significativas de Fe para las plantas (Rengel et al., 1999).

Al igual que otras estrategias para paliar la deficiencia de hierro, como la suplementación y fortificación de productos alimentarios, la intervención agronómica para biofortificar cultivos de cereales en hierro, es una buena opción sólo en ciertas situaciones concretas o en combinación con otras estrategias. Requiere del cumplimiento de prácticas como la fertilización periódica y depende de la infraestructura y la accesibilidad a los productos necesarios (Cakmak, 2008). Además, el uso de fertilizantes supone un coste económico, haciéndolo menos disponible para poblaciones con bajos recursos, y el aumento de su uso preocupa por el impacto que puede causar al medioambiente (Gómez-Galera et al., 2010).

3.2. MEJORA VEGETAL

Los programas de mejora de plantas se centran en incrementar el nivel y la biodisponibilidad de minerales, como el hierro, en cultivos usando su variabilidad genética natural. Esto se consigue cruzando las plantas de mejor rendimiento y seleccionando las que tienen rasgos favorables a lo largo de muchas generaciones, por lo que se limita a los genes que pueden proceder de plantas sexualmente compatibles (Gómez-Galera et al., 2010).

Existe una significativa variación en el contenido de hierro entre especies (Tabla 2) e, incluso, entre variedades dentro de una misma especie (Tabla 3). Esta alta variabilidad genética en cuanto al contenido de hierro de las partes comestibles de cereales y la genética relativamente simple que actúa en sus procesos de acumulación, llevan a creer que pueden ser explotadas a través de programas de mejora para producir variedades de cultivo enriquecidas en hierro (Frossard et al., 2000).

Tabla 2.

Variación en mg/kg de peso seco del contenido de hierro de los tres principales cereales (Frossard et al., 2000):

	n (cultivares testados)	Fe (mg/kg peso seco)
Trigo	170	25-56
Maíz	126	13-160
Arroz integral	1138	7-23
Arroz pulido	286	4-29

Las variedades modernas de arroz y trigo tienen una menor concentración de hierro en sus granos que las variedades tradicionales, debido a que la mejora de cultivo ha estado seleccionando variedades con el mayor rendimiento de producción, mejor resistencia a infecciones y otros rasgos relevantes en su comercialización, pero no a mejorar la concentración de micronutrientes en el grano. Por tanto, una opción posible para aumentar los niveles de hierro en el grano podría ser la inclusión en programas de mejora de variedades tradicionales o progenitores silvestres de cultivos que tienen una mayor

capacidad para acumular hierro en las partes comestibles de la planta (Frossard et al., 2000). Para arroz, maíz y trigo, hay accesiones que producen grano con concentraciones de Fe y Zn que son al menos el doble de las variedades más cultivadas (White & Broadley, 2005).

Tabla 3.

Variación en mg/kg del contenido de hierro de diferentes variedades y cultivos dentro de una misma especie, para arroz, trigo y maíz (White & Broadley, 2005):

	Trial	Accessions	Iron (mg kg⁻¹)
Rice (<i>Oryza sativa</i>) grain			
Core collection	Field	1138	6–24
Transgenic (ferritin)	Glasshouse	11	16–35
Non-transgenic	Glasshouse	1	15.7
Selected genotypes	Hydroponic	10	13–22
Wheat (<i>Triticum</i> spp.) grain			
Selected genotypes	Field	324	25–73
<i>Triticum dicoccoides</i>	Field	518	15–94
<i>Triticum dicoccoides</i>	Glasshouse	111	21–91
Selected genotypes	Hydroponic	28	80–368
Maize (<i>Zea mays</i>) grain			
Core collection	Field	1814	10–63
Mid-altitude inbred lines	Field	60	15–159
Low-altitude inbred lines	Field	49	14–134
Selected genotypes	Field	90	14–26
Advanced lines	Field	20	16–19
Elite varieties	Field	49	17–24

Por otra parte, el procesamiento post-cosecha puede ser considerado para optimizar las estrategias de biofortificación. Las concentraciones de hierro más altas se encuentran en el salvado, por lo que la molienda o el pulido puede eliminar grandes cantidades de hierro en el cereal y la cantidad de esas pérdidas es genotipo-dependiente (White & Broadley, 2005).

Este problema fue evidente cuando se probó la efectividad de un cultivar de arroz alto en hierro en un ensayo de alimentación en el que mujeres filipinas consumían arroz rico en hierro (3.21 mg/kg) o una variedad local y (0.57 mg/kg) durante 9 meses. Posiblemente porque ese arroz rico en hierro sólo aportaba 1,5 mg de hierro más al día en la dieta, no se apreciaron beneficios en cuanto a los niveles de hierro de las mujeres (Haas et al., 2005).

La mejora de cultivos alimentarios es el objetivo principal de diferentes consorcios internacionales, como HarvestPlus, que busca combatir la malnutrición de micronutrientes a través de procesos de biofortificación, como la producción y disseminación de variedades de arroz ricas en hierro por Latinoamérica y El Caribe. Aunque aún es necesario realizar ensayos a gran escala de eficacia en la población humana (Huang et al., 2012).

También se han detectado genotipos mutantes de baja concentración de ácido fítico en maíz y arroz. Estas reducciones pueden incrementar la absorción de hierro en dietas que contienen bajas cantidades de carne y ácido ascórbico, aunque el contenido de fitatos debería bajar más de un 90% para incrementar la absorción de hierro en las dietas basadas en cereales de muchos países del tercer mundo (White & Broadley, 2005).

3.3. INGENIERÍA GENÉTICA

En este enfoque de biofortificación de cereales se usan técnicas de biotecnología avanzada para introducir genes directamente en las variedades de cultivo. Los genes pueden provenir de cualquier fuente, no sólo de plantas, como animales y microorganismos, incluso pueden ser artificiales y son diseñados para: mejorar la eficiencia con la que se movilizan los minerales en el suelo y la eficiencia con la que la planta los capta a través de sus raíces, optimizar su transporte desde las raíces hasta los tejidos de almacenamiento (principalmente el grano), incrementar la capacidad de estos tejidos de almacenamiento para acumular hierro en una forma que no sea perjudicial para la planta y que sea biodisponible para los humanos, reducir la concentración de compuestos antinutrientes y aumentar la de potenciadores de la absorción de hierro (Gómez-Galera et al., 2010). Las plantas, principalmente, son transformadas con genes que codifican transportadores, reductasas y otras enzimas involucradas en la biosíntesis de fitosideróforos (Bauer & Berezky, 2003), como se explicará con más detalle posteriormente.

Las mayores ventajas de la ingeniería genética frente a la mejora vegetal convencional son la diversidad de fuentes de información genética, la rapidez con la que variedades modificadas pueden ser generadas y el hecho de que los rasgos nutricionales para diferentes minerales puedan acumularse en la misma planta sin necesidad de programas de cultivo altamente complejos (Zhu et al., 2007).

A continuación, se describirán algunas estrategias con las que se intentó incrementar el contenido de hierro en el grano de cereales, principalmente arroz, mediante el desarrollo de plantas transgénicas, las cuales se esquematizan en la siguiente figura:

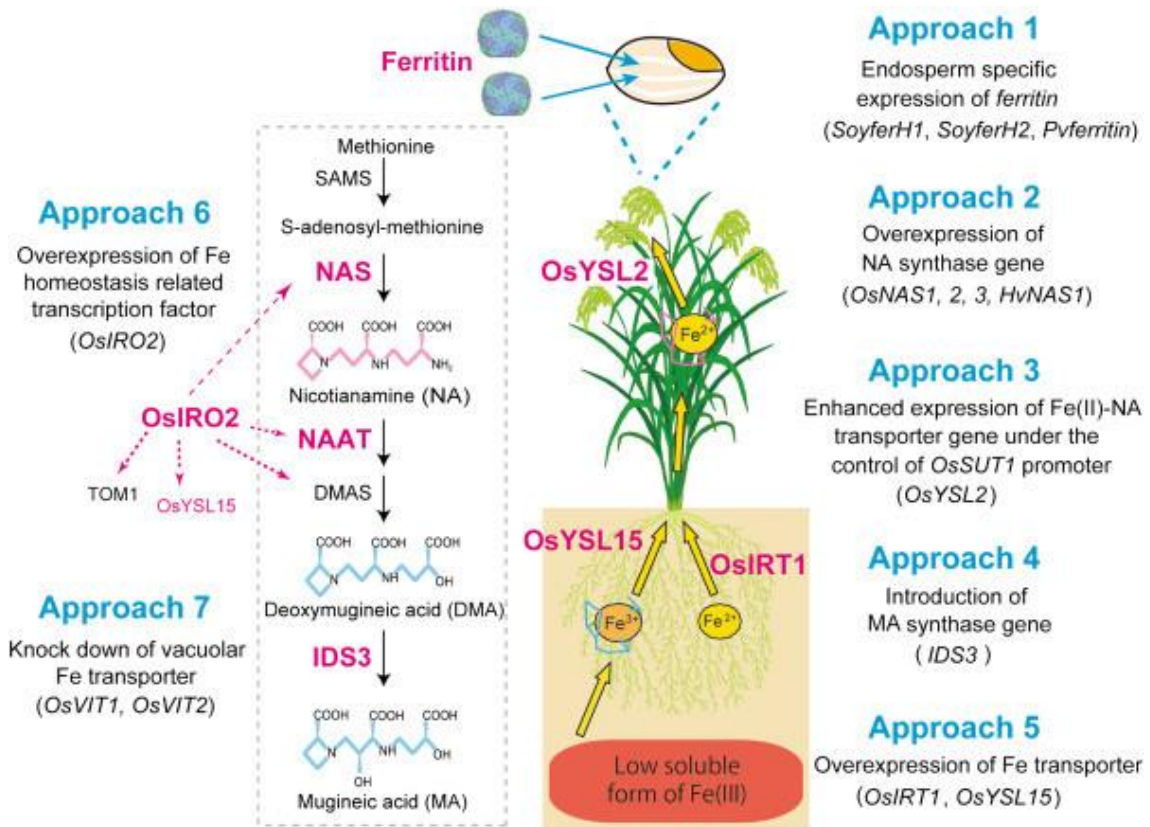


Figura 4: Representación esquemática de siete estrategias para incrementar el contenido en hierro de la semilla de arroz (Masuda et al., 2013).

1. Mejora de la capacidad de almacenamiento de hierro en los granos mediante la expresión de *SoyferH1*, gen codificante para ferritina, proteína de almacenamiento de hierro, bajo el control de un promotor específico del endospermo. El hierro almacenado en la ferritina está en una forma adecuada para ser absorbido por el tracto gastrointestinal humano, por lo que es una óptima fuente del mineral, que podría paliar la deficiencia de hierro en humanos (Lonnerdal, 2009).

Mediante el uso de *OsGluB1*, promotor específico del endospermo, se expresó *SoyferH1* en un cultivar alto en hierro de la variedad *Indica* y se generaron plantas transgénicas de arroz. Se plantaron en suelo, en invernadero, y se obtuvo un incremento en el contenido

de hierro en la semilla descascarillada de hasta 3.7 veces respecto a las plantas no transformadas (Tabla 4) (Vasconcelos et al., 2003).

El uso de más de un promotor para potenciar la expresión de ferritina en semillas de arroz no resultó en un incremento del contenido de hierro, respecto al uso de un solo promotor específico del endospermo (Qu et al., 2005). Además, se observó que la exclusiva introducción del gen de la ferritina producía síntomas de deficiencia de hierro en las hojas, que se volvían cloróticas, por lo que se dedujo que posiblemente la sobreexpresión de la ferritina no sea suficiente para incrementar la concentración de hierro en granos de arroz (Masuda et al., 2013).

Normalmente, la cantidad de hierro en el endospermo de la semilla de arroz es mucho menor que en otros tejidos de la planta como las hojas, raíces o tallos. El hierro en la semilla descascarillada sólo representa un 0.5% del hierro total de las partes aéreas de la planta. Esto es debido a la baja capacidad por parte de la planta para translocar el hierro al endospermo, ya que existe un fuerte sistema de regulación para controlar este transporte (Masuda et al., 2008).

Por tanto, además de un mayor almacenamiento de hierro en las semillas, se requiere una mejora de la absorción de hierro del suelo y una mayor translocación dentro del cuerpo de la planta (Masuda et al., 2013). Las siguientes estrategias proponen formas de mejorar estos fenómenos.

La ferritina recombinante de la soja se ha expresado en varios cultivos de cereales, como el maíz, bajo el control de un promotor específico del endospermo. Se obtuvieron semillas en las que el contenido de hierro se incrementó, aproximadamente, en un 20-70% respecto a las plantas control (Drakakaki et al., 2005).

2. Potenciamiento de la translocación de hierro al grano mediante la sobreproducción de nicotianamina (NA), por la sobreexpresión de nicotianamina sintasa (NAS). La nicotianamina es un quelante de cationes de metales, como el Fe (II), y es sintetizado a partir de metionina vía S-adenosil metionina sintasa (SAMS) y NAS (Higuchi et al., 1994). Es usada por las plantas superiores para el transporte interno de hierro y otros metales (Hell & Stephan, 2003).

El arroz tiene tres genes para NAS: *OsNAS1*, *OsNAS2* y *OsNAS3*, todos ellos son expresados en células implicadas en el transporte de hierro dentro de la planta a larga distancia. Esto sugiere que, NA, y consecuentemente NAS, tienen un importante papel en este tipo de transporte de hierro en la planta de arroz (Inoue et al., 2003). La sobreexpresión de *OsNAS1*, *OsNAS2* y *OsNAS3* incrementó la concentración de hierro en semillas descascarilladas en 4 veces, respecto a plantas no transformadas, en la variedad *Japonica*, cultivadas en suelo e invernadero (Tabla 4) (Johnson et al., 2011). Este hecho sugirió que la sobreexpresión de NAS mejora el transporte de hierro dentro de la planta (Johnson et al., 2011). Además, (Lee et al., 2009) informaron que el consumo de arroz biofortificado en hierro, mediante la sobreexpresión de *OsNAS3*, mitigaba la anemia por deficiencia de hierro en ratones.

Sobreexpresando *HvNAS1*, NAS de cebada, en arroz, además del incremento esperado de NA, se vio un aumento del contenido de ácido desoximugineico (DMA) (Masuda et al., 2009). En gramíneas, incluyendo arroz, el DMA es sintetizado a partir de NA por la NA aminotransferasa (NAAT) y DMA sintetasa (DMAS) (Bashir et al., 2006). El DMA contribuye al transporte de hierro desde la raíz al brote a través del xilema (Kakei et al., 2009). Por lo que, la sobreproducción de NA y el consecuente incremento del contenido de DMA, puede mejorar la translocación de hierro a los granos (Masuda et al., 2009). Además, este incremento en los niveles de DMA puede aumentar su secreción desde las raíces y mejorar la captación del hierro en la rizosfera. Se concluye que, la sobreproducción de NA y DMA, mediante la sobreexpresión de NAS, puede aumentar la concentración o de hierro en los granos de arroz (Masuda et al., 2013).

Mediante la introducción de la introducción del gen para la Afitasa, fitasa de *Aspergillus niger*, además de la combinación de las dos estrategias ya comentadas, se obtuvo un arroz hidropónico, llamado *NFP rice*, que mostró un contenido de hierro en la semilla descascarillada 6 veces superior al de plantas silvestres (Tabla 4) (Wirth et al., 2009). Como ya se comentó anteriormente, la cantidad de hierro absorbido en la dieta humana puede ser incrementada mediante la mejora de su biodisponibilidad. Tal logro se puede conseguir reduciendo el contenido de antinutrientes como el ácido fítico. Para ello se estudió la adición de fitasas de *Aspergillus niger* en condiciones de pH y temperatura similares a las del estómago, como resultado pudieron degradar completamente el fitato (Turk & Sandberg, 1992). Posteriormente, muchos estudios han demostrado que la fitasa

de *A. niger* puede ser sintetizada eficientemente en plantas transgénicas de trigo (Brinch-Pedersen et al., 2000).

Debido a que la mayoría de los procesos culinarios alcanzan temperaturas mayores a 60°C, se inactivaría la fitasa, por lo que se estudió la activación de la fitasa transgénica antes de la cocción, durante el desarrollo de la semilla, almacenamiento de la semilla u otro proceso. Se exploró una alternativa, que fue el uso de una fitasa termo-tolerante de *Aspergillus fumigatus* (Wyss et al., 1998) en semillas transgénicas de arroz (Lucca & Potrykus, 2001). Esta misma estrategia se usó, además, para incrementar la biodisponibilidad del hierro en trigo (Brinch-Pedersen et al., 2000) y en maíz (Drakakaki et al., 2005).

3. Potenciamiento del influjo de hierro al endospermo mediante la expresión de *OsYSL2*, gen para un transportador de Fe(II)-NA, bajo el control de un promotor específico del endospermo, *OsSUT1*.

OsYSL2 tiene un papel importante en el transporte de hierro a la semilla de arroz. Tanto es así, que en una planta de arroz *knockdown* para este gen, las semillas tenían un 18% menos de hierro en semillas enteras y un 39% menos en semillas descascarilladas, comparadas con la versión silvestre (Ishimaru et al., 2010). Por otra parte, *OsSUT1* es un transportador clave de sacarosa desde el floema a las semillas, por lo que es un promotor válido para controlar las concentraciones de hierro en la semilla de arroz (Ishimaru et al., 2001).

Es por esto que, (Ishimaru et al., 2010) diseñaron un constructo en el que la expresión de *OsYSL2* es controlada por *OsSUT1*, para mejorar la translocación de Fe(II)-NA dentro de las semillas. Este constructo se introdujo en plantas de la variedad *Japonica* y las semillas resultantes del desarrollo de estas plantas tuvieron un incremento de 4 veces la concentración de hierro en semillas descascarilladas, respecto a plantas no transformadas (Tabla 4) (Ishimaru et al., 2010). Se concluye que la expresión de *OsYSL2*, gen para el transportador de Fe(II)-NA, bajo el control del promotor *OsSUT1* es una de las estrategias destacables para incrementar la concentración de hierro en semillas de arroz (Masuda et al., 2013).

Por otro lado, combinando las tres primeras estrategias comentadas, se desarrolló una línea *Fer-NAS-YSL2*, en suelo e invernadero, en la que se obtuvieron semillas descascarilladas con un contenido de hierro 6 veces superior al de plantas no transformadas (Tabla 4) (Masuda et al., 2012).

4. Mejora de la captación y translocación de hierro mediante la introducción de *IDS3*, gen para una fitosideróforo sintasa, enzima de síntesis del ácido mugineico (MA).

Las gramíneas secretan fitosideróforos de la familia del MA, quelantes naturales de Fe (III), por lo que son cruciales para la captación de hierro de la rizosfera. Los complejos Fe(III)-MAs resultantes son absorbidos por las raíces vía transportador *YSI* o *YSL* (Curie et al., 2001).

La cebada es altamente tolerante a la deficiencia de hierro y posee una serie de genes biosintéticos de MAs, como *IDS3*, de los que el arroz carece, por lo que sólo secreta DMA (Bashir et al., 2006). Por lo tanto, esta estrategia propone la introducción del gen *IDS3* para mejorar la captación de hierro y su translocación a la semilla por parte de la planta de arroz. Se produjo una línea que expresa *IDS3*, en arrozal, que presentó una concentración de hierro 1.4 veces superior a plantas no transformadas en su semilla descascarillada (Tabla 4) (Masuda et al., 2008).

Por otro lado, se llevó a cabo una combinación entre la primera estrategia comentada y esta última. En ella se introdujo *SoyferH2* junto con genes biosintéticos de MAs: *HvNAS1*, *HvNAAT* y *IDS3* en plantas de arroz. Las líneas que expresaron ferritina y genes biosintéticos de MAs mostraron signos de tolerancia a deficiencia de hierro en suelo calcáreo, además de incrementar el contenido en hierro de sus semillas. Las concentraciones de hierro en las semillas descascarilladas se incrementaron 4 y 2.5 veces comparadas con los niveles en líneas no transgénicas, crecidas en suelo normal y suelo calcáreo, respectivamente (Masuda et al., 2013). Estos resultados indicaron que la introducción conjunta de ferritina y genes biosintéticos de MA incrementó efectivamente los niveles de hierro en semillas sin la necesidad de inducir sensibilidad al hierro en condiciones limitantes del mismo (Masuda et al., 2013).

5. Mejora de la captación de hierro del suelo sobreexpresando *OsIRT1* o *OsYSL15*, transportadores de hierro. La aplicación de esta estrategia por sí sola no aumentó notablemente las concentraciones de hierro en las semillas, 1.3 veces en grano entero (Tabla 4) (Lee et al., 2009). Sin embargo, es posible que combinada con otras estrategias sí sea efectiva (Masuda et al., 2013).

6. Mejora de la captación y translocación de hierro mediante la sobreexpresión de *OsIRO2*, factor de transcripción relacionado con la homeostasis de hierro. Esta estrategia puede ser usada para incrementar la concentración de hierro en semillas de plantas de arroz cultivadas en suelos con baja disponibilidad de hierro. Se incrementó 3 veces la concentración de hierro en el grano entero, respecto a plantas no transformadas (Tabla 4) (Ogo et al., 2011).

7. Aumento de la translocación de hierro de las hojas bandera mediante la eliminación de *OsVIT1* o *OsVIT2*, genes de transportador vacuolar de hierro. *VIT* transporta hierro desde la vacuola, y se vio que la interrupción de su actividad resultó en un aumento de la concentración en hierro de las semillas enteras y una disminución en las hojas bandera del órgano de origen. Se obtuvieron mutantes *knockdown* de *OsVIT2*, en los que sus semillas descascarilladas presentaron 1.8 veces más hierro que las líneas silvestres (Tabla 4) (Bashir et al., 2013). En base a estos resultados, sugirieron que la interrupción de la actividad de *OsVIT1* o *OsVIT2* mejora la translocación de hierro entre los órganos fuente y sumidero, y propusieron esta estrategia como opción para producir arroz biofortificado en hierro (Masuda et al., 2013).

Aunque se requieren más estudios para esta estrategia, al igual que para la quinta y sexta, esta última también puede aplicarse en combinación con otras para aumentar aún más las concentraciones de hierro en las semillas descascarilladas de arroz (Masuda et al., 2013).

Tabla 4.

Incrementos más destacables de la cantidad de hierro obtenidos en estrategias para la biofortificación de arroz en hierro (Masuda et al., 2013):

	Estrategia	Tipo de cultivo	Incremento de hierro
1	Mejora de la capacidad de almacenamiento de hierro en los granos mediante la expresión de <i>SoyferH1</i>	Suelo en invernadero	3.7 veces en semilla descascarillada
2	Potenciamiento de la translocación de hierro al grano mediante la sobreproducción de NA	Suelo en invernadero	4 veces en semilla descascarillada
3	Potenciamiento del influjo de hierro al endospermo mediante la expresión de <i>OsYSL2</i>	Suelo en invernadero	4 veces en semilla descascarillada
4	Mejora de la captación y translocación de hierro mediante la introducción de <i>IDS3</i>	Arrozal	1.4 veces en semilla descascarillada
5	Mejora de la captación de hierro del suelo sobreexpresando <i>OsIRT1</i> o <i>OsYSL15</i>	Arrozal	1.3 veces en semilla entera
6	Mejora de la captación y translocación de hierro mediante la sobreexpresión de <i>OsIRO2</i>	Suelo calcáreo en invernadero	3 veces en semilla entera
7	Aumento de la translocación de hierro de las hojas bandera mediante la eliminación de <i>OsVIT1</i> o <i>OsVIT2</i>	Suelo en invernadero	1.8 veces en semilla descascarillada
1,2	Combinación de las estrategias 1 y 2	Hidropónico	6 veces en semilla descascarillada
1,2,3	Combinación de las estrategias 1, 2 y 3	Suelo en invernadero	6 veces en semilla descascarillada

Por otro lado, **se han desarrollado plantas que expresan lactoferrina**, una proteína de unión al hierro de origen humano. Esta lactoferrina recombinante humana ha sido expresada en cultivos de arroz. Se generaron plantas de arroz transgénicas en las que la lactoferrina representó hasta un 0,5% del peso del grano descascarillado. El contenido de hierro de granos de estas plantas resultó ser el doble (19,3 mg/kg) que las plantas control, no transformadas (8,7 mg/kg). Los granos presentaron una coloración rosa opaco dentro y fuera del endospermo, relacionada con la expresión de esta lactoferrina recombinante. La coloración no tenía efectos adversos en el fenotipo del arroz transgénico (Nandi et al., 2002).

4. ESTRATEGIAS PARA EL FUTURO

4.1. APLICACIÓN DE NANOFERTILIZANTES

La nanotecnología es una disciplina emergente en el manejo de nanopartículas (1-100 nm de tamaño), que puede ser beneficiosa para sistemas agrícolas (Chinnamuthu & Boopathi, 2009). Está siendo estudiada como herramienta potencial para mejorar el crecimiento y la producción de cultivos, así como el control de plagas.

Actualmente, las nanopartículas están siendo usadas para la creación de pesticidas y fertilizantes avanzados, mejorando sus prestaciones (Khan & Rizvi, 2017). Estos fertilizantes pueden proveer nutrientes a los cultivos de manera eficiente y así paliar sus deficiencias nutricionales (Naveed et al., 2020). Existe un amplio rango de nanofertilizantes, como nanopartículas de óxido de hierro, que pueden ser usados en agricultura (Khan & Rizvi, 2017). Además, pueden funcionar en combinación con nanodispositivos que detectan la liberación de nutrientes del suelo y sincronizan su absorción por la planta. Por lo tanto, al disminuir el contacto del hierro con el suelo y sus microorganismos, pueden ayudar a minimizar la pérdida de nutrientes, ya que el mineral se vuelve más disponible para la planta (Naveed et al., 2020).

4.2. COMBINACIÓN DE GENÉTICA MICROBIANA Y VEGETAL

Los microorganismos pueden promover el enriquecimiento en hierro del grano de trigo mediante la mejora de su absorción por parte de las raíces, de su transporte a larga distancia desde las raíces a las semillas y de su acumulación en los granos (Sun et al., 2020). La interacción entre el microbioma del suelo y la planta impulsa el recambio de minerales en la rizosfera, por lo que este bioma puede ser útil para el incremento de productividad de las plantas y se propone para la intensificación agrícola sostenible (Alegria et al., 2016; Le Cocq et al., 2016).

El impacto de los microorganismos asociados a la planta de trigo en la expresión génica de la planta y su capacidad para producir metabolitos puede ser estudiado para la biofortificación en hierro de trigo. Consecuentemente, estos microorganismos podrían ser diseñados, mediante manipulación genética, para la síntesis y liberación de genes de interés (Ahkami et al., 2017). Es una buena estrategia para contribuir a la biofortificación en hierro de trigo, ya que la manipulación genética de microorganismos es más fácil y práctica que la de plantas (Sun et al., 2020).

4.3. TRATAMIENTO DE ARROZ BLANCO CON PLASMA FRÍO

En una innovadora estrategia, se emplea un tratamiento con plasma frío como herramienta para fortificar arroz blanco en hierro. “Plasma” hace referencia al cuarto estado de la materia. Los procedimientos de plasma frío consisten en descargas de energía eléctrica sobre el aire circulante, obteniendo de esta descarga la producción de plasma. Es generado bajo presiones atmosféricas o de vacío, a temperaturas de entre 30°C y 60°C y requiere poca energía. Contiene un gran espectro de partículas activas que tienen suficiente energía como para romper enlaces e iniciar reacciones (Thirumdas et al., 2015). El plasma frío crea un entorno ácido, por lo que es adecuado para mejorar la unión del hierro en la superficie del arroz y, por otra parte, reducir la oxidación del hierro durante el almacenamiento (Akasapu et al., 2020).

Se observaron mejoras significativas en las cantidades de sulfato ferroso y ácido ascórbico, por lo que se optimizó la biodisponibilidad del hierro en el arroz fortificado tratado con plasma. La presencia de ácido ascórbico redujo la tasa de oxidación de Fe (II) y mejoró su biodisponibilidad, probablemente debido a que su presencia mejora la solubilidad del hierro, lo que ayuda a su adsorción y unión a la superficie del grano. Aun así, es necesario un estudio más detallado de los cambios en los grupos funcionales ácidos creados por el tratamiento y su interacción con el hierro (Akasapu et al., 2020).

5. CONCLUSIONES

La deficiencia en hierro es uno de los problemas de salud más graves del mundo y afecta a miles de millones de personas en todo el planeta. Los habitantes de países en vías de desarrollo de Asia, África y Latinoamérica basan su alimentación en cereales, los cuales tienen cantidades muy pobres de hierro. Por lo tanto, estas personas presentan una alta prevalencia a padecer deficiencia de hierro.

Entre las estrategias usadas para paliar esta deficiencia, la biofortificación es considerada la más eficaz, económica y sostenible, ya que hace posible el acceso de cualquier población a los productos de los cultivos biofortificados. Existen diversos enfoques para abordar la biofortificación de cereales, como la intervención agronómica, la mejora vegetal y el uso de ingeniería genética. La adaptabilidad de estos enfoques varía según la región en la que se quiera llevar a cabo. Por ejemplo, en poblaciones pobres, el uso de ingeniería genética es la estrategia más viable para proveer cultivos nutritivos.

Para mejores resultados, las estrategias de ingeniería genética, intervención agronómica y mejora vegetal deben integrarse. Además, los programas de evaluación y seguimiento son necesarios para mantener el registro de las tecnologías de biofortificación disponibles. Para poder suministrar cereales biofortificados a la población afectada por la deficiencia de hierro, es necesario aplicar las estrategias de biofortificación a los cultivares populares en cada región. En consecuencia, estas estrategias deben probarse en un alto número de cultivares populares. También se necesitan estrategias de marketing y comunicación para fomentar su producción y venta.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Ahkami, A., Allen White, R., Handakumbura, P., & Jansson, C. (2017). Rhizosphere engineering: enhancing sustainable plant ecosystem productivity in a challenging climate. *Rhizosphere*, 3, 233-243. doi:<https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2017.04.012>
- Akasapu, K., Ojah, N., Gupta, A. K., Choudhury, A. J., & Mishra, P. (2020). An innovative approach for iron fortification of rice using cold plasma. *Food Research International*, 136. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109599>
- Alegria Terrazas, R., Giles, C., Paterson, E., Robertson-Albertyn, S., Cesco, S., & Mimmo, T. (2016). Plant-microbiota interactions as a driver of the mineral turnover in the rhizosphere. *Advances in Applied Microbiology*, 95, 1-67. doi:<https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2016.03.001>
- Bashir, K., Inoue, H., Nagasaka, S., Takahashi, M., Nakanishi, H., Mori, S., & Nishizawa, N. K. (2006). Cloning and characterization of deoxymugineic acid synthase genes from graminaceous plants. *Journal of Biological Chemistry*, 281(43), 32395-32402. doi:<https://doi.org/10.1074/jbc.M604133200>
- Bashir, K., Takahashi, R., Akhtar, S., Ishimaru, Y., Nakanishi, H., & Nishizawa, N. K. (2013). The knockdown of OsVIT2 and MIT affects iron localization in rice seed. *Rice*, 6(1), 1-7. doi:<https://doi.org/10.1186/1939-8433-6-31>
- Bauer, P., & Berezky, Z. (2003). Gene networks involved in iron acquisition strategies in plants. *Agronomie*, 23, 447-454.
- Brinch-Pedersen, H., Olesen, A., Rasmussen, S., & Holm, P. (2000). Generation of transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.) for constitutive accumulation of an *Aspergillus* phytase. *Molecular Breeding*, 6, 195-206. doi:<https://doi.org/10.1023/A:1009690730620>
- Cakmak, I. (2008). Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification? *Plant and Soil*, 302, 1-17. doi:<https://doi.org/10.1007/s11104-007-9466-3>
- Chinnamuthu, C. R., & Boopathi, P. M. (2009). Nanotechnology and agroecosystem. *Madras Agricultural Journal*, 96(1/6), 17-31.
- Curie, C., Panaviene, Z., Loulergue, C., Dellaporta, S. L., Briat, J. F., & Walker, E. L. (2001). Maize yellow stripe1 encodes a membrane protein directly involved in Fe (III) uptake. *Nature*, 409(6818), 346. doi:<https://doi.org/10.1038/35053080>
- Drakakaki, G., Marcel, S., & Glahn, R. (2005). Endosperm-Specific Co-Expression of Recombinant Soybean Ferritin and *Aspergillus* Phytase in Maize Results in Significant Increases in the Levels of Bioavailable Iron. *Plant Molecular Biology*, 59, 869-880. doi:<https://doi.org/10.1007/s11103-005-1537-3>
- Espinoza, W. (2018). Los cereales como fuente de alimentación primaria para la humanidad. *Revista Multi-Ensayos*. doi:<https://doi.org/10.5377/multiensayos.v4i7.9493>
- FAO. (2003). *Agriculture, food and water: A contribution to the World Water Development Report*. FAO.
- FAO. (2022). *Nota informativa de la FAO sobre la oferta y la demanda de cereales*. FAO. Obtenido el 05/06/2022 de <https://www.fao.org/worldfoodsituation/nota-informativa-de-la-fao-sobre-la-oferta-y-la-demanda-de-cereales/es/>
- FAO/WHO. (2005). *Vitamin and mineral requirements in human nutrition, 2nd ed.* World Health Organization. WHO.
- Frossard, E., Bucher, M., Machler, F., Mozafar, A., & Hurrell, R. (2000). Potential for increasing the content and bioavailability of Fe, Zn and Ca in plants for human nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, Issue 7, 861-879. doi:[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(20000515\)80:7<861::AID-JSFA601>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:7<861::AID-JSFA601>3.0.CO;2-P)
- Gómez-Galera, S., Rojas, E., Sudhakar, D., Zhu, C., Pelacho, A., Capell, T., & Christou, P. (2010). Critical evaluation of strategies for mineral fortification of staple food crops. *Transgenic Research*, 19, 165-180. doi:<https://doi.org/10.1007/s11248-009-9311-y>
- Haas, J., Beard, J., Murray-Kolb, L., Felix, A., & Gregorio, G. (2005). Iron-Biofortified Rice Improves the Iron Stores of Nonanemic Filipino Women. *The Journal of Nutrition*, 135(12), 2823-2830. doi:<https://doi.org/10.1093/jn/135.12.2823>

- Hell, R., & Stephan, U. W. (2003). Iron uptake, trafficking and homeostasis in plants. *Planta*, 216(4), 541-551. doi:<https://doi.org/10.1007/s00425-002-0920-4>
- Higuchi, K., Kanazawa, K., Nishizawa, N. K., Chino, M., & Mori, S. (1994). Purification and characterization of nicotianamine synthase from Fe- deficient barley roots. *Plant and soil*, 165(2), 173-179. doi:<https://doi.org/10.1007/BF00008059>
- Huang, Y., Yuan, L., & Yin, X. (2012). Biofortification to Struggle Against Iron Deficiency. *Phytoremediation and Biofortification. SpringerBriefs in Molecular Science*, 59-74. doi:https://doi.org/10.1007/978-94-007-1439-7_4
- Hurrell, R., & Egli, I. (2010). Iron bioavailability and dietary reference values. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1461S–1467S.
- Inoue, H., Higuchi, K., Takahashi, M., Nakanishi, H., Mori, S., & Nishizawa, N. K. (2003). Three rice nicotianamine synthase genes, OsNAS1, OsNAS2, and OsNAS3 are expressed in cells involved in long-distance transport of iron and differentially regulated by iron. *The Plant Journal*, 36(3), 366-381. doi:<https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01878.x>
- Ishimaru, K., H. T., Aoki, N., Takahashi, S., Ono, K., Yamamoto, S., . . . Ohsugi, R. (2001). Antisense Expression of a Rice Sucrose Transporter OsSUT1 in Rice (*Oryza sativa* L.). *Plant and Cell Physiology*, 42(10), 1181–1185. doi:<https://doi.org/10.1093/pcp/pce148>
- Ishimaru, Y., Masuda, H., Bashir, K., Inoue, H., Tsukamoto, T., Takahashi, M., . . . Nishizawa, N. K. (2010). Rice metal-nicotianamine transporter, OsYSL2, is required for the long-distance transport of iron and manganese. *The Plant Journal*, 62(3), 379-390. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2010.04158.x>
- Johnson, A. A., Kyriacou, B., Callahan, D. L., Carruthers, L., Stangoulis, J., Lombi, E., & Tester, M. (2011). Constitutive overexpression of the OsNAS gene family reveals single-gene strategies for effective iron-and zinc-biofortification of rice endosperm. *Plos One*, 6(9). doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024476>
- Kakei, Y., Yamaguchi, I., Kobayashi, T., Takahashi, M., Nakanishi, H., Yamakawa, T., & Nishizawa, N. K. (2009). A highly sensitive, quick and simple quantification method for nicotianamine and 2'-deoxymugineic acid from minimum samples using LC/ESI-TOF-MS achieves functional analysis of these components in plants. *Plant and cell physiology*, 50(11), 1988-1993. doi:<https://doi.org/10.1093/pcp/pcp141>
- Kennedy, G., Nantel, G., & Shetty, P. (2003). The scourge of "hidden hunger": global dimensions of micronutrient deficiencies. *Food, Nutrition and Agriculture (FAO)*.
- Khan, M., & Rizvi, T. (2017). Application of nanofertilizer and nanopesticides for improvements in crop production and protection. *Nanoscience and plant–soil systems*, 48, 405-427. doi:https://doi.org/10.1007/978-3-319-46835-8_15
- Le Cocq, K., Gurr, S. J., Hirsch, P. R., & Mauchline, T. H. (2016). Exploitation of endophytes for sustainable agricultural intensification. *Molecular Plant Pathology*, 18(3), 469-473. doi:<https://doi.org/10.1111/mpp.12483>
- Lee, S., Chiecko, J. C., Kim, S. A., Walker, E. L., Lee, Y., Guerinot, M. L., & An, G. (2009). Disruption of OsYSL15 leads to iron inefficiency in rice plants. *Plant physiology*, 150(2), 787-800. doi:<https://doi.org/10.1104/pp.109.135418>
- Lee, S., Jeon, U. S., Lee, S. J., Kim, Y. K., Persson, D. P., Husted, S., . . . An, G. (2009). Iron fortification of rice seeds through activation of the nicotianamine synthase gene. *The Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA (PNAS)*, 106(51), 22014-22019. doi:<https://doi.org/10.1073/pnas.0910950106>
- Lonnerdal, B. (2009). Soybean ferritin: implications for iron status of vegetarians. *American Journal of Clinical Nutrition*, 89(5), 1680S-1685S. doi:<https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.26736W>
- Lucca, P. H., & Potrykus, I. (2001). Genetic engineering approaches to improve the bioavailability and the level of iron in rice grains. *Theoretical and Applied Genetics*, 102, 392-397. doi:<https://doi.org/10.1007/s001220051659>
- Masuda, H., Aung, M. S., & Nishizawa, N. K. (2013). Iron biofortification of rice using different transgenic approaches. *Rice (New York, N.Y.)*, 6(1), 40. doi:<https://doi.org/10.1186/1939-8433-6-40>

- Masuda, H., Ishimaru, Y., & Aung, M. S. (2012). Iron biofortification in rice by the introduction of multiple genes involved in iron nutrition. *Scientific Reports*, 2(543), 1-7. doi:<https://doi.org/10.1038/srep00543>
- Masuda, H., Kobayashi, T., Ishimaru, Y., Takahashi, M., Aung, M. S., Nakanishi, H., . . . Nishizawa, N. K. (2013). Iron-biofortification in rice by the introduction of three barley genes participated in mugineic acid biosynthesis with soybean ferritin gene. *Frontiers in plant science*, 4, 132. doi:<https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00132>
- Masuda, H., Suzuki, M., Morikawa, K. C., Kobayashi, T., Nakanishi, H., Takahashi, M., . . . Nishizawa, N. K. (2008). Increase in iron and zinc concentrations in rice grains via the introduction of barley genes involved in phytosiderophore synthesis. *Rice*, 1, 100-108. doi:<https://doi.org/10.1007/s12284-008-9007-6>
- Masuda, H., Usuda, K., Kobayashi, T., Ishimaru, Y., Kakei, Y., Takahashi, M., . . . Nishizawa, N. K. (2009). Overexpression of the barley nicotianamine synthase gene HvNAS1 increases iron and zinc concentrations in rice grains. *Rice*, 2(4), 155-166. doi:<https://doi.org/10.1007/s12284-009-9031-1>
- Mori, S. (1999). Iron acquisition by plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 2(3), 250-253. doi:[https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(99\)80043-0](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(99)80043-0)
- Nandi, S., Suzuki, Y. A., Huang, J., Yalda, D., Pham, P., Wu, L., & Lönnnerdal, B. (2002). Expression of human lactoferrin in transgenic rice grains for the application in infant formula. *Plant Science*, 163(4), 713-722. doi:[https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00165-6](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00165-6)
- Naveed, M., Khalid, H., Ayub, M. A., Rehman, M. Z., Rizwan, M., Rasul, A., & Haq, M. A. (2020). Biofortification of Cereals with Zinc and Iron: Recent Advances and Future Perspectives. *Resources Use Efficiency in Agriculture*, 615-646. doi:https://doi.org/10.1007/978-981-15-6953-1_17
- NIH. (2022). *National Institutes of Health; Iron, Fact Sheet for Health Professionals*. Obtenido de <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Iron-HealthProfessional/>
- Ogo, Y., Itai, R. N., Kobayashi, T., Aung, M. S., Nakanishi, H., & Nishizawa, N. K. (2011). OsIRO2 is responsible for iron utilization in rice and improves growth and yield in calcareous soil. *Plant molecular biology*, 75(6), 593-605. doi:<https://doi.org/10.1007/s11103-011-9752-6>
- Orús, A. (2022). *Statista*. Obtenido el 05/06/2022 de <https://es.statista.com/>
- Qu, L., Yoshihara, T., Ooyama, A., Ooyama, A., Goto, F., & Takaiwa, F. (2005). Iron accumulation does not parallel the high expression level of ferritin in transgenic rice seeds. *Planta*, 222, 225-233. doi:<https://doi.org/10.1007/s00425-005-1530-8>
- Rengel, Z., Batten, G., & Crowley, D. (1999). Agronomic approaches for improving the micronutrient density in edible portions of field crops. *Field Crops Research*, 27-40. doi:[https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(98\)00131-2](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(98)00131-2)
- Ritchie, H., & Roser, M. (2017). *Micronutrient Deficiency*. Obtenido de [OurWorldInData.org: https://ourworldindata.org/grapher/prevalence-of-anemia-in-pregnant-women](https://ourworldindata.org/grapher/prevalence-of-anemia-in-pregnant-women)
- Sun, Z., Li, J., & Shi, Y. (2020). Success to iron biofortification of wheat grain by combining both plant and microbial genetics. *Rhizosphere*, 15. doi:<https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2020.100218>
- Takahashi, M., Nakanishi, H., Kawasaki, S., & Nishizawa, N. K. (2001). Enhanced tolerance of rice to low iron availability in alkaline soils using barley nicotianamine aminotransferase genes. *Nature Biotechnology*, 19(5), 466-469. doi:<https://doi.org/10.1038/88143>
- Thirumdas, R., Sarangapani, C., & Annapure, U. S. (2015). Cold plasma: A novel non-thermanl technology for food processing. *Food Biophysics*, 10(1), 1-11. doi:<https://doi.org/10.1007/s11483-014-9382-z>
- Turk, M., & Sandberg, A. (1992). Phytate degradation during breadmaking: effect of phytase addition. *Journal of Cereal Science*, 15(3), 281-295. doi:[https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(09\)80126-4](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(09)80126-4)
- USDA. (2019). *U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. FoodData Central*. Obtenido de <https://fdc.nal.usda.gov/>
- Vasconcelos, M., Datta, K., Oliva, N., Khalekuzzaman, M., Torrizo, L., Krishnan, S., . . . Datta, S. K. (2003). Enhanced iron and zinc accumulation in transgenic rice with the ferritin gene. *Plant Science*, 164(3), 71-378. doi:[https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00421-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00421-1)

- Waters, B., Uauy, C., & Dubcovsky, J. G. (2009). Wheat (*Triticum aestivum*) NAM proteins regulate the translocation of iron, zinc, and nitrogen compounds from vegetative tissues to grain. *Journal of Experimental Botany*, *60*(15), 4263-4274. doi:http://dx.doi.org/10.1093/jxb/erp257
- White, P., & Broadley, M. (2005). Biofortifying crops with essential mineral elements. *Trends in Plant Science*, *10*(12), 586-593. doi:https://doi.org/10.1016/j.tplants.2005.10.001
- WHO. (2000). *Turning the Tide of Malnutrition: Responding to the Challenge of the 21st Century*. WHO.
- Wirth, J. P., Tohge, T., Fernie, A. R., Gunther, D., Gruijssem, W., & Sautter, C. (2009). Rice endosperm iron biofortification by targeted and synergistic action of nicotianamine synthase and ferritin. *Plant Biotechnology Journal*, *7*(7), 631-644. doi:https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2009.00430.x
- Wyss, M., Pasamontes, L., Rémy, R., Kohler, J., Kuszniir, E., Gadiant, M., & van Loon, A. (1998). Comparison of the thermostability properties of three acid phosphatases from molds: *Aspergillus fumigatus* phytase, *A. niger* phytase, and *A. niger* pH 2.5 acid phosphatase. *Applied and Environmental Microbiology*, *64*(11), 4446-4451. doi:https://doi.org/10.1128/AEM.64.11.4446-4451.1998
- Ye, H. X., Mei, L. I., Guo, Z. J., Shu, Q. Y., Xu, X. H., Bao, J. S., & Shen, S. Q. (2008). Evaluation and application of two high-iron transgenic rice lines expressing a pea ferritin gene. *Rice Science*, *15*(1), 51-56. doi:https://doi.org/10.1016/S1672-6308(08)60019-0
- Zhu, C., Naqvi, S., Gómez-Galera, S., Pelacho, A., Capell, T., & Christou, P. (2007). Transgenic strategies for the nutritional enhancement of plants. *Trends in Plant Science*, *12*(12), 548-555. doi:https://doi.org/10.1016/j.tplants.2007.09.007