

MEJORAMIENTO DEL VALOR NUTRITIVO DE LA PROTEÍNA EN EL GRANO DE MAÍZ: ALGUNAS BASES PARA EL FITOMEJORADOR.

Federico R. Poey.*

La mayor eficiencia nutricional de los maíces con los genes opaco-2 (o_2) y harinoso-2 (fl_2) ha impulsado en forma dramática los esfuerzos encaminados al mejoramiento de la proteína del grano de maíz. Estos esfuerzos dependen en forma decisiva de la cooperación de bioquímicos y nutriólogos para la evaluación de los progresos que se puedan alcanzar. Es necesario, por lo tanto, que el fitomejorador tenga conocimiento de las clases de proteína y aminoácidos que se sintetizan en las diferentes partes del grano de maíz. Asimismo, necesita tener presente los efectos genéticos y ambientales que influyen en la síntesis de la proteína para poder encausar la selección y combinación genética de sus materiales en forma positiva.

Convendrá, por lo tanto, resumir la información y consideraciones pertinentes en los siguientes capítulos:

1. Proteína y aminoácidos en el grano de maíz normal, opaco-2 y harinoso-2.
2. Efectos genéticos y ambientales en la cantidad y la calidad de la proteína.
3. Utilización de los genes o_2 y fl_2 .
4. Consideraciones básicas sobre programas encaminados a mejorar el valor nutritivo del maíz.

Durante la discusión de estos capítulos, debe mantenerse presente el objetivo principal de fitomejorador debe consistir en mejorar la cantidad y la calidad de la proteína, a la vez que mantener altos niveles de rendimiento de campo y otras cualidades agrónomicas.

*Genetista, Poey Hybrids, Inc.

1. PROTEINA Y AMINOACIDOS EN EL GRANO DE MAIZ NORMAL, OPACO-2 Y HARINOSO-2

Las proteínas son grandes moléculas que se descomponen por medio de hidrólisis en unidades más pequeñas llamadas aminoácidos. Los animales monogástricos necesitan de estos aminoácidos para su nutrición, y pueden sintetizar algunos en su metabolismo natural, mientras que otros deben ser proporcionados en la dieta. Estos últimos se denominan esenciales y son los siguientes: valina, leucina, isoleucina, treonina, metionina, lisina, arginina, histidina, fenilalanina y triptofano.

En cuanto a las proteínas del maíz éstas se dividen de acuerdo a su solubilidad en diferentes agentes, en cuatro grupos principales: albúminas, globulinas, glutelinas y prolaminas (Osborne y Mendel, 1914).

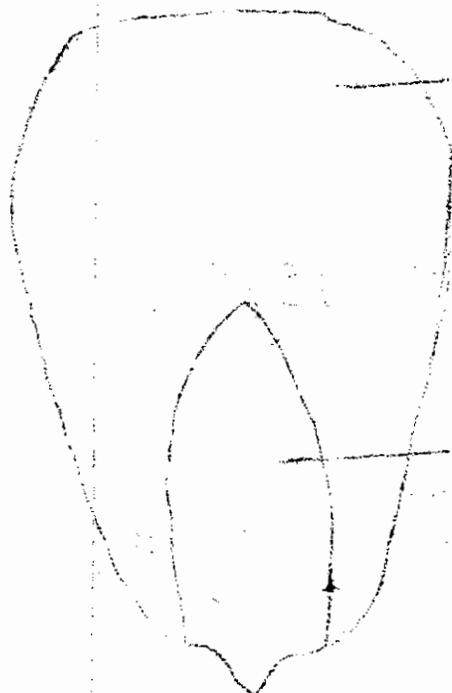
Las dos primeras se caracterizan por un excelente balance de aminoácidos esenciales y corresponden principalmente a las proteínas del germen. Las glutelinas y prolaminas, también llamadas de reserva, son proteínas de inferior calidad, debido principalmente a su bajo contenido de algunos aminoácidos esenciales entre los que destacan la lisina y triptofano. De las dos proteínas de reserva, las prolaminas, llamada zeína en el maíz, es de inferior calidad y también la de mayor concentración en el endospermo.

La forma en que los genes o_2 y fl_2 modifican la proteína del endospermo, parece ser actuando como inhibidores de la síntesis de zeína, lo cual da como resultado proporciones mayores de las fracciones que son más ricas en lisina y triptofano (Mertz, 1968).

En la Figura 1 se resumen valores reportados para los cuatro tipos de proteína descritos anteriormente en el endospermo de maíz normal, opaco-2 y harinoso-2 (Nelson, 1969). También se incluyen estos valores para el germen de maíz normal (Concon, 1966).

Para comprender mejor el alcance de los efectos de estos genes en la calidad de la proteína se detalla en el Cuadro 1 el contenido de aminoácidos para grano entero de maíz normal, opaco-2, y harinoso-2 (Nelson, 1969). Se puede apreciar el notable incremento obtenido en lisina en los maíces o_2 y fl_2 . Merece la pena destacar también, en ese cuadro, el alto contenido de proteína total reportado en el maíz fl_2 .

FIG. 1. DISTRIBUCION DE LA PROTEINA Y SUS COMPONENTES EN EL GRANO DE MAIZ
(Nelson, 1969, Concon, 1966)



ENDOSPERMO: 75-85% de la proteína total
% de la proteína

	+	O ₂	fl ₂
Albúminas	3.8	12.1	9.6
Globulinas	2.0	5.1	7.3
Prolaminas (Zeina)	55.1	22.9	29.0
Glutelinas	31.8	50.1	40.8

GERMEN: 15-20% de la proteína total.

	+
Albúminas y Globulinas	30-40
Prolaminas (zeina)	5-10
Glutelinas	49-54

CUADRO 1. Composición de aminoácidos (g por 100 g de proteína) de grano entero desgrasado de maíz opaco-2, normal y harinoso-2, cosecha de 1967. (Nelson, 1969).

AMINOACIDO	o ₂	+	fl ₂
Lisina	5.0	3.0	4.8
Triptofano	1.3	0.7	- -
Histidina	3.5	2.6	2.9
Arginina	7.2	4.9	6.3
Acido Aspártico	8.8	9.2	10.5
Treonina	3.8	4.1	4.1
Serina	4.7	5.6	5.2
Acido Glutámico	17.2	22.6	18.5
Prolina	8.4	9.6	8.8
Glicina	5.1	4.7	4.7
Alanina	6.7	9.2	8.0
Cistina	2.0	1.7	1.6
Valina	5.2	5.7	5.7
Metionina	2.2	1.3 ^a	2.7
Isoleucina	3.4	4.2	4.0
Leucina	9.3	14.6	12.0
Tirosina	4.2	5.2	4.6
Fenilalanina	4.4	5.8	5.2
% Proteína	10.5	9.0	17.0

^

^aMás bajo de lo esperado, algo pudo ser destruido por la hidrólisis.

2. EFECTOS GENETICOS Y AMBIENTALES EN LA CANTIDAD Y CALIDAD DE LA PROTEINA.

Hasta el descubrimiento del efecto fisiológico de los genes o_2 (Mertz, et al. 1964) y fl_2 (Nelson, et. al, 1965), las selecciones de alto contenido de proteína resultaron en aumentos de zeína, por lo que la calidad de la proteína, expresada en función de sus aminoácidos esenciales, se reducía. Por otra lado, trabajos encaminados a seleccionar en base del tamaño relativo del germen resultaron en rendimientos de campo muy pobres y por lo tanto imprácticos (Frey, et al. 1949).

Estos estudios, sin embargo, determinaron que la herencia de la cantidad de proteína es cuantitativa al igual que el componente zeína, y los aminoácidos, triptofano, valina, leucina e isoleucina. Además, establecieron que el bajo contenido de estos componentes es total o parcialmente dominante que alto contenido (Frey, 1949).

Se ha demostrado en otros estudios, que tanto el contenido de proteína como el de aminoácidos en el grano de maíz varían en forma notable, aún dentro de líneas derivadas de una misma raza o fuente genética. Tello, y colaboradores, en 1965, encontraron gran variabilidad en el contenido de proteína y lisina en 182 variedades de México, América Central y el Caribe. Además, sugirieron que el contenido de lisina es una característica racial. En un estudio reciente realizado en Missouri por Páez, et al, 1969, se encontró que el contenido de lisina se distribuye normalmente en 429 líneas puras y 169 variedades. Algunos de los valores más altos fueron comparables a los obtenidos con los genes o_2 y fl_2 .

Otros trabajos anteriores realizados en Guatemala ya habían concluido en resultados similares. Aguirre, et al, 1953, y Bressani et al, 1962, encontraron variabilidad en el contenido de proteína, lisina, triptofano y metionina en maíces de diferentes orígenes.

Se puede suponer que esta variabilidad es genética, en cuyo caso puede ser factible lograr progresos mediante selección y recombinación adecuadas en maíces de tipo normal. Sin embargo, la utilización de los genes o_2 y fl_2 parece ser más efectiva en mejorar la proteína, y menos dependiente de análisis de laboratorio, ya que el fenotipo amiláceo de estos genes sirven de marcadores durante el proceso de mejoramiento en tipos cristalinos y algunos dentados.

Es de gran importancia poder asociar el efecto cualitativo de

estos genes con maíces seleccionados previamente para alto contenido de proteína. Nelson, 1966, indicó la compatibilidad de estos factores al obtener maíces opaco-2 y harinoso-2 con 17.4% y 17.0% de proteína total, ambos con un balance de aminoácidos comparables a otros maíces con estos genes.

Antes de discutir los efectos ambientales en la proteína conviene recordar que la herencia del endospermo está gobernada por tres gametos (triploide), dos que son contribución del óvulo y uno del polen, mientras que el germen está gobernado por dos gametos (diploide), uno proveniente del óvulo y otro del polen. Debe recordarse también que el grano de maíz representa una generación más avanzada que la de la planta madre, pero que por depender de ella, las condiciones que afectan la planta también tendrán influencia en el grano.

Un efecto característicamente dependiente de la condición triploide del endospermo, o efecto materno, es la manifestación fenotípica del gene harinoso-2 en genotipos heterocigotos en los casos en que la planta madre fuera homocigota (fl_2/fl_2). Opaco-2, sin embargo, actúa como clásico recesivo Mendeliano sin aparente efecto materno en el endospermo.

Puesto que la cantidad de proteína en el grano de maíz depende principalmente del endospermo, los cambios que afecten esta estructura influirán directamente en la proteína total del grano. Así por ejemplo, el vigor híbrido o condiciones ambientales que resulten en tamaño de grano mayor tenderán a reducir el contenido relativo de proteína, ya que estos aumentos son, principalmente, en los carbohidratos del endospermo. Consecuentemente, granos pequeños o enfermos, tenderán a ser relativamente más altos en proteína puesto que los carbohidratos son más susceptibles de modificación que las proteínas. Se comprende, por lo tanto, que granos autofecundados demuestren mayor contenido de proteína que granos cruzados. Además se ha demostrado que mazorcas con mayor número de granos tienen menor contenido relativo de proteína que mazorcas con pocos granos (East and Jones, 1920).

El efecto de fertilizantes y densidad de siembras en la proteína ha sido ampliamente estudiado y en general conviene en que la proteína aumenta al incrementar los niveles de nitrógeno en la fertilización y se reduce al aumentar la densidad de población (Earley y De Turk, 1948, Zuber, et al, 1954, Kingma, datos sin publicar, CIMMYT, México). Genter, et al, 1948), observaron, además que el contenido de proteína se aumentó significativamente bajo condiciones de sequía.

3. UTILIZACION DE LOS GENES o_2 Y fl_2

Varios estudios realizados con estos genes han concluido que éstos ocasionan efectos secundarios importantes además de la modificación del balance de los aminoácidos esenciales. A continuación, se enumeran algunas de estas conclusiones reportadas para cada gene; varias de ellas confirmadas en maíces tropicales en trabajos realizados en Chapingo, México.

OPACO-2

- a) Aumenta con gran eficiencia el contenido de lisina y triptofano en el endospermo (Nelson, et al, 1964. Poey, 1969).
- b) Aumenta relativamente el tamaño del germen (Bauman, datos sin publicar).
- c) Reduce la proteína total del endospermo (Nelson, 1969. Poey y Villegas, 1969).
- d) Reduce el peso y densidad del grano (Alexander, 1966, Poey, 1969).
- e) No existe aparente interacción entre peso, volumen y densidad del grano con el contenido de proteína y triptofano del endospermo (Poey, 1969).
- f) Es afectado por modificadores genéticos del fenotipo amiláceo sin perjuicio de la calidad de proteína (Páez, et al, 1969. - Poey, 1970).
- g) La herencia recesiva puede ser modificada por segregación genética preferencial a favor de los gametas normales en algunos materiales (Poey, 1970)
- h) Retiene más humedad en el grano al momento de la cosecha que el maíz normal (Alexander, et al, 1969, Páez, et al, 1969).

HARINOSO-2

- a) Aumenta en forma menor e inconsistentemente el contenido de lisina y triptofano en el endospermo (Nelson, 1969. Poey, 1969)

- b) Aumenta relativamente el tamaño del germen (Bauman, datos sin publicar).
- c) Aumenta la proteína total en grano entero y en el endospermo (Nelson, 1969. Poey y Villegas, 1969).
- d) Reduce menos el peso y densidad del grano que opaco-2 (Nelson, 1966. Poey, 1969).
- e) Aumenta el tamaño (volumen) del grano (Poey, 1969).
- f) Aumenta la metionina en el endospermo (Nelson, 1965)
- g) Actúa como dominante en algunos fenotipos (Nelson, 1969, Poey, 1970).
- h) Ejerce efecto de dosis en el contenido de lisina (Bates, 1966) y triptofano (Villegas, datos sin publicar)
- i) La humedad del grano se reduce más rápidamente que en maíz o_2 ó normal (Páez, et al, 1969).

Desde el punto de vista metodológico de retrocruzamiento, el gene o_2 requiere de autofecundaciones en generaciones alternas para poder identificar las plantas portadoras del gene. En esos ciclos - convendrá marcar las plantas autofecundadas y llevar el polen a la línea recurrente con el objeto de no retrasar el proceso de retrocruzamiento. Una vez recuperado el genotipo recurrente, bastará con autofecundar para reconstituir la condición homocigota en el locus o_2 .

Para fl_2 , el efecto materno del endospermo facilita la identificación de los granos portadores del gene en cada generación de retrocruzamiento. Sin embargo, para fijar el genotipo homocigoto una vez recuperado el genotipo recurrente, se requerirán dos generaciones sucesivas de autofecundación, escogiendo aquellas mazorcas que no segreguen granos normales en la segunda autofecundación.

En cuanto al número de retrocruzamientos necesarios para incorporar estos genes a materiales adaptados dependerá del método de mejoramiento que se esté realizando. Para programas de selección masal, el Dr. John H. Lonquist (comunicación personal) recomienda que, una, o tal vez dos retrocruzas sean suficientes, si después se sigue seleccionando en base a suficiente número de plantas que permita la eliminación del genotipo exótico en los ciclos siguientes. Para programas de conversión de líneas puras de híbridos comerciales, se requerirán al menos cinco retrocruzas, ya que interesa recuperar lo más exactamente posible el genotipo de la línea recurrente para que se expre

se exprese la heterosis esperada en los híbridos que se formen con estas líneas.

El mayor inconveniente de los genes o_2 y fl_2 consiste en la estructura amilácea del endospermo asociada a ambos. Por lo tanto, cualquier método que tienda a eliminar o compensar esta característica merece consideración.

En 1966, Nelson señaló que la presencia homocigota de ambos genes en un mismo material ocasionaba un fenotipo prácticamente normal. Esta interacción genética parece haber sido confirmada en otros materiales tropicales, adelantándose la hipótesis de un mecanismo modificador que en la presencia de ambos genes, o de uno de ellos, dá lugar al fenotipo normal (Poey, 1970). Esta interacción, sin embargo, no aumenta el contenido de lisina o triptofano a niveles superiores a lo obtenido con cualquiera de ellos independientemente, pero la recuperación del fenotipo normal con proteína de buena calidad es en sí una posibilidad de gran utilidad.

Páez, et al (1969), reportaron un fenotipo en maíces homocigotos o_2 que tiene aproximadamente la mitad inferior del endospermo de tipo amiláceo y la otra mitad normal o córnea. La calidad de la proteína fué típicamente como la de maíces o_2 y similar en ambas porciones.

Aparentemente, otro tipo de modificadores fenotípicos del endospermo fué encontrado en una línea tropical, también homocigota o_2 . En la Figura 3 se puede apreciar este fenotipo con secciones córneas en forma de mosaico en el endospermo. Estos granos reportaron similar contenido de ntriptofano a los obtenidos en los granos completamente opacos de la misma mazorca (Poey, 1970).

Un fenotipo similar se observó también en granos de mazorcas segregantes heterocigotas $+/o_2$, pero en ese caso los análisis de triptofano de los tipos intermedios fué similar a los normales, y sólo los completamente opacos indicaron el aumento esperado típico de granos homocigotos o_2 (Figura 2).

El fitomejorador debe estar, por lo tanto, atento a fenotipos modificados dentro de poblaciones homocigotas o_2 , y someterlas a análisis de aminoácidos para confirmar sus posibles méritos de índole práctica.

4. CONSIDERACIONES BASICAS SOBRE PROGRAMAS ENCAMINADOS A MEJORAR EL VALOR NUTRITIVO DEL MAIZ.

El mejoramiento genético de la proteína, debe progresar rápidamente si se utiliza, con eficiencia, la variabilidad genética su puesta en materiales nunca antes seleccionados por criterios de calidad y cantidad de proteína. Aparentemente, de mayor dificultad, parece ser la obtención simultánea de altos rendimientos de campo y buena calidad y cantidad de proteína.

Una forma de compensar estas variables puede ser practicando selección considerando simultáneamente el porcentaje de proteína y/o aminoácidos y el rendimiento de grano por planta (Nelson, 1969).

Para que esta selección sea realista deberán minimizarse los efectos ambientales, cuando menos los de densidad de siembra y fertilización, y considerar solamente plantas bien fecundadas. Se deben analizar muestras de estas mazorcas y también anotar los pesos de grano por planta, para posteriormente, hacer la selección entre aquellas que indicaron valores altos en ambos criterios. Las muestras deberán tomarse a lo largo de las hileras para promediar efectos ocasionados por diferencias en el tamaño de grano y en su madurez (los granos de la base se fecundan primero que los de la punta de la mazorca). Para los métodos usados en laboratorios para la determinación de proteína y aminoácidos, son adecuadas muestras de aproximadamente 20 semillas.

Otro factor a considerar para la evaluación de la proteína consiste en decidir si los análisis deberán realizarse solo en el endospermo o en el grano entero. Para programas de mejoramiento de variedades comerciales parece más útil el análisis de grano entero para que se considere la contribución del germen, que puede ser variable y, además, por significar ahorro de tiempo y personal en los análisis de laboratorio. Sin embargo, para estudios más especializados, como la búsqueda de nuevos mutantes, o genes modificadores de la textura, por ejemplo, el análisis de endospermo solo sería, lógicamente, preferible.

Desde el punto de vista genético conviene tener en cuenta el tipo de varianza que se está explotando en el programa de mejoramiento para planear los análisis bioquímicos en la forma más eficiente.

Por ejemplo, los programas de selección masal, que dependen principalmente de la varianza aditiva del material seleccionado, los progresos que se esperan deberán ser medidos en cada generación.

Para programas que dependen además de la varianza de dominancia, como en la formación de híbridos, el valor de las proteínas de las mazorcas cruzadas estará influido por la heterosis de otros componentes de rendimiento como, por ejemplo, tamaño de la semilla. Por lo tanto, el análisis de las mazorcas F_1 , es decir, en las que se formó el cruce, no reflejará valores confiables para la siguiente generación, y por lo tanto no merecen ser analizados. Esto es sin contar que la condición triploidea del endospermo inhibe la influencia genética del progenitor masculino. En estos casos, los análisis de proteína deberán realizarse en las mazorcas F_2 autofecundadas o cruzadas fraternalmente. Durante el desarrollo de las líneas endocriadas, si convendrá hacer análisis en cada generación, aunque el criterio de selección deberá ser más flexible que en programas de selección masal, puesto que estas líneas no se seleccionan en base a la varianza aditiva solamente.

Para programas a base de o_2 , se puede prescindir de los análisis de aminoácidos en las primeras generaciones de selección, y solo realizar análisis de proteína total en grano entero que sea fenotípicamente opaco-2. La base de esta sugerencia es que este gene es muy eficiente en aumentar el contenido de lisina y triptofano dependiendo en forma principal de la cantidad total de proteína del grano.

Para programas a base de fl_2 , los análisis de aminoácidos deberán ser más frecuentes, ya que este gene no es tan eficiente en aumentar la cantidad de lisina y triptofano, además de depender en mayor grado que o_2 del genotipo del material recurrente. Por lo tanto, convendrá hacer análisis de lisina y/o triptofano en cada generación, o por lo menos hasta tener confirmada la continuación genética de las selecciones superiores.

Es importante que en materiales fl_2 se analicen solamente granos homocigotos, ya que parece haber efecto de dosis en el endospermo que pudiera dar lugar a una interpretación errónea de valores de proteínas y aminoácidos.

CONCLUSIONES

Considerando los diferentes efectos genéticos y ambientales en la calidad y cantidad de la proteína, y con el objeto de evitar reducciones en el rendimiento de campo muchas veces asociado al alto contenido de proteína, se sugieren las siguientes bases:

1. Utilizar selecciones de plantas de alto contenido de proteína de los materiales actualmente en uso como fuentes superiores para someterlas a mejoramiento nutricional con los genes o_2 y fl_2 .

2. Considerar simultáneamente el porcentaje de proteína de la muestra, y el rendimiento de grano por plantas como criterio de selección en el mejoramiento de la proteína.

3. Para los análisis de proteínas y aminoácidos se deben tomar muestras de granos a lo largo de la mazorca, de plantas con igual competencia, realizando los análisis en base a grano entero. Muestras de 20 granos son adecuadas para los métodos utilizados generalmente en los laboratorios bioquímicos.

4. En programas de selección masal, una o dos generaciones de retrocruzas al material recurrente debe ser suficiente si se continúa por varios ciclos más la selección masal. Para programas de formación de híbridos, al menos cinco generaciones de retrocruzas serán necesarias.

5. El análisis de proteína total, en los primeros ciclos de selección masal, deberá ser suficiente cuando se depende de o_2 , pudiéndose depender de ese gene como marcador de buena calidad de proteína. Cuando se depende de fl_2 serán necesarios análisis de aminoácidos además de proteína total, por lo menos hasta que se confirme la continuidad genética de las selecciones altas. Después podrá dependerse del fenotipo amiláceo de este como marcador de calidad de proteína, igualmente que en los casos de o_2 . Debe tenerse seguridad que los granos analizados con fl_2 correspondan a genotipo homocigoto.

6. Para programas de formación de híbridos el criterio de selección deberá ser más flexible, ya que se depende en mayor grado de la varianza de dominancia. Cuando se analicen granos producidos por cruzamiento, deberán muestrearse las mazorcas F_2 para permitir la manifestación de heterosis y de la influencia genética del polinizador.

7. Conviene tener presente la posible aparición de fenotipos modificados dentro de poblaciones homocigotas o_2 y fl_2 .

REFERENCIAS.

- AGUIRRE, F., C.E. ROBLES y N.S. SERIMSHA W. The Nutritive value of Central American corns. II. Lysine and methionine content of twenty-three varieties in Guatemala, Food Res. 18: 268-272, 1953.
- ALEXANDER, D.E. Problems associated with breeding opaque-2 corns, - and some proposed solutions. Proceedings of the high lysine corn conference. Purdue University, Lafayette, Indiana. 143-147, 1966.
- ALEXANDER, D.E., R.J. LAMBERT, J.W. DUDLEY. Breeding problems and potentials of modified protein maize. New approaches to - breeding for improved plant protein. International Atomic Energy Agency, Vienna. 55-65. 1969.
- BATES, L. S. Amino acid analysis. Proceedings of the high lysine - corn conference. Purdue University, Lafayette, Indiana. - 61-66, 1966.
- BRESSANI, R., L.G. ELIAS, N.S. SCHRIMSHAW, y M.A. GUZMAN. Nutritive value of Central American corns, VI. Varietal and environmental influence on the nitrogen, essential amino acid, and fat content of ten varieties. Cereal Chem. 39: 59-67,, 1962
- CONCON, J.M. The proteins of opaque-2 maize. Proceeding of the high lysine corn conference. Purdue University, Lafayette, Indiana, 67-73, 1966
- EARLEY, E.B. and E.E. DE TURK. Corn protein and soil fertility. Proceedings of the third hybrid seed corn industry research - conference. American Seed Trade Ass. 3: 84-95, 1948.
- EAST, E.M. y JONES, D.F. Genetic studies on the protein content of maize. Genetics 5: 543-610, 1920.
- FREY, K.J. The Inheritance of protein and certain of its components in maize. Agronomy Journal 41: 113:117.
- FREY, K.J. BRIMHALL, B. y SPRAGUE, G.F. The effects of selection - upon protein quality in the corn kernel, Agronomy Journal 41: 399-403, 1949.
- GENTER, C.F., J.F. EHEART y W.N. LINKOUS. Effect of location, hybrid, fertilizer, and rate of planting on oil and protein contents of corn grain. Agronomy Journal 48: 63-67, 1948.

- MERTZ, E.T. L.S. BATES y O.E. NELSON. Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. Science 145: 279-280, 1964.
- NELSON, O.E. Opaque-2, Floury-2 and high protein maize. Proceedings of the high lysine corn conference. Purdue University, Lafayette, Indiana. 19-22. 1966.
- NELSON, O.E. The modification by mutation of protein quality in maize. *Maize: New approaches to breeding for improved plant protein.* International Atomic Energy Agency, Vienna. 41-54, 1969.
- NELSON, O.E., E.T. MERTZ AND L.S. BATES. Second mutant gene affecting the amino pattern of maize endosperm proteins. Science 150: 1469, 1965.
- OSBORNE, T.B. MENDEL, L.B. Nutritive properties of the maize kernel. J. Biol. Chem. 18. 1-16, 1914.
- PAEZ A.V., J.L. HELM y M.S. ZUBER. Lysine content of opaque-2 maize kernels having different phenotypes. Crop Science 9: 251-252, 1969.
- PAEZ A.V., J.L. HELM y M.S. ZUBER. Comparison of kernel properties from progenies segregating for normal, opaque-2 and floury-type endosperms. Agronomy Abstracts. A.S.A. Detroit, Michigan. 14, 1969.
- PAEZ A.V., J.P. USSARY, J.L. HELM y M.S. ZUBER. Survey of maize strains for lysine content. Agronomy Journal 61: 886-889 1961.
- POEY, F.R. Estudio comparativo de los efectos de los genes opaco-2 y harinoso-2 con los granos de maíces tropicales. XV. Reunión Anual del PCCMCA, II. San Salvador, 1969.
- POEY, F.R. Herencia de los mutantes opaco-2 y harinoso-2 e identificación del doble mutante homocigote. Tesis de M.C. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México, 1970.
- POEY, F.R. y E. VILLEGAS. Effects of o₂ and fl₂ mutants on endosperm protein and tryptophan content of tropical maize. - Agronomy Abstracts. A.S.A. Detroit, Michigan. 61. 1969.
- TELLO, F., M.A. ALVAREZ TOSTADO y G. ALVARADO, A. Study on the improvement of the essential amino acid balance of corn protein. Cereal Chem. 42: 368-384. 1965.
- ZUBER, M.S., G.E. SMITH y C.W. CEHRKE. Crude protein of corn grain and stover as influenced by different hybrids, plant population, and nitrogen level. Agronomy Journal 46: 257-261, 1954.