

ACCION DEL GENE HARINOSO-2 (FLOURY -2) EN LA CALIDAD DE LA PROTEINA DEL MAIZ (Zea Mays L.) (*)

Por :

Gabriel Julio Valdés Zapata
Martín Prager Mosquera

I. INTRODUCCION

El maíz es un cereal que ocupa parte fundamental en la dieta del pueblo colombiano; el consumo anual nacional se calcula en 900.00 Tons.

En los centros colombianos de investigación se trabaja en la solución de muchos problemas, tales como aumentar el rendimiento y mejorar la calidad del grano.

El mejoramiento de la calidad del maíz solucionará en parte el déficit de proteína existente.

Como este cereal representa un componente tradicional de la dieta, es importante elevar su calidad nutritiva aumentando los porcentajes de lisina, triptófano y proteína total y produciendo un mejor balance de aminoácidos en el endospermo al disminuir la fracción proteica de mala calidad y aumentar la de excelente calidad.

El trabajo se realizó en las dependencias del C.N.I.A. "Palmira", durante 11/2 años. Es el primer estudio con material colombiano harinoso-2 (Floury-2) para separar con métodos genéticos, las diferentes dosis del endospermo y comprobar con métodos químicos y físicos, las diferencias entre los niveles de dosis resultantes. Se espera predecir si el maíz harinoso-2 (Floury-2) tiene o no alto valor nutritivo y proporcionar una guía en el estudio de este tipo de maíz y de materiales similares.

II REVISION DE LITERATURA

A. Investigaciones para mejorar la calidad del maíz.

La pobre calidad del maíz como fuente de proteína se conoce hace muchos años. Osborne y Mendel en 1914 y más tarde Hogan (10), resaltaron la importancia de adicionar al maíz común los aminoácidos lisina y triptófano para mejorar su calidad proteínica y valor nutritivo.

(*) Tesis de grado presentada como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Agrónomo, bajo la presidencia del Doctor Daniel Sarría Villano, I.A., M.Sc., a quien los autores expresan su gratitud.

El mejoramiento de la calidad nutritiva de la proteína de los cereales cobró vigencia cuando en 1964 Nelson, Mertz y Bates (16), reportaron los cambios ocasionados en maíz con la incorporación de los genes opaco (O2) y harinoso-2 (fl2). Los mutantes O2 y fl2 que se dieron a conocer en los Estados Unidos por Singleton y Jones y por Munn respectivamente antes de 1935, se caracterizan por convertir al endospermo del grano de maíz en una estructura de tipo blanda. (Manrique Chavez 14; Cassalet Dávila, 6; Mertz, 15; Poey, 2; Nelson, Mertz y Bates. 16).

Los genes mutantes O2 y fl2 modifican la síntesis de zeína en el endospermo y convierten al maíz de baja calidad en uno de alta calidad y alto valor nutritivo (Nelson, Mertz y Bates, 16).

Harpstead introdujo la fuente de maíz con el gene opaco-2, que constó de 25 semillas y se sembró en el C.N.I.A. "Palmira", en 1965 (Harpstead y Pradilla, 9). Un año más tarde se introdujeron 4 fuentes de maíz harinoso-2 de los Estados Unidos, con los cuales se iniciaron trabajos de incorporación a las líneas de los híbridos ICA H-207 y DIACOL H-253 (*).

B. Propiedades del endospermo y acción de los genes o2 y fl2.

La apariencia del endospermo del maíz se debe a la acción de muchos genes, incluyendo genes modificadores. (Poey, 20).

El efecto modificador de la estructura del endospermo es de naturaleza cuantitativa, con acción genética promedio de recesividad parcial, aunque también actúan efectos aditivos parcialmente dominantes. (Poey y Villegas, 22).

Los fenotipos producidos por opaco-2 y harinoso-2 en el endospermo son muy similares, no pudiéndose diferenciar a simple vista (Poey, 18). En ambos grupos, cuando prevalece la situación recesiva en el homocigote, al endospermo le falta dureza, comparado con el maíz normal (Harpstead, 8).

Los genes o2 y fl2 aumentan el porcentaje de lisina y triptófano en la proteína, con la correspondiente reducción de la síntesis de zeína. El gene harinoso-2 se comporta como dominante, presentando xenia de harinoso sobre cristalino. El gene opaco-2 presentan xenia de cristalino sobre harinoso, en donde el genotipo o2o2/O2, es cristalino y o2o2o2 es harinoso. La condición harinosa tiene efecto pleiotrópico, sobre la calidad de la proteína, produciendo alto contenido de lisina. (Beingolea, 3).

Dudley, Alexander y Lambert, (7) determinaron la superioridad del opaco-2 sobre fl2 tanto en estabilidad fenotípico como en contenido de lisina.

El efecto de dosis en el porcentaje de lisina, proteína y transmisión de luz en endospermo del maíz se estudio para opaco-2 y harinoso-2 en dos líneas y sus híbridos. En las series de opaco-2 se observa un incremento de lisina para la triple dosis de (o2o2o2). El contenido de proteína difiere ligera pero no significativamente

(*) Comunicación personal del presidente de Tesis.

con la dosis, mientras que la transmisión de luz rosa sube con dos dosis de opaco y con tres baja bruscamente. En las series de harinoso—2 el porcentaje de lisina aumenta y la transmisión de luz decae con las dosis, mientras que el porcentaje de proteína no cambia. (Paez, Helm y Zuber, 17).

Los genes o2 y fl2 modifican la composición de aminoácidos y la estructura del endospermo haciéndolo amiláceo o suave en contraste con los maíces cristalinos de las zonas tropicales con altitud inferior a 1000 m.s.n.m., (Poey, 19; Beingolea,3).

Si se tiene en cuenta que existen por lo menos 12 genes que producen fenotipos harinosos sin aumentar las cantidades de lisina y triptófano, parece lógico pensar que los genes que manejan calidad y aspecto no están ligados necesariamente. (Pradilla et al, 24).

C. Calidad de la proteína.

La calidad de la proteína del maíz está determinada por la proporción de las diferentes fracciones presentes en el endospermo. Albúminas y globulinas presentan buen balance de aminoácidos esenciales, mientras que prolaminas (zeina) y glutelinas presentan baja proporción de ellos, especialmente las primeras que carecen prácticamente de lisina y triptófano. (Poey 20; Bauman y Mertz,2).

El maíz es una fuente pobre de proteínas porque la proporción de prolaminas (zeinas) es cerca del 50 o/o del total. Mientras que en maíz común el contenido de zeina es 47 o/o y el de glutelina 35 o/o, en maíces modificados por los genes o2 y fl2 rebaja a 22 o/o la zeina y aumenta al 50 o/o la glutelina. Una dieta a base de (zeina) fué incapaz de promover crecimiento en ratas de laboratorio. La incorporación de lisina y triptófano a la dieta mejoró notoriamente el crecimiento y sirvió para demostrar por primera vez que estos aminoácidos son esenciales en la dieta. (Pradilla et al, 24).

El aumento del contenido de proteína ocurre principalmente en la fracción de zeina y se asocia con bajos rendimientos de campo. Sin embargo, el efecto de los genes opaco—2 y harinoso—2 es compatible con alto contenido de proteína total. Experimentalmente se han obtenido maíces con estos genes, con 17 o/o de proteína total y niveles altos en aminoácidos esenciales, especialmente en lisina y triptófano (Nelson, Mertz y Bates, 16).

El efecto de los genes modificadores es tan notorio que la proporción de lisina en la proteína del endospermo puede fluctuar de 1.5o/o en maices normales a 5o/o en los de alta calidad. El triptófano puede cambiar de 0.3 o/o a 1.2 o/o respectivamente. Las proporciones de estos aminoácidos esenciales son tan pequeñas que cualquier variabilidad de otros elementos de la proteína influirá en forma determinada en el porcentaje de aminoácidos en la proteína. Así también, los factores genéticos determinantes del contenido de aminoácidos deben ser diferentes, al menos parcialmente, de los que determinan el contenido de proteína total. (Bressani y Conde, 5).

Como el maíz harinoso-2 (Floury-2) es superior al opaco-2 en contenido de metionina, es más promisorio para alimentación de aves (Pond, Maner y Linares, 23).

Maner et al (13) reportaron que el gene harinoso-2 sólo o en combinación con el opaco-2, es inferior a los híbridos comerciales de maíz opaco-2 en la alimentación de porcinos. Se ha logrado incorporar ambos mutantes, en material básico americano formando así el doble mutante opaco-2 harinoso-2, el cual está siendo estudiado en alimentación animal atribuyéndole mayor valor biológico que el maíz opaco-2 (Wiggin, 27; Lambert y Cochram, 12). El doble mutante tiene una composición de aminoácidos similar a la de los mutantes sencillos, pero a diferencia de éstos su apariencia fenotípica es casi normal, lo que le da mayores ventajas sobre todo en la aceptación por los agricultores. (Mertz, 15).

En resumen, en los maíces de alto contenido de lisina, la calidad de la proteína es casi comparable a la de la leche y puede sustituir totalmente o en parte a la soya, harina de pescado, torta de algodón y otros productos de alto valor proteico en dieta de humanos y animales monogástricos. (Poey, 20).

Los alimentos más comunes difieren apreciablemente en valor calórico y contenido de proteínas. Las carnes en general son la mejor fuente de proteína a la vez que suministran niveles adecuados de calorías para el normal desarrollo. Por el contrario, los cereales son deficientes en proteína pero son la fuente más económica de calorías, por tal motivo es de especial importancia obtener aumentos significativos de proteína. Los logros obtenidos en el mejoramiento de la calidad proteica del maíz ubican a este cereal en una situación de privilegio. (Mertz, 15).

III MATERIALES Y METODOS

El trabajo se llevó a cabo en el C.N.I.A. de "Palmira" y se utilizaron las líneas normales y harinosas de los híbridos ICA H-207. y DIACOL H-253.

A continuación se hace una breve reseña del material cristalino:

Descripción de las líneas del híbrido comercial ICA H-207

A. L. 38- P - T. R. 605- 1-2 # -1-19 # 72 días de siembra a floración.

Se obtuvo en el Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias "Tulio Ospina" Medellín. Plantas vigorosas y sanas. Mazorcas cónicas, sanas e hileras regulares y con grano fino. Es buena combinadora.

B. L. 36-ETO - 25-18 # 72 días de siembra a floración.

Originaria del C.N.I.A. "Tulio Ospina" Medellín. Se comporta bien en ese Centro. Plantas medianamente uniformes y de mazorcas altas, sanas pero no vigoroso.

sas. La mazorca es larga, delgada, sana y muy uniforme. Como combinadora es de las mejores en Palmira.

C. L. 29 Cuba 325-2227- # 1-84 # 68 días de siembra a floración.

Obtenida en el C.N.I.A. "Palmira" de la variedad Cuba 325. Plantas uniformes vigorosas y bastante sanas. Mazorcas cónicas y medianas, con granos gruesos, finos y de color amarillo pálido. Como combinadora está en los primeros lugares.

D. L. 210 LC. 5832-6 # 68 días de siembra a floración.

Esta línea corresponde a material cubano que llegó a Palmira procedente de Medellín en el segundo semestre de 1960. Plantas uniformes, altas, vigorosas de hojas anchas y sanas. Mazorcas grandes, largas y sanas, pero con algo de puntas descubiertas, el grano es grueso y tiene ligera capa harinosa. Es de las mejores combinadoras.

Descripción de las líneas del híbrido comercial DIACOL H-253.

A. L.25 - Desc.2- # 29-20 74 días de siembra a floración.

Se obtuvo en el C.N.I.A. "Tulio Ospina" Medellín. En el C.N.I.A. "Palmira" ha tenido muy buena adaptación. Plantas vigorosas y medianamente resistentes a roya y *Helminthosporium*. La mazorca es de tamaño regular, cónica, sana, de buena apariencia, con hileras regulares y granos finos. Como combinadora es una de las mejores.

B. L.26 - ETO - BL - 2189 - || 1-10 76 días de siembra a floración.

Es originaria del C.N.I.A. "Palmira". Plantas no muy vigorosas pero sanas. La mazorca es delgada, de tamaño regular, cilíndrica, sana, de hileras regulares y grano fino. Es buena combinadora.

C. L.27 - ETO - BL.2053 - 12 # 72 días de siembra a floración.

Se obtuvo en el C.N.I.A. "Palmira". Plantas vigorosas y sanas. Mazorcas gruesas y grandes, cilíndricas, con algo de pudrición; hileras regulares pero torcidas, grano grande y fino. Como combinadora está entre las tres primeras del programa.

D. L.28 - (PT.R. 605-1-2 # X Nar. 330 # 10) - # - # -16 - || -2 - 10) 72 días de siembra a floración.

Se obtuvo en el C.N.I.A. "Palmira". Presenta plantas vigorosas, sanas pero torcidas en la parte superior. La mazorca es larga, cónica y con algo de puntas descubiertas; hileras irregulares y grano fino. Como combinadora es una de las mejores del programa. (ICA, 11).

Con el material harinoso-2 se empezó a trabajar en el C.N.I.A. "Palmira", desde 1966 para incorporar el gene por retrocruzamientos a las líneas colombianas de los híbridos ICA H-207 y DIACOL H-253, utilizando el harinoso-2 como donante y las líneas normales como recurrentes. Desde la primera hasta la tercera generación de retrocruzamiento, se efectuaba auto-fecundación y el cruce planta a planta, para observar la incorporación del gene, usando como progenitor femenino la línea normal. Posteriormente se omitió la auto-fecundación por considerar que el gene harinoso-2 tenía comportamiento dominante y semidominante de acuerdo al material en que se encontraba.

Existen diferentes dosis del gene en el endospermo de los maíces colombianos harinoso-2 variando la expresión fenotípica del grano según el nivel. Así, con una dosis del gene harinoso-2 (F12F12f12) es semicristalino, con dos (F12f12f12) y tres dosis (f12f12f12) es harinoso, no pudiéndose distinguir a simple vista estos dos últimos niveles entre sí.

En base a las leyes de herencia, se diseñó el método que a continuación se describe para la obtención y evaluación de dichos niveles. Por retrocruzamiento, se obtuvieron granos de maíz con una dosis del gene harinoso-2 (F12F12f12). Este material ya existía en las bodegas del Instituto.

Con el objeto de obtener granos con dos dosis del gene harinoso-2 (F12f12f12), se efectuó la primera siembra en el segundo semestre de 1972. Para ello se escogió el siguiente material:

	PEDIGREE	ORIGEN
(L. 25	floury-2) 5 - ♀ - 2 #	51492
(L.26	floury-2) 5 - ♀ - 2 #	51493
(L.27	floury-2) 5 - ♀ - 2 #	51494
(L.28	floury-2) 5 - ♀ - 2 #	51495
(L.29	floury-2) 5 - ♀ - 2	51486
(L.210	floury-2) 5 - ♀	51487
(L.36	floury-2) 4 - ♀	51482
(L.38	floury-2) 5 - ♀	51485

El material se sembró en el campo en un bloque experimental de ocho parcelas, cada parcela constó de ocho surcos de diez ms. cada uno distanciados 0.90 ms. Los primeros cuatro surcos correspondieron a las líneas harinoso-2 y los restantes a sus respectivas líneas normales. La disposición anterior del material en el campo se hizo con el fin de llevar polen de la línea normal (♂) a la línea harinoso-2 (♀) haciendo polinizaciones planta a planta. Este material proviene del cruce harinoso-2 (♀) X normal (♂) se cosechó individualmente por mazorca.

Para obtener material con tres dosis del gene harinoso-2 (f12f12f12), se sembró en el primer semestre de 1973, la mitad de cada mazorca cosechada, en surcos de 10 ms. de largo distanciados a 0.90 ms. se autofecundó todo el material y se cosechó cada mazorca. Separado genéticamente el material, se tomaron muestras al azar de diez granos cada una, para efectuar los siguientes análisis de calidad:

A. Métodos químicos.

1. Determinación del porcentaje de triptófano presente en el endospermo por el método Opienska Blauth. Efectuado en el CIAT.

2. Determinación del porcentaje de proteína total en el endospermo por el método de Kejhda, modificado. (Scales, 25). Efectuado en el Hospital Departamental Universitario Evaristo García.

El contenido de triptófano se utilizó para inferir la calidad de la proteína porque se encuentra altamente correlacionado con el de lisina presente en el endospermo. (Poey y Villegas, 22).

B. Método físico.

Se efectúan cortes en el endospermo para hacer micrografías e inferir, en base a la presencia de zeína, sobre la calidad del maíz. Los cortes se hacen con micrótopo de congelación ó con cuchilla de vidrio, se colorean con hematoxilina-eosina, luego se lavan con soluciones de diferentes concentraciones de alcohol, se hacen montajes permanentes y finalmente se observan al microscopio con aumento de 430 X y 1000 X.

Esta determinación se efectuó en el CIAT (Betancourt, Pradilla y Francis, 4).

IV RESULTADOS

A. Métodos químicos.

Los análisis de laboratorio consistentes en la determinación de triptófano y proteína cruda fueron realizados al endospermo del grano, este contiene un 75 o/o — 85 o/o de la proteína total. El endospermo es la porción del grano más deficiente en aminoácidos esenciales, entre ellos triptófano, y aparentemente la más modificada por el gene fl2. La proteína del embrión es de mayor calidad y más rica en aminoácidos esenciales. Debido a esta razón los análisis se efectúan sobre el endospermo pulverizado, desengrasado y seco (Poey, 21).

1. Resultados del triptófano.

En la tabla I, se consignan los valores promedios de triptófano para todas las muestras. Los valores aumentan en cada línea por cada dosis adicional del gene harinoso—2. Los más altos corresponden a las líneas con tres dosis, y oscilan entre 0.057—0.073 mgs. o/o. Sobresalen las líneas 29 y 36 con 0.072 y 0.073 mgs. o/o respectivamente.

2. Resultados de proteína cruda.

En la tabla II, se muestran los valores promedios de proteína total para todas

TABLA I

PROMEDIOS DE TRIPTOFANO (Mgr./100 mgr. MUESTRA) EN OCHO LINES DE MAIZ COLOMBIANO HARINOSO-2 (FLOURY-2) EN CUATRO NIVELES DE DOSIS

Nivel de dosis	L.25	L.26	L.27	L.28	L.29	L.210	L.36	L.38	\bar{X}	o/o sobre normals.
*										
(F12F12F12) P	0.048	0.035	0.035	0.048	0.034	0.035	0.041	0.043	0.039	100
**										
(F12F12F12) S	0.039	0.036	0.037	0.040	0.037	0.040	0.041	0.045	0.039	100
F12F12f12	—	—	—	—	0.041	0.043	0.046	0.055	0.046	117
F12f12f12	0.053	0.053	0.051	0.052	0.048	0.053	0.067	0.064	0.055	141
f12f12f12	0.059	0.063	0.067	0.071	0.072	0.069	0.073	0.057	0.067	172

* Granos normales = son todos los granos de una mazorca cristalina.

** Granos normales segregantes = granos cristalinos que se observan en una mazorca combinada.

TABLA II

PROMEDIOS DE PROTEINA TOTAL * (NX 6.25) PARA OCHO LINEAS NORMALES SEGREGANTES Y
HOMOCIGOTAS DE MAIZ HARINOSO-2.

Nivel de dosis	L.25	L.26	L.27	L.28	L.29	L.210	L.36	L.38	\bar{X}	o/o sobre normales
** (F12F12F12) S	11.61	11.39	10.79	12.94	13.02	11.00	14.15	14.06	12.36	100
f12f12f12	10.95	11.84	12.52	14.43	14.87	13.19	14.77	18.26	13.85	112

* Expresados en Mgr. /100 Mgr. de muestra.

** Granos normales segregantes.

las líneas, en los genotipos normales segregantes, (F12F12F12)S y harinoso-2 homocigótico (f12f12f12). Los valores más altos se observan en la triple dosis del gene harinoso-2, con porcentos que oscilan entre 10.95 a 18.26. Este último valor corresponde a la línea 38 y debe ser considerado, si se tiene en cuenta el bajo contenido proteico del maíz. En la tabla I, se observa el efecto de dosis del gene harinoso-2 sobre la proteína total, en las líneas 27 y 210 para los cuatro niveles de dosis. En ambas, el contenido de proteína total aumenta con cada dosis adicional del mutante f12

B. Resultados de corte al endospermo.

El corte al endospermo es un método rápido, fácil y muy útil en sistemas de selección, puesto que, permite volver a sembrar los granos utilizados en la prueba, mediante un tratamiento adicional.

Las micrografías se evaluaron por ocho (8) observadores de acuerdo al siguiente criterio: Maíz de buena calidad, cuando los gránulos de zeína no se observan al microscopio. Y de mala calidad, si se observan demasiados gránulos de zeína al microscopio.

Las líneas de genotipos (F12F12F12) S, (F12F12F12) P y (F12F12f12) se calificaron como de mala calidad; y los genotipos (F12f12f12) y (f12f12f12) como de buena calidad.

V DISCUSION

A. Los análisis de triptófano y proteína total se realizaron con el propósito de inferir sobre el valor nutritivo del maíz colombiano Harinoso-2.

Uno de los criterios empleados es determinar el triptófano, y expresar la calidad de proteína en función de dicho aminoácido. También se emplea lisina la cual aumenta proporcionalmente con el contenido de triptófano, en la relación de 4:1.

1. En la tabla I puede apreciarse, el promedio de triptófano de las ocho líneas por cada nivel de dosis. Los niveles con mayores dosis del mutante f12, son más altos en triptófano, lo cual pone de manifiesto su buena calidad proteica. A pesar de existir diferencias en algunas líneas entre el nivel normal y el normal segregante, se concluye que en promedio estos dos niveles no muestran variación para el porciento de triptófano.

El porciento de aumento sobre normales para el nivel de una dosis del mutante f12 fué de 17, para dos de 41 y para el nivel homocigótico (f12f12f12) de 72. La diferencia del triple nivel (f12f12f12) sobre el maíz normal pone de manifiesto, que las líneas colombianas harinoso-2 homocigóticas podrían presentar un buen valor nutritivo, si se tiene en cuenta, que los aminoácidos lisina y triptófano son los más limitantes en maíz. El maíz harinoso-2 supera al normal y al opaco-2 en contenido de Metionina en relación de 2:1. Esto le da ventajas sobre el opaco-2 en alimentación de pollos.

TABLA III
PROMEDIOS DE PROTEINA TOTAL (NX 6.25) DE LAS LINEAS HARINOSAS 27 y 210 EN CUATRO NIVELES DE DOSIS

Línea	** (F12F12F12) P	* (F12F12F12) S	(F12F12f12)	F12f12f12	f12f12f12	\bar{X}	o/o sobre blancos
L.27	10.65	10.79	—	10.91	12.51	11.21	100
L.210	10.72	11.00	11.26	11.94	13.19	11.66	106

* Granos normales segregantes

** Granos normales

Los trabajos adelantados en Colombia sobre nutrición animal con maíz harinoso-2 han sido escasos, y los pocos estudios hechos por el CIAT en colaboración con el ICA, utilizando dietas de maíz harinoso-2 en pollos y cerdos, no han arrojado resultados positivos. Maner et al (13), plantearon la posibilidad de que los materiales colombianos hubiesen perdido el gene $f12$ y por lo tanto, la continuación de los estudios con líneas harinoso-2 no se justificaría. En las pruebas realizadas por ambos Institutos, el maíz harinoso-2 estaba mezclado, presentandose diferentes dosis del gene $f12$ y granos normales. Debido a ésto su valor biológico no arrojó los resultados esperados.

Al observar la tabla I, se deduce que el gene $f12$ no se ha perdido de los materiales colombianos, pues para las ocho líneas el contenido de triptófano del nivel ($f12f12f12$) es superior al de las líneas normales. Si se mezclan las líneas sin tener en cuenta sus niveles, el promedio de triptófano será muy inferior al obtenido para el harinoso-2 en su estado homocigótico.

El efecto de dosis en los genes $o2$ y $f12$ lo estudiaron Paez, Helm y Zuber (19), y obtuvieron resultados similares, cuando analizaron lisina y proteína total en el grano entero de las líneas americanas W64A, Oh43 y sus respectivos híbridos. En las series opaco-2 el porciento de lisina aumentó significativamente para la triple dosis ($o2o2o2$) comparado con el de los normales ($O2O2O2$). Para la serie harinoso-2 el porciento de lisina aumentó con cada dosis adicional del gene $f12$ de la siguiente manera: 26 para una dosis, 34 para dos y 80 para el nivel de tres dosis.

Los dos últimos aumentos son altamente significativos. Nelson, Mertz y Bates, (16), y Bates (1), concluyen que además del triptófano y la lisina aumentan también los aminoácidos histidina, arginina, glicina, cistina por cada dosis adicional de los mutantes $o2$ y $f12$ en el endospermo.

El mutante $f12$ actúa en el endospermo del grano e inhibe la síntesis de la prolamina (zeina) y aumenta la de las otras fracciones (albúminas, glutelinas y globulinas). La zeina es una proteína de mala calidad puesto que su contenido de lisina y triptófano es bajo, comparado con la presencia de éstos aminoácidos en las otras fracciones especialmente las globulinas que a pesar de ser la fracción más pequeña es la más rica en lisina y triptófano. El aumento de las fracciones proteicas diferentes de zeina, traerá como consecuencia una mayor concentración del triptófano en el endospermo del grano.

Finalmente es conveniente resaltar que el contenido de triptófano es diferente en las líneas blancas y amarillas harinoso-2 siendo superior en éstas últimas. (Figura 1).

2. La proteína total de las líneas harinoso-2 para la triple dosis del mutante $f12$ es superior a la de las líneas normales segregantes. (Tabla II y Figura 2). El porciento sobre las normales es de 12, mayor para las líneas harinoso-2 homocigóticas ($f12f12f12$)

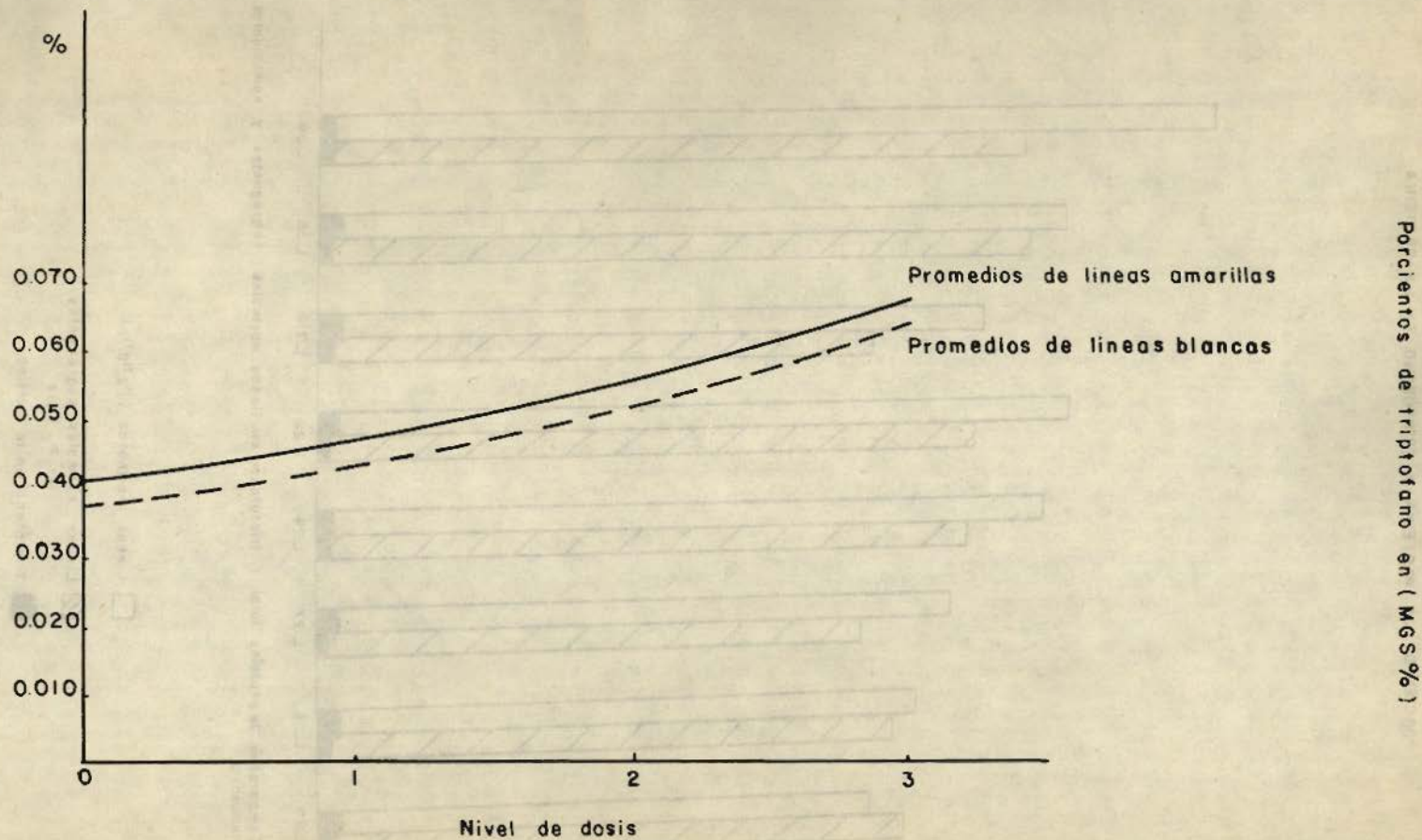


Fig. 1 Comparación entre promedios de triptófano (Mgs %) de las líneas harinosas. Versiones del ICA H207 y del diacol H253.

PORCIENTO DE PROTEINA Y TRIPTÓFANO EN LA PROTEINA

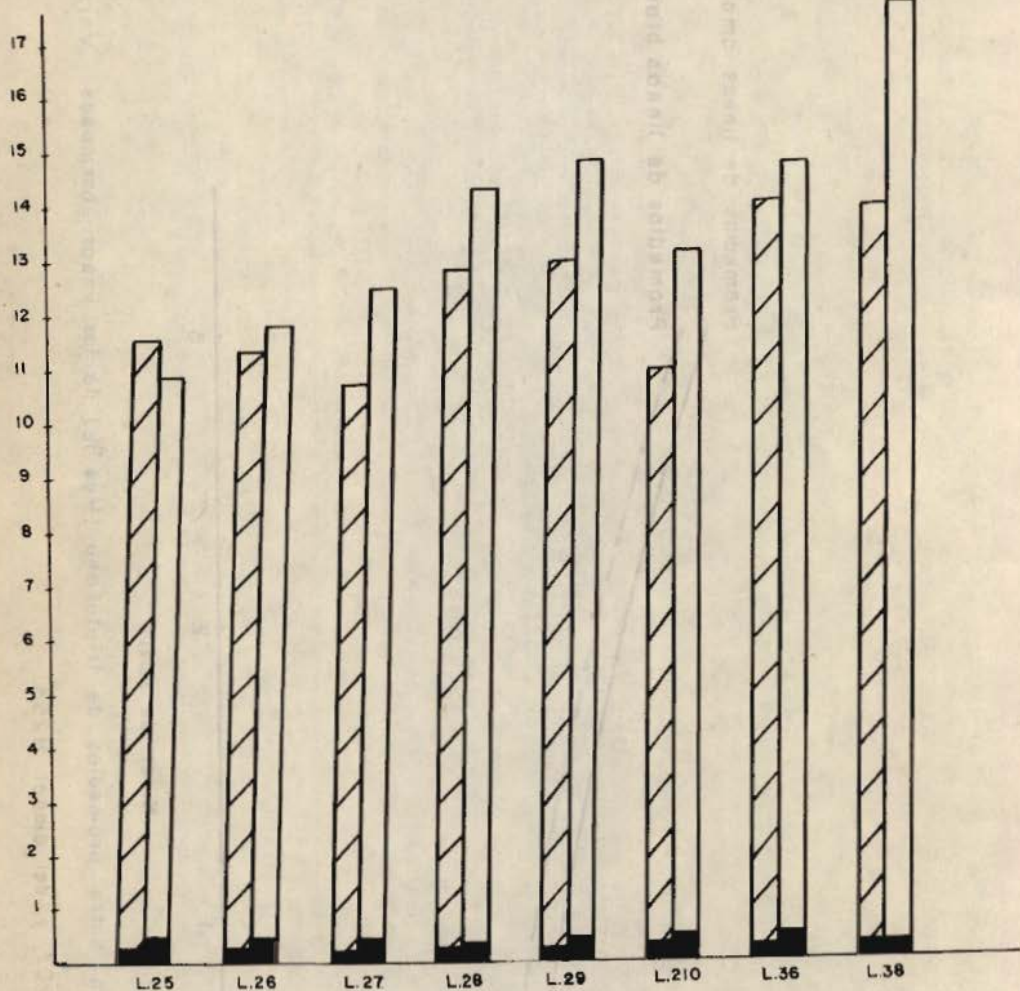


Fig. 2 Comparación de proteína total y triptófano en líneas normales segregantes y homocigotas hairy-2.

- Líneas harinosas ($fl_2 fl_2 fl_2$)
- ▨ Líneas normales segregantes ($F_1 F_1 F_1$)
- Triptófano en la proteína

Resultados muy semejantes fueron obtenidos por Poey (19), él comparó los granos harinoso-2 y normales de 50 mazorcas segregantes y encontró diferencias altamente significativas en el contenido de proteína siendo mayor el promedio de los granos harinoso-2. Es importante resaltar que en este estudio los granos harinoso-2 presentan dos y tres dosis del mutante *fl2*

Los porcentos obtenidos para el nivel (*F12F12F12*) son altos en todas las líneas, si se tiene en cuenta el bajo contenido de proteína del maíz. Esto puede deberse a que, las muestras examinadas provenían de plantas heterocigóticas (*F12f12*), por consiguiente puede presentarse aquí un mayor metabolismo de la planta, que cuando ésta es homocigótica (*F12F12*); o deberse a la presencia de los genes modificadores muy ligados al locus *fl2* que alteran el contenido total de la proteína.

Los promedios de proteína en la línea amarilla 210 superan a los de la línea blanca 27 en cada nivel de dosis estudiado, (Tabla III). El mayor contenido de proteína en los granos amarillos se puede atribuir a que el color parece depender del espesor de la capa de aleurona (Poey, 18). Si se tiene en cuenta, que en la fracción inferior de la capa de aleurona que limita con el endospermo se han encontrado las concentraciones mayores de proteína se deduce que al aumentar la capa de aleurona, aumentará también el contenido de proteína total.

En la Tabla III, puede observarse que el contenido total de proteína aumenta por cada dosis adicional del mutante *fl2* en las dos líneas estudiadas. El mismo fenómeno ocurrió para el análisis de triptófano, exceptuando la línea 38.

Páez, Helm y Zuber, (17) encontraron para la serie opaco-2, que el contenido de proteína disminuye con tres dosis del gene *o2*. En las series harinoso-2 a pesar de haber diferencias en los porcentos de proteína entre los niveles homocigóticos normal y harinoso-2 éstas no son significativas.

Poey y Villegas (22), argumentan que el gene *o2* reduce 2.5 o/o el contenido de proteína en el endospermo. Pero esta disminución en la proteína, va acompañada simultáneamente con el aumento del contenido de triptófano que puede llegar a doblar la cantidad presente en el endospermo de maíces normales.

De los análisis de triptófano y proteína aquí descritos, se deduce que existe relación positiva entre triptófano y proteína total, pues el nivel con la triple dosis del mutante *fl2* presenta el mayor porcentaje de triptófano y proteína total en cada una de las líneas, exceptuando la línea 38.

Esta correlación también fué encontrada por Páez, Helm y Zuber (17), para porcentaje de proteína total y lisina.

En un estudio de correlaciones entre 17 aminoácidos y contenido total de proteína se encontró que la concentración final de ésta última está altamente asociada, con un cambio principalmente de ácido aspártico, leucina y ácido

glutámico. La concentración de ácido aspártico varía con el nivel de dosis y aumenta por cada dosis del mutante F12. (Bates, 1).

En la Tabla IV, puede observarse el porciento de triptófano en la proteína. En general las líneas harinoso-2 con las tres dosis del mutante f12, aumentaron casi el doble del valor de los normales segregantes, con excepción de la 38, donde el porciento de triptófano en la proteína es casi igual para la triple dosis (f12f12f12) que para su normal segregante debido al alto porciento de proteína que dió al homocigoto harinoso-2 el cual fué 18.26 o/o.

Como se puede apreciar, para las diferentes variables cuantificadas existe un marcado efecto de dosis para el mutante f12, siendo en las ocho líneas examinados superior en el nivel de tres dosis del gene (f12f12f12)

Los datos aquí observados ubican al homocigoto harinoso-2 en una situación privilegiada y abren nuevas luces en el mejoramiento de la calidad de la proteína de éste cereal.

Resultaría interesante continuar la investigación con este tipo de mutante en Colombia. Uno de los ensayos más valiosos sería obtener material suficiente con el triple nivel (f12f12f12), para producir híbridos dobles harinosos e iniciar ensayos de rendimiento de campo y pruebas biológicas tendientes a apreciar su valor nutritivo.

Si se tiene en cuenta la experiencia acumulada en el estudio del mutante opaco-2 se podrán encaminar los trabajos con maíz harinoso-2 con gran probabilidad de éxito.

Ambos genes reducen significativamente el peso del grano. En promedio opaco-2 pierde 13.13 o/o y harinoso-2 9.04 o/o del peso de los normales. El volumen para los segregantes opaco-2 se mantiene prácticamente igual a los respectivos normales, pero para harinoso-2 se observa un aumento significativo. (Poey 19; Srreramulu, Bauman y Gary, 26). Esta menor reducción en el peso del harinoso-2, le dará cierta ventaja sobre el opaco-2 en rendimientos de campo.

El maíz harinoso-2 con la triple dosis del gene f12 podría utilizarse presumiblemente con los mismos resultados que el opaco-2 en nutrición humana y animal, una vez que las pruebas biológicas le reporten buen valor nutritivo; porque podría existir la posibilidad de que, las pruebas biológicas arrojen resultados negativos debido a la presencia de ciertos inhibidores en el endospermo del grano que no permiten la utilización adecuada de estos valores altos, de proteína y triptófano.

El uso en la industria de este posible híbrido harinoso-2 colombiano y sus impactos económicos podrían ser importantes. La utilización de un maíz mejorado como por ejemplo, el opaco-2 le ahorra a los agricultores de Estados Unidos más de 140 millones de dólares al año en costos de alimentación.

TABLA IV

PORCIENTO DE PROTEINA, TRIPTOFANO y TRIPTOFANO EN LA PROTEINA PARA LAS LINEAS PURAS HARINOSAS-2 NORMALES SEGREGANTES

Línea	Nivel de Dosis	o/o Proteína	o/o Triptófano	o/o de Triptofano en la proteína
		*		
L.25	F12F12F12 S	11.61	0.039	0.33
L.25	f12f12f12	10.95	0.059	0.53
L.26	F12F12F12 S	11.39	0.036	0.31
L.26	f12f12f12	11.84	0.063	0.53
L.27	F12F12F12 S	10.79	0.037	0.34
L.27	f12f12f12	12.52	0.067	0.53
L.28	F12F12F12 S	12.94	0.040	0.30
L.28	f12f12f12	14.43	0.071	0.40
L.29	F12F12F12 S	13.02	0.037	0.28
L.29	f12f12f12	14.87	0.072	0.48
L.210	F12F12F12 S	12.38	0.040	0.34
L.210	f12f12f12	13.19	0.069	0.52
L.36	F12F12F12 S	14.15	0.041	0.28
L.36	f12f12f12	14.77	0.073	0.49
L.38	F12F12F12 S	14.06	0.045	0.32
L.38	f12f12f12	18.26	0.057	0.31

* Líneas Normales Segregantes.

(Mertz, 15). En la industria tendría acogida para la fabricación de harina para productos caseros, pastas alimenticias y harina para panificación.

B. El endospermo del maíz normal está compuesto de una proteína matriz amorfa, en la cual se encuentran esparcidos los gránulos de zeína. El diámetro de los gránulos es alrededor de dos micras. En el maíz opaco-2 y harinoso-2 los gránulos de zeína reducen notoriamente de tamaño y su diámetro es 0.1 micras (Harpstead, 8). Cuando los gránulos de zeína desaparecen por la acción de cualquiera de los mutantes; la glutelina se convierte en la principal fracción proteica del endospermo. El hecho de almacenarse la zeína en forma de gránulos dentro de las células del endospermo, permite la rápida observación al microscopio.

Las líneas con el nivel (F12F12F12) S, (F12F12F12) P y con una dosis del mutante *fl2* contenían apreciable zeína en el endospermo y por lo tanto se consideraron como de mala calidad. Los niveles con dos y tres dosis del gene *fl2* son de buena calidad, lo que ratifica aún más los resultados arrojados para triptófano y proteína total, discutidos anteriormente. El método es ante todo cualitativo y es difícil detectar las diferencias para el nivel (F12F12*fl2*), cuando se compara con granos normales y normales segregantes.

Como la eficiencia del método es del 80o/o se debe utilizar cuando se tenga suficiente entrenamiento. (Pradilla et al 24). Sin embargo, es un valioso aporte en la selección de materiales de alta calidad proteica. Por rápida ejecución, la sencillez, el poco equipo utilizado y los bajos costos aventaja a los métodos más refinados y precisos.

VI. CONCLUSIONES

1. El gene *fl2* se comporta como semidominante cuando se presenta en una dosis en el endospermo y como dominante cuando se presenta en dos dosis. En este último caso se observa que domina la condición materna del endospermo (*fl2fl2*).
2. El gene harinoso-2 modifica el contenido de triptófano, a la vez que provoca cambios en la cantidad de proteína del endospermo. En promedio de las líneas harinoso-2 (*fl2fl2fl2*) presentan 0.067 mgs o/o de triptófano y 13.85 o/o respectivamente.
3. El mutante harinoso-2 presenta un marcado efecto de dosis y con cada dosis adicional del gene *fl2* se incrementan las cantidades de triptófano y proteína total. Los mayores valores presentes en las líneas homocigóticas (*fl2fl2fl2*) se explican por el mayor número de dosis del mutante presente en el endospermo triploide.
4. No se apreciaron diferencias notables en el contenido de triptófano entre las líneas normales segregantes y las normales; pero sí hay diferencia en el contenido de proteína total, siendo las líneas normales segregantes superiores a sus respectivas normales.

5. El mayor contenido de proteína total de las líneas normales segregantes (F12 F12F12) S, se atribuye al mayor metabolismo de la planta, ya que todas eran heterocigóticas (F12f12), ó a la acción de genes modificadores que alteran el contenido total de proteína.
6. Las líneas amarillas resultaron superiores a las blancas en contenido de triptófano y proteína total en cada genotipo estudiado.
7. El método de cortes del endospermo del grano es muy práctico y se puede utilizar para la selección de maíz de alta calidad proteica.

VII. RESUMEN

Con el objeto de inferir sobre el valor nutricional del maíz harinoso-2 colombiano, se ensayaron ocho líneas de maíz correspondientes a los híbridos DIACOL H-293, e ICA H-207, a las cuales se les había incorporado el gene mutante f12. Este material fué proporcionado por el Instituto Colombiano Agropecuario Seccional Palmira.

Por medio de cruces genéticos se obtuvieron granos con una (F12F12f12), dos (F12 f12f12) y tres (f12f12f12) dosis del mutante f12.

Se les determinó por ciento de triptófano y proteína total por los métodos de Opienska-Blaut y Kjeldahl— respectivamente. Igualmente se practicaron cortes al endospermo del grano utilizando el micrótopo de congelación, para observarlos al microscopio.

Se encontró efecto de dosis del mutante f12. Los porcentos de triptófano y proteína total se incrementan a medida que se adiciona al endospermo del grano dosis del gene F12, resultando por consiguiente que el homocigótico harinoso-2 es más alto en triptófano y proteína total que cualquier material estudiado.

Se observó que las líneas amarillas arrojan mayores valores de triptófano y proteína total que las líneas blancas en todos los genotipos estudiados.

VIII SUMMARY

The eight lines that enter into the corn hybrids DIACOL H253 and ICA H207 incorporated with the gene for floury endosperm (f12) were used in this trial.

Seed with one (F12F12f12), two (F12f12f12) and three (f12f12f12) doses were analyzed for total protein and triptophane by Opienska-Blaut and Kjeldahl methods. Endosperm slide prepared by freezing microtome technique were observed at the microscope.

Floury gene presented a dose effect. Total protein and triptophane content increased with f12 level, homocygous floury-2 being the highest.

Lines with yellow seed were generally higher in protein and triptophane than white lines.

IX BIBLIOGRAFIA

1. BATES, L.S. Análisis de aminoácidos (en Inglés), In Proceedings of the high lysine corn conference. Purdue University, Lafayette, Jun. 21-22, 1966. pp: 61-66. (mimeografiado).
2. BAUMAN, L.F. and MERTZ, E.T. The status of development of maize with improved protein quality. Purdue University, Lafayette. No. 405:6. 1972.
3. BEINGOLEA, L. Problemas en la introducción del gene opaco-2 en maíces harinosos y una posible solución utilizando genes cristalinos. In conferencia sobre mejoramiento en la zona andina, 4, Palmira, Nov. 2-5, 1971. pp: 111-113. (Mimeografiado).
4. BETANCOURT, L.H. PRADILLA, A. y FRANCIS, A.C. Un método rápido y simple para determinar calidad en maíz. Centro Internacional de agricultura Tropical. El Maicero No. 7. 1973. pp: 1-2.
5. BRESSANI, R. and CONDE, R. Changes in the chemical composition and distribution of nitrogen of maize at different stages of development. Cereal Chemistry. No. 38:76. 1961.
6. CASSALET DAVILA, C. Aspectos agronómicos del maíz opaco. In Seminario Nacional de maíz opaco, 1, Bogotá, Oct., 23, 1970. C.N.I.A. Palmira, 1970. pp: 8-16.
7. DUDLEY, J.W., LAMBERT, R.J. and ALEXANDER, D.E. Variability and relationships among characters in *Zea mays* L. Synthetics with improved protein quality. Crop Science. 11:512-514. 1971.
8. HARPSTEAD, D.D. High lysine corn. Scientific American. 225 (2): 34-42. 1971.
9. HARPSTEAD, D.D. and PRADILLA, A. High lysine corn in human nutrition. In Simposio sobre milho opaco viciosa. Minas Gerais, Brazil, Agos., 22-23, 1968. pp: 1-8.
10. HOGAN, A.C. Corn as source of protein and for growing animals. Journ. Biol. Chem. 2: 485-493. 1917.
11. INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO. Descripción de las líneas de los híbridos ICA H-207 y DIACOL H-253. Informe no publicado. 1971. (Mimeografiado).

12. LAMBERT, R.J. and COCHRAN, D.E. Use of alleles in obtaining the modified protein double mutant (Opaque-2, floury-2) in *Zea mays* L. *Crop Science*. 10: 715-717. 1970.
13. MANER, J.H. et al. Performance of rats and swine fed colombian floury-2, colombian opaque-2 or normal corn. Cali, Centro Internacional de Agricultura Tropical. 1971. pp: 791-796. Reimpreso de *Journal of Animal Science*. 33 (4): 791-796. 1971.
14. MANRIQUE CHAVEZ, A. Mejoramiento de la calidad de la proteína del grano de maíz. In Reunión de los maiceros de la zona andina, 5a. Cochabamba, Bolivia, Marzo, 26-30. 1973. Palmira, Centro Internacional de Agricultura Tropical. pp: 12-11. (Mimeografiado).
15. MERTZ, E.T. High lysine corn. *Agricultural Science*. 1968: 1-6 1968.
16. NELSON, O.E. MERTZ, E.T. and BATES, L.S. Second mutant gene affecting the amino acid pattern of maize endosperm proteins. *Science*. 150/1469. 1965.
17. PAEZ, A.V., HELM, J.L. and ZUBER, M.S. Dossage effects of opaque-2 and floury-2 on lysine, protein and transmission of maize endosperm. *Z. Pflanzenzuchtg*. No. 63: 119-124. 1970.
18. POEY, F.R. Comparación de los efectos de los genes opaco-2 y harinoso-2 en el peso y densidad en grano en maíces tropicales. *Agrociencia*. 4 (1): 47-65. 1970.
19. _____ Efecto de los genes opaco-2 y harinoso-2 en el contenido de proteína y triptófano del endospermo de maíces tropicales. *Agrociencia*. 4 (1): 67-78. 1970.
20. _____ Maíz opaco: nuevo progreso de la genética. *Hacienda* 67(3):17-20 1972.
21. _____ Orientaciones para la aplicación de valores de proteína en el mejoramiento integral del maíz. In Conferencia sobre mejoramiento de maíz en la zona andina, 4a. Palmira, Nov., 2-5, 1971. pp: 114-124. (Mimeografiado).
22. _____ Y VILLEGAS, E. Herencia del fenotipo córneo en maíces opaco-2 y su efecto en el contenido de proteína y triptófano del endospermo. In Reunión de maiceros de la zona andina, 5a. Cochabamba, Bolivia, Marzo, 26-30, 1973. Palmira, Centro Internacional de Agricultura Tropical. pp: 23-36. (Mimeografiado).

23. POND, W.G., MANER, J.H. and LINARES, F.A. Limiting amino acids in Colombian flourey-2 corn for growth of young rats. Cali, Centro Internacional de Agricultura Tropical. 1971. pp: 787-790. Reimpreso de Journal of Animal Science. 33 (4): 787-790.
24. PRADILLA, A., et al. Manipulación genética de productos vegetales: su valor en nutrición humana. Centro Internacional de Agricultura Tropical. El Maicero No. 8. 1973. pp: 1-2.
25. SCALES, F.M. and HARRISON, A.D. Boric acid modification of the Kjeldahl method for crop and soil analysis. J. Ind. Eng. Chem. 12:350-352. 1920
26. SREERAMULU, C., BAUMAN, L.F., and CARY, R. Effects of foutorossing on protein quality, kernel weigh, and related characters in opaque-2 and flourey-2 maize (*Zea mays* L.). Crop Science 10:235-236. 1970.
27. WIGGIN, H.O. Improving protein quality in maize. African Soils. 15:(1-3): 373-378. 1970.