



Evaluación de la composición proteica y las
propiedades del almidón de progenies de maíz
opaco-2 de polinización libre

Mansilla, Pablo Sebastián

Nazar, María Cristina

Pérez, Gabriela Teresa

Ponencia presentada en XIV Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Rosario, Argentina, 23 al 25 de octubre de 2013



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional.

El Repositorio Digital de la Universidad Nacional de Córdoba (RDU), es un espacio donde se almacena, organiza, preserva, provee acceso libre y procura dar visibilidad a nivel nacional e internacional, a la producción científica, académica y cultural en formato digital, generada por los integrantes de la comunidad universitaria.





Congreso Argentino de Ciencia
y Tecnología de Alimentos

EVALUACIÓN DE LA COMPOSICIÓN PROTEICA Y LAS PROPIEDADES DEL ALMIDÓN DE PROGENIES DE MAÍZ *opaco 2* DE POLINIZACIÓN LIBRE.

Pablo Mansilla¹⁻²; María Cristina Nazar¹ y Gabriela Pérez¹⁻²

(1) Facultad de Ciencias Agropecuarias – Universidad Nacional de Córdoba, (2) ICYTAC (Universidad Nacional de Córdoba - CONICET). e-mail: pmansilla@agro.unc.edu.ar.

Resumen: El objetivo del presente trabajo fue determinar la composición proteica y las propiedades de *pasting* del almidón de progenies de una variedad de polinización libre de maíz *opaco 2*. Se seleccionaron doce progenies de medios hermanos (*opaco 2*, CIMMYT). Se obtuvo harina de cada una de ellas y se les determinó individualmente el contenido total de proteínas y el contenido proteico de las fracciones mediante extracción secuencial. A la harina desgrasada se le extrajeron las albúminas (agua destilada), las globulinas (NaCl 0,5 M), las zeínas (Z, 70% etanol, 0,5% acetato de sodio), las zeínas 2 (Z2, 70% etanol, 0,5% acetato de sodio, 0,6% DTT), las glutelinas G2 (buffer borato pH 10, 0,6 % DTT), y las glutelinas G3 (buffer borato pH 10, 0,6 % DTT, 0,5 % SDS). El contenido de proteínas de cada fracción se cuantificó por el método de Kjeldahl. Se analizaron las propiedades de *pasting* del almidón mediante un RVA (Rapid Visco Analyzer) determinándose los siguientes parámetros: viscosidad de pico, viscosidad final, estabilidad, retrogradación y viscosidad de caída. El contenido total de proteínas de las progenies estudiadas varió entre 7,1 y 9,8 %. El contenido de albúminas, globulinas, zeínas y glutelinas mostró un amplio rango de variación entre progenies. La fracción de zeínas correlacionó negativamente con las fracciones de albúminas ($r=-0,48$ $p<0,05$), de globulinas ($r=-0,60$ $p<0,05$) y de glutelinas ($r=-0,71$ $p<0,05$). En cuanto a las propiedades del almidón, la temperatura de inicio de *pasting* presentó poca variación (74,6 y 79,9 °C), sin embargo la viscosidad de pico (1163-3044), viscosidad final (1398-3684) y retrogradación (726-2246) mostraron un amplio rango de valores. Las diferencias encontradas entre las progenies en relación a la fracción proteica y a las propiedades del almidón, posibilitarán seleccionar los genotipos de mayor calidad nutricional y con propiedades de *pasting* adecuadas al tipo de alimento que se pretenda elaborar.

Palabras claves: maíz, proteína, almidón.

INTRODUCCIÓN

El maíz es el cultivo de mayor área sembrada y cosechada del mundo. Esta característica hace que este cereal tanto como materia prima, como los productos de su transformación o la tecnología para la producción sean elementos centrales en las negociaciones entre países y bloques del mundo (Maizar, 2011).

Los maíces especiales son aquellos que poseen características diferenciales. Nuestro país lidera varios de estos mercados a nivel mundial, y a nivel local aumentan la competitividad de las industrias que los requieren como materia prima (Gear, 2010). En la provincia de Córdoba, las economías regionales, especialmente las de maíz,

se encuentran desplazadas por los procesos económicos de globalización, que trasvasan las culturas con un impacto negativo que agudiza los problemas actuales en cuanto a este cultivo se refiere (Nazar *et al.*, 2001). Estos procesos económicos dejaron fuera del sistema a los pequeños productores por falta de competencia, lo que ha generado una disminución de la población rural, con una subsistencia con escasos recursos y calidad de vida.

La buena alimentación y nutrición, es una de las necesidades básicas más importantes que condicionan la calidad de vida en muchas partes del mundo. Sin embargo, en áreas rurales y periurbanas no están siendo cubiertas. El crecimiento agrícola, sin desarrollo rural, ha

incrementado la brecha de pobreza entre la agricultura comercial y campesina, con la consecuente pérdida de la seguridad alimentaria. Los maíces especiales de polinización libre, se adaptan fácilmente a diversas condiciones climáticas por sus condiciones genéticas, se manejan en general como cualquier otra variedad de maíz, y no es necesario el gasto de semillas todos los años (Nazar, 2005). Sin embargo, resulta necesario evaluar su composición química para seleccionarlos como alimentos de valor nutricional que contribuyan a la calidad agroalimentaria.

La calidad de uso del maíz está determinada principalmente por la estructura y composición del grano (Robutti, 2010). El almidón es el principal componente, que corresponde hasta el 72-73 % de su peso (FAO, 1993). Las propiedades específicas del almidón varían entre genotipos e influyen sobre características como textura, volumen, consistencia, y la vida de anaquel de los alimentos producidos a partir de ellos.

El contenido de proteínas puede oscilar entre el 8 y el 11 % del peso del grano, y en su mayor parte se encuentran en el endosperma (FAO, 1993). La proteína de maíz es considerada de bajo valor nutricional cuando se compara con la proteína de origen animal, debido a un desbalance de aminoácidos y un bajo contenido proteínico (Azevedo *et al.*, 2006). Las proteínas de maíz están formadas por cinco fracciones según el esquema de Osborne: Albúminas y globulinas (5%), prolaminas (44%), glutelinas (28%) y proteínas residuales (17%) (Hoseney, 1991). Dentro de las prolaminas, las más abundantes son las zeínas, que representan entre el 44 y 79% del total de proteínas del endosperma (Lawton y Wilson, 2003) y son deficientes en lisina y triptófano.

En el maíz existen genes que modifican la cantidad y calidad proteica del endosperma, que actúan principalmente sobre la síntesis de zeína. El maíz con alto contenido de lisina y triptófano, lleva el gen mutante recesivo *opaco 2*, que tiene una limitación en la síntesis de zeína y que produce una matriz proteica más delgada y con diferente distribución de aminoácidos, que se traduce en la duplicación del contenido de lisina y triptófano (Gibbon y Larkins, 2005). La expresión de este gen lo convierte en maíz con valor nutritivo superior al maíz normal (Ortega *et al.*, 2001). Varios estudios en nutrición humana llevados a cabo por Akuamo-Boateng (2002), demostraron que mejora el estado nutricional de grupos vulnerables, cuyo alimento básico es el maíz y que no pueden adquirir alimentos ricos en

proteínas para suplementar su dieta. Esto le otorga un gran potencial para reducir la desnutrición proteínica, aminorar el hambre, aumentar los ingresos y mejorar el nivel de vida de la población (Vivek *et al.*, 2008). El objetivo del presente trabajo fue determinar la composición proteica y las propiedades de *pasting* del almidón de progenies de una variedad de polinización libre de maíz *opaco 2*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Genético

Se utilizó como material de partida una variedad de polinización libre otorgada por el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). Se realizó una siembra de adaptación de dicho material en diciembre de 2011 en el campo experimental de la Facultad Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Córdoba. De la cosecha 2012, se individualizaron 12 progenies de medios hermanos, de las cuales se destinaron 200 semillas para la siembra a campo de cada progenie para la próxima campaña con el objetivo de multiplicar material. El resto, se molieron en un molino de cuchillas (Fbr Decalab), para la obtención de harina y su análisis individual en laboratorio.

Determinación de contenido total de proteínas.

Para determinar el contenido total de proteínas se utilizó el método de micro-Kjeldahl modificado para ácido bórico (AACC, 2000). El porcentaje de proteína fue calculado usando el factor general 6,25.

Preparación de las muestras

Antes de la extracción secuencial, 150 mg de harina de cada progenie fueron dos veces desgrasadas mediante agitación con 1,5 ml de 80% hexano + 20% éter etílico (v/v) por 1 hora a temperatura ambiente. Luego se centrifugaron por 15 min a 18000 g a 4°C. Luego de centrifugadas, se decantaron las muestras, eliminando el sobrenadante y el residuo sólido fue secado totalmente al aire a temperatura ambiente.

Extracción secuencial

A la harina desgrasada se le realizó extracción secuencial por cuadruplicado. Para albúminas, se agregó de agua y se agitó durante 1 hora a 4°C. Luego se centrifugó durante 15 min a 18000 g a 4°C (Thermo Científica, Sorvall ST40R). Se recuperó el sobrenadante y el precipitado fue extraído nuevamente con agua destilada, durante 30 min y centrifugado en las mismas condiciones

descriptas anteriormente y se juntaron ambos sobrenadantes. La extracción de las globulinas se realizó siguiendo la misma metodología, pero usando una solución de ClNa 0,5M. Para la extracción de zeínas (Z) se utilizó 70% etanol, 0,5% acetato de sodio. La segunda fracción de zeínas (Z2), se extrajo con 70% etanol, 0,5% acetato de sodio, 0,6% Dithiothreitol (DTT) en las mismas condiciones antes descriptas. Las glutelinas G2 fueron extraídas con buffer borato pH 10, 0,6 % DTT y las glutelinas G3, con buffer borato pH 10, 0,6 % DTT, 0,5 % SDS. Los sobrenadantes fueron almacenados en el freezer hasta su uso. El contenido de proteínas de cada fracción se cuantificó por el método de Kjeldahl y se realizó electroforesis.

Electroforesis de los extractos

Se llevó a cabo una electroforesis en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE) en condiciones reductoras (Laemmli, 1970) de las fracciones obtenidas. Para ello se precipitaron los extractos con acetona y los precipitados fueron resuspendidos en buffer de muestra con 0,063 M de Tris / HCl pH 6,8, 2% SDS, 10% de glicerol, con 5% β - Mercaptoetanol y 0,05 % de azul de bromofenol (Ng y Bushuk, 1987) y calentadas a 95°C por 5 min. Se utilizó un marcador Bio-Rad SDS-PAGE Standars, Broad Range (200 a 6,5 kDa) para determinar el peso molecular de las bandas polipeptídicas de los extractos.

Propiedades de formación de pasting del almidón

Las propiedades de pasting del almidón de las harinas de los distintos genotipos se evaluaron con un RVA (Rapid Visco Analyzer) (RAV-4, Newport Scientific, Warriewood, Australia), por duplicado, determinándose los siguientes parámetros: viscosidad de pico, viscosidad final, estabilidad, retrogradación y viscosidad de caída.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados mediante Análisis de Varianza (ANOVA) y comparados mediante el test de Di Rienzo, Guzmán y Casanoves (DGC) (Di Rienzo *et al.*, 2002). La relación entre los parámetros se determinó mediante el test de correlación de Pearson, con un nivel de significancia $p < 0,05$. Se utilizó el programa estadístico Infostat (Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Proteínas

El contenido total de proteínas de las progenies estudiadas varió entre 7,1 y 9,8 % (Tabla 1). Estos valores fueron más bajos que los reportados por Mendoza Elos *et al.* (2006) quienes analizaron 4 genotipos de maíz QPM (Quality Protein Maize) provenientes del CIMMYT con valores entre 10 y 11 % de proteína y por Segura Nieto *et al.* (2002) que observaron un rango de concentración de proteína total de 8.9 a 11,8 % en diez razas de maíces criollos de Guanajuato (México).

Tabla 1. Contenido total de proteínas y de los extractos proteicos (albúminas, globulinas, zeínas y glutelinas) de doce progenies de medios hermanos de una variedad de polinización libre de maíz *opaco-2*.

N° de Progenie	Prot. Total (%)	Albúminas (%)	Globulinas (%)	Zeínas (%)	Glutelinas (%)
P 3	9,50 e	1,79 b	1,34 b	3,80 c	2,22 a
P 5	9,22 e	1,83 b	1,01 a	1,91 a	2,70 b
P 10	9,27 e	1,74 b	1,43 b	1,79 a	3,75 c
P 13	8,08 b	1,71 b	1,39 b	1,58 a	3,73 c
P 15	7,86 b	2,01 b	1,37 b	1,39 a	2,74 b
P 18	7,05 a	1,99 b	1,18 a	1,50 a	2,83 b
P 19	8,83 d	2,84 d	1,72 b	1,65 a	2,99 b
P 20	8,30 c	1,73 b	1,15 a	2,50 b	2,53 b
P 22	8,45 c	1,77 b	1,98 c	1,19 a	2,99 b
P 25	9,72 f	2,27 c	1,59 b	1,95 a	3,25 b
P 26	8,47 c	1,47 a	1,25 a	2,18 a	2,73 b
P 28	9,81 f	2,00 b	1,54 b	1,85 a	2,58 b

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Como se muestra en la Tabla 1, el contenido de albúminas, globulinas, zeínas y glutelinas mostró un amplio rango de variación entre las progenies.

El contenido de zeínas varió en un rango de 1,15 a 3,80 %, mostrando menores valores que los obtenidos por Hunter *et al.* (2002) en nueve

mutantes seleccionados de maíz opaco, cuyos valores oscilaron entre 2,9 a 8,5 %. Por otro lado, cuando los datos se expresan como un porcentaje del total de proteínas, las fracciones correspondientes a las albúminas y a las globulinas variaron entre el 13,6 y el 30,9 %, las zeínas (Z+Z2) entre el 15 y el 41,6% y las glutelinas (G2+G3) entre 24,3 y 44,3% del total de proteínas extraídas (Tabla 2). Landry *et al.* (2005) encontraron una variación en el contenido de zeínas que va desde 41,5 a 71,9% en genotipos de maíz opaco, y una variación de 74 al 79,4 % para líneas del tipo salvaje. Es de destacar que el contenido de zeínas fueron valores considerablemente mayores a los obtenidos en nuestro estudio. Las progenies P 19 y P 22 presentaron los menores contenidos relativos de zeínas (Tabla 2) y los mayores contenidos de las suma de albúminas mas globulinas (49,6% y 47,3% respectivamente).

Correlaciones

La fracción de zeínas correlacionó negativamente con los contenidos de albúminas ($r=-0,48$ $p<0,05$) de globulinas ($r=-0,60$ $p<0,05$) y de glutelinas ($r=-0,71$ $p<0,05$). Landry *et al* (2004) demostraron que a medida que aumentaba la fracción de albúminas y globulinas del 2 al 22 %, la fracción de zeínas decreció del 87 al 21%, y las glutelinas

verdaderas incrementaron del 11 a 57% en varios genotipos de maíz y sus parientes silvestres. El menor contenido de zeínas en relación a las otras fracciones está relacionado con un mayor contenido de lisina y triptófano.

Análisis de electroforesis.

Se pudo observar que la fracción de albúminas presentó bandas de mayor peso molecular (6,5 a 97 kDa) que las demás fracciones. Las globulinas y las glutelinas presentaron bandas comprendidas entre 6,5 a 66 kDa. La fracción de zeínas presentó bandas de menor peso molecular (6,5 a 31 kDa, Fig 1). Landry *et al* (2004) obtuvieron un rango entre 14 a 22 kDa en extractos de zeínas de endosperma vítreo y harinoso.

Se observaron diferencias en el patrón de bandas de cada fracción entre las progenies. Aquellas que mostraron bandas de mayor densidad, son las que presentaron mayor contenido proteico de la fracción. La Fig. 1 muestra el patrón electroforético de la fracción de zeínas donde se observa una disminución en la intensidad de la banda correspondiente a las zeínas comprendidas entre 31 - 21 kDa en la progenie 22. Esta muestra presentó el menor contenido de esta fracción y el mayor contenido de globulinas (Tabla 1).

Tabla 2. Porcentaje de las fracciones de albúminas, globulinas, zeínas y glutelinas en función de total de proteínas extraídas de doce progenies de medios hermanos de una variedad de polinización libre de maíz opaco-2.

N° de Progenie	Albúminas (%)	Globulinas (%)	Zeínas (%)	Glutelinas (%)
P 3	19,57 a	14,60 a	41,55 c	24,28 a
P 5	24,58 b	13,57 a	25,59 a	36,27 c
P 10	19,94 a	16,44 a	20,52 a	43,10 d
P 13	20,33 a	16,53 a	18,79 a	44,35 d
P 15	26,78 b	18,25 a	18,45 a	36,51 c
P 18	26,55 b	15,74 a	19,95 a	37,76 c
P 19	30,87 c	18,73 a	17,91 a	32,50 b
P 20	21,85 a	14,50 a	31,67 b	31,98 b
P 22	22,33 a	24,98 b	15,02 a	37,67 c
P 25	25,06 b	17,53 a	21,52 a	35,90 c
P 26	19,29 a	16,34 a	28,54 b	35,83 c
P 28	25,08 b	19,30 a	23,19 a	32,43 b

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Almidón

En cuanto a las propiedades del almidón, la temperatura de inicio de *pasting* presentó poca variación (74,6 y 79,9 °C), sin embargo la viscosidad de pico (1163-3044 cp), viscosidad final (1398-3684 cp) y retrogradación (726-2246 cP) mostraron un amplio rango de valores, lo que demuestra variabilidad en la calidad del almidón

entre las progenies. Almeida-Dominguez *et al.* (1997) evaluaron los efectos de la concentración de sólidos y velocidades de calentamiento en las propiedades de *pasting* de híbridos de maíces con diferentes grados de dureza de grano, obteniendo un rango de viscosidad entre 1500 a 7600 cP, y temperaturas de *pasting* entre 81 a 95 °C.

La fracción de zeínas correlacionó negativamente con la viscosidad de pico ($r=-0,66$ $p<0,05$) y la estabilidad ($r=-0,84$ $p<0,05$) y positivamente con

la temperatura de inicio de *pasting* ($r= 0,72$ $p<0,05$). El contenido relativo de zeínas influyó en las propiedades del almidón.

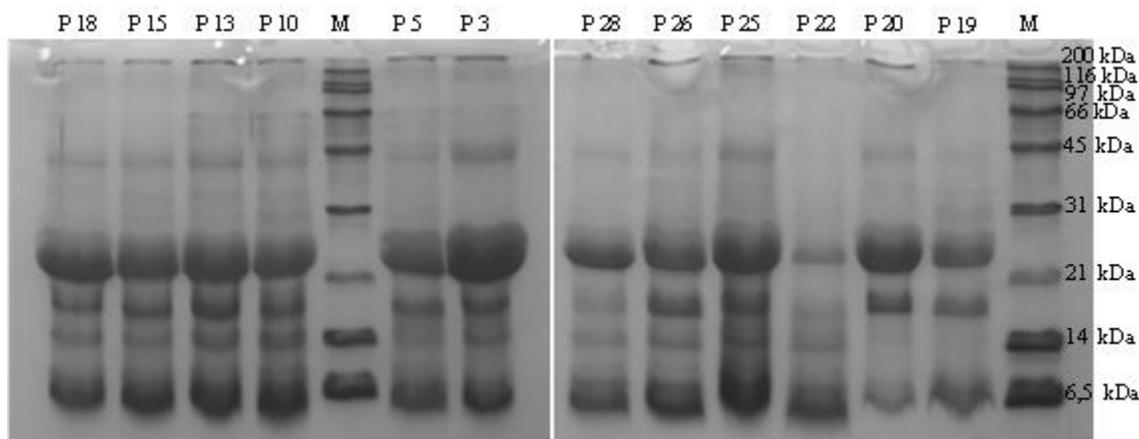


Figura 1. Patrón electroforético de la fracción de zeínas. Los carriles representan las progenies (P) y el marcador de peso molecular (M).

Tabla 3. Resultados de las curvas de RVA (Rapid Visco Analyzer) de doce progenies de medios hermanos de una variedad de polinización libre de maíz *opaco-2* .

Nº de Prog	Peak 1 ^a (cP)	Trough 1 ^b (cP)	Breakdown ^c (cP)	Final Visc ^d (cP)	Setback ^e (cP)	Pasting Temp (°C) ^g
P 3	1163,00 a	960,00 b	203,00 a	2596,50 c	1636,50 c	79,90 e
P 5	1903,00 d	1438,00 e	465,00 b	3684,00 e	2246,00 e	77,55 c
P 10	1471,00 b	672,00 a	799,00 c	1398,00 a	726,00 a	75,88 a
P 13	2987,00 g	1541,00 e	1446,00 f	3466,50 d	1925,50 d	75,48 a
P 15	2253,00 e	1072,50 c	1180,50 d	2558,00 c	1485,50 c	76,30 b
P 18	3044,50 g	1558,00 e	1486,50 f	3429,00 d	1871,00 d	74,65 a
P 19	2645,50 f	1093,00 c	1552,50 f	2521,50 c	1428,50 c	75,45 a
P 20	1209,00 a	921,50 b	287,50 a	2018,50 b	1097,00 b	78,68 d
P 22	2312,50 e	1148,00 c	1164,50 d	2692,00 c	1544,00 c	76,73 b
P 25	1739,50 c	624,50 a	1115,00 d	1487,50 a	863,00 a	75,50 a
P 26	2252,50 e	1483,50 e	769,00 c	3377,50 d	1894,00 d	75,85 a
P 28	2641,00 f	1342,00 d	1299,00 e	3224,50 d	1882,50 d	75,05 a

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

^aViscosidad de pico; ^bViscosidad de caída; ^cEstabilidad; ^dViscosidad final; ^eRetrogradación; ^fTiempo de pico; ^gTemperatura de *pasting*

CONCLUSIONES

Este estudio demuestra que las progenies presentaron gran variabilidad en cuanto a la composición proteica y las propiedades del almidón. El menor contenido de zeínas en relación a las otras fracciones está relacionado con una mayor proporción de lisina y triptófano, lo que permitirá seleccionar genotipos de mayor calidad proteica. Las diferencias en las propiedades del almidón posibilitará la selección de aquellas

progenies con propiedades de *pasting* adecuadas al tipo de alimento que se pretenda elaborar.

BIBLIOGRAFÍA

- Akuamoa-Boateng, A. (2002). Quality Protein Maize: Infant Feeding Trials in Ghana. Servicio de Salud de Ghana. Ashanti, Ghana.
- Almeida-Dominguez, H.D.; Suhendro, E.L. y Rooney L.W. (1997). Factors Affecting Rapid Visco Analyser Curves for the Determination of

- Maize Kernel Hardness. *Journal of Cereal Science*, 25: 93–102.
- American Association of Cereal Chemistry. (2000). *Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists*, 9th Ed., American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN.
- Azevedo, R.A.; Lancien, M. y Lea, P.J. (2006). The aspartic acid metabolic pathway, an exciting and essential pathway in plants. *Amino Acids* 30: 143-162.
- Di Rienzo, J.A.; Guzmán A.W. y Casanoves F. (2002). A Multiple Comparisons Method based on the Distribution of the Root Node Distance of a Binary Tree. *Journal of Agricultural, Biological, and Environment Statistics*, 7(2): 1-14.
- FAO. (1993). *El maíz en la nutrición humana*. Colección FAO: Alimentación y nutrición, N° 25. <http://www.fao.org/docrep/T0395S/T0395S00.htm>. [26 de Febrero de 2012, 16:35 hs].
- Gear, J. R. (2010). *El cultivo del maíz en la Argentina*. Maíz: Cadena de Valor Agregado. Alternativas de transformación e industrialización. INTA. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación. <http://www.cosechaypostcosecha.org/data/folletos/FolletoMaizConValorAgregado.pdf> [26 de febrero de 2012, 13:25 hs].
- Gibbon, B. y Larkins, B. (2005). Molecular genetic approaches to developing quality protein maize. *TRENDS in Genetics*, 21: 227-233.
- Hoseney, C.R. (1991). *Principios de la ciencia y tecnología de los cereales*. Ed. Acribia S.A. Zaragoza. España.
- Hunter, B.G.; Beatty, M.K.; Singletary, G.W.; Hamaker, B.R.; Dilkes, B.P.; Larkins, B.A. y Jung, R. (2002). Maize opaque endosperm mutations create extensive changes in patterns of gene expression. *Plant Cell* 14: 2591–2612.
- Laemmli, U. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227:681-685.
- Landry, J.; Delhaye, S. y Damerval, C. (2004). Protein Distribution Pattern in Flourey and Vitreous Endosperm of Maize Grain. *Cereal Chem.* 81(2):153–158.
- Landry, J.; Damerval, C.; Azevedo, R. y Sonia, D. (2005). Effect of the opaque and flourey mutations on the accumulation of dry matter and protein fractions in maize endosperm. *Plant Physiology and Biochemistry* 43: 549–556.
- Lawton, J.V. y Wilson, C. (2003). Proteins of the kernel. In: White PJ. Johnson LA. eds. *com: Chemisly and Technology*. 2nd ed. St. Paul: American Association of Cereal Chemists. pp. 313-354.
- Maizar. (2011). *El maíz, primero en el mundo*. <http://www.maizar.org.ar/vertext.php?id=392>. [25 de Febrero de 2012, 16:30 hs].
- Mendoza Elos, M.; Andrio Enríquez, E.; Juárez Goiz, J. M.; Mosqueda Villagómez, C.; Latournerie Moreno, L.; Castañón Nájera, G.; López Benítez, A. y Moreno Martínez, E. (2006). Contenido de lisina y triptófano en genotipos de alta calidad proteica y normal. *Universidad y Ciencia*. Vol 22 (2):153-162. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco Villahermosa, México.
- Nazar, M. C.; Baigorria, M.; Peiretti, D.; Biasutti, C. y Peiretti, J. (2001). Maíz Pisingallo: En Expansión. Inédito. III° Jornada de Extensión de la Facultad Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba.
- Nazar, M. C. (2005). Semillas y Semilleros. *Revista Vivencia de la Escuela Agro técnica de Tuclame*. Córdoba. Pp. 92-93.
- Ng, P.K. y Bushuk, W. (1987). Glutenin of Marquish wheat as a reference for estimating molecular weights of glutenin subunits by sodium sulfate-polyacrilamide gel electrophoresis. *Cereal Chemistry* 64:324-327.
- Ortega, C. A.; Cota, A.O.; Vasal, S.K.; Villegas, M.E.; Córdoba, O.H.; Barreras, S.M.A.; Wong P.J.J.; Reyes, M.C.A; Preciado, O.R.; Terrón, I.A. y Espinoza, C.A. (2001). H-441C, H-442C y H-469C, híbridos de maíz de calidad proteínica mejorada para el Noroeste y subtropical de México. Ed. INIFAP. Folleto Técnico No. 41:4-15.
- Robutti, J.L. (2010). *Calidad y Usos del Maíz*. INTA Pergamino, Buenos Aires. “Maíz: Cadena de Valor Agregado. Alternativas de transformación e industrialización”. INTA. MAGyP. <http://www.cosechaypostcosecha.org/data/folletos/FolletoMaizConValorAgregado.pdf> [26 de febrero de 2012, 13:25 hs].
- Segura Nieto, M.; Aguirre Gómez, A. y Pons Hernández, J. L. (2002) Las principales razas de los maíces criollos de “El Bajío” de Guanajuato. Información agronómica, nutricional, proteómica y molecular. <http://www.ira.cinvestav.mx/maicescriollos/Folleto.pdf>. [6 de julio de 2013, 15:17 hs].
- Vivek, B.S.; Krivanek, A. F.; Palacios Rojas, N.; Twumasi-Afriyie, S. y Diallo, A. O. (2008). Mejoramiento de maíz con calidad de proteína (QPM): Protocolos para generar variedades QPM. *CIMMYT*. México, 56 pp.

