



*Universidad Nacional de Córdoba*  
*Facultad de Ciencias Agropecuarias*  
*Escuela para Graduados*



# **EVALUACIÓN DEL VALOR NUTRICIONAL DE MAÍCES ESPECIALES (*Zea mays* L.): SELECCIÓN PARA CALIDAD AGROALIMENTARIA**

**Ing. Agr. Pablo Sebastián Mansilla**

Tesis

Para optar al Grado Académico de  
Doctor en Ciencias Agropecuarias

**Córdoba, 2018**

**EVALUACIÓN DEL VALOR NUTRICIONAL DE MAÍCES  
ESPECIALES (*Zea mays* L.): SELECCIÓN PARA CALIDAD  
AGROALIMENTARIA**

**Ing. Agr. Pablo Sebastián Mansilla**

**Comisión Asesora de Tesis**

**Director:** Dra. Gabriela T. Pérez

**Asesores:** Dra. Cristina Martínez

Dr. Carlos Biasutti

**Tribunal Examinador de Tesis**

Dra. Julia Carreras

Dra. Cristina Martínez

Dr. César López

**Presentación formal académica**

22 de marzo de 2018

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Universidad Nacional de Córdoba

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a la persona que me guió por este camino de la vida, de perseguir los sueños que uno desea, de nunca darse por vencido bajo ninguna circunstancia, de tomar cada episodio como lecciones que te enseñan a ser más fuerte y más luchador en los momentos más complicados. A esa persona que me orienta día a día, simplemente por estar, no tengo palabras para agradecerle por ser lo que soy, y también por lo que no soy... Gracias mamá. A mi familia, por acompañarme en todo momento y hacer que cada cosa a enfrentar valga la pena... Gracias Javi, Vale, mis dos soles More y Mili, y papá.

A mi segunda mamá que apareció en el camino, mentora en mi vida profesional, quien me enseñó el sentido de la vocación, la responsabilidad como todo punto de partida, el sentimiento de la dedicación, del esfuerzo y amor por lo que hago, por sentir al trabajo una fuerte componente de mi vida, y que las metas planteadas me lleven a alcanzar mis mejores satisfacciones... Gracias Turca.

La responsabilidad y la pasión por lo que uno hace también se lo debo a otra mentora, que no sólo resultó en una dirección de tesis, si no en la perseverancia y el estímulo constante en la formación profesional, el acompañamiento persistente para lograr los objetivos planteados, y desde el momento que permitió abrirme las puertas del laboratorio, me enfrenté a una realidad de la que no me esperaba... Gracias Gaby Pérez.

A mis asesores de Tesis, por brindarme sus conocimientos para mi crecimiento profesional. Gracias Cris y Carlos.

A los que me ayudaron a llevar adelante las tareas maiceras, con mucha diversión y con todo el sentido del significado de las palabras “grupo” y “amigos”. Por compartir distintos momentos, comidas, congresos, idas y venidas. Gracias a cada miembro del Grupo Maíces Especiales, que de hecho, no puedo dejar de nombrar a cada uno de ellos:

A los más viejos fundadores, y con quienes comparto un cariño intacto desde el momento que ingresé a la carrera... Gracias Mane y Boris.

A quien me ayudó con la primera cosecha con la que hice mis análisis químicos, simplemente con la grandeza que lo caracteriza como persona... Gracias Dieguito Mathier.

A mis primeros “iniciandos” y amigos de la vida... Gracias Lucas Gonza y Javi Oronel.

A las primeras “iniciandas” que alegraron el grupo desde que entraron, y nunca lo dejaron de hacer... Gracias Nuxsia y Bety.

A los alumnos y ya profesionales que me ayudaron a obtener los materiales con los que logré los objetivos de la tesis... Gracias Dani, Fabri, Mica, Berny, Eva y Nico Bongia.

A todos los alumnos que con sus iniciaciones nos siguen ayudando en el campo con los maíces y con toda la onda para lograr la mejor dinámica de grupo, y que esto se haga divertido...

A mis compañeros de Cátedra, por su dedicación y ganas de trabajar para los alumnos, por compartir ideas, clases, acuerdos y desacuerdos que nos ayudaron a crecer como personas y profesionales... Gracias Keke, Naty, María José, Meli, Marcelo y Carlos. Especialmente a una compañera de cátedra, de quien rescato que hacer lo que uno ama se logra con el máximo esfuerzo, siempre con palabras de aliento, y con una de las cualidades que nunca debe perder una persona y que la caracteriza: la HUMILDAD... Gracias Julia.

Qué decir de mis compañeros/ras del laboratorio. Tengo la dicha de poder afirmar que hay a mi lado gente maravillosa que me apoya sin yo decir una palabra. Esas personas que me enseñaron el sentido de la responsabilidad por el lugar que uno trabaja y quererlo como mi segunda casa. A quienes me enseñaron a crecer profesionalmente con sus consejos, con sus llamados de atención y con su entrega de conocimientos. En fin, no puedo dejar de nombrar a cada uno/a de ellos/as en mis palabras de agradecimiento:

Por recibir ayuda sin pedir nada a cambio, a tener siempre una palabra de aliento, una sonrisa, a enseñarme a seguir mis metas con humildad... Gracias Lore, Gaby Barrera, Male y Euge.

Por ser la referente en la dedicación, prolijidad y minuciosidad hasta en los más pequeños detalles... Gracias Mari.

Por permitir que cada jornada se disfrute con alegría, con una sonrisa, por tomar cada cosa como un desafío a lograr con el mejor ánimo... Gracias Fer, Silvi, Cande, Sole y Romi.

Por ayudarme siempre cuando no me entiendo con mi computadora, y enseñarme que es un aparato que a veces se puede dominar un poco mejor... Gracias Pala.

Por facilitarme temáticas en común de hermanos criados por la misma madre... Gracias Belu.

Por enseñarnos el sentido de valorar hasta las más pequeñas cosas (a veces en desuso)... Gracias Anita.

Por compartir en paralelo la misma pasión por el trabajo y el arte que amamos... Gracias Caro y Emi.

Por brindar sus conocimientos y experiencias personales con las cuales lideran al grupo, como así permitir llevar a cabo las reuniones recreativas del laboratorio en sus casas... Gracias Beto, Pablo Ribotta, Ali y Rafa.

A aquellas personitas que me integraron como uno más de su grupo, con quienes comparto momentos académicos, de diversión, por su generosidad, dedicación, simpleza, humildad y alegría con que hacen más fuerte este deseo de estar en mi segunda casa... Gracias Marianita, Pato, Paula, Anto, Clau, Boris y Judith.

En fin, nunca es demasiado el agradecimiento a quien no te abandonó en tus buenos y malos momentos. A todos... Gracias.

## RESUMEN

El maíz es el cereal de mayor importancia en el mundo. Las características químicas del grano, y la gran variabilidad existente en esta especie, influyen en las propiedades nutricionales, funcionales y organolépticas de los alimentos derivados de este cereal. El objetivo de este trabajo de tesis fue evaluar el valor nutricional de los maíces *opaco-2* (*o2*) y morado, a fin de seleccionarlos por su calidad agroalimentaria. Se trabajó con germoplasma introducido de distintos orígenes de ambas variedades. Se seleccionaron familias individuales de medios hermanos y se realizó una prueba de progenies durante los ciclos 2013/14/15. Los genotipos se caracterizaron a campo y se evaluó la composición química a partir de la harina de grano entero. Se utilizaron harinas de maíz pisingallo y maíz blanco duro como controles. Los rendimientos a campo mostraron diferencias significativas entre progenies, tanto en maíz *opaco-2* como en morado. La composición centesimal de las harinas de ambas variedades no mostró diferencias respecto a los maíces blanco y pisingallo. En cuanto a la composición proteica, los genotipos *opaco-2* mostraron menor proporción de zeínas y mayor contenido de albúminas, globulinas y glutelinas. En comparación a los controles, las progenies de maíz opaco mostraron mayor contenido de lisina y mayor digestibilidad *in vitro* de las proteínas. Las diferencias obtenidas en el perfil proteico de las progenies, permitieron identificar genotipos con menor nivel de zeína y alto contenido de lisina, lo que evidencia su mayor calidad proteica. En relación a la composición y propiedades del almidón, se encontraron diferencias significativas entre genotipos *opaco-2*, cuyo contenido de amilosa fue significativamente menor a los controles. La mayor viscosidad máxima y la menor temperatura de *pasting* de genotipos opacos, indica una mayor capacidad de hinchamiento de los gránulos. La mayor entalpía de gelatinización de genotipos *o2* coincidió con el menor contenido de amilosa, indicando mayor orden molecular de la región cristalina de los gránulos respecto a los no-opacos. La entalpía total de retrogradación de genotipos *o2* no difirió significativamente con maíz blanco y pisingallo, y la entalpía de fusión del complejo amilosa-lípido correlacionó positivamente con el contenido de lípidos. En referencia a los compuestos bioactivos, el contenido polifenoles totales, de antocianinas y la capacidad antioxidante (FRAP y ABTS) presentaron un amplio rango de variación entre las progenies de maíz morado, cuyos valores fueron significativamente mayores a los mostrados por los genotipos controles. El poder reductor (FRAP) fue el mecanismo de capacidad antioxidante que predominó en todos los genotipos analizados. Los resultados obtenidos en la composición y propiedades de las proteínas, del almidón y de los compuestos bioactivos evidencian características de calidad diferenciada en el material genético analizado en esta tesis en relación al maíz tradicional. Del mismo modo, las diferencias obtenidas entre las progenies individuales posibilitarían la identificación de genotipos de maíz *opaco-2* y morado con mejores características de calidad nutricional, permitiendo dar continuidad al proceso de selección y mejora genética para la obtención de variedades de polinización libre mejoradas en rasgos nutricionales.

**Palabras clave:** maíz *opaco-2*, almidón, proteínas, maíz morado, antocianinas

## ABSTRACT

Corn is the most important cereal in the world. The chemical characteristics of the grain and the great variability of this species influence the nutritional, functional and organoleptic properties of maize food processed. The objective of this study was to evaluate the nutritional value of *opaque-2* and purple corn, in order to select them according to their agri-food quality. Germoplasm used of both varieties was introduced from different origins. Half-sib individual families were selected and their progenies were obtained during 2013/14/15 cycles. The genotypes were agronomically characterized and chemical composition was evaluated from whole grain flour. Popcorn and hard white corn flours were used as controls. Field yields showed significant differences between progenies, both in *opaque-2* (*o2*) and purple maize. The centesimal composition of flours of both varieties did not show differences with respect to popcorn and white corn. Regarding to the protein composition, the *opaque-2* genotypes showed a lower zein proportion and higher albumin, globulin and glutelin contents. Compared to the controls, the opaque progenies showed higher lysine content and higher *in vitro* protein digestibility. The differences showed by the protein profiles of progenies, allowed to identify genotypes with lower zein level and high lysine content, which evidences its higher protein quality. In relation to starch composition and properties, significant differences were found between *opaque-2* genotypes, and the amylose content was significantly lower than the non-opaque controls. The higher maximum viscosity and the lower *pasting* temperature of opaque genotypes indicate a greater swelling capacity of the starch granules. The higher gelatinization enthalpy of *o2* genotypes was coincident with a lower amylose content, indicating greater molecular order of the crystalline region of the granules compared to the non-opaque controls. The total retrogradation enthalpy of *o2* genotypes did not show differences respect to popcorn and white corn, and the melting enthalpy of amylose-lipid complex correlated positively with lipid content. Regarding to bioactive compounds, total polyphenols and anthocyanins content, and the antioxidant capacity (FRAP and ABTS) presented a wide range of variation among progenies of purple corn, which values were significantly higher than those shown by the control genotypes. Reducing power (FRAP) was the predominant antioxidant capacity system on all genotypes analyzed. The results obtained in the composition and properties of proteins, starch and bioactive compounds evidence differential quality in the genetic material of this study in relation to traditional corn. In the same way, the differences obtained between the individual progenies would enable the identification of genotypes of *opaque-2* and purple maize with the best nutritional quality characteristics, allowing to continuing with the selection and genetic improvement to obtain open-pollination varieties improved in nutritional traits.

**Key words:** *opaque-2* corn, starch, proteins, purple corn, anthocyanin

# TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN .....	V
ABSTRACT.....	VI
LISTA DE TABLAS .....	XII
LISTA DE FIGURAS.....	XVI
LISTA DE ABREVIATURAS Y/O SÍMBOLOS.....	XX
<b>CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN GENERAL .....</b>	<b>1</b>
<b>IMPORTANCIA DEL MAÍZ EN EL MUNDO .....</b>	<b>1</b>
<b>DIVERSIFICACIÓN DEL MAÍZ.....</b>	<b>2</b>
<b>EL MAÍZ EN ARGENTINA.....</b>	<b>4</b>
Estadísticas productivas .....	4
Avance de los cultivares híbridos .....	8
<b>VARIEDADES DE POLINIZACIÓN LIBRE.....</b>	<b>11</b>
Mejoramiento de variedades .....	13
<b>PRINCIPALES DESTINOS DEL MAÍZ.....</b>	<b>17</b>
<b>ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN DEL GRANO.....</b>	<b>19</b>
Pericarpio .....	20
Endosperma.....	21
Embrión.....	24
<b>EL MAÍZ EN LA ALIMENTACIÓN HUMANA .....</b>	<b>24</b>
<b>PROTEÍNAS .....</b>	<b>31</b>
<b>LÍPIDOS .....</b>	<b>34</b>
<b>VITAMINAS .....</b>	<b>35</b>
<b>MINERALES.....</b>	<b>36</b>
<b>COMPUESTOS ANTIOXIDANTES.....</b>	<b>37</b>
Estrés oxidativo.....	37
Clasificación de compuestos fenólicos .....	38

Compuestos fenólicos en maíz.....	42
MAICES ESPECIALES .....	45
MAIZ <i>OPACO-2</i> .....	46
<i>Background</i> genético y metabolismo del maíz <i>opaco-2</i> y QPM.....	48
MAÍZ MORADO .....	51
IMPORTANCIA DEL DESARROLLO DE NUEVAS VARIEDADES MEJORADAS EN CALIDAD NUTRICIONAL .....	53
HIPÓTESIS .....	55
OBJETIVO GENERAL.....	55
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	55
<b>CAPÍTULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>56</b>
<b>METODOLOGÍA A CAMPO .....</b>	<b>56</b>
MATERIAL GENÉTICO .....	56
Maíz <i>opaco-2</i> .....	56
Maíz morado.....	57
Obtención de progenies individuales de medios hermanos.....	58
Ciclos de selección masal en maíz morado .....	61
CARACTERIZACIÓN AGRONÓMICA .....	62
PRÁCTICAS DE MANEJO A CAMPO .....	65
<b>METODOLOGÍA EN LABORATORIO.....</b>	<b>67</b>
MOLIENDA DE LOS GRANOS .....	67
EVALUACIÓN QUÍMICA DE LAS HARINAS .....	68
COMPOSICIÓN CENTESIMAL .....	68
Humedad.....	68
Proteína.....	68
Almidón .....	69
Lípidos .....	70
Cenizas.....	70
COMPOSICIÓN PROTEICA .....	71

Extracción y cuantificación de las fracciones proteicas .....	71
Electroforesis (SDS-PAGE) .....	72
Digestibilidad in vitro de proteínas.....	73
Determinación de aminoácidos.....	74
COMPOSICIÓN Y PROPIEDADES DEL ALMIDÓN .....	74
Contenido de amilosa.....	74
Propiedades de viscosidad .....	75
Propiedades térmicas .....	76
COMPUESTOS ANTIOXIDANTES .....	78
Extracción de antioxidantes de la harina .....	78
Contenido de polifenoles totales.....	79
Contenido de antocianinas .....	80
Capacidad atrapadora de radicales libres.....	81
Poder reductor.....	82
ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	83
<b>CAPÍTULO 3: RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	85
<b>MAIZ OPACO-2</b> .....	85
CARACTERIZACIÓN AGRONÓMICA .....	85
CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA DE LAS PROGENIES INDIVIDUALES DE MEDIOS HERMANOS Y DE LA POBLACIÓN INICIAL .....	85
Duración del ciclo.....	90
Rendimientos .....	91
Relaciones entre caracteres relevados a campo .....	93
CONCLUSIONES PARCIALES .....	95
CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LOS GRANOS Y HARINAS .....	96
COMPOSICIÓN CENTESIMAL .....	96
COMPOSICIÓN PROTEICA .....	105
CONTENIDO DE LAS FRACCIONES .....	106
DIGESTIBILIDAD <i>IN VITRO</i> DE PROTEÍNAS .....	111

ELECTROFORESIS DE LAS FRACCIONES PROTEICAS .....	117
ANÁLISIS DE AMINOÁCIDOS .....	125
RELACIONES ENTRE CARACTERES DE COMPOSICIÓN PROTEICA Y CARACTERES AGRONÓMICOS DE RENDIMIENTO.....	132
CONCLUSIONES PARCIALES .....	137
COMPOSICIÓN DEL ALMIDÓN .....	139
PROPIEDADES DE VISCOSIDAD.....	141
PROPIEDADES TÉRMICAS .....	153
RELACIONES CON EL RENDIMIENTO.....	165
ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES .....	168
CONCLUSIONES PARCIALES .....	170
<b>MAÍZ MORADO</b> .....	173
CARACTERIZACIÓN AGRONÓMICA .....	173
CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA DE LAS PROGENIES INDIVIDUALES Y LOS CICLOS MASALES DE MAÍZ MORADO .....	173
Duración del ciclo de las progenies .....	177
Rendimientos .....	180
Componentes de la varianza .....	182
Relaciones entre caracteres relevados a campo en las progenies .....	184
CONCLUSIONES PARCIALES .....	187
CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LOS GRANOS Y HARINAS DE LAS PROGENIES.....	188
COMPOSICIÓN CENTESIMAL .....	188
DIGESTIBILIDAD <i>IN VITRO</i> DE PROTEÍNAS .....	190
COMPUESTOS ANTIOXIDANTES .....	193
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE.....	196
RELACIONES ENTRE CARACTERES DE CALIDAD ANALIZADOS EN LABORATORIO Y RASGOS ASOCIADOS AL RENDIMIENTO .....	206
ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES.....	211
CONCLUSIONES PARCIALES.....	213

<b>CAPÍTULO 4: CONCLUSIONES GENERALES .....</b>	<b>215</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA CITADA.....</b>	<b>220</b>
<b>ANEXO 1:</b> Temperaturas mínimas y máximas diarias durante los meses de abril y mayo (período de llenado de granos) de los años de cultivo de maíz <i>opaco-2</i> (2012 y 2013).....	253
<b>ANEXO 2:</b> Precipitaciones acumuladas durante los ciclos de cultivo de maíz <i>opaco-2</i> .....	256
<b>ANEXO 3:</b> Temperaturas mínimas y máximas diarias durante los meses de abril y mayo (período de llenado de granos) de los años de cultivo de maíz morado (2014 y 2015) .....	258
<b>ANEXO 4:</b> Precipitaciones acumuladas durante los ciclos de cultivo de maíz morado.....	261

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.1.</b> Estimación de la producción de maíz por provincias en la campaña 2016/17. ....	8
<b>Tabla 1.2.</b> Principales maíces especiales producidos en Argentina .....	46
<b>Tabla 2.1.</b> Temperaturas medias mensuales (media, mínima, máxima) y precipitaciones acumuladas durante los ciclos de cultivo.....	66
<b>Tabla 3.1.</b> Valores medios y coeficientes de variación (CV) de las variables fenotípicas relevadas en plantas adultas de doce progenies individuales de medios hermanos de maíz <i>opaco-2</i> (2013) y de la población inicial (M12) (2012) de donde fueron obtenidas .....	86
<b>Tabla 3.2.</b> Valores medios y coeficientes de variación (CV) de las variables fenotípicas relevadas en mazorcas de doce progenies individuales de medios hermanos de maíz <i>opaco-2</i> (2013) y de la población inicial (M12) (2012) de donde fueron obtenidas .....	88
<b>Tabla 3.3.</b> Correlaciones fenotípicas entre todos los rasgos agronómicos analizados en doce progenies de medios hermanos de maíz <i>opaco-2</i> (cosecha 2013).....	93
<b>Tabla 3.4.</b> Composición centesimal de la harina de grano entero de genotipos de maíz <i>opaco-2</i> , blanco y pisingallo .....	96
<b>Tabla 3.5.</b> Contribución relativa de la varianza genética (VG), del año (VA) y de la interacción genotipo x año ( $V_{G \times A}$ ) a la variabilidad total en la composición centesimal de las harinas de los genotipos de maíz <i>opaco-2</i> .....	99
<b>Tabla 3.6.</b> Variación anual en el contenido total de proteína, almidón, lípidos y cenizas de las harinas de doce familias de medios hermanos (2012) de maíz <i>opaco-2</i> y de sus progenies individuales (2013) .....	100
<b>Tabla 3.7.</b> Contenido de zeínas y no-zeínas (albúminas, globulinas, y glutelinas) (g/100 g de harina) y porcentaje de digestibilidad <i>in vitro</i> de proteínas de las harinas de genotipos de maíz <i>opaco-2</i> , blanco y pisingallo .....	106
<b>Tabla 3.8.</b> Contribución relativa de la varianza genética (VG), del año (VA) y de la interacción genotipo x año ( $V_{G \times A}$ ) a la variabilidad total de la composición proteica .....	114

<b>Tabla 3.9.</b> Variaciones anuales en los contenidos de zeínas y no-zeínas (albúminas+globulinas y glutelinas) (g / 100 g de harina) y en la digestibilidad <i>in vitro</i> de las proteínas (%) de las harinas de doce familias de medios hermanos (2012) de maíz <i>opaco-2</i> y de sus progenies individuales (2013).....	116
<b>Tabla 3.10.</b> Contenido de aminoácidos (g/100 g de proteína) de los genotipos de maíz <i>opaco-2</i> y maíz blanco .....	126
<b>Tabla 3.11.</b> Contribución relativa de la varianza genética (VG), del año (VA) y de la interacción genotipo x año ( $V_{G \times A}$ ) en el contenido de lisina .....	129
<b>Tabla 3.12.</b> Correlaciones entre caracteres de composición proteica analizados en laboratorio y caracteres de rendimiento de los genotipos de maíz <i>opaco-2</i> (familias 2012 y progenies 2013). .....	133
<b>Tabla 3.13.</b> Contenido de almidón resistente, no resistente (digerible), total y de amilosa de los genotipos de maíz <i>opaco-2</i> , blanco y pisingallo.....	139
<b>Tabla 3.14.</b> Parámetros de propiedades de <i>pasting</i> de los genotipos de maíz <i>opaco-2</i> , blanco y pisingallo analizados por RVA .....	142
<b>Tabla 3.15.</b> Contribución relativa de la varianza genética (VG), del año (VA) y de la interacción genotipo x año ( $V_{G \times A}$ ) a la variabilidad total del contenido de amilosa y parámetros de viscosidad .....	147
<b>Tabla 3.16.</b> Variación promedio anual en los parámetros de viscosidad analizados mediante RVA de las doce familias de medios hermanos (2012) de maíz <i>opaco-2</i> y de sus progenies individuales (2013) .....	149
<b>Tabla 3.17.</b> Parámetros de gelatinización de la harina de genotipos de maíz <i>opaco-2</i> , pisingallo y blanco analizados mediante DSC .....	153
<b>Tabla 3.18.</b> Parámetros de retrogradación de la harina de genotipos de maíz <i>opaco-2</i> , pisingallo y blanco analizados mediante DSC .....	158
<b>Tabla 3.19.</b> Contribución relativa (%) de la varianza genética (VG), del año (VA) y de la interacción genotipo x año ( $V_{G \times A}$ ) a la variabilidad total de los parámetros analizados con DSC .....	161

<b>Tabla 3.20.</b> Variación promedio anual de los parámetros de gelatinización y retrogradación analizados mediante DSC de la harina de doce familias de medios hermanos (2012) de maíz <i>opaco-2</i> y de sus progenies individuales (2013).....	162
<b>Tabla 3.21.</b> Correlaciones entre los caracteres analizados en laboratorio y rendimiento de los genotipos de maíz <i>opaco-2</i> .....	167
<b>Tabla 3.22.</b> Variables fenotípicas relevadas en plantas adultas de ocho progenies individuales de medios hermanos y de los ciclos de selección masal de maíz morado durante los ciclos 2013/14 y 2014/15 .....	173
<b>Tabla 3.23.</b> Variables fenotípicas relevadas en las mazorcas de ocho progenies individuales de medios hermanos y de los ciclos de selección masal de maíz morado en los ciclos 2013/14 y 2014/15 .....	175
<b>Tabla 3.24.</b> Contribución relativa de la varianza genética (VG), del año (VA) y de la interacción genotipo x año ( $V_{G \times A}$ ) a la variabilidad total de los caracteres agronómicos relevados a campo en las progenies de maíz morado.....	182
<b>Tabla 3.25.</b> Correlaciones fenotípicas entre todos los rasgos agronómicos analizados en ocho progenies individuales de medios hermanos de maíz morado.....	184
<b>Tabla 3.26.</b> Composición centesimal y digestibilidad <i>in vitro</i> de proteínas de la harina de genotipos de maíz morado, <i>opaco-2</i> , pisingallo y blanco.....	189
<b>Tabla 3.27.</b> Contribución relativa de la varianza genética (VG), del año (VA) y de la interacción genotipo x año ( $V_{G \times A}$ ) a la variabilidad total de la composición centesimal y digestibilidad <i>in vitro</i> de proteínas de maíz morado.....	191
<b>Tabla 3.28.</b> Variación anual contenido total de almidón, lípidos, cenizas, proteínas y digestibilidad <i>in vitro</i> de proteínas de la harina de ocho progenies de medios hermanos de maíz morado multiplicadas durante dos ciclos consecutivos (2014 y 2015).....	192
<b>Tabla 3.29.</b> Contribución relativa de la varianza genética (VG), del año (VA) y de la interacción genotipo x año ( $V_{G \times A}$ ) a la variabilidad total en el contenido polifenoles totales, de antocianinas, y de los mecanismos de capacidad antioxidante de poder reductor (FRAP) y capacidad atrapadora de radicales libres (ABTS) de maíz morado .....	202

**Tabla 3.30.** Variación anual en el contenido de polifenoles totales, de antocianinas, y de la actividad antioxidante (FRAP y ABTS) de las harinas en los dos años de multiplicación (2014 y 2015) de progenies de medios hermanos de maíz morado ..... 203

**Tabla 3.31.** Correlaciones entre características químicas de los granos analizadas en laboratorio y rasgos asociados al rendimiento de progenies de medios hermanos de maíz morado..... 206

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.1.</b> Evolución de la producción de maíz en Argentina (millones de toneladas) según el área sembrada y área cosechada (millones de hectáreas) en los últimos 10 años. Estimaciones realizadas en Febrero de 2017 .....	6
<b>Figura 1.2.</b> Distribución del área productiva nacional de maíz .....	7
<b>Figura 1.3.</b> Evolución del rendimiento de maíz en la Argentina durante los últimos 37 años.	10
<b>Figura 1.4.</b> Esquema básico del mejoramiento de poblaciones para la obtención de variedades de polinización libre mediante ciclos recurrentes de selección y recombinación .....	14
<b>Figura 1.5.</b> Estructura anatómica del grano del maíz .....	20
<b>Figura 1.6.</b> Fotografía de microscopía electrónica de barrido (SEM) representativa del corte transversal longitudinal de un grano de maíz .....	21
<b>Figura 1.7.</b> Principales tipos de granos de maíz según la estructura del endosperma .....	22
<b>Figura 1.8.</b> Fotografía de microscopía electrónica de barrido (3000 X) del endosperma vítreo (A) y harinoso (B) de maíz .....	23
<b>Figura 1.9.</b> Estructura química de la molécula de amilosa y amilopectina .....	26
<b>Figura 1.10.</b> Representación del proceso de gelatinización y retrogradación del almidón .....	29
<b>Figura 1.11.</b> Estructura química de los ácidos fenólicos .....	40
<b>Figura 1.12.</b> Estructura química de los flavonoides .....	41
<b>Figura 1.13.</b> Estructura del endosperma de genotipos de maíz normal, <i>opaco-2</i> y QPM .....	50
<b>Figura 2.1.</b> Mazorca de maíz <i>opaco-2</i> (A) y de maíz morado (B).....	58
<b>Figura 2.2.</b> Siembra de progenies de maíz <i>opaco-2</i> (A) y morado (B) en surcos individuales. ....	59

<b>Figura 2.3.</b> Selección de granos opacos mediante una mesa con luz de fondo .....	60
<b>Figura 2.4.</b> Representación esquemática del material genético estudiado en maíz <i>opaco-2</i> ...	61
<b>Figura 2.5.</b> Representación esquemática del material genético estudiado en maíz morado ....	62
<b>Figura 2.6.</b> Determinación del contenido de humedad de las harinas .....	68
<b>Figura 2.7.</b> Representación esquemática de la extracción secuencial de proteínas. ....	72
<b>Figura 2.8.</b> Parámetros indicadores de una curva típica de RVA .....	76
<b>Figura 2.9.</b> Termograma de una corrida de DSC y sus principales parámetros indicadores ...	77
<b>Figura 2.10.</b> Extracciones de compuestos antioxidantes a partir de la harina de grano entero de maíz morado realizadas en el Laboratorio de Química Biológica de la FCA, UNC .....	79
<b>Figura 3.1.</b> Duración del ciclo de cultivo de la generación de progenies de medios hermanos de maíz <i>opaco-2</i> (2012/13).....	90
<b>Figura 3.2.</b> Rendimientos estimados (q/ha) de la población inicial (M12) de la cual fueron obtenidas las familias de medios hermanos de maíz <i>opaco-2</i> (cosecha 2011/12), y de las doce progenies individuales sembradas durante el ciclo 2012/13 (P) .....	92
<b>Figura 3.3.</b> Variaciones anuales en el contenido total de almidón (A) y proteína (B) de las doce familias de medios hermanos de maíz <i>opaco-2</i> (2012) y de sus progenies individuales (2013) .....	103
<b>Figura 3.4.</b> Proporción de las fracciones de zeínas (Z+Z2), de albúminas+globulinas (AL+GB) y de glutelinas (G2+G3) en función del contenido total de proteína de los genotipos <i>opaco-2</i> (opacos), maíz pisingallo (PS) y blanco (BL) usados como testigos no-opacos .....	109
<b>Figura 3.5.</b> Patrón electroforético de la fracción de zeínas de las familias de medios hermanos de maíz <i>opaco-2</i> seleccionadas en 2012 (A) y de sus progenies obtenidas en 2013 (B).....	118
<b>Figura 3.6.</b> Patrón electroforético de la fracción de albúminas de las familias de medios hermanos de maíz <i>opaco-2</i> seleccionadas en 2012 (A) y de sus progenies obtenidas en 2013 (B). .....	120

<b>Figura 3.7.</b> Patrón electroforético de la fracción de globulinas de las familias de medios hermanos de maíz <i>opaco-2</i> seleccionadas en 2012 (A) y de sus progenies obtenidas en 2013 (B). .....	122
<b>Figura 3.8.</b> Patrón electroforético de la fracción de glutelinas de las familias de medios hermanos de maíz <i>opaco-2</i> seleccionadas en 2012 (A) y de sus progenies obtenidas en 2013 (B). .....	124
<b>Figura 3.9.</b> Variación anual en el contenido de lisina de familias de medios hermanos de maíz <i>opaco-2</i> (2012) y sus progenies individuales (2013).....	130
<b>Figura 3.10.</b> Curvas de viscosidad (cP) y temperatura (°C) en función del tiempo (s) obtenidas mediante RVA .....	143
<b>Figura 3.11.</b> Variación anual en el contenido de amilosa (A), en la viscosidad de pico (B), en la estabilidad (C) y en la retrogradación (D) de las doce familias de medios hermanos de maíz <i>opaco-2</i> (2012) y sus progenies individuales (2013).....	151
<b>Figura 3.12.</b> Termogramas de gelatinización obtenidos mediante DSC .....	154
<b>Figura 3.13.</b> Termogramas de retrogradación obtenidos mediante DSC.....	157
<b>Figura 3.14.</b> Variación anual en la entalpía de gelatinización ( $\Delta H_G$ ) (A) y retrogradación ( $\Delta H_{RT}$ ) (B) de las doce familias de medios hermanos de maíz <i>opaco-2</i> (2012) y de sus progenies individuales (2013) .....	164
<b>Figura 3.15.</b> Gráfico biplot resultado del Análisis de Componentes Principales en maíz <i>opaco-2</i> .....	169
<b>Figura 3.16.</b> Duración de los ciclos de cultivo de las generaciones de multiplicación de progenies de medios hermanos de maíz morado en el año 2014 (A) y 2015 (B) .....	178
<b>Figura 3.17.</b> Rendimientos estimados (q/ha) de los ciclos de selección masal (M12, M14, M15) (A) y de las progenies de medios hermanos de maíz morado multiplicadas individualmente durante los ciclos 2013/14 y 2014/15 (B).....	181
<b>Figura 3.18.</b> Raíces adventicias de las plantas de maíz morado. ....	185

<b>Figura 3.19.</b> Contenido de polifenoles totales, expresado en mg de ácido gálico (AG)/100 g de harina, y antocianinas, expresado en mg de cianidina-3-glucósido (c3-G)/100 g de harina, de ocho progenies de medios hermanos de maíz morado (P) y de la población original (POr)..	194
<b>Figura 3.20.</b> Capacidad antioxidante mediante el mecanismo de poder reductor (FRAP) y capacidad atrapadora de radicales libres (ABTS) de ocho progenies de medios hermanos de maíz morado (P) y de la población original (POr).....	197
<b>Figura 3.21.</b> Comparación del contenido de polifenoles totales y de la capacidad antioxidante (FRAP y ABTS) en maíz morado (promedio de las progenies en ambos años de estudio) con maíz pisingallo (PS), maíz <i>opaco-2</i> (O2) y blanco (BL) usados como testigos. ....	199
<b>Figura 3.22.</b> Variaciones anuales individuales en el contenido de polifenoles totales (A), antocianinas (B) y en la capacidad antioxidante (C y D) de las ocho progenies de medios hermanos de maíz morado multiplicadas en 2014 y 2015 .....	205
<b>Figura 3.23.</b> Gráfico biplot resultado del Análisis de Componentes Principales en maíz morado. ....	211

## LISTA DE ABREVIATURAS Y/O SÍMBOLOS

**A:** absorbancia  
**AA:** actividad antiradicalaria  
**AACC:** American Association of Cereal Chemistry  
**ABTS:** Capacidad atrapadora de radicales libres (mediante el catión radical ABTS+)  
**ACA:** Asociación de Cooperativas Argentinas  
**ACP:** Análisis de Componentes Principales  
**ADN:** ácido desoxirribonucleico  
**ae:** amylose-extender (maíz mutante alto amilosa)  
**AEsp:** altura inserción de espiga principal  
**AG:** ácido gálico  
**AHB:** ácido hidroxibenzoico  
**AHC:** ácido hidroxicinámico  
**AK:** aspartato quinasa  
**AL:** fracción de albúminas  
**AM:** amilosa  
**AMG:** amiloglucosidasa  
**ANOVA:** Análisis de la Varianza  
**ANT:** antocianinas  
**AOAC:** Association of Official Analytical Chemists  
**AP:** altura de planta  
**AT:** almidón total  
**BD:** estabilidad  
**BL:** testigo maíz blanco duro  
**Bt:** *Bacillus thuringiensis*  
**c3-G:** cianidina-3-glucósido  
**CIMMYT:** Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo  
**cm:** centímetro  
**Con A:** concanavalina A  
**cP:** centipoise  
**CP:** Componente Principal  
**Cu<sup>2+</sup>:** ión cuproso  
**CV:** coeficiente de variación  
**dds:** días desde siembra  
**DGC:** Test de comparación de medias de Di Rienzo, Guzmán y Casanoves  
**DHDPS:** dihidrodipicolinato sintasa  
**Dig:** digestibilidad *in vitro* de proteínas  
**DM:** diámetro de mazorca  
**DMSO:** dimetil sulfóxido  
**DSC:** Calorimetría Diferencial de Barrido  
**DT:** diámetro del tallo  
**DTT:** Dithiothreitol  
**du:** dull (maíz mutante de apariencia opaca)

**e:** autovector (Análisis de Componentes Principales)  
**EEUU:** Estados Unidos  
**EROS:** especies reactivas de oxígeno  
**etc:** etcétera  
**FAO:** Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura  
**FCA:** Facultad de Ciencias Agropecuarias  
**FD:** factor de dilución  
**Fe<sup>2+</sup>:** ión ferroso  
**Fe<sup>3+</sup>:** ión férrico  
***fl1, fl2, fl3:*** *fluory-1, fluory-2, fluory-3* (maíces mutantes harinosos)  
**FRAP:** Poder Antioxidante de Reducción Férrica  
**FV:** viscosidad final  
**g/mol:** gramo por mol  
**g:** gramo  
**G2:** primera fracción de glutelinas  
**G3:** segunda fracción de glutelinas  
**GB:** fracción de globulinas  
**GOPOD:** reactivo glucosa oxidasa/peroxidasa  
**h:** hora  
**H<sup>+</sup>:** protón  
**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** peróxido de hidrógeno  
**ha:** hectárea  
**HPLC:** Cromatografía Líquida de Alta Eficacia  
**INTA:** Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria  
**J/g:** Joule por gramo  
**kDa:** kilodalton  
**Lis:** lisina  
**LKR:** lisina cetoglutarato reductasa  
**LM:** longitud de mazorca  
**LP:** lípidos  
**m:** metro  
**M:** molar  
**M12:** rendimiento del ciclo 2011/12 cosechado en forma masal en maíz *opaco-2* y morado  
**M14:** rendimiento del ciclo 2013/14 cosechado en forma masal en maíz morado  
**M15:** rendimiento del ciclo 2014/15 cosechado en forma masal en maíz morado  
**m<sup>2</sup>:** metros cuadrados  
**MAV:** Maíces de Alto Valor  
**mg/L:** miligramo por litro  
**mg/mL:** miligramo por mililitro  
**mg:** miligramo  
**min:** minuto  
**mL:** mililitro  
**MLM:** Modelos Lineales Mixtos  
**mm:** milímetro  
**mM:** milimolar

**mmol/L**: milimol por litro  
**mol/L**: mol por litro  
**μL**: microlitro  
**μm**: micrómetro  
**μmol**: micromol  
**N**: normal  
**NEA**: Noreste Argentino  
**NEsp**: número de espigas por planta  
**NGH**: número de granos por hilera  
**NGM**: número de granos por mazorca  
**NH**: número de hojas  
**NHil**: número de hileras por mazorca  
**nm**: nanómetro  
**NOA**: Noroeste Argentino  
**NRS**: almidón no resistente o digerible  
*o1, o2, o6, o7*: *opaco-1, opaco-2, opaco-6, opaco-7* (maíces mutantes opacos)  
**O<sub>2</sub><sup>•-</sup>**: radical anión superóxido  
**O2**: gen opaco del maíz  
**O2**: testigo maíz *opaco-2*  
**-OH**: grupo hidroxilo  
**•OH**: radical hidroxilo  
**1/2 O<sub>2</sub>**: oxígeno singlete  
**p/v**: porcentaje peso/volumen  
**P**: progenie  
**P100**: peso de 100 granos  
**PA**: pigmento antociánico  
**pág**: página  
*per se*: por sí mismo  
**PG**: peso individual del grano  
**Pl/ha**: plantas por hectárea  
**PM**: peso molecular  
**POL**: polifenoles  
**POrmo**: población original de maíz morado  
**POro2**: población original de maíz *opaco-2*  
**PS**: testigo maíz pisingallo  
**PT**: proteína total  
**PV**: viscosidad de pico  
**q/ha**: quintal por hectárea  
**QPM**: Maíz de Alta Calidad Proteica  
**r**: coeficiente de correlación de Pearson  
**REML**: Estimador de Máxima Verosimilitud Restringida  
**R<sub>G</sub>, R<sub>R</sub>**: ancho de pico de gelatinización y retrogradación, respectivamente  
**rpm**: revoluciones por minuto  
**RS**: almidón resistente  
**Rto**: rendimiento

**RVA:** Analizador de Viscosidad  
**S1:** primera generación de autofecundación o endogamia  
**SB:** retrogradación  
**sd:** sin datos  
**SDH:** sacaropina deshidrogenasa  
**SDS:** dodecilsulfato de sodio  
**SDS-PAGE:** Electroforesis en Geles de Poliacrilamida  
**SEM:** Microscopía Electrónica de Barrido  
**su:** sugary (maíces mutante azucarado)  
**TEAC:** Capacidad Antioxidante Equivalente del Trolox  
**T<sub>eG</sub>, T<sub>eR</sub>:** temperatura de conclusión de gelatinización y retrogradación, respectivamente  
**tn:** toneladas  
**T<sub>oG</sub>, T<sub>oR</sub>:** temperatura de inicio de gelatinización y retrogradación, respectivamente  
**TP:** temperatura de *pasting*  
**T<sub>pG</sub>, T<sub>pR</sub>:** temperatura de pico de gelatinización y retrogradación, respectivamente  
 **$\Delta H_G$ ,  $\Delta H_R$ :** entalpía de gelatinización y retrogradación, respectivamente  
**% R:** porcentaje de retrogradación  
**°C/min:** grados por minuto  
**°C:** grado centígrado  
**TPTZ:** 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine  
**TV:** viscosidad de caída  
**U:** Unidades  
**U/mg:** unidades por miligramo  
**UNC:** Universidad Nacional de Córdoba  
**USDA:** Departamento de Agricultura de los Estados Unidos  
**UV:** Ultravioleta  
**v/v:** porcentaje volumen/volumen  
**V:** voltios  
**VA:** Varianza del año  
**VG:** varianza genética  
**V<sub>GxA</sub>:** Varianza de interacción genotipo x año  
**VPL:** variedades de polinización libre  
**wx:** waxy (maíz mutante ceroso)  
**Z:** primera fracción de zeínas  
**Z2:** segunda fracción de zeínas

# CAPÍTULO 1

## INTRODUCCIÓN GENERAL

### IMPORTANCIA DEL MAÍZ EN EL MUNDO

Diversas fuentes consideran al maíz como el cereal de mayor importancia en el mundo (Ortega-Paczka, 2003; Vivek *et al.*, 2008; Kato *et al.*, 2009; Serna-Saldivar, 2010; Naqvi *et al.*, 2011; Arendt y Emanuele, 2013; fyo, 2014; Bolsa de Comercio de Rosario, 2017a; USDA, 2017). Entre 2000 y 2008, su producción mundial creció 39 % y alcanzó los 822 millones de toneladas, mientras que el trigo y el arroz, que por varios años fueron los cultivos de mayor volumen producido, sólo aumentaron en un 15 % (MAIZAR, 2011). En el mismo período, el consumo industrial de maíz reportó un crecimiento de 84 %, mientras que su destino como forraje creció un 15 %. De esta manera, se transformó en el cereal más producido del mundo, superando al trigo y al arroz (fyo, 2014). Entre los años 2007 y 2008, más del 95 % de la producción mundial de maíz fue destinado para alimentación humana y animal (Naqvi *et al.*, 2011).

Según los pronósticos actuales de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la producción mundial de cereales en 2017 se situará 0,5 % por debajo del año 2016. Gran parte de esta expectativa se debe a una reducción del 2,2 % de la producción mundial de trigo y un descenso en la de cebada y sorgo. Estas disminuciones contrarrestarían el aumento previsto del 1,4 % en maíz, y del 0,7 % en arroz (FAO, 2017). Las previsiones indican que la producción mundial de maíz, para el período 2017/18 disminuirá 3,31

%, ubicando a Estados Unidos como el principal productor de este cereal a nivel mundial (USDA, 2017).

## **DIVERSIFICACIÓN DEL MAÍZ**

Existen actualmente controversias respecto al origen del maíz (Serratos-Hernández, 2009; Kato *et al.*, 2009). A pesar de ello, varias investigaciones consideran que México es el principal centro de diversidad genética, y la región Andina el secundario, donde el cultivo ha tenido, y posee aún, una rápida evolución (Wilkes, 1988; Acosta, 2009; Serratos-Hernández, 2009). En el continente americano existen alrededor de 220 a 300 razas nativas de maíz (Vigouroux *et al.*, 2008; Kato *et al.*, 2009), de las cuales 59 son salvaguardadas en territorio mexicano (Sánchez *et al.*, 2000; Fernández-Suárez *et al.*, 2013). El proceso de diversificación se ha mantenido activo durante años. Esto conllevó a la selección y modificación en características genotípicas de la planta, que le han permitido la formación de nuevas poblaciones adaptadas a diversos climas y tipos de suelos (Mera-Ovando, 2009).

Diversos estudios se han basado en explorar la diversidad genética del maíz. Anderson y Cutler (1942) y Wellhausen *et al.* (1951) clasificaron las diferentes categorías raciales a partir de los rasgos morfológicos de la mazorca. Posteriormente, con el desarrollo de métodos de estadística multivariada, fue posible analizar la variabilidad de una forma más sistemática, a través de lo que se denominó taxonomía numérica (Goodman y Bird, 1977). Estos avances permitieron corroborar las relaciones genealógicas inferidas en estudios previos. En años más recientes, el uso de técnicas bioquímicas y moleculares, y el desarrollo de nuevas herramientas estadísticas, permitieron explorar la variabilidad genética con mayor claridad. Las características químicas del grano y el análisis de metabolitos secundarios han permitido definir con mayor precisión la diversidad racial presente en América (Arnason *et al.*, 1994; Sánchez *et al.*, 2000; Pressoir y Berthaud, 2004; Narváez *et al.*, 2007).

Desde el punto de vista biológico, los principales procesos que generan y mantienen la variabilidad genética del maíz son mutación, selección, y recombinación. Estos fenómenos a su vez son muy dinámicos y están ligados a las necesidades a largo plazo de las poblaciones humanas en crecimiento y con expectativas de vida cada vez mayores (Wilkes, 1979; Mapes-Sánchez y Mera-Ovando, 2009). Los pequeños productores que aún siembran maíz en sistemas agrícolas tradicionales, han mantenido los recursos genéticos mediante la selección y manejo de los granos (Bellon *et al.*, 1997). El reciclamiento de semillas permite un gran flujo genético y de polen, que son factores que poseen un fuerte impacto en la evolución de las diferentes razas y variedades de esta especie (Berthaud y Gepts, 2004).

El maíz es posiblemente el cultivo más domesticado a lo largo de la historia (Acquaah, 2012). Los intentos deliberados de su mejora genética comenzaron con el desarrollo de variedades de polinización libre, que incluso siguen siendo comunes en los países en desarrollo (CIMMYT, 1999; Pixley, 2006; Kutka, 2011; Acquaah, 2012). Las primeras investigaciones que marcaron las bases genéticas para el advenimiento de los híbridos en maíz, datan desde finales de la década de 1900, a partir de cruces simples (East, 1908; Shull, 1909). Sin embargo, la producción comercial de este tipo de semilla se hizo factible con el desarrollo de los híbridos dobles (Jones, 1918), dominando la producción del cereal hasta la década de 1960 (Acquaah, 2012). El predominio de este tipo de cultivares se debió a sus características superiores, especialmente mayor uniformidad y rendimiento, tolerancia a estrés biótico y abiótico, y facilidad para la mecanización (Pixley, 2006; Acquaah, 2012). Más del 60 % de los aumentos en el rendimiento de los nuevos híbridos fueron logrados gracias al mejoramiento de las líneas endocriadas parentales (Hallauer y Carena, 2012). De esta manera, se obtuvieron híbridos simples más productivos y uniformes, reemplazando eventualmente a los dobles y triples, dominando el mercado mundial de semilla comercial de maíz (Córdova *et al.*, 1994; Rossi, 2007; Acquaah, 2012; Ordas *et al.*, 2012).

En los últimos treinta años, la biotecnología ha tomado gran relevancia en el proceso de mejoramiento ya que contribuye a la disminución en los tiempos de selección (Kutka, 2011; Cooper *et al.*, 2014). La aplicación de marcadores moleculares para la identificación de materiales resistentes a enfermedades, mejoran la eficiencia en rasgos fundamentales como el rendimiento (Gowda *et al.*, 2015). Por otra parte, una gran cantidad de técnicas biotecnológicas han focalizado su interés en la creación de nuevos eventos transgénicos. Sin embargo, la eficiencia de los genotipos modificados dependen de su evaluación a campo mediante métodos tradicionales de mejoramiento (Hallauer y Carena, 2009; Hallauer *et al.*, 2010; Hallauer y Carena, 2012).

## **EL MAÍZ EN ARGENTINA**

### **Estadísticas productivas**

El cultivo de maíz ocupó un lugar relevante en la comercialización de granos en Argentina desde comienzos de los años '90, por ser el cereal que presentó los mayores incrementos porcentuales tanto en los volúmenes cosechados como en la productividad media por hectárea (Centro de Corredores, 2014). A partir de la campaña 1996/97, el maíz comenzó a experimentar un constante crecimiento, pasando de una tasa anual de crecimiento del 3,3 % a una del 8,8 %. En la campaña 2010/11 se registró una producción de 23,8 millones de toneladas, superando el máximo volumen comercial alcanzado hasta el momento (MAIZAR, 2013). Esta tendencia fue acompañada de un importante incremento en los volúmenes de materia prima procesada, destacándose en este aspecto el protagonismo de las industrias destinadas a la alimentación animal (Centro de Corredores, 2014). La participación de la molienda húmeda y seca para la elaboración de distintos derivados para la alimentación humana y productos químicos (fyo, 2014), junto a la producción de etanol registrada en Argentina desde el primer

semestre de 2013 (Economista América, 2013), son algunos de los hechos que convierten al maíz como un insumo clave en nuestro país debido a sus múltiples posibilidades de utilización en diversos procesos industriales (Centro de Corredores, 2014; fyo, 2014).

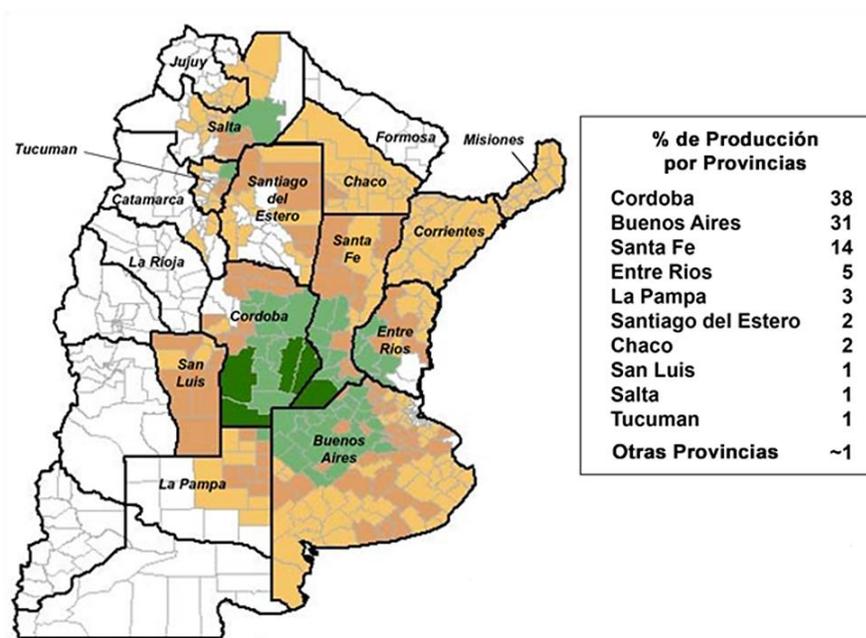
Reportes actuales de la Bolsa de Comercio de Rosario, informaron que la producción mundial de granos habría alcanzado en la campaña 2016/17 unas 3.167,5 millones de toneladas, de las cuales 2.597,3 millones fueron representados por cereales, y 570 por semillas de oleaginosas. Argentina en esta campaña alcanzó un total de casi 125,5 millones de toneladas, lo que equivale al 5 % del total de la producción mundial de cereales y oleaginosas. En este contexto, nuestro país se ubica actualmente como el tercer exportador mundial de maíz, disminuyendo un lugar respecto al año pasado (Bolsa de Comercio de Rosario, 2017a).

La superficie nacional sembrada con maíz en la campaña 2016/17 fue estimada en 5,84 millones de hectáreas, logrando una producción nacional de 38 millones de toneladas (Tabla 1.1) (Bolsa de Comercio de Rosario, 2017b). Estos valores superaron las estimaciones previstas por la Bolsa de Cereales de Buenos Aires a principios de 2017, de 4,2 millones de hectáreas, con una productividad nacional que alcanzaría las 33,2 millones de toneladas (Figura 1.1). Este hecho representó un incremento del 25 % respecto al año anterior, ubicándose como la más alta de las últimas 16 campañas (fyo, 2017), superando incluso las 34 millones de toneladas proyectadas por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) para este año en Argentina (fyo, 2017).



**Figura 1.1.** Evolución de la producción de maíz en Argentina (millones de toneladas) según el área sembrada y área cosechada (millones de hectáreas) en los últimos 10 años. Estimaciones realizadas en Febrero de 2017. Fuente: fyo (2017)

El cultivo de maíz en Argentina alcanza su máximo desarrollo en la región pampeana por su gran extensión de tierras fértiles y clima templado. La producción se centra sobre todo en las provincias de Buenos Aires, Córdoba y Santa Fe que juntas constituyen la “zona núcleo” (Figura 1.2). Esta región concentra casi el 70 % de la superficie total sembrada en el país, y contribuyen con el 77 % de la producción nacional. Debido a que el principal destino del maíz argentino es la exportación, la productividad se concentra principalmente en provincias más cercanas a los puertos, dada la incidencia del costo de los fletes (MAIZAR, 2013).



**Figura 1.2.** Distribución del área productiva nacional de maíz. Los colores verdes indican las áreas de mayor producción nacional (zonas núcleo). Las zonas de color verde más oscuros, indican mayor producción respecto a las áreas con color verde más claros. Del mismo modo, el color marrón indica zonas más alejadas de las núcleo, consideradas marginales. El color naranja más claro, indica áreas de menor producción. Elaborado por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación (SAGPyA); fuente: fyo (2017)

La provincia de Córdoba, según datos de la Bolsa de Comercio de Rosario, se posicionó como la principal productora de este cereal en Argentina en esta última campaña (Tabla 1.1), con la mayor superficie sembrada en el país, representando un aumento del 18 % respecto a la superficie de la campaña anterior en la provincia. Del mismo modo, Córdoba representó la mayor contribución a la producción nacional, seguida por las provincias de Buenos Aires, Santa Fe, Entre Ríos y La Pampa (Tabla 1.1).

**Tabla 1.1.** Estimación de la producción de maíz por provincias en la campaña 2016/17. Superficie estimada en millones de hectáreas (ha), rendimiento en quintales por hectárea (q/ha) y producción nacional en millones de toneladas (tn)

	<b>Superficie sembrada (millones de ha)</b>	<b>Superficie no cosechada (millones de ha)</b>	<b>Rendimiento (q/ha)</b>	<b>Producción nacional (millones de tn)</b>
Nacional	5,84	1,06	79,5	38,0
	<b>Superficie sembrada (millones de ha)</b>	<b>Rendimiento estimado (q/ha) 07/02/2017</b>	<b>Rendimiento estimado (q/ha) 08/03/2017</b>	<b>Producción (millones de tn)</b>
Buenos Aires	1,48	78,5	79,9	8,9
Córdoba	1,88	84,8	86,2	14,8
Santa Fe	0,64	90,0	95,3	5,1
Entre Ríos	0,25	74,0	78,0	1,7
La Pampa	0,38	57,0	65,0	1,4
Otras provincias	1,20	55,7	62,2	6,1

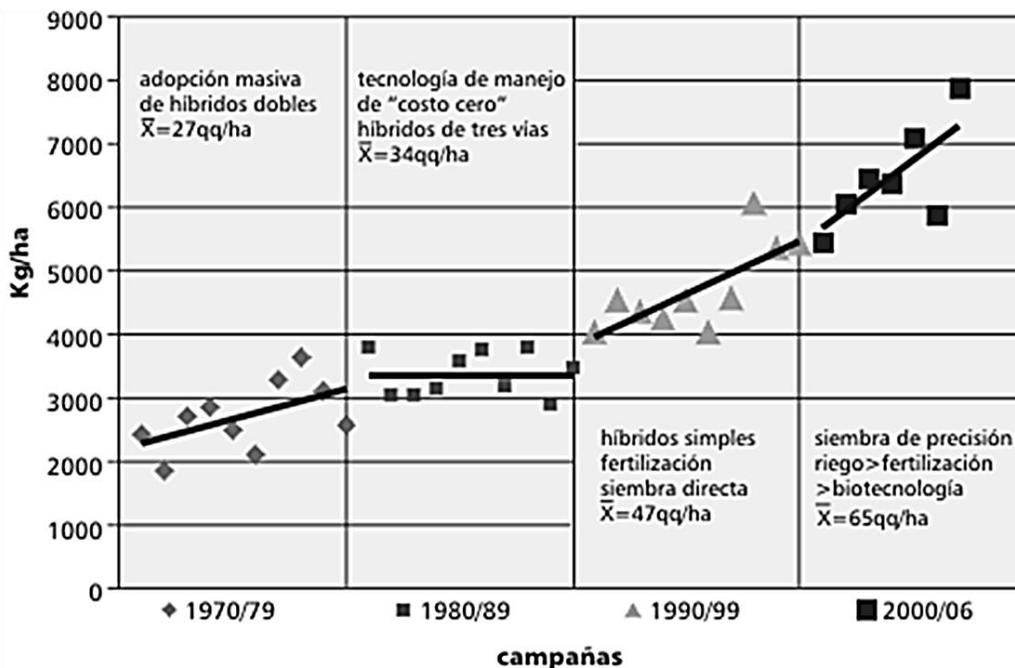
Fuente: Bolsa de Comercio de Rosario (2017b).

## **Avance de los cultivares híbridos en nuestro país**

El suceso más destacado en cuanto al cultivo del maíz en Argentina desde la década de los '70, es la aparición y uso masivo de los híbridos en las zonas típicamente maiceras de la pradera pampeana (Eyhérbide, 2015). La masificación de la siembra de híbridos dobles en esta época (Figura 1.3), produjo el desplazamiento de las variedades de polinización libre a zonas consideradas marginales para el cultivo. Los productores empiezan a disponer de una amplia gama de materiales híbridos adaptados a diferentes condiciones ecológicas, permitiendo satisfacer más del 90 % de las necesidades de semilla (Rossi, 2007). Paralelamente, se observaron grandes avances tecnológicos en la maquinaria agrícola, una mayor disponibilidad de agroquímicos (particularmente herbicidas e insecticidas) y un mejoramiento de las prácticas de manejo agronómico. Estos factores produjeron un salto tecnológico trascendental en la agricultura pampeana en la época (MAIZAR, 2013).

En la década de los '80, continúa la sustitución de variedades por híbridos, cuya producción comercial cubre la totalidad de los requerimientos de semilla en el cultivo maíz. Se introducen los híbridos triples y, hacia el final del período los primeros híbridos simples y modificados (Figura 1.3) (Rossi, 2007). Este proceso de avance masivo de estos cultivares, fue acompañado con el desarrollo de grandes tecnologías en el manejo post-cosecha de los granos, en particular en los procesos de almacenamiento y secado. Asimismo, los productores comienzan a adoptar diferentes sistemas de labranza conservacionista tendientes a frenar el avance del deterioro de los suelos, como es el caso de la Siembra Directa. Consecuentemente, durante la década de los '90, los incrementos en la cantidad de grano producido fue acompañado por destacables avances en materia de calidad (Gear, 2010).

En este contexto, el capital invertido por compañías locales e internacionales en nuevas tecnologías aplicadas al desarrollo de germoplasma de maíz, convirtió al mejoramiento genético en un sistema muy competitivo y eficiente en el mercado comercial de semilla. La aparición de nuevos híbridos con mayor potencial de rendimiento, mayor resistencia a plagas y enfermedades, mejor estabilidad, la incorporación de germoplasma tropical y tropical x templado, la adopción de híbridos transgénicos con resistencia a insectos (Bt) o tolerancia a herbicidas, fueron factores que permitieron el uso de cultivares con mayor capacidad de adaptación en zonas alejadas del área maicera núcleo del país (Rossi, 2007). En este sentido, la biotecnología ha jugado un papel determinante en la liberación de cultivares genéticamente modificados (Scriber, 2001; Murphy, 2007; Burachik, 2010; James, 2011).



**Figura 1.3.** Evolución del rendimiento de maíz en la Argentina durante los últimos 37 años. Fuente: Rossi (2007)

Como consecuencia de estos avances tecnológicos en el desarrollo de híbridos, se produjo una marcada diferenciación de las áreas maiceras del país. En la zona núcleo, las máximas tecnologías para la producción son fácilmente disponibles, y son aplicadas por la mayor parte de los productores sin importar cuán pequeña sea su escala. La facilidad de acceso a la mejor calidad de semilla híbrida y al paquete tecnológico que acompaña su producción (fertilizantes, agroquímicos, maquinaria agrícola, etc.), hace que los sistemas productivos de esta zona obtengan los rendimientos más altos del país (Rossi, 2007; MAIZAR, 2013).

Sin embargo, la situación es diferente en áreas marginales alejadas de las zonas núcleo, ya que el acceso a las mejores tecnologías se limita sólo a los productores que tienen la posibilidad de adoptarlas. Los pequeños y medianos productores en muchos casos utilizan tecnologías mucho más primitivas para la producción, y en algunos casos, la escasez de recursos disponibles hace imposible incorporarse al mercado competitivo en relación a los altos niveles

de productividad de las zonas núcleo. Esto ocasionó una gran diferenciación de los pequeños y medianos productores (Elverdín *et al.*, 2007; Nazar *et al.*, 2014).

## **VARIEDADES DE POLINIZACIÓN LIBRE**

Uno de los principales temas de discusión en varias partes del mundo es si la tecnología de los híbridos es viable, y si estos cultivares pueden satisfacer la creciente demanda de alimentos existente en la mayoría de los países en vías de desarrollo, donde los rendimientos de los cultivos están muy por debajo de los alcanzados en muchos países desarrollados (Pixley, 2006). Las variedades de polinización libre (VPL) ocupan actualmente un importante lugar en la cultura del maíz en países subdesarrollados (Pixley, 2006; Kutka, 2011). El mejoramiento poblacional para su obtención es más simple a comparación de los métodos de obtención de híbridos, y fundamentalmente menos costosos. Una de las principales ventajas que presentan las VPL es la posibilidad del productor de mantener su propia semilla para el siguiente ciclo de producción, reduciendo así su dependencia de fuentes externas como en el caso de los híbridos tradicionales (CIMMYT, 1999; Lamkey, 2001; Smith *et al.*, 2003; Kutka, 2011).

El hecho de que las prácticas de manejo agronómico que se utilizan en el cultivo de VPL sean similares a las realizadas en variedades criollas en regiones con escasos recursos, permite la fácil adopción e intercambio de semillas entre pequeños productores (CIMMYT, 1999). Por otro lado, algunos factores como el alto costo y limitada disponibilidad de semillas híbridas en zonas marginales, la necesidad del uso de gran cantidad de fertilizantes y productos químicos para lograr altos rendimientos, la falta de información y de conocimiento sobre el manejo de variedades híbridas, la baja accesibilidad a créditos económicos, la baja respuesta de adaptación de los híbridos a diferentes condiciones ambientales, e incluso pequeñas diferencias de los rendimientos híbridos respecto a las variedades locales, son circunstancias que plantean si los híbridos representan realmente una alternativa preferida antes que las VPL en varias zonas de

países en vías de desarrollo de todo el mundo (Pandey y Gardner, 1992; CIMMYT, 1994; CIMMYT, 1999; Keller y Brummer, 2002; Phiri *et al.*, 2003; Bellon *et al.*, 2003; Pixley y Banziger, 2004; Brummer, 2004; Pixley, 2006).

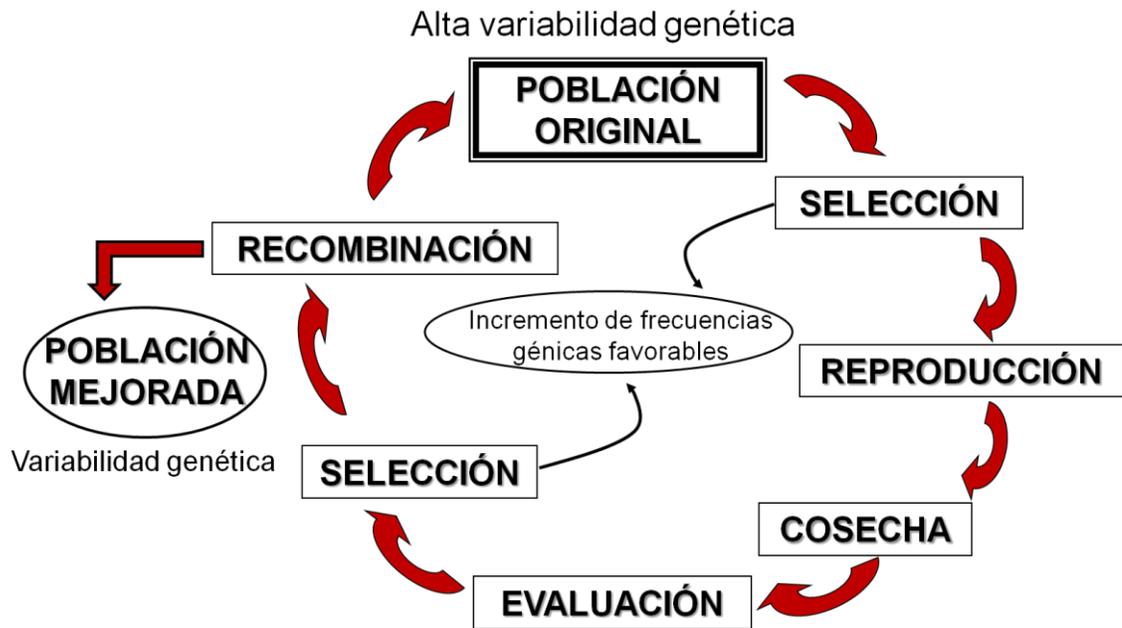
Diversos estudios indicaron que preservar la diversidad y heterogeneidad entre genotipos dentro de un mismo cultivar, es fundamental para prevenir el riesgo de grandes pérdidas y mantener la estabilidad de la producción a largo plazo (Eberhart y Russell, 1969; Reich y Atkins, 1970; Schnell y Becker, 1986; Ceccarelli y Grando, 1996; Pixley y Bjarnason, 2002). Del mismo modo, se ha demostrado que la heterocigosidad contribuye directamente al vigor híbrido en maíz (Schnell y Becker, 1986; Tomes, 1998; Virmani, 2001; Hallauer y Carena, 2009; Hallauer *et al.*, 2010). Pixley y Banziger (2004) compararon la performance de híbridos elites comerciales del CIMMYT con VPL elites en una gran cantidad de ambientes con diferentes características. Los rendimientos de los mejores híbridos superaron sólo en un 18 % a las mejores VPL en los sitios de bajos y altos rendimientos, y en algunos ambientes marginales, las variedades fueron levemente superiores. Esto indica que la mayor heterogeneidad y heterocigosidad de las VLP dada su alta variabilidad genética, contribuye a resultados favorables en cuanto a estabilidad de los rendimientos en ambientes con altas condiciones de estrés (Virmani, 2001; Pixley, 2006; Kutka, 2011).

Mientras que el mejoramiento genético moderno busca desarrollar genotipos ampliamente adaptados con un gran impacto geográfico potencial, es probable que para lograr cultivares exitosos en ambientes con condiciones severas de estrés, deban desarrollarse de manera específica (Ceccarelli y Grando, 1996; Pandey *et al.*, 2007) y ser evaluados en los sitios donde serán difundidos (Pixley, 2006). La mayor eficiencia en la estabilidad de los rendimientos se alcanza con cultivares localmente adaptados. En este sentido, los híbridos han promovido no ser “lo suficientemente buenos” bajo estas condiciones ambientales (Pixley, 2006).

## Mejoramiento de variedades

Los enfoques generales de la mejora genética de maíz consisten en la introducción de germoplasma, el mejoramiento poblacional, y el desarrollo de híbridos (Acquaah, 2012). El interés por la selección recurrente (o repetida) se recuperó en la década de 1940 y 1950, ante la necesidad de mejorar poblaciones para obtener mejores líneas endogámicas que permitan el desarrollo de nuevos híbridos (Sprague, 1955; Gardner, 1978; Jenkins, 1978; Hallauer y Carena, 2012). Además, otros objetivos planteados en este tipo de selección fueron el desarrollo de procedimientos para la mejora de caracteres de herencia cuantitativa, la comparación de la eficiencia relativa de diferentes tipos de progenies evaluadas a partir de poblaciones de amplia base genética, y la importancia relativa de diferentes tipos de efectos génicos importantes para la expresión de la heterosis (Hallauer y Carena, 2012). El desarrollo de variedades de polinización libre de hecho se fundamenta en los distintos esquemas de selección recurrente, y ha despertado un gran interés en el sentido de que permiten a los productores disponer de sus propias semillas. Del mismo modo, pueden obtener materiales mejorados de manera eficiente con sus propios recursos, representando una ventaja para sus sistemas de producción (Kutka, 2011; Ordas *et al.*, 2012).

La base de la selección recurrente en un programa de mejoramiento consiste en incrementar las frecuencias génicas favorables de una población inicial mediante la selección de rasgos de interés, con el propósito de obtener una nueva población mejorada superior a la original (Acquaah, 2012; Hallauer y Carena, 2012) (Figura 1.4). Esto permite mejorar el desempeño de las poblaciones *per se*, y de este modo, se espera que mejore el rendimiento de las líneas endogámicas derivadas de estas poblaciones (Ordas *et al.*, 2012; Hallauer y Carena, 2012). Algunos estudios demostraron que la selección recurrente podría ser exitosa para aumentar los rendimientos en maíz. Sin embargo, ninguna pudo dar mayores evidencias en relación a los rendimientos mostrados por los cultivares híbridos (Lonnquist y Gardner, 1961; Gardner, 1978; Paterniani, 1990; Coors, 1999; Carena y Hallauer, 2001; Carena, 2005).



**Figura 1.4.** Esquema básico del mejoramiento de poblaciones para la obtención de variedades de polinización libre mediante ciclos recurrentes de selección y recombinación. Adaptado de Biasutti y Nazar (2016)

El factor determinante en la eficiencia de la selección recurrente es la naturaleza genética de la población de partida, y que la misma pueda contribuir con germoplasma útil para el desarrollo de nuevos cultivares (Hallauer y Carena, 2012). El mejoramiento debe realizarse sin reducir la variabilidad genética, de modo que las poblaciones mejoradas respondan favorablemente ante sucesivos ciclos de multiplicación (Acquaah, 2012; Hallauer y Carena, 2012). Los individuos seleccionados de la población base deben presentar buena performance para las características de interés, y no deben estar estrechamente emparentados. En este sentido, se debe permitir el libre cruzamiento incluyendo la mayor cantidad de padres posibles, lo que aumenta las posibilidades de maximizar la variabilidad en la nueva población mejorada (Acquaah, 2012). Los ciclos de recurrencia (Figura 1.4) son una característica propia de estos métodos de selección y es lo que determina la variabilidad de los materiales mejorados (Hallauer y Carena, 2012). Sin embargo, una mayor cantidad de ciclos alargan la duración de los

programas de cría. Por lo tanto, el número de generaciones apropiado dependerá de los objetivos de mejora (Acquaah, 2012).

La selección recurrente dentro de una misma población (intra-poblacional) enfatiza principalmente los efectos génicos aditivos (Hallauer y Carena, 2012). La selección masal es un método intra-poblacional que ha sido ampliamente utilizado para adaptación de cultivares tropicales a distintos ambientes (Eno y Carena, 2008; Hallauer y Carena, 2009) y para modificar características de alta heredabilidad como la altura de planta, días a floración y características de la mazorca (Acquaah, 2012). Sin embargo, no ha sido eficiente para características de baja heredabilidad como el rendimiento. Por ello, se propusieron varias modificaciones de la selección masal clásica para disminuir los efectos del ambiente e incrementar la respuesta en el rendimiento de maíz (Gardner, 1961; Gardner, 1978; Hallauer y Miranda, 1988; Paterniani, 1990). Este método continúa siendo utilizado en el mejoramiento de variedades en países en vías de desarrollo (Acquaah, 2012).

Otros procedimientos de mejora intra-poblacionales usados en maíz incluyen la selección individual entre familias o progenies de medios hermanos, de hermanos completos o familias endogámicas (autofecundadas) (Borojevic, 1990; Hallauer *et al.*, 2010; Acquaah, 2012). Cada uno de éstos a la vez, presenta modificaciones con el fin de incrementar la respuesta a la selección mediante la evaluación de las progenies en varios ambientes (Lonnquist, 1964; Acquaah, 2012). Los esquemas de progenies de medios hermanos y hermanos completos representan además alternativas para la mejora inter-poblacional (entre poblaciones) (Acquaah, 2012), y han demostrado ser exitosos en el desarrollo de cultivares tropicales (Darrah *et al.*, 1972; Paterniani, 1990; Eberhart *et al.*, 1995).

La selección familiar o por progenie se caracteriza por tres pasos generales: (I) creación de la estructura familiar (obtención de las progenies de medios hermanos, hermanos completos o endogámicas) a partir de la población original, (II) evaluación y selección de las superiores mediante pruebas de progenie y (III) recombinación de familias seleccionadas, o plantas dentro de cada familia, para crear una nueva población para el siguiente ciclo de selección (Borojevic, 1990; Hallauer *et al.*, 2010; Acquaah, 2012). Existen algunas variantes, de las cuales la más simple es la selección mediante progenies criadas en surcos individuales. Estos métodos en maíz han sido utilizados con eficiencia para rasgos agronómicos de alta heredabilidad, y para la mejora del contenido de proteína y aceite en el grano (Acquaah, 2012). En medios hermanos, el probador es la población parental, y por lo tanto, la selección se realiza sólo sobre el progenitor femenino (Borojevic, 1990). Debido a esto, la varianza genética aditiva estimada se reduce a la mitad. Un modo de aumentar la ganancia genética es autofecundando cada familia seleccionada, y luego cruzar las progenies endogámicas (S1) para obtener nuevamente medios hermanos (Acquaah, 2012).

Los métodos de selección individual permiten mejorar la eficiencia de la selección masal clásica, en la cual los individuos son seleccionados únicamente por su fenotipo (Borojevic, 1990). En progenies, la selección se realiza en función de los valores medios de los individuos de la descendencia (Hallauer *et al.*, 2010; Acquaah, 2012). Dependiendo de los objetivos de mejoramiento, se puede lograr avance genético con cualquiera de los métodos de selección recurrente. Si un tipo particular no es efectivo, se pueden hacer cambios en los tipos de progenies que se someten a evaluación, o pueden intercalarse con germoplasma adicional seleccionado a partir del último ciclo (Hallauer y Carena, 2012). Estos esquemas además, tienen el potencial de desarrollar fuentes de germoplasma alternativas para la obtención de líneas endogámicas no emparentadas, que podrían proporcionar alelos adicionales útiles en los programas de pedigrí y lograr patrones heteróticos nativos (Jumbo y Carena, 2008; Hallauer y Carena, 2009; Hallauer *et al.*, 2010).

Finalmente, cualquier tipo de cruzamiento entre progenies representa alternativas para la obtención propia de semillas en los sistemas de producción. Además, existe la opción de que las poblaciones mejoradas puedan cruzarse cada año y evaluar la respuesta a la selección en cada ciclo. Las ventajas de este enfoque estarían representadas en mantener rendimientos aceptables en las poblaciones mejoradas, con un menor costo de obtención de la semilla. Sin embargo, algunas desventajas de las variedades son la necesidad de disponer de superficie para el aislamiento de los lotes de producción de semilla genética, rendimientos relativamente menores a los híbridos tradicionales y menor uniformidad en las plantas de la población (Kutka, 2011). No obstante, las características propias de cada sistema de producción, determinarán la eficiencia en el mejoramiento de variedades.

## **PRINCIPALES DESTINOS DEL MAÍZ**

El maíz constituye la materia prima central en la alimentación animal y en la producción de bioetanol, particularmente en EEUU, por lo que estas industrias determinan los dos principales destinos de este cereal (Serna-Saldivar, 2010; Arendt y Emanuele, 2013). Los alimentos derivados de maíz poseen características únicas que lo distinguen del resto de los cereales (Serna-Saldivar, 2010). La mayoría de los productos son elaborados a partir de la molienda seca, húmeda o nixtamalización. La industria de la molienda seca produce una variedad de productos con diferente refinamiento ampliamente usados en la elaboración de pan, *snacks* y cereales de desayuno (Serna-Saldivar, 2010; Arendt y Emanuele, 2013). La ausencia de gliadinas y la presencia de carbohidratos fácilmente digeribles, permiten que la harina de maíz sea ampliamente usada en la elaboración de alimentos para pacientes celíacos (Zannini *et al.*, 2012).

La molienda húmeda produce almidón relativamente puro como producto principal, y gluten, fibra y germen como subproductos. A partir de procesos de modificación química del almidón, se obtienen maltodextrinas, glucosa y jarabes de alta fructosa (Rooney y Serna-Saldivar, 2003). El jarabe de maíz es preferido como edulcorante en la industria de bebidas en lugar de la caña cristalizada o remolacha azucarera, ya que posee un poder endulzante 1,7 veces mayor que la sacarosa en concentraciones equivalentes (Serna-Saldivar, 2010). Algunos productos en menor escala elaborados a base a maíz también están tomando relevancia, como la cerveza y las películas para envases biodegradables (Arendt y Emanuele, 2013).

Sin duda, son innumerables las posibilidades de usos de este cultivo en la industria. Sin embargo, el consumo directo de este cereal es una de las principales fuentes de alimentos en muchas partes del mundo. El maíz representa alrededor del 15 % - 56 % de las calorías diarias en la dieta de las personas en una gran cantidad de países en vías de desarrollo, especialmente en Latinoamérica y África, conformando sus principales fuentes de nutrición (Ortega-Paczka, 2003; Vivek *et al.*, 2008; Kato *et al.*, 2009; Naqvi *et al.*, 2011; Arendt y Emanuele, 2013). Los usos del maíz en la alimentación humana poseen una larga historia, e incluso representa un símbolo de muchas culturas tradicionales latinoamericanas (Peredo, 2005; Kato *et al.*, 2009). Desde épocas precolombinas, se utilizaba el tallo de la planta para la extracción de jugos vegetales y consumo como bebida (Kato *et al.*, 2009). Uno de los usos más conocidos desde civilizaciones antiguas fue sencillamente calentar los granos hasta que explotaran, lo que hoy conocemos como `palomitas de maíz`. Actualmente, el maíz pisingallo representa uno de los principales alimentos tipo *snacks* en países desarrollados, cuya producción es destinada enteramente a consumo humano (Popcorn Board, 2016; SENASA, 2017).

La molienda integral de los granos representó históricamente la forma más importante de procesamiento para la elaboración de tortillas (Vargas, 2007; Kato *et al.*, 2009). El proceso de nixtamalización para la preparación de la masa de tortillas y tamales es uno de los grandes logros de las culturas mesoamericanas, ya que favorece la biodisponibilidad de los componentes

nutricionales de los granos (Vázquez *et al.*, 2002; Rojas-Molina *et al.*, 2008; Gutiérrez-Dorado *et al.*, 2008; Paredes *et al.*, 2009). Además de las semillas, otras partes de la planta, como hojas, tallos, espigas, e incluso raíces, se utilizan como abono o combustible (Kato *et al.*, 2009). La caña se emplea con propósitos medicinales y como bebidas refrescantes o alcohólicas luego de ser fermentadas. Las hojas y chalas sirven como envolturas de tamales, e incluso para la alimentación de animales y la fabricación de objetos artesanales (Esteva, 2003).

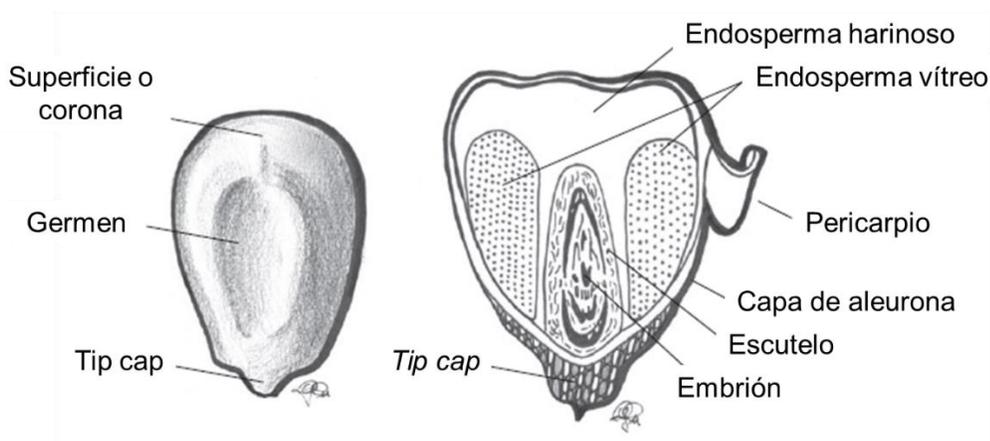
Existen varios reportes sobre distintas elaboraciones culinarias en base a maíz en la gastronomía popular de culturas latinoamericanas, con innumerables variantes y recetas distintas (Alarcón *et al.*, 2001; Kato *et al.*, 2009; Nazar y Quiroga, 2012). Las bebidas derivadas de maíz más conocidas en el mundo son el atole (a partir de maíz dulce), y la chicha morada (de maíz morado) (Escribano-Bailón *et al.*, 2004; Cuevas-Montilla *et al.*, 2008). Algunas fuentes agrupan diferentes platos de acuerdo a los tipos de granos usados para dichas elaboraciones, basados en su color, forma, tamaño y modo de cocción, clasificando a algunas variedades para usos específicos (Aragón, 2006). Incluso platos comunes como polenta, humita, tamales, locro, arepas, empanadas, entre muchos otros, son comidas cotidianas que forman parte de nuestras costumbres y tradiciones familiares (Nazar y Quiroga, 2012).

## **ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN DEL GRANO**

El maíz está compuesto de 70 % - 75 % de almidón, 8 % - 10 % de proteína, 4 % - 5 % de lípidos, 1 % - 3 % de azúcares y 1 % - 4 % de cenizas (Earle *et al.*, 1946; Hallauer, 2001; Arendt y Emanuele, 2013). Los granos inmaduros contienen niveles relativamente altos de azúcares y menores cantidades de almidón, proteína y lípidos, ya que éstos se acumulan durante la maduración (Boyer y Shannon, 1982). El maíz posee el grano de mayor tamaño en relación al resto de los cereales, cuyo peso de cien semillas rondan en promedio los 30 gramos. Debido a la gran diversidad genética de esta especie, existe una amplia gama de fenotipos de distintos

colores, formas y tamaños. Las diferencias de color se deben principalmente a pigmentaciones en el pericarpio y en la capa de aleurona (Salinas-Moreno *et al.*, 2012, 2013), mientras que las diferencias en la forma y el tamaño se deben en gran medida a la posición en la mazorca. Aquellos que se ubican en los extremos de la espiga son más redondeados, mientras que los ubicados en la parte central, presentan los laterales más achatados debido a la presión ejercida por el empaquetamiento de los granos en la hilera (Arendt y Emanuele, 2013).

Los componentes químicos del grano de maíz, se encuentran distribuidos en sus distintas estructuras anatómicas (pericarpio, endosperma y embrión) (Figura 1.5).



**Figura 1.5.** Estructura anatómica del grano del maíz. Fuente: Arendt y Emanuele (2013)

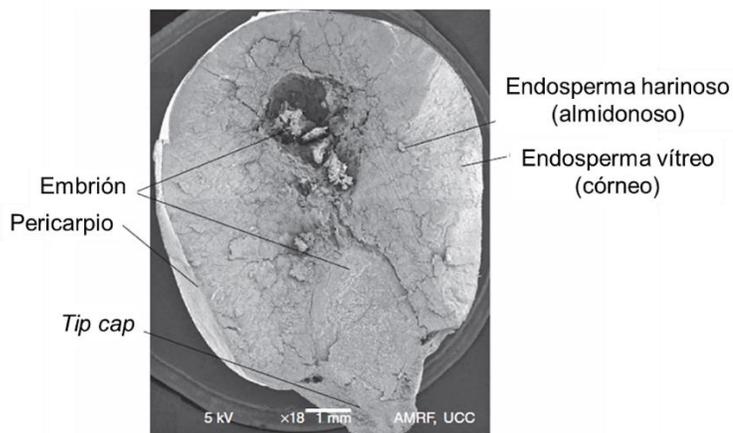
## Pericarpio

La estructura más externa del grano se denomina pericarpio, y contribuye a su color (Corke, 2004). Su grosor es dependiente del genotipo y oscila entre 25  $\mu\text{m}$  y 140  $\mu\text{m}$ , representando alrededor del 5 % - 6 % de su peso (Arendt y Emanuele, 2013). Está compuesto de células muertas ricas en celulosa que poseen formas tubulares (Darrah *et al.*, 2003). La capa

de aleurona es la capa más externa que cubre el endosperma y el germen, y actúa como una membrana semipermeable que restringe el flujo de moléculas grandes dentro y fuera del endosperma (Li y Vasal, 2004). La aleurona está compuesta por células grandes y densas ricas en minerales y proteínas de alta calidad. Esas proteínas son resistentes a la hidrólisis de las enzimas digestivas, excepto ante la ruptura celular por efecto de la molienda (Saunders *et al.*, 1969).

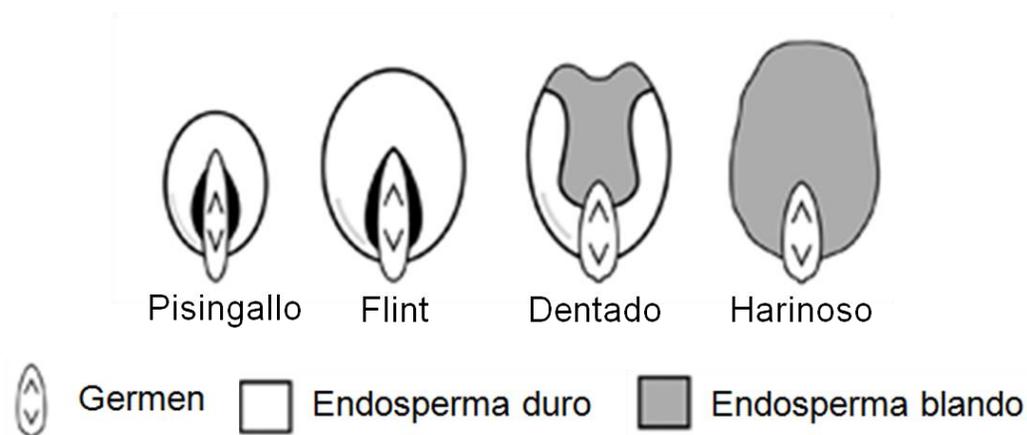
## Endosperma

El endosperma comprende el 82 % – 84 % del peso seco del grano, y está compuesto casi en su totalidad por almidón (90 %) (Earle *et al.*, 1946; Hallauer, 2001) y la mayor parte de las proteínas solubles e insolubles (7 % - 10 %) (Arendt y Emanuele, 2013). Está formado por células alargadas, empaquetadas con los gránulos de almidón de 5 a 30  $\mu\text{m}$  de diámetro, encerrados en una matriz proteica. Los espacios intergranulares poseen cuerpos proteicos de 2  $\mu\text{m}$  – 3  $\mu\text{m}$  de diámetro incrustados en la matriz, compuestos casi en su totalidad por zeínas (Arendt y Emanuele, 2013) (Figura 1.8).



**Figura 1.6.** Fotografía de microscopía electrónica de barrido (SEM) representativa del corte transversal longitudinal de un grano de maíz. Fuente: Arendt y Emanuele (2013)

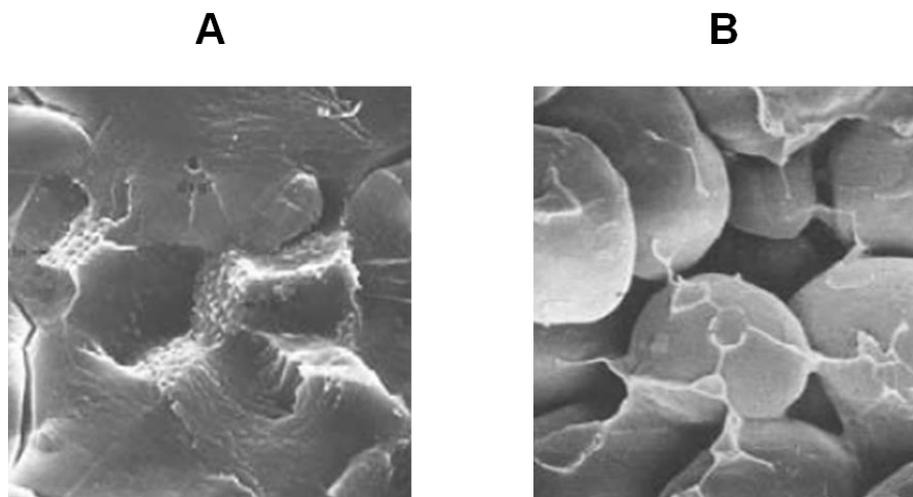
En el endosperma de maíz se distingue una región blanda o harinosa rica en almidón, localizada hacia el centro del grano, y una región dura o vítrea rica en proteína, localizada hacia la periferia (Hoseney, 1998; Dombink-Kurtzman y Knutson, 1997; Cirilo *et al.*, 2011) (Figura 1.6 y Figura 1.7). Las variaciones en la estructura física de los granos se han asociado con el grado de empaquetamiento de sus componentes, el grosor de la pared celular, el tamaño de las células del parénquima de almacenamiento del endosperma, la proporción de endosperma harinoso y vítreo, el grosor de la matriz proteica en contacto con los gránulos de almidón y la fuerza de adhesión de los gránulos en la matriz (Simmonds *et al.*, 1973; Abdelrahman y Hoseney, 1984; Pereira *et al.*, 2008).



**Figura 1.7.** Principales tipos de granos de maíz según la estructura del endosperma. Fuente: Robutti (2004)

En maíces harinosos (Figura 1.7), los gránulos de almidón (mayormente esferoidales) y los cuerpos proteicos están dispuestos de manera desorganizada en el endosperma (Robutti *et al.*, 1974; Cagampang *et al.*, 1985; Wall y Bietz, 1987; Dombink-Kurtzman y Knutson, 1997; Robutti, 2004) (Figura 1.8 B). En cambio, en maíces de endosperma duro (Figura 1.7), los gránulos poseen forma poligonal, lo que permite llenar los espacios intergranulares debido a un mayor grado de empaquetamiento con la matriz proteica (Dombink-Kurtzman y Knutson, 1997) (Figura 1.8 A). La estructura es más organizada, y se traduce en un fenotipo

predominantemente vítreo (Simmonds *et al.*, 1973; Gibbon *et al.*, 2003; Robutti, 2004; Gibbon y Larkins, 2005; Pereira *et al.*, 2008). Normalmente, las proteínas de almacenamiento son las responsables de la asociación entre los gránulos de almidón y la matriz proteica del endosperma, lo que influye directamente en la dureza (Abdelrahman y Hosney, 1984; Dombrink-Kurtzman y Bietz, 1993; Pereira *et al.*, 2008). Estudios recientes demostraron que en el endosperma vítreo, los gránulos de almidón poseen poros en su superficie que representan canales internos que penetran profundamente en su interior. Estos canales son menos frecuentes en el endosperma harinoso. La proteína incluida en estos canales de almidón, podría fortalecer la adhesión de las zeínas a la superficie de los gránulos, aportando a una mayor dureza del endosperma (Gayral *et al.*, 2016).



**Figura 1.8.** Fotografía de microscopía electrónica de barrido (3000 X) del endosperma vítreo (A) y harinoso (B) de maíz. Fuente: Robutti (2004)

La textura de los granos es un rasgo fundamental relacionado a algunas características de su calidad industrial (como la densidad), agronómica (como la susceptibilidad al ataque de plagas y enfermedades durante el almacenamiento) y nutricional (como su susceptibilidad a la hidrólisis enzimática durante los procesos digestivos) (Duodu *et al.*, 2002; Correa *et al.*, 2002; Pereira *et al.*, 2008).

## **Embrión**

El embrión constituye la parte viva del grano, y se encuentra completamente encerrado en el escutelo en forma de escudo (Figura 1.5), cuya función es aportarle nutrientes al germen. Las paredes de las células del escutelo son gruesas y contienen numerosas fosas y espacios intercelulares que facilitan el intercambio de materiales entre las células (Watson, 2003). El embrión ocupa mayor proporción del grano en comparación a otros cereales y constituye el 11 % de su peso seco. Contiene casi el 83 % de los lípidos totales, y alrededor de 18 % - 26 % de proteínas metabólicamente activas que se movilizan durante la germinación (Hallauer, 2001; Arendt y Emanuele, 2013), posee alrededor del 70 % de los azúcares y el 78 % de minerales y vitaminas (Watson, 2003; Eckhoff, 2004).

## **EL MAÍZ EN LA ALIMENTACIÓN HUMANA**

El maíz, como todos los cereales, representa una excelente fuente de energía debido a que el componente mayoritario del grano es el almidón (Hallauer, 200; Serna-Saldivar, 2010; Arendt y Emanuele, 2013), que además posee altas tasas de digestibilidad (Camelo-Méndez *et al.*, 2017). Por otro lado, varios estudios demostraron que las proteínas del grano poseen alta digestibilidad *in vitro* (Hamaker *et al.*, 1986; Duodo *et al.*, 2002; Gutiérrez-Dorado *et al.*, 2008). Sin embargo, su calidad biológica no se considera adecuada para un crecimiento óptimo debido a su deficiencia en lisina y triptófano (Arruda *et al.*, 1978; Yau *et al.*, 1999; Ortiz-Martinez *et al.*, 2017), especialmente en la nutrición de niños en edad pre-escolar (Serna-Saldivar, 2010).

El maíz juega un importante papel en la producción de alimentos con características funcionales y nutracéuticas debido a la existencia de variedades con alto contenido de compuestos antioxidantes (Adom y Liu, 2002; Jing *et al.*, 2007; Del Pozo-Insfran *et al.*, 2006;

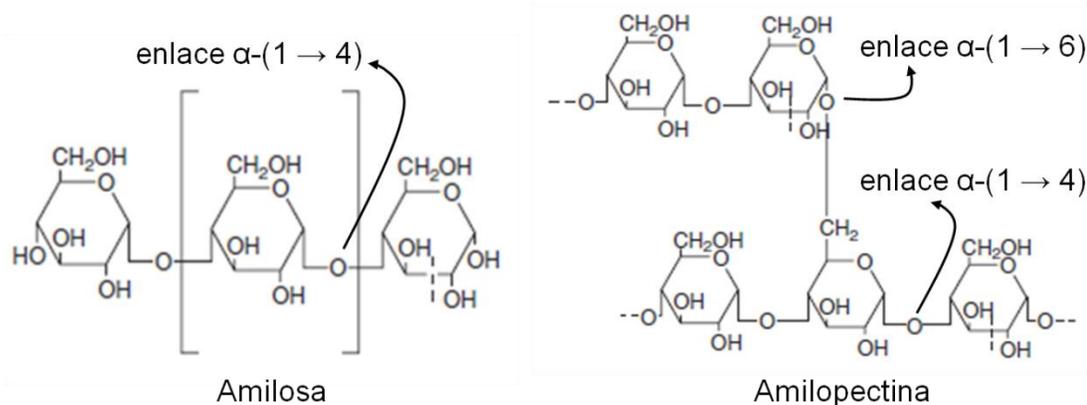
Lopez-Martinez *et al.*, 2009). Las características propias de los componentes químicos de los granos, y la gran variabilidad existente en esta especie, hacen que las diferencias manifestadas entre genotipos influyan en las propiedades nutricionales, funcionales y organolépticas de los alimentos derivados de este cereal. Además, la interacción entre el genotipo y el ambiente, especialmente durante las etapas de llenado y maduración del grano, puede afectar su composición química (Serna-Saldivar, 2010).

## ALMIDÓN

El almidón se dispone estructuralmente en forma de gránulos de diferentes formas y tamaños que pueden alcanzar hasta 25  $\mu\text{m}$  de diámetro. Se almacenan en el endosperma en órganos celulares llamados amiloplastos, y representan en su totalidad aproximadamente el 87,6 % del peso seco total del endosperma. La acumulación del almidón durante el desarrollo de los granos aumenta desde menos de 10 % de su peso a los 7 a 10 días después de la polinización, hasta 55 % - 60 % de su peso alrededor de los 30 - 35 días, manteniéndose constante hasta la maduración (Earley, 1952). Condiciones ambientales de estrés por altas temperaturas y sequía durante este estadio fenológico, pueden afectar fuertemente las características del almidón. En maíz, y en general para la mayoría de los cereales, la temperatura óptima para el llenado de los granos ronda los 20 °C a 30 °C (Chowdhury y Wardlaw, 1978).

Los gránulos de almidón están compuestos principalmente por una fracción ramificada, amilopectina, y una fracción lineal, amilosa. La amilosa constituye el 25 % – 30 % del almidón de maíz, y es esencialmente un polímero lineal de unidades glucosa con enlaces  $\alpha$ -(1  $\rightarrow$  4) (Watson, 2003) (Figura 1.9). La amilopectina constituye el 70 % – 75 % del almidón, y consiste

en cadenas de glucosa unidas por enlaces  $\alpha$ - (1  $\rightarrow$  4) y ramificaciones en los enlaces  $\alpha$ - (1  $\rightarrow$  6) (Figura 1.9). Las cadenas unidas con enlaces  $\alpha$ - (1  $\rightarrow$  4) pueden ser de longitudes de 12 – 20 o 40 – 60 unidades de glucosa (Marshall y Whelan, 1974).



**Figura 1.9.** Estructura química de la molécula de amilosa y amilopectina. Fuente: Pérez *et al.* (2009)

Los gránulos de almidón contienen además pequeñas cantidades de otros componentes menores, como proteínas, lípidos y minerales (principalmente fósforo), que se encuentran en su superficie o dentro de ellos (Morrison, 1978). En maíz, estos componentes generalmente disminuyen en relación con el tamaño de los gránulos (Dhital *et al.*, 2011). El contenido de lípidos varía de 0,6 % a 1,1 % del peso seco de almidones de maíz altos en amilosa (amilomaíz), mientras que su contenido es insignificante en almidones de maíz *waxy* (Morrison y Milligan, 1982). Los lípidos presentes en el almidón de maíz consisten en ácidos grasos libres (51 % – 62 %) y bajos niveles de lisofosfolípidos (24 % – 46 %) (Morrison y Milligan, 1982). Algunos estudios demostraron que existe una correlación positiva entre el contenido de amilosa y el de lípidos, aunque hay pocas evidencias del posible papel bioquímico de los lípidos (Morrison *et al.*, 1984; South *et al.*, 1991). Las proteínas asociadas a los gránulos (entre 0,3 % a 1,0 %) se encuentran unidas a su superficie o son componentes integrales dentro de ellos (Gayral *et al.*, 2016). Los polipéptidos localizados en la superficie son prácticamente zeínas, y constituyen

alrededor del 50 % del total de las proteínas asociadas a los gránulos de almidón (Mu-Forster y Wasserman, 1998).

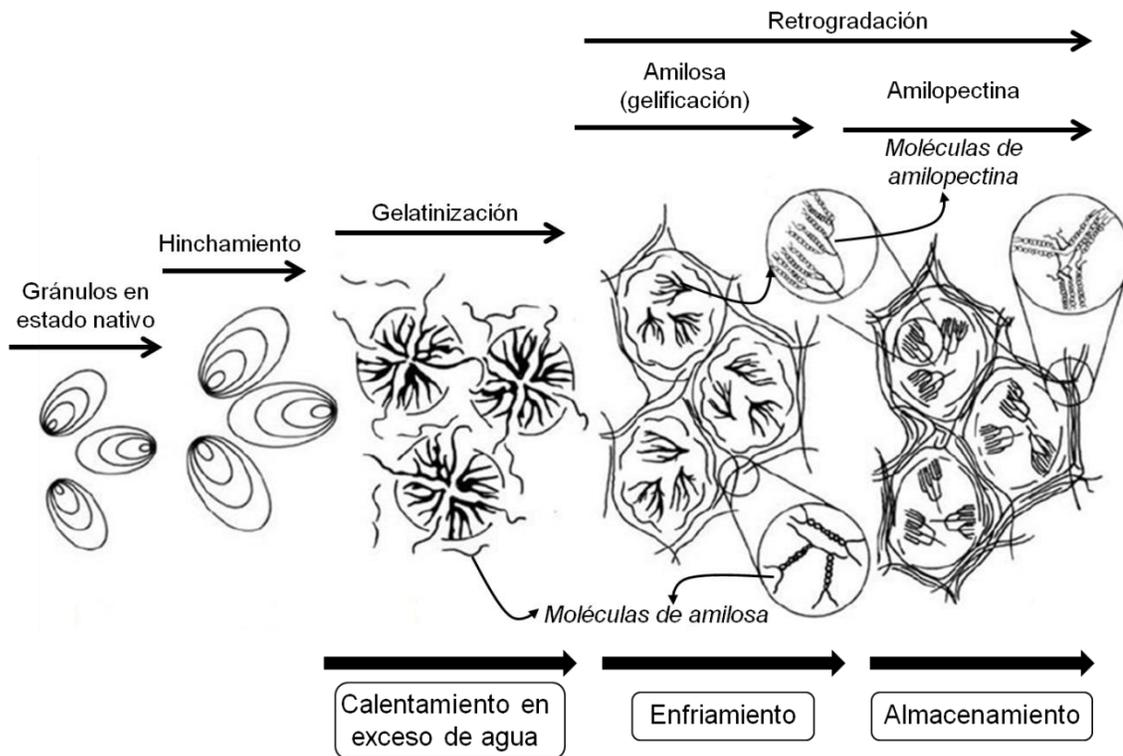
El almidón de maíz contiene una fracción denominada almidón resistente (RS), y se clasifica como fibra dietética, ya que no puede hidrolizarse en el intestino delgado, funcionando como sustrato para la flora bacteriana intestinal (Englyst *et al.*, 1992). Generalmente, su contenido en maíz normal ronda aproximadamente el 2 % en base seca (Russell *et al.*, 1989; Rendon-Villalobos *et al.*, 2002), y se correlaciona positivamente con el contenido de amilosa (Sang *et al.*, 2008). El RS de maíz se utiliza como fuentes de fibra para la elaboración de diferentes productos panificados, como panes, muffins y cereales de desayuno (Sajilata *et al.*, 2006; Romo *et al.*, 2008), ya que proporciona mejores características tecnológicas y nutricionales. En general, el RS actúa favorablemente como modificador de textura al impartir ternura a la miga (Sajilata *et al.*, 2006). Los genotipos de maíz con alto contenido de amilosa juegan un papel clave en la obtención de estos tipos de almidones (Ozturk *et al.*, 2009; Lin *et al.*, 2016).

Las propiedades fisicoquímicas y funcionales del almidón están relacionadas con la estructura y la morfología de los gránulos. Pequeños cambios en la proporción de amilosa/amilopectina (Inouchi *et al.*, 1983), así como la estructura de las moléculas de amilopectina (longitud de las cadenas y grado de ramificación), el contenido de lípidos y la arquitectura de los gránulos (relación estructura amorfa/cristalina), alteran su comportamiento funcional (Tester, 1997; Akerberg *et al.*, 1998; Bird *et al.*, 2006). La gelatinización y la retrogradación son dos fenómenos físicos importantes del almidón. La gelatinización es un proceso que altera el orden molecular nativo de los gránulos y típicamente ocurre durante el procesamiento térmico en presencia de agua (Park *et al.*, 2009) (Figura 1.10). Los gránulos se someten a un proceso de hinchamiento, acompañado de cambios extensivos en la distribución del agua dentro de su estructura interna. También hay una pérdida de la cristalinidad y lixiviación de la amilosa (Waigh *et al.*, 2000; Douth *et al.*, 2012). Cameron y Donald (1992)

demonstraron que la cristalinidad se pierde principalmente durante la fase endotérmica de gelatinización, luego de que el agua se introduzca en los anillos de crecimiento amorfos. Las regiones cristalinas parecen ser relativamente poco afectadas durante esta fase temprana, y más allá de un nivel crítico de hinchamiento, las tensiones impuestas sobre las moléculas en las capas semicristalinas eventualmente destruyen la cristalinidad (Doutch *et al.*, 2012).

Luego de la gelatinización, las moléculas de amilosa y amilopectina interactúan entre sí hidrofóbicamente para re-asociarse mediante puentes de hidrógenos, y obtener una estructura más ordenada. Este proceso es denominado retrogradación (Zhu, 2015). Durante el enfriamiento inmediato del almidón gelatinizado, se produce en primer lugar la re-asociación de las moléculas de amilosa (gelificación) (Figura 1.10), siendo responsable de las transformaciones rápidas a corto plazo en la textura de los alimentos. En cambio, durante el almacenamiento, se re-asocian las moléculas principalmente de amilopectina, contribuyendo a los cambios reológicos y estructurales de los alimentos a largo plazo (Sathaporn y Jane, 2007) (Figura 1.10). El almidón cambia de un estado amorfo a un estado cristalino, y por lo tanto, el proceso de retrogradación incluye una re-cristalización (Yuan *et al.*, 1993). Esta re-cristalización de las moléculas durante el almacenamiento, es inducida principalmente por la formación de la estructura helicoidal de cadenas cortas de amilopectina (Zobel *et al.*, 1988; Park *et al.*, 2009).

La retrogradación del almidón durante el almacenamiento afecta su digestibilidad, y a menudo, disminuye la aceptación por parte del consumidor de los alimentos con matrices ricas en este biopolímero, como el pan, pastas o arroz cocido. La velocidad y el grado de retrogradación se ven principalmente afectados por las propiedades inherentes del almidón, incluida la estructura molecular y cristalina, y por las condiciones de almacenamiento, como la temperatura, el tiempo y el contenido de agua (Gudmundsson, 1994; Liu y Thompson, 1998; Park *et al.*, 2009).



**Figura 1.10.** Representación del proceso de gelatinización y retrogradación del almidón. Adaptado de Pérez *et al.* (2009)

La mayoría de las investigaciones sobre las propiedades térmicas de los almidones de maíz, se han centrado en los tipos mutantes como *waxy (wx)*, *amylose-extender (ae)*, *dull (du)*, o *sugary (su)* en diferentes *background* (Inouchi *et al.*, 1984; Krueger *et al.*, 1987; Brockett *et al.*, 1988; Sanders *et al.*, 1990; Ng *et al.*, 1997b), cuya metodología más utilizada es la calorimetría de barrido diferencial (DSC). Este método requiere pequeñas cantidades de muestra y es relativamente rápido comparado con procedimientos más tradicionales en el estudio de la gelatinización (Ng *et al.*, 1997a), haciéndolo útil para la selección de germoplasma. Las temperaturas promedio de gelatinización del almidón de maíz oscilan entre 67 °C - 68 °C (Méndez-Montealvo *et al.*, 2006), aunque también se han reportado valores superiores (71,9 °C - 78,8 °C) (Dong *et al.*, 2008). Yuan *et al.* (1993) sugirieron que elevadas temperaturas de gelatinización del almidón de maíz podrían deberse a una mayor proporción de cadenas más largas de las moléculas de amilopectina. Estas cadenas podrían formar dobles hélices de mayor

longitud (no necesariamente en forma de cristales) y requieren temperatura superior para disociarse completamente en comparación a estructuras de dobles hélices más cortas. Generalmente, los maíces que poseen una temperatura de gelatinización más alta se utilizan en la producción de harina, ya que es necesaria una mayor temperatura durante el procesamiento, mientras que el maíz con bajas temperaturas de gelatinización, puede usarse para la producción de tortillas mediante el proceso de nixtamalización (Méndez-Montealvo *et al.*, 2005).

Otra propiedad del almidón relevante en la industria, influenciada por la disposición de los gránulos en estado nativo, es la viscosidad o proceso de formación de *pasting* (Atwell *et al.*, 1988), cuyo método más ampliamente utilizado para su medición es el análisis rápido de viscosidad (Rapid Visco Analysis, RVA) (Wrigley *et al.*, 1996; Crosbie y Ross, 2007; Gomand *et al.*, 2010; Colombo *et al.*, 2011). Una suspensión de almidón durante un ciclo de calentamiento y enfriamiento, presenta variaciones en la viscosidad que se pueden observar en una curva típica medida por RVA (Figura 2.8). En primer lugar, un número suficiente de gránulos de almidón sufre un rápido hinchamiento y lixiviación parcial de la amilosa, particularmente después de la gelatinización, observándose un rápido aumento de la viscosidad (*peak viscosity*) (Doutch *et al.*, 2012). En condiciones de calentamiento con alta temperatura y fuerza de cizalla, los gránulos se rompen parcialmente y la amilosa lixiviada se orienta en forma lineal en dirección en la que el sistema está siendo agitado (Nelles *et al.*, 2000), lo que conduce a una disminución de la viscosidad en la mayoría de los casos (*breakdown*) (Figura 2.8). En el enfriamiento posterior, los polímeros hidratados se re-asocian mediante la formación de puentes de hidrógeno (Nelles *et al.*, 2000), y el material experimenta una transición a una estructura de tipo gel, observada como un nuevo aumento de la viscosidad (*setback*) (Doutch *et al.*, 2012).

La mayoría de los estudios sobre las propiedades funcionales del almidón de maíz se han llevado a cabo principalmente utilizando variedades híbridas, y son escasos los reportes sobre las propiedades físico-químicas de las harinas y almidones de variedades locales. La variabilidad

genética de tales genotipos podría correlacionarse con una gran diversidad química hipotética, es decir, distintos tipos de almidones con propiedades particulares para aplicaciones industriales (Uarrota *et al.*, 2013). Por otro lado, varios estudios focalizaron el análisis de las propiedades de los geles de almidones de maíz, mientras que los detalles sobre las características del almidón a partir de harinas de grano entero no se han investigado completamente, especialmente en variedades locales (Uarrota *et al.*, 2013).

## **PROTEÍNAS**

Las proteínas conforman el segundo componente más abundante en el grano de maíz luego del almidón, cuyo contenido oscila generalmente entre 6 % y 12 % de su peso seco (Watson, 2003). Se distribuyen principalmente en el germen y el endosperma, y sus características difieren significativamente. La proteína del germen es de alta calidad y conforma alrededor del 35 % de su peso seco, mientras que el endosperma contiene alrededor de 9 % de su peso en proteína, y es considerada de mala calidad debido a una deficiencia en lisina y triptófano (Arruda *et al.*, 1978; Wall y Bietz, 1987; Landry *et al.*, 2005; Gibbon y Larkins, 2005; Wu *et al.*, 2010; Ortiz-Martinez *et al.*, 2017). La proteína del endosperma constituye el 80 % del contenido total de proteína en el grano (Arendt y Emanuele, 2013).

Las proteínas de maíz se clasifican en cuatro fracciones según su solubilidad como prolaminas, albúminas, globulinas y glutelinas (Osborne, 1924). Las prolaminas o zeínas representan el principal tipo de proteína más abundante de la semilla (aproximadamente 52 % del nitrógeno del grano), son solubles en etanol e insolubles en agua (Landry y Moureaux, 1980; Malumba *et al.*, 2008). Las albúminas y las globulinas conforman alrededor del 7 % y 5 % del nitrógeno del grano, respectivamente. Se localizan principalmente en el germen, y son consideradas proteínas biológicamente activas porque regulan el metabolismo de la semilla. Las albúminas son hidrosolubles, mientras que las globulinas son solubles en soluciones salinas (Ortiz-Martinez *et al.*, 2017). Algunos estudios demostraron que las albúminas son las proteínas

más afectadas por las altas temperaturas. Su desnaturalización puede causar pérdida de la viabilidad del grano debido que son proteínas enzimáticas. De hecho, el fenómeno de germinación depende estrechamente de la activación de las enzimas de la semilla, que pueden desnaturalizarse incluso a temperaturas moderadas (Malumba *et al.*, 2008). Las glutelinas son solubles en soluciones alcalinas, y conforman alrededor del 25 % del nitrógeno del grano. Los péptidos que conforman cada una de las fracciones proteicas del maíz poseen diferentes secuencias de aminoácidos (Malumba *et al.*, 2008; Nuss y Tanumihardjo, 2010; Ortiz-Martinez *et al.*, 2017).

Las zeínas representan las principales proteínas de almacenamiento en maíz. Se sintetizan en un período posterior a la polinización y, consecuentemente, más tarde que las fracciones no-zeínicas (Landry *et al.*, 2005). Se disponen formando agregados insolubles llamadas cuerpos proteicos en el lumen del retículo endoplasmático rugoso. Durante la maduración del grano, los cuerpos proteicos se empaquetan densamente entre los gránulos de almidón en las regiones vítreas del endosperma (Serna-Saldivar *et al.*, 2008; Wu *et al.*, 2010; Gayral *et al.*, 2016;). La calidad nutricional de las proteínas está determinada por las proporciones de aminoácidos esenciales, que no pueden ser sintetizados por los animales y, por lo tanto, deben proporcionarse en la dieta. Diez aminoácidos son considerados estrictamente esenciales: lisina, isoleucina, leucina, fenilalanina, tirosina, treonina, triptófano, valina, histidina y metionina. Sin embargo, la cisteína a menudo también se incluye como esencial ya que sólo puede sintetizarse a partir de la metionina (Shewry, 2007). Las zeínas de maíz contienen muy bajos contenidos de lisina y triptófano (Landry *et al.*, 2005) y grandes cantidades de glutamina, prolina, leucina y alanina, por lo que se las consideran de baja calidad nutricional (Hallauer, 2001).

Las zeínas están codificadas por genes que se presentan en forma de copias múltiples (Hallauer, 2001), algunos de los cuales se definen por alelos mutantes (Motto *et al.*, 1989). Estudios previos estimaron que las zeínas estaban codificadas por un conjunto de hasta 100

genes (Wilson y Larkins, 1984; Geraghty *et al.*, 1982). No existen claras evidencias si todos los genes están activos en su síntesis, y se demostró que diferentes genes pueden expresarse a diferentes niveles (Das y Messing, 1987; Hallauer, 2001). Los genes se distribuyen en varios cromosomas en el genoma del maíz, y las  $\alpha$ -zeínas están codificadas por una gran familia de genes. Por el contrario, las  $\beta$ ,  $\delta$  y  $\gamma$ -zeínas están codificadas por uno o dos genes (Hallauer, 2001).

Las diferentes clases de zeínas se pueden distinguir por su movilidad relativa mediante electroforesis en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE), por su solubilidad selectiva y por su diferente composición de aminoácidos (Rodríguez-Nogales *et al.*, 2006). En un análisis SDS-PAGE, las zeínas se identifican típicamente por sus masas moleculares aparentes, y se clasifican como A-, B-, C-, D-, E- y F-zeínas (22 kDa, 19 kDa, 14 kDa, 10 kDa, 27 kDa y 16 kDa, respectivamente) (Vitale *et al.*, 1980). Más recientemente, las zeínas se han clasificado en función del grado de relación a sus genes primarios y las secuencias de aminoácidos. Estos estudios las clasifican como  $\alpha$ - (22 kDa y 19 kDa),  $\beta$ - (14 kDa),  $\gamma$ - (27 kDa y 16 kDa) y  $\delta$ - (10 kDa) zeínas. Las  $\alpha$ -zeínas (A- y B-zeínas) representan la fracción más abundante y comprenden hasta el 80 % de las zeínas totales (Hallauer, 2001; Rodríguez-Nogales *et al.*, 2006). Están constituidas por 210 - 245 aminoácidos (Rodríguez-Nogales *et al.*, 2006). La capa de aleurona posee pequeños cuerpos proteicos de  $\beta$ - y  $\gamma$ -zeína, mientras que los cuerpos proteicos del endosperma son más grandes y contienen principalmente  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -zeínas (Larkins y Hurkman, 1978; Hallauer, 2001).

## **FIBRA DIETÉTICA**

Algunos estudios comparativos sobre la composición química de varios granos de cereales han demostrado que el maíz tiene un mayor contenido de fibra (2 %) que el arroz (0,8 %), trigo (1 %) y mijo (1,5 %), pero menores niveles a los típicos del centeno (2,2 %), cebada (3,7 %), sorgo (4,1 %) o avena (5,6 %) (Champagne *et al.*, 2004). Las fuentes más importantes

de fibra dietética del grano de maíz son el salvado y el *tip cap* (Boyer y Shannon, 2003). El salvado está constituido por 70 % de hemicelulosa, 23 % de celulosa y 0,1 % de lignina en peso seco (Sandstead *et al.*, 1978; Sugawara *et al.*, 1994). Los niveles de fibra total, celulosa y hemicelulosa son más altos en el salvado de maíz que en el de trigo o arroz. Sin embargo, el contenido de lignina es mucho menor (Wang y Liu, 2000). A pesar de ello, el salvado de maíz se considera una fuente óptima de fibra dietética (Hu *et al.*, 2008).

## LÍPIDOS

Diversas investigaciones demostraron que el contenido de lípidos del grano de maíz se ve poco afectado por factores ambientales y prácticas agronómicas como fecha de siembra, ubicación geográfica, temperaturas, precipitaciones, fertilización, entre otras. Los cambios observados en los lípidos de la semilla son fuertemente controlados por factores genéticos (Jellum *et al.*, 1973; Earle, 1977). Sin embargo, la posición en la mazorca influye en su contenido. Los granos ubicados en la parte media de la espiga se caracterizan por tener mayor porcentaje de aceite (White, 2003).

Los lípidos se concentran casi exclusivamente en las células de la porción del escutelo del germen (76 % – 83 %), seguido del pericarpio (1 % – 2 %), el *tip cap* (1 %), el almidón (1 % – 11 %) y la capa de aleurona (13 % – 15 %) (Tan y Morrison, 1979). El germen contiene alrededor del 39 % – 47 % de lípidos, y en su mayoría son triglicéridos, con algunos ésteres de esterol y diglicéridos, así como pequeñas cantidades de glucolípidos y fosfolípidos. Se organizan en forma de gotitas microscópicas de 1,31  $\mu\text{m}$  de diámetro, conocidas como cuerpos oleosos (Watson, 2003). El aceite de maíz es una excelente fuente de ácidos grasos poli-insaturados y es altamente estable dado a los elevados niveles de antioxidantes naturales y un bajo porcentaje de ácido linoleico (C18:3, < 1%) (conocido también como  $\omega 6$ ). Además posee cantidades reducidas de ácido linolénico ( $\omega 3$ ) y araquidónico, cuyos valores difieren entre

variedades que exhiben distintas composiciones. El aceite de maíz también se caracteriza por bajos niveles de ácido palmítico (C16:0, 13 %) en comparación con mijo perla (20 %), arroz (22 %), avena (20 %), centeno (18 %), cebada (22 %) y trigo (21 %) (Delcour y Hoseneey, 2010).

## VITAMINAS

El grano de maíz contiene dos vitaminas liposolubles, A ( $\beta$ -caroteno) y E, y la mayoría de las vitaminas hidrosolubles, como la tiamina (vitamina B<sub>1</sub>) y la piridoxina (vitamina B<sub>6</sub>). Sin embargo, es deficiente en ácido ascórbico (vitamina C) y cobalamina (vitamina B<sub>12</sub>) (Nuss y Tanumihardjo, 2010). La niacina (B<sub>3</sub>) está presente en niveles elevados en forma unida y, a menos que se procese adecuadamente, no está biológicamente disponible para los humanos. El procesamiento con calor y/o presión, puede hidrolizar la niacina y mejorar así su biodisponibilidad (Arendt y Emanuele, 2013).

Los carotenoides se encuentran principalmente en el maíz amarillo, en cantidades que varían entre 0,09  $\mu\text{g/g}$  y 72  $\mu\text{g/g}$  (White, 2003), y es un factor que puede controlarse genéticamente, mientras que el maíz blanco posee bajo contenido debido a su color. El  $\beta$ -caroteno y la  $\beta$ -criptoxantina son las pro-vitaminas A más abundantes en el maíz (Ortiz-Monasterio *et al.*, 2007). La mayoría de los caratenoides se concentran en el endospermo vítreo, y sólo pequeñas cantidades están presentes en el germen. Las condiciones de almacenamiento afectan fuertemente su contenido en los granos. A estas pérdidas se añaden las ocasionadas durante el proceso de molienda (Oliveira y Rodriguez-Amaya, 2007), por lo que en general la cantidad de carotenoides y vitaminas disminuyen al pasar de grano a harina y posteriormente de la harina al producto final.

La vitamina E, en forma de tocoferoles, es la vitamina liposoluble predominante que se encuentra en el maíz y su rango de concentración oscila entre 0,3 mg/100 g a 0,7 mg/100 g (White, 2003). Su síntesis está fuertemente sujeta al control genético y se encuentra casi exclusivamente en el germen. Los  $\alpha$ - y  $\gamma$ -tocoferoles son los únicos componentes de vitamina E que se encuentran en cantidades significativas (0,05 % y 0,009 % del aceite total, respectivamente) (Reiners y Gooding, 1970). Las vitaminas hidrosolubles se localizan principalmente en la capa de aleurona y en menor medida en el endosperma y el germen. El endospermo del grano contiene 80 % de la vitamina B<sub>3</sub>, seguido de 4 % en el pericarpio y 2 % en el germen. Los niveles de vitaminas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> y B<sub>3</sub> son variables entre cultivares (Loy y Wright, 2003).

## MINERALES

El contenido de minerales en maíz oscila entre 1,0 % y 1,3 %. Sólo el germen proporciona casi el 80 % de los minerales del grano, en comparación con menos del 1% del endospermo (Earle *et al.*, 1946). El fósforo (en forma de fitato) (0,29 %), K (0,37 %) y Mg (0,14 %) representan los minerales más abundantes, y proporcionan casi el 85 % del contenido mineral del grano (Watson, 2003). Como la mayoría de los cereales, el maíz es bajo en Ca (0,03 %) y Fe (30  $\mu\text{g/g}$ ). Su biodisponibilidad es retardada por el fitato presente en el germen (Bohn *et al.*, 2008), así también como la de minerales traza como Mn, Cu, Se y I (Mertz, 1970). Tanto los factores genéticos como ambientales tienen un fuerte impacto en los contenidos de Fe y Zn de los granos (Oikeh *et al.*, 2003). Aunque el ácido fítico es un elemento esencial durante la germinación, afecta negativamente la biodisponibilidad de minerales esenciales para la salud humana (Raboy, 2003) al quelar minerales de cationes multivalentes, como Ca, Fe y Zn. Los diferentes métodos de procesamiento de alimentos, como la molienda, remojo o cocción, pueden degradar o eliminar el ácido fítico en diferentes grados (Hurrell, 2004).

## COMPUESTOS ANTIOXIDANTES

Un antioxidante biológico es cualquier compuesto que, en concentraciones más bajas en comparación con la de un sustrato oxidable, es capaz de retrasar o prevenir la oxidación de dicho sustrato (Brewer, 2011; Godic *et al.*, 2014; Pisoschi y Pop, 2015). Las funciones antioxidantes implican la disminución del estrés oxidativo, la reducción de las mutaciones del ADN, el impedimento de transformaciones celulares perjudiciales, entre otros eventos de daño celular (Pisoschi y Pop, 2015). Los primeros tipos de sistemas de defensa antioxidante que actúan contra el daño oxidativo, son aquellos que bloquean o capturan los radicales libres formados por las reacciones de `especies reactivas de oxígeno´ (EROS) (Cheeseman y Slater, 1993). Otro importante sistema antioxidante de la célula consiste en procesos de reparación que eliminan las biomoléculas dañadas, antes que éstas alteren el metabolismo celular (Cheeseman y Slater, 1993).

### Estrés oxidativo

El oxígeno es un átomo altamente reactivo capaz de generar productos como resultado de su reacción con otras biomoléculas del cuerpo, llamados radicales libres. Estos compuestos son potencialmente perjudiciales, ya que pueden destruir células sanas del organismo haciendo que pierdan su estructura y funcionalidad (Pisoschi y Pop, 2015). Una progresión irreversible de la descomposición oxidativa provocada por EROS, contribuye al envejecimiento celular y al deterioro de las funciones fisiológicas (Maulik *et al.*, 2013), provocando afecciones neurodegenerativas (como el Parkinson, Alzheimer, enfermedad de Huntington y esclerosis lateral amiotrófica), declinación del sistema inmunológico, enfisemas, enfermedades cardiovasculares e inflamatorias, cataratas y distintos tipos de cáncer (Toda, 2011; Maulik *et al.*, 2013; Lopez-Alarcóna y Denicola, 2013; Pisoschi y Pop, 2015).

Los radicales libres son estructuras químicas que tienen un electrón desapareado en su órbita externa (Riley, 1994; Poljsak *et al.*, 2013), por lo que buscan electrones de otras sustancias para capturarlos y neutralizarse a sí mismos. Al ser neutralizados, pueden formar nuevos radicales libres durante el proceso, generando una reacción en cadena (Poljsak *et al.*, 2013). La generación de radicales libres puede controlarse de manera natural con antioxidantes. Por lo tanto, cuando la disponibilidad de antioxidantes es limitada, aumenta el daño u estrés oxidativo (Percival, 1998). El concepto de EROS abarca todas las moléculas que contienen oxígeno altamente reactivo, y los distintos tipos están representadas tanto por radicales libres y moléculas oxigenadas de radicales no-libres, como peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), radical anión superóxido ( $O_2^{\cdot -}$ ), radical hidroxilo ( $\cdot OH$ ) y oxígeno singlete ( $1/2 O_2$ ). También se encuentran especies reactivas de nitrógeno, hierro, cobre y azufre (Halliwell *et al.*, 1992; Riley, 1994).

Los radicales libres se generan en procesos aeróbicos como la respiración celular, la exposición a infecciones microbianas que involucran activación de fagocitos, durante la actividad física intensiva o ante la exposición a contaminantes o toxinas como el humo del cigarrillo, alcohol, radiaciones ionizantes y UV, pesticidas y ozono. Las EROS en bajas cantidades representan moléculas de señalización, que están implicadas en la regulación de la proliferación celular, la apoptosis (muerte celular programada por el mismo organismo) y la expresión génica al desencadenar factores de transcripción. Su generación por los fagocitos es esencial en el mecanismo de defensa contra diversas cepas de bacterias u hongos (Percival, 1998; Poljsak *et al.*, 2013).

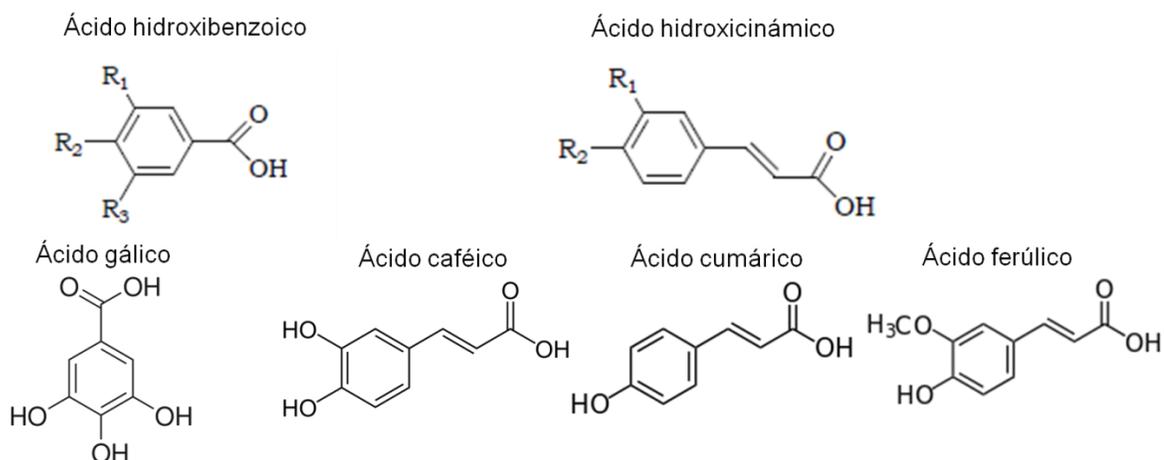
## **Clasificación de compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos presentes en vegetales son considerados actualmente la principal fuente de antioxidantes naturales incorporados mediante la dieta (Pisoschi y Pop, 2015). Los polifenoles están presentes en una amplia variedad de granos de oleaginosas y

cereales, hortalizas, hojas, tubérculos, raíces, frutos, especias, hierbas, té y bebidas como el vino (Adom y Liu, 2002; Chandrasekara *et al.*, 2012). Los compuestos fenólicos vegetales pueden dividirse principalmente en cuatro grupos: (I) ácidos fenólicos (derivados de ácido benzoico y cinámico); (II) flavonoides (quercetina, catequina); (III) derivados de estilbenos (resveratrol); y (IV) aceites volátiles (eugenol, carvacrol, timol y mentol) (Shan *et al.*, 2005; Pisoschi y Pop, 2015).

Los ácidos fenólicos son compuestos derivados de ácido benzoico y ácido cinámico. Se clasifican de acuerdo a éstos en ácidos hidroxibenzoicos (AHB) (como el ácido gálico) y ácidos hidroxicinámicos (AHC) (como el ácido caféico, cumárico y ferúlico), y la estructura química básica de cada uno de ellos es C6-C1 y C6-C3, respectivamente (Manach *et al.*, 2004) (Figura 1.11). Actúan generalmente como antioxidantes que capturan radicales libres (Matsuzoe *et al.*, 1999; Dias, 2012; Pisoschi y Pop, 2015). Estos compuestos tienen la capacidad de donar electrones, lo que estaría relacionado además con el retraso de la rancidez de los sustratos (Medina *et al.*, 2007).

Los flavonoides constituyen la familia más grande de compuestos polifenólicos y se clasifican en varias subclases como flavanoles (catequina y galato-catequina), flavanonas, flavonas (luteolina), antocianidinas y flavonoles (quercetina, miricetina, kaempferol) (Figura 1.12) (Cai *et al.*, 2004). Químicamente, son compuestos de bajo peso molecular que se encuentran en plantas vasculares. Estructuralmente, pueden ser considerados como fenilbenzopironas (fenilcromonas) compuestas de dos anillos bencénicos (anillos A y B) unidos mediante un anillo heterocíclico de pirano o pirona (anillo C) (Tenorio-López *et al.*, 2006) (Figura 1.12).

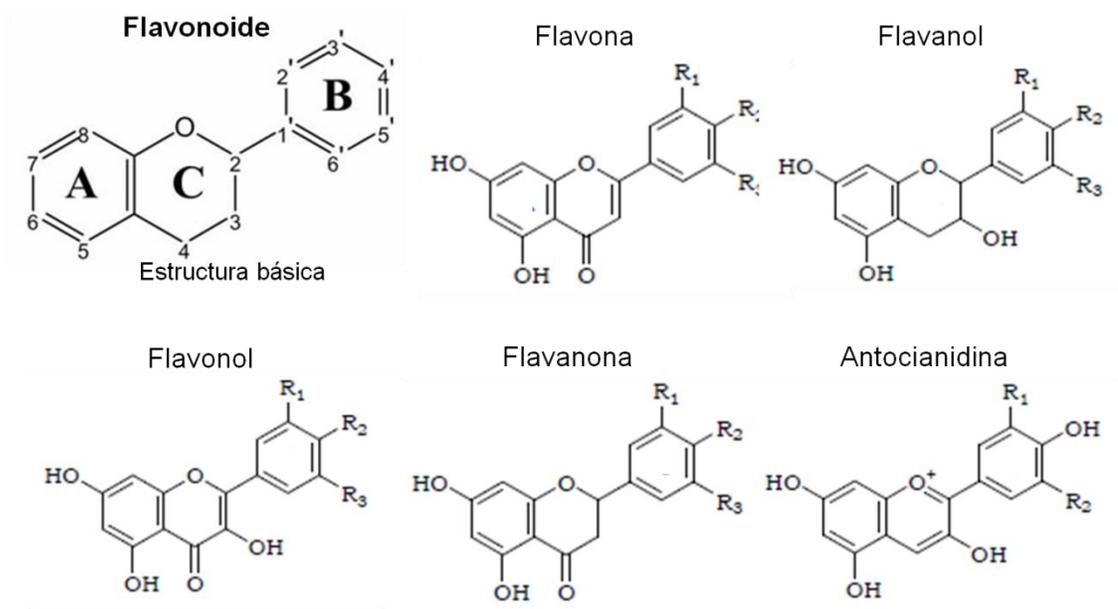


**Figura 1.11.** Estructura química de los ácidos fenólicos. Adaptado de Manach *et al.* (2004)

El potencial de los compuestos fenólicos para captar radicales libres, depende del número y posición relativa de los grupos -OH libres presentes en la molécula. Mientras mayor sea el número de -OH fenólicos, la capacidad de capturar radicales libres aumenta (Xia *et al.*, 2013). De igual manera, la fuerza de enlace del hidrógeno juega un papel importante en la actividad antioxidante. Los flavonoides, además, pueden actuar como agentes quelantes de metales de transición ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ), mediante la disposición espacial de sus grupos funcionales con átomos capaces de formar enlaces con los metales, haciéndolos menos oxidativos (Shan *et al.*, 2005).

Muchos flavonoides son pigmentos, y se localizan naturalmente en los cloroplastos de las células vegetales, desempeñando un papel fotoprotector frente al  $\text{O}_2^{\bullet -}$  (Brewer, 2011). Las antocianinas son glucósidos polihidroxi o polimetoxi derivados del catión flavilio. La hidrólisis de las mismas produce una aglicona, las antocianidinas (Figura 1.12). Cabe destacar que en las plantas, las antocianidinas no se acumulan como tal, sino en su forma glucosilada, es decir, unidas a algún azúcar y en cuyo caso se denominan antocianinas (Aguilera-Ortíz *et al.*, 2011). Tanto las antocianinas como las antocianidinas, presentan la misma coloración debido a la extrema movilidad de los electrones dentro de los dobles enlaces de la estructura molecular en

respuesta a la luz del espectro visible (400 a 700 nm). El color de las antocianinas depende de los sustituyentes químicos que contenga y la posición de los mismos en el grupo flavilio. Por ejemplo, si aumentan los hidroxilos del anillo fenólico, se intensifica el color azul, mientras que la introducción de metoxilos acrecienta el color rojo (Aguilera-Ortíz *et al.*, 2011). Estos pigmentos son bastantes solubles en agua, y el pH influye significativamente en su estabilidad. En condiciones ácidas, los grupos -OH pueden donar un H<sup>+</sup> a los lípidos y protegerlos de la oxidación (Gris *et al.*, 2011).



**Figura 1.12.** Estructura química de los flavonoides. Adaptado de Tenorio-López *et al.* (2006)

Los azúcares de las antocianidinas en algunos casos están acilados con grupos derivados del ácido acético o con algún ácido cinámico (*p*-cumárico, caféico, ferúlico o sináptico). La presencia de estos grupos acilo en la molécula de antocianidina le confiere mayor estabilidad ante condiciones extremas de pH y temperatura (Jing *et al.*, 2007; Aguilera-Ortíz *et al.*, 2011). Cuando en la molécula de antocianina se encuentran únicamente azúcares, se denominan no

aciladas. Si además de los azúcares, están presentes uno o varios radicales acilo, se catalogan también como aciladas (Salinas-Moreno *et al.*, 2010).

El resveratrol (trans-3,5,4'-tri-hidroxiestilbeno) se ha identificado como el mayor estilbeno activo dentro de las fitoalexinas. Se encuentra presente en los materiales biológicos como isómeros trans y cis, en un amplio rango de concentraciones (Careri *et al.*, 2003). Las fuentes vegetales más importantes están representadas por el hollejo de la uva y el vino tinto (Pisoschi y Pop, 2015). Este derivado de estilbeno atrapa especies reactivas de oxígeno, actúa como quelante de metales y modula la actividad enzimática (Harikumar y Aggarwal, 2008; Venturini *et al.*, 2010).

## **Compuestos fenólicos en maíz**

Los compuestos fenólicos en los granos de cereales pueden encontrarse en formas libres, conjugadas solubles y unidas insolubles. La mayoría se disponen en formas unidas a los componentes de la pared celular (Lloyd *et al.*, 2000; Bunzel *et al.*, 2001; Adom y Liu, 2002). En el maíz, aproximadamente el 70 % se presentan en formas unidas insolubles, y el ácido ferúlico representa el principal compuesto fenólico del grano (Adom y Liu, 2002). Diversos estudios (Andreasen *et al.*, 2001; Anselmi *et al.*, 2004; Trombino *et al.*, 2004) han demostrado los efectos antioxidantes y anticancerígenos del ácido ferúlico y *p*-cumárico.

Los granos de maíces pigmentados azules, morados y rojos son ricos en antocianinas, que se localizan principalmente en el pericarpio y en la capa de aleurona (Adom y Liu, 2002; Jing *et al.*, 2007; Ruíz-Torres *et al.*, 2008; Salinas-Moreno *et al.*, 2013). Varios estudios han asociado las propiedades antioxidantes y bioactivas de las antocianinas con efectos beneficiosos para la salud humana (Tsuda *et al.*, 2003; Fimognari *et al.*, 2004; Lopez-Martinez *et al.*, 2009; Aguilera-Ortíz *et al.*, 2011; Lao *et al.*, 2017). Dado que la mayoría de los compuestos fenólicos

se encuentran en las capas anatómicas más externas de las semillas, diversos autores recomendaron que el consumo de granos integrales contribuye a una dieta saludable (Adom y Liu, 2002; Pisoschi y Pop, 2015). Por otro lado, estudios recientes demostraron que el polen de maíz es una importante fuente de compuestos fenólicos, donde la quercetina diglucosilada representó el flavonoide más abundante en polen de genotipos de maíz blanco, amarillo, rojo, azul, marrón y dulce (Zilic *et al.*, 2014).

Seis tipos de antocianinas principales (cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido, peonidina-3-glucósido, cianidina-3-maloilglucósido, pelargonidina-3-maloilglucósido y peonidina-3-maloilglucósido) han sido reportadas en extractos comerciales de maíz morado y en granos de distintos genotipos (Pascual-Teresa *et al.*, 2002; Aoki *et al.*, 2002). Además, Aoki *et al.* (2002) encontraron cianidina-3-dimalonilglucósido, y González-Paramás *et al.* (2006) identificaron una (epi) catequina-cianidina-3,5-glucósido en colorante de maíz morado comercial. Las antocianinas aciladas se consideran generalmente mejores colorantes alimentarios por su mayor estabilidad durante el procesamiento y el almacenamiento, en relación al resto de las antocianinas no aciladas (Giusti y Wrolstad, 2003; Jing *et al.*, 2007; Mora-Rochín *et al.*, 2016).

El contenido de compuestos fenólicos puede verse perjudicado durante los tratamientos de elaboración de los alimentos (De Pascual-Teresa y Sanchez-Ballesta, 2008; Harakotr *et al.*, 2014). El procesamiento realizado a los granos previo a la cocción, como el pelado, cortado, molienda y tamizado, puede afectar el contenido de compuestos fenólicos y su capacidad antioxidante (Ioannou *et al.*, 2012). Las antocianinas se degradan fácilmente cuando se exponen al calor y a altas temperaturas, lo que afecta su estabilidad e influye en el color de los pigmentos y sus propiedades bioactivas (Xu y Chang, 2008; Ioannou *et al.*, 2012; Harakotr *et al.*, 2014). La degradación comienza con la ruptura del anillo central, seguida de la hidrólisis del resto de la estructura molecular, generando productos incoloros. Harakotr *et al.* (2014) obtuvieron una

mayor pérdida tanto de antocianinas como de polifenoles totales luego de un tratamiento de ebullición en comparación a la cocción al vapor en maíz morado. No obstante, los tratamientos realizados sobre mazorcas enteras mostraron una mayor retención de las antocianinas en relación a los granos, debido probablemente a que la separación de los granos de la mazorca produce una ruptura del pericarpio, derivando en un aumento de la superficie de exposición, así como una mayor migración del agua de cocción (Ioannou *et al.*, 2012). El agua pigmentada resultante de la cocción representa un co-producto potencialmente valioso, que puede ser aprovechado para la preparación de bebidas, o utilizado como mezcla en la elaboración de otros alimentos (Aoki *et al.*, 2002). A pesar de ello, otros reportes indicaron que el tratamiento térmico no siempre resulta en la destrucción de los compuestos bioactivos. La cocción en algunos casos puede inducir la formación de nuevos compuestos y mejorar las propiedades antioxidantes (Xu y Chang, 2008). Dewanto *et al.* (2002) demostraron que la cocción provocó un aumento en el nivel de compuestos fenólicos en maíz dulce.

Durante la elaboración de tortillas a partir de granos de maíces pigmentados, las condiciones de altas temperaturas y alcalinidad durante el proceso de nixtamalización, representan los principales factores que afectan la concentración de polifenoles y antocianinas originalmente presentes en los granos (Mora-Rochín *et al.*, 2016). El tratamiento térmico con cal hace que estos compuestos sean más inestables y susceptibles a la degradación (Sánchez-Madrugal *et al.*, 2015; Mora-Rochín *et al.*, 2016). Sin embargo, Del Pozo-Insfran *et al.* (2006) indicaron que un tratamiento de acidificación post-nixtamalización podría reducir las pérdidas de los polifenoles en contraste con los efectos negativos de la cocción con cal. La acidificación podría incorporarse al procesamiento de la tortilla para una mayor retención de los compuestos fenólicos en los productos procesados con maíces pigmentados.

Diversos estudios realizados en productos panificados, indicaron que la adición de ácido cítrico en la formulación de la masa de galletas de maíz morado, permite incrementar el contenido de compuestos fenólicos debido principalmente a una mayor estabilización de las

antocianinas (Li *et al.*, 2011; Zilic *et al.*, 2016). El ácido cítrico disminuye el pH y permite la acilación de sus residuos de azúcar o del catión flavilio (Zilic *et al.*, 2016). Por otro lado, en comparación con la harina cruda, el contenido de ácido ferúlico y *p*-cumárico se incrementa en las galletas luego del horneado a 200 °C, debido a que la cocción afecta la solubilidad de las formas unidas de los ácidos fenólicos (Zilic *et al.*, 2016).

## **MAÍCES ESPECIALES**

Las características particulares de las distintas variedades de maíz, permiten que este cereal tenga diversos destinos finales, y su calidad de uso está determinada principalmente por la estructura y composición del grano (Robutti, 2010). De allí surge el término Maíces Especiales, pues poseen una propiedad o atributo particular que hacen que tengan un destino diferencial, lo que le otorga mayor valor agregado.

De acuerdo a la composición y a la distribución de sus componentes, existen distintos tipos de granos, con diferentes formas, tamaños, colores, texturas y adaptación a diferentes ambientes, constituyendo numerosas variedades tradicionales que actualmente son cultivadas. Desde el punto de vista comercial, es utilizado sólo un reducido número de tipos, diferenciándose principalmente por la dureza del grano. Nuestro país lidera algunos de estos mercados a nivel mundial, y a nivel local aumentan la competitividad de las industrias que los requieren como materia prima. Actualmente, algunos de los maíces especiales que adquieren mayor importancia en Argentina son los maíces colorados (Flint), el pisingallo y los maíces de alto valor (MAV) (Tabla 1.2). Estos distintos tipos de maíces difieren en requerimientos para su producción, rendimiento, precio de venta como grano (*commodity*) y precio como productos transformados y procesados (Gear, 2010).

**Tabla 1.2.** Principales maíces especiales producidos en Argentina

Tipo		Raza/endosperma	Industria/usos
<b>Duros o Flint (incluye maíz Plata)</b>		Cristalino Colorado	Molienda seca (polenta, cereales, alimento para animales)
<b>Pisingallo o Tipos reventadores</b>		Endospermo vítreo, muy duro	Palomitas de maíz ( <i>popcorn</i> )
<b>Dentados</b>		Se destaca la raza Dentado Amarillo entre los maíces nativos	Molienda húmeda (alcohol, almidones, jarabes de fructosa, entre otros)
<b>Harinosos</b>		Se destacan en la zona de altura del NOA las razas Capias, y en zonas bajas del NOA y NEA, la Abatí Morotí	Consumo fresco (choclo), elaboración de diversas comidas tradicionales basadas en harina de maíz
<b>Maíces de Alto Valor (MAV)</b>		Asociación varietal que produce mayor contenido de aceite y proteína en el grano.	Industria avícola y porcina

Fuente: Adaptado de Gear (2010)

## MAÍZ *OPACO-2*

Durante la década de 1960 y 1970, fueron identificadas varias mutaciones naturales de genes de maíz que confieren mayores niveles de lisina y triptófano, como *opaco-2 (o2)*, *fluory-2 (fl2)*, *opaco-7 (o7)*, *opaco-6 (o6)* y *fluory-3 (fl3)*. El maíz *opaco-2* posee el gen mutante recesivo (*o2*) (Mertz *et al.*, 1964), que limita la síntesis de zeína y aumenta el contenido de las otras fracciones proteicas. Las albúminas y las globulinas tienen altos niveles de lisina, mientras que las glutelinas poseen valores intermedios (Motto *et al.*, 1996). La disminución en la síntesis de zeínas podría estar relacionada con la baja capacidad de los cuerpos proteicos para

almacenarlas, lo que podría promover la síntesis de no-zeínas como un efecto compensatorio (Landry *et al.*, 2005), pero también podría resultar del cese de la síntesis de proteínas, como fue sugerido por Habben *et al.* (1993). Como resultado, se genera una matriz proteica más delgada con diferente distribución de aminoácidos, lo que se traduce en la duplicación del contenido de lisina y triptófano (Gibbon y Larkins, 2005; Landry *et al.*, 2005). Consecuentemente, la expresión de este gen permite que el valor nutricional de este maíz sea superior al maíz normal (Ortega *et al.*, 2001).

El descubrimiento del maíz *opaco-2* ha despertado gran interés en la ciencia debido a la necesidad de mejorar la nutrición en regiones donde este cultivo representa una de las principales fuentes de alimento, sobre todo en países en vías de desarrollo. Esta característica altamente beneficiosa, resultó estar asociada con varios rasgos fenotípicos de los granos desfavorables agronómicamente. Los granos *o2* son, en mayor medida, de endosperma blando, y por lo tanto, susceptibles a plagas y enfermedades, principalmente durante el almacenamiento (Vivek *et al.*, 2008). Uno de los centros de investigación destacados en los avances del mejoramiento en estos genotipos es el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), México, que ha logrado significativos progresos en la selección de líneas *o2* con mayores contenidos de lisina y con una mayor dureza endospermática, lo que resultó de la supresión del fenotipo de granos almidonosos o blandos mediante genes modificadores del endosperma (*mo*) (Prasanna *et al.*, 2001). El nuevo maíz *opaco-2* de características mejoradas fue denominado QPM (maíz de alta calidad proteica), y los avances logrados en el desarrollo de nuevas variedades han sido relevantes desde entonces (Vasal, 2000; Li y Vasal, 2004; Vivek *et al.*, 2008; Gunaratna *et al.*, 2010; Arendt y Emanuele, 2013). Las variedades QPM se están diseminando actualmente en los países en desarrollo, particularmente en América y África (Krivanek *et al.*, 2007; Rojas-Molina *et al.*, 2008; Gunaratna *et al.*, 2010). En el continente americano, el consumo de maíz *opaco-2* y QPM es muy difundido en México, América Central y sur de Estados Unidos, principalmente bajo la forma de tortillas y productos nixtamalizados (Rojas-Molina *et al.*, 2008).

Estudios recientes demostraron que los hidrolizados de proteína de maíz QPM presentaron alta capacidad antioxidante, y fue mayor que en los aislados proteicos de híbridos regulares. La actividad antioxidante de proteínas y péptidos aislados a partir de granos enteros de maíz no sólo depende de la concentración, sino de la composición diferencial de las fracciones proteicas y sus perfiles de aminoácidos (Ortiz-Martinez *et al.*, 2017).

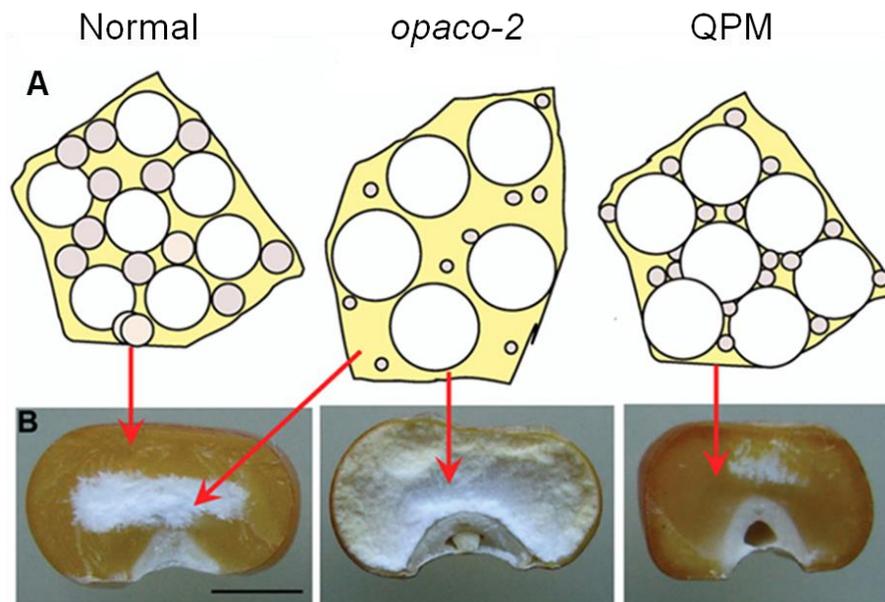
### ***Background* genético y metabolismo del maíz *opaco-2* y QPM**

El gen *O2* codifica un activador transcripcional que regula la expresión de  $\alpha$ -zeínas de 22 kDa y de  $\beta$ -zeínas de 14 kDa, así como otros genes no responsables directamente en la síntesis de zeína, incluidas las enzimas que intervienen en la biosíntesis de aminoácidos y carbohidratos (Habben *et al.*, 1993; Hunter *et al.*, 2002; Azevedo *et al.*, 2003). Casi todos los mutantes *o2* caracterizados hasta ahora tienen una proteína *O2* modificada, que altera la acumulación de zeína y el metabolismo del endospermo. Estos grandes efectos pleiotrópicos pueden estar implicados en las relaciones particulares entre las zeínas y las proteínas verdaderas, en comparación con otros mutantes. El factor de transcripción *opaco-2* se une específicamente a una secuencia de ADN de 8 a 10 nucleótidos localizada por encima del promotor del gen de  $\alpha$ -zeína de 22 kDa, y controla la expresión de la familia de genes de las  $\alpha$ -zeínas (Schmidt *et al.*, 1992). Los genes que codifican las otras zeínas no poseen los sitios de unión *opaco-2* en sus promotores y, por lo tanto, no están bajo el control regulador de este factor de transcripción. Esto explica, al menos en parte, la causa por la cual las otras clases de zeína no se ven afectadas en el mutante *o2* (Azevedo y Arruda, 2010).

En el caso de las líneas QPM, el menor contenido de  $\alpha$ -zeínas de 22 kDa (en comparación con los mutantes *opaco-2*) está acompañado por aumentos en las  $\gamma$ -zeínas de 27 kDa (Geetha *et al.*, 1991; Lopes y Larkins, 1991; Prasanna *et al.*, 2001; Shewry, 2007), y se ha sugerido que

este tipo de zeínas son las principales contribuyentes a la modificación del fenotipo de grano blando o almidonoso, incrementando el número de cuerpos proteicos (Holding y Larkins, 2009) y formando una red reticulada alrededor de los gránulos de almidón (Dannenhoffer *et al.*, 1995; Shewry, 2007). La mayor acumulación de  $\gamma$ -zeínas de 27 kDa y otras proteínas de almacenamiento en líneas QPM, producen modificaciones en las vías enzimáticas de la síntesis del almidón (Azevedo y Arruda, 2010), resultando en un almidón menos cristalino, con mayor contenido de amilosa y una mayor proporción de cadenas cortas e intermedias de amilopectina. Esta estructura puede favorecer el empaquetamiento de los gránulos y su asociación con las proteínas del endospermo, dando lugar a un fenotipo vítreo comprimido (Salazar-Salas *et al.*, 2014) (Figura 1.13). La variación respecto a la modificación del endosperma también podría surgir por varios loci modificadores menores, aunque no existen claras evidencias del número y los posibles efectos de tales loci (Prasanna *et al.*, 2001). Otros estudios indicaron que la obtención de genotipos QPM mediante mejoramiento convencional, basado en los niveles de lisina y las características de endosperma duro, no conservan algunas albúminas y globulinas específicas originalmente presentes en mutantes *o2* (Yau *et al.*, 1999).

Los incrementos compensatorios en otras fracciones nitrogenadas que se producen en varios mutantes de alta lisina incluyen aumentos en el contenido de aminoácidos libres, es decir, que no forman parte de proteínas. Los aminoácidos libres usualmente conforman bajas proporciones del total de aminoácidos en el grano, y sólo aumentan por encima de estos niveles si la semilla está limitada en su capacidad para sintetizar proteínas (por ejemplo, por factores ambientales), o en mutantes *o2*. Los bajos niveles de aminoácidos libres se mantienen mediante redes reguladoras complejas en las cuales, los productos finales de las vías metabólicas inhiben las enzimas que controlan los pasos clave en su biosíntesis (Shewry, 2007).



**Figura 1.13.** Estructura del endosperma de genotipos de maíz normal, *opaco-2* y QPM. A: Representación esquemática de la disposición de los gránulos de almidón y cuerpos proteicos de zeínas. B: Cortes transversales de los granos maduros indicando la proporción de endosperma vítreo y harinoso según el tipo de grano. Adaptado de Holding (2014)

El efecto de los genes *o1*, *o2*, *fl1* y *fl2* ha establecido claramente alteraciones específicas en el metabolismo de la lisina, la acumulación de aminoácidos y la distribución de las proteínas de almacenamiento en los granos de maíz (Azevedo *et al.*, 2003). Algunos estudios han revelado importantes aspectos regulatorios que involucran enzimas tales como la aspartato quinasa (AK), la lisina cetoglutarato reductasa (LKR) y la sacaropina deshidrogenasa (SDH) que participan en la síntesis y acumulación de lisina. Aunque no se producen alteraciones muy significativas en la actividad total de la dihidrodipicolinato sintasa (DHDPS) entre los mutantes, esta enzima juega un rol clave en la regulación de la ruta de aspartato que controla la síntesis de lisina, y más importante aún, que los genes mutantes pueden afectar a otras enzimas involucradas en la regulación de la ruta de aspartato, pero no DHDPS (Varisi *et al.*, 2007). Las modificaciones en las rutas metabólicas de la lisina en maíz han permitido la obtención de líneas comerciales QPM transgénicas (Azevedo y Arruda, 2010).

## MAÍZ MORADO

El maíz morado es una variedad cuyos granos de tipo amiláceo poseen un color morado oscuro e intenso, y se cultiva principalmente en la zona andina de Perú y Bolivia, y en algunas zonas del norte argentino (Escribano-Bailón *et al.*, 2004). Existen ecotipos en otros países de América debido a su adaptación y evolución durante miles de años, y a la influencia de factores climáticos y edáficos que favorecen la biogénesis de los metabolitos típicos de este maíz (Huamán-Alvino, 2008). Se caracteriza por ser un maíz de altura, cuyas principales zonas de producción se ubican en la Cordillera de los Andes entre los 500 a 1200-4000 metros sobre el nivel del mar (Tapia y Fries, 2007).

El maíz morado contiene alto contenido de antocianinas y compuestos fenólicos, que son fitoquímicos del metabolismo secundario de la planta. Aunque estos compuestos se consideran no-nutrientes, su interés radica en sus propiedades antioxidantes y bioactivas (Setchell y Aedin, 1999; Adom y Liu, 2002; Lopez-Martinez *et al.*, 2009; Aguilera-Ortíz *et al.*, 2011). Las propiedades beneficiosas para la salud de estos metabolitos vegetales se han relacionado no sólo con una alta actividad antioxidante y antiradicalaria (Cevallos-Casals y Cisneros-Zevallos, 2003; Del Pozo-Insfran *et al.*, 2006; Jing *et al.*, 2007), sino también con otras propiedades biológicas como actividad antimutagénica o estrogénica (Aoki *et al.*, 2004), inhibición e inducción de enzimas como la glutatión transferasa y la quinona reductasa, propiedades antiinflamatorias, hipoglucemiantes y antihipertensivas (Tsuda *et al.*, 2003; Toyoshi y Kohda, 2004; Lao *et al.*, 2017).

Las antocianinas están presentes en diferentes partes de la planta, como el tallo, vainas, hojas e inflorescencias, donde se localizan en las células epidérmicas, y se cree que ejercen una función protectora contra la radiación UV (Stapleton y Walbot, 1994). En la mazorca, se encuentran en el marlo o coronta, en la cáscara (chala) y en los granos. En la semilla, se

concentran principalmente en la capa de aleurona y en el pericarpio (Ruíz-Torres *et al.*, 2008; Salinas-Moreno *et al.*, 2013). Existe una gran variabilidad en cuanto al contenido total de antocianinas presentes en los granos, y se ha demostrado que maíces de distintos fenotipos exhiben grandes diferencias en sus perfiles y propiedades antioxidantes (Lopez-Martinez *et al.*, 2009). De hecho, el maíz morado es considerado una fuente importante en la obtención de extractos antociánicos debido a los altos contenidos mostrados por algunas variedades (Escribano-Bailón *et al.*, 2004).

Las antocianinas tienen efectos muy importantes en la bioquímica y fisiología de las plantas, ya que actúan como antioxidantes, inhibidores enzimáticos, precursores de sustancias tóxicas, así como en la formación de pigmentos y filtros solares (Smith y Banks, 1986). También están involucradas en mecanismos de fotosensibilización y de transferencia de energía, regulando así las reacciones de crecimiento, control de la respiración, fotosíntesis, morfogénesis, determinación sexual y la defensa contra infecciones (Tenorio-López *et al.*, 2006). Como dan color a diferentes partes de las plantas, juegan un importante rol en los mecanismos reproductivos, ya que las pigmentaciones en inflorescencias permiten atraer a los polinizadores y facilitar la diseminación del polen (Escribano-Bailón *et al.*, 2004).

Las principales antocianinas presentes en el maíz morado son la cianidina-3-glucósido y la pelargonidina-3-glucósido (Abdel-Aal *et al.*, 2006; Mora-Rochín *et al.*, 2016; Zilic *et al.*, 2016). Algunos estudios informaron que podrían estar implicadas en la resistencia a diversos patógenos (Wiseman y Snook, 1995; Norton, 1999; Escribano-Bailón *et al.*, 2004). Norton (1999) reportó que las formas glucosiladas como las agliconas, mostraron una alta actividad inhibidora en la producción de afltoxinas generadas por *Aspergillus flavus*, lo que indicaría que los genotipos con altos contenidos de antocianinas podrían presentar mayor resistencia al patógeno.

Diversas investigaciones han evaluado diferentes variedades de maíz morado en una gran cantidad de ambientes, y demostraron una alta sensibilidad a condiciones ambientales desfavorables, determinadas principalmente por efectos de sequía y temperaturas que se manifiestan en altitudes distintas a aquéllas de donde son originarias dichas variedades (Arellano-Vázquez *et al.*, 2003; Antonio-Miguel *et al.*, 2004; Salinas-Moreno *et al.*, 2012, 2013). Esto representa como requisito fundamental la evaluación de genotipos en distintos ambientes, con el fin de detectar variedades con adaptabilidad y alto potencial de rendimiento en condiciones ambientales adversas, como base para iniciar su mejoramiento genético (Arellano-Vázquez *et al.*, 2003).

## **IMPORTANCIA DEL DESARROLLO DE NUEVAS VARIETADES MEJORADAS EN CALIDAD NUTRICIONAL**

La evolución de los paradigmas alimentarios en la actualidad está registrando una demanda de productos más saludables, nutritivos y con menor utilización de aditivos-fortificantes (Corcuera *et al.*, 2016). Los atributos del maíz *opaco-2* y del maíz morado lo convierten en potenciales fuentes de materias primas de maíces especiales para su uso como alimentos con características nutricionales beneficiosas para la alimentación humana. En este sentido, el mejoramiento genético juega un rol clave en la introducción, adaptación, selección y recombinación de germoplasma para ser utilizado por los productores locales. Del mismo modo, el desarrollo de variedades de polinización libre representa una ventaja para el pequeño y mediano productor en comparación al paradigma productivo de los híbridos tradicionales. Las variedades favorecerían a los sistemas de producción agrícola, relacionado directamente al menor costo que implica la posibilidad de obtención de semilla propia durante varios ciclos de producción. Además, su variabilidad genética permite la fácil adaptación del germoplasma a las condiciones ambientales en que son desarrolladas, pues las características climáticas y edáficas

propias de la zona de experimentación, evaluación y producción, genera una respuesta adaptativa diferencial en la performance de los materiales introducidos.

Por otro lado, es necesario el estudio de las relaciones entre los rasgos agronómicos y los de calidad nutricional de los granos, para ser eficientes en la selección y mejora de este tipo de variedades. Algunos autores señalaron que las correlaciones fenotípicas entre caracteres pueden tener una precisión limitada debido al efecto ambiental y al desconocimiento de los mecanismos genéticos que las controlan (Camussi *et al.*, 1983). Otros sugieren que los caracteres morfológicos deberían ser estudiados para identificar aquellos que estén altamente correlacionados, los cuales además de tener una alta repetibilidad, podrían contribuir a una estimación de las asociaciones entre los rasgos de una población (Smith y Smith, 1989). Por ello, es importante conocer las correlaciones fenotípicas entre las características dentro una misma población, de manera tal que brinden un panorama de sus asociaciones entre sí, permitiendo de esta manera dilucidar cuándo seleccionar sobre un carácter, y en cuáles otros se está influyendo de manera indirecta (Martínez *et al.*, 2010). En este sentido, los rasgos de calidad nutricional son indispensables en la selección.

El mejoramiento genético mediante la selección de genotipos con mejores características de calidad nutricional y la transferencia a la comunidad, contribuye a la diversificación en la producción de alimentos en cantidad y calidad, permitiendo cubrir las necesidades nutricionales básicas de las personas y al mismo tiempo, aumentar los beneficios económicos de las familias rurales y urbanas. Reconocer la interrelación entre la mejora genética con la agricultura, alimentación, nutrición y desarrollo se transforma en un promotor de la seguridad alimentaria y nutricional de la comunidad (Nazar *et al.*, 2014).

## **HIPÓTESIS**

La calidad nutricional de los distintos tipos de maíz depende del contenido y calidad del almidón, proteínas y compuestos bioactivos presentes en el grano. La caracterización fisico-química de los maíces especiales y el comportamiento de estos componentes durante el procesamiento, permiten seleccionar los genotipos más aptos para la elaboración de alimentos de alto valor nutricional.

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el valor nutricional de maíces especiales a partir de su composición química, a fin de seleccionarlos para calidad agroalimentaria.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Estudiar la composición química de las harinas de maíces *opaco-2*, morado y pisingallo.
2. Determinar las características y propiedades del almidón a partir de las harinas.
3. Estudiar la composición proteica de la harina de los maíces en estudio.
4. Determinar el contenido de aminoácidos esenciales (lisina) de las harinas.
5. Determinar el contenido de polifenoles, antocianinas y su capacidad antioxidante a partir de las harinas.
6. Analizar el efecto del calentamiento sobre la digestibilidad de las proteínas y la gelatinización del almidón a partir de las harinas.

## CAPÍTULO 2

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### METODOLOGÍA A CAMPO

#### MATERIAL GENÉTICO

##### **Maíz *opaco-2***

El material genético de partida utilizado fue una población proveniente de la colección de germoplasma de maíz *opaco-2* cedida por el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), México (POro2). En diciembre de 2011, se realizó una siembra de adaptación de dicho material en un lote de aproximadamente 100 m<sup>2</sup> sin repeticiones, en el Campo Experimental de la Facultad Ciencias Agropecuarias (FCA) de la Universidad Nacional de Córdoba (UNC) (31°28'49,42'' S y 64°00'36,04'' O). Durante el ciclo 2011/12, se seleccionaron a campo 60 plantas al azar (intensidad de selección alrededor del 20 %), con buenas características agronómicas y sanitarias, sin tener en cuenta la bordura del lote, cuyas mazorcas principales fueron cosechadas manualmente (con una humedad de grano alrededor de 16 %) e identificadas en forma individual. En la etapa de floración, las plantas se dejaron polinizar libremente utilizando como probador la misma población parental, por lo que la selección se realizó sólo sobre el progenitor femenino. Por lo tanto, las espigas elegidas de esta manera corresponden a familias de medios hermanos. El rendimiento medio del ciclo 2011/12, fue estimado con todas las mazorcas seleccionadas ese mismo año (M12) (Figura 2.4).

Para la evaluación de la composición química, de las 60 mazorcas seleccionadas, se tomaron las 12 de mayor tamaño con el propósito de disponer de buena cantidad de granos para su análisis individual a laboratorio (Figura 2.1 A), y contar con semillas para la obtención de sus progenies. Posteriormente, esas 12 mazorcas elegidas fueron individualmente trilladas, y de cada una se seleccionaron sólo los granos opacos de acuerdo a Vivek *et al.* (2008). Mediante esta metodología, se utilizó una mesa con luz de fondo (Figura 2.3) para distinguir los granos que poseen el gen *o2* en estado homocigota recesivo (*o2o2*), tomando el grado de opacidad como una medida indirecta o secundaria de estos genotipos. El análisis de los granos enteros seleccionados mediante luz ha sido efectivo para el mejoramiento de la proteína de germoplasma QPM, además de ser un método menos costoso (Pixley y Bjarnason, 1993). Aproximadamente una reserva de esos granos opacos de cada mazorca (alrededor de 200, según la cantidad de semillas por espiga), fueron almacenados a -18 °C hasta el momento de la siembra, y el resto fueron destinados a molienda para ser analizados en laboratorio (cosecha 2012) (Figura 2.4).

### **Maíz morado**

El germoplasma de partida en maíz morado, fueron semillas provenientes del inter-cruzamiento durante el ciclo 2010/11 de una mezcla de materiales introducidos del CIMMYT (México), semillas no identificadas de origen peruano, granos obtenidos en el Mercado Norte de la ciudad de Córdoba, y una variedad denominada Arequipeño, cedida por ACA Semillas. La cosecha de ese año se realizó en forma masal, cuyas semillas conformaron la población original (POrmo). En enero de 2012 (ciclo 2011/12), se realizó una nueva siembra de adaptación de ese material en un lote sin repeticiones de aproximadamente 100 m<sup>2</sup> en el Campo Experimental de la Facultad Ciencias Agropecuarias, UNC. En junio de ese año, se seleccionaron al azar 50 plantas con buenas características agronómicas y sanitarias, cuyas mazorcas fueron cosechadas manualmente e identificadas, a partir de las cuales se estimó el rendimiento medio de ese ciclo (M12) (Figura 2.5). Al igual que en maíz *opaco-2*, la

polinización se realizó libremente con la misma población parental, conformando de este modo familias de medios hermanos. De todas las mazorcas seleccionadas, se eligieron las 12 de mayor tamaño (Figura 2.1 B), y se trillaron en forma individual. En este caso, el volumen de semillas obtenido de cada espiga no fue suficiente para destinar granos a molienda y ser analizados en laboratorio, por lo que fueron almacenados a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  para ser sembrados al ciclo siguiente y aumentar el volumen de semillas de cada familia (Figura 2.5).



**Figura 2.1.** Mazorca de maíz *opaco-2* (A) y de maíz morado (B). Fotografía tomada en el Campo Escuela de la FCA, UNC

### **Obtención de progenies individuales de medios hermanos**

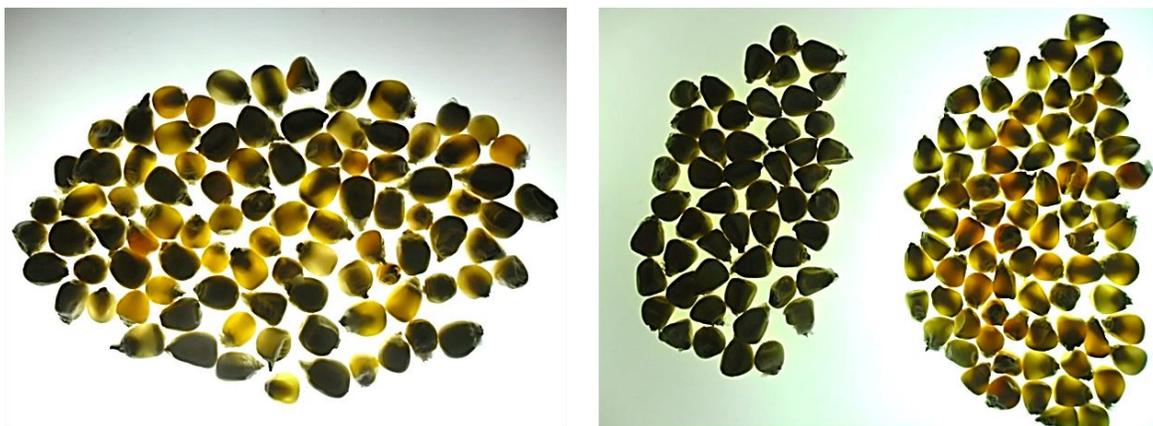
Las semillas reservadas de cada mazorca seleccionada (12 familias de maíz *opaco-2* y 12 de maíz morado), fueron sembradas manualmente durante el ciclo 2012/13 (aproximadamente 80) para obtener sus descendencias individuales y realizar una prueba de progenies, bajo un diseño en bloques completos al azar con tres repeticiones (Figura 2.4 y Figura 2.5). Cada bloque (o repetición) estuvo conformado por dos parcelas experimentales contiguas, formadas por 13 surcos cada una. Cada parcela fue sembrada con las semillas de cada familia (maíz *opaco-2* y maíz morado), dispuestas en surcos individuales (surco/progenie) de 5 m de

longitud, a una distancia de 0,70 m entre sí y una densidad de siembra de 5 plantas por metro lineal (Figura 2.2). Los surcos de ambos lados del lote fueron sembrados con los testigos de maíz blanco y pisingallo para evitar el efecto de la bordura, y se dejó un surco sin sembrar entre ambas parcelas experimentales.



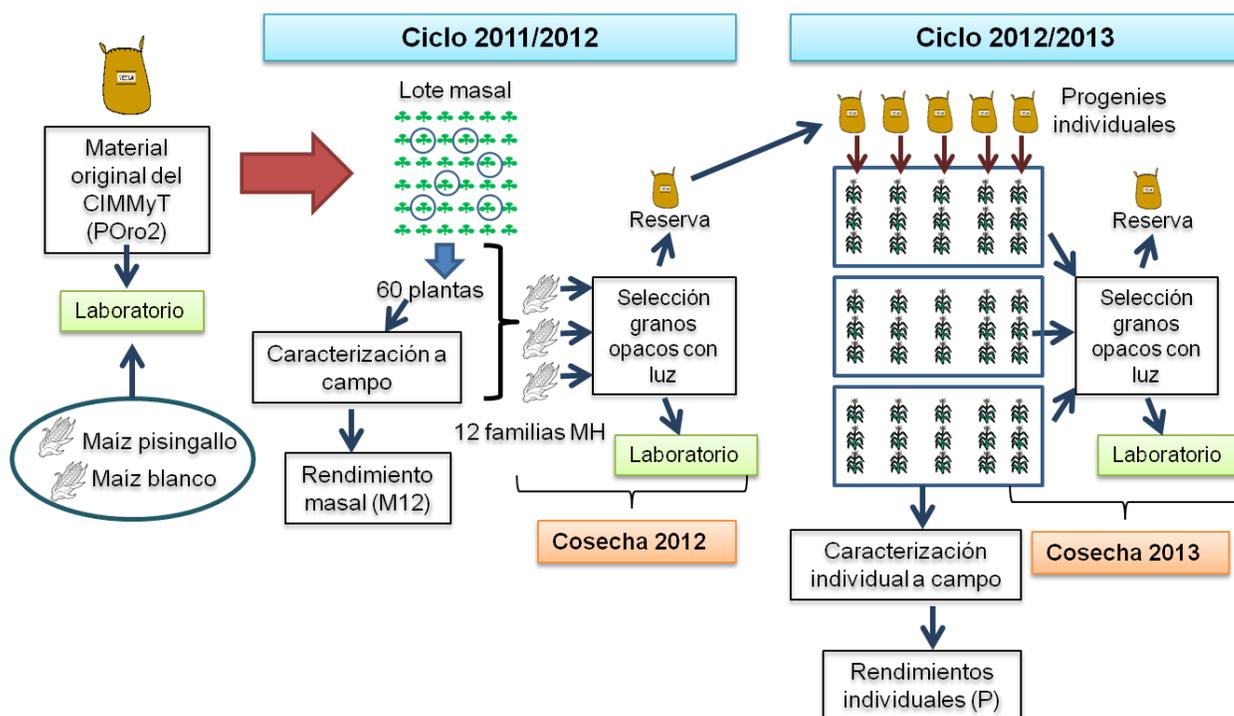
**Figura 2.2.** Siembra de progenies de maíz *opaco-2* (A) y morado (B) en surcos individuales. Fotografía tomada en el Campo Escuela de la FCA, UNC

La siembra de las progenies se realizó con 10 días de diferencia entre variedades. Por lo tanto, las progenies de maíz *opaco-2* fueron sembradas el 27 de diciembre de 2012, y las de maíz morado el 6 de enero de 2013. Durante el ciclo del cultivo, se individualizaron plantas de cada surco de maíz *opaco-2* para ser caracterizadas agronómicamente (Figura 2.4), y al momento de la cosecha (10 de junio de 2013), se seleccionaron las mejores plantas dentro de cada surco (selección dentro de progenies) de cada repetición (sin tener en cuenta plantas de la bordura), y las mazorcas cosechadas fueron mezcladas y colocadas en una bolsa, manteniendo la individualidad de cada surco/progenie.



**Figura 2.3.** Selección de granos opacos mediante una mesa con luz de fondo. Fotografía tomada en el Laboratorio de Química Biológica de la FCA, UNC

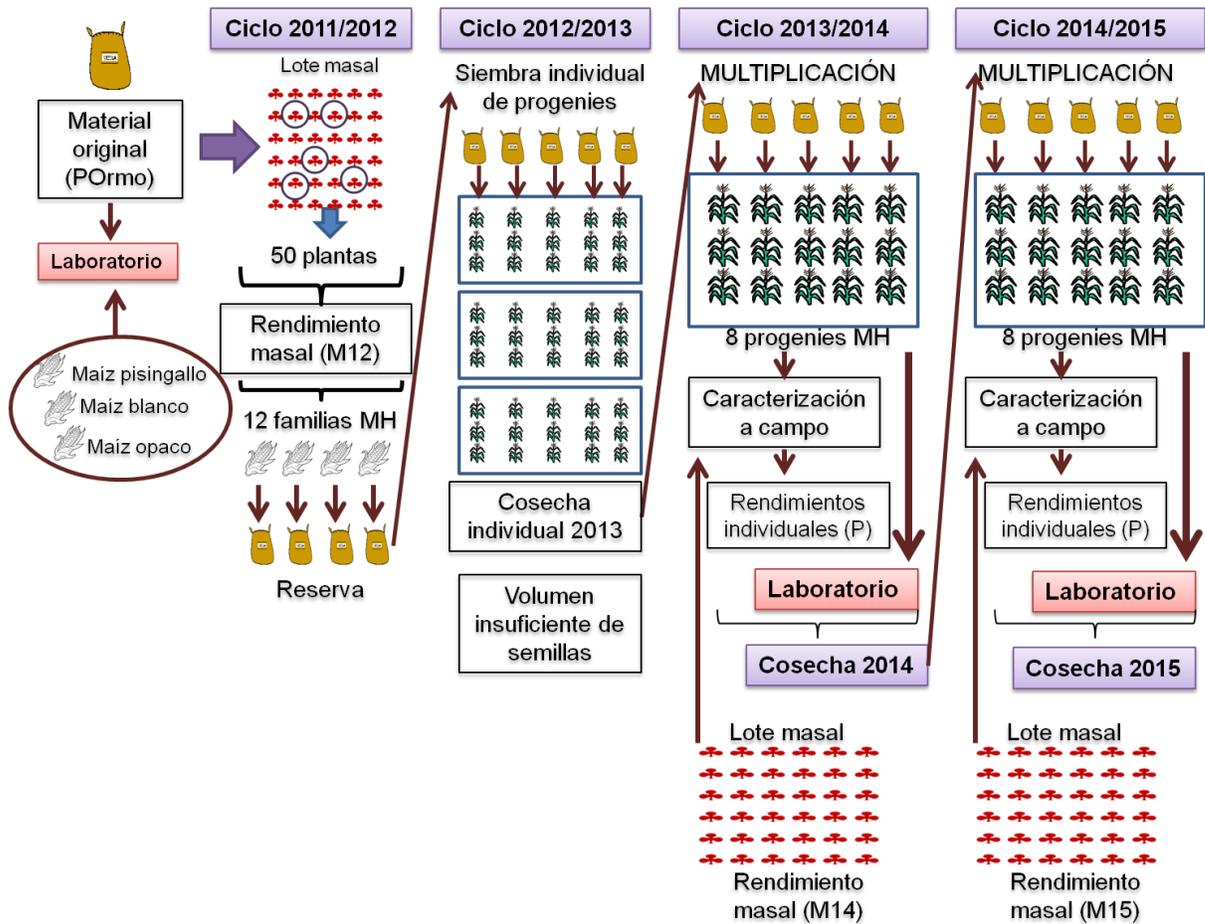
En maíz *opaco-2*, las mazorcas cosechadas fueron trilladas y los granos de cada progenie fueron seleccionados por su opacidad mediante la mesa con luz de fondo (Figura 2.3), como fue descrito anteriormente (Vivek *et al.*, 2008). Luego se almacenaron en condiciones refrigeradas hasta ser analizadas en laboratorio (cosecha 2013) (Figura 2.4). En el caso del maíz morado, no se obtuvo suficiente volumen de granos a cosecha, por lo que fue necesario multiplicar las progenies durante dos ciclos posteriores (2013/14 y 2014/15) con el fin de disponer de suficiente volumen para la caracterización a campo y el análisis en laboratorio (Figura 2.5). Por lo tanto, en cada ciclo de maíz morado se realizó una siembra manual durante la primera semana de enero (3 de enero de 2014 y 6 de enero de 2015) en un sólo bloque, y no se pudieron realizar repeticiones debido al poco volumen de semillas que se disponía de cada genotipo. En ambos ciclos, se mantuvieron identificadas las descendencias de cada progenie en surcos individuales (surco/progenie) (Figura 2.2). Finalmente, se logró obtener suficiente volumen de semillas sólo de 8 progenies, cuyos granos cosechados (24 de junio de 2014 y 14 de junio de 2015) fueron analizados a laboratorio, y una reserva de semillas conservada a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Figura 2.5).



**Figura 2.4.** Representación esquemática del material genético estudiado en maíz *opaco-2*. A partir de la población original (POro2), se seleccionaron doce mazorcas polinizadas con la misma población parental. Por lo tanto, corresponden a familias de medios hermanos (MH) (ciclo 2011/12). Al año siguiente, se evaluaron sus descendencias individuales mediante una prueba de progenies (ciclo 2012/13). Para los análisis químicos se utilizó maíz pisingallo y blanco duro como testigos no-opacos

### Ciclos de selección masal en maíz morado

Paralelamente al estudio de las progenies individuales de maíz morado durante los ciclos 2013/14 y 2014/15, se realizaron ensayos en lotes que fueron manejados mediante selección masal (siembra y cosecha), con el fin de realizar la caracterización de la variedad de polinización libre MORAGRO (Figura 2.5). Las características agronómicas de estos lotes masales (M14 y M15) fueron comparados con las progenies individuales multiplicadas durante los mismos ciclos de cultivo (2013/14 y 2014/15). Ambos materiales fueron tomados del mismo material de partida (POrmo).



**Figura 2.5.** Representación esquemática del material genético estudiado en maíz morado. A partir de la población original (POrmo), se seleccionaron doce mazorcas polinizadas con la misma población parental. Por lo tanto, corresponden a familias de medios hermanos (MH) (ciclo 2011/12). Posteriormente, cada familia fue reproducida durante tres ciclos consecutivos para aumentar volumen de semillas. Se logró mantener identificadas a 8 progenies, y los análisis químicos se realizaron en los granos provenientes de los ciclos 2013/14 y 2014/15. Se utilizó maíz pisingallo, blanco duro y *opaco-2* como testigos no-morados

## CARACTERIZACIÓN AGRONÓMICA

La caracterización fenotípica de las plantas seleccionadas a campo, se realizó de la misma manera tanto en las progenies individuales (de maíz *opaco-2* y de morado) como en los

individuos seleccionados de los lotes masales. Se relevaron datos fenotípicos en estado vegetativo, reproductivo y a cosecha. De cada surco/progenie de ambos tipos varietales, se seleccionaron 5 plantas al azar, y se etiquetaron para poder individualizarlas (intensidad de selección del 20 %). Las variables medidas fueron las siguientes:

En estado vegetativo:

- Emergencia a campo: número de plántulas emergidas en cada surco/progenie entre los 10 - 15 días desde la siembra.

En floración:

- Días a inicio de floración masculina: cantidad de días desde la siembra hasta la aparición de 10 % – 15 % de panojas emergidas con anteras expuestas.
- Días a floración femenina: cantidad de días desde la siembra (dds) hasta que aproximadamente el 50 % de las plantas del surco presentaron estigmas receptivos de 2 a 3 cm de longitud.

En planta adulta:

- Altura de planta (AP): medida desde la base de la planta hasta el extremo apical de la panoja (m).
- Altura de inserción de la espiga principal (AEsp): medida desde la base de la planta hasta el nudo de la espiga principal (m).
- Número de hojas (NH): contadas desde la base de la planta hasta la hoja bandera incluida.
- Diámetro del tallo (DT): medido en la parte media del primer entrenudo desde la base de la planta (cm).

- Número de espigas por planta (NEsp): cantidad de espigas bien formadas en planta adulta.

A cosecha:

- Número de plantas cosechadas: cantidad de plantas que fueron cosechadas.
- Longitud de mazorca (LM): medida desde la base a la punta de la mazorca (cm)
- Diámetro de mazorca (DM): medido en la parte central de la mazorca (cm).
- Número de hileras (NHil): contadas en la parte media de la mazorca.
- Número de granos por hilera (NGH): contados desde la punta a la base de la mazorca a partir de una hilera como referencia.
- Número de granos por mazorca (NGM): obtenido como el producto entre el número de hileras (NHil) y el número de granos por hilera (NGH).
- Peso de 100 semillas (P100): tomado a partir de una muestra de 100 granos del total de granos de la mazorca (g), ajustado al 14 % de humedad a partir del peso real.
- Rendimiento (Rto): los rendimientos fueron estimados mediante componentes del rendimiento a partir de la siguiente fórmula general (Martínez-Alvarez, 2015):

$$Rto (q/ha) = Pl/ha \times NEsp \times NGM \times PG$$

Donde *Pl/ha* es la cantidad de plantas por hectárea (tomado a partir de las plantas a cosecha); *NEsp* indica la cantidad de espigas por planta (granadas a cosecha); *NGM* es la cantidad de granos por mazorca; y *PG* indica el peso individual de los granos. Esta ecuación es válida específicamente para el cultivo de maíz ya que permite jerarquizar los distintos componentes en función de su importancia o peso en el rendimiento final real del cultivo (Martínez-Alvarez, 2015). Los resultados de rendimiento fueron ajustados al 14 % de humedad, y expresados en quintales por hectárea (q/ha).

## **PRÁCTICAS DE MANEJO A CAMPO**

Las prácticas de manejo llevadas a cabo en los ensayos a campo fueron similares, pero en lotes distintos cada año, considerando elegir parcelas con dos o tres años de descanso, dependiendo de la disponibilidad en el Campo Experimental (FCA, UNC).

Las parcelas fueron preparadas para la siembra mediante labranza convencional, delimitados en surcos a una distancia de 0,70 m entre sí. Previo a la siembra, se realizó control químico de malezas con herbicida pre-emergente (Atrazina), y control manual durante los primeros estadios del cultivo. Las larvas cortadoras y defoliadoras fueron tratadas químicamente con insecticida sistémico, y no se realizó riego ni fertilización en ningún ciclo de cultivo, con el objetivo de comparar las cosechas analizadas a campo y laboratorio bajo las mismas condiciones experimentales.

Se obtuvieron datos climáticos de temperatura del aire (mínima, máxima y promedio) y precipitaciones (mm) de todos los años de estudio (de 2012 a 2015), desde los meses de enero a junio (Tabla 2.1). Estos datos fueron registrados por la estación meteorológica automática (METOS by Pessl Instruments) instalada en el Área Experimental del Campo Escuela de la FCA, UNC. Además, se tuvieron como referencia datos climáticos históricos de los últimos 10 años obtenidos por la Red de Estaciones Meteorológicas de la Bolsa de Cereales de Córdoba, publicados en el Anuario Meteorológico 2016 (Bolsa de Cereales, 2016). Los rangos de temperaturas medias, mínimas y máximas (14 °C - 20 °C, 8 °C - 11,5 °C y 23,5 °C - 26 °C, respectivamente) indican los promedios históricos en los extremos sur y norte de la provincia de Córdoba. La acumulación de las precipitaciones medias históricas corresponden a los meses de diciembre, enero y febrero (300-500 mm) y a los meses de junio, julio y agosto (20-100 mm) (Tabla 2.1).

**Tabla 2.1.** Temperaturas medias mensuales (media, mínima, máxima) y precipitaciones acumuladas durante los ciclos de cultivo.

Mes	Temperaturas			Precipitaciones acumuladas (mm)
	Media (°C)	Mínima (°C)	Máxima (°C)	
<sup>1</sup> Histórico	14 - 20	8 - 11,5	23,5 - 26	300 - 500/20 - 100
<b><sup>2</sup>2012</b>				
Enero	24,4 f	16,2 e	32,7 e	142,2
Febrero	23,8 f	17,9 e	29,6 d	166,0
Marzo	21,0 e	13,6 d	28,4 d	54,0
Abril	18,0 d	11,6 d	24,4 c	22,2
Mayo	16,2 c	9,4 c	23,1 b	10,0
Junio	11,7 a	3,8 a	19,6 a	0,8
<sup>3</sup> Promedios	19,2 b	12,1 b	26,3 a	Total: 395,2
<b>2013</b>				
Enero	24,3 f	16,9 e	31,7 e	95,6
Febrero	21,8 e	15,5 e	28,2 d	90,6
Marzo	19,2 d	12,6 d	25,8 c	44,4
Abril	18,1 d	10,2 c	26,2 d	47,4
Mayo	14,5 b	7,2 b	21,9 b	33,0
Junio	12,4 a	4,5 a	20,2 a	2,0
<b>Promedios</b>	18,4 a	11,2 a	25,6 a	Total: 313
<b>2014</b>				
Enero	25,0 f	17,8 c	32,2 f	52,4
Febrero	21,1 e	16,0 c	26,1 d	206,0
Marzo	18,0 d	11,5 b	24,4 c	112,2
Abril	17,1 d	10,8 b	22,8 b	57,4
Mayo	14,0 b	9,4 b	19,7 a	24,6
Junio	11,0 a	4,0 a	18,3 a	8,0
<b>Promedios</b>	17,7 a	11,6 a	23,9 a	Total: 460,6
<b>2015</b>				
Enero	24,1 f	17,7 c	31,0 f	162,8
Febrero	21,4 e	16,9 c	26,5 d	331,6
Marzo	20,8 e	14,7 c	26,6 d	92,8
Abril	19,9 e	12,8 b	27,3 d	43,0
Mayo	15,8 c	10,7 b	21,8 b	9,0
Junio	12,4 a	5,7 a	19,9 a	3,2
<b>Promedios</b>	19,1 b	13,1 b	25,5 b	Total: 642,4

Valores seguidos por letras distintas en la misma columna son significativamente distintos ( $p < 0,05$ )

<sup>1</sup>Datos históricos publicados por la Bolsa de Cereales de Córdoba (2016).

<sup>2</sup>Se compararon las medias mensuales correspondientes a los ciclos de cultivo de las progenies de maíz *opaco-2* (año 2012 con 2013) y las medias mensuales de los ciclos de las progenies de maíz morado (año 2014 con 2015).

<sup>3</sup>Se compararon los promedios anuales durante los ciclos de cultivo (meses de enero a junio) de 2012 vs 2013 y de 2014 vs 2015.

# METODOLOGÍA EN LABORATORIO

## MOLIENDA DE LOS GRANOS

Los granos destinados para ser analizados en laboratorio de los genotipos obtenidos a campo de maíz *opaco-2* (12 familias cosechadas en el ciclo 2011/12 y sus progenies cultivadas en 2012/13) y maíz morado (8 progenies individuales multiplicadas en los ciclos 2013/14 y en 2014/15), fueron molidos sin secado previo en un molino ciclónico (Cyclotec CT193, Foss, Suzhou). De esta manera, se obtuvo harina de grano entero cuyas partículas atravesaron el tamiz del molino, con una malla de 0,5 mm (rango de tamaño de partícula menor a 500  $\mu\text{m}$ ). Las harinas de cada genotipo fueron identificadas y almacenadas a 4 °C hasta su análisis químico.

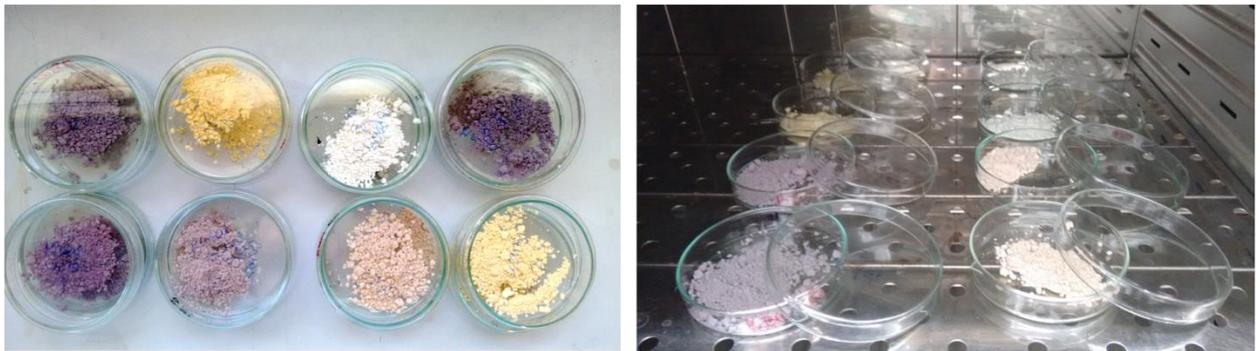
Se utilizaron los materiales genéticos de partida (POro2 y POrmo en maíz *opaco-2* y morado, respectivamente) de ambas variedades con fines comparativos. En el análisis de las progenies de maíz *opaco-2*, se usaron harinas de maíz pisingallo (PS) y maíz blanco duro (BL) como testigos para comparar diferencias en las características químicas (genotipos opacos vs no-opacos) (Figura 2.4). Para el caso de las progenies de maíz morado, se utilizaron los mismos testigos nombrados anteriormente (PS y BL), y además una mezcla de semillas de las progenies de maíz *opaco-2* (O2), con el fin de analizar diferencias en la composición de las harinas (genotipos morados vs no-morados) (Figura 2.5). Los granos de los testigos pisingallo (PS) y blanco (BL) fueron obtenidos de otros ensayos realizados en el mismo Campo Experimental de la FCA, UNC.

# EVALUACIÓN QUÍMICA DE LAS HARINAS

## COMPOSICIÓN CENTESIMAL

### Humedad

El contenido de humedad fue determinado mediante el Método 44-19.01 (AACC Internacional). Una muestra de 2 g de harina de cada genotipo fue colocada en cápsulas de petri y desecada en estufa a  $135 \pm 2$  °C durante 2 horas (Figura 2.6). Posteriormente, se dejaron enfriar en desecador con sílica y se tomó el peso de la harina desecada. El contenido de humedad se expresó como porcentaje de agua perdida (%), y las determinaciones se realizaron por duplicado.



**Figura 2.6.** Determinación del contenido de humedad de las harinas de los genotipos analizados. Fotografía tomada en el Laboratorio de Química Biológica de la FCA, UNC

### Proteína

El contenido total de proteína se calculó mediante el método de micro-Kjeldahl, modificado para ácido bórico (Método 46-13.01) (AACC Internacional). Una muestra de 200

mg de harina fue mineralizada en un bloque de digestión MB-6, Raypa (R. Espinar SL, España) con 4 mL de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) a 400 °C durante 15 min. El amonio resultante se destiló con 30 mL de 30 % hidróxido de sodio ( $Na_2OH$ ) durante 4:30 min en un destilador (VELP Científica UDK 129) y recuperado con una solución de 4 % ácido bórico ( $H_3BO_3$ ). La titulación se realizó con una solución de ácido clorhídrico (HCl) 0,0388 N. Los resultados fueron expresados como porcentaje de proteína de la harina (g /100 g de harina) en base seca, usando el factor general 6,25. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

## **Almidón**

El contenido de almidón resistente, digerible y total se calculó con el kit Resistant Starch (Megazyme International Ireland Ltd., Wicklow, Ireland) de acuerdo al Método 32-40.01 (AACC Internacional) y el Método AOAC 2002.02 (AOAC Internacional, 2002). Previamente, una muestra de 100 mg de harina desgrasada de cada genotipo fue suspendida en 1,6 mL de agua destilada y cocida en un baño con agua hirviendo durante 12 min 30 s, con el fin de permitir la gelatinización del almidón simulando un proceso de cocción. A continuación, las muestras se incubaron con  $\alpha$ -amilasa pancreática y amiloglucosidasa (AMG) en un baño de agua con agitación durante 16 horas a 37 °C para solubilizar e hidrolizar el almidón no resistente (digerible) a D-glucosa mediante la acción combinada de las dos enzimas. La reacción fue detenida por la adición de un volumen equivalente de etanol (96 %), y el almidón resistente precipitado fue recuperado por centrifugación; el sobrenadante se conservó para el posterior análisis de glucosa. El sedimento con almidón resistente se solubilizó con hidróxido de potasio (KOH) 2M con agitación vigorosa en un baño de agua con hielo durante 20 min. Posteriormente, la solución fue neutralizada con buffer acetato de sodio 1,2 M y el almidón fue hidrolizado a glucosa por la acción de AMG. La cuantificación de D-glucosa proveniente del sobrenadante y del precipitado se realizó con el reactivo glucosa oxidasa/peroxidasa (GOPOD), en un espectrofotómetro (UV-visible JascoV-730, Jasco Corporation, Japón) a una absorbancia de 510 nm. El contenido de almidón resistente (RS) más el almidón digerible (NRS) fue considerado como el contenido de almidón total (AT), y los resultados fueron expresados como porcentaje

de almidón en la harina (g/100 g de harina) en base seca. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

## **Lípidos**

El contenido de lípidos se determinó mediante Soxhlet, a través del Método 30-25.01 (AACC Internacional). Una muestra de 2 g de harina se colocó un cartucho de papel de filtro de 5 x 5 cm, y luego, éste se introdujo en otro cartucho de 6 x 6 cm para evitar pérdidas de muestra. Posteriormente, se colocaron en Soxhlet con éter de petróleo (punto de ebullición entre 60-80 °C) durante 16 horas a una velocidad de condensación de 2 - 3 gotas/segundo. Transcurrido el tiempo de extracción, los cartuchos se colocaron en estufa a 100 °C durante aproximadamente 30 min. A continuación, se dejaron enfriar en desecador con sílica y se tomaron sus pesos con las muestras deslipidizadas. Los resultados fueron expresados como porcentaje de lípidos en la harina (g/100 g de harina) en base seca, por diferencia de peso de las muestras antes y después de la extracción. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

## **Cenizas**

El contenido de cenizas se determinó mediante el Método 08-01.01 (AACC Internacional). Una muestra de 3 g de harina de cada genotipo fue incinerada en una mufla (INDEF Model) a 550 °C hasta obtener peso constante del residuo. Los resultados fueron expresados como porcentaje de cenizas en la harina (g/100 g de harina) en base seca, y las determinaciones se realizaron por duplicado.

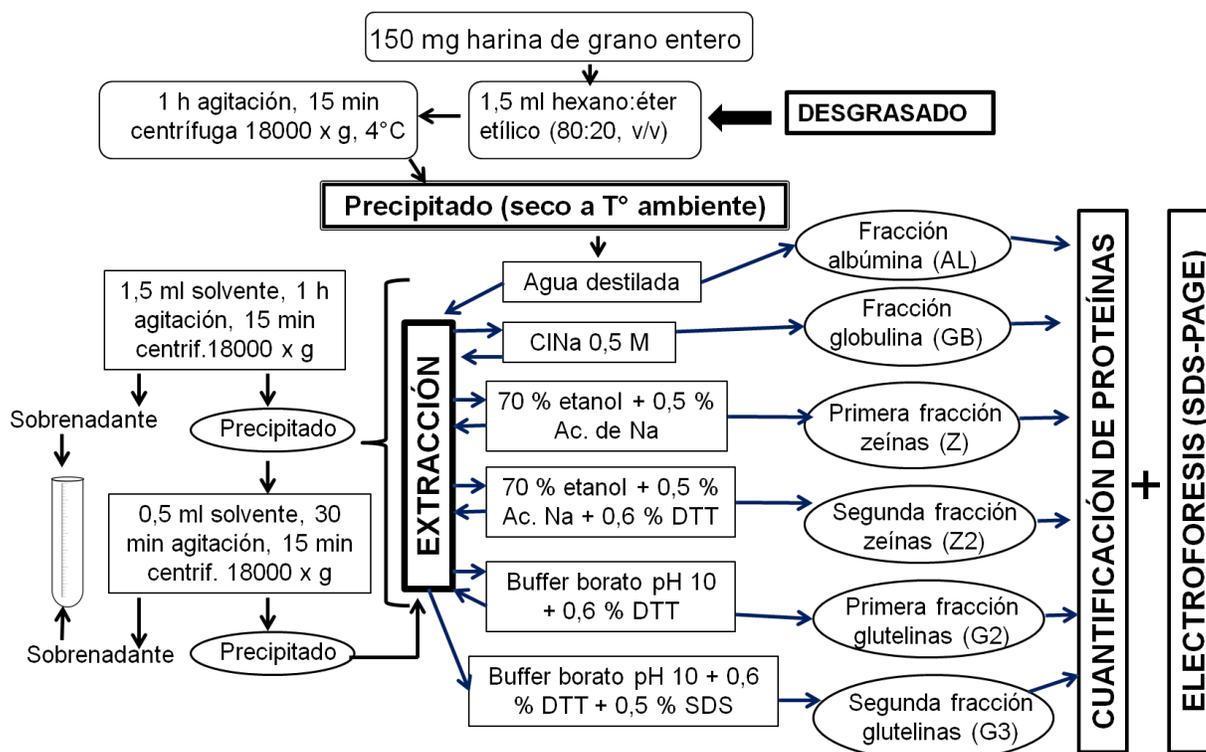
## COMPOSICIÓN PROTEICA

### Extracción y cuantificación de las fracciones proteicas

La extracción de las distintas fracciones proteicas se realizó con una extracción secuencial mediante la combinación de los métodos descritos por Landry y Moureaux (1970) y Paulis (1982), y adaptado por Malumba *et al.* (2008). Previamente, las muestras (150 mg de harina) fueron dos veces desgrasadas con 1,5 mL de hexano:éter etílico (80:20, v/v), con agitación constante durante 1 hora a temperatura ambiente. Luego se centrifugaron a 18000 xg por 15 min a 4°C, se eliminó el sobrenadante y el residuo sólido se dejó secar totalmente a temperatura ambiente (Figura 2.7).

Para la extracción de albúminas (AL), se agregó 1,5 mL de agua destilada al residuo y se agitó durante 1 hora a 4°C. Luego se centrifugó durante 15 min a 18000 xg a 4°C (Thermo Científica, Sorvall ST40R) y se recuperó el sobrenadante. El precipitado fue extraído nuevamente con 0,5 mL más de agua, durante 30 min y centrifugado en las mismas condiciones descritas, y se juntaron ambos sobrenadantes. Al residuo se le realizó la extracción de globulinas (GB) mediante la misma metodología, usando una solución de cloruro de sodio (ClNa) 0,5 M. Para la extracción de zeínas (Z) se utilizó una solución de 70 % etanol, 0,5 % acetato de sodio ( $C_2H_3NaO_2$ ) (Malumba *et al.*, 2008). La segunda fracción de zeínas (Z2), se extrajo con 70 % etanol, 0,5 % acetato de sodio, 0,6 % Dithiothreitol (DTT) (Landry, 1997; Malumba *et al.*, 2008) en las mismas condiciones antes descritas. Las glutelinas G2 fueron extraídas con buffer borato ( $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ ) pH 10, 0,6 % DTT; y las glutelinas G3, con buffer borato pH 10, 0,6 % DTT, 0,5 % dodecilsulfato de sodio (SDS) (Malumba *et al.*, 2008). Los sobrenadantes de las diferentes fracciones fueron almacenados a -18 °C hasta su análisis (Figura 2.7). El porcentaje de proteínas de los extractos (N x 6,25) fue cuantificado por el método de

micro-Kjeldahl, modificado para ácido bórico (Método 46-13.01, AACC Internacional), y los resultados fueron expresados como porcentaje de proteína de cada fracción a partir de la harina, es decir, g proteína fracción/ 100 g de harina (base seca). Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.



**Figura 2.7.** Representación esquemática de la extracción secuencial de proteínas.

### Electroforesis (SDS-PAGE)

Las fracciones obtenidas mediante extracción secuencial de proteínas fueron analizadas mediante electroforesis en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE) en condiciones reductoras (Laemmli, 1970) (Figura 2.7). Previamente, los extractos fueron precipitados con acetona, y centrifugados a 3500 rpm durante 15 min a temperatura ambiente. Se eliminó el sobrenadante y

el residuo fue colocado a 30 °C hasta la completa evaporación de la acetona. Los residuos fueron resuspendidos en buffer de muestra con 0,063 M de Tris/HCl pH 6,8; 2 % SDS p/v, 10 % glicerol v/v, 5 %  $\beta$ -mercaptoetanol, 0,05 % de azul de bromofenol p/v (Ng y Bushuk, 1987; Duodu *et al.*, 2002) y calentados en un baño a 95 °C por 5 min.

Las electroforesis se realizaron en una placa de 70 x 80 mm, con un gel concentrador (*stacking*) con 4 % de acrilamida, y un gel separador con 12 % de acrilamida para las fracciones de albúminas, globulinas y glutelinas (G2 y G3), y 15 % para las fracciones de zeínas (Z y Z2). Se utilizó un equipo Bio-Rad Mini-Protean II Cell, con un voltaje constante de 150 V. Las muestras se corrieron hasta que el marcador del frente alcanzó el final del gel (aproximadamente 90 min). Para determinar el peso molecular de las bandas polipeptídicas de los extractos se usó un marcador Bio-Rad SDS-PAGE Standars, Broad Range (200 a 6,5 kDa).

### **Digestibilidad *in vitro* de proteínas**

La digestibilidad *in vitro* de las proteínas se determinó de acuerdo al procedimiento descrito por Hamaker *et al.* (1987), con algunas modificaciones. Una muestra de 200 mg de harina de grano entero de cada genotipo fue suspendida en 2 mL de agua destilada y cocida en un baño de agua hirviendo durante 10 min, con agitación cada 2 min, con el objetivo de simular la elaboración de un alimento y evaluar la digestibilidad proteica de los granos para el consumo humano. Posteriormente, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se centrifugó durante 10 min a 4000 xg a temperatura ambiente (Duodu *et al.*, 2002). El residuo se resuspendió en una solución de buffer fosfato 0,1 M, pH 2 con pepsina (Sigma P-7000-25G, 683 U/mg) y se incubó en un baño con agitación constante a 37 °C durante 2 horas. A continuación, se agregaron 2 mL de NaOH 2 M para detener la digestión, y una alícuota de 1 mL se centrifugó a 14000 xg durante 10 min a 25 °C. La cantidad de proteína solubilizada en el sobrenadante se determinó mediante

el método de Lowry (Waterborg, 2002). Se tomaron las absorbancias en espectrofotómetro (UV-visible JascoV-730, Jasco Corporation, Japón) a 550 nm y se utilizó una curva de calibración con albúmina sérica bovina (Sigma A2153-10G, polvo liofilizado >96 %) como estándar, a concentraciones de 0,01 a 2 mg/mL. El porcentaje de proteína soluble respecto al contenido total de proteína fue considerado como la digestibilidad *in vitro* de proteínas. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

### **Determinación de aminoácidos**

Para determinar el perfil de aminoácidos, se realizó una hidrólisis ácida de las muestras (1 g de harina) con HCl 6M en reflujo durante 24 horas, para la digestión total de las proteínas en sus aminoácidos constituyentes (Método Oficial 994.12) (AOAC Internacional, 1999). La derivatización y determinación de los aminoácidos totales se realizó de acuerdo al protocolo descrito por Alaiz *et al.* (1992), con un equipo HPLC Perkin Elmer, Serie 200, con un detector UV-visible (280 nm) y una columna Zorbax Eclipse Plus C18 (4,6 x 150 mm), tamaño de partícula 5 µm (Agilent Technologies). Los contenidos de los distintos aminoácidos se expresaron a partir del contenido de proteína de la harina (g /100 g de proteína) en base seca, y las determinaciones se realizaron por cuadruplicado.

## **COMPOSICIÓN Y PROPIEDADES DEL ALMIDÓN**

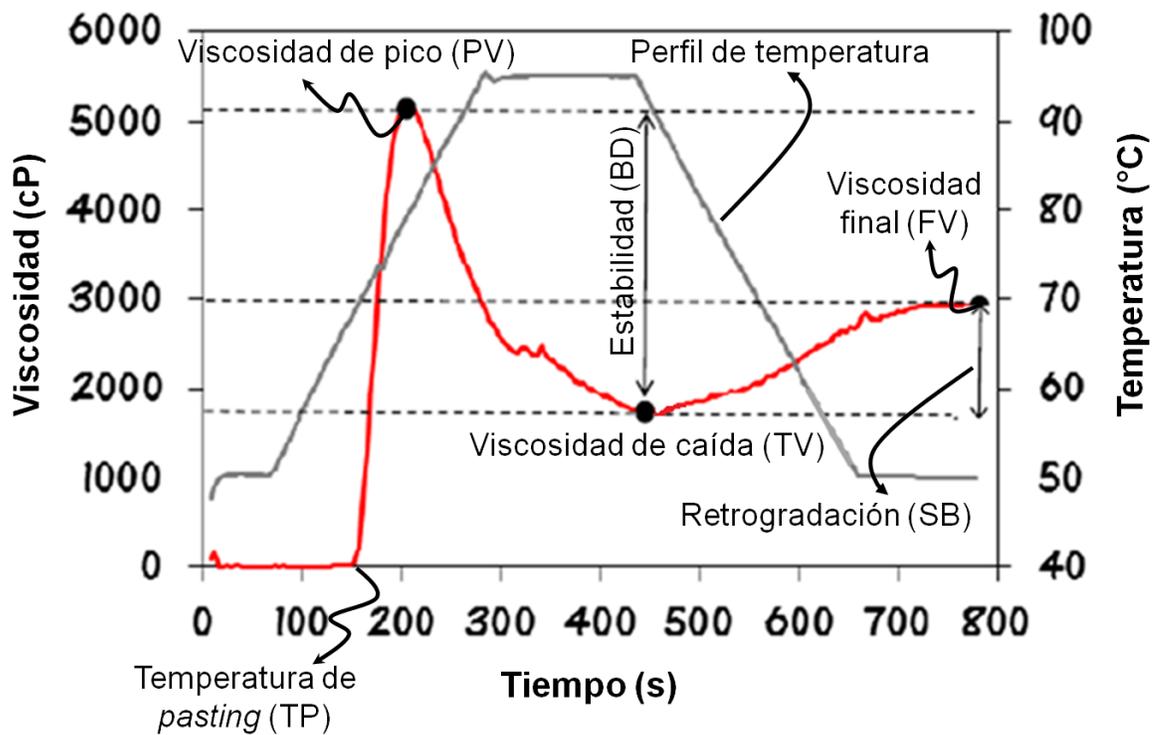
### **Contenido de amilosa**

El contenido de amilosa se determinó de acuerdo al procedimiento descrito por Gibson *et al.* (1997), con un kit de amilosa/amilopectina (Megazyme International Ireland Ltd.,

Wicklow, Irlanda). Una muestra de 25 mg de harina de cada genotipo se dispersó completamente en dimetil sulfóxido (DMSO) y se calentó durante 15 min a 100 °C para gelatinizar completamente el almidón. Los lípidos se removieron con etanol (96 %) y la amilopectina se precipitó con la adición de Concanavalina A (Con A) y se separó por centrifugación. La amilosa y el almidón total se hidrolizaron enzimáticamente a D-glucosa con el agregado de amiloglucosidasa (200 U) más  $\alpha$ -amilasa fúngica (500 U) y ambas fracciones se cuantificaron colorimétricamente con el reactivo glucosa oxidasa/peroxidasa (GOPOD), en un espectrofotómetro (UV-visible JascoV-730, Jasco Corporation, Japón). La concentración de amilosa en la harina fue estimada como la relación entre la absorbancia generada por el reactivo GOPOD a 510 nm de la alícuota precipitada con Con A y la correspondiente a la de almidón total. Los resultados se expresaron como porcentaje de amilosa en almidón, es decir, g amilosa/100 g de almidón (en base seca), y las determinaciones se realizaron por duplicado.

### **Propiedades de viscosidad**

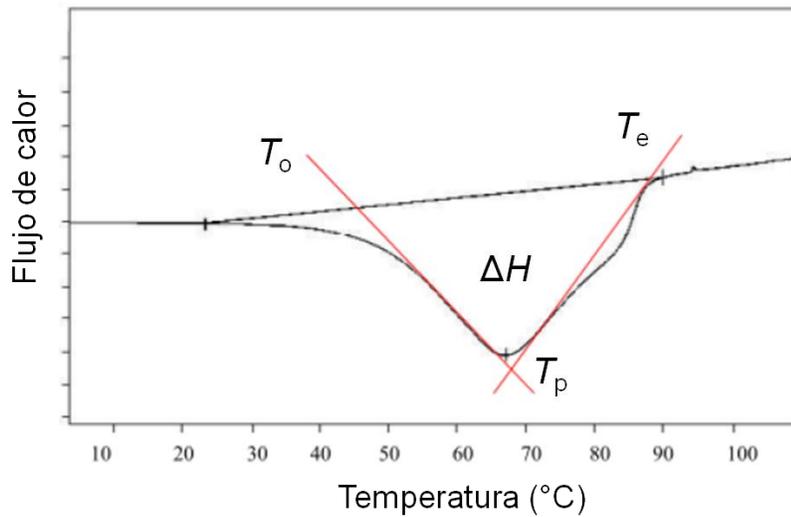
Los cambios en la viscosidad del almidón en función de la temperatura y el tiempo se analizaron a partir de la harina de grano entero con un viscoanalizador (RVA-4500, Perten Instruments, Springfield, IL, EEUU.), usando el método estándar de *pasting*. Una muestra de 3 g de harina (14 % de humedad) fue transferida a un recipiente de RVA y se añadieron 25 mL de agua destilada. La suspensión se agitó a 160 rpm mientras se calentaba hasta 50 °C. Posteriormente, se mantuvo a 50 °C por 1 min, y luego se calentó a 95 °C con una velocidad de calentamiento de 9,4 °C/min, a 960 rpm. A continuación, se mantuvo a 95 °C por 2,5 min y finalmente se enfrió a 50 °C a una velocidad de enfriamiento de 11,8 °C/min. Los parámetros obtenidos a partir de las curvas de *pasting* fueron: temperatura de *pasting* (TP), viscosidad de pico (PV), viscosidad final (FV), viscosidad de caída (TV), estabilidad (BD) y retrogradación (SB) (Figura 2.8). Todas las determinaciones se analizaron por duplicado y los resultados fueron expresados en centipoises (cP).



**Figura 2.8.** Parámetros indicadores de una curva típica de RVA

### Propiedades térmicas

Las propiedades térmicas del almidón fueron medidas a partir de la harina de grano entero con un Calorímetro Diferencial de Barrido (DSC 823, Mettler-Toledo, Greifensee, Switzerland). Una muestra de 4 mg de harina (base seca) de cada genotipo se colocó en una cápsula de aluminio y se añadieron 12  $\mu\text{L}$  de agua destilada (proporción de 1:3). Posteriormente, las cápsulas fueron selladas y almacenadas durante 24 horas a temperatura ambiente previo al análisis. La calibración del DSC se realizó con Indio, y se utilizó una cápsula vacía como referencia. Las muestras fueron calentadas de 25 a 120  $^{\circ}\text{C}$  a una velocidad de 5  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ , y se obtuvieron los siguientes parámetros de gelatinización: temperatura de inicio (*onset*,  $T_{oG}$ ), pico ( $T_{pG}$ ), conclusión (*endset*,  $T_{eG}$ ) y entalpía de gelatinización ( $\Delta H_G$ ) (Figura 2.9). El ancho de pico ( $R_G$ ) se calculó como  $T_{eG} - T_{oG}$ .



**Figura 2.9.** Termograma de una corrida de DSC y sus principales parámetros indicadores:  $T_o$  (temperatura de inicio),  $T_p$  (temperatura de pico),  $T_e$  (temperatura de conclusión) y  $\Delta H$  (cambio en la entalpía).

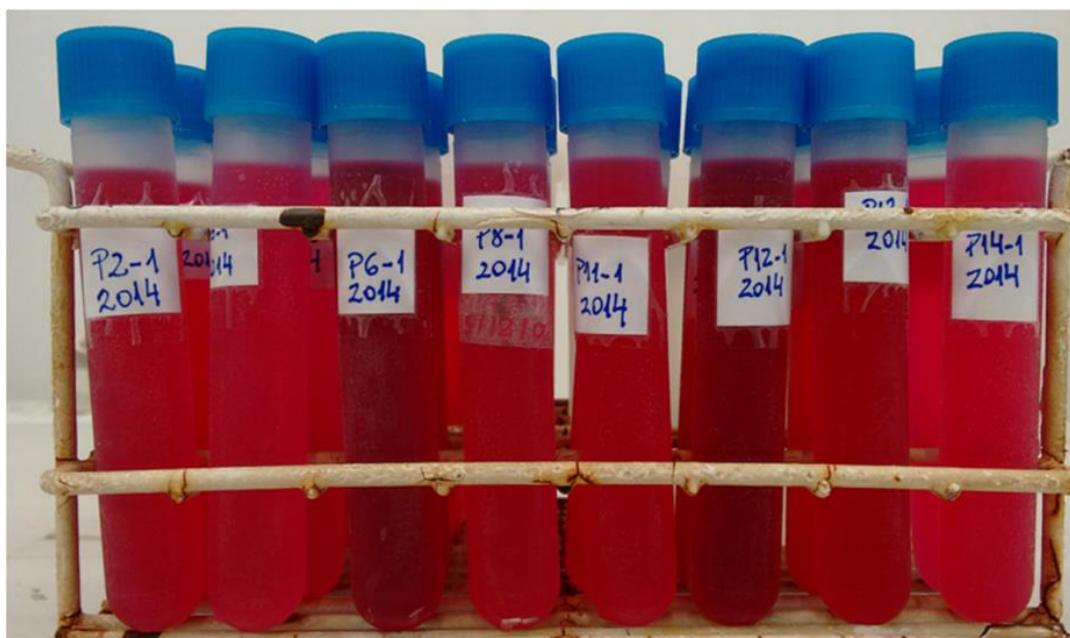
Posterior al análisis de gelatinización, todas las cápsulas fueron almacenadas durante 14 días a 4 °C para permitir la retrogradación del almidón, y se analizaron nuevamente en las mismas condiciones de calentamiento (25 °C - 120 °C a una velocidad de 5 °C/min). Los parámetros de retrogradación obtenidos fueron los siguientes: temperatura de inicio (*onset*,  $T_{oR}$ ), de pico ( $T_{pR}$ ), de conclusión (*endset*,  $T_{eR}$ ), ancho de pico ( $R_R$ ) ( $T_{eR} - T_{oR}$ ) y entalpía de retrogradación ( $\Delta H_R$ ). El porcentaje de retrogradación (%  $R$ ) se calculó como  $\Delta H_R / \Delta H_G \times 100$ . Los resultados se expresaron en J/g de almidón, y las determinaciones se realizaron por duplicado.

## COMPUESTOS ANTIOXIDANTES

### Extracción de antioxidantes de la harina

Se realizó un ensayo de extractibilidad con 5 solventes distintos en harinas de prueba, con el propósito de determinar el más eficiente para la extracción de los componentes antioxidantes de las muestras. Los solventes utilizados fueron: 1) etanol (96 %) + HCl (1N) (85:15, v/v) (Abdel-Aal y Hucl, 2003; Li *et al.*, 2007); 2) acetona (80%) + HCl (1N) (85:15, v/v) (Harakot *et al.*, 2014); 3) etanol (96 %) + agua (80:20, v/v) (Lopez-Martinez *et al.*, 2009); 4) acetona + agua (80:20, v/v) (Podio *et al.*, 2017) y 5) acetona:etanol (96 %):agua (40:40:20) + HCl (1N) (85:15, v/v). Por lo tanto, muestras de 150 mg de harina fueron 7 veces lavadas con 1,5 mL de cada solvente (1:10), y se agitaron vigorosamente por 30 min a temperatura ambiente. Posteriormente, se centrifugaron a 8000 xg durante 10 min a temperatura ambiente, y se recuperaron los sobrenadantes.

A los extractos obtenidos con cada solvente, se les cuantificó el contenido de polifenoles totales mediante el método de Folin – Ciocalteu (Lopez-Martinez *et al.*, 2009), con un espectrofotómetro (UV-visible JascoV-730, Jasco Corporation, Japón) a 730, 750, 760 y 765 nm. En función de esto, el solvente seleccionado para la extracción fue la solución de etanol (96 %) + HCl (1N) (85:15, v/v) (Abdel-Aal y Hucl, 2003; Li *et al.*, 2007), y la determinación colorimétrica en espectrofotómetro se realizó a 765 nm. Por lo tanto, las muestras de harina de los genotipos en estudio (150 mg) fueron 9 veces lavadas con el solvente elegido, y se juntaron todos los sobrenadantes (Figura 2.10). El último lavado se identificó de manera separada para asegurar la completa extracción de las harinas, mediante la no detección de absorbancia en la determinación colorimétrica.



**Figura 2.10.** Extracciones de compuestos antioxidantes a partir de la harina de grano entero de maíz morado realizadas en el Laboratorio de Química Biológica de la FCA, UNC

### Contenido de polifenoles totales

La determinación del contenido de polifenoles totales se realizó mediante el método de Folin – Ciocalteu adaptado por Lopez-Martinez *et al.* (2009) en maíz, y se utilizó un volumen final de muestra de 200  $\mu\text{L}$ . En el caso de las muestras que presentaron extractos más concentrados, se tomaron alícuotas de menor volumen [50  $\mu\text{L}$  y se diluyeron con el solvente de extracción hasta un volumen final de 200  $\mu\text{L}$ , con el fin de obtener absorbancias a 765 nm dentro del rango del espectrofotómetro (entre 0,200 a 0,900)]. El factor de dilución (FD) fue calculado como la relación entre el volumen final (200  $\mu\text{L}$ ) y el volumen inicial de la muestra (50  $\mu\text{L}$ -200  $\mu\text{L}$ ).

Por lo tanto, un volumen de 200  $\mu\text{L}$  fue diluido con 800  $\mu\text{L}$  de agua destilada. Luego se agregaron 125  $\mu\text{L}$  del reactivo Folin – Ciocalteu diluido en agua (50 %, v/v), se agitó con vórtex

y se dejó reposar por 3 min a temperatura ambiente. Posteriormente, la reacción fue neutralizada con la adición de 125  $\mu\text{L}$  de carbonato de sodio ( $\text{CO}_3\text{Na}_2$ ) (20 %, p/v), y se dejó reposar durante 40 min a oscuridad a temperatura ambiente. A continuación, se midieron las absorbancias en espectrofotómetro (UV-visible JascoV-730, Jasco Corporation, Japón) a 765 nm, utilizando una muestra con agua destilada como blanco. El contenido de polifenoles totales se cuantificó a partir de una curva de calibración con ácido gálico como estándar, con concentraciones entre 0,001 a 0,5 mg/mL. Los resultados fueron expresados en mg de ácido gálico (AG)/100 g de harina (en base seca) y todas las determinaciones se realizaron por cuadruplicado.

### **Contenido de antocianinas**

El contenido de antocianinas fue calculado por el método de pH diferencial (pH 1.0 y pH 4.5) de acuerdo a Lee *et al.* (2005). Para determinar la dilución adecuada, se extrajeron alícuotas del extracto de la muestra más concentrada (entre 25  $\mu\text{L}$  a 200  $\mu\text{L}$ ) y se llevó hasta un volumen final de 1000  $\mu\text{L}$  con buffer cloruro de potasio (KCl) 0,025 M, pH 1.0. Luego se midieron las diluciones en espectrofotómetro (UV-visible JascoV-730, Jasco Corporation, Japón) a 520 nm, hasta lograr una absorbancia alrededor de 0,650. El factor de dilución (FD) fue calculado como la relación entre el volumen final (1000  $\mu\text{L}$ ) y el volumen inicial de la muestra (25  $\mu\text{L}$  - 200  $\mu\text{L}$ ). Finalmente, el FD utilizado para todas las muestras fue determinado con 200  $\mu\text{L}$  de extracto, y los valores de absorbancia (520 nm) variaron en un rango de 0,200 a 0,800.

En resumen, una alícuota de 200  $\mu\text{L}$  de extracto de cada genotipo fue diluida con 800  $\mu\text{L}$  de buffer cloruro de potasio (KCl) 0,025 M, pH 1.0 y con buffer acetato de sodio ( $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$ ) 0,4 M, pH 4.5 de manera separada, y se utilizó una muestra de agua destilada como blanco. Luego se dejó reposar en oscuridad durante 15 min. Posteriormente, se tomaron las absorbancias

de ambos buffer (pH 1.0 y pH 4.5) a 520 nm y 700 nm para corregir la turbidez de las muestras, y se utilizó la siguiente fórmula:

$$PA \text{ (mg/L)} = (A \times PM \times FD \times 1000) / (26900 \times l)$$

Donde *PA* es el pigmento antociánico en el extracto (mg/L); *A* es la diferencia de absorbancias ( $A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}}$ ) pH 1.0 - ( $A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}}$ ) pH 4.5; *PM* es el peso molecular de la cianidina-3-glucósido (449,2 g/mol); *FD* es el factor de dilución utilizado en las muestras; *l* es la longitud de trayectoria del haz (cm); 26900 es el coeficiente de extinción molar (L/mol x cm) para cianidina-3-glucósido. El contenido total de antocianinas en las muestras fue expresado como mg de cianidina-3-glucósido (c3-G)/100 g de harina (en base seca), y todas las determinaciones se realizaron por cuadruplicado.

### **Capacidad atrapadora de radicales libres**

La capacidad atrapadora de radicales libres de los extractos obtenidos de las harinas se realizó mediante un ensayo TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*), de acuerdo a la metodología descrita por Re *et al.* (1999). Se preparó una solución de ABTS+ (2,2'-Azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) [7 mM de ABTS (Sigma A1888-2G) con 2,45 mM de persulfato de potasio ( $K_2S_2O_8$ )] y se dejó durante una noche a 4 °C. Posteriormente, la solución de ABTS+ fue diluida en agua destilada hasta obtener una absorbancia alrededor de 0,700 a 734 nm en el espectrofotómetro (UV-visible JascoV730, Jasco Corporation, Japón), la cual fue tomada como absorbancia a tiempo 0 ( $A_0$ ).

Las mediciones se realizaron directamente en el espectrofotómetro con 100 µL de extracto de cada muestra, y se mezclaron con 3 mL de solución ABTS+ diluida. Inmediatamente, se midió la absorbancia a 734 nm durante 4 min, utilizando una cubeta de vidrio de 3 mL. Las curvas obtenidas de absorbancia en función del tiempo fueron ajustadas por ajuste bi-exponencial utilizando el complemento Solver (Microsoft Office Excel 2007). La actividad antiradicalaria (AA) fue calculada a partir de la siguiente fórmula:

$$AA (\%) = [1 - (A_m/A_0)] \times 100$$

Donde  $A_m$  es la absorbancia de la muestra en estado estacionario (calculada por ajuste bi-exponencial), y  $A_0$  es la absorbancia a tiempo 0. La cuantificación de los resultados se realizó a partir de una curva de calibración utilizando Trolox (Sigma-Aldrich 238813-1G) como estándar, a concentraciones de 0,5 a 1 µmol equivalente/mL. Los resultados fueron expresados como µmol de trolox equivalente/g de harina (en base seca) y todas las determinaciones se realizaron por cuadruplicado.

### **Poder reductor**

El poder reductor de los extractos obtenidos a partir de las harinas se determinó mediante un ensayo FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) de acuerdo a la metodología descrita por Benzie y Strain (1996). Se utilizó un volumen final de muestra de 100 µL, y en el caso de los extractos más concentrados, se tomaron alícuotas de menor volumen (de 10 µL a 30 µL) y se diluyeron con el solvente de extracción hasta un volumen final de 100 µL, con el fin de obtener absorbancias a 595 nm dentro del rango del espectrofotómetro (0,200 a 0,700). El factor de dilución (FD) fue calculado como la relación entre el volumen final (100 µL) y el volumen inicial de la muestra (10 µL - 30 µL).

Por lo tanto, un volumen final de 100  $\mu$ L se mezcló con 90  $\mu$ L de agua destilada y 900  $\mu$ L de reactivo FRAP [2,5 mL de 10 mmol/L de 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ, Sigma T1253-1G) en 40 mmol/L HCl + 2,5 mL de 20 mmol/L  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  + 25 mL de 0,3 mol/L buffer acetato de sodio pH 3,6] preparado el mismo día en que se analizaron las muestras. Las lecturas correspondientes a la absorbancia máxima (595 nm) se determinaron con espectrofotómetro (UV-visible JascoV730, Jasco Corporation, Japón), y la cuantificación de los resultados se realizó a partir de una curva de calibración utilizando Trolox (Sigma-Aldrich 238813-1G) como estándar, a concentraciones de 0,5 a 1  $\mu$ mol equivalente/mL. El poder reductor de las muestras fue expresado como  $\mu$ mol de trolox equivalente/g de harina (en base seca) y todas las determinaciones se realizaron por cuadruplicado.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los análisis estadísticos se realizaron mediante el software InfoStat/Professional 2017 (Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba). Los datos fueron examinados mediante análisis de la varianza (ANOVA), con un nivel de significancia de 0,05, y comparados mediante el test de comparación de Di Rienzo, Guzmán y Casanoves (DGC) (Di Rienzo *et al.*, 2002).

Se analizaron las diferencias entre las medias de cada genotipo en las dos cosechas (2012-2013 en maíz *opaco-2*, y 2014-2015 en maíz morado) y las variaciones entre años de cultivo (promedio de todos los genotipos de maíz *opaco-2* en 2012 o 2013, y de maíz morado en 2014 o 2015). Además, se compararon las progenies individuales de cada tipo varietal con las poblaciones originales utilizadas como materiales de partida (POr), y con los genotipos testigos usados como controles (opacos vs no-opacos y morados vs no-morados).

Para poder apreciar los efectos de las diferentes fuentes de variación a la variabilidad total, se estimaron los componentes de la varianza mediante Modelos Lineales Mixtos (MLM) (Corbeil y Searle, 1976; Harville, 1977), por medio del estimador de máxima verosimilitud restringida (REML) (Schaeffer *et al.*, 1978; Meyer, 1985). Para este análisis, sólo se consideraron los genotipos individuales de *opaco-2* y morado, sin incluir a los genotipos usados como controles en cada variedad. Se tomó al factor genotipo (progenies) anidado dentro del factor ambiente (año de cosecha), ambos como efectos aleatorios, y se consideró a la varianza residual como la interacción entre ambos factores (Di Rienzo *et al.*, 2017). De este modo, se pudo valorar la magnitud relativa de la varianza genética (dada por las diferencias genéticas entre los genotipos), del ambiente (dada por el año de cultivo) y de la interacción genotipo x año (dada por la varianza residual), calculado como porcentaje de contribución a la varianza total.

Las relaciones entre las variables analizadas se determinaron mediante el test de correlación de Pearson, con un nivel de significancia  $p < 0,05$ .

Con el objetivo de representar en el mismo gráfico (biplot) las características estudiadas en todos los genotipos (de maíz *opaco-2* y morado), se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP). De este modo, se analizó de manera exploratoria los datos con el fin de facilitar las interpretaciones de las relaciones conjuntas entre observaciones (progenies), entre las variables analizadas en cada variedad, y entre variables y observaciones (Balzarini *et al.*, 2008).

## CAPÍTULO 3

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### MAIZ *OPACO-2*

#### CARACTERIZACIÓN AGRONÓMICA

Las variables agronómicas relevadas a campo de cada progenie individual de maíz *opaco-2* (ciclo 2012/13) fueron comparadas con los valores medios de la población inicial (ciclo 2011/12) (M12), que representa la generación parental de las progenes.

#### **Caracterización fenotípica de las progenes individuales de medios hermanos de maíz *opaco-2* (2012/13) y de la población inicial (2011/12)**

Los rasgos fenotípicos fueron agrupados en variables relevadas en plantas adultas (Tabla 3.1) y en los rasgos tomados en las mazorcas (Tabla 3.2).

**Tabla 3.1.** Valores medios y coeficientes de variación (CV) de las variables fenotípicas relevadas en plantas adultas de doce progenies individuales de medios hermanos de maíz *opaco-2* (2013) y de la población inicial (M12) (2012) de donde fueron obtenidas

Progenie	<sup>1</sup> AP (m)		AEsp (m)		NH		DT (cm)		NEsp
	Media	CV (%)	Media	CV (%)	Media	CV (%)	Media	CV (%)	Media
<b>P3</b>	2,3 b	9,9	0,9 b	12,1	14,4 a	7,9	2,4 b	8,2	1,8
<b>P5</b>	2,4 b	8,9	1,2 c	8,1	15,2 a	7,2	2,4 b	12,9	1,6
<b>P10</b>	2,3 b	4,4	0,9 b	21,4	14,0 a	8,8	2,1 b	18,4	1,4
<b>P13</b>	2,3 b	16,6	1,1 b	14,1	16,0 a	11,4	2,5 b	11,7	1,2
<b>P15</b>	2,3 b	11,5	1,0 b	21,6	14,0 a	12,3	2,8 b	17,9	1,6
<b>P18</b>	2,4 b	13,4	0,9 b	21,1	13,2 a	9,9	2,5 b	15,8	1,4
<b>P19</b>	2,1 b	10,6	0,7 b	15,9	13,8 a	10,8	2,2 b	10,7	1,8
<b>P20</b>	2,3 b	1,9	0,8 b	15,3	16,0 a	9,9	2,4 b	14,7	1,2
<b>P22</b>	2,6 c	3,2	1,3 c	5,6	16,2 a	9,2	2,4 b	5,4	1,2
<b>P25</b>	1,8 a	9,8	0,7 a	29,9	14,0 a	5,1	2,7 b	17,4	1,2
<b>P26</b>	2,3 b	4,6	0,9 b	3,4	16,0 a	11,3	2,5 b	16,9	1,2
<b>P28</b>	2,2 b	10,6	0,8 b	13,9	14,4 a	10,6	1,9 a	21,8	1,4
<sup>2</sup> <b>Progenies</b>	2,3 b		0,9 a		14,8 a		2,4		1,4
<b>M12</b>	1,8 a	11,7	0,9 a	24,1	15,1 a	9,0	sd		sd

Valores seguidos por letras distintas en la misma columna son significativamente distintos ( $p < 0,05$ )

<sup>1</sup>AP = altura de planta; AEsp = altura inserción de espiga principal; NH = número de hojas; DT = diámetro del tallo; NEsp = número de espigas; sd = sin datos (variables no relevadas).

<sup>2</sup>Los valores promedios de todas las progenies (2013) fueron comparados con los valores promedios de la población inicial (M12) evaluada en 2012.

Se obtuvieron diferencias significativas entre las progenies en la altura de planta (AP) y altura de inserción de la espiga (AEsp). La P25 presentó los valores mínimos para ambas variables (1,8 m y 0,7 m de AP y AEsp, respectivamente) y contrariamente, la P22 mostró la máxima AP y AEsp (2,6 m y 1,3 m, respectivamente). Algunas investigaciones reportaron gran variabilidad en la AP y AEsp en poblaciones de maíces nativos mexicanos. Herrera-Cabrera *et al.* (2013) obtuvieron un mayor rango en AP (2,31 m – 2,89 m) y AEsp (1,29 m – 1,80 m) en relación a este estudio de tesis. Sin embargo, Santa Rosa *et al.* (2012) reportaron plantas más bajas (1,56 m – 1,7 m) y con menor AEsp (0,87 m – 0,99 m) respecto a los genotipos *opaco-2*. Por otro lado, un rango de variación similar al obtenido en esta tesis fue observado en 45 híbridos simples comerciales españoles (1,67 m – 2,14 m de AP y 0,7 m – 1,08 m de AEsp) (Marín-

Gómez, 2008). Las plantas de la población inicial (M12) presentaron una AP (1,81 m) menor al promedio de las progenies (2,3 m), lo que indica que los genotipos individuales evaluados en 2013 fueron más altos respecto a la población inicial. Sin embargo, la AEsp no mostró variación entre M12 y el promedio de las progenies individuales.

El número de hojas (NH) no presentó diferencias significativas entre las progenies (de 13 a 16), y el valor medio no difirió a la población M12. Los bajos CV en el NH (5 % al 12 %) indican que existió mayor homogeneidad entre los individuos relevados, lo que podría sugerir que no hubo cambios significativos en las frecuencias génicas que codifican esta característica. Menor NH fue reportado por Alvarez-Rodríguez y Ruiz de Galarreta (1995) en poblaciones locales de maíces españoles (6 – 15) y por Arteaga (2004) en variedades de polinización libre de maíces nicaragüenses (11 – 13). Por otro lado, un rango de variación similar al obtenido en esta tesis en NH fue reportado en híbridos comerciales (12 – 15) (Marín-Gómez, 2008).

No se observaron diferencias significativas en el diámetro del tallo (DT) entre las progenies (de 2,1 cm a 2,8 cm), excepto la P28 que mostró el menor valor (1,9 cm). Plantas con tallos más finos fueron observados en variedades de polinización libre nicaragüenses (1,6 cm – 1,9 cm) (Arteaga, 2004) con una altura similar a la presentada por las progenies evaluadas en este estudio de tesis. La mayoría de las progenies fueron propensas a presentar dos espigas por planta a cosecha (NEsp), y fue mayor en las P3, P5, P15 y P19, indicando su mayor tendencia a ser plantas prolíficas.

**Tabla 3.2.** Valores medios y coeficientes de variación (CV) de las variables fenotípicas relevadas en mazorcas de doce progenies individuales de medios hermanos de maíz *opaco-2* (2013) y de la población inicial (M12) (2012) de donde fueron obtenidas

Progenie	<sup>1</sup> LM (cm)		DM (cm)		NHil		NGH		NGM		P100 (g)	
	Media	CV (%)	Media	CV (%)	Media	CV (%)	Media	CV (%)	Media	CV (%)	Media	CV (%)
<b>P3</b>	16,6 b	16,4	4,8 b	8,7	14,3 a	10,5	36,1b	21,8	517,7 b	25,8	21,6 a	18,4
<b>P5</b>	13,3 b	22,5	4,6 b	10,5	13,5 a	9,1	27,2 b	19,8	365,2 a	19,4	22,6 a	13,5
<b>P10</b>	14,8 b	15,9	4,8 b	5,4	14,8 a	13,4	29,7 b	18,2	438,4 a	22,8	23,6 a	5,2
<b>P13</b>	17,5 b	21,4	4,9 b	9,7	15,2 a	7,2	34,6 b	25,3	530,0 b	30,1	27,2 b	5,9
<b>P15</b>	14,1 b	34,3	4,6 b	12,2	14,0 a	9,2	26,6 b	32,9	378,3 a	38,5	26,1 b	26,1
<b>P18</b>	17,5 b	13,4	4,6 b	9,5	12,8 a	7,7	29,7 b	24,6	378,0 a	21,3	26,7 b	2,6
<b>P19</b>	14,7 b	12,9	4,8 b	5,7	12,6 a	7,3	28,0 b	24,0	353,6 a	25,8	28,3 b	8,8
<b>P20</b>	16,3 b	20,1	4,7 b	6,1	14,0 a	14,3	35,6 b	16,9	494,8 b	16,4	20,5 a	3,6
<b>P22</b>	15,0 b	12,6	4,9 b	8,6	14,2 a	9,9	27,8 b	19,3	396,2 a	24,7	25,0 a	9,3
<b>P25</b>	15,1 b	9,6	4,1 a	12,9	13,8 a	14,9	26,5 b	25,8	363,8 a	32,2	23,3 a	4,3
<b>P26</b>	17,2 b	17,7	4,9 b	7,0	16,4 b	13,4	34,2 b	18,3	560,5 b	29,3	23,5 a	12,1
<b>P28</b>	11,3 a	18,3	4,8 b	10,9	15,8 b	10,8	20,0 a	7,1	315,8 a	14,7	22,8 a	12,7
<sup>2</sup> Progenies	15,3 a		4,7 a		14,3 a		29,7 a		424,3 a		24,3 a	
<b>M12</b>	15,4 a	22,6	5,0 a	9,7	14,7 a	11,2	29,6 a	22,7	436,3 a	25,3	22,6 a	23,8

Valores seguidos por letras distintas en la misma columna son significativamente distintos ( $p < 0,05$ )

<sup>1</sup>LM = longitud de mazorca; DM = diámetro de mazorca; NHil = número de hileras por mazorca; NGH = número de granos por hilera; NGM = número de granos por mazorca; P100 = peso de 100 granos.

<sup>2</sup>Los valores promedios de todas las progenies (2013) fueron comparados con los valores promedios de la población inicial (M12) evaluada en 2012.

La mayoría de los rasgos de las mazorcas no presentaron grandes diferencias entre las progenies, cuyos valores promedios fueron similares a los de la población inicial (M12) (Tabla 3.2). La P28 presentó significativamente menor longitud de mazorca (LM) (11,3 cm) y menor número de granos por hilera (NGH) (20), y no se observaron diferencias significativas entre el resto de las progenies, cuyos valores oscilaron entre 14 cm a 17,5 cm y 26 a 36 de LM y NGH, respectivamente. El diámetro de mazorca (DM) varió entre 4 cm y 5 cm, y no se observaron diferencias significativas entre las progenies, excepto la P25 que mostró el menor valor (4,1 cm). El número de hileras (NHil) de la mayoría de las progenies varió entre 13 y 15, excepto las

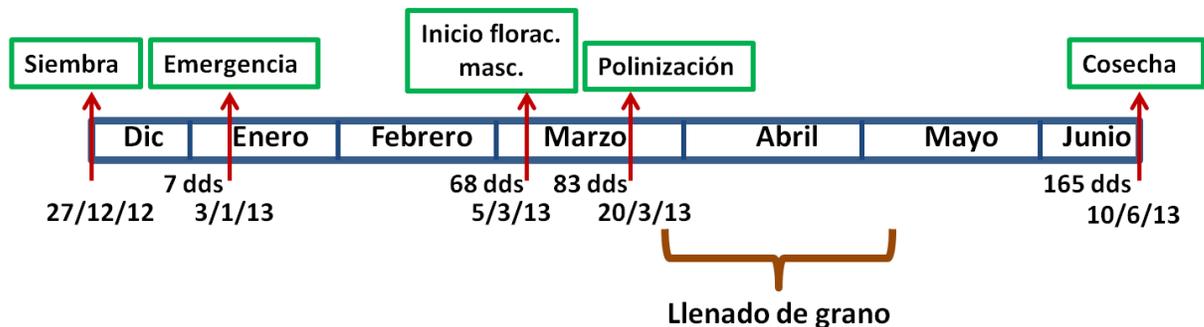
P26 y P28 que presentaron significativamente los mayores valores (16,4 y 15,8, respectivamente).

Los bajos CV mostrados en DM (5 % – 13 %) y NHil (7 % – 15 %) tanto en las progenies y en la población inicial, indicaría que estos rasgos se mantuvieron más homogéneos dentro de cada progenie y entre las plantas de la población. Santa Rosa *et al.* (2012) estudiaron la variabilidad de 134 razas nativas del Altiplano mexicano, las cuales presentaron mazorcas más cortas (11,5 cm a 13 cm) y con menor NGH (20,4 a 23,1) a las obtenidas en este estudio de tesis. Sin embargo, los rangos en DM (4,3 cm a 4,9 cm) y el NHil (12,2 a 14,8) de ese estudio, fueron similares a los obtenidos en las progenies de maíz *opaco-2*. Algunos estudios previos sugirieron clasificaciones de distintas razas de maíces americanos a partir de los rasgos morfológicos de la mazorca (Anderson y Cutler, 1942; Wellhausen *et al.*, 1951). Ciertas características de la mazorca mostradas por los genotipos *opaco-2* analizados en este estudio de tesis como el NHil y DM, presentaron similitudes con categorías de razas mexicanas de granos blancos y blandos evaluados en otras investigaciones (Santa Rosa *et al.*, 2012; Herrera-Cabrera *et al.*, 2013). Esto podría indicar que el maíz *opaco-2* estudiado en esta tesis conserva genética de razas mexicanas, ya que la procedencia del germoplasma de partida fue el CIMMYT (México). Sin embargo, la respuesta adaptativa a condiciones ambientales distintas de su lugar de origen, podrían explicar los cambios observados en algunos genotipos *o2* de esta tesis respecto a otros reportes.

El número de granos por mazorca (NGM) y el peso de 100 granos (P100) presentaron diferencias significativas entre progenies, oscilando entre 315 a 561 granos y entre 20,5 g a 28,3 g, respectivamente, pero no mostraron diferencias significativas con la población inicial (Tabla 3.2). Sin embargo, los mayores CV obtenidos en estos rasgos indican que presentaron mayor heterogeneidad entre las mediciones realizadas. Superiores P100 fueron reportados por Herrera-Cabrera *et al.* (2013) en poblaciones (39 g – 53 g) e híbridos (32 g) mexicanos.

## Duración del ciclo

En la Figura 3.1 se esquematiza la duración del ciclo presentado por la mayoría de las progenies en 2012/13, ya que no fueron observadas grandes diferencias entre genotipos en el periodo de siembra a floración masculina y femenina.



**Figura 3.1.** Duración del ciclo de cultivo de la generación de progenies de medios hermanos de maíz *opaco-2* (2012/13). Se indica la fecha de siembra, y los días desde siembra (dds) a emergencia, a inicio de floración masculina, a la polinización (más del 50 % de floración femenina), a cosecha y la duración del periodo de llenado de granos.

Alrededor de los 65 - 70 días desde la siembra (dds), se observó un 10 % - 15 % de panojas emergidas con anteras expuestas, y fue considerado como el inicio de floración masculina. Mayor duración del periodo de siembra a floración masculina fue reportado por Herrera-Cabrera *et al.* (2013) en poblaciones de maíces tropicales mexicanos (97 - 110 días). Por otro lado, periodos más cortos a floración fueron reportados por Marín-Gómez (2008) en híbridos simples comerciales de la región de Zaragoza, España, (61 - 64 días) y por Arteaga (2004) en variedades de polinización nicaragüenses (36 - 65 días). Otras investigaciones realizadas con germoplasma argentino, indicaron una gran variabilidad en los ciclos de floración dependiendo de la fecha de siembra y el grado de adaptación de los materiales. Cirilo (2004) reportó una duración de 57 a 86 días a floración femenina de híbridos simples experimentales

evaluados en fechas tempranas y tardías en Pergamino. Del mismo modo, Arrieta *et al.* (2016) observaron que los híbridos simples comerciales sembrados en fechas tardías (principios de enero) en la zona centro-norte de la provincia de Córdoba, presentaron un período de emergencia a floración femenina (62 - 64 días) similar al obtenido en los genotipos *opaco-2* estudiados en esta tesis en la misma época de siembra. Cabe aclarar que en este estudio de tesis, el material genético evaluado proviene de una población, a diferencia de las investigaciones citadas, cuyos resultados fueron reportados en híbridos experimentales. La duración del ciclo de diferentes genotipos de maíz es dependiente del *background* genético y de las características ambientales de la región geográfica en que se evalúan los materiales.

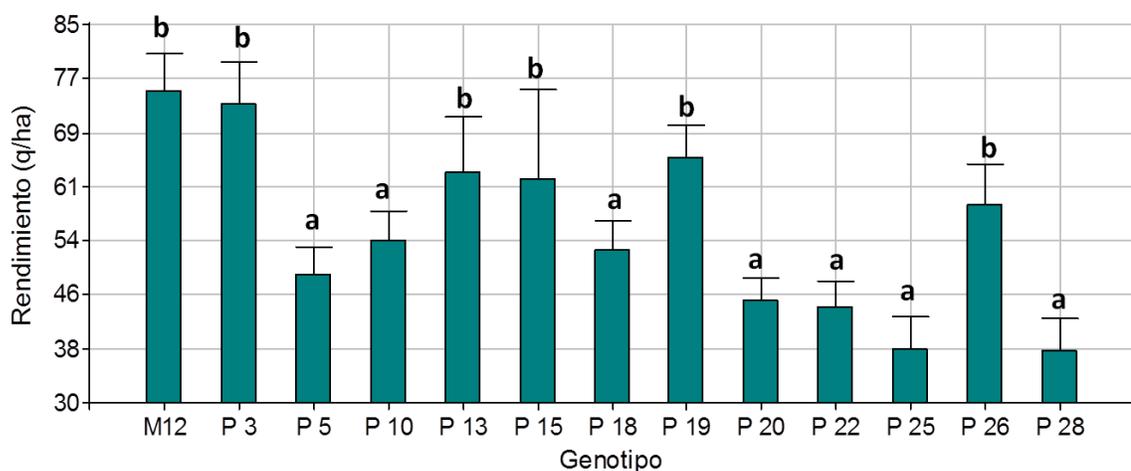
La etapa de polinización en esta tesis, fue considerada al momento en que se observaron más del 50 % de aparición de espigas con estigmas receptivos (Santa Rosa *et al.*, 2012; Herrera-Cabrera *et al.*, 2013). Luego de los 10 – 15 días después de la polinización, inicia el periodo de llenado de granos, cuya duración se extiende hasta los 45 – 50 días (Jenner *et al.*, 1991; Thitisaksakul *et al.*, 2012). La cosecha de las progenies se realizó con el cultivo seco, alrededor de los 165 días desde la siembra (Figura 3.1), y una humedad del grano aproximada de 18 % – 20 %.

## **Rendimientos**

Los rendimientos fueron estimados a partir de las plantas establecidas al momento de la cosecha, al final del ciclo. Los factores ambientales durante el desarrollo del cultivo (estrés hídrico temporal luego de la siembra, ataque de larvas en etapas fenológicas tempranas, ocasionales caídas de granizo en etapas vegetativas, vuelco de plantas por vientos de alta intensidad, ataque de loras, etc.) provocaron pérdidas de emergencia y de plantas establecidas,

cuyo impacto fue variable de acuerdo a la severidad de los daños. Para facilitar la comparación en la estimación del rendimiento de los genotipos evaluados, se tomó como promedio un 75 % de plantas a cosecha a partir de la densidad inicial de plántulas emergidas (entre el 85 % y 90 %), tanto en la población inicial (ciclo 2011/12) como en las progenies individuales (ciclo 2012/13). Este promedio fue tomado en función de los datos reales de cada ciclo.

El rendimiento medio de la población inicial estimado en forma masal (M12) en la cosecha 2011/12, fue comparado con los rendimientos medios estimados en cada progenie individual de la cosecha 2012/13 (Figura 3.2).



*Medias seguidas por letras distintas, indican diferencias significativas*

**Figura 3.2.** Rendimientos estimados (q/ha) de la población inicial (M12) de la cual fueron obtenidas las familias de medios hermanos de maíz *opaco-2* (cosecha 2011/12), y de las doce progenies individuales sembradas durante el ciclo 2012/13 (P)

Se obtuvieron diferencias significativas entre genotipos. El rendimiento de M12 (75,3 q/ha) fue mayor a los rindes estimados en las progenies individuales (de 37,5 q/ha a 73,5 q/ha). Sin embargo, los rendimientos de las P3 (73,5 q/ha), P13 (63,6 q/ha), P15 (62,6 q/ha), P19 (65,7 q/ha) y P26 (58,7 q/ha) no mostraron diferencias significativas respecto a los rendimientos de la población inicial (Figura 3.2). Rendimientos similares fueron reportados en híbridos simples

experimentales QPM evaluados en Costa Rica (67,8 q/ha a 74,3 q/ha) por Rojas y Jiménez (1986) y en México (46,7 q/ha a 59,1 q/ha) probados por Manjarrez-Salgado *et al.* (2014). Las P28 y P25 mostraron los menores rendimientos (37,5 q/ha y 37,9 q/ha, respectivamente), pero no difirieron significativamente a las P22 (43,9 q/ha), P20 (45 q/ha), P5 (48,6 q/ha), P18 (52,2 q/ha) y P10 (53,6 q/ha) (Figura 3.2). Herrera-Cabrera *et al.* (2013) reportaron una variabilidad similar en los rendimientos de colectas de maíces criollos mexicanos (37 q/ha - 65 q/ha), y en variedades híbridas (53 q/ha - 69 q/ha).

### Relaciones entre caracteres relevados a campo

La siguiente tabla expresa las correlaciones obtenidas entre todos los rasgos fenotípicos relevados a campo en la generación de las progenies de medios hermanos de maíz *opaco-2* (ciclo 2012/13) (Tabla 3.3).

**Tabla 3.3.** Correlaciones fenotípicas entre todos los rasgos agronómicos analizados en doce progenies de medios hermanos de maíz *opaco-2* (cosecha 2013)

	<sup>1</sup> AP	AEsp	NH	DT	NEsp	LM	DM	NGM	P100	Rto
AP	1									
AEsp	0,71**	1								
NH	0,39**	0,3*	1							
DT	0,21	0,12	0,16	1						
NEsp	0,24	0,08	0,01	0,19	1					
LM	0,26*	0,13	0,003	0,31	-0,06	1				
DM	0,23	0,22	0,11	-0,19	-0,06	0,37**	1			
NGM	0,3*	0,22	0,25	0,17	-0,01	0,75**	0,42**	1		
P100	0,15	0,09	-0,18	-0,01	0,16	0,19	0,24*	-0,05	1	
Rto	0,29*	0,17	0,02	0,12	0,27*	0,66**	0,47**	0,76**	0,4**	1

Los asteriscos (\* y \*\*) indican correlaciones significativas ( $p < 0,05$  y  $p < 0,01$ , respectivamente)

<sup>1</sup>AP = altura de planta; AEsp = altura inserción de espiga principal; NH = número de hojas; DT = diámetro del tallo; NEsp = número de espigas; LM = longitud de mazorca; DM = diámetro de mazorca; NGM = número de granos por mazorca; P100 = peso de 100 granos; Rto = rendimiento

Se obtuvieron correlaciones positivas entre la altura de planta (AP) con la de inserción de espiga (AEsp) y el número de hojas (NH) (Tabla 3.3). Esto indica que plantas más altas presentaron mayor cantidad de hojas y mayor altura de la espiga principal, lo que pudo deberse a relaciones morfológicas de la estructura propia de las plantas durante su desarrollo, como fue sugerido en otros estudios previos (Smith y Smith, 1989; Martínez *et al.*, 2010).

Del mismo modo, las correlaciones obtenidas entre los rasgos de la mazorca podrían derivar de su propia morfología. Mazorcas de mayor longitud (LM) presentaron mayor diámetro (DM), derivando en mayor número de granos (NGM). Sin embargo, el peso de los granos (P100) correlacionó positivamente sólo con DM (Tabla 3.3). Estas correlaciones fueron similares a otras investigaciones realizadas en distintos genotipos de maíz (Alfaro y Segovia, 2000; Martínez *et al.*, 2010).

Al analizar las relaciones entre los rasgos morfológicos de la planta con los de la mazorca, se observó que mayor AP se asoció positivamente a mayores LM y NGM, lo que coincide con lo observado por Martínez *et al.* (2010) en poblaciones de maíces cubanos. Sin embargo, Cervantes-Ortiz *et al.* (2014) reportaron una relación inversa entre la altura de planta y los granos por mazorca.

El rendimiento correlacionó positivamente con AP y con el número de espigas por planta (NEsp). Investigaciones previas demostraron que existe una fuerte relación directa entre el rendimiento con el número de espigas en maíz (Barnes y Wolley, 1969), resaltando la

importancia de la selección de plantas prolíficas. Similares correlaciones fueron reportadas por Biasutti y Peiretti (1992) en poblaciones de maíz bajo estrés hídrico.

Las correlaciones positivas encontradas entre el rendimiento con LM, DM, NGM, y P100 (Tabla 3.3), demuestran la fuerte influencia de las características morfológicas de la mazorca en el rendimiento final por hectárea, lo que coincide con reportes de varios autores (Biasutti y Peiretti, 1992; Ligarreto *et al.*, 1998; Martínez *et al.*, 2010; Herrera-Cabrera *et al.*, 2013; Cervantes-Ortiz *et al.*, 2014). Esto resulta relevante en el mejoramiento poblacional de maíz, resaltando la importancia de seleccionar las mazorcas de mayor tamaño para mantener rendimientos aceptables en cada ciclo de producción.

## **CONCLUSIONES PARCIALES**

Las progenies evaluadas no mostraron grandes diferencias en sus rasgos agronómicos relevados en planta y mazorca. Los rendimientos presentados por algunas progenies no difirieron al rinde de la población inicial. De hecho, las diferencias obtenidas en los rindes de las progenies individuales estarían indicando una respuesta adaptativa diferencial a las condiciones ambientales en que fueron desarrolladas. Esto induce a la necesidad de realizar más ciclos de recombinación, selección y evaluación para verificar su potencial de adaptación a la zona de estudio en cuanto a características agronómicas.

# CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LOS GRANOS Y HARINAS

## COMPOSICIÓN CENTESIMAL

Los contenidos de proteína, almidón, lípidos y cenizas de los genotipos analizados, se muestran en la Tabla 3.4, y los resultados fueron expresados en g/100 g a partir de la harina de grano entero, en base seca.

**Tabla 3.4.** Composición centesimal de la harina de grano entero de los genotipos de maíz *opaco-2*, blanco y pisingallo

<sup>1</sup> Genotipo	Proteína (g/100 g)	Almidón (g/100 g)	Lípidos (g/100 g)	Cenizas (g/100 g)
<b>P3</b>	11,63 d	61,94 a	10,86 d	1,90 b
<b>P5</b>	11,25 c	65,49 b	7,65 b	1,73 a
<b>P10</b>	11,03 c	63,64 b	8,54 c	1,80 a
<b>P13</b>	10,06 a	66,32 b	7,91 b	1,90 b
<b>P15</b>	10,11 a	63,28 b	8,72 c	1,96 c
<b>P18</b>	9,76 a	64,47 b	8,77 c	1,88 b
<b>P19</b>	11,11 c	60,85 a	8,06 b	1,87 b
<b>P20</b>	10,09 a	65,21 b	8,64 c	1,76 a
<b>P22</b>	10,44 b	65,72 b	9,07 c	2,14 d
<b>P25</b>	11,90 d	63,50 b	6,68 a	1,97 c
<b>P26</b>	10,67 b	61,77 a	7,68 b	1,92 b
<b>P28</b>	12,28 e	66,03 b	8,04 b	2,09 d
<b>POro2</b>	10,57 b	61,24 a	8,64 c	2,06 d
<sup>2</sup> Opaco	10,84 a	63,80 a	8,41 a	1,92 b
<b>BL</b>	11,17 a	66,34 a	6,73 a	1,68 a
<b>PS</b>	10,33 a	66,22 a	7,83 a	1,54 a

Valores seguidos por letras distintas en la misma columna son significativamente distintos ( $p < 0,05$ )

<sup>1</sup>Los valores de cada genotipo (P) corresponden al promedio entre ambas cosechas (2012 y 2013), y fueron comparados con el material genético de partida (POro2)

<sup>2</sup>El promedio de todos los genotipos *opaco-2* (Opaco) fue comparado con los valores promedios de los genotipos de maíz blanco (BL) y pisingallo (PS) usados como testigos no-opacos.

Los genotipos *o2* mostraron diferencias significativas en el contenido de proteína (Tabla 3.4). Similares valores fueron reportados por Gibbon y Larkins (2005) en líneas mutantes *o2* y

por Mendoza-Elos *et al.* (2006) en variedades QPM. No se obtuvieron diferencias significativas cuando se comparó el promedio de los genotipos *opaco-2* con el maíz blanco y pisingallo (Tabla 3.4). Similares niveles de proteína fueron reportados por Robutti *et al.* (2000) en variedades landraces argentinas de maíz blanco dentado (11,1 %) y maíz pisingallo (10,90 %). Por otro lado, Ortiz-Martinez *et al.* (2017) obtuvieron un contenido de proteína significativamente mayor en maíz QPM (13,5 %) en relación a un maíz normal (9,25 %), cuyas diferencias fueron atribuidas a la contribución de la proteína del germen. El contenido de proteína del grano de maíz se encuentra distribuido principalmente en el endosperma y el germen, sin embargo, el endosperma es la estructura que más contribuye al peso total del grano (Nuss y Tanumihardjo, 2010). Cázares-Sánchez *et al.* (2015) obtuvieron un rango similar de proteína al de este estudio de tesis en 41 poblaciones de maíces nativos mexicanos (entre 9,35 % y 12,50 %) con diferentes tipos de endosperma.

Se obtuvieron diferencias significativas en el contenido de almidón entre genotipos *opaco-2*, cuyo promedio no difirió significativamente al maíz blanco y pisingallo usados como controles (Tabla 3.4). Varias investigaciones afirmaron que el contenido de almidón y proteínas en el grano está íntimamente relacionado a la estructura del endosperma (Nuss y Tanumihardjo, 2010; Tang *et al.*, 2013; Gayral *et al.*, 2016). El endosperma harinoso contiene mayor contenido de almidón que el endosperma vítreo, el cual posee mayor contenido de proteína (Serna-Saldivar, 2010; Gayral *et al.*, 2016). Reportes previos afirmaron que el endosperma de maíz *opaco-2* contiene menores cantidades de proteína y almidón respecto al de maíz normal (Joshi *et al.*, 1980), lo que coincide con Ortiz-Martinez *et al.* (2017) quienes obtuvieron significativamente menor contenido de almidón en una variedad QPM (64,14 %) en relación al maíz normal (73,26 %). Sin embargo, Pereira *et al.* (2008) analizaron cultivares con diferentes grados de dureza del endosperma, y obtuvieron que los mayores niveles de almidón total fueron mostrados tanto por genotipos de endosperma duro y blando, por lo que descartaron una asociación directa entre el contenido de almidón y la dureza del endosperma. Además, los mayores contenidos de proteína fueron obtenidos en genotipos de endosperma vítreo, contrariamente a los de endosperma harinoso que mostraron los menores niveles proteicos

(Pereira *et al.*, 2008; Gayral *et al.*, 2016). Estos reportes difieren a los resultados obtenidos en este estudio de tesis, donde los genotipos *o2* (con mayor proporción de endosperma harinoso) no mostraron diferencias significativas en el contenido de proteína y almidón con los genotipos de maíz blanco y pisingallo usados como controles, los cuales poseen mayor proporción de endosperma vítreo.

Los promedios en los contenidos de lípidos y cenizas de los genotipos *opaco-2* fueron mayores a los valores obtenidos en maíz blanco y pisingallo usados como controles (Tabla 3.4). Menores contenidos de lípidos y cenizas fueron reportados en genotipos *o2* analizados por Corcuera *et al.* (2013) y Mendoza-Elos *et al.* (2006). Del mismo modo, niveles más bajos de lípidos fueron obtenidos en 12 genotipos africanos (Fageer y Tinay, 2004) y en 41 poblaciones nativas de maíces mexicanos (Cázares-Sanchez *et al.*, 2015).

### **Componentes de la varianza**

Las variaciones en las características fenotípicas resultan de la suma de tres componentes: el efecto del genotipo, del ambiente y la interacción genotipo x ambiente (Poehlman y Sleper, 1995; Hatfield y Walthall, 2015; Teixeira *et al.*, 2017). Con el objetivo de apreciar los efectos de las diferentes fuentes de variación a la variabilidad total, se estimaron componentes de la varianza mediante Modelos Lineales Mixtos, por medio del estimador de máxima verosimilitud restringida (REML) (ver Materiales y Métodos). De este modo, se pudo valorar la contribución relativa de la varianza genética (dada por las diferencias genéticas entre los genotipos), del año de cultivo (ambiente) y de la interacción genotipo x año obtenida en el contenido de proteína, almidón, lípidos y cenizas.

**Tabla 3.5.** Contribución relativa de la varianza genética (VG), del año (VA) y de la interacción genotipo x año ( $V_{G \times A}$ ) a la variabilidad total en la composición centesimal de las harinas de los genotipos de maíz *opaco-2*

	<b>Proteína</b>	<b>Almidón</b>	<b>Lípidos</b>	<b>Cenizas</b>
<b>VG (%)</b>	51,03	67,10	88,95	75,10
<b>VA (%)</b>	45,14	15,32	2,72	18,77
<b><math>V_{G \times A}</math> (%)</b>	3,83	17,59	8,33	6,13

La varianza genética presentó una fuerte contribución a la variabilidad total en el contenido de lípidos y cenizas, mientras que los efectos del año y de la interacción genotipo x año fueron considerablemente menores (Tabla 3.5). El contenido de lípidos en maíz es fuertemente controlado por factores genéticos, y es poco afectado por factores ambientales y prácticas agronómicas (Jellum *et al.*, 1973; Earle, 1977; Arendt y Emanuele, 2013). En el contenido de almidón, hubo una mayor contribución de la varianza genética, y los efectos tanto del año y de la interacción fueron menores y similares entre sí (Tabla 3.5). Resultados semejantes fueron reportados por Wei *et al.* (2008) donde la varianza genética tuvo mayor contribución que la interacción genotipo x ambiente en el contenido de almidón y lípidos.

En el contenido de proteína, se obtuvo un efecto similar de la varianza genética y del año, y la varianza de la interacción mostró la menor contribución respecto a los otros componentes del grano (Tabla 3.5). Wei *et al.* (2008) obtuvieron un mayor efecto de la interacción genotipo x ambiente (61,5 %) en relación a la varianza genética total (38,5 %) en el contenido de proteínas entre 10 líneas endocriadas de maíz. De manera similar, Li *et al.* (2009) demostraron que la mayor parte de la varianza genética en el contenido de proteína entre 14 líneas de maíz fue aditiva. No obstante, los efectos tanto de la varianza genética total y aditiva fueron bajos (35,83 % y 33,94 %, respectivamente), indicando que los factores ambientales tienen fuerte influencia sobre este rasgo. Estos reportes se asemejan a los resultados obtenidos en este estudio de tesis en el contenido de proteína, con la diferencia que el efecto del año tuvo

mayor contribución a la variabilidad total analizada en comparación al efecto de la interacción genotipo x año (Tabla 3.5).

### Variaciones anuales en la composición centesimal

En este estudio de tesis, los genotipos de maíz *opaco-2* fueron analizados durante dos ciclos consecutivos (2011/12 y 2012/13), sembrados a finales de diciembre, en la misma localidad (Capilla de los Remedios). Durante el cultivo se registraron las temperaturas del aire (mínimas, máximas y medias) (Tabla 2.1) y las precipitaciones acumuladas (Tabla 2.1, Anexo 2). Las temperaturas medias mensuales fueron menores a 30 °C en ambos ciclos. Sin embargo, se observaron diferencias significativas en las temperaturas máximas relevadas durante el periodo de llenado de los granos entre años (Tabla 2.1, Anexo 1), pudiendo haber afectado en mayor o menor grado la síntesis de los distintos componentes de los granos, lo que pudo haber contribuido en las variaciones anuales significativas obtenidas entre ciclos.

**Tabla 3.6.** Variación anual en el contenido total de proteína, almidón, lípidos y cenizas de las harinas de doce familias de medios hermanos (2012) de maíz *opaco-2* y de sus progenies individuales (2013)

	<sup>1</sup> 2012	2013
<b>Proteína (g/100 g)</b>	10,26 a	11,42 b
<b>Almidón (g/100 g)</b>	64,97 b	62,64 a
<b>Lípidos (g/100 g)</b>	8,24 a	8,57 b
<b>Cenizas (g/100 g)</b>	1,87 a	1,97 b

Valores seguidos por letras distintas en la misma fila son significativamente distintos ( $p < 0,05$ )

<sup>1</sup> Los datos mostrados cada año corresponden al promedio de las doce familias de medios hermanos seleccionados durante el primer ciclo (2012) y al promedio de las doce progenies individuales obtenidas al año siguiente (2013).

El promedio anual en el contenido de proteína de genotipos *opaco-2* mostró un incremento de 10,26 g/100 g en 2012 a 11,42 g/100 g en 2013, y el contenido de almidón disminuyó de 64,97 g/100 g en 2012 a 62,64 g/100 g en 2013 (Tabla 3.6). Un menor contenido

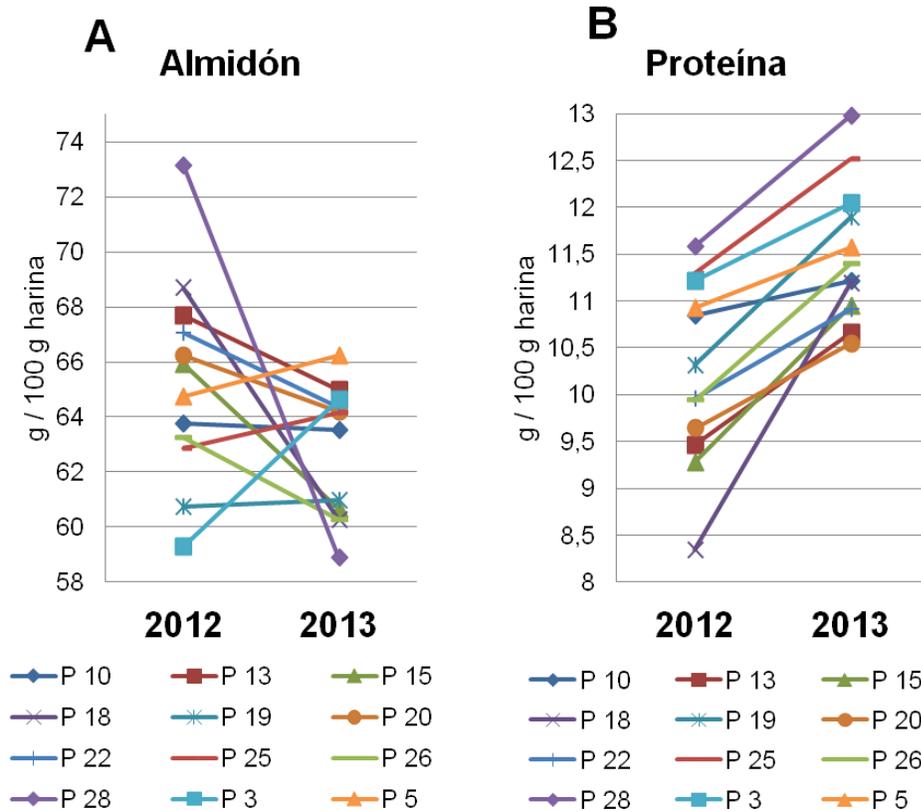
de almidón en el endosperma de maíz, resulta en un aumento en el contenido de proteína (Serna-Saldivar, 2010), lo que coincide con la correlación negativa obtenida entre proteína y almidón ( $r = -0,34$ ;  $p < 0,05$ ) dentro de los genotipos *o2*. Varias investigaciones demostraron que condiciones de altas temperaturas durante el llenado de los granos produce un incremento del contenido de proteína y una disminución en el de almidón, induciendo cambios en las propiedades fisicoquímicas (Prasad *et al.*, 2008; Wang y Frei, 2011; Cairns *et al.*, 2012; Thitisaksakul *et al.*, 2012; Beckles y Thitisaksakul, 2014; Lu *et al.*, 2016). El efecto ambiental es mayor al inicio del período de llenado de granos debido a la interferencia de los procesos fisiológicos y bioquímicos de las células, y a una alteración de la actividad enzimática (Thitisaksakul *et al.*, 2012). En el año 2013, se registró un significativo aumento de la temperatura máxima media del mes de abril en relación al año 2012, comprendido dentro el rango de promedios históricos para Córdoba (ver Tabla 2.1 y Figura 1 de Anexo 1), período en el cual se inició el llenado de granos en las progenies (Figura 3.1). No obstante, las precipitaciones registradas en el mismo periodo fueron mayores en 2013, sobre todo durante la primera quincena de abril y la primera de mayo (Anexo 2), sugiriendo buena disponibilidad de agua durante todo el desarrollo de los granos. Esto podría indicar que principalmente las altas temperaturas pudieron haber influido en la biosíntesis de los componentes del grano durante el período de llenado, traduciéndose en un aumento anual del contenido de proteína y una disminución del almidón en las progenies 2013 (Tabla 3.6). Del mismo modo, esto podría reflejar en parte la fuerte contribución del efecto del año en la variabilidad total obtenida en el contenido total de proteína de los genotipos *opaco-2* (Tabla 3.5).

Por otro lado, la proteína en el grano de maíz es muy dependiente del nivel de nitrógeno en el suelo (Kniep y Mason, 1991; Ngaboyisonga *et al.*, 2008; Serna-Saldivar, 2010), cuyas variaciones tienen una relación directa en la relación proteína/almidón en la semilla, lo que influye además en la funcionalidad del almidón (Beckles *et al.*, 2012; Beckles y Thitisaksakul, 2014). En este estudio de tesis, no se realizó fertilización nitrogenada en ningún ciclo de cultivo, y las condiciones experimentales en ambos años fueron similares. Sin embargo, los contenidos de nitrógeno iniciales en el suelo no fueron cuantificados.

El contenido de lípidos y cenizas mostraron un incremento medio anual de 8,24 g/100 g en 2012 a 8,57 g/100 g en 2013 y de 1,87 g/100 g en 2012 a 1,97 g/100 g en 2013, respectivamente. Sin embargo, estas variaciones anuales no tuvieron un fuerte efecto en la variabilidad total (Tabla 3.5). En el grano de maíz, los lípidos se encuentran principalmente en el germen; por lo tanto, si el tamaño del germen es grande, se traduce en un mayor contenido de lípidos en el grano (Lambert *et al.*, 1998). La respuesta correlacionada entre el germen y el tamaño del endosperma, y los cambios en la proporción germen/endosperma, puede resultar en variaciones en los demás componentes del grano (Lambert, 2001). Además, el contenido de lípidos del endosperma tienen un importante rol en las propiedades de gelatinización (Tester, 1997) y retrogradación del almidón (Boltz y Thompson, 1999).

Los cambios observados de una cosecha a otra, evidencian diferencias en la composición centesimal de los granos. La mayor parte de la variabilidad total obtenida en la composición centesimal fue atribuida a las diferencias genéticas entre las familias cosechadas en 2012, y sus progenies obtenidas en 2013 (Tabla 3.5). Sin embargo, la varianza del año y de la interacción genotipo x año también contribuyeron, pero en menor medida. La variabilidad genética dentro de familias de medios hermanos es mayor que en líneas endocriadas o híbridos, donde los cambios en la expresión del fenotipo son atribuidos principalmente al efecto del ambiente (Borojevic, 1990; Acquaah, 2012).

Los promedios anuales no contemplan el comportamiento individual de cada genotipo en cada ciclo de cultivo. Por ello, se analizaron las variaciones individuales de cada familia cosechada en 2012, y de sus progenies obtenidas al año siguiente (2013). La Figura 3.3 presenta sólo los cambios mostrados en el contenido de proteína y almidón, debido a que son los componentes mayoritarios del grano de maíz, y además presentaron mayores contribuciones del efecto año y de la interacción genotipo x año (Tabla 3.5). La composición y las propiedades de las proteínas y del almidón se desarrollarán en profundidad en secciones posteriores de esta tesis.



**Figura 3.3.** Variaciones anuales en el contenido total de almidón (A) y proteína (B) de las doce familias de medios hermanos de maíz *opaco-2* (2012) y de sus progenies individuales (2013)

Cuando la respuesta fenotípica producida por un cambio de las condiciones ambientales no es la misma para todos los genotipos, ocurre interacción genotipo x ambiente. Esto hace que se manifieste cambio de *ranking*, explicado como el resultado de una reacción diferencial de los genotipos frente a las características ambientales particulares en donde son cultivados (Gambin *et al.*, 2016). Este factor determina la estabilidad fenotípica de los cultivos en una amplia gama de ambientes (Roostaei *et al.*, 2014). El contenido total de almidón presentó mayores diferencias entre las familias cosechadas en 2012 (de 59 g/100 g a 73 g/100 g), en relación a sus progenies obtenidas en 2013, cuyo rango de oscilación fue menor respecto a sus padres (de 58 g/100 g a 66 g/100 g). Todos los genotipos presentaron cambio de *ranking* entre años (Figura 3.3 A), lo

que denota interacción genotipo x ambiente. Por otro lado, el contenido de proteínas varió de 8,34 g/100 g a 11,58 g/100 g en las familias 2012, y mostró un aumento en sus progenies al ciclo siguiente (de 10,55 g/100 g a 12,98 g/100 g). Sin embargo, los cambios de *ranking* entre años no fueron tan marcados como en el caso del almidón (Figura 3.3 B), lo que puede explicar la menor contribución del efecto de la interacción genotipo x año a la variabilidad total presentada por el contenido de proteína (Tabla 3.5). El estrés hídrico y las altas temperaturas del aire y del suelo son los principales factores de estrés que afectan sobre todo la síntesis de almidón en el grano y alteran su funcionalidad (Tester y Karkalas, 2001; Jiang *et al.*, 2003; Battisti y Naylor, 2009; Thitisaksakul *et al.*, 2012), y el efecto es mayor al inicio del período de llenado de granos debido a una alteración de la actividad enzimática (Thitisaksakul *et al.*, 2012). En este estudio de tesis, la influencia de factores climáticos como variaciones en la disponibilidad de agua y las mayores temperaturas máximas del año 2013 durante el llenado de los granos, podrían explicar la mayor contribución de la interacción genotipo x año obtenida en el contenido de almidón en relación al de proteína, viéndose más afectado por las condiciones ambientales particulares presentadas en cada año de cultivo.

Entre todos los genotipos analizados, es importante destacar el comportamiento de algunas progenies. La P28 mostró significativamente el mayor contenido de almidón en 2012 (73 g/100 g), y su progenie en 2013 presentó el menor valor en relación al resto de las muestras (59 g/100 g). A la vez, esta muestra presentó el mayor contenido de proteína en ambos años de estudio (11,58 g/100 g en 2012 y 12,98 g/100 g en 2013), por lo tanto, no mostró cambio de *ranking* como en el caso del almidón (Figura 3.3). Junto con la P28, las familias que presentaron los mayores contenidos proteicos en ambos años fueron la P25 (11,29 g/100 g en 2012 y 12,52 g/100 g en 2013) y la P3 (11,21 g/100 g en 2012 y 12,05 g/100 g en 2013), manteniéndose dentro del grupo de genotipos con mayores niveles de proteína y sin mostrar cambio de *ranking* entre años. La P3 por su parte, presentó el menor contenido de almidón en 2012 (59 g/100 g), y mostró cambio de *ranking* al año siguiente (64 g/100 g). Por otro lado, el contenido de almidón de la P19 no presentó variación entre años (60,7 g/100 g en 2012 y 60,9 g/100 g en 2013), y sin

embargo, se observó un aumento significativo en su contenido de proteína (de 10,32 g/100 g en 2012 a 11,9 g/100 g en 2013) (Figura 3.3).

El análisis de las variaciones en los promedios anuales muestra tendencias generales en los cambios proporcionales del contenido de proteína y almidón de los granos. Sin embargo, aquellos genotipos cuyos aumentos en los niveles de almidón no fue acompañado con una disminución del contenido de proteína, indican que otros componentes menores de los granos, como el contenido de lípidos, fibra o cenizas, pudieron haber cubierto esas diferencias proporcionales en los componentes mayoritarios de los mismos. Estos comportamientos revelan las diferencias genéticas entre padres e hijos, además de la influencia del ambiente en cada año de estudio.

## **COMPOSICIÓN PROTEICA**

Las proteínas de maíz se clasifican en cuatro fracciones de acuerdo a su solubilidad como albúminas, globulinas, glutelinas y zeínas (Osborne, 1924). Las zeínas representan la principal proteína del grano y son solubles en etanol e insolubles en agua. Las albúminas son hidrosolubles, mientras que las globulinas son solubles en soluciones salinas. Las glutelinas por su parte, son solubles en soluciones alcalinas (Landry y Moureaux, 1980; Malumba *et al.*, 2008; Ortiz-Martinez *et al.*, 2017). En este estudio de tesis, se realizó una extracción secuencial y se obtuvieron las diferentes fracciones. Con el fin de facilitar el análisis de la composición proteica de los genotipos con la literatura citada, se agruparon las fracciones en no-zeínas (albúminas, globulinas y glutelinas), ricas en lisina y triptófano, y en zeínas, deficientes en estos aminoácidos (Landry *et al.*, 2005). Los valores se expresaron como porcentaje de proteína de la fracción a partir de la harina en base seca (g / 100 g de harina) (Tabla 3.7).

**Tabla 3.7.** Contenido de zeínas y no-zeínas (albúminas, globulinas, y glutelinas) (g/100 g de harina) y porcentaje de digestibilidad *in vitro* de proteínas de las harinas de genotipos de maíz *opaco-2*, blanco y pisingallo

<sup>1</sup> Genotipo	Zeínas (Z+Z2)	No Zeínas			<sup>3</sup> Digestibilidad (%)	
		Albúminas (AL)	Globulinas (GB)	AL+GB		
<b>P 3</b>	3,74 f	1,83 c	1,58 b	3,40 b	2,80 a	74,91 b
<b>P 5</b>	2,20 c	1,98 c	1,27 a	3,25 b	3,21 b	59,10 a
<b>P 10</b>	2,15 c	1,40 a	1,44 a	2,85 a	3,77 d	68,45 b
<b>P 13</b>	2,22 c	2,31 d	1,90 c	4,21 d	4,38 e	72,30 b
<b>P 15</b>	1,72 a	2,23 d	1,39 a	3,62 c	3,18 b	67,66 b
<b>P 18</b>	2,05 b	2,23 d	1,60 b	3,83 c	3,54 c	89,38 c
<b>P 19</b>	2,36 c	2,72 f	1,70 b	4,40 e	3,44 c	70,37 b
<b>P 20</b>	2,29 c	1,99 c	1,39 a	3,37 b	2,90 a	89,05 c
<b>P 22</b>	1,64 a	2,22 d	1,92 c	4,14 d	3,48 c	91,09 c
<b>P 25</b>	2,22 c	2,47 e	1,67 b	4,14 d	3,49 c	84,59 c
<b>P 26</b>	2,68 e	2,00 c	1,61 b	3,61 c	3,41 c	61,89 a
<b>P 28</b>	2,47 d	2,36 d	1,77 b	4,12 d	3,19 b	80,11 c
<b>POro2</b>	2,05 b	1,62 b	1,77 b	3,39 b	3,45 c	85,33 c
<sup>2</sup> <b>Opacos</b>	2,29 a	2,10 b	1,61 b	3,71 b	3,41 b	76,48 b
<b>BL</b>	4,85 b	1,00 a	1,01 a	2,01 a	2,35 a	69,99 a
<b>PS</b>	4,72 b	1,06 a	0,97 a	2,02 a	2,92 a	67,59 a

Valores seguidos por letras distintas en la misma columna son significativamente distintos ( $p < 0,05$ )

<sup>1</sup>Los valores de cada genotipo (P) corresponden al promedio entre ambas cosechas (2012 y 2013), y fueron comparados con el material genético de partida (POro2)

<sup>2</sup>El promedio de todos los genotipos *opaco-2* (Opaco) fue comparado con los valores promedios de los genotipos de maíz blanco (BL) y pisingallo (PS) usados como testigos no-opacos.

<sup>3</sup>El porcentaje de digestibilidad expresa g de proteína digerida en función del total de proteínas presentes en la muestra

## CONTENIDO DE LAS FRACCIONES

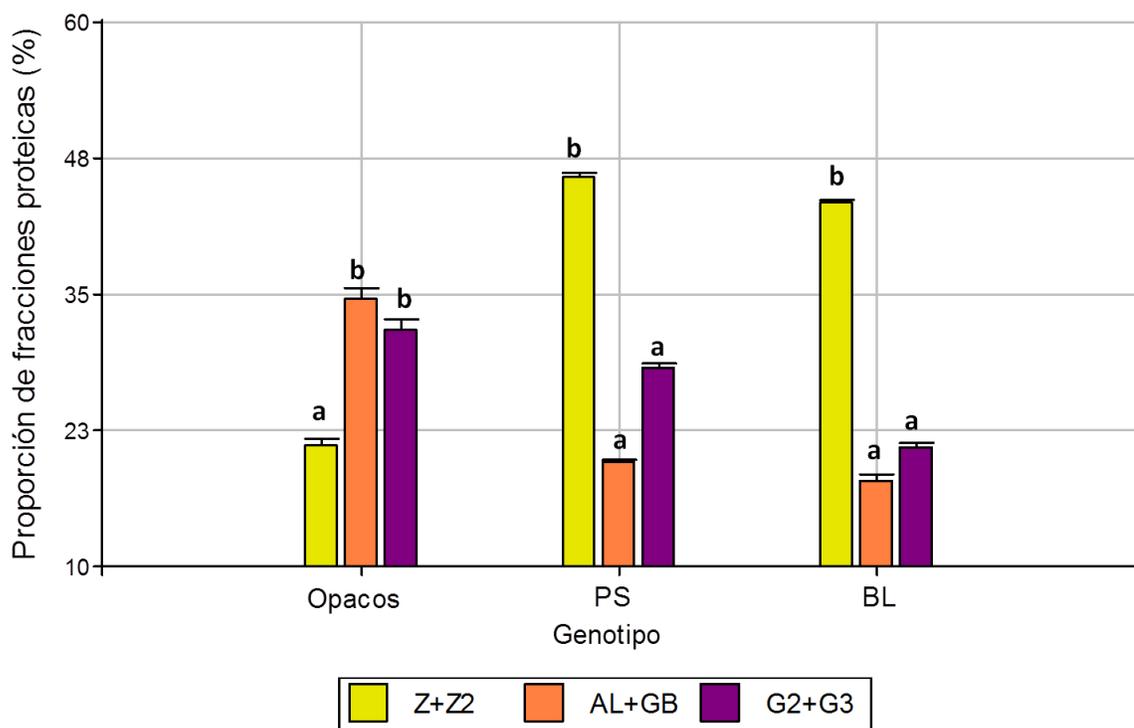
Se obtuvieron diferencias significativas entre genotipos *opaco-2* en el contenido de las fracciones del grupo de las zeínas y no-zeínas (Tabla 3.7). Similares contenidos de ambos grupos de fracciones proteicas fueron reportados por Hunter *et al.* (2002) en la línea mutante W64A $\alpha$ 2. Estudios afines (Landry *et al.*, 2004) obtuvieron un similar contenido de glutelinas (3,48 %), mayor contenido de zeínas (6,85 %) y menor de albúminas+globulinas (0,65 %) en líneas

endocriadas de maíz harinoso, en relación a los promedios obtenidos en los genotipos *o2* de esta tesis (Tabla 3.7). Por otro lado, un menor rango de la fracción de albúminas+globulinas fue obtenido por Landry *et al.* (2005) en el endosperma de seis líneas endocriadas mutantes *o2* (de 2,2 % a 2,9 %). Sin embargo, las líneas de endosperma blando sin la mutación *o2* presentaron una media de 2,7 %, frente a 0,3 % obtenido en las de endosperma duro. Estos valores son menores al contenido de albúminas+globulinas presentado en los genotipos utilizados como testigos en este estudio de tesis (Tabla 3.7). Los genotipos de endosperma blando o harinoso presentan una mayor síntesis de fracciones no-zeínicas previo a la síntesis de zeínas durante el desarrollo del grano (Landry *et al.*, 2005). Además, en genotipos mutantes *o2*, la disminución en la síntesis de zeínas podría estar relacionada a una baja capacidad de almacenamiento de los cuerpos proteicos del endosperma, lo que promueve la síntesis de no-zeínas como un efecto compensatorio (Landry *et al.*, 2005), traducándose en mayores contenidos de albúminas, globulinas y glutelinas en el grano maduro (Landry *et al.*, 2002, 2004).

Estudios similares en variedades QPM (Ortiz-Martinez *et al.*, 2017) reportaron contenidos de albúminas y globulinas semejantes a los promedios obtenidos en este estudio de tesis en los genotipos *o2* (Tabla 3.7). Sin embargo, los genotipos no-QPM (de endosperma normal) presentaron valores menores de albúminas y globulinas a los mostrados en maíz blanco y pisingallo usados como controles en esta tesis. La síntesis y acumulación de albúminas y globulinas se produce previo a la síntesis de zeínas (Landry *et al.*, 2005), y declina rápidamente durante la maduración de los granos de genotipos de endosperma normal en relación a genotipos *o2* y QPM. Sin embargo, el contenido final de albúminas+globulinas en el grano maduro en éstos últimos es el doble respecto a los genotipos de endosperma normal (Wall y Bietz, 1987; Ortiz-Martinez *et al.*, 2017). Tanto en genotipos *o2* y QPM, se suprime la síntesis de  $\alpha$ -zeínas de 22 kDa. Sin embargo, el endosperma QPM posee mayor dureza debido a una mayor proporción de  $\gamma$ -zeínas de 27 kDa, lo que contribuye a la modificación endospermática en este germoplasma en relación al *o2* (Prasanna *et al.*, 2001; Shewry, 2007). No obstante, la síntesis y

acumulación de albúminas y globulinas se duplica tanto en mutantes *o2* y QPM en relación a genotipos normales (Wu *et al.*, 2010; Tang *et al.*, 2013; Ortiz-Martinez *et al.*, 2017).

Algunas progenies presentaron comportamientos diferenciales al ser analizadas de manera individual. La P3 mostró significativamente el mayor contenido de zeínas (3,74 %) y el menor de glutelinas (2,8 %) que el resto de los genotipos analizados (Tabla 3.7). Cabe destacar que esta progenie también presentó uno de los mayores contenidos de proteína total (11,63 g/100 g) (Tabla 3.4). La síntesis de zeínas muestra una relación lineal en función del contenido total de proteínas, independientemente de las condiciones de cultivo (Landry *et al.*, 2005). Contrariamente, las P15 y P22 presentaron significativamente los menores contenidos de zeínas (1,72 % y 1,64 %, respectivamente), y ésta última se ubicó entre las muestras con mayores contenidos de albúminas+globulinas (4,14 %) y glutelinas (3,48 %) que el resto de las progenies, y en relación a la población original (POro2) (Tabla 3.7). La mutación *o2* se diferencia al resto de las mutaciones no-*o2* en que la cantidad de zeínas acumuladas en el endospermo maduro se reduce. A pesar de ello, existen pocas evidencias sobre la velocidad de acumulación de las zeínas durante las distintas etapas de maduración del grano en líneas con mutaciones distintas a la *o2* (Landry *et al.*, 2005). Estos comportamientos diferenciales observados en algunas progenies permiten identificar genotipos con características de mejor calidad proteica, ya que el menor contenido de zeínas indica un mayor valor biológico de la proteína de maíz de acuerdo al balance de aminoácidos esenciales (Ortega *et al.*, 2001; Gibbon y Larkins, 2005).



Medias seguidas por letras distintas, indican diferencias significativas

**Figura 3.4.** Proporción de las fracciones de zeínas (Z+Z2), de albúminas+globulinas (AL+GB) y de glutelinas (G2+G3) en función del contenido total de proteína de los genotipos *opaco-2* (opacos) (promedio de todas las familias 2012 y progenies 2013), maíz pisingallo (PS) y blanco (BL) usados como testigos no-opacos

Para facilitar la comparación de la composición proteica en los genotipos *opaco-2* con los genotipos no-opacos usados como testigos, se expresaron las diferentes fracciones como proporciones del contenido total de proteínas. El valor promedio de la proporción de zeínas en genotipos *opaco-2* (21,09 %) fue menor al de albúminas+globulinas (34,64 %) y glutelinas (31,83 %) (Figura 3.4). Estos resultados coinciden con otras investigaciones donde la variación en la composición proteica en mutantes *o2* en relación a los genotipos normales, es atribuida principalmente a una disminución de la fracción de zeínas (Arruda *et al.*, 1978; Wall y Bietz, 1987; Hunter *et al.*, 2002; Landry *et al.*, 2005; Gibbon y Larkins, 2005; Wu *et al.*, 2010; Tang *et al.*, 2013; Ortiz-Martinez *et al.*, 2017).

Como se pudo observar en la composición centesimal de las harinas analizadas (Tabla 3.4), no se obtuvieron diferencias significativas en la proteína total cuando se comparó el promedio de los genotipos *opaco-2*, con el maíz blanco y pisingallo. Sin embargo, al analizar la distribución de las fracciones proteicas, la proporción de zeínas obtenida en genotipos *opaco-2* (21,09 %) fue significativamente menor a la de maíz pisingallo (45,71 %) y blanco (43,46 %) (Figura 3.4). Resultados similares fueron obtenidos por Yau *et al.* (1999) en la línea endocriada experimental MO17, cuyas proporciones de zeínas en sus versiones homólogas *o2* y QPM fueron significativamente menores a su contraparte normal, y no mostraron diferencias en la proteína total. La mutación *o2* en estado homocigota modifica la calidad de la proteína de maíz, pero no cambia el contenido total de proteína del grano (Gibbon y Larkins, 2005; Vivek *et al.*, 2008).

Landry *et al.* (2005) reportaron mayor proporción de zeínas en genotipos mutantes *o2* de endosperma blando (41,5 %) respecto a los obtenidos en los genotipos *o2* de esta tesis (21 %). Sin embargo, otros estudios (Wall y Bietz, 1987) reportaron similar proporción de zeínas en genotipos de endosperma *o2* (20 %) respecto a los genotipos opacos de este estudio de tesis (Figura 3.4), mientras que la proporción de zeínas de los genotipos de endosperma normal (60 %), fueron considerablemente mayores a los mostrados por los maíces no-opacos utilizados como testigos en el presente estudio. De igual modo, Malumba *et al.* (2008) obtuvieron mayor proporción de zeínas en maíz flint (55,3 %) bajo similares condiciones de extracción a las realizadas en esta investigación.

Los genotipos *opaco-2* mostraron un promedio significativamente mayor en proporción de albúminas+globulinas (34,64 %) y de glutelinas (31,83 %) respecto al maíz blanco (18 % y 21 %, respectivamente) y pisingallo (19,55 % y 28,27 %, respectivamente) (Figura 3.4). Paulis y Wall (1969) y Malumba *et al.* (2008) obtuvieron en maíz flint resultados semejantes a los obtenidos en esta tesis en maíz blanco y pisingallo. Por otro lado, las proporciones de glutelinas

presentadas por los genotipos *opaco-2* de este estudio estuvieron comprendidas dentro del amplio rango de variabilidad reportado por Wang *et al.* (2008) en líneas provenientes de una población de introgresión (entre 17,1 % y 45,27 %).

Arruda *et al.* (1978) demostraron que la menor síntesis de zeínas durante el desarrollo de los granos en mutantes *o2*, no afectó la síntesis de glutelinas. Sin embargo, Wall y Bietz (1987) obtuvieron menor proporción de zeínas, y un incremento en las glutelinas en la línea mutante *o2*. Paralelamente, observaron que a medida que avanzaba la maduración del grano, las proporciones de albúminas y globulinas mostraron una declinación mucho más marcada en el endosperma de maíz normal respecto al de *o2*. No obstante, la cantidad final de albúminas y globulinas en el grano maduro fue dos veces mayor en el maíz *o2* respecto al normal. Esto indica que las fracciones no-zeínicas se sintetizan previo a las zeínas durante la maduración del grano, lo que fue también demostrado en años posteriores por Landry *et al.* (2005). La mayor síntesis de albúminas y globulinas durante el desarrollo de los granos de mutantes *o2*, podría estar relacionado al mayor incremento observado en la suma de estas dos fracciones respecto al aumento observado en la proporción de glutelinas en los genotipos *opaco-2* en relación a los testigos no-opacos analizados en este estudio de tesis (Figura 3.4).

## **DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DE PROTEÍNAS**

Con el objetivo de evaluar la digestibilidad de las proteínas de los granos opacos y no-opacos para el consumo humano, las harinas de grano entero fueron cocidas en agua previamente a ser sometidas a la digestión *in vitro*. Los genotipos *opaco-2* mostraron diferencias significativas en los porcentajes de digestibilidad, cuyos valores oscilaron entre 59 % a 91 % (Tabla 3.7). La P22 mostró el mayor valor (91,1 %), aunque no difirió significativamente de las P18 (89,4 %), P20 (89,05 %), P25 (84,6 %), P28 (80,1 %) y POr (85,3 %). Menores valores

fueron obtenidos por Duodo *et al.* (2002) en harinas blancas y harinas de grano entero de maíz cocidas y no cocidas sometidas a digestión con pepsina (entre 62 % a 68 %). Diversos trabajos demostraron que la digestibilidad de las proteínas *in vitro* permanece similar o decrece ligeramente durante la cocción de la masa para hacer tortillas de maíz (Serna-Saldívar *et al.*, 1988; Mora-Avilés *et al.*, 2007; Gutiérrez-Dorado *et al.*, 2008).

Muchas investigaciones se enfocaron en el análisis de las propiedades de las proteínas de los granos de maíz *opaco-2* y QPM luego de los procesamientos más comúnmente realizados en estos maíces para su consumo. Rojas-Molina *et al.* (2008) obtuvieron una variación en la digestibilidad *in vitro* de las proteínas de 70,3 % a 77,2 % en harinas nixtamalizadas de maíz QPM. Por otro lado, Reyes-Moreno *et al.* (2003) reportaron una disminución en la digestibilidad en harinas QPM de 79,05 % a 74,3 % luego de un tratamiento de cocción por extrusión con cal, lo que fue atribuido a cambios en la estructura de las proteínas debido a este proceso. Sin embargo, Gutiérrez-Dorado *et al.* (2008) no observaron cambios significativos en la digestibilidad *in vitro* de las proteínas en la harina cruda de maíz QPM respecto a las tratadas mediante procesos de nixtamalización y extrusión, cuyos valores oscilaron en un rango similar (74 % a 75 %) al obtenido en este estudio de tesis en los genotipos *o2* (Tabla 3.7). Otros reportes confirman que el proceso de fermentación a los granos mejora la digestibilidad de las proteínas tanto *in vitro* como *in vivo* (Cuevas-Rodríguez *et al.*, 2006).

A pesar que varios trabajos confirman cambios en las propiedades de las proteínas en granos y harinas cocidas bajo diferentes tratamientos, es importante destacar también cómo influyen las propias características intrínsecas de los granos como su estructura y composición en la digestibilidad *in vitro* de las proteínas luego de ser sometidos a un proceso de cocción. En esta tesis, la digestibilidad *in vitro* de las proteínas en harinas cocidas fue mayor en genotipos *opaco-2* (promedio de 76,5 %) respecto al maíz blanco (70 %) y pisingallo (67,6 %) (Tabla 3.7). Duodo *et al.* (2002) evaluaron el efecto de la cocción en la digestibilidad de las proteínas, e indicaron que el mayor grado de empaquetamiento del almidón en la matriz proteica en el

endosperma vítreo, puede afectar la accesibilidad de las enzimas digestivas a las partículas de harina. Esto podría explicar la menor digestibilidad *in vitro* de las proteínas obtenida en los testigos de endosperma duro respecto a los genotipos o2. Por otro lado, varias investigaciones sugirieron que un aumento en la fracción de glutelinas y de nitrógeno residual puede afectar la digestibilidad de las proteínas debido a la formación de complejos proteicos durante la cocción, constituyendo estructuras terciarias estabilizadas por enlaces disulfuros o fuerzas de atracción no-covalentes, lo que disminuye la solubilidad de las proteínas y resultan en componentes indigestibles por las enzimas digestivas (Paredes-López y Mora, 1983; Ortega *et al.*, 1986; Vivas *et al.*, 1987).

Algunos estudios previos demostraron reducciones significativas en la digestibilidad *in vitro* de las proteínas en harinas de grano entero de variedades de sorgo luego de la cocción. Sin embargo, en maíz no fue observado el mismo comportamiento, mostrando mayor digestibilidad en comparación al sorgo (Mertz *et al.*, 1984; Hamaker *et al.*, 1986; Duodu *et al.*, 2002). El proceso de cocción induce la formación de proteínas oligoméricas unidas por puentes disulfuros, y que envuelven las prolaminas monoméricas (Oria *et al.*, 1995; Batterman-Azcona y Hamaker, 1998). Estas estructuras proteicas dependen de la composición y conformación de las prolaminas de cada cereal, y son más débiles en maíz respecto al sorgo (Oria *et al.*, 1995), dando como resultado menor resistencia a la acción enzimática, lo que podría explicar la mayor digestibilidad de las proteínas mostrada en maíz en relación al sorgo (Duodu *et al.*, 2002). Las diferencias obtenidas entre genotipos o2, y en comparación al maíz blanco y pisingallo usados como testigos en esta tesis, indicarían que la cantidad de zeínas del endosperma podría ser uno de los principales factores que influyeron en la digestibilidad *in vitro* de las proteínas luego de la cocción de la harina.

En relación al almidón, Duodu *et al.* (2002) indicaron que el almidón gelatinizado podría reducir la digestibilidad de las proteínas. El enfriamiento luego de la cocción lleva a la formación de almidón resistente que forma complejos con las proteínas y son menos susceptibles a los

procesos digestivos (Bach-Knudsen *et al.*, 1988; Duodu *et al.*, 2002). Sin embargo, los genotipos analizados en este estudio mostraron bajos niveles de almidón resistente luego de ser sometidos a la cocción, como se muestra en la sección de almidón de esta tesis (Tabla 3.13).

### Componentes de la varianza

Se estimaron los componentes de la varianza en las distintas variables de la caracterización proteica de las harinas de genotipos *opaco-2*, con el fin de apreciar los efectos de las diferentes fuentes de variación a la variabilidad total.

**Tabla 3.8.** Contribución relativa de la varianza genética (VG), del año (VA) y de la interacción genotipo x año ( $V_{G \times A}$ ) a la variabilidad total en la composición proteica

	<b>Zeínas</b>	<b>Albúminas + Globulinas</b>	<b>Glutelinas</b>	<b>Digestibilidad de proteínas</b>
<b>VG (%)</b>	92,01	64,22	82,73	86,07
<b>VA (%)</b>	3,28	32,43	10,56	1,99
<b><math>V_{G \times A}</math> (%)</b>	4,71	3,35	6,71	11,94

En el contenido de zeínas, la variabilidad obtenida fue más del 90 % debido al efecto genético, y los efectos del ambiente (3,28 %) y de la interacción (4,71 %) fueron considerablemente menores (Tabla 3.8). Esto indica que las variaciones observadas en las zeínas se debieron exclusivamente a las diferencias genéticas entre progenies. El contenido de zeínas es dependiente del genotipo, debido al estricto control de la expresión espacial y temporal de los genes que las codifican, independientemente de las condiciones de cultivo (Dolfini *et al.*, 1992; Landry *et al.*, 2005). En la dureza del endosperma de germoplasma QPM, los efectos aditivos son más importantes que los efectos no-aditivos debido al *background* genético de la mutación *o2* (Pixley y Bjarnason, 1993; Vasal *et al.*, 1993; Hohls *et al.*, 1996), lo que se

relaciona estrechamente a las zeínas debido a que contribuyen a la dureza del endosperma (Dombrink-Kurtzman y Bietz, 1993).

En el contenido de albúminas+globulinas y de glutelinas, se obtuvo también una fuerte contribución de la varianza genética, menor de contribución del año de cultivo y considerablemente menor efecto de la interacción (Tabla 3.8). El estricto control genético en la codificación de las zeínas altera las proporciones de las fracciones de no-zeínas en genotipos mutantes *o2* (Arruda *et al.*, 1978; Dolfini *et al.*, 1992; Landry, 2002; Landry *et al.*, 2005). Esto podría explicar la fuerte contribución genética obtenida también en las fracciones no-zeínicas en los genotipos de esta tesis.

En la digestibilidad de las proteínas se obtuvieron resultados similares, donde la varianza genética tuvo mayor contribución a la variabilidad total (86,07 %), y el efecto del año fue prácticamente despreciable (1,99 %). Sin embargo, el efecto de la interacción (11,94 %) fue mayor que el resto de las variables analizadas (Tabla 3.8). Las características estructurales de los granos, influyen también en la digestibilidad enzimática de las proteínas además de los procesos de cocción (Duodu *et al.*, 2002), lo que podría indicar la mayor contribución de la varianza genética a la variabilidad total como en el resto de las características analizadas.

## Variaciones anuales en la composición proteica

**Tabla 3.9.** Variaciones anuales en los contenidos de zeínas y no-zeínas (albúminas+globulinas y glutelinas) (g / 100 g de harina) y en la digestibilidad in vitro de las proteínas (%) de las harinas de doce familias de medios hermanos (2012) de maíz *opaco-2* y de sus progenies individuales (2013)

	<sup>1</sup> 2012	2013
<b>Zeínas</b>	2,20 a	2,38 b
<b>No-zeínas</b>		
<b>Albúminas +     Globulinas</b>	3,87 b	3,56 a
<b>Glutelinas</b>	3,43 a	3,40 a
<b>Digestibilidad de proteínas</b>	74,11 a	78,85 b

Valores seguidos por letras distintas en la misma fila son significativamente distintos ( $p < 0,05$ )

<sup>1</sup>Los valores mostrados en 2012 corresponden al promedio de las doce familias de medios hermanos cosechas en ese año. Los datos mostrados en 2013, corresponden al promedio de las doce progenies individuales obtenidas en 2013.

Se obtuvieron diferencias significativas en la composición proteica entre años de estudio (Tabla 3.9) de genotipos *opaco-2*. Como fue observado en la composición centesimal de las harinas, el aumento medio anual en el contenido total de proteína (de 10,26 g/100 g en 2012 a 11,42 g/100 g en 2013) estuvo acompañado con un incremento en la fracción de zeínas (de 2,2 % en 2012 a 2,38 % en 2013). Sin embargo, el efecto del año de cosecha (3,28 %) y de la interacción (4,71 %) en la variabilidad total obtenido en las zeínas fue prácticamente despreciable en relación al efecto genético (92,01 %) (Tabla 3.8). Existe una relación netamente lineal entre el contenido total de proteínas y el de zeínas (Landry, 2002; Landry *et al.*, 2005), lo que podría explicar este comportamiento entre años de cosecha. Esto coincide también con la correlación positiva obtenida entre proteína y zeínas ( $r = 0,44$ ;  $p < 0,05$ ) en los genotipos *o2*.

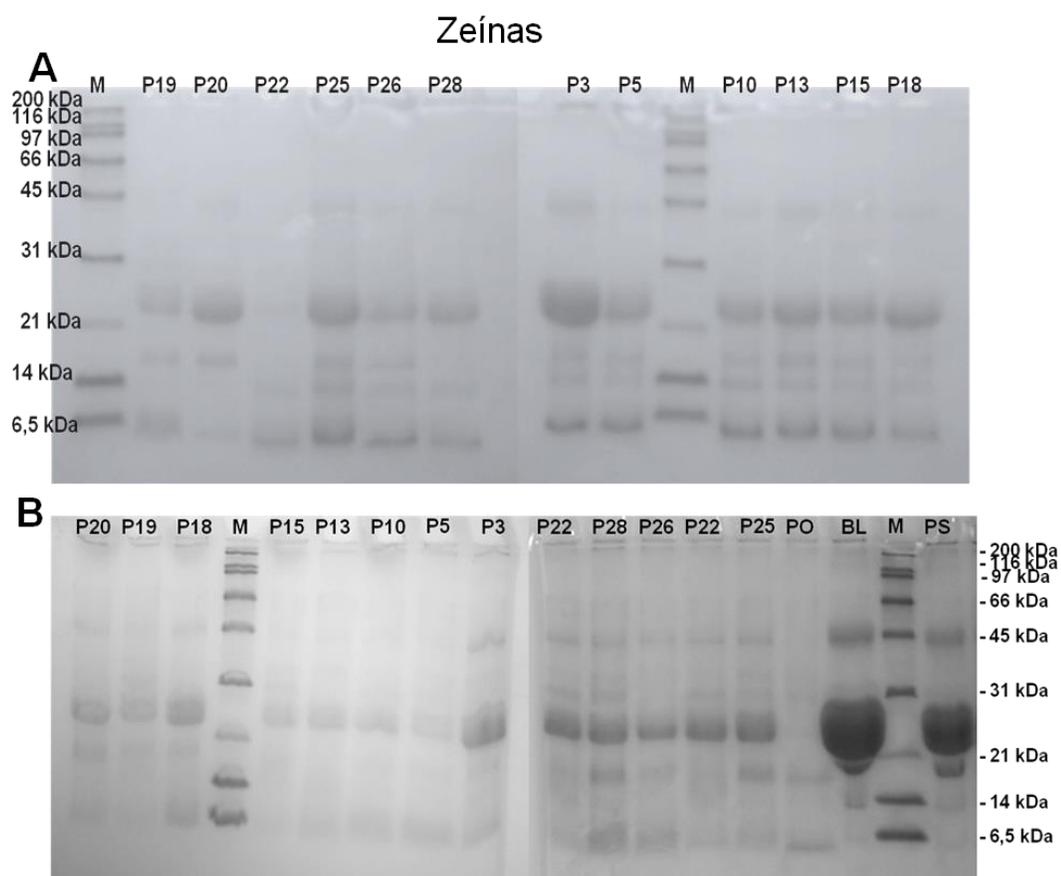
Las fracciones albúminas+globulinas mostraron una disminución anual de 3,87 % en 2012 a 3,56 % en 2013. Sin embargo, la fracción de glutelinas no mostró variación significativa entre años (3,43 % en 2012 y 3,40 % en 2013) a pesar de la correlación positiva obtenida entre

estas dos fracciones ( $r = 0,36$ ;  $p < 0,05$ ). Esto también podría relacionarse al mayor efecto del año de cosecha en la variabilidad total obtenido en las albúminas+globulinas (32,43 %) en comparación a las glutelinas (10,56 %) (Tabla 3.8). La digestibilidad *in vitro* de las proteínas mostró un aumento anual significativo de 74,11 % en 2012 a 78,85 % en 2013. En este caso, esta variación estuvo reflejada en mayor medida por la varianza de la interacción que por la del año, luego de la varianza genética (Tabla 3.8). Li *et al.* (2009) demostraron que los factores ambientales poseen fuerte influencia en el contenido de proteínas, lo que pudo haber influido en las diferencias observadas entre años de cosecha y las mayores contribuciones del año y de la interacción genotipo x año en la composición proteica. No obstante, el efecto genético en el contenido de zeínas es significativamente mayor (Arruda *et al.*, 1978; Dolfini *et al.*, 1992; Landry *et al.*, 2005).

## **ELECTROFORESIS DE LAS FRACCIONES PROTEICAS**

Con el objetivo de analizar los pesos moleculares de los componentes de las fracciones proteicas de los distintos genotipos, se llevó a cabo una electroforesis en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE) de los extractos (Laemmli, 1970). Las siguientes figuras muestran los patrones electroforéticos de las fracciones de zeínas (Figura 3.5), de albúminas (Figura 3.6), de globulinas (Figura 3.7) y de glutelinas (Figura 3.8) de las doce familias de medios hermanos de maíz *opaco-2* seleccionadas durante el primer año (2012) (A), y fueron comparados en cada caso con los patrones electroforéticos de sus progenies individuales obtenidas al año siguiente (2013) (B). En las imágenes correspondientes a la cosecha 2013, se incluyen las muestras de maíz blanco y pisingallo usadas como testigos con fines comparativos. Todos los análisis se realizaron a partir de la harina de grano; por lo tanto, las bandas polipeptídicas reflejan una mezcla proporcional del endosperma harinoso y vítreo.

Se observaron diferencias entre los patrones de bandas de zeínas de genotipos *opaco-2* y respecto a los testigos no-opacos. El patrón de distribución de las proteínas a partir de la harina de grano entero de genotipos mutantes *o2* ha demostrado ser similar al de las proteínas del endosperma blando o harinoso de líneas salvajes de maíz de endosperma normal (Landry *et al.*, 2002, 2004). Aquellas muestras que presentaron bandas de mayor densidad, son las que mostraron mayor contenido proteico de la fracción.



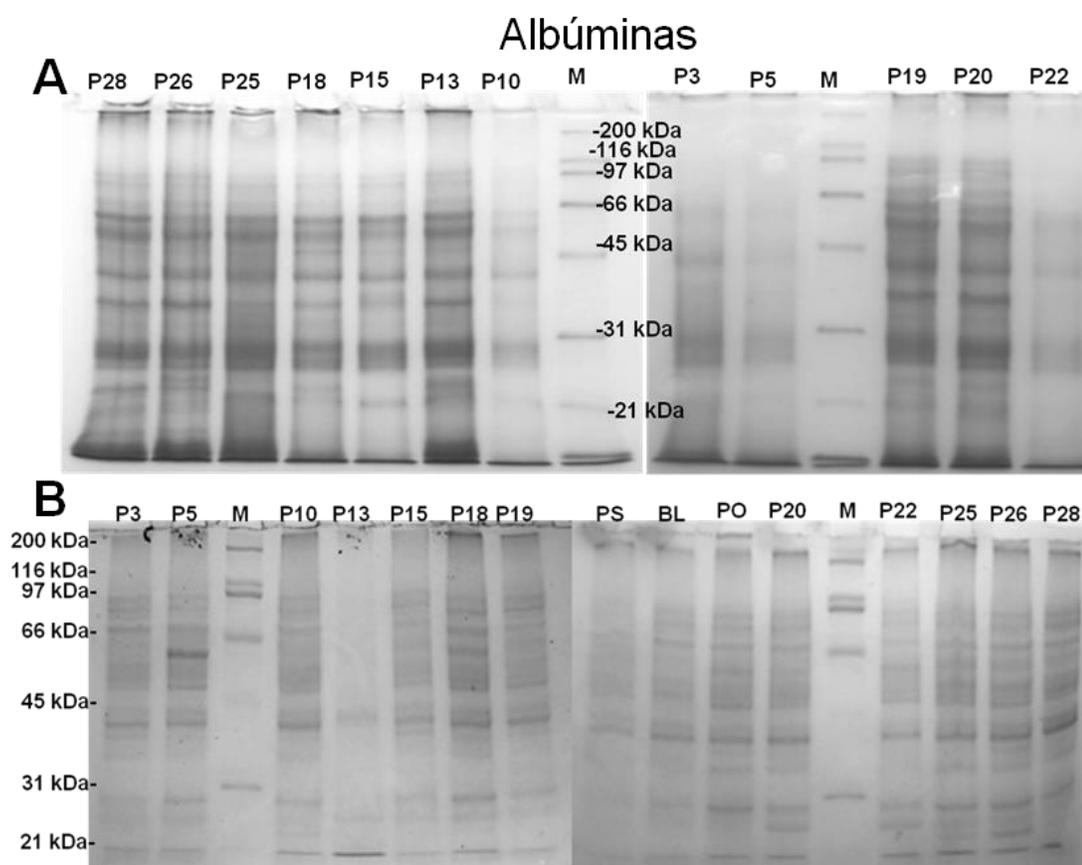
**Figura 3.5.** Patrón electroforético de la fracción de zeínas de las familias de medios hermanos de maíz *opaco-2* seleccionadas en 2012 (A) y de sus progenies obtenidas en 2013 (B). Los carriles representan los genotipos (P), la población original (PO), testigo blanco (BL), pisingallo (PS), y el marcador de peso molecular (M)

El patrón de zeínas mostrado (Figura 3.5) corresponde a la primera extracción soluble en etanol (Z), debido a que contiene la mayor cantidad de zeínas extraídas (Paulis, 1982;

Malumba *et al.*, 2008). Dentro de los genotipos *opaco-2*, las zeínas presentaron bandas de peso molecular comprendido entre 6,5 kDa y 45 kDa en ambas cosechas, y fueron menores a los pesos moleculares de las bandas presentadas por las otras fracciones proteicas. Landry *et al.* (2004) obtuvieron un rango entre 14 kDa a 22 kDa en extractos de zeínas de endosperma vítreo y harinoso. En las progenies 2013, la banda de 45 kDa presentó mayor intensidad en la mayoría de las muestras (Figura 3.5 B) respecto a las familias 2012 (Figura 3.5 A), lo que pudo deberse al aumento en el contenido medio de zeínas presentado en 2013. La P3 mostró mayor intensidad de la banda comprendida entre 21-31 kDa y la de 45 kDa en 2012 respecto a las otras muestras (Figura 3.5 A), lo que coincide con el mayor contenido de zeínas observado en esta muestra en ese mismo año. El menor contenido de zeínas de la P22 observado en 2012 coincidió con la menor intensidad del patrón de bandas de ese año (Figura 3.5 A), mostrando un aumento hacia 2013 (Figura 3.5 B).

Al comparar el patrón de bandas de los testigos no-opacos con los genotipos *o2*, se observó un gran aumento en la intensidad de las bandas entre 21 kDa-31 kDa y de 45 kDa en maíz blanco y pisingallo (Figura 3.5 B), lo que refleja el contenido de zeínas significativamente mayor presentado en estas muestras respecto a los genotipos *opaco-2* (Tabla 3.7, Figura 3.4). Algunos estudios demostraron que la región del endosperma duro del grano de maíz posee mayor contenido de  $\alpha$ -zeína (22 kDa y 19 kDa) y  $\gamma$ -zeína (27 kDa y 16 kDa) (Dombrink-Kurtzman y Bietz, 1993; Hallauer, 2001), y que la  $\gamma$ -zeína de 27 kDa juega un rol importante en la formación del endosperma vítreo, como pudo observarse en la mayor intensidad de la banda de ese peso molecular en maíz blanco y pisingallo en relación a los genotipos *opaco-2* analizados en estudio de tesis (Figura 3.5 B). No obstante, la fuerte intensidad de las bandas comprendidas entre 21 kDa a 31 kDa de genotipos no-opacos, indica que poseen mayor contenido de  $\alpha$ -zeína de 22 kDa y  $\gamma$ -zeínas de 27 kDa, que se observan como una sola banda ancha comprendida entre 22 kDa y 30 kDa, y en este tipo de electroforesis no se alcanzaron a separar como dos bandas individuales debido a la concentración y a que sus pesos moleculares son similares. Malumba *et al.* (2008) obtuvieron similar patrón de bandas de la fracción de

zeínas de un genotipo de maíz flint, donde las bandas de pesos moleculares entre 20 kDa - 30 kDa mostraron una mayor intensidad. Por otro lado, Pereira *et al.* (2008) observaron una fuerte disminución en la intensidad de bandas de zeínas de 22 kDa y 19 kDa en un genotipo mutante *o2* respecto al QPM y a las muestras de endosperma duro. Similares resultados fueron reportados por Wallace *et al.* (1990) en mutantes *o2* de endosperma blando en relación a genotipos de endosperma duro. Sin embargo, otros reportes indicaron que no hay una relación clara entre la aparición de  $\gamma$ -zeína de 27 kDa y el endosperma vítreo (Landry *et al.*, 2004; Gibbon y Larkins, 2005).

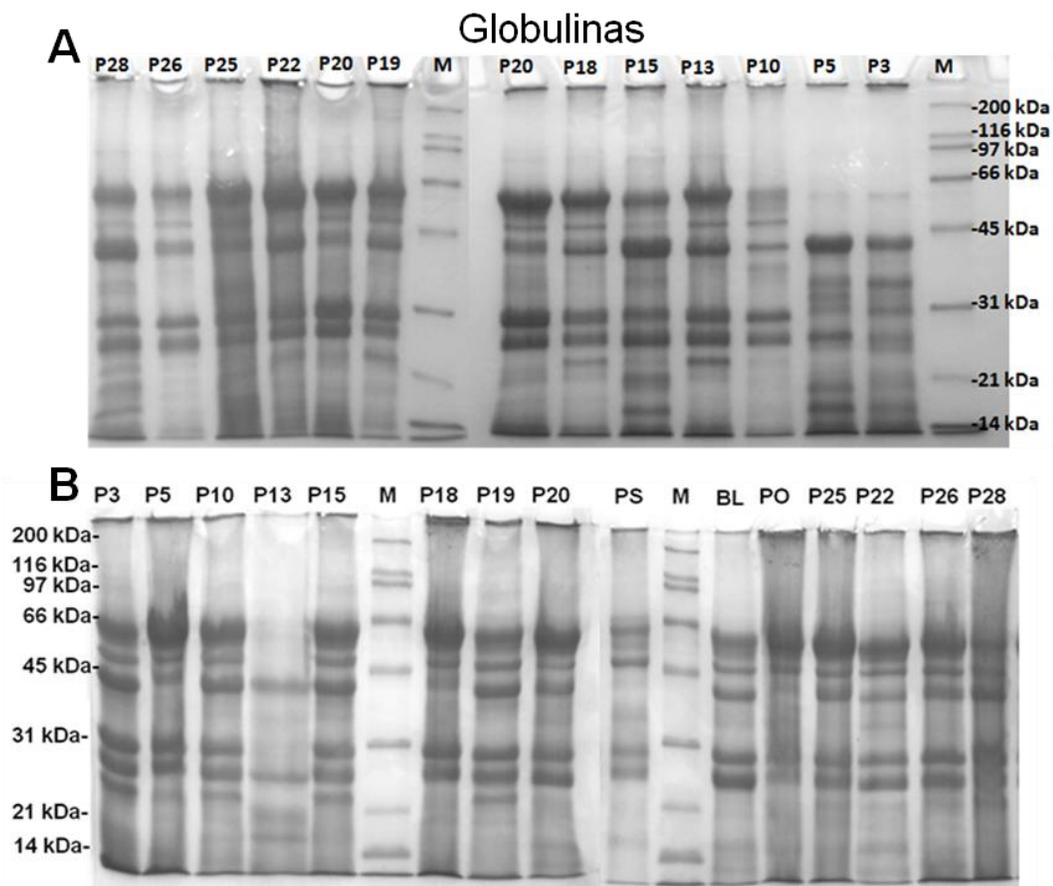


**Figura 3.6.** Patrón electroforético de la fracción de albúminas de las familias de medios hermanos de maíz *opaco-2* seleccionadas en 2012 (A) y de sus progenies obtenidas en 2013 (B). Los carriles representan los genotipos (P), la población original (PO), testigo blanco (BL), pisingallo (PS), y el marcador de peso molecular (M)

La fracción de albúminas de la mayoría de los genotipos *opaco-2* presentó bandas comprendidas entre 21 kDa y 97 kDa, mostrando mayor intensidad en 2012 (Figura 3.6 A) respecto a la cosecha 2013 (Figura 3.6 B), lo que podría estar relacionado a la disminución del contenido medio de esta fracción de una cosecha a la otra (Tabla 3.9). Malumba *et al.* (2008) observaron bandas de menores pesos moleculares (entre 14 kDa y 45 kDa) en un genotipo de maíz Flint.

Si bien el patrón de bandas fue muy similar entre los genotipos, se observaron diferencias en las bandas de tamaño molecular menor a 31 kDa. Algunos genotipos mostraron diferencias entre años. Las P3, P5, P10 y P22 presentaron menores intensidades de bandas en 2012 respecto al resto de las muestras (Figura 3.6 A), y no se observaron los mismos comportamientos en las progenies 2013, cuyas intensidades de bandas aumentaron (Figura 3.6 B). Por otro lado, la P13 se destacó por la menor intensidad de bandas en 2013, difiriendo al patrón observado en 2012. Las diferencias en los patrones de bandas de las muestras evidencian la variabilidad genética entre genotipos y entre padres e hijos en la fracción de albúminas.

Al comparar los testigos no-opacos con los genotipos *opaco-2*, se observó una disminución en la intensidad del patrón de bandas en maíz pisingallo y blanco, lo que podría explicarse por el menor contenido de albúminas presentado por los controles (Tabla 3.7).

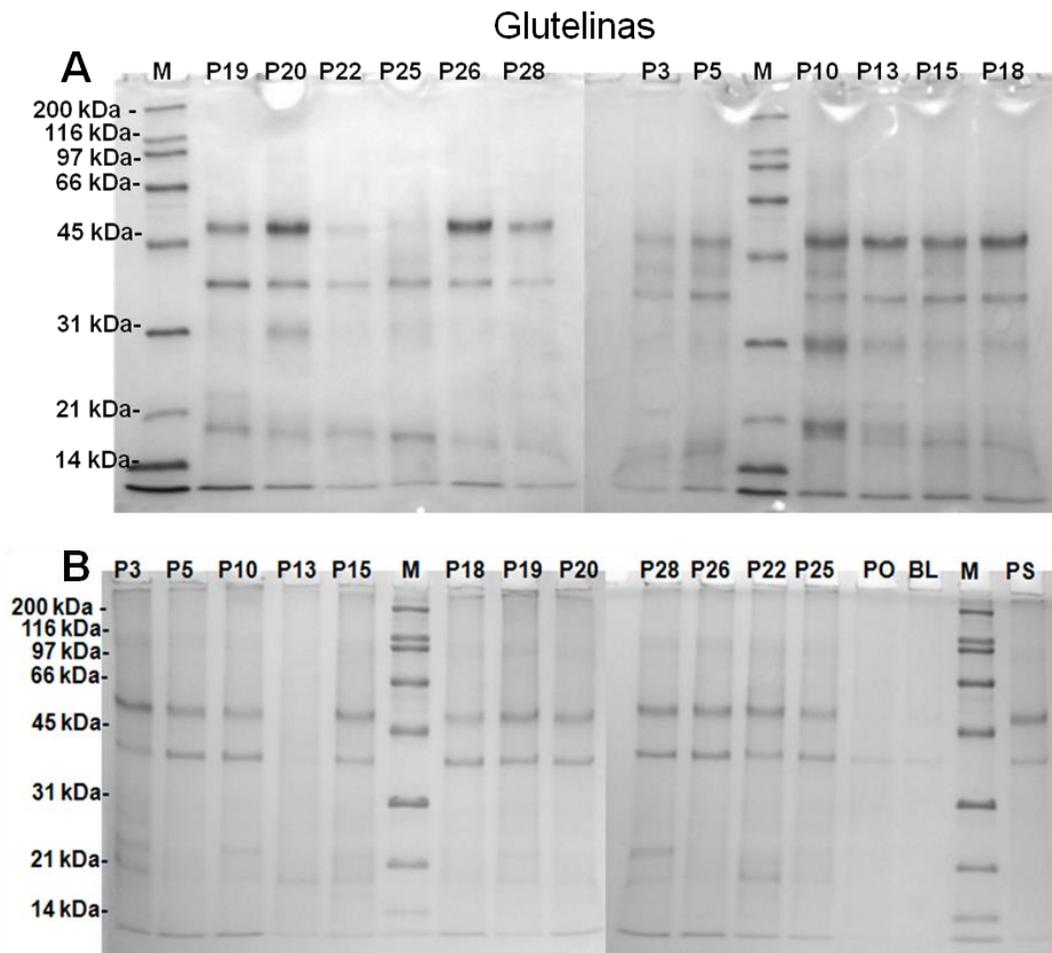


**Figura 3.7.** Patrón electroforético de la fracción de globulinas de las familias de medios hermanos de maíz *opaco-2* seleccionadas en 2012 (A) y de sus progenies obtenidas en 2013 (B). Los carriles representan los genotipos (P), la población original (PO), testigo blanco (BL), pisingallo (PS), y el marcador de peso molecular (M)

La fracción de globulinas presentó un patrón de bandas comprendidas principalmente entre 14 kDa y 66 kDa en la mayoría de los genotipos *opaco-2*, mostrando patrones similares en ambos años de estudio (Figura 3.7). Malumba *et al.* (2008) obtuvieron un patrón de albúminas del mismo peso molecular en maíz Flint, cuyas intensidades de bandas fueron considerablemente menores a las obtenidas en este estudio. Las P3 y P5 se destacaron por una marcada disminución de la banda de 66 kDa en 2012 (Figura 3.7 A), mostrando diferencias en sus patrones respecto al resto de las muestras en ese año. Sin embargo, en 2013 estos genotipos

presentaron fuerte incremento en la intensidad de esas bandas (Figura 3.7 B). Este mismo comportamiento fue observado en la fracción de albúminas en ambos años de cultivo. Por otro lado, la P25 y P22 sobresalieron al resto de las muestras por una fuerte intensidad de bandas en 2012, que no se reveló de igual manera en 2013. En este mismo año, la población original (PO) y las progenies P18 y P28, se destacaron por su mayor intensidad de las bandas respecto a 2012 (Figura 3.7 B). Por otro lado, la P13 mostró diferente patrón de bandas al resto de las muestras en 2013, donde la banda de 66 kDa fue considerablemente de menor intensidad, que no fue observado en la cosecha anterior. El mismo comportamiento fue observado en la fracción de albúminas de esta muestra. Las diferencias genéticas entre genotipos y entre generaciones fueron reflejadas en los patrones de bandas proteicas.

Al comparar los patrones de bandas de genotipos *opaco-2* con no-opacos, se observó al igual que la fracción de albúminas, una disminución en su intensidad en los testigos, y fue más marcada en maíz pisingallo que en maíz blanco. Esto coincide con el menor contenido de esta fracción obtenido en maíz pisingallo respecto al blanco (Tabla 3.7).



**Figura 3.8.** Patrón electroforético de la fracción de glutelinas de las familias de medios hermanos de maíz *opaco-2* seleccionadas en 2012 (A) y de sus progenies obtenidas en 2013 (B). Los carriles representan los genotipos (P), la población original (PO), testigo blanco (BL), pisingallo (PS), y el marcador de peso molecular (M)

Los genotipos *opaco-2* presentaron patrones de bandas de la fracción de glutelinas similares en ambos años, comprendidos en su mayoría entre 21 kDa y 66 kDa (Figura 3.8). Malumba *et al.* (2008) obtuvieron un patrón de bandas de glutelinas de menores pesos moleculares en maíz flint, comprendidas entre 13 kDa y 24 kDa. Por otro lado, Yau *et al.* (1999) obtuvieron bandas de glutelinas entre 35 kDa y 100 kDa en genotipos QPM y sus contrapartes *o2*. Estos valores se asemejan a los obtenidos en los genotipos *o2* de esta tesis, mostrando diferencias con los patrones de maíz blanco y pisingallo (Figura 3.8 B), concordante con Yau *et*

*al.* (1999) en los genotipos de endosperma normal. La P22 y P25 mostraron en 2012 una disminución en la banda comprendida entre 45 kDa y 66 kDa (Figura 3.8 A), difiriendo en 2013 (Figura 3.8 B). La P10 por su lado, se destacó por un aumento en la intensidad del patrón de bandas en 2012 en comparación al resto de las muestras, y concomitantemente presentó el mayor contenido de glutelina en ese año. Sin embargo, la intensidad de las bandas decreció en 2013. La población original (PO) y P13 en 2013 mostraron una fuerte disminución de la intensidad de bandas, en contraposición con el mayor contenido de glutelinas observado en esta muestra respecto a las otras progenies.

Los genotipos no-opacos mostraron una fuerte disminución en la intensidad de bandas respecto a los genotipos *opaco-2*, y más marcado en maíz blanco que en pisingallo. Coincidentemente, el contenido de glutelinas fue menor en maíz blanco (Tabla 3.7).

Los patrones electroforéticos obtenidos en las distintas fracciones proteicas mostraron diferencias entre genotipos, y entre años de estudio. Esto refleja diferencias genéticas en la composición de las proteínas de los genotipos estudiados, y entre la generación parental y sus progenies. Concomitantemente, esto se sustenta con la mayor contribución relativa de la varianza genética a la variabilidad total mostrada en las fracciones de zeínas y no-zeínas (Tabla 3.8).

## **ANÁLISIS DE AMINOÁCIDOS**

A partir del análisis del contenido y del patrón electroforético de las fracciones proteicas, se identificaron los genotipos que mostraron mayores diferencias en el contenido total e intensidad de bandas de zeínas y no-zeínas. Se seleccionó la P3 (en 2012 y 2013), debido a que presentó el mayor contenido de zeínas en ambos años de estudio (Tabla 3.7), las P15 y P22 (en 2012 y 2013) pues mostraron los menores contenidos de esta fracción (Tabla 3.7), la población

original (POro2), y el maíz blanco (BL) usado como testigo no-opaco para fines comparativos. A estas muestras se les determinó el perfil de aminoácidos.

**Tabla 3.10.** Contenido de aminoácidos (g/100 g de proteína) de los genotipos de maíz *opaco-2* y maíz blanco

	<sup>1</sup> P 3	P 15	P 22	POro2	Promedio opacos	BL
<b>Ac. Aspártico</b>	3,96 c	6,35 e	5,68 d	3,02 b	4,92	1,91 a
<b>Ac. Glutámico</b>	6,41 c	6,45 d	2,71 a	4,26 b	5,06	3,94 b
<b>Glicina</b>	0,52 b	1,42 c	0,83 b	0,57 b	0,86	0,09 a
<b>Treonina</b>	0,87 a	1,85 b	2,20 b	0,70 a	1,50	0,31 a
<b>Arginina</b>	5,34 a	5,03 a	7,12 b	4,96 a	5,62	2,34 a
<b>Alanina</b>	6,97 c	5,48 b	4,19 a	5,47 b	5,43	6,02 b
<b>Prolina</b>	2,93 a	2,63 a	6,92 b	4,77 b	4,40	5,10 b
<b>Tirosina</b>	2,30 c	1,80 b	1,45 b	1,05 a	1,58	1,70 b
<b>Isoleucina</b>	2,58 a	3,18 a	2,21 a	2,33 a	2,58	1,95 a
<b>Leucina</b>	7,35 c	5,48 b	5,66 b	4,93 a	5,86	7,04 c
<b>Fenilalanina</b>	3,62 c	3,36 b	3,19 b	2,16 a	3,08	3,04 b
<b>Lisina</b>	0,66 b	1,50 d	1,25 c	0,65 b	1,00	0,21 a

Valores seguidos por letras distintas en la misma fila son significativamente distintos ( $p < 0,05$ )

<sup>1</sup>Los valores de cada genotipo (P3, P15 y P22) corresponden al promedio entre ambos ciclos de cultivo (2012 y 2013), y fueron comparados con el material genético de partida (POro2) y con el maíz blanco (BL) usado como testigo.

Se obtuvieron diferencias significativas en el contenido de aminoácidos entre los genotipos. Cabe destacar que los contenidos de lisina mostraron diferencias significativas entre los genotipos *o2*, y resultaron significativamente mayores cuando fueron comparados al maíz blanco usado como testigo (Tabla 3.10). Cázares-Sanchez *et al.* (2015) y Vera-Guzmán *et al.* (2012) analizaron el contenido de lisina en poblaciones nativas de maíces mexicanos, y obtuvieron un rango de valores (0,27 g/100 g - 0,39 g/100 g y 0,4 g/100 g - 0,6 g/100 g de proteína, respectivamente) considerablemente menores a los obtenidos en genotipos *o2* analizados en esta tesis, y similares al de maíz blanco usado como testigo (0,21 g/100 g de proteína). Mayores niveles de lisina fueron reportados en híbridos QPM (Medoza-Elos *et al.*, 2006; Pereira *et al.*, 2008; Melesio-Cuéllar *et al.*, 2008). Las diferencias en los niveles de lisina

reportados en la literatura pueden atribuirse al *background* genético de los materiales analizados y a las distintas técnicas usadas en la determinación y cuantificación de aminoácidos en maíz. A pesar de ello, diversas investigaciones avalan que los niveles de lisina y triptófano son significativamente mayores en genotipos QPM y sus contrapartes *o2* cuando se comparan con maíz de endosperma normal (Yau *et al.*, 1999; Wang and Larkins, 2001; Hunter *et al.*, 2002; Azevedo *et al.*, 2003; Ortiz-Martinez *et al.*, 2017).

A medida que los niveles de prolaminas se acumulan en el endosperma durante la maduración del grano, la calidad de la proteína disminuye debido a la baja proporción de lisina y triptófano de las zeínas (Ortiz-Martinez *et al.*, 2017). El aumento general del contenido de ciertos aminoácidos esenciales en maíz *opaco-2* es producto de la combinación de fenómenos bioquímicos tales como la mayor síntesis y menor catálisis de estos aminoácidos, un aumento en la síntesis y acumulación de proteínas solubles (ricas en aminoácidos esenciales) y una disminución en la síntesis de zeínas (Serna-Saldivar *et al.*, 2008; Jia *et al.*, 2013). Estos factores también producen cambios en el contenido de los otros aminoácidos en el grano. Mayores niveles de metionina, cisteína, histidina, isoleucina, leucina, fenilalanina, tirosina, treonina y valina fueron obtenidos en granos enteros de maíz *o2* y QPM comparados al maíz normal (Azevedo *et al.*, 1990; Wang y Larkins, 2001; Hunter *et al.*, 2002; Fufa *et al.*, 2003; Ortiz-Martinez *et al.*, 2017). Estos reportes coinciden con los mayores promedios de lisina, isoleucina, fenilalanina y treonina obtenidos en los genotipos *opaco-2* de este estudio respecto al maíz blanco (Tabla 3.10). Por otro lado, Rojas-Molina *et al.* (2008) obtuvieron en harina de maíz QPM contenidos de arginina, isoleucina y leucina (6,4 g/100 g, 3,6 g/100 g y 6,1 g/100 g de proteína, respectivamente) similares a los obtenidos en este estudio de tesis. Sin embargo, los niveles de treonina y fenilalanina (5,2 g/100 g y 5,7 g/100 g de proteína, respectivamente) (Rojas-Molina *et al.*, 2008) fueron considerablemente mayores a los genotipos *o2* analizados en esta tesis (Tabla 3.10).

Investigaciones previas (Arruda *et al.*, 1978) demostraron que la depresión en la síntesis de zeínas en líneas doble mutantes *o2*, produce una acumulación de alanina, ácido glutámico, ácido aspártico, glutamina y asparagina libres en el endosperma, ya que estos aminoácidos son constituyentes estructurales de las zeínas. Del mismo modo, una reducción en la síntesis de zeína en el doble mutante *o2*, produce un incremento de leucina y prolina en el endospermo. Estos reportes coinciden con Huang *et al.* (2006), quienes obtuvieron grandes incrementos en la acumulación de aminoácidos libres en el endosperma, principalmente asparagina, ácido aspártico y glutámico en granos de maíces con reducida acumulación de  $\alpha$ -zeínas de 19 kDa y 22 kDa. Estas investigaciones concuerdan con los niveles significativamente mayores de ácido aspártico y glutámico mostrados por los genotipos *opaco-2* en relación al maíz blanco analizado en este estudio de tesis (Tabla 3.10). Sin embargo, los contenidos de leucina y prolina fueron menores en genotipos *o2* respecto al testigo (Tabla 3.10), en discordancia con Arruda *et al.* (1978).

A pesar de las variaciones en los contenidos de los distintos aminoácidos, la mayor calidad de la proteína del maíz por modificación del gen *opaco-2* se asocia directamente con el aumento de la biosíntesis de la lisina y el triptófano, así como un cambio en la composición de las proteínas del endosperma. Esto da lugar a una mayor acumulación de proteínas solubles ricas en estos aminoácidos con la concomitante reducción en el contenido de zeínas, lo que es relevante desde el punto de vista nutricional de este maíz (Arruda *et al.*, 1978; Yau *et al.*, 1999; Wang y Larkins, 2001; Hunter *et al.*, 2002; Azevedo *et al.*, 2003; Tang *et al.*, 2013; Zhuang *et al.*, 2013; Gayral *et al.*, 2016; Ortiz-Martinez *et al.*, 2017). Las menores proporciones de zeínas y mayores contenidos de lisina obtenidos en los genotipos *opaco-2* analizados en este estudio de tesis, evidencian su mayor calidad proteica.

## Componentes de la varianza

El principal factor de calidad en maíz *opaco-2* es el mayor contenido de aminoácidos esenciales, especialmente el contenido de lisina. Por ello, se estimaron los componentes de la varianza para esta variable (Tabla 3.11), con el fin de valorar los efectos de las diferentes fuentes de variación a la variabilidad total.

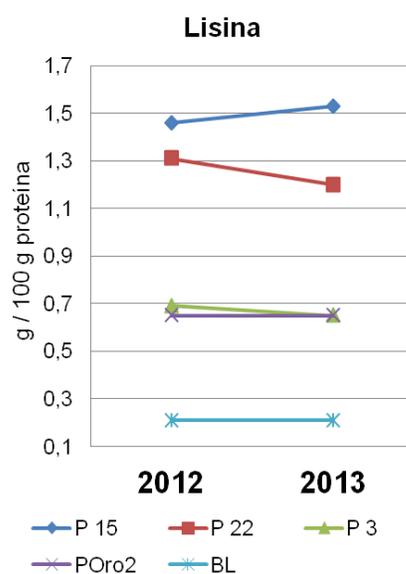
**Tabla 3.11.** Contribución relativa de la varianza genética (VG), del año (VA) y de la interacción genotipo x año ( $V_{G \times A}$ ) en el contenido de lisina

	<b>Lisina</b>
<b>VG (%)</b>	97,29
<b>VA (%)</b>	1,67
<b><math>V_{G \times A}</math> (%)</b>	1,04

La varianza genética contribuyó casi en la totalidad de la variabilidad obtenida en el contenido de lisina de las muestras, y los efectos del año y de la interacción fueron prácticamente despreciables en comparación al efecto genético (Tabla 3.11). Tang *et al.* (2011) estudiaron la heredabilidad en el contenido de lisina en líneas e híbridos de diferentes grupos heteróticos, y obtuvieron una contribución de la varianza genética de 76,3 %, y a pesar de las diferencias mostradas entre ambientes, fue 4 veces mayor que la varianza de la interacción. En este mismo estudio demostraron además, que el contenido de lisina en el grano es determinado principalmente por el progenitor femenino, indicando un efecto aditivo significativamente mayor que el efecto de dominancia para esta característica. Resultados similares fueron demostrados también en el contenido de triptófano. Wegary *et al.* (2011) reportaron que el contenido de proteína y triptófano en híbridos QPM están codificados por fuertes efectos genéticos aditivos. Sin embargo, la concentración de proteína en el grano es más sensible bajo condiciones de estrés de nitrógeno en el suelo que la de triptófano. Similares avances habían sido demostrados previamente en otras investigaciones (Pixley y Bjarnason, 1993; Gutierrez-Rojas *et al.*, 2008) en el contenido de triptófano de líneas endocriadas *o2*. Estos reportes indican

que existe un gran efecto aditivo de los genes que codifican tanto los niveles de lisina y triptófano en el grano, y es concordante con los resultados obtenidos en este estudio de tesis en la fuerte contribución de la varianza genética obtenida en el contenido de lisina (Tabla 3.11), por lo que se podría suponer también mayores niveles de triptófano en los genotipos analizados.

### Variación anual en el contenido de lisina



**Figura 3.9.** Variación anual en el contenido de lisina de familias de medios hermanos de maíz *opaco-2* (2012) y sus progenies individuales (2013). La población original (POro2) y el maíz blanco (BL) no muestran variación debido a que es el mismo valor en ambos años, ya que se utilizaron con fines comparativos con los genotipos individuales (P3, P15 y P22)

La Figura 3.9 muestra la variación anual el contenido de lisina de los genotipos *opaco-2* analizados en ambos ciclos de cultivo. Como se indicó anteriormente, sólo se seleccionaron las progenies (P3, P15 y P22) que se diferenciaron del resto principalmente en el contenido de la fracción de zeínas (Tabla 3.7). Para facilitar visualmente la comparación entre muestras, se incorporó también en el mismo gráfico el contenido de lisina obtenido por el material genético de partida (POro2) y el maíz blanco (BL) usado como testigo no-*opaco*. Éstas últimas no

presentaron variación anual, ya que es el mismo valor en ambos años, y fueron mostrados sólo con fines comparativos.

El contenido de lisina en el maíz blanco fue significativamente menor a los genotipos *opaco-2* analizados (Figura 3.9, Tabla 3.10). Los genotipos *o2* no presentaron variaciones significativas entre años de cultivo, y no se observaron cambios de *ranking* entre ellos (Figura 3.9). Esto se relaciona íntimamente a la baja contribución de la varianza del año y de la interacción obtenida en la estimación de los componentes de la varianza (Tabla 3.11). La P3 presentó el menor contenido de lisina de las progenies analizadas, sin mostrar prácticamente diferencias entre años (0,69 g/100 g en 2012 y 0,65 g/100 g proteína en 2013) (Figura 3.9). Concomitantemente, esta muestra presentó el mayor contenido de la fracción de zeínas en ambos años en relación al resto de los genotipos *opaco-2* analizados (Tabla 3.7). Las P15 y P22 mostraron los mayores promedios anuales en el contenido de lisina en relación al resto de las muestras analizadas (1,5 g/100 g y 1,25 g/100 g de proteína, respectivamente), y fue concordante con los menores contenidos de zeínas obtenidos en estos genotipos (1,72 % y 1,64 %, respectivamente). Respecto a las variaciones anuales, la P15 no presentó diferencias significativas entre años en el contenido de lisina (1,46 g/100 g en 2012 y 1,53 g/100 g de proteína en 2013) (Figura 3.9), manteniéndose con los mayores niveles ambos años de estudio. Por su parte, la P22 mostró una pequeña disminución de 1,31 g/100 g en 2012 a 1,2 g/100 g de proteína en 2013 (Figura 3.9), pero no fue significativa. Comportamientos similares fueron observados en el contenido de zeínas de estas dos muestras entre años.

El contenido de lisina de la población original (P<sub>Or2</sub>) (0,65 g/100 g de proteína), fue significativamente menor al de las progenies obtenidas a partir de ella, y no difirió al promedio anual mostrado por la P3 (0,69 g/100 g de proteína), a pesar de que presentó menor contenido de zeínas (2,05 %) respecto a ésta. Wang *et al.* (2008) obtuvieron líneas provenientes de una población de introgresión que presentaron mayores contenidos de no-zeínas y expresaron

valores transgresivos de lisina de más de un 25 % respecto a los genotipos utilizados como progenitores. Estos reportes coinciden con lo obtenido en esta tesis, donde algunas progenies mostraron el doble de lisina respecto a la población original de la cual fueron obtenidas. No obstante, el número de genotipos aquí analizados es muy pequeño para hacer inferencias generales respecto a la variabilidad de la población original.

Los resultados obtenidos en este estudio de tesis, evidencian una relación inversa entre el contenido de lisina de las muestras y el contenido de la fracción de zeínas, indicando la mayor calidad proteica de las progenies analizadas.

## **RELACIONES ENTRE CARACTERES DE COMPOSICIÓN PROTEICA Y CARACTERES AGRONÓMICOS DE RENDIMIENTO**

La Tabla 3.12 expresa las correlaciones obtenidas entre los componentes del rendimiento de las progenies (estudiados a campo), con los rasgos de la composición proteica (analizados en laboratorio) de los genotipos *opaco-2*, a partir de los valores de ambos años de estudio (2012 y 2013) (no se incluyeron en el análisis a los testigos no-opacos).

**Tabla 3.12.** Correlaciones entre caracteres de composición proteica analizados en laboratorio y caracteres de rendimiento de los genotipos de maíz *opaco-2* (familias 2012 y progenies 2013). Los coeficientes de correlación se obtuvieron con los valores de ambos años de estudio (2013 y 2014)

	<sup>1</sup> PT	AL	GB	AL+GB	Z+Z2	G2+G3	Dig	Lis	NGM	P100	Rto
PT	1										
AL	-0,05	1									
GB	-0,06	0,41**	1								
AL+GB	-0,07	0,91**	0,76**	1							
Z+Z2	0,44**	-0,14	-0,14	-0,56**	1						
G2+G3	-0,12	0,21	0,45**	0,36**	-0,31*	1					
Dig	-0,05	0,14	0,19	0,19	-0,11	-0,17	1				
Lis	-0,54*	0,81**	-0,13	0,47*	-0,61**	0,1	-0,16	1			
NGM	-0,25	0,12	0,44**	0,29	0,05	-0,06	-0,1	-0,19	1		
P100	-0,33*	0,16	0,2	0,2	0,16	0,01	0,09	-0,06	-0,11	1	
Rto	-0,49**	0,16	0,36*	0,28	0,05	-0,11	-0,16	-0,16	0,63**	0,49**	1

Los asteriscos (\* y \*\*) indican correlaciones significativas ( $p < 0,05$  y  $p < 0,01$ , respectivamente)

<sup>1</sup>PT = proteína total; AL = albúminas; GB = globulinas; AL+GB = albúminas+globulinas; Z+Z2 = zeínas; G2+G3 = glutelinas; Dig = digestibilidad de proteínas; Lis = lisina; NGM = número de granos por mazorca; P100 = peso de 100 granos; Rto = rendimiento

El contenido de proteínas mostró una correlación positiva con el de zeínas (Tabla 3.12), lo que fue concordante con Landry (2002) entre las cantidades absolutas de zeínas y proteína total acumulada durante el desarrollo del endosperma de líneas endocriadas de tipo salvaje y mutante. La relación lineal entre las proteínas y las zeínas es independiente a las condiciones de crecimiento de la planta durante el desarrollo del grano (Landry *et al.*, 2005). Resultados similares fueron observados por Fageer y Tinay (2004), donde los genotipos de maíz con mayor contenido de proteína total, presentaron la mayor fracción de zeínas y relativamente bajos contenidos de albúminas+globulinas.

La fracción de zeínas mostró una correlación negativa con las glutelinas (Tabla 3.12). Sin embargo, en las progenies 2013 no se obtuvo correlación significativa entre estas dos fracciones. Un patrón similar fue observado por Yau *et al.* (1999) en 29 líneas endocriadas QPM,

donde los incrementos en el contenido de glutelina se correspondieron a disminuciones en las fracciones de zeínas sólo en algunas líneas, mientras que en otras no mostraron cambios. Por otro lado, se obtuvieron correlaciones positivas entre las fracciones de glutelinas con las albúminas+globulinas (Tabla 3.12). Esto no fue consistente con las relaciones inversas reportadas por Malumba *et al.* (2008) entre las fracciones de glutelinas con las albúminas y globulinas en maíz Flint. Sin embargo, la relación inversa entre las fracciones de glutelinas con las de zeínas coincide con lo obtenido en esta tesis y con otras investigaciones (Yau *et al.*, 1999; Malumba *et al.*, 2008).

La fracción de albúminas correlacionó positivamente con la de globulinas, y como era de esperar, se obtuvo una relación inversa entre la fracción de zeínas y la de albúminas+globulinas (Tabla 3.12). Estos patrones coinciden con la literatura citada en que la menor síntesis de zeína en maíz *opaco-2* implica aumento de las fracciones no-zeínicas (Arruda *et al.*, 1978; Landry *et al.*, 2005; Gibbon y Larkins, 2005; Wu *et al.*, 2010; Tang *et al.*, 2013; Ortiz-Martinez *et al.*, 2017).

La digestibilidad *in vitro* de las proteínas no mostró una relación significativa con la fracción de zeínas al considerar las correlaciones entre ambos años de estudio (Tabla 3.12). Sin embargo, en el año 2013 se obtuvo una relación inversa entre las zeínas con la digestibilidad ( $r = -0,4$ ;  $p < 0,05$ ). Esto podría deberse al mayor contenido de zeínas presentado por las progenies en relación a sus padres, indicando que un mayor contenido de esta fracción resulta en mayor proporción de endosperma vítreo, lo que incrementa la resistencia a la acción de las enzimas digestivas a las partículas de harina como fue sugerido por Duodu *et al.* (2002). Sin embargo, en esta tesis la digestibilidad fue determinada luego de la cocción de la harina en agua, y no se determinó el tamaño de partícula ni la dureza de cada genotipo, por lo que no se cuenta con suficientes evidencias como para atribuir la correlación encontrada a la resistencia al ataque enzimático tal como lo reportaron estos autores.

El contenido de lisina mostró una relación inversa con el contenido de proteína total (Tabla 3.12). Resultados similares fueron reportados por Cázares-Sánchez *et al.* (2015) en varias poblaciones de maíces nativos mexicanos y por Pereira *et al.* (2008) en muestras de endosperma harinoso. El alto contenido de lisina en genotipos *o2* está relacionado con una reducción del nivel de proteína total, y por lo tanto, del nivel de zeínas (Landry *et al.*, 2005; Gibbon y Larkins, 2005; Vivek *et al.*, 2008), lo que coincide con la correlación negativa obtenida entre lisina y zeínas (Tabla 3.12). Investigaciones previas (Paulis *et al.*, 1974; Esen, 1980; Yau *et al.*, 1999) reportaron la existencia de una alta correlación negativa entre los contenidos de zeínas y lisina en maíz, y lo mismo ocurre con las zeínas y el triptófano, ya que los niveles de lisina y triptófano están correlacionados positivamente (Hernandez y Bates, 1969; Esen, 1980; Martínez *et al.*, 2010).

No se obtuvieron relaciones significativas entre el contenido de lisina con la fracción de glutelinas (Tabla 3.12), en discordancia con Yau *et al.* (1999) quienes observaron una correlación positiva entre los niveles de lisina y el de glutelinas de líneas endocriadas QPM y sus contrapartes *o2*. Sin embargo, sólo la correlación de lisina con la fracción de glutelinas no considera la lisina extraída con las fracciones de albúminas y globulinas (Yau *et al.*, 1999).

Se obtuvo una fuerte correlación positiva entre el contenido de lisina con la fracción de albúminas (Tabla 3.12), lo que coincide con reportes previos de Wu y Wall (1980) y Patterson *et al.* (1980). Esto indica que el mayor contenido de lisina de los genotipos *o2* en este estudio de tesis, estuvo relacionado principalmente a una mayor proporción en los niveles de albúminas, consistente a los reportes de Fageer y Tinay (2004) en harinas de distintos genotipos de maíz, y de Rojas-Molina *et al.* (2008) en harinas nixtamalizadas de maíz QPM. Las fracciones de albúminas y globulinas poseen contenidos de lisina y triptófano significativamente mayores (White y Johnson, 2003) y en general incorporan mayores cantidades de estos aminoácidos cuando se las compara con las proteínas de almacenamiento (zeínas y glutelinas) (Sodek, 1976).

Al analizar las relaciones obtenidas entre la composición proteica y los componentes de rendimiento, se observaron correlaciones negativas significativas entre el contenido de proteína con el peso de 100 granos y con el rendimiento (Tabla 3.12). Las relaciones inversas entre características de calidad de grano y altos rendimientos en maíz fueron demostradas en varias investigaciones (Villegas *et al.*, 1992; Hou *et al.*, 2001; Vasal, 2001; Wegary *et al.*, 2011). De hecho, el rendimiento y la proteína del grano en maíz están codificados genéticamente por sistemas independientes de locis de caracteres cuantitativos (QTLs), por lo que otros autores indicaron que ambos caracteres pueden ser mejorados simultáneamente hasta cierto punto (Li *et al.*, 2009; Tang *et al.*, 2011).

Se obtuvieron correlaciones positivas entre las globulinas con el número de granos por mazorca y el rendimiento (Tabla 3.12). Cabe destacar que la fracción de glutelinas mostró una relación negativa con el rendimiento en la generación 2012 ( $r = -0,53$ ;  $p < 0,05$ ) y positiva con el peso de 100 granos en 2013 ( $r = 0,62$ ;  $p < 0,05$ ). Esto indica que, a pesar de la correlación negativa entre rendimiento y la proteína total, se podría mejorar para rendimiento y calidad de proteína simultáneamente tomando las distintas fracciones proteicas como indicadores de la mayor calidad proteica de los granos.

Finalmente, no se observaron correlaciones significativas entre el contenido de lisina con los componentes de rendimiento al considerar los valores entre ambos años de estudio (Tabla 3.12). Pero es importante destacar que se obtuvo una fuerte relación inversa entre el contenido de lisina con el rendimiento en el año 2012 ( $r = -0,88$ ;  $p < 0,05$ ), una fuerte correlación negativa con el número de granos por mazorca ( $r = -0,96$ ;  $p < 0,05$ ) y positiva con el peso de 100 granos ( $r = 0,98$ ;  $p < 0,05$ ) en la generación de las progenies 2013. Esto estaría indicando comportamientos diferenciales entre progenitores y sus descendencias. Tang *et al.* (2011) no

encontraron ninguna relación significativa entre rendimiento de maíz y el contenido de lisina, por lo que sugirieron que se puede mejorar simultáneamente estos dos caracteres.

## CONCLUSIONES PARCIALES

La composición proteica de los genotipos *opaco-2* presentó diferencias entre familias de medios hermanos estudiadas en 2012, entre sus progenies individuales en 2013 y respecto al material genético de partida. La mayor contribución de la varianza genética en la mayoría de las características analizadas, sugieren que las diferencias entre genotipos tuvo mayor efecto en la variabilidad total obtenida. Sin embargo, las contribuciones de las varianzas del año y de la interacción genotipo x año, evidencian influencia ambiental.

La principal diferencia en la composición proteica observada en los genotipos *opaco-2* se debió a la disminución en el contenido de zeínas, lo que provocó incrementos de las proporciones de albuminas, globulinas y glutelinas, traduciéndose en una modificación de la calidad nutricional de la proteína de los granos. A partir de esto, se podría incluir el contenido de zeínas como una característica de selección indirecta para los planes de mejoramiento de la calidad proteica en maíz.

La digestibilidad *in vitro* de las proteínas de los granos de maíz *opaco-2*, sugieren que sus características estructurales podrían resultar en una mejor digestibilidad proteica, lo que resultaría importante desde el punto de vista nutricional en este tipo de maíz por su alta calidad proteica. Sin embargo, para obtener mayores evidencias en relación a esto, es necesario profundizar con estudios de biodisponibilidad de las proteínas.

Los patrones electroforéticos de las distintas fracciones proteicas confirman diferencias entre genotipos, y entre años de estudio, lo que refleja la variabilidad en la composición de las proteínas entre padres y sus progenies. Concomitantemente, esto fue sustentado por la mayor contribución relativa de la varianza genética a la variabilidad total mostrada en las fracciones de zeínas y no-zeínas.

La gran contribución de la varianza genética y las menores contribuciones de los efectos del año y de la interacción mostrada en el contenido de zeínas y el de lisina, indica fuerte dependencia del genotipo a pesar del mayor efecto del año mostrado en el contenido total de proteínas. Esto podría indicar la existencia de una fuerte componente aditiva de la varianza genética total en el contenido de zeína y lisina.

Las diferencias obtenidas en la composición proteica de los genotipos *opaco-2* analizados en este estudio de tesis, permiten identificar los individuos que presentaron mejores características de calidad de las proteínas, con una menor proporción de zeínas y un mayor contenido de lisina, para ser usados en un próximo ciclo de selección, recombinación y evaluación. De hecho, el análisis realizado mediante prueba de progenies de medios hermanos enfatiza los efectos aditivos de la población original, favoreciendo a la mejora genética del material de partida mediante la selección de individuos superiores.

Esto permitirá continuar el proceso de mejoramiento para la obtención de variedades mejoradas en sus características de calidad proteica luego de sucesivos ciclos de recurrencia. A largo plazo, se podrá disponer de alternativas para la producción de alimentos de mayor valor nutricional.

## COMPOSICIÓN DEL ALMIDÓN

Las características de la composición del almidón se analizaron a partir de la harina de grano entero de cada genotipo estudiado en esta tesis. Se determinó el contenido de almidón resistente (RS) y no-resistente (digerible) (NRS), y ambas fracciones se consideraron como el contenido total de almidón. Se cuantificó además el contenido de amilosa, con el fin de inferir sobre las características estructurales de los gránulos en cuanto a su proporción de amilosa y amilopectina.

**Tabla 3.13.** Contenido de almidón resistente, no resistente (digerible), total y de amilosa de los genotipos de maíz *opaco-2*, blanco y pisingallo

<sup>1</sup> Genotipo	Almidón (g/100 g de harina)			Amilosa (g/100 g de almidón)
	Resistente	No resistente	Total	
<b>P 3</b>	0,95 e	61,00 a	61,94 a	23,88 b
<b>P 5</b>	0,70 c	64,79 b	65,49 b	21,68 a
<b>P 10</b>	0,81 d	62,83 b	63,64 b	22,30 a
<b>P 13</b>	0,74 c	65,58 b	66,32 b	21,10 a
<b>P 15</b>	0,60 b	62,68 b	63,28 b	20,69 a
<b>P 18</b>	0,63 b	63,84 b	64,47 b	21,37 a
<b>P 19</b>	0,53 a	60,32 a	60,85 a	20,04 a
<b>P 20</b>	0,65 b	64,56 b	65,21 b	21,54 a
<b>P 22</b>	0,59 b	65,12 b	65,72 b	21,05 a
<b>P 25</b>	0,63 b	62,87 b	63,50 b	19,61 a
<b>P 26</b>	0,64 b	61,13 a	61,77 a	19,96 a
<b>P 28</b>	0,47 a	65,56 b	66,03 b	19,52 a
<b>POro2</b>	0,59 b	60,65 a	61,24 a	18,55 a
<sup>2</sup> <b>Opacos</b>	0,68 a	63,13 a	63,80 a	20,87 a
<b>BL</b>	0,79 b	65,55 a	66,34 a	24,58 b
<b>PS</b>	0,99 b	65,23 a	66,22 a	25,35 b

Valores seguidos por letras distintas en la misma columna son significativamente distintos ( $p < 0,05$ )

<sup>1</sup>Los valores de cada genotipo (P) corresponden al promedio entre ambas cosechas (2012 y 2013), y fueron comparados con el material genético de partida (POro2)

<sup>2</sup>El promedio de todos los genotipos *opaco-2* (Opaco) fue comparado con los valores promedios de los genotipos de maíz blanco (BL) y pisingallo (PS) usados como testigos no-opacos.

El contenido de amilosa mostró ligeras diferencias entre los genotipos *opaco-2*, y sólo la P3 difirió significativamente del resto (Tabla 3.13). Similares valores de amilosa fueron reportados por Salazar-Salas *et al.* (2014) en líneas homocigotas *o2* (17,58 % a 21,87 %) y por Sandhu y Singh (2007) en distintas variedades de maíz (16,9 % a 21,3 %). La población original (POro2) mostró el menor nivel de amilosa comparado al resto de las progenies individuales obtenidas de ella (Tabla 3.13). Además esta muestra presentó el menor contenido total de almidón (61,24 g/100 g de harina), y fue consistente a la correlación positiva obtenida entre amilosa y almidón ( $r = 0,4$ ;  $p < 0,05$ ) dentro de los genotipos opacos.

Al comparar el promedio en el contenido total de almidón de todos los genotipos *opaco-2*, no se obtuvieron diferencias significativas con los testigos no-opacos usados como controles (Tabla 3.13). Sin embargo, el contenido de amilosa en genotipos *o2* fue significativamente menor al obtenido en blanco y pisingallo (Tabla 3.13). En maíces de endosperma duro, un mayor contenido de amilosa incrementa la compresibilidad de los gránulos de almidón en la matriz proteica, a diferencia del endosperma blando que posee mayor contenido de amilopectina (Dombrink-Kurtzman y Knutson, 1997). Salazar-Salas *et al.* (2014) encontraron mayor contenido de amilosa en maíz QPM y en genotipos de endosperma duro respecto a las muestras de granos opacos. Similarmente, Robutti *et al.* (2000) y Agama-Acevedo *et al.* (2013) reportaron menores niveles de amilosa en maíces de endosperma blando en relación a los de endosperma duro.

El almidón gelatinizado luego de la cocción retrograda durante el enfriamiento, y una parte puede transformarse en almidón resistente (RS), o formar complejos con las proteínas (Bach-Knudsen *et al.*, 1988; Duodu *et al.*, 2002). En este estudio de tesis, las muestras de harina fueron sometidas a cocción en agua con el fin de permitir la gelatinización del almidón, y posteriormente enfriadas a temperatura ambiente previamente a la determinación del RS, para simular un proceso elaboración de un alimento. El contenido de RS fue menor al 1 % en todos

los genotipos opacos y no-opacos analizados. Estos valores coinciden con los bajos niveles de RS presentados por almidones nativos de genotipos regulares de maíz (0,8 %) en comparación al amilomaíz (16 %) (Russell *et al.*, 1989). A pesar de los bajos niveles de RS, la P3 se destacó por mostrar el mayor contenido respecto al resto de los genotipos, coincidentemente al mayor nivel de amilosa presentado por esta muestra (Tabla 3.13). Generalmente, el contenido de RS en maíz se correlaciona positivamente con el contenido de amilosa (Sang *et al.*, 2008). Al igual que en el contenido de almidón total, no se observaron diferencias significativas en el contenido promedio de NRS de todos los genotipos *opaco-2* cuando fueron comparados con los genotipos no-opacos usados como testigos (Tabla 3.13). Estos resultados fueron similares a los reportados por Méndez-Montevalvo *et al.* (2005) en híbridos QPM.

## **PROPIEDADES DE VISCOSIDAD**

Se analizaron las propiedades de *pasting* con el fin de evaluar el comportamiento viscoso del almidón cuando es sometido a ciclos de calentamiento y enfriamiento en presencia de fuerzas de cizalla con exceso de agua, para inferir sobre sus posibles usos industriales. Los análisis fueron realizados a partir de la harina de grano entero, y todas las mediciones se realizaron por duplicado.

**Tabla 3.14.** Parámetros de propiedades de *pasting* de los genotipos de maíz *opaco-2*, pisingallo y blanco analizados por RVA<sup>1</sup>

Genotipo <sup>2</sup>	PV (cP)	TV (cP)	BD (cP)	FV (cP)	SB (cP)	TP (°C)
<b>P3</b>	1574 a	1196 c	379 a	3090 d	1872 d	80,09 a
<b>P5</b>	1781 b	1330 d	451 a	3510 e	2060 f	78,50 a
<b>P10</b>	1500 a	911 a	589 b	2228 a	1269 a	73,74 a
<b>P13</b>	2419 f	1482 e	937 d	3545 e	1868 d	77,10 a
<b>P15</b>	2240 e	1248 d	992 e	3206 d	1850 d	77,70 a
<b>P18</b>	2790 g	1588 f	1202 f	3860 f	2148 f	76,88 a
<b>P19</b>	2172 e	1137 c	1035 e	2802 c	1492 c	78,38 a
<b>P20</b>	1596 a	1140 c	455 a	3086 d	1806 d	79,84 a
<b>P22</b>	2370 f	1463 e	907 d	3547 e	1935 e	78,13 a
<b>P25</b>	1909 c	1076 b	834 c	2648 b	1407 b	75,88 a
<b>P26</b>	2003 d	1430 e	573 b	3256 d	1572 c	78,26 a
<b>P28</b>	2343 f	1323 d	1021 e	3406 e	1997 e	77,48 a
<b>POro2</b>	1861 c	1275 d	587 b	4048 g	2723 g	78,30 a
<sup>3</sup> <b>Opacos</b>	2043 c	1277 c	766 b	3248 b	1846 b	77,71 a
<b>BL</b>	1008 b	940 b	67,5 a	3660 b	2197 b	89,6 b
<b>PS</b>	397 a	320 a	77,5 a	1463 a	1143 a	93,63 c

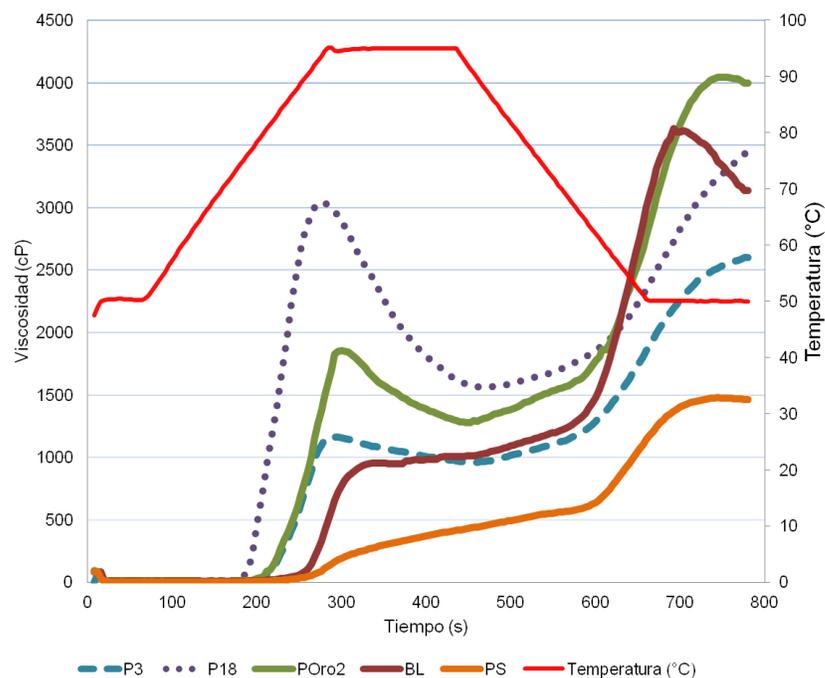
Valores seguidos por letras distintas en la misma columna son significativamente distintos ( $p < 0,05$ )

<sup>1</sup>PV = viscosidad de pico; TV = viscosidad de caída; BD = estabilidad; FV = viscosidad final; SB = retrogradación; TP = temperatura de *pasting*

<sup>2</sup>Los valores de cada genotipo (P) corresponden al promedio entre ambas cosechas (2012 y 2013), y fueron comparados con el material genético de partida (POro2)

<sup>3</sup>El promedio de todos los genotipos *opaco-2* (Opaco) fue comparado con los valores promedios de los genotipos de maíz blanco (BL) y pisingallo (PS) usados como testigos no-opacos.

Los genotipos *opaco-2* presentaron gran variabilidad en los parámetros de viscosidad (Tabla 3.14). Del mismo modo, se observaron notables diferencias en las curvas de viscosidad de las muestras P3, P18 y POro2 (representativas de genotipos opacos) respecto a las de maíz blanco y pisingallo usados como controles no-opacos (Figura 3.10).



**Figura 3.10.** Curvas de viscosidad (cP) y temperatura (°C) en función del tiempo (s) obtenidas mediante RVA. Se graficaron la P3 y P18 como representativas de los genotipos *opaco-2*, debido a que estas progenies mostraron las mayores diferencias en relación al resto de los genotipos analizados. Se comparó con la población original (POro2) y con los maíces blanco (BL) y pisingallo (PS) usados como testigos no-opacos

Los valores de viscosidad de pico (PV), viscosidad de caída (TV) y estabilidad (BD) fueron significativamente mayores en genotipos *o2* respecto a los testigos no-opacos (Tabla 3.14). Los genotipos de endosperma blando desarrollan mayor viscosidad debido a que los gránulos de almidón son más grandes y menos compactos que en el endosperma duro, permitiendo mayor difusión de agua dentro del grano (Almeida-Dominguez *et al.*, 1997; Narváez-González *et al.*, 2006). Un comportamiento similar fue reportado en muestras de harinas de trigos blandos en relación a las harinas de trigos duros (Ragae y Abdel-Aal, 2006).

El *breakdown* (BD) está comúnmente asociado a la estabilidad de los gránulos debido a que indica la resistencia del almidón cuando se lo somete a una fuerza de cizalla a altas temperaturas de calentamiento (Ragae y Abdel-Aal, 2006). Los gránulos de almidón con una elevada capacidad de hinchamiento resultan en mayores picos de viscosidad (Almeida-Dominguez *et al.*, 1997; Narváez-González *et al.*, 2006). Los mayores valores de BD mostrado por los genotipos *opaco-2* indican menor estabilidad de los gránulos de almidón respecto a los maíces blanco y pisingallo usados como controles (Tabla 3.14). Esto fue consistente con la fuerte correlación obtenida entre PV y BD entre genotipos opacos (Tabla 3.21).

El hinchamiento de los gránulos de almidón es inhibido por altos contenidos de amilosa, ya que es menos soluble en agua, lo que produce menor viscosidad (Morrison, 1988; Debet y Gidley, 2006; Uarrota *et al.*, 2013). Las muestras P10 y P3 mostraron los menores PV (Tabla 3.14), y consistentemente los mayores contenidos de amilosa (Tabla 3.13) al ser comparados con el resto de los genotipos. De manera contraria, las muestras P13, P18, P22 y P28 mostraron los mayores PV y bajos contenidos de amilosa. Estos resultados coinciden con Jane *et al.* (1999) en los bajos PV observados en los almidones de dos maíces alta-amilosa. La muestra P18 mostró significativamente los mayores PV y BD (Tabla 3.14), indicando su mayor habilidad para la formación de una pasta al ser sometido a altas temperaturas y fuerza de cizallamiento.

Por otro lado, los genotipos *o2* mostraron una correlación negativa entre PV y BD con el contenido de proteína ( $r = -0,36$  y  $r = -0,45$ ,  $p < 0,05$ , respectivamente), consistente con lo reportado por Sandhu y Singh (2007) en almidón de maíz, y una correlación positiva con el contenido de almidón total ( $r = 0,36$  y  $r = 0,37$ ,  $p < 0,05$ , respectivamente). El contenido de proteínas y lípidos en el grano pueden reducir la absorción de agua con la consiguiente disminución de la viscosidad (Debet y Gidley, 2006; Salman y Copeland, 2010), lo que concuerda con los resultados reportados por Baxter *et al.* (2014) en almidón de arroz, y por Wokadala *et al.* (2012) en almidón de maíz. Sin embargo, no se obtuvieron correlaciones

significativas entre el contenido de lípidos con PV y BD (Tabla 3.21). Las proteínas desarrollan menor viscosidad que el almidón, por lo que la correlación inversa observada entre estas dos características ( $r = -0,36$ ;  $p < 0,05$ ) explica el menor PV y BD observado cuando aumenta la proteína en el grano.

Las temperaturas de *pasting* (TP) fueron significativamente menores en genotipos *opaco-2* (de 73,74 °C a 80,09 °C) en comparación al maíz blanco (89,6 °C) y pisingallo (93,63 °C) (Tabla 3.14). Uarrota *et al.* (2013) reportaron un rango similar de TP (68,7 °C - 99,99 °C) en ocho variedades landraces de maíces brasileros. En el endosperma duro, la matriz proteica es más gruesa que en el endosperma blando (Wolf *et al.*, 1969) y los gránulos de almidón se encuentran fuertemente empaquetados (Christianson *et al.*, 1969). Además, mayor contenido de amilosa del endosperma vítreo incrementa la compresibilidad de los gránulos en la matriz (Dombrink-Kurtzman y Knutson, 1997), lo que podría explicar las correlaciones positivas obtenidas entre TP con el contenido de proteína ( $r = 0,29$ ;  $p < 0,05$ ) y el de amilosa ( $r = 0,26$ ;  $p < 0,05$ ) en genotipos *o2*. Por otro lado, una temperatura más alta es requerida en granos de endosperma vítreo para permitir la hidratación e hinchamiento de los gránulos de almidón (Narváez-González *et al.*, 2006), lo que se vio reflejado en la mayor TP en maíz blanco y pisingallo en relación a los genotipos *o2* con mayor proporción de endosperma blando. Jane *et al.* (1999) reportaron incrementos en la temperatura de *pasting* por la formación de complejos amilosa-lípido, lo que coincide con las correlaciones obtenidas entre TP con el contenido de amilosa ( $r = 0,26$ ;  $p < 0,05$ ) y de lípidos ( $r = 0,27$ ;  $p < 0,05$ ) en genotipos *opaco-2* analizados en este estudio de tesis.

Durante el enfriamiento, la re-asociación entre las moléculas de almidón, especialmente la de amilosa, producen un incremento de la viscosidad denominado *setback* (SB), y resulta de la diferencia entre TV y la viscosidad final (FV) observada en la curva de RVA (Figura 2.8 y Figura 3.10). Este parámetro se relaciona al reordenamiento del almidón luego de la gelatinización, y comúnmente se lo interpreta como la retrogradación sobre todo de las

moléculas de amilosa (Ragae y Abdel-Aal, 2006; Biliaderis 2009). El mayor PV en genotipos *opaco-2*, implicó mayores FV y SB ( $r = 0,38$  y  $r = 0,3$ ,  $p < 0,05$ , respectivamente) y concomitantemente, FV correlacionó positivamente con SB ( $r = 0,93$ ;  $p < 0,05$ ). Sin embargo, el contenido de amilosa correlacionó negativamente tanto con FV ( $r = -0,47$ ;  $p < 0,05$ ) y SB ( $r = -0,37$ ;  $p < 0,05$ ). Esto podría indicar que luego de la gelatinización, las moléculas de almidón se re-asocian con otros componentes de la harina además de la amilosa. Un comportamiento similar fue observado por Yu *et al.* (2009) en arroz, donde las muestras con mayores contenidos de amilosa tuvieron menor retrogradación. La población original (POro2) mostró el menor contenido de amilosa (Tabla 3.13) y los mayores valores de FV y SB (Tabla 3.14) en comparación a todas las progenies individuales obtenidas de ella, indicando diferencias en la composición del almidón entre el material de partida y los genotipos individuales.

El maíz blanco no mostró diferencias significativas en FV y SB con los genotipos *o2*. Sin embargo, el PV resultó significativamente menor (Tabla 3.14). Estos resultados podrían ser explicados por el mayor contenido de amilosa del maíz blanco respecto a los genotipos opacos (Tabla 3.13). Sin embargo, el maíz pisingallo mostró el menor FV, SB y PV (Figura 3.10, Tabla 3.14). En el endosperma de maíz pisingallo, los gránulos de almidón son poligonales y están más fuertemente empaquetados en la matriz proteica que en el maíz blanco (Sandhu *et al.*, 2004), lo que inhibe su hinchamiento en agua (Narváez-González *et al.* 2006).

Al analizar las relaciones obtenidas entre los parámetros de viscosidad con la composición proteica de genotipos *opaco-2* (Tabla 3.21), se observó que la correlación negativa entre el contenido de almidón y el de proteínas ( $r = -0,34$ ;  $p < 0,05$ ) fue concomitante con la relación inversa entre almidón con las zeínas ( $r = -0,4$ ;  $p < 0,05$ ), lo que coincide con los resultados obtenidos por Pineda-Hidalgo *et al.* (2011) en líneas endocriadas recombinantes *o2*. PV y BD correlacionaron negativamente con las zeínas ( $r = -0,53$  y  $r = -0,58$ ,  $p < 0,05$ , respectivamente), y positivamente con las albúminas+globulinas ( $r = 0,37$  y  $r = 0,52$ ,  $p < 0,05$ ,

respectivamente). Además el contenido de zeínas correlacionó positivamente con la TP ( $r = 0,32$ ;  $p < 0,05$ ), lo que confirma que un mayor contenido de zeínas implica mayor grado de empaquetamiento de los gránulos de almidón en la matriz proteica, por lo que se requiere mayor temperatura para que el almidón alcance el máximo de viscosidad. Esto coincide con la literatura citada en que los genotipos de endosperma blando desarrollan mayor viscosidad debido a que los gránulos de almidón están menos compactos en la matriz proteica (Christianson *et al.*, 1969), permitiendo mayor difusión de agua dentro del grano (Almeida-Dominguez *et al.*, 1997; Narváez-González *et al.*, 2006).

### Componentes de la varianza

**Tabla 3.15.** Contribución relativa de la varianza genética (VG), del año (VA) y de la interacción genotipo x año ( $V_{G \times A}$ ) a la variabilidad total en el contenido de amilosa y parámetros de viscosidad<sup>1</sup>

	<b>Amilosa</b>	<b>PV</b>	<b>TV</b>	<b>BD</b>	<b>FV</b>	<b>SB</b>	<b>TP</b>
<b>VG (%)</b>	44,62	84,21	61,64	51,81	54,72	64,26	68,95
<b>VA (%)</b>	30,28	5,02	28,99	32,41	44,10	22,22	20,54
<b><math>V_{G \times A}</math> (%)</b>	25,10	10,77	9,37	15,78	1,18	13,52	10,51

<sup>1</sup>PV = viscosidad de pico; TV = viscosidad de caída; BD = estabilidad; FV = viscosidad final; SB = retrogradación; TP = temperatura de *pasting*

El contenido de almidón en el endosperma es afectado por las condiciones ambientales fundamentalmente al inicio del período de llenado de los granos (Thitisaksakul *et al.*, 2012). El estrés hídrico y las altas temperaturas del aire y del suelo son los principales factores de estrés que influyen en la producción de almidón en el grano y alteran su funcionalidad (Tester y Karkalas, 2001; Jiang *et al.*, 2003; Battisti y Naylor, 2009; Thitisaksakul *et al.*, 2012). Como se observó en el contenido total de almidón, la varianza genética representó la mayor contribución a la variabilidad total (Tabla 3.5). En el contenido de amilosa se obtuvieron resultados similares,

no obstante las contribuciones de los efectos del año y de la interacción representaron mayores fuentes de variación en la variabilidad total obtenida (Tabla 3.15) que en el caso del almidón (Tabla 3.5). Similares resultados fueron reportados en cultivares de sorgo (Beta y Corke, 2001), donde el efecto del ambiente en el contenido de amilosa fue mayor que el de la interacción genotipo x ambiente. Pequeños cambios en los niveles de amilosa afectan directamente la funcionalidad del almidón ya que alteran las propiedades de gelatinización y propiedades de *pasting* en las harinas de estos cereales (Zeng *et al.*, 1997; Hurkman *et al.*, 2003).

En la viscosidad de pico se observó mayor contribución de la varianza genética (84,21 %) y considerablemente menores contribuciones del año de cultivo (5,02 %) y de la interacción (10,77 %). Esto indicaría que la capacidad de absorción e hinchamiento de los gránulos es fuertemente dependiente de las características estructurales del almidón de cada genotipo. Sin embargo, la contribución de la varianza del año fue mayor en el resto de los parámetros de viscosidad (Tabla 3.15). Resultados similares fueron reportados por Beta y Corke (2001), donde el pico de viscosidad mostrado por almidones de sorgo representó el mayor efecto genético que el resto de las medidas de las curvas de viscosidad. Varias investigaciones demostraron cambios en los perfiles de *pasting* en almidones de genotipos de maíz (Lu *et al.*, 2013; Lu y Lu, 2013), trigo (Liu *et al.*, 2011) y arroz (Zhong *et al.*, 2005) bajo condiciones de estrés por altas temperaturas. Por otro lado, el mayor efecto del año podría estar relacionado a las características propias del sistema de medición de la viscosidad, como la fuerza de cizalla, velocidad de rotación, tiempo y temperatura de calentamiento y enfriamiento de los geles, pudiendo haber influido de distinta manera en función de las características propias de las harinas analizadas más allá de las propiedades del almidón (proteínas, lípidos, fibra), ya que las propiedades de viscosidad dependen de las diferencias en la composición de las harinas (Narváez-González *et al.*, 2006; Ragaee y Abdel-Aal, 2006).

## Variaciones anuales en el contenido de amilosa y parámetros de viscosidad

Al analizar las variaciones anuales en los parámetros de viscosidad de genotipos *opaco-2*, se obtuvieron diferencias significativas entre ambos años.

**Tabla 3.16.** Variación promedio anual en los parámetros de viscosidad analizados mediante RVA de las doce familias de medios hermanos (2012) de maíz *opaco-2* y de sus progenies individuales (2013)

	<sup>1</sup> 2012	2013
<b>Amilosa (g/100 g de almidón)</b>	22,16 b	19,58 a
<b>Viscosidad de pico (PV)(cP)</b>	2114 b	1972 a
<b>Viscosidad de caída (TV) (cP)</b>	1164 a	1390 b
<b>Estabilidad (BD) (cP)</b>	950 b	582 a
<b>Viscosidad final (FV) (cP)</b>	2808 a	3689 b
<b>Retrogradación (SB) (cP)</b>	1640 a	2052 b
<b>Temperatura <i>pasting</i> (TP) (°C)</b>	76,56 a	78,86 b

Valores seguidos por letras distintas en la misma fila son significativamente distintos ( $p < 0,05$ )

<sup>1</sup>Los datos mostrados cada año corresponden al promedio de las doce familias de medios hermanos seleccionados durante el primer ciclo (2012) y al promedio de las doce progenies individuales obtenidas al año siguiente (2013).

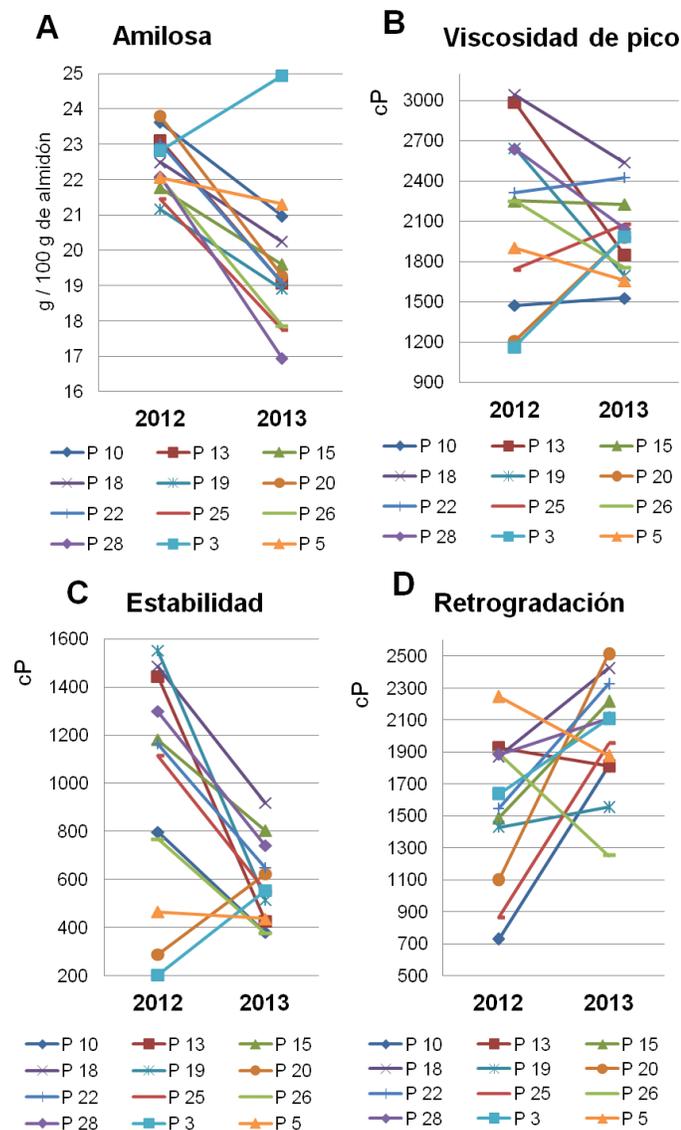
Los genotipos *opaco-2* mostraron una disminución en el promedio anual del contenido de amilosa (de 22,16 g/100 g en 2012 a 19,58 g/100 g de almidón en 2013), que fue consistente con el decrecimiento observado en el contenido total de almidón y el aumento en el contenido de proteína (Tabla 3.6). El período de mayor susceptibilidad a condiciones de estrés ambiental durante el llenado de los granos es 10 a 15 días después de la polinización (Jenner *et al.*, 1991), donde el mayor efecto se atribuye a una reducida actividad enzimática (Keeling *et al.*, 1994). Las altas temperaturas en este período afectan principalmente el contenido de amilosa en el grano, produciendo un decrecimiento en maíz (Lu *et al.*, 1996; Beta y Corke, 2001; Thitisaksakul *et al.*, 2012) y un incremento en trigo (Panozzo y Eagles, 1998; Hurkman *et al.*, 2003). Además, algunos estudios demostraron que condiciones de elevadas temperaturas incrementan la proporción de cadenas largas de amilopectina (Asaoka *et al.*, 1984; Lu *et al.*,

1996). Del mismo modo, altas temperaturas y sequías temporales pueden alterar la distribución del tamaño de los gránulos de almidón y afectar directamente el contenido final de amilosa en el grano (Lu *et al.*, 1996; Thitisaksakul *et al.*, 2012; Lu *et al.*, 2013). El aumento significativo de las temperaturas máximas registradas durante el mes de abril en el año 2013 (Tabla 2.1, Figura 1 de Anexo 1), pudo haber influido en los cambios anuales observados en el contenido de amilosa, debido que en este período se inició el llenado de los granos (Figura 3.1). Esto concuerda con la disminución en el contenido anual de almidón y el aumento de proteínas en las progenies 2013 (Tabla 3.6), indicando que las elevadas temperaturas pudieron haber sido el principal factor que afectó la biosíntesis de estos componentes del grano, dado que la cantidad y distribución de precipitaciones caídas durante el llenado de los granos en 2013 (Anexo 2) no sugieren condiciones de estrés hídrico. Además, estas variaciones fueron consistentes con las correlaciones obtenidas entre el contenido de amilosa con el de proteína ( $r = -0,41$ ;  $p < 0,05$ ) y el de almidón ( $r = 0,40$ ;  $p < 0,05$ ) (Tabla 3.21), y podría relacionarse a las mayores contribuciones de los efectos del año y de la interacción a la variabilidad total obtenida en el contenido de amilosa (Tabla 3.15).

Concomitante a la disminución del contenido de almidón y amilosa, la viscosidad de pico (PV) mostró una disminución anual de 2114 cP en 2012 a 1972 cP en 2013, y coincidió con la correlación obtenida con el almidón ( $r = 0,36$ ;  $p < 0,05$ ). Consistente a la disminución de PV, se observó un incremento anual en la viscosidad de caída (TV), lo que implicó una disminución de la estabilidad (BD) (Tabla 3.16), y fue concordante con la correlación positiva obtenida entre PV y BD ( $r = 0,82$ ;  $p < 0,05$ ). La fuerte correlación positiva obtenida entre la viscosidad final (FV) y la retrogradación (SB) ( $r = 0,93$ ;  $p < 0,05$ ), fue concordante con los incrementos anuales observados en ambos parámetros (Tabla 3.16).

La temperatura de *pasting* (TP) mostró un incremento anual de 76,56 °C en 2012 a 78,86 °C en 2013, y estuvo acompañado con el incremento anual en el contenido de proteína (Tabla 3.16). Además fue consistente con la correlación positiva obtenida entre estas dos características

( $r = 0,29$ ;  $p < 0,05$ ). Un mayor contenido de proteína en el grano podría indicar una matriz proteica más gruesa en el endosperma (Wolf *et al.*, 1969), y por lo tanto, mayor temperatura de *pasting*.



**Figura 3.11.** Variación anual en el contenido de amilosa (A), en la viscosidad de pico (B), en la estabilidad (C) y en la retrogradación (D) de las doce familias de medios hermanos de maíz *opaco-2* (2012) y sus progenies individuales (2013)

Las variaciones individuales de cada genotipo en cada año de estudio (Figura 3.11) se analizaron para las características que presentaron mayor contribución de la varianza de interacción genotipo x año a la variabilidad total (Tabla 3.15). En el contenido de amilosa, se puede observar claramente una disminución de un año a otro en la mayoría de los genotipos *o2*, y cambios de *ranking* entre ellos. Sin embargo, la P3 mostró un comportamiento muy distinto al resto de los genotipos, presentando un significativo aumento en el contenido de amilosa (de 22,82 a 24,94 g/100 g de almidón) (Figura 3.11 A). Esta muestra presentó también un incremento anual tanto del contenido de almidón y el de proteínas, difiriendo a la tendencia general del resto de los genotipos.

La viscosidad de pico (PV) y la estabilidad (BD) mostraron comportamientos distintos en cada año. Las diferencias entre genotipos fueron más marcadas en el año 2012 (1163 cP - 3044,5 cP para PV y 203 cP - 1552,5 cP para BD) respecto a 2013, cuyos rangos de variación fueron menores (1529,5 cP - 2426,5 cP para PV y 379 cP - 918 cP para BD) (Figura 3.11 B y C). Esto evidencia diferentes comportamientos de las progenies respecto a sus padres, cuyos cambios de *ranking* entre genotipos estaría relacionado a la mayor contribución de la varianza de la interacción genotipo x año en ambas características. Sin embargo, el efecto del año fue mayor para BD (Tabla 3.15), indicando que esta característica se vio más influenciada por el ambiente.

En el caso de la retrogradación (SB), los valores oscilaron entre 726 cP y 2246 cP en 2012 y entre 1250 cP y 2514 cP en 2013, y las diferencias entre genotipos fueron más visibles en la generación parental. La mayor contribución de la varianza genética mostrada en la mayoría de los parámetros de viscosidad del almidón, indicaría que la variabilidad observada se debió en mayor medida a las diferencias genéticas. Sin embargo, las fuertes contribuciones de las varianzas del año mostradas en estos parámetros, indican que también fueron influenciadas por el ambiente.

## PROPIEDADES TÉRMICAS

Se examinaron las propiedades de gelatinización y retrogradación con el fin de evaluar las características estructurales del almidón y las interacciones con el resto de los componentes del grano.

### Gelatinización

**Tabla 3.17.** Parámetros de gelatinización de la harina de genotipos de maíz *opaco-2*, pisingallo y blanco analizados mediante DSC<sup>1</sup>

<sup>2</sup> Genotipo	$\Delta H_G$ (J/g)	$T_{oG}$ (°C)	$T_{pG}$ (°C)	$R_G$ (°C)
<b>P3</b>	6,47 a	68,23 c	73,41 d	9,95 d
<b>P5</b>	6,55 a	67,47 b	72,33 b	9,46 c
<b>P10</b>	5,84 a	68,48 c	72,88 c	8,73 b
<b>P13</b>	6,18 a	68,81 c	73,22 d	8,53 b
<b>P15</b>	8,17 c	68,83 c	73,55 d	8,92 b
<b>P18</b>	5,87 a	67,64 b	72,73 c	9,61 c
<b>P19</b>	6,52 a	68,10 c	72,95 c	9,29 c
<b>P20</b>	5,49 a	65,21 a	71,40 a	11,32 e
<b>P22</b>	7,37 b	67,75 b	73,31 d	10,44 d
<b>P25</b>	9,32 d	67,74 b	72,97 c	10,02 d
<b>P26</b>	8,32 c	67,64 b	72,72 c	10,33 d
<b>P28</b>	6,80 a	67,83 b	72,84 c	9,23 c
<b>POro2</b>	10,09 d	70,93 d	74,94 e	8,10 a
<sup>3</sup> <b>Opacos</b>	7,15 b	68,05 b	73,02 b	9,53 a
<b>BL</b>	5,58 b	65,25 a	72,09 a	15,09 c
<b>PS</b>	3,01 a	68,79 b	73,91 b	11,42 b

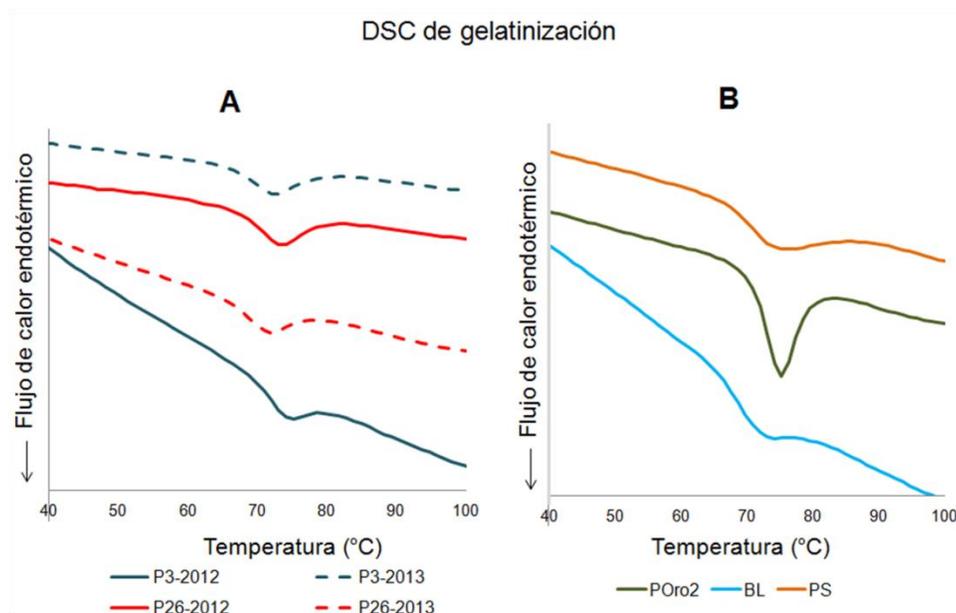
Valores seguidos por letras distintas en la misma columna son significativamente distintos ( $p < 0,05$ )

<sup>1</sup> $\Delta H_G$  = entalpía de gelatinización;  $T_{oG}$  = temperatura de inicio;  $T_{pG}$  = temperatura de pico;  $R_G$  = rango de temperatura ( $T_{eG} - T_{oG}$ )

<sup>2</sup>Los valores de cada genotipo (P) corresponden al promedio entre ambas cosechas (2012 y 2013), y fueron comparados con el material genético de partida (POro2)

<sup>3</sup>El promedio de todos los genotipos *opaco-2* (Opaco) fue comparado con los valores promedios de los genotipos de maíz blanco (BL) y pisingallo (PS) usados como testigos no-opacos.

En la Figura 3.12 A se muestran los termogramas de gelatinización de las P3 y P26 en ambos años de estudio como representativas de los genotipos *opaco-2*, y en la Figura 3.12 B las curvas de la POro2 y los genotipos no-opacos (maíz blanco y pisingallo). Los genotipos *opaco-2* presentaron un amplio rango de variación en la  $\Delta H_G$ . El promedio de  $\Delta H_G$  en genotipos *opaco-2* fue significativamente mayor que en los testigos (Tabla 3.17). Mayores valores de  $\Delta H_G$  fueron reportados por White *et al.* (1990) en variedades de polinización libre de maíz dentado y harinoso, y por Ng *et al.* (1997a) en líneas endocriadas (S3) de maíz amarillo semi-dentado. Sin embargo, Méndez-Montealvo *et al.* (2005) obtuvieron menores  $\Delta H_G$  en híbridos simples QPM.



**Figura 3.12.** Termogramas de gelatinización obtenidos mediante DSC. Se graficaron la P3 y P26 en ambos años (A) como curvas representativas de los genotipos *opaco-2*, debido a que estas progenies mostraron las mayores diferencias en relación al resto de los genotipos analizados. Se compararon las curvas de la población original (POro2), con los maíces blanco (BL) y pisingallo (PS) usados como testigos no-opacos (B)

Una mayor entalpía de gelatinización indica alto porcentaje de cristalinidad de los gránulos (Sandhu y Singh, 2007; Uarrota *et al.*, 2013; Lin *et al.*, 2016). Las cadenas cortas de amilopectina pueden reducir la formación de cristales, mientras que una mayor proporción de cadenas más largas forman una estructura cristalina más organizada, por lo que se requiere mayor energía para su fusión (Jane *et al.*, 1999; Jia *et al.*, 2013; Uarrota *et al.*, 2013). Salazar-Salas *et al.* (2014) obtuvieron menor proporción de cadenas cortas de amilopectina y mayor  $\Delta H_G$  en muestras de genotipos *o2* en comparación a las muestras de endosperma vítreo. En relación a esto, el menor contenido de amilosa obtenido en genotipos *o2* respecto a los controles no-opacos, indicaría un mayor contenido de amilopectina en los gránulos, lo que podría estar relacionado además a una mayor proporción de cadenas largas debido a los mayores valores de  $\Delta H_G$  obtenidos en genotipos *opaco-2* en relación al maíz blanco y pisingallo, cuyos contenidos de amilosa fueron más altos (Tabla 3.13). El fenotipo vítreo está asociado a mayor acumulación de amilosa, que implica más regiones amorfas hacia la periferia de los gránulos, conduciendo a una mayor compresibilidad y compactación de estas estructuras (Gibbon *et al.*, 2003; Gayral *et al.*, 2015). Concomitantemente, los genotipos *o2* mostraron una correlación negativa entre el contenido de amilosa y  $\Delta H_G$  ( $r = -0,36$ ;  $p < 0,05$ ), lo que coincide con las relaciones inversas entre la entalpía de gelatinización y el contenido de amilosa en maíz reportadas por Matveev *et al.* (2001) y Salazar-Salas *et al.* (2014). Krueger *et al.* (1987) y Lin *et al.* (2016) obtuvieron menor  $\Delta H_G$  en almidones de maíz alta amilosa en relación a las muestras de maíces normales.

Se obtuvieron diferencias significativas en la  $T_{oG}$  y  $T_{pG}$  entre genotipos *opacos-2*, y los promedios no mostraron grandes diferencias con el maíz blanco y pisingallo (Tabla 3.17). Una variabilidad similar fue reportada por Li y Glover (1994) en 35 poblaciones de maíces tropicales y subtropicales. Uarrota *et al.* (2013) reportaron similares  $T_{oG}$  y  $T_{pG}$  en variedades landraces de maíces brasileños, y Seetharaman *et al.* (2001) encontraron un rango de  $T_{oG}$  similar en variedades autóctonas argentinas.

El  $R_G$  promedio obtenido en genotipos *o2* fue significativamente menor a los de maíz blanco y pisingallo (Tabla 3.17), lo que sugiere mayor homogeneidad de la región cristalina de los gránulos de almidón debido al menor rango de temperatura de gelatinización. Similares resultados fueron reportados por Lin *et al.* (2016) quienes obtuvieron rangos de temperatura mayores en almidones de maíz alta amilosa respecto a genotipos normales. Un menor rango de temperatura indica una gelatinización más rápida del almidón (Hegenbart, 1996) y puede ser útil para aplicaciones industriales. Seetharaman *et al.* (2001) reportaron mayores  $R_G$  a los obtenidos en este estudio en seis razas de maíces harinosos.

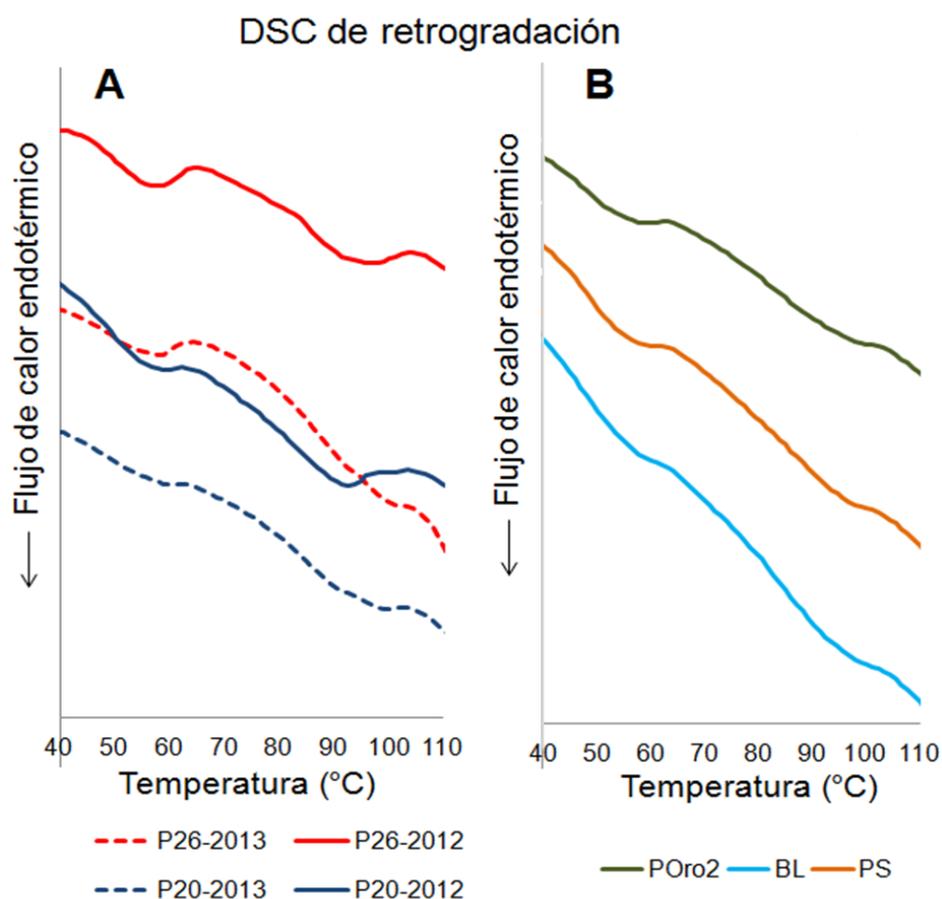
En el análisis de las correlaciones entre los parámetros de gelatinización en genotipos *opaco-2* (Tabla 3.21), se observó una relación directa entre la  $\Delta H_G$  con las  $T_{oG}$  y  $T_{pG}$  ( $r = 0,4$  y  $r = 0,42$ ,  $p < 0,05$ , respectivamente) y entre ambas temperaturas ( $r = 0,93$ ,  $p < 0,05$ ). Además, las muestras con mayor  $T_{oG}$  y  $T_{pG}$  presentaron menor  $R_G$  ( $r = -0,86$  y  $r = -0,67$ ,  $p < 0,05$ ). Un patrón de correlación similar fue reportado por Eyhérbide *et al.* (2007a) en 12 líneas endocriadas argentinas.

La población original (POro2) mostró la mayor  $\Delta H_G$  (10,09 J/g) y el menor  $R_G$  (8,1 J/g) respecto a las progenies individuales (Tabla 3.17). Esto indica diferencias en la composición y estructura cristalina de gránulos de almidón en el material genético utilizado como población original respecto a los genotipos individuales obtenidos de ella.

## **Retrogradación**

Luego del análisis de gelatinización, las muestras se almacenaron a 4 °C durante 14 días para permitir la retrogradación del almidón. Al realizar nuevamente el tratamiento térmico, se

distinguieron dos endotermas (Figura 3.13). Se seleccionaron los termogramas de las P20 y P26 en ambos años de estudio como representativas de genotipos *opaco-2* (Figura 3.13 A) y se muestran las curvas de la POro2, de maíz blanco y pisingallo usados como testigos no-opacos (Figura 3.13 B).



**Figura 3.13.** Termogramas de retrogradación obtenidos mediante DSC. Se representaron las P26 y P20 en ambos años (A) como curvas representativas de los genotipos *opaco-2*, debido a que estas progenies mostraron las mayores diferencias en relación al resto de los genotipos analizados. Se compararon las curvas de la población original (POro2), con los maíces blanco (BL) y pisingallo (PS) usados como testigos no-opacos (B)

La primera endoterma se atribuyó a la fusión producida por la cristalinización de las cadenas de amilopectina ( $\Delta H_{R1}$ ) (Sandoval-Aldana *et al.*, 2005), y la segunda correspondió a la fusión del complejo amilosa-lípido ( $\Delta H_{R2}$ ) (Liu *et al.*, 2009). La suma de ambas endotermas ( $\Delta H_{R1} + \Delta H_{R2}$ ) fue considerada como la entalpía total de retrogradación ( $\Delta H_{RT}$ ) (Liu *et al.*, 2009) (Tabla 3.18).

**Tabla 3.18.** Parámetros de retrogradación de la harina de genotipos de maíz *opaco-2*, pisingallo y blanco analizados mediante DSC<sup>1</sup>

<sup>2</sup> Genotipo	Primer Endoterma				Segunda Endoterma				$\Delta H_{RT}$ (J/g)	% R
	$\Delta H_{R1}$ (J/g)	$T_{oR1}$ (°C)	$T_{pR1}$ (°C)	$R_{R1}$ (°C)	$\Delta H_{R2}$ (J/g)	$T_{oR2}$ (°C)	$T_{pR2}$ (°C)	$R_{R2}$ (°C)		
<b>P3</b>	0,45 a	51,43 b	56,46 b	9,74 a	2,38 d	82,24 a	90,90 a	21,12 c	2,91 d	28,25 b
<b>P5</b>	1,95 d	46,43 a	54,29 a	14,19 b	0,97 a	88,85 b	97,35 b	13,79 b	2,92 d	43,28 d
<b>P10</b>	0,48 a	48,85 a	53,06 a	8,91 a	0,64 a	92,06 c	99,18 b	11,68 b	1,10 a	13,96 a
<b>P13</b>	1,94 d	46,83 a	54,97 a	15,16 b	1,34 b	91,79 c	96,65 b	8,26 a	3,28 d	48,90 d
<b>P15</b>	3,04 f	47,42 a	56,01 b	15,63 b	1,95 c	87,04 b	97,44 b	16,87 b	4,99 f	62,27 e
<b>P18</b>	2,90 f	47,36 a	55,88 b	16,09 b	1,21 b	90,60 c	95,77 b	13,43 b	4,10 e	69,92 f
<b>P19</b>	0,77 b	51,63 b	57,43 b	10,81 a	1,49 b	91,90 c	98,52 b	11,81 b	2,26 c	35,02 c
<b>P20</b>	1,56 c	49,32 a	54,39 a	12,75 b	2,26 d	83,99 a	91,17 a	16,91 b	3,82 e	71,94 f
<b>P22</b>	1,39 c	49,14 a	57,24 b	12,40 b	1,70 c	87,91 b	97,90 b	14,24 b	3,09 d	41,87 d
<b>P25</b>	2,37 e	48,29 a	55,90 b	15,72 b	1,84 c	88,12 b	97,05 b	15,97 b	4,20 e	47,92 d
<b>P26</b>	1,84 d	49,02 a	57,02 b	12,69 b	2,22 d	87,14 b	95,31 b	15,40 b	4,06 e	49,00 d
<b>P28</b>	0,85 b	48,91 a	56,66 b	13,14 b	0,87 a	86,82 b	95,14 b	13,95 b	1,72 b	26,45 b
<b>POro2</b>	2,05 d	47,00 a	53,97 a	15,17 b	1,46 b	84,13 a	94,81 b	18,72 c	3,52 d	34,81 c
<sup>3</sup> <b>Opacos</b>	1,66 a	48,59 a	55,64 a	13,26 b	1,56 b	87,95 b	96,01 a	14,64 a	3,11 a	44,12 a
<b>BL</b>	1,38 a	52,28 b	56,67 a	9,32 a	2,86 c	82,49 a	92,55 a	20,62 b	4,23 a	75,91 b
<b>PS</b>	1,95 a	46,97 a	54,59 a	14,88 b	0,89 a	86,68 b	93,43 a	13,55 a	2,84 a	94,72 b

Valores seguidos por letras distintas en la misma columna son significativamente distintos ( $p < 0,05$ )

<sup>1</sup> $\Delta H_R$  = entalpía de retrogradación;  $T_{oR}$  = temperatura de inicio;  $T_{pR}$  = temperatura de pico;  $R_R$  = rango de temperatura ( $T_{eR} - T_{oR}$ );  $\Delta H_{RT}$  = entalpía total de retrogradación ( $\Delta H_{R1} + \Delta H_{R2}$ ); % R = porcentaje de retrogradación calculado como  $\Delta H_{RT}/\Delta H_G \times 100$

<sup>2</sup>Los valores de cada genotipo (P) corresponden al promedio entre ambas cosechas (2012 y 2013), y fueron comparados con el material genético de partida (POro2)

<sup>3</sup>El promedio de todos los genotipos *opaco-2* (Opaco) fue comparado con los valores promedios de los genotipos de maíz blanco (BL) y pisingallo (PS) usados como testigos no-opacos.

Los genotipos *opaco-2* presentaron un amplio rango de variación en  $\Delta H_{RT}$  (de 1,1 J/g a 4,99 J/g). Mayores entalpías de retrogradación fueron reportadas por Ng *et al.* (1997a) en 62 líneas endocriadas de maíz amarillo semidentado. El promedio de  $\Delta H_{RT}$  obtenido en los

genotipos *opaco-2* (3,11 J/g) no mostró diferencias significativas a los valores obtenidos en maíz blanco (4,23 J/g) y pisingallo (2,84 J/g). Resultados similares fueron reportados por Seetharaman *et al.* (2001) donde los promedios entre las variedades landraces argentinas de maíz flint no difirieron significativamente a los promedios obtenidos en las de maíz harinoso.

Se obtuvieron diferencias significativas en  $T_{OR1}$ ,  $T_{PR1}$  y  $R_{R1}$  entre genotipos. El valor promedio de  $T_{OR1}$  en las muestras de genotipos *o2* (48,49 °C) fue menor al de maíz blanco (52,28 °C) y no difirió significativamente con el maíz pisingallo (46,97 °C) (Tabla 3.18). Menores valores promedios de  $T_{OR1}$  fueron reportados en variedades landraces de maíz flint y harinoso (Seetharaman *et al.*, 2001) y en líneas endocriadas de maíz amarillo semidentado (Ng *et al.*, 1997a). Por otro lado, Park *et al.* (2009) reportaron menores  $T_{OR1}$  en maíces *waxy*. La correlación positiva obtenida entre  $\Delta H_{R1}$  con  $R_{R1}$  ( $r = 0,72$ ;  $p < 0,05$ ) en genotipos *opacos-2* indica que un mayor rango de temperatura fue necesario para fundir la estructura cristalina resultante del reordenamiento molecular durante el almacenamiento. El ancho del pico endotérmico se relaciona con la heterogeneidad de las asociaciones moleculares en el almidón retrogradado (Yuan *et al.*, 1993). La amilopectina y los materiales intermedios también juegan un papel importante en la retrogradación del almidón durante el almacenamiento en condiciones refrigeradas (Yamin *et al.*, 1999). Por lo tanto, un aumento de materiales intermedios podría dar lugar a mayores rangos de retrogradación (Yuan *et al.*, 1993; Ng *et al.*, 1997b).

Los promedios de  $T_{OR2}$  y  $T_{PR2}$  obtenidos en genotipos *opaco-2* no mostraron grandes diferencias a los de maíz blanco y pisingallo (Tabla 3.18). Similares temperaturas endotérmicas de fusión del complejo amilosa-lípido fueron obtenidas por Chung y Liu (2009) en maíz normal, amilomaíz y arroz, y por Ng *et al.* (1997b) en líneas de maíz mutantes y normales. Los valores de  $\Delta H_{R2}$  mostraron un amplio rango de variación entre genotipos *opacos-2*, cuyo promedio (1,56 J/g) fue significativamente mayor que en maíz pisingallo (0,89 J/g) y menor que el maíz blanco (2,86 J/g) (Tabla 3.18). Chung y Liu (2009) informaron similares entalpías de fusión del complejo de amilosa-lípido en maíz normal, maíz alta amilosa y arroz luego del enfriamiento.

La muestra P3 mostró los mayores contenidos de amilosa (23,88 g/100 g de almidón) y lípidos (10,86 g/100 g de harina) y el mayor  $\Delta H_{R2}$  (2,38 J/g). Contrariamente, la P28 presentó bajos contenidos de amilosa (19,52 g/100 de almidón) y lípidos (8,04 g/100 g de harina) y consistentemente bajo  $\Delta H_{R2}$  (0,87 J/g). El contenido de lípidos influye en la asociación de las cadenas de amilosa (Boltz y Thompson, 1999), ya que forman complejos con los lípidos interfiriendo en la unión entre sí de las moléculas de amilosa (Salman y Copeland, 2010). Estas interacciones son importantes para la formación de redes intermoleculares extendidas en los geles de almidón (Blazek y Copeland, 2009). En concordancia a esto, se obtuvieron correlaciones positivas entre el contenido de lípidos con  $\Delta H_{R2}$  ( $r = 0,45$ ;  $p < 0,05$ ), con  $R_{R2}$  ( $r = 0,45$ ;  $p < 0,05$ ) y entre  $\Delta H_R$  con  $R_{R2}$  ( $r = 0,54$ ;  $p < 0,05$ ) (Tabla 3.21) dentro de los genotipos *o2*. Esto indica que un aumento de lípidos en el grano lleva a la formación de complejos amilosa-lípido estables, mostrando mayor ancho de pico ( $R_{R2}$ ) para su fusión y mayor entalpía. Chung y Liu (2009) encontraron una correlación positiva entre la entalpía de fusión del complejo lípido-amilosa con el contenido lípidos libres y ligados de maíz y arroz.

El porcentaje de retrogradación (% *R*) indica la tendencia del almidón gelatinizado a retrogradarse durante el almacenamiento a baja temperatura (Ng *et al.*, 1997a). Los genotipos *opaco-2* mostraron gran variabilidad en % *R* (de 13,96 % a 71,94 %), cuyo promedio (44,12 %) fue significativamente menor que en maíz blanco (75,91 %) y pisingallo (94,72 %) (Tabla 3.18). Rangos similares de % *R* fueron reportados por Ng *et al.* (1997a) y Eyhérbide *et al.* (2007b) en líneas endocriadas de maíz. El mayor contenido de amilosa obtenido en los controles (Tabla 3.13) podría explicar el mayor % *R* de los genotipos *o2* en relación a los no-opacos. Jane *et al.* (1999) reportaron similares valores de % *R* en maíz alta amilosa.

Al analizar las relaciones con la composición proteica (Tabla 3.21), el contenido total de proteína y el contenido de zeínas correlacionaron negativamente con  $\Delta H_{R1}$  ( $r = -0,52$  y  $r = -0,41$ ,  $p < 0,05$ , respectivamente), con  $\Delta H_{RT}$  ( $r = -0,35$  y  $r = -0,33$ ,  $p < 0,05$ , respectivamente) y con % *R* ( $r = -0,38$  y  $r = -0,27$ ,  $p < 0,05$ , respectivamente). El efecto primario de las proteínas sobre

la retrogradación es la disminución de la cantidad de almidón, y no una interacción con las proteínas (White, 2001). Yuan *et al.* (1993) informaron que el contenido de almidón es determinante en la forma y entalpía de los termogramas de retrogradación en genotipos mutantes de maíz, lo que explica las correlaciones positivas obtenidas entre el contenido total de almidón con  $\Delta H_{R1}$  ( $r = 0,32$ ;  $p < 0,05$ ), con  $\Delta H_{RT}$  ( $r = 0,30$ ;  $p < 0,05$ ) y con %  $R$  ( $r = 0,35$ ;  $p < 0,05$ ).

### Componentes de la varianza

**Tabla 3.19.** Contribución relativa (%) de la varianza genética (VG), del año (VA) y de la interacción genotipo x año ( $V_{G \times A}$ ) a la variabilidad total en los parámetros analizados con DSC<sup>1</sup>

	Gelatinización				Retrogradación									
	$\Delta H_G$	$T_{oG}$	$T_{pG}$	$R_G$	$\Delta H_{R1}$	$T_{oR1}$	$T_{pR1}$	$R_{R1}$	$\Delta H_{R2}$	$T_{oR2}$	$T_{pR2}$	$R_{R2}$	$\Delta H_{RT}$	% $R$
<b>VG</b>	88,29	83,37	82,95	92,01	98,25	64,2	67,57	64,93	92,84	63,07	57,26	47,46	97,07	96,23
<b>VA</b>	1,68	10,34	12,40	2,45	2,58	0,67	1,46	2,28	1,41	10,61	2,80	10,45	1,61	3,89
<b><math>V_{G \times A}</math></b>	11,71	6,29	4,65	7,99	1,75	35,13	32,43	35,07	7,16	26,32	39,94	42,09	2,93	3,77

<sup>1</sup> $\Delta H_G$  = entalpía de gelatinización,  $T_{oG}$  = temperatura de inicio,  $T_{pG}$  = temperatura de pico,  $R_G$  = rango de temperatura ( $T_{eG} - T_{oG}$ ) de gelatinización;  $\Delta H_R$  = entalpía de retrogradación,  $T_{oR}$  = temperatura de inicio,  $T_{pR}$  = temperatura de pico,  $R_R$  = rango de temperatura ( $T_{eR} - T_{oR}$ ) de retrogradación;  $\Delta H_{RT}$  = entalpía total de retrogradación ( $\Delta H_{R1} + \Delta H_{R2}$ ); %  $R$  = porcentaje de retrogradación ( $\Delta H_{RT}/\Delta H_G \times 100$ )

La varianza genética representó la mayor contribución a la variabilidad total obtenida en todos los parámetros de gelatinización y retrogradación (Tabla 3.19). Particularmente, el efecto genético fue mayor en las medidas de gelatinización, tanto en la  $\Delta H_G$  como en las temperaturas de transición, y las contribuciones del año y de la interacción presentaron considerablemente menores pesos en la variabilidad total obtenida (Tabla 3.19). Esto indicaría que la estructura cristalina de los gránulos de almidón es fuertemente dependiente del genotipo. Beta y Corke (2001) obtuvieron mayor efecto del ambiente en la  $\Delta H_G$  y  $T_{pG}$  en almidones de sorgo. Por otro lado, Lenihan *et al.* (2005) obtuvieron interacciones significativas entre los ambientes evaluados en las temperaturas de transición tanto de gelatinización y retrogradación de líneas endocriadas.

En el caso de los parámetros de retrogradación, las entalpías presentaron el mayor efecto genético (98,25 % en  $\Delta H_{R1}$ , 92,84 % en  $\Delta H_{R2}$  y 97,07 % en  $\Delta H_{RT}$ ) en relación a las temperaturas de transición, en las cuales se observó una mayor contribución de la interacción genotipo x año en comparación al efecto del año (Tabla 3.19). Esto podría indicar que la capacidad de retrogradación es fuertemente dependiente de las características del almidón de cada genotipo luego de la gelatinización, lo que se explica también por la fuerte contribución genética en el porcentaje de retrogradación (96,23 %). El *background* genético posee una contribución crítica en los parámetros de funcionalidad del almidón (Kiseleva *et al.*, 2003; Bao *et al.*, 2004; Nowotnaa *et al.*, 2007; Brennan *et al.*, 2012). Las diferencias en los comportamientos de algunos genotipos son inherentes a las condiciones ambientales (Beckles y Thitisaksakul, 2014).

### **Variaciones anuales en los parámetros medidos en DSC**

Las mayores temperaturas máximas registradas en el mes de abril en 2013 (Tabla 2.1, Figura 1 de Anexo 1), así como las variaciones en la disponibilidad de agua en el suelo, son factores que podrían haber contribuido en los cambios anuales observados en el contenido de almidón y amilosa como ya fue anteriormente analizado, influyendo directamente en el llenado de los granos. Esto se relaciona con los valores anuales observados en los parámetros de gelatinización y retrogradación.

**Tabla 3.20.** Variación promedio anual de los parámetros de gelatinización y retrogradación analizados mediante DSC de la harina de doce familias de medios hermanos (2012) de maíz *opaco-2* y de sus progenies individuales (2013)

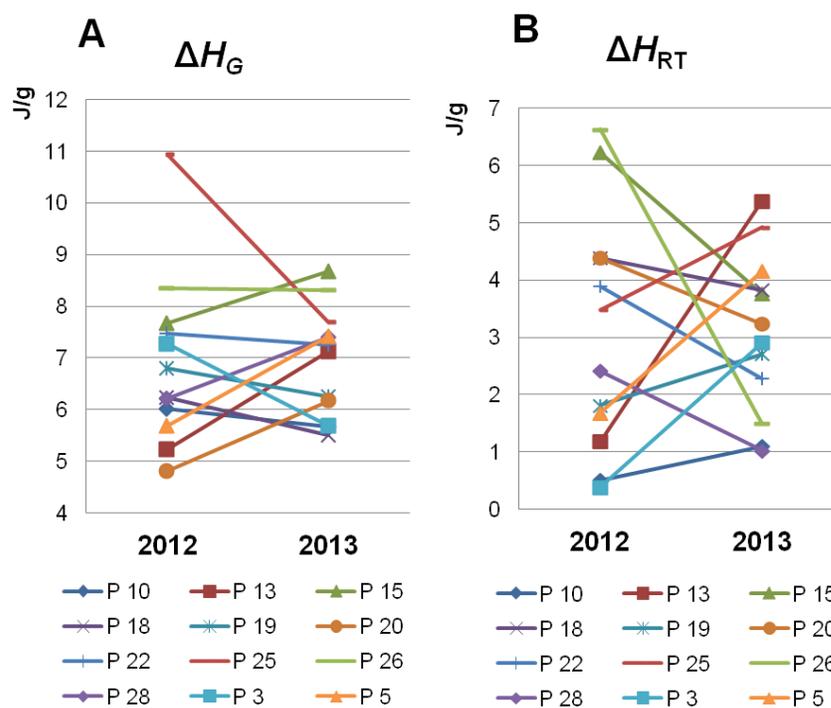
<b>Gelatinización</b>		<sup>1</sup> <b>2012</b>	<b>2013</b>
Entalpía ( $\Delta H_G$ ) (J/g)		7,14 a	7,17 a
Temperatura de inicio ( $T_{oG}$ ) (°C)		68,50 b	67,59 a
Temperatura de pico ( $T_{pG}$ ) (°C)		73,52 b	72,51 a
Rango de temperatura ( $R_G$ ) (°C)		9,41 a	9,65 b
<b>Retrogradación</b>			
<b>Primer endoterma</b>	Entalpía ( $\Delta H_{R1}$ ) (J/g)	1,86 b	1,46 a
	Temperatura de inicio ( $T_{oR1}$ ) (°C)	49,04 b	48,13 a
	Temperatura de pico ( $T_{pR1}$ ) (°C)	55,68 a	55,59 a
	Rango de temperatura ( $R_{R1}$ ) (°C)	12,67 a	13,85 b
<b>Segunda endoterma</b>	Entalpía ( $\Delta H_{R2}$ ) (J/g)	1,48 a	1,64 b
	Temperatura de inicio ( $T_{oR2}$ ) (°C)	89,37 b	86,75 a
	Temperatura de pico ( $T_{pR2}$ ) (°C)	96,83 b	95,32 a
	Rango de temperatura ( $R_{R2}$ ) (°C)	13,19 a	15,88 b
Entalpía total ( $\Delta H_{RT}$ ) (J/g)		3,60 b	3,10 a
Porcentaje de retrogradación (% $R$ ) (%)		44,15 a	44,1 a

Valores seguidos por letras distintas en la misma fila son significativamente distintos ( $p < 0,05$ )

<sup>1</sup>Los datos mostrados cada año corresponden al promedio de las doce familias de medios hermanos seleccionados durante el primer ciclo (2012) y al promedio de las doce progenies individuales obtenidas al año siguiente (2013).

La  $\Delta H_G$  no mostró variación anual significativa entre años de cultivo (7,14 J/g en 2012 y 7,17 J/g en 2013) (Tabla 3.20), y fue concordante con la baja contribución del efecto año a la variabilidad total (Tabla 3.19). Similares resultados fueron reportados por Lu *et al.* (1996) y Lenihan *et al.* (2005) quienes no obtuvieron variación significativa en la  $\Delta H_G$  en almidones de maíz desarrollados en ambientes con altas temperaturas. Se observaron ligeras disminuciones anuales en las  $T_{oG}$  (de 68,5 °C en 2012 a 67,59 °C en 2013) y  $T_{pG}$  (de 73,52 °C en 2012 a 72,51 °C en 2013) (Tabla 3.20), mostrando un mayor efecto del año (Tabla 3.19). Estos resultados no coinciden con el incremento de las temperaturas de gelatinización obtenidas por Lu y Lu (2013) y Lenihan *et al.* (2005) en las líneas de los maíces evaluados en ambientes con mayores temperaturas. A pesar de ello, el  $R_G$  mostró un ligero incremento anual (de 9,41 °C en 2012 a 9,65 °C en 2013), lo que coincide con el incremento observado en  $R_G$  por Lu *et al.* (1996) y Lenihan *et al.* (2005).

El % *R* no mostró variación significativa entre años (44,15 % en 2012 y 44,1 % en 2013). Sin embargo, se observó una disminución anual en  $\Delta H_{R1}$  (de 1,86 J/g en 2012 a 1,46 J/g en 2013) y  $\Delta H_{RT}$  (de 3,6 J/g en 2012 a 3,1 J/g en 2013) (Tabla 3.20), que coincidió con la disminución anual del contenido total de almidón en genotipos *o2* (Tabla 3.6). Lenihan *et al.* (2005) reportaron variaciones significativas en  $\Delta H_R$  y % *R* entre los ambientes evaluados. Sin embargo, y de manera contraria,  $\Delta H_{R2}$  presentó un incremento anual (de 1,48 J/g en 2012 a 1,64 J/g en 2013) (Tabla 3.20), concordante al aumento anual del contenido de lípidos (Tabla 3.6), y a la correlación positiva observada entre estas dos características ( $r = 0,45$ ;  $p < 0,05$ ). Esto confirma que el contenido de lípidos de los granos fue determinante en la retrogradación del almidón, influyendo en la formación de complejos amilosa-lípido, consistente a lo demostrado por otras investigaciones (Boltz y Thompson, 1999; Blazek y Copeland, 2009; Chung y Liu, 2009).



**Figura 3.14.** Variación anual en la entalpía de gelatinización ( $\Delta H_G$ ) (A) y retrogradación ( $\Delta H_{RT}$ ) (B) de las doce familias de medios hermanos de maíz *opaco-2* (2012) y de sus progenies individuales (2013)

A modo de simplificación de los resultados obtenidos en las propiedades térmicas del almidón, se muestran los comportamientos individuales observados en  $\Delta H_G$  y  $\Delta H_{RT}$ . Los genotipos presentaron cambios de *ranking* entre años, es decir, su respuesta fenotípica no fue la misma en cada año de cosecha (Figura 3.14). Sin embargo, el efecto de la interacción genotipo x año no representó gran contribución en la variabilidad total obtenida en las entalpías de gelatinización y retrogradación (Tabla 3.19). La P25 mostró una fuerte disminución de un año a otro en  $\Delta H_G$ , y la P26 se mantuvo prácticamente sin cambios (Figura 3.14 A). Las P26 y P13 además mostraron una fuerte disminución y aumento en la  $\Delta H_{RT}$  (Figura 3.14 B), respectivamente. Sin embargo, la interacción genotipo x año en esta característica fue prácticamente despreciable (Tabla 3.19).

## **RELACIONES CON EL RENDIMIENTO**

La Tabla 3.21 muestra las correlaciones significativas obtenidas con los valores de ambos ciclos de cultivo de genotipos *opaco-2*, consideradas como más relevantes entre todas las características estudiadas (citadas durante el análisis de los resultados de la composición y propiedades térmicas y de viscosidad del almidón). Los rendimientos del año 2012 se estimaron a partir de cada mazorca individual cosechada ese año, y en el año 2013, se consideraron los rendimientos medios estimados en cada progenie individual (no se incluyeron en el análisis a los testigos no-opacos).

En relación con el rendimiento, varias investigaciones reportaron relaciones inversas entre características de calidad de los granos y rendimiento en maíz (Villegas *et al.*, 1992; Hou *et al.*, 2001; Vasal, 2001; Wegary *et al.*, 2011), pero la mayoría basadas en el contenido de proteína. En este estudio de tesis, se obtuvo una correlación negativa entre el rendimiento con el contenido de proteína ( $r = -0,49$ ;  $p < 0,05$ ) (como fue analizado en la sección de composición proteica de esta tesis). Por otro lado, particularmente el rendimiento correlacionó positivamente

con el contenido de amilosa ( $r = 0,59$ ;  $p < 0,05$ ) y con la  $T_{oG}$  ( $r = 0,41$ ;  $p < 0,05$ ) y  $T_{pG}$  ( $r = 0,64$ ;  $p < 0,05$ ). Algunos trabajos demostraron que el menor contenido de almidón en líneas mutantes alta amilosa de trigo produjo menor peso de los granos, teniendo una influencia directa en el rendimiento agronómico (Regina *et al.*, 2006; Slade *et al.*, 2012). Lin *et al.* (2016) obtuvieron menor contenido de amilosa, pero mayor contenido de almidón y peso de los granos en la generación de híbridos de maíz alta amilosa con heterosis para rendimiento respecto a sus líneas progenitoras. La correlación positiva obtenida entre rendimiento y amilosa en este estudio de tesis, aportaría al mejoramiento simultáneo del rendimiento y la calidad de los granos, considerando el contenido de amilosa como factor determinante de la funcionalidad del almidón.

**Tabla 3.21.** Correlaciones entre los caracteres analizados en laboratorio y rendimiento de los genotipos de maíz *opaco-2*. Los coeficientes de correlación se obtuvieron con los valores de ambos años de estudio (2013 y 2014)

	<sup>1</sup> PT	Z+Z2	AL+GB	AT	AM	PV	BD	FV	SB	TP	$\Delta H_G$	$T_{OG}$	$T_{PG}$	$R_G$	$\Delta H_{R1}$	$R_{R1}$	$\Delta H_{R2}$	$R_{R2}$	$\Delta H_{RT}$	%R	LP	Rto	
PT	1																						
Z+Z2	0,44**	1																					
AL+GB	-0,07	-0,56**	1																				
AT	-0,34**	-0,4*	0,04	1																			
AM	-0,41**	-0,02	-0,1	0,4**	1																		
PV	-0,36**	-0,53**	0,37**	0,36**	0,03	1																	
BD	-0,45**	-0,58**	0,52**	0,37**	0,24	0,82**	1																
FV	0,15	-0,04	-0,22	-0,08	-0,47**	0,38**	-0,16	1															
SB	0,1	-0,06	-0,3	-0,09	-0,37**	0,3*	-0,13	0,93**	1														
TP	0,29*	0,32*	0,01	-0,24	0,26*	-0,25	-0,39	0,26	0,21	1													
$\Delta H_G$	0,07	-0,07	0,16	-0,25	-0,36**	-0,11	-0,02	0,01	0,09	0,02	1												
$T_{OG}$	-0,09	-0,09	0,15	-0,28*	-0,02	0,15	0,26	0,03	0,21	-0,16	0,4**	1											
$T_{PG}$	-0,2	-0,09	0,25	-0,21	0,08	0,15	0,32*	-0,09	0,12	-0,16	0,42**	0,93**	1										
$R_G$	0,01	0,29*	0,01	0,21	0,1	-0,17	-0,26	-0,07	-0,21	0,15	-0,19	-0,86**	-0,67*	1									
$\Delta H_{R1}$	-0,52**	-0,41**	0,13	0,32*	0,02	0,27*	0,23	0,05	0,02	-0,18	0,3*	-0,06	-0,02	0,09	1								
$R_{R1}$	-0,1	-0,21	0,23	0,21	-0,28*	0,23	0,07	0,35*	0,3	-0,01	0,3*	-0,07	-0,09	0,05	0,72**	1							
$\Delta H_{R2}$	-0,01	0,13	-0,01	-0,05	0,05	-0,21	-0,2	0,01	0,04	0,17	0,09	-0,08	-0,02	0,24	0,26	0,35**	1						
$R_{R2}$	0,23	0,22	-0,03	-0,23	-0,03	-0,24	-0,27	0,22	0,3*	0,22	0,3*	0,01	-0,01	0,09	0,1	0,22	0,54**	1					
$\Delta H_{RT}$	-0,35**	-0,33*	0,08	0,30*	-0,04	0,18	0,09	0,15	0,11	-0,03	0,26	-0,15	-0,1	0,23	0,84**	0,71**	0,77**	0,39**	1				
%R	-0,38**	-0,27*	0,04	0,35**	0,1	0,17	0,05	0,13	0,06	0,02	-0,13	-0,39**	-0,31*	0,39**	0,74**	0,6**	0,7**	0,27	0,91**	1			
LP	0,05	0,34**	-0,02	-0,14	0,17	-0,24	-0,2	0,06	0,15	0,27*	-0,04	0,07	0,13	0,04	-0,04	0,14	0,45**	0,45**	0,1	0,13	1		
Rto	-0,49**	0,05	0,28	0,28	0,59**	0,12	0,21	-0,31	-0,39	-0,25	0,09	0,41**	0,64**	-0,06	0,15	-0,07	0,12	-0,2	0,08	0,03	0,21	1	

<sup>1</sup>PT = proteína total; Z+Z2 = zeínas; AL+GB = albúminas+globulinas; AT = almidón total; AM = amilosa; PV = viscosidad de pico; BD = estabilidad; FV = viscosidad final; SB = retrogradación; TP = temperatura de *pasting*;  $\Delta H_G$  = entalpía de gelatinización;  $T_{OG}$  = temperatura de inicio de gelatinización;  $T_{PG}$  = temperatura de pico de gelatinización;  $R_G$  = rango de temperatura ( $T_{eG} - T_{oG}$ ) de gelatinización;  $\Delta H_{R1}$  = entalpía de retrogradación de la primer endoterma;  $R_{R1}$  = rango de temperatura ( $T_{eR1} - T_{oR1}$ ) de la primer endoterma de retrogradación;  $\Delta H_{R2}$  = entalpía de retrogradación de la segunda endoterma;  $R_{R2}$  = rango de temperatura ( $T_{eR2} - T_{oR2}$ ) de la segunda endoterma de retrogradación;  $\Delta H_{RT}$  = entalpía total de retrogradación ( $\Delta H_{R1} + \Delta H_{R2}$ ); %R = porcentaje de retrogradación ( $\Delta H_{RT}/\Delta H_G \times 100$ ); LP = lípidos; Rto = rendimiento

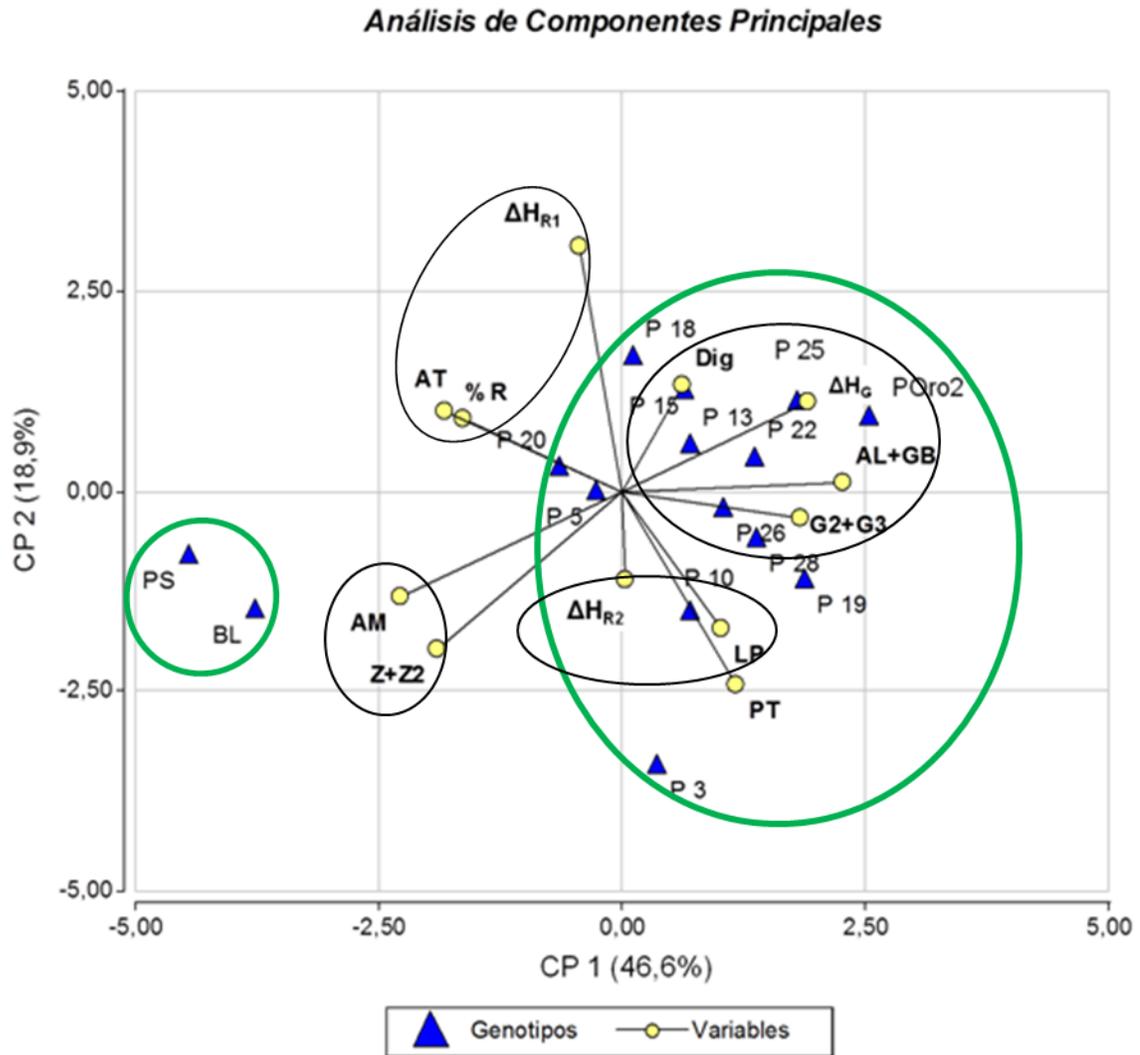
## ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES

Con el objetivo de representar en el mismo gráfico (biplot) las características estudiadas en todos los genotipos, se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) (Figura 3.15). De este modo, se analizó de manera exploratoria los datos con el fin de facilitar las interpretaciones de las relaciones conjuntas entre observaciones, entre variables, y entre variables y observaciones (Balzarini *et al.*, 2008).

Los caracteres mostrados en el gráfico biplot, representan las variables cuyas combinaciones lineales de sus varianzas explicaron la mayor parte de la variabilidad total, dada por las nuevas componentes sintéticas no correlacionadas generadas por el análisis (CP1 y CP2), las cuales explican en conjunto un 65,5 % de la variabilidad total analizada. Los rasgos que más pesos tuvieron en la CP1 fueron el contenido de amilosa (AM) ( $e = -0,42$ ), el contenido de zeínas ( $e = -0,35$ ), el contenido de albúminas+globulinas (AL+GB) ( $e = 0,42$ ) y la entalpía de gelatinización ( $\Delta H_G$ ) ( $e = 0,35$ ). Esto indica que estas características son las que permitieron una mayor diferenciación de los genotipos analizados. Según la CP2, las variables que más diferencias mostraron entre los genotipos fueron la entalpía de retrogradación de la amilopectina ( $\Delta H_{R1}$ ) ( $e = 0,56$ ), el contenido total de proteína (PT) ( $e = -0,44$ ) y el de zeínas ( $-0,36$ ) (Figura 3.15).

Al analizar gráficamente las correlaciones entre variables (dada por los ángulos que forman las proyecciones en el plano), se observó que el contenido de amilosa y el de zeínas mostraron comportamientos inversos con los contenidos de albúminas+globulinas, de glutelinas (G2+G3), con la  $\Delta H_G$ , y la digestibilidad de las proteínas (Dig) según la CP1 (Figura 3.15). Las proyecciones de  $\Delta H_{R1}$  y % R formaron ángulos menores con el contenido total de almidón (AT), y fueron opuestos al contenido de proteínas. Sin embargo, la proyección de  $\Delta H_{R2}$  mostró un

ángulo menor con el contenido de lípidos (LP) según la CP2 (Figura 3.15), evidenciando la influencia de los lípidos en la retrogradación del almidón.



**Figura 3.15.** Gráfico biplot resultado del Análisis de Componentes Principales en maíz *opaco-2*. Genotipos: P = progenies de maíz *opaco-2*; PS = maíz pisingallo; BL = maíz blanco. Variables: AT = almidón total; AM = amilosa; PT = proteína total; LP = lípidos; Z+Z2 = zeínas; AL+GB = albúminas+globulinas; G2+G3 = glutelinas; Dig = digestibilidad *in vitro* de proteínas;  $\Delta H_G$  = entalpía de gelatinización;  $\Delta H_{R1}$  = entalpía de retrogradación de la amilopectina;  $\Delta H_{R2}$  = entalpía de retrogradación del complejo amilosa-lípido; % R = porcentaje de retrogradación

Al observar las posiciones en el plano de los genotipos según la CP1 (que explicó la mayor variabilidad), claramente el grupo de los genotipos opacos se ubicaron opuestos a los testigos no-opacos (BL y PS) (Figura 3.15), confirmando sus diferencias en las características químicas de los granos plasmadas en el gráfico. Dentro del grupo de genotipos *opaco-2*, la P3 estuvo más alejada del resto de las progenies, lo que indica las diferencias obtenidas en su composición química. Mediante este análisis, se facilita la identificación de genotipos con características diferenciales en la composición proteica y del almidón presentadas en este gráfico.

## CONCLUSIONES PARCIALES

Se encontró una gran variabilidad en las propiedades del almidón en genotipos *opaco-2*, revelando diferencias en la composición y estructura. Las diferencias entre el material genético inicial (POro2) y las familias de medios hermanos sugieren la existencia de variabilidad dentro de la población original. Sin embargo, se requiere un mayor tamaño de muestra para dar estimaciones más consistentes sobre la variabilidad de una población.

Las mayores contribuciones de la varianza genética en las características y propiedades del almidón sugieren que los cambios observados se debieron en mayor medida a las diferencias entre genotipos. Sin embargo, las contribuciones relativas de las varianzas del año y de la interacción genotipo x año también indicaron importantes fuentes de variación en la variabilidad total.

En el contenido total de almidón y de amilosa, el efecto año presentó fuerte contribución a la varianza total. Una posible causa pudo haber sido que las temperaturas máximas registradas

durante el inicio del período de llenado de granos fueron significativamente mayores en 2013 respecto a 2012, a pesar de que los valores oscilaron dentro del rango de promedios históricos para Córdoba, ya que en este periodo se afecta la actividad enzimática en la biosíntesis de estos componentes.

Las mayores contribuciones relativas de la interacción genotipo x año obtenida en las temperaturas de transición de retrogradación, indican que los cambios en estos rasgos se debieron en mayor medida a este efecto, luego del efecto principal mostrado por el genotipo. Esto difirió de lo observado en las propiedades de viscosidad, donde el mayor efecto luego del genotipo fue atribuido al año.

La menor temperatura de *pasting* y el mayor pico de viscosidad desarrollado por el maíz *opaco-2* indican que estos genotipos serían más adecuados para el procesamiento de alimentos que requieren mayor desarrollo de la viscosidad durante el calentamiento. La variabilidad encontrada entre los genotipos indica diferente comportamiento del almidón, lo que tendría implicaciones importantes para la elaboración y calidad del producto final.

Los resultados de los ensayos DSC sugieren que el contenido de amilosa jugó un importante rol en las diferencias observadas en las propiedades de gelatinización y retrogradación entre genotipos opacos y no-opacos. Los mayores valores de  $\Delta H_G$  de genotipos *opaco-2* sugieren un mayor orden molecular dentro de los gránulos de almidón.

Los mismos valores medios obtenidos en % *R* en ambos años indican una tendencia similar a retrogradar en ambas generaciones de genotipos *opaco-2*, y fueron significativamente menores que en genotipos no-opacos utilizados como controles. Sin embargo, las diferencias observadas en las endotermas de retrogradación ( $\Delta H_{R1}$  y  $\Delta H_{R2}$ ) indican que el contenido de

lípidos de genotipos *opaco-2* desempeñó un rol fundamental en la retrogradación del almidón, atribuido a las diferencias encontradas en la entalpía de fusión del complejo de amilosa-lípido. Por otro lado, el mayor valor de % *R* obtenido en el maíz blanco y pisingallo indica su mayor tendencia a retrogradar, y el mayor contenido de amilosa pudo haber sido un factor determinante.

Las diferencias encontradas en el comportamiento del almidón permiten identificar familias individuales con propiedades particulares en sus harinas, que puedan ser utilizadas para continuar con un nuevo ciclo de selección, recombinación y evaluación. El desarrollo de nuevas variedades sería de gran utilidad en la industria agroalimentaria para obtener determinados productos procesados con mejores propiedades reológicas debido al comportamiento del almidón, y nutricionales por el mayor contenido de aminoácidos esenciales, contribuyendo al valor agregado de este maíz.

# MAÍZ MORADO

## CARACTERIZACIÓN AGRONÓMICA

Las variables agronómicas relevadas a campo en cada progenie individual de maíz morado fueron comparadas con los valores medios de los ciclos masales evaluados en los mismos años de cultivo (2013/14 y 2014/15).

### Caracterización fenotípica de las progenies individuales y los ciclos masales de maíz morado evaluados a campo durante los años 2013/14 y 2014/15

Los rasgos fenotípicos fueron agrupados en variables relevadas en plantas adultas (Tabla 3.22) y en los rasgos tomados en las mazorcas (Tabla 3.23).

**Tabla 3.22.** Variables fenotípicas relevadas en plantas adultas de ocho progenies individuales de medios hermanos y de los ciclos de selección masal de maíz morado durante los ciclos 2013/14 y 2014/15

Progenie	<sup>1</sup> AP (m)		AEsp (m)		NH		DT (cm)		NEsp	
	2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015
<b>P2</b>	3 b	3 b	1,6 b	1,6 b	15,6 b	12,8 a	2,5 a	2,5 a	1	1,7
<b>P3</b>	2,8 b	2,7 b	1,6 b	1,4 a	15,8 b	12,7 a	2,5 a	2,6 a	1,2	1,7
<b>P6</b>	2,7 b	2,4 a	1,5 b	1,2 a	15 b	11,4 a	3,1 b	1,9 a	1,5	1,6
<b>P8</b>	2,8 b	2,7 b	1,3 a	1,2 a	15,2 b	12,8 a	2,2 a	2,2 a	1	1,6
<b>P11</b>	2,4 a	2,5 a	1,3 a	1,4 a	15 b	14,8 b	2,1 a	2,4 a	1	1,8
<b>P12</b>	2,8 b	3 b	1,6 b	1,9 b	16 b	14 b	2,6 a	2,5 a	1	2
<b>P13</b>	2,7 b	2,8 b	1,4 a	1,3 a	15,6 b	14,3 b	1,9 a	2,2 a	1,2	1,8
<b>P14</b>	2,4 a	2,3 a	1,1 a	1 a	14 b	10,8 a	2,1 a	2 a	1,2	1,8
<sup>2</sup> Progenies	2,7 a	2,7 a	1,4 b	1,4 a	15,2 a	13 a	2,4	2,3	1,1	1,7
Masales	2,4 b	2,6 a	1,3 a	1,4 a	13,8 a	14,4 a	sd	sd	sd	sd

Valores seguidos por letras distintas en la misma columna son significativamente distintos ( $p < 0,05$ )

<sup>1</sup>AP = altura de planta; AEsp = altura inserción de espiga principal; NH = número de hojas; DT = diámetro de tallo; NEsp = número de espigas; sd = sin datos (variables no relevadas).

<sup>2</sup>Los valores promedios de todas las progenies en cada año fueron comparados con los valores medios de los individuos seleccionados por selección masal.

Se obtuvieron diferencias significativas entre progenies en la altura de planta (AP) (2,4 – 3 m en 2014 y 2,3 – 3 m en 2015) y de la inserción de la espiga (AEsp) (1,1 m – 1,6 m en 2014 y 1 m – 1,9 m en 2015) en cada año de cultivo. Las P2 y P12 se ubicaron entre las progenies con mayor AP y AEsp en ambos ciclos. De manera contraria, la P14 presentó los menores valores de ambas variables en ambos años (Tabla 3.22). Urias-Peraldí *et al.* (2013) reportaron un rango similar de AP (2,37 m – 2,85 m) y AEsp (1,16 m – 1,72 m) en híbridos simples experimentales mexicanos de maíz morado. Por otro lado, Pesantes-Vera y Rodríguez-Soto (2011) reportaron menores valores de AP (1,68 m – 1,14 m) y AEsp (0,71 m – 0,58 m) en poblaciones de maíz morado peruanas evaluadas mediante selección recurrente simple.

La AP y AEsp mostrada por las plantas de maíz morado fue mayor a la obtenida en maíz *opaco-2*. Esto podría deberse a la aptitud propia del maíz morado a presentar plantas altas, y también a factores ambientales como las diferencias en la fecha de siembra de ambas variedades. Las mayores temperaturas prevalentes en las siembras más tardías del maíz morado (alrededor de 10 días respecto al *opaco-2*), pudieron acelerar la velocidad de aparición de las hojas, determinando el rápido establecimiento de un canopeo eficiente en capturar la luz solar. Esto favorece una alta eficiencia de conversión de luz en crecimiento, acumulando generalmente más biomasa al momento de floración en relación a siembras más tempranas, reflejándose en plantas más altas y pesadas (Cirilo, 2004; Cirilo *et al.*, 2015).

El número de hojas (NH) no presentó diferencias significativas entre progenies en el ciclo 2014. Sin embargo, en el año 2015 se observaron diferencias entre genotipos, cuyos valores disminuyeron ligeramente respecto al año anterior. No se observaron diferencias significativas en el diámetro del tallo (DT) en ambos años de cultivo, excepto la P6 en 2014, que presentó el tallo más grueso. Los valores obtenidos en NH y DT en maíz morado fueron similares al maíz *opaco-2*.

La tendencia de las progenies de maíz morado a tener dos espigas por planta a cosecha (NEsp) fue más marcada en el ciclo 2014/15 en comparación al ciclo anterior (1,7 vs 1,1) (Tabla 3.22). Esto podría indicar que las plantas aumentaron el NEsp como respuesta a la adaptación al ambiente donde fueron criadas. Similares resultados fueron reportados por Pesantes-Vera y Rodríguez-Soto (2011) quienes observaron mayor NEsp en la generación filial de selección recurrente respecto a la población original. Arellano-Vázquez *et al.* (2003) reportaron menor NEsp en variedades criollas de maíz morado (0,89 – 1,0), indicando que son valores normales para materiales sin mejoramiento genético.

Los valores promedios de AP, AEsp y NH obtenido en las progenies fueron similares a los mostrados por los ciclos masales, lo que podría indicar que las características morfológicas de las plantas no presentaron grandes variaciones debidas al método de crianza (masal e individual) realizado en los genotipos estudiados en esta tesis.

**Tabla 3.23.** Variables fenotípicas relevadas en las mazorcas de ocho progenies individuales de medios hermanos y de los ciclos de selección masal de maíz morado en los ciclos 2013/14 y 2014/15

Progenie	<sup>1</sup> LM (cm)		DM (cm)		NHil		NGM		P100 (g)	
	2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015
<b>P2</b>	15 a	15,7 a	4,5 a	4 a	11 a	7,5 a	204,3 a	162 a	34,6 a	38,5 a
<b>P3</b>	12,2 a	14,8 a	4,7 a	3,8 a	11,3 a	9,7 a	287,3 a	177,3 a	27,1 a	34,6 a
<b>P6</b>	14 a	11 a	4,4 a	3,1 a	10 a	9,5 a	246,7 a	140,7 a	31,3 a	22,2 a
<b>P8</b>	12,8 a	12,3 a	4,4 a	3,7 a	10,7 a	11 a	263,3 a	265 a	30 a	34,3 a
<b>P11</b>	13 a	10 a	3,9 a	3,3 a	10,3 a	9,5 a	265,7 a	130,5 a	27,8 a	24,9 a
<b>P12</b>	13 a	11,3 a	4,2 a	3,5 a	9 a	10,3 a	161 a	162 a	36,5 b	44,4 b
<b>P13</b>	13,5 a	13,5 a	4,8 a	4,9 a	12 a	17 b	243,3 a	380,8 b	34,2 a	31,6 a
<b>P14</b>	13,2 a	13,3 a	5,1 a	4 a	14,7 b	11,3 a	367,3 b	255,7 a	30,4 a	24,5 a
<sup>2</sup> <b>Progenies</b>	13,2 a	12,6 a	4,5 a	3,8 a	11,1 a	10,7 a	254,9 a	209,3 a	31,5 b	31,9 b
<b>Masales</b>	15 b	14,3 b	4,3 a	4,4 a	12,9 b	13 b	398,4 b	378,4 b	29,8 a	24,3 a

Valores seguidos por letras distintas en la misma columna son significativamente distintos ( $p < 0,05$ )

<sup>1</sup>LM = longitud de mazorca; DM = diámetro de mazorca; NHil = número de hileras por mazorca; NGM = número de granos por mazorca; P100 = peso de 100 granos.

<sup>2</sup>Los valores promedios de todas las progenies en cada año fueron comparados con los valores medios de los individuos seleccionados por selección masal

La mayoría de los rasgos de las mazorcas se mantuvieron similares entre genotipos de maíz morado. No se obtuvieron diferencias significativas en la longitud de mazorca (LM) y el diámetro (DM) entre progenies, presentando mazorcas más cortas y de diámetro similar a las de maíz *opaco-2*. Pesantes-Vera y Rodríguez-Soto (2011) obtuvieron mazorcas de similar LM (12,98 cm – 13,50 cm) y DM (4,48 cm – 4,66 cm) en poblaciones de maíz morado peruanas.

No se observaron grandes diferencias en el número de hileras por mazorca (NHil) y el número de granos por mazorca (NGM) entre progenies de maíz morado, cuyos promedios de todas las progenies en ambos ciclos (Tabla 3.23) fueron menores a los obtenidos en genotipos de maíz *opaco-2*. En maíz morado, la P14 presentó significativamente el mayor NHil y NGM en la cosecha 2014, y estuvo relacionado al mayor rendimiento presentado por esta progenie en ese año (46,5 q/ha) (Figura 3.17 B). En la cosecha 2015, la P13 mostró significativamente los mayores NHil y NGM, y se destacó por su mayor rendimiento en este ciclo (60,4 q/ha) (Figura 3.17 B). El resto de los genotipos no mostraron diferencias significativas en NHil y NGM en ninguno de los dos años de estudio. Un similar NHil al obtenido en las progenies de maíz morado fue reportado por Pesantes-Vera y Rodríguez-Soto (2011) en poblaciones de maíz morado originarias de Perú (10,80 – 10,88). Varias investigaciones sugirieron que el número de hileras es un rasgo que permite clasificar a las diferentes variedades de maíz morado (FOPEX, 1985; Carhuapoma-Yance y López-Guerra, 2008). La clasificación botánica de variedades nativas de los Andes peruanos sugerida por Watson (2008) indica que mazorcas cortas con 10 a 14 hileras poseen granos morados-rojizos ligeramente dentados, con endosperma blanco almidonoso. Esto coincide con los rasgos morfológicos de las mazorcas y granos de los genotipos analizados en esta tesis, lo que indica que conservan genética proveniente de su origen a pesar de su adaptación al ambiente de estudio en esta tesis.

El peso de 100 granos (P100) mostrado por los genotipos de maíz morado (22,2 g a 44,4 g) (Tabla 3.23) fueron superiores a los obtenidos en *opaco-2*. La P12 presentó

significativamente mayor P100 en ambos ciclos, y no se observaron diferencias significativas con el resto de las progenies. Salinas-Moreno *et al.* (2012) reportaron una variabilidad similar a la obtenida en este estudio de tesis en el P100 de 7 razas de maíces mexicanos con pigmentaciones antociánicas en los granos (26,7 g – 42,9 g). Por otro lado, Antonio-Miguel *et al.* (2004) obtuvieron mayores P100 en 24 variedades criollas de maíz morado de la raza Chalqueño (38,5 g – 46,3 g).

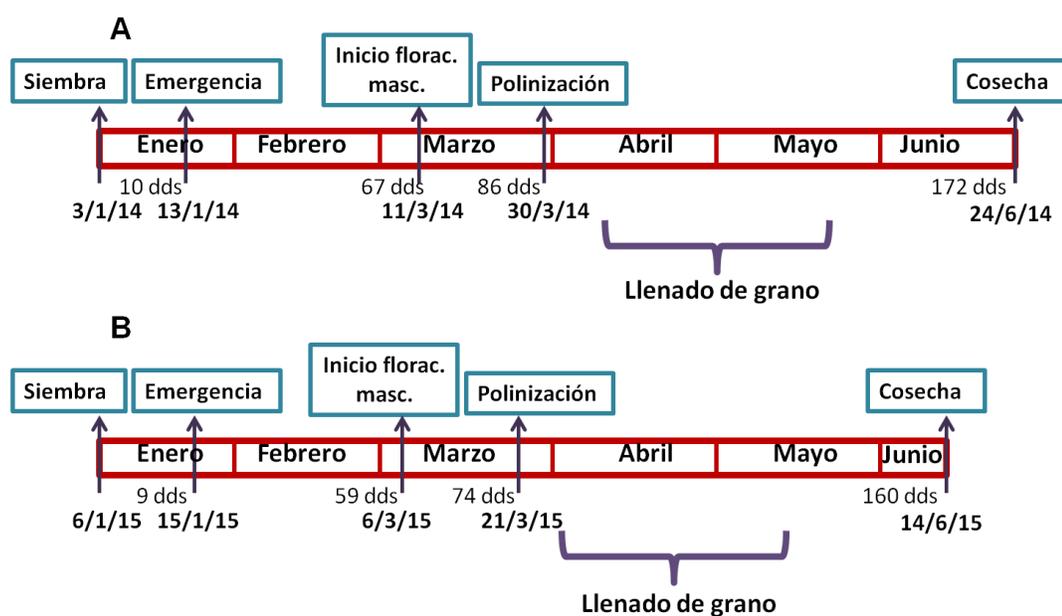
Al comparar los promedios de todas las progenies individuales de maíz morado con los ciclos de selección masal (Tabla 3.23), se observó que las progenies presentaron menor LM, NHil y NGM respecto a los ciclos de selección masal. Sin embargo, el P100 fue mayor en las progenies. El DM se mantuvo similar tanto en los genotipos individuales como en los ciclos masales. Esto podría indicar que el método de crianza de los genotipos (masal e individual) provocó mayor variación en los rasgos morfológicos de la mazorca como LM, NHil y NGM, teniendo una influencia directa en los componentes del rendimiento.

### **Duración del ciclo de las progenies**

El maíz morado es originario de zonas cordilleranas de altura (Tapia y Fries, 2007), donde los cultivos están expuestos a intensidades de radiación y temperaturas declinantes durante el llenado de los granos (Cirilo *et al.*, 2015). Por lo tanto, las características ambientales de su región de origen son diferentes a la zona semiárida central de la provincia de Córdoba. En general, los genotipos tropicales de madurez tardía, y específicamente el maíz morado, muestran mayor sensibilidad al fotoperiodo que los adaptados a ambientes templados (Bonhomme *et al.*, 1991; Ellis *et al.*, 1992; Bonhomme *et al.*, 1994). Debido a ello, las progenies de maíz morado en este estudio de tesis, fueron sembradas en fechas tardías en ambos años de cultivo (primera semana de enero), ya que los días en ese período comienzan a ser más cortos y por lo tanto, las

condiciones de radiación se asemejan a las de sus zonas de origen. Esto permitió una mejor respuesta a la adaptación del cultivo en sus características agronómicas.

La duración de los ciclos de las progenies de maíz morado en cada año de estudio (2013/14 y 2014/15) se resume en la Figura 3.16. Al igual que en maíz *opaco-2*, se consideró como inicio de floración masculina al momento en que se registró un 10 % – 15 % de panojas emergidas con anteras expuestas. La fecha de polinización fue tomada cuando más del 50 % de las espigas mostraron estigmas receptivos (Santa Rosa *et al.*, 2012; Herrera-Cabrera *et al.*, 2013).



**Figura 3.16.** Duración de los ciclos de cultivo de las generaciones de multiplicación de progenies de medios hermanos de maíz morado en el año 2014 (A) y 2015 (B). Se indican las fechas de siembra, y los días desde siembra (dds) a emergencia, a inicio de floración masculina, a polinización (más del 50 % de floración femenina), a cosecha y la duración del periodo de llenado de granos en cada año

En el ciclo 2013/14, la floración masculina inició alrededor de los 65 – 67 días desde la siembra (dds), y 18 – 19 días después, se produjo la polinización (Figura 3.16 A). Pesantes-Vera y Rodríguez-Soto (2011) obtuvieron un similar periodo de siembra a floración masculina (63 –

72 dds) en dos poblaciones peruanas de maíz morado. Por otro lado, híbridos simples experimentales de maíz morado adaptados a ambientes subtropicales estudiados por Urias-Peraldí *et al.* (2013) presentaron similar periodo a floración femenina (67 – 79 dds) al observado en los genotipos de maíz morado de este estudio de tesis.

A diferencia del ciclo 2013/14, en 2014/15 las progenies presentaron menor periodo de siembra a inicio de floración masculina (alrededor de los 58 - 60 días), lo que produjo un adelanto de la polinización (alrededor de los 74 días desde la siembra y 15 desde la floración masculina) y consecuentemente, derivó en menor duración total del ciclo de siembra a cosecha (Figura 3.16 B). Algunos estudios indicaron que altas temperaturas durante etapas iniciales de crecimiento pueden provocar la aceleración del desarrollo fenológico, acortándose el periodo entre la siembra y la floración. Si bien los días largos demoran la inducción del ápice, la iniciación de la panoja se anticipa en siembras tardías debido al efecto térmico prevaleciente que acelera el desarrollo (Cirilo, 2004). En el año 2015, se registraron mayores temperaturas máximas medias de los meses de febrero y marzo en relación al año anterior, y en el mes de marzo ese aumento presentó diferencias significativas respecto a 2014, superando levemente el rango de promedios históricos (Tabla 2.1), lo que coincide con el periodo previo a la floración masculina. Si bien estos genotipos mostraron buen comportamiento en siembras tardías, las mayores temperaturas del año 2015 previo a la floración, podrían haber inducido el panojamiento en las plantas y haber acortado este período desde la siembra, y del mismo modo, producir un adelanto de la floración femenina. Por otro lado, las temperaturas máximas mensuales registradas en abril y mayo en 2015 fueron significativamente mayores respecto a 2014, y el mes de abril se ubicó por encima de los promedios históricos (Tabla 2.1, Figura 1 de Anexo 3). Esto coincide con el período de llenado de granos, pudiendo haber influido en la biosíntesis y acumulación de los diferentes componentes químicos. A pesar de ello, los rendimientos estimados de las progenies en el ciclo 2014/15 fueron mayores en relación al ciclo 2013/14 (Figura 3.17 B). Estos resultados se asemejan a los reportados por Arellano-Vázquez *et al.* (2003), quienes obtuvieron mayores rendimientos en variedades mexicanas de maíz morado con menor periodo de siembra a floración femenina (103-119 días) y menor intervalo

de floración. Sin embargo, la magnitud de la respuesta a las temperaturas, fotoperíodo y la radiación sobre la fenología del cultivo depende de la sensibilidad de cada genotipo (Cirilo, 2004).

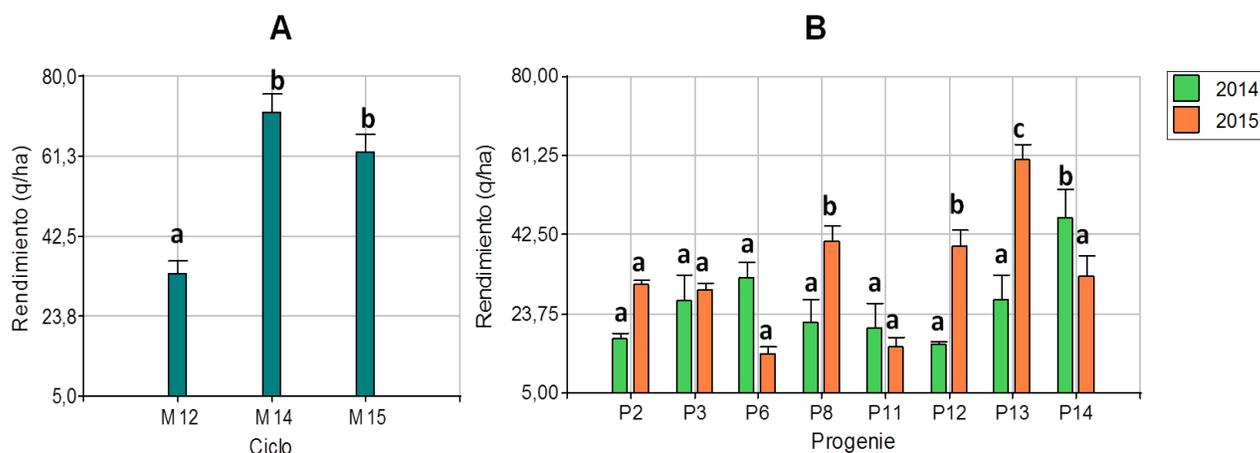
## **Rendimientos**

Los rendimientos estimados en los ciclos de selección masal de maíz morado (M12, M14 y M15) fueron analizados independientemente a los rendimientos de las progenies individuales, con el propósito de evaluar diferencias significativas entre progenies y entre ciclos masales (Figura 3.17).

El maíz morado presentó mayor susceptibilidad al vuelco debido a la mayor altura de las plantas en comparación al maíz *opaco-2*, provocando mayores pérdidas de plantas a cosecha. Sin embargo, el maíz morado mostró menor susceptibilidad al ataque de loras durante el período de llenado de los granos, siendo ésta la principal causa de disminución del rendimiento en maíz *opaco-2*. Por lo tanto, los rendimientos en maíz morado fueron estimados con un promedio de 70 % de plantas a cosecha (5 % menos a maíz *opaco-2*) a partir de la densidad inicial de plántulas emergidas (85 % al 90 %), tanto en los ciclos de selección masal y en las progenies individuales en ambos años de cultivo.

El rendimiento del ciclo masal 2012 (M12) (33,7 q/ha) fue significativamente menor a los ciclos siguientes, mostrando un importante aumento en 2014 (M14) (a 71,5 q/ha) y un ligero decrecimiento en 2015 (M15) respecto al año anterior (a 62,2 q/ha) (Figura 3.17 A). No obstante, esta diferencia entre estos últimos dos años no fue estadísticamente significativa. Por otro lado, el rendimiento de las progenies individuales de medios hermanos presentó diferencias significativas entre genotipos (de 16,6 q/ha a 46,5 q/ha en 2014 y de 14,4 q/ha a 60,4 q/ha en 2015) (Figura 3.17 B). Una variabilidad similar fue obtenida en los rendimientos de variedades

mexicanas de maíz morado reportados por Arellano-Vázquez *et al.* (2003) en 88 cultivares evaluados en diferentes localidades de México (35 q/ha – 67 q/ha) y por Antonio-Miguel *et al.* (2004) en 24 variedades criollas de la raza Chalqueño (29 q/ha a 54 q/ha). Por otro lado, mayores rendimientos a los obtenidos en esta tesis fueron reportados en híbridos simples experimentales de maíz morado (56 q/ha a 91 q/ha) (Urias-Peraldí *et al.*, 2013).



Medias seguidas por letras distintas, indican diferencias significativas

**Figura 3.17.** Rendimientos estimados (q/ha) de los ciclos de selección masal (M12, M14, M15) (A) y de las progenies de medios hermanos de maíz morado multiplicadas individualmente durante los ciclos 2013/14 y 2014/15 (B)

El rendimiento de todas las progenies individuales presentó en promedio un incremento anual de 8,4 q/ha (27,9 q/ha en 2014 a 36,3 q/ha en 2015). La gran cantidad de precipitaciones caídas sólo durante los meses de enero y febrero del año 2015, fueron mayores a las lluvias ocurridas durante el mismo periodo en 2014 (Anexo 4), rondando incluso el promedio máximo histórico para los meses estivales de diciembre, enero y febrero (500 mm) para la provincia de Córdoba (Tabla 2.1). Además, las lluvias registradas durante abril y mayo 2015 (Anexo 4), sugieren buena acumulación de agua en el perfil del suelo, y por lo tanto, buena disponibilidad durante el desarrollo del cultivo en etapas vegetativas y llenado de los granos, a pesar de las mayores temperaturas máximas registradas en 2015 (Tabla 2.1). Estas condiciones hídricas

favorables presentadas en ese año, pudieron haberse relacionado al aumento obtenido en los rendimientos medios de las progenies en 2015 en relación a 2014. Arellano-Vázquez *et al.* (2003) obtuvo una gran diferencia en el rendimiento de las variedades de maíz morado evaluadas en localidades con mayor cantidad y mejor distribución de precipitaciones anuales. Por otro lado, este incremento anual observado en el rendimiento de las progenies de maíz morado, a pesar de que fue menor a los rendimientos de los ciclos masales, podría estar indicando una buena adaptación de los genotipos individuales a las condiciones ambientales de la región en estudio. Esto también pudo verse reflejado en la mayor tendencia de las progenies a poseer 2 espigas por planta en 2015 en relación a 2014 (Tabla 3.22). A pesar de ello, el número de espigas por planta no presentó correlación significativa con el rendimiento (Tabla 3.25).

### Componentes de la varianza

Se estimaron los componentes de la varianza en los rasgos agronómicos de las progenies de medios hermanos de maíz morado, ya que las mismas fueron caracterizadas fenotípicamente a campo de manera individual en cada ciclo de multiplicación (2014 y 2015). En cambio, en maíz *opaco-2* las variables a campo de los genotipos individuales fueron relevadas en un sólo ciclo de cultivo (en el conjunto de plantas de cada progenie 2013), ya que la generación parental corresponde a los datos de toda la población (2012).

**Tabla 3.24.** Contribución relativa de la varianza genética (VG), del año (VA) y de la interacción genotipo x año ( $V_{G \times A}$ ) a la variabilidad total en los caracteres agronómicos relevados a campo en las progenies de maíz morado

	Planta				Mazorca					Rto
	<sup>1</sup> AP	AEsp	NH	DT	LM	DM	NHil	NGM	P100	
VG (%)	35,88	43,8	13,99	27,19	6,43	14,00	43,66	28,06	29,29	55,13
VA (%)	8,07	6,20	37,41	9,49	1,10	38,41	2,17	3,45	3,08	2,20
$V_{G \times A}$ (%)	56,05	50,00	48,60	63,32	92,47	47,59	54,17	68,49	67,63	42,67

<sup>1</sup>AP = altura de planta; AEsp = altura inserción de espiga principal; NH = número de hojas; DT = diámetro de tallo; LM = longitud de mazorca; DM = diámetro de mazorca; NHil = número de hileras; NGM = número de granos por mazorca; P100 = peso de 100 granos, Rto = rendimiento.

La varianza de la interacción genotipo x año representó la principal fuente de variación en todas las características fenotípicas relevadas a campo en maíz morado (Tabla 3.24). Esto indica que la expresión de los rasgos agronómicos en las progenies estuvo fuertemente influenciada por las condiciones ambientales en cada año de multiplicación. Esto podría estar directamente relacionado a las marcadas diferencias observadas en las temperaturas y precipitaciones entre los años 2014 y 2015 en que fueron multiplicadas las progenies (Tabla 2.1, Anexo 3, Anexo 4), contribuyendo en gran medida a la fuerte interacción genotipo x año obtenida. Similares resultados fueron reportados por Arellano-Vázquez *et al.* (2003) quienes obtuvieron una gran respuesta diferencial en todos los caracteres agronómicos de variedades de maíz morado evaluadas en distintos ambientes. Sin embargo, Urias-Peraldí *et al.* (2013) no obtuvieron interacción genotipo x ambiente significativa en los rasgos agronómicos de híbridos experimentales de maíz morado evaluados en dos localidades subtropicales de México, debido a que estos híbridos están adaptados a los ambientes en que fueron evaluados.

En el rendimiento se observó que la contribución de la varianza genética fue levemente superior a la varianza de la interacción (Tabla 3.24), lo que estaría indicando que las diferencias obtenidas fueron atribuidas en mayor medida a la variabilidad genética entre progenies. Similares resultados fueron reportados por Herrera-Cabrera *et al.* (2013) quienes reportaron mayor contribución de la varianza del genotipo en relación a la interacción genotipo x ambiente en 130 poblaciones de maíces criollos evaluados en varias localidades de la región Oriental de México. A pesar de ello, la gran contribución de la varianza de la interacción indica que el rendimiento de las progenies se vio fuertemente influenciado por las condiciones particulares de cada año de cultivo. Cuando la interacción genotipo x ambiente está presente, el rendimiento en grano en un ambiente específico debe considerarse como la suma de la heterosis que surge de los efectos principales del genotipo y la heterosis que surge de los efectos de la interacción (Falconer y Mackay, 1996; Munaro *et al.*, 2011).

El ambiente de origen del maíz morado difiere a las características del clima semiárido en donde fueron evaluadas las progenies en esta tesis, dando como resultado una alta interacción genotipo x ambiente. Esto resulta favorable para la selección, debido a que permite identificar genotipos que presenten una mejor respuesta adaptativa, y dar continuidad a la mejora genética para el desarrollo de variedades adaptadas, mediante la selección y recombinación de tales individuos que demuestran mejor comportamiento.

### Relaciones entre caracteres relevados a campo en las progenies

La siguiente tabla expresa las correlaciones obtenidas entre todos los rasgos fenotípicos relevados a campo en las progenies individuales de maíz morado en ambos años de estudio (Tabla 3.25).

**Tabla 3.25.** Correlaciones fenotípicas entre todos los rasgos agronómicos analizados en ocho progenies individuales de medios hermanos de maíz morado. Los coeficientes de correlación se obtuvieron con los valores de ambos años de estudio (2014 y 2015)

	<sup>1</sup> AP	AEsp	NH	DT	NEsp	LM	DM	NGM	P100	Rto
AP	1									
AEsp	0,77**	1								
NH	0,31**	0,37**	1							
DT	0,48**	0,42**	0,32*	1						
NEsp	0,08	0,2	-0,21	0,21	1					
LM	0,18	0,09	0,05	0,18	-0,08	1				
DM	-0,1	0,08	0,34*	-0,05	-0,24	0,39**	1			
NGM	-0,2	0,02	0,26	-0,16	0,04	0,47**	0,67**	1		
P100	0,37*	0,38**	0,16	0,23	0,01	0,34*	0,08	-0,22*	1	
Rto	-0,02	0,24	-0,07	-0,05	0,23	0,37**	0,38**	0,62**	0,39**	1

Los asteriscos (\* y \*\*) indican correlaciones significativas ( $p < 0,05$  y  $p < 0,01$ , respectivamente)

<sup>1</sup>AP = altura de planta; AEsp = altura inserción de espiga principal; NH = número de hojas; DT = diámetro de tallo; NEsp = número de espigas; LM = longitud de mazorca; DM = diámetro de mazorca; NGM = número de granos por mazorca; P100 = peso de 100 granos, Rto = rendimiento.

Las correlaciones positivas encontradas entre la altura de planta (AP) con la altura de inserción de la espiga (AEsp) y el número de hojas (NH) en maíz morado fueron consistentes a las asociaciones encontradas en los genotipos de maíz *opaco-2*. Sin embargo, a diferencia de éste, en maíz morado se observaron correlaciones positivas entre el diámetro del tallo (DT) con AP, AEsp y NH (Tabla 3.25). Esto indica que plantas más altas y con mayor cantidad de hojas podrían desarrollar tallos más gruesos como estrategia de resistencia al vuelco, lo que está relacionado además a la mayor altura presentada por el maíz morado. En este sentido, es importante destacar que en las plantas de maíz morado se observó un mayor desarrollo de raíces adventicias (Figura 3.18) en relación al *opaco-2*. Estas asociaciones coinciden con los reportes de Martínez *et al.* (2010) en poblaciones de maíces cubanos.



**Figura 3.18.** Raíces adventicias de las plantas de maíz morado. Fotografía tomada en el Campo Escuela de la FCA, UNC

Las correlaciones encontradas entre los rasgos de la mazorca en maíz morado fueron similares a las obtenidas en maíz *opaco-2*. Mayor longitud de mazorca (LM), se relacionó a mayor diámetro (DM), y en consecuencia un incremento en el número de granos por mazorca (NGM). Sin embargo, en las progenies de maíz morado, el peso de los granos (P100) mostró una asociación positiva con LM y negativa con NGM (Tabla 3.25) que no fue observado en

maíz *opaco-2*. Esto indica que mazorcas más grandes implican mayor cantidad de granos, pero más livianos. La disminución del peso medio de los granos ante mayor cantidad de granos por mazorca fue demostrada en varias investigaciones (Kiniry *et al.*, 1990; Borrás y Otegui, 2001; Cirilo *et al.*, 2011). Sin embargo, Martínez *et al.* (2010) reportaron fuertes relaciones directas entre el número de granos y su peso en varias poblaciones de maíces cubanos.

Al analizar las relaciones entre las características de la planta con las de la mazorca, se observaron algunas diferencias en comparación al maíz *opaco-2*. En las progenies de maíz morado, el P100 correlacionó positivamente con AP y AEsp. Por otro lado, DM mostró una asociación positiva con el NH (Tabla 3.25). Esto indica que la mayor cantidad de hojas en plantas más altas estuvo asociada a la producción de mazorcas más gruesas y con granos más pesados, probablemente por una mayor actividad fotosintética durante el período de llenado de los granos. Estas relaciones positivas coinciden con resultados reportados en poblaciones de maíces cubanos (Martínez *et al.*, 2010), maíces mexicanos (Wong *et al.*, 2006) y maíces de zonas andinas (Ligarreto *et al.*, 1998). A pesar de ello, la tendencia en el mejoramiento es disminuir la altura mediante la selección de plantas más bajas, y particularmente en maíz morado, ya que presentó mayor susceptibilidad al vuelco por ser plantas más altas, especialmente en días con vientos de gran intensidad.

Finalmente, se obtuvieron correlaciones positivas entre el rendimiento de las progenies de maíz morado con LM, DM, NGM y P100 (Tabla 3.25). Estos resultados coinciden con las relaciones encontradas en maíz *opaco-2*, y con otras investigaciones (Ligarreto *et al.*, 1998; Martínez *et al.*, 2010; Herrera-Cabrera *et al.*, 2013; Cervantes-Ortiz *et al.*, 2014), reflejando la relación directa entre las características de las mazorcas y el rendimiento final también en maíz morado, resultando relevante al momento de la selección para rendimiento.

## CONCLUSIONES PARCIALES

Las progenies individuales mostraron diferencias entre genotipos y entre ciclos de evaluación en sus rasgos agronómicos. Los rasgos fenotípicos de las plantas adultas fueron similares tanto en las progenies individuales como en los individuos relevados en los ciclos masales, lo que indicaría que el método de crianza no tuvo gran influencia en las características de la planta. Sin embargo, las mayores diferencias observadas en algunos rasgos de las mazorcas podrían indicar que el sistema de crianza tuvo mayor influencia en los componentes asociados directamente al rendimiento.

Las diferencias en las temperaturas máximas mensuales en los años analizados pudieron haber influido en la menor duración del ciclo presentado en 2015. Sin embargo, el mayor rendimiento promedio anual mostrado en ese año por las progenies, a pesar de que fue menor a los rendimientos de los ciclos masales, pudo estar relacionado a la mayor cantidad de agua disponible en el suelo por las mayores precipitaciones registradas ese año, y de una mejor respuesta adaptativa a las condiciones ambientales.

La mayor contribución de la varianza de la interacción genotipo x año observada en los caracteres agronómicos, induce la necesidad de probar los genotipos de maíz morado en futuros ciclos de selección y evaluación. Esto permitirá evaluar el comportamiento diferencial del fenotipo en términos de adaptabilidad ante condiciones climáticas cambiantes, como fueron observadas en los últimos años en nuestra región. Del mismo modo, probar diferentes condiciones de manejo, como variaciones en la fecha de siembra, aplicación de distintos regímenes de fertilización, riego, etc., permitirá visualizar la respuesta ante condiciones ambientales específicas, contribuyendo directamente en la selección de los individuos que muestren mejor comportamiento adaptativo.

## **CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LOS GRANOS Y HARINAS DE LAS PROGENIES**

En esta sección de la tesis, se presentan los análisis realizados en las ocho progenies individuales de medios hermanos de maíz morado, multiplicadas en dos ciclos consecutivos. Las mazorcas seleccionadas de la población original (ciclo 2011/12) fueron reproducidas en forma individual durante los ciclos 2013/14 y 2014/15, con el fin de aumentar el volumen de granos para la obtención de harina, y conservar de cada progenie una reserva de semillas. Los genotipos se mantuvieron identificados en cada ciclo de reproducción, cuyos análisis de laboratorio se realizaron sobre la mezcla de semillas cosechadas de cada surco/progenie (cosecha 2014 y cosecha 2015).

### **COMPOSICIÓN CENTESIMAL**

Se evaluó el contenido de almidón, proteínas, lípidos y cenizas a partir de la harina de grano entero (Tabla 3.26). Se utilizaron como testigos harinas de maíz pisingallo (PS), blanco (BL), y una mezcla de las progenies analizadas en maíz *opaco-2* (O2). Además, se compararon las progenies individuales con el material genético de partida (POrmo).

**Tabla 3.26.** Composición centesimal y digestibilidad *in vitro* de proteínas de la harina de genotipos de maíz morado, *opaco-2*, pisingallo y blanco

<sup>1</sup> Genotipo	Composición centesimal (g/100 g de harina)				<sup>3</sup> Digestibilidad <i>in vitro</i> de proteínas (%)
	Almidón	Lípidos	Cenizas	Proteína	
<b>P 2</b>	63,84 b	6,92 a	1,86 b	10,87 c	75,88 c
<b>P 3</b>	65,64 b	6,88 a	1,78 a	10,22 b	55,49 a
<b>P 6</b>	62,52 b	7,36 b	2,35 e	10,06 b	65,14 b
<b>P 8</b>	67,26 b	6,72 a	1,79 a	10,14 b	57,30 a
<b>P 11</b>	63,84 b	8,13 d	1,96 c	11,50 d	64,10 b
<b>P 12</b>	58,64 a	8,13 d	2,21 d	10,30 b	78,35 d
<b>P 13</b>	64,28 b	7,47 b	1,89 b	9,98 b	74,50 c
<b>P 14</b>	64,70 b	7,46 b	1,93 c	9,48 a	56,06 a
<b>POrmo</b>	66,41 b	7,77 c	1,85 b	12,18 e	53,88 a
<sup>2</sup> <b>Morado</b>	64,12 a	7,43 a	1,96 b	10,52 a	64,52 a
<b>O2</b>	66,09 a	7,47 a	1,91 b	11,20 a	63,00 a
<b>PS</b>	66,22 a	7,83 a	1,54 a	10,33 a	67,59 a
<b>BL</b>	66,34 a	6,73 a	1,68 a	11,17 a	69,99 a

Valores seguidos por letras distintas en la misma columna son significativamente distintos ( $p < 0,05$ )

<sup>1</sup>Los valores de cada genotipo (P) corresponden al promedio entre ambos años de cosecha (2014 y 2015), y fueron comparados con el material genético de partida (POrmo).

<sup>2</sup>El promedio de todos los genotipos de maíz morado (Morado) fue comparado con maíz *opaco-2* (O2), pisingallo (PS) y blanco (BL) usados como testigos no-morados.

<sup>3</sup>Se determinó la digestibilidad *in vitro* de proteínas y fue expresado como porcentaje de digestibilidad, es decir, g de proteína digerida en función del total de proteínas presentes en la muestra.

Se obtuvieron diferencias significativas en la composición centesimal de las harinas de los genotipos de maíz morado (Tabla 3.26). Los contenidos de almidón, proteína, lípidos y cenizas oscilaron entre 58,64 g/100 g a 67,26 g/100 g, 9,48 g/100 g a 12,18 g/100 g, 6,72 g/100 g a 8,13 g/100 g y 1,79 g/100 g a 2,35 g/100 g de harina, respectivamente, cuyos valores promedios de todos los genotipos morados no mostraron diferencias significativas con los maíces no-morados usados como testigos, excepto en el contenido de cenizas (Tabla 3.26). Estos resultados fueron similares a la composición centesimal de los genotipos de maíz *opaco-2*. Uriarte-Aceves *et al.* (2015) reportaron similares contenido de almidón (58,07 g/100 g a 71,54 g/100 g), proteínas (7,61 g/100 g a 11,21 g/100 g) y lípidos (4,41 g/100 g a 6,55 g/100 g) en 15 variedades landraces mexicanas de maíz morado. De igual manera, Somavat *et al.* (2016) no

obtuvieron grandes diferencias en los contenidos de almidón, lípidos y proteínas de maíz morado (63,41 g/100 g, 4,74 g/100 g y 10,31 g/100 g, respectivamente) y azul (66,5 g/100 g, 5,7 g/100 g y 11,2 g/100 g, respectivamente) respecto al maíz amarillo dentado (70,2 g/100 g, 3,28 g/100 g y 8,44 g/100 g, respectivamente). Estos resultados indican que la composición centesimal de los granos de maíz morado no difiere a la composición de un maíz convencional. La característica destacable en maíz morado es su alto contenido de compuestos antioxidantes (Escribano-Bailón *et al.*, 2004; Del Pozo-Insfran *et al.*, 2006; Lopez-Martinez *et al.*, 2009; Yang y Zhai, 2010; Guillén-Sánchez *et al.*, 2014).

El contenido de almidón de las progenies de maíz morado correlacionó negativamente con el contenido de proteína ( $r = -0,35$ ;  $p < 0,05$ ). Esto fue similar a los resultados obtenidos en los genotipos de maíz *opaco-2*, lo que coincide con el aumento del contenido de proteína ante una disminución del contenido de almidón en el grano (Serna-Saldivar, 2010).

## **DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DE PROTEÍNAS**

La digestibilidad *in vitro* de las proteínas presentó diferencias significativas entre progenies de maíz morado, cuyo promedio no mostró diferencias con los genotipos testigos (Tabla 3.26). Los resultados obtenidos en estos genotipos fueron similares a los mostrados en maíz *opaco-2* (Tabla 3.7). Sin embargo, la digestibilidad *in vitro* de las proteínas en maíz morado correlacionó negativamente con el contenido de lípidos ( $r = -0,58$ ;  $p < 0,05$ ). Los lípidos pueden formar un recubrimiento sobre las proteínas del grano. Luego de la molienda, la proteína unida a los fragmentos de pericarpio en la harina de grano entero, puede mostrar menor digestibilidad debido a una limitada accesibilidad de las proteasas al sustrato (Duodo *et al.*, 2002).

## Componentes de la varianza

Se estimaron las contribuciones relativas de las distintas fuentes de variación a la variabilidad total en la composición centesimal y en la digestibilidad *in vitro* de las proteínas de las harinas de los genotipos de maíz morado.

**Tabla 3.27.** Contribución relativa de la varianza genética (VG), del año (VA) y de la interacción genotipo x año ( $V_{G \times A}$ ) a la variabilidad total en la composición centesimal y digestibilidad *in vitro* de proteínas de maíz morado

	Almidón	Lípidos	Cenizas	Proteínas	Digestibilidad <i>in vitro</i> de proteínas
<b>VG (%)</b>	53,17	89,3	89,78	46,32	93,60
<b>VA (%)</b>	44,52	2,37	9,03	52,53	3,92
<b><math>V_{G \times A}</math> (%)</b>	2,31	8,33	1,19	1,15	2,48

La varianza genética representó la mayor contribución en el contenido de lípidos, cenizas y digestibilidad *in vitro* de las proteínas, y las contribuciones del año y de la interacción genotipo x año, tuvieron efectos considerablemente menores (Tabla 3.27). Esto indica que la variabilidad observada en estos caracteres de debieron principalmente por las diferencias entre genotipos. Sin embargo, en el contenido de almidón y proteínas se observó una fuerte contribución del efecto año, superando al efecto genético en el caso de las proteínas (Tabla 3.27). Estos resultados fueron similares a los obtenidos en maíz *opaco-2* y coinciden con las grandes contribuciones del año y de la interacción genotipo x ambiente reportados en otras investigaciones en el contenido de proteína y almidón en maíz (Wei *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2009). Sin embargo, en este estudio de tesis, la varianza de la interacción tuvo un efecto prácticamente despreciable (Tabla 3.27).

## Variaciones anuales en la composición centesimal

Se obtuvieron variaciones significativas entre años en la composición centesimal y en la digestibilidad *in vitro* de las proteínas en los genotipos de maíz morado.

**Tabla 3.28.** Variación anual contenido total de almidón, lípidos, cenizas, proteínas y digestibilidad *in vitro* de proteínas de las harinas de ocho progenies de medios hermanos de maíz morado multiplicadas durante dos ciclos consecutivos (2014 y 2015)

	<sup>1</sup> 2014	2015
<b>Proteína (g/100 g)</b>	9,67 a	11,37 b
<b>Digestibilidad proteínas (%)</b>	67,65 b	61,40 a
<b>Almidón (g/100 g)</b>	64,77 b	63,48 a
<b>Lípidos (g/100 g)</b>	7,32 a	7,53 b
<b>Cenizas (g/100 g)</b>	1,86 a	2,06 b

Valores seguidos por letras distintas en la misma fila son significativamente distintos ( $p < 0,05$ )

<sup>1</sup>Los valores mostrados en 2014 y 2015 corresponden a los promedios de las ocho progenies de medios hermanos en cada año.

El aumento anual del contenido de proteínas estuvo acompañado con una disminución en el contenido de almidón (Tabla 3.28), y fue concomitante a la correlación negativa obtenida entre almidón y proteína ( $r = -0,35$ ,  $p < 0,05$ ). Sin embargo, la digestibilidad *in vitro* de las proteínas mostró una disminución de un año a otro, que fue acompañado con un incremento anual en el contenido de lípidos (Tabla 3.28). Esto coincide con la correlación negativa obtenida entre estas dos características ( $r = -0,58$ ,  $p < 0,05$ ), indicando que los lípidos del grano pueden interferir en la digestibilidad *in vitro* de las proteínas como fue sugerido por Duodo *et al.*, (2002).

Durante el mes de abril del año 2015, los registros de las temperaturas máximas diarias fueron mayores respecto al año 2014 (Figura 1 de Anexo 3), representando una temperatura máxima mensual significativamente mayor en el 2015 respecto al año anterior, superando

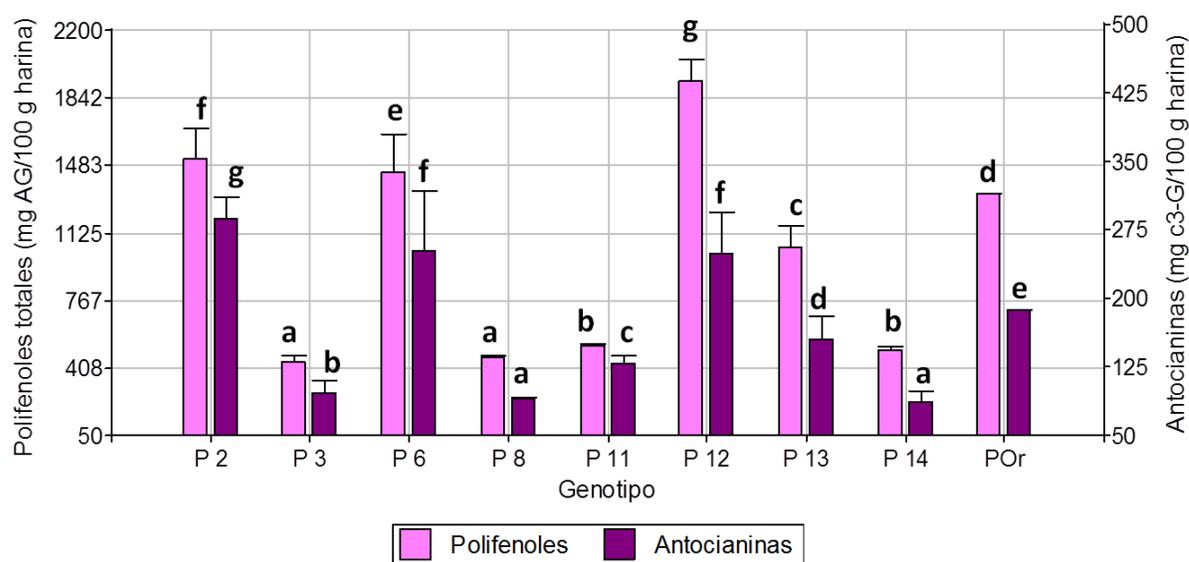
incluso a los promedios históricos para Córdoba (Tabla 2.1). Este período del año coincidió con el inicio de llenado de los granos según los registros de floración en cada ciclo de cultivo (Figura 3.16). Estos resultados fueron análogos a los obtenidos en maíz *opaco-2*, indicando que en ambas variedades las condiciones de altas temperaturas durante el llenado de los granos pudieron haber influido en la distribución de sus componentes, produciendo un incremento del contenido de proteína y una disminución del almidón, lo que coincide con varias investigaciones (Prasad *et al.*, 2008; Wang y Frei, 2011; Cairns *et al.*, 2012; Thitisaksakul *et al.*, 2012; Beckles y Thitisaksakul, 2014; Lu *et al.*, 2016). Esto podría explicar en parte la alta contribución de la varianza del año observada en el contenido de proteína y almidón tanto en genotipos morados y *opaco-2*.

Se observó un pequeño incremento anual en el contenido de cenizas (Tabla 3.28). Sin embargo, esa variación entre años no contribuyó en gran medida a la variabilidad total (Tabla 3.27), indicando que los cambios anuales se debieron principalmente a las diferencias genéticas entre las progenies.

## **COMPUESTOS ANTIOXIDANTES**

Los granos de cereales contienen fitoquímicos que incluyen varias clases de compuestos fenólicos, como derivados del ácido benzoico y cinámico, antocianidinas, quinonas, flavonoles, chalconas, flavonas, flavanonas y compuestos amino-fenólicos (Thompson, 1994; Shahidi y Naczk, 1995; Maillard y Berset, 1995; Lloyd *et al.*, 2000; Escribano-Bailón *et al.*, 2004). Varias investigaciones demostraron que las antocianinas son los principales pigmentos presentes en el maíz morado (Escribano-Bailón *et al.*, 2004; Del Pozo-Insfran *et al.*, 2006; Jing *et al.*, 2007; Cuevas-Montilla *et al.*, 2008; Lopez-Martinez *et al.*, 2009; Yang y Zhai, 2010; Guillén-Sánchez *et al.*, 2014; Huamán-Alvino *et al.*, 2016) y son los componentes que contribuyen a sus características beneficiosas para la salud por sus propiedades antioxidantes (Adom y Liu, 2002;

Aguilera-Ortíz *et al.*, 2011). En este estudio de tesis, se evaluó el contenido de polifenoles totales y antocianinas de las ocho progenies multiplicadas en ambos años de cultivo (2014 y 2015) y de la población original (POrmo) (Figura 3.19), con el fin de caracterizar los compuestos antioxidantes presentes en los granos. Además se compararon con los maíces pisingallo (PS), blanco (BL) y *opaco-2* (O2) usados como testigos no-morados. Los análisis se realizaron a partir de la harina de grano entero, y los resultados se expresaron en base seca.



Medias seguidas por letras distintas, indican diferencias significativas

**Figura 3.19.** Contenido de polifenoles totales, expresado en mg de ácido gálico (AG)/100 g de harina, y antocianinas, expresado en mg de cianidina-3-glucósido (c3-G)/100 g de harina, de ocho progenies de medios hermanos de maíz morado (P) y de la población original (POr). Los valores mostrados corresponden a los promedios de los años 2014 y 2015

El contenido de polifenoles totales presentó un amplio rango de variación entre las progenies (de 439 mg AG/100 g a 1934 mg AG/100 g de harina) (Figura 3.19), mostrando diferencias significativas entre ellas. Menores valores fueron reportados por Huamán-Alvino *et al.* (2016) en cuatro accesiones de maíces morados bolivianos (235,9 mg AG/100 g - 454,4 mg AG/100 g) y por Urias-Peraldí *et al.* (2013) en 25 híbridos experimentales de maíz morado de regiones subtropicales de México (284 mg AG/100 g - 428,9 mg AG/100 g). Por otro lado,

mayores contenidos de polifenoles fueron hallados por Lopez-Martinez *et al.* (2009) en variedades de maíces morados mexicanos (465 mg AG/100 g – 3400 mg AG/100 g) y por Jing *et al.* (2007) en 18 muestras de maíces morados peruanos (950 mg AG/100 g - 3516 mg AG/100 g).

El contenido de antocianinas mostró diferencias significativas entre las progenies, cuyos valores oscilaron entre 88 mg c3-G/100 g a 291 mg c3-G/100 g de harina (Figura 3.19). Similares resultados fueron reportados por Huamán-Alvino *et al.* (2016) en maíces bolivianos (77 mg c3-G/100 g - 310 mg c3-G/100 g). Por otro lado, mayores rangos de antocianinas fueron encontrados por Jing *et al.* (2007) en maíces peruanos (292 mg c3-G/100 g - 1333 mg c3-G/100 g) y por Lopez-Martinez *et al.* (2009) en variedades mexicanas de maíz morado (93 mg c3-G/100 g - 851 mg c3-G/100 g), mientras que las variedades de maíz negro (76 mg c3-G/100 g - 120 mg c3-G/100 g) y rojo (85 mg c3-G/100 g - 154 mg c3-G/100 g) fueron similares a los valores obtenidos en esta tesis. Sin embargo, menores niveles de antocianinas fueron obtenidos en poblaciones mexicanas de maíces pigmentados de color morado y azul estudiadas por Salinas-Morano *et al.* (2012) (21,7 mg c3-G/100 g - 90,4 mg c3-G/100 g) y por Corona-Terán *et al.* (2017) (2,45 mg c3-G/100 g - 25,04 mg c3-G/100 g). Del mismo modo, valores menores a los obtenidos en este estudio de tesis fueron reportados en híbridos experimentales (27,3 mg c3-G/100 g – 78,3 mg c3-G/100 g) (Urias-Peraldí *et al.*, 2013) y en variedades comerciales de maíz morado de México (32,1 mg c3-G/100 g) y Estados Unidos (30,7 mg c3-G/100 g) (Del Pozo-Insfran *et al.*, 2006). Esta gran variabilidad en los reportes en la literatura indica la existencia de una amplia diversidad de maíces pigmentados, que es dependiente de la región de origen y de su *background* genético.

Las progenies P2, P6 y P12 mostraron los mayores contenidos medios de polifenoles totales (1519 mg AG/100 g, 1449 mg AG/100 g y 1934 mg AG/100 g, respectivamente) y antocianinas (291 mg c3-G/100 g, 255 mg c3-G/100 g y 252 mg c3-G/100 g, respectivamente) que el resto de las progenies individuales, superando incluso al material genético de partida

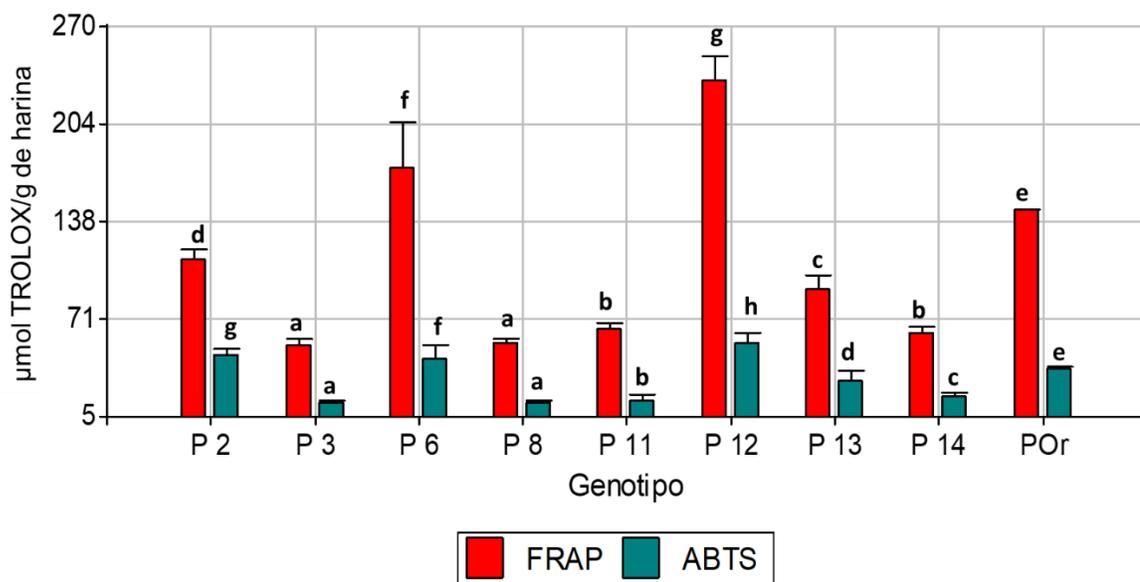
(POr) (1328 mg AG/100 g y 189 mg c3-G/100 g, respectivamente) del cual fueron obtenidas (Figura 3.19). Concomitantemente, se obtuvo una fuerte correlación positiva entre polifenoles con antocianinas ( $r = 0,89$ ;  $p < 0,05$ ), lo que indicaría que las antocianinas contribuyen en mayor medida a los niveles totales de polifenoles en los granos de los genotipos de maíz morado estudiados en esta tesis. Estos resultados coinciden con lo reportado por Lopez-Martinez *et al.* (2011) en variedades mexicanas, y por Jing *et al.* (2007) en maíces peruanos. Huamán-Alvino *et al.* (2016) por su parte indicaron que la mayor proporción de la fracción de compuestos fenólicos libres corresponden a las antocianinas.

## **CAPACIDAD ANTIOXIDANTE**

La eficiencia de un compuesto antioxidante depende de la interacción con otros constituyentes de la matriz, de la polaridad del sistema según la técnica de medición, de la naturaleza del radical y del tipo de sustrato protegido por el antioxidante (Rice-Evans *et al.*, 1996; Del Pozo-Insfran *et al.*, 2004). Los compuestos fenólicos tienen la capacidad de reducir el  $Fe^{3+}$  a  $Fe^{2+}$  en presencia de 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ) a través de sus grupos funcionales, que son susceptibles a la transferencia de electrones. Esta propiedad se debe a la posibilidad de romper las cadenas de radicales libres mediante la donación de un átomo de hidrógeno (Gardon, 1990). Sin embargo, la actividad antioxidante de las sustancias fenólicas se atribuye también a diversos mecanismos tales como la iniciación de la cadena, la unión de iones catalizadores a metales de transición, la descomposición de peróxidos, la prevención de la continua extracción de hidrógeno y la eliminación de radicales libres (Diplock, 1997; Oboh *et al.*, 2010). La capacidad atrapadora de radicales libres es un mecanismo relacionado a la inhibición de la peroxidación lipídica y es un proceso de actividad antioxidante generalmente aceptado (Brand-Williams *et al.*, 1995; Arnao, 2000; Huang *et al.*, 2005). Algunos ensayos antioxidantes y antiradicalarios ampliamente usados se basan en el radical 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) y el catión radical 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS+). El método ABTS+ se prefiere a menudo para ensayos de potencial antioxidante de

extractos y compuestos pigmentados, ya que se puede evitar la interferencia en el ensayo (Feet y Troncoso, 2004).

En este estudio de tesis, la capacidad antioxidante de las muestras fue evaluada mediante dos mecanismos: la medición del poder reductor de  $Fe^{3+}$  a  $Fe^{2+}$  con un ensayo FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), y la determinación de la capacidad atrapadora de radicales libres con un ensayo TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*), basado en la actividad antiradicalaria del catión ABTS+ (Figura 3.20).



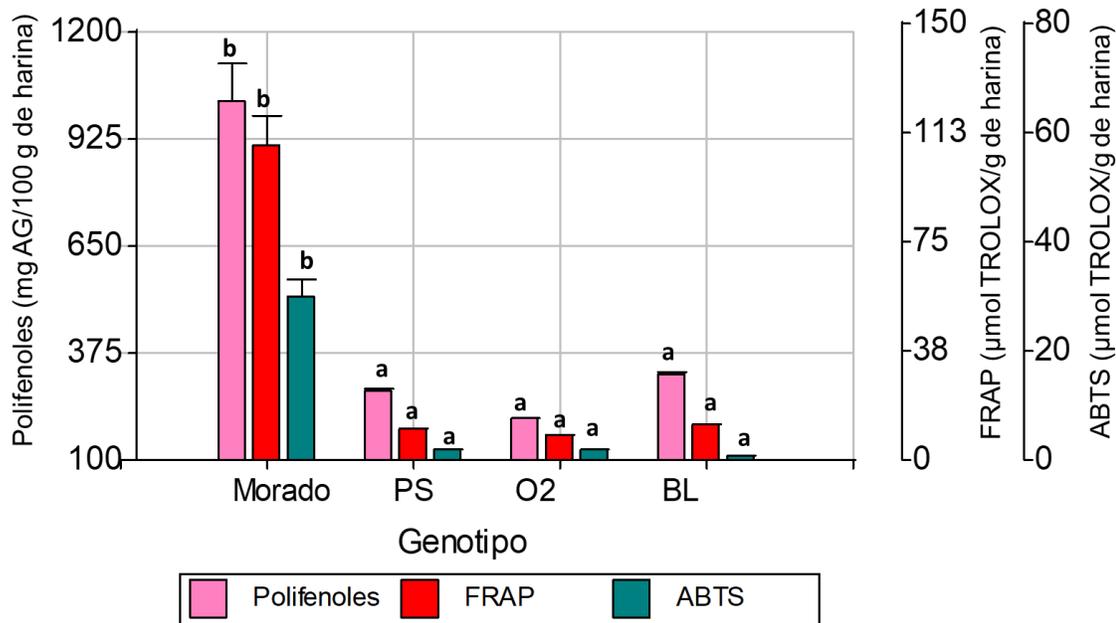
*Medias seguidas por letras distintas, indican diferencias significativas*

**Figura 3.20.** Capacidad antioxidante mediante el mecanismo de poder reductor (FRAP) y capacidad atrapadora de radicales libres (ABTS) de ocho progenies de medios hermanos de maíz morado (P) y de la población original (POr). Los valores mostrados corresponden a los promedios de los años 2014 y 2015

Las progenies de maíz morado mostraron diferencias significativas en los mecanismos de poder reductor (FRAP) y capacidad atrapadora de radicales libres (ABTS) (Figura 3.20). Los valores de FRAP oscilaron entre 53,6 µmol TROLOX/g a 233 µmol TROLOX/g de harina, y

fueron mayores a los de ABTS, cuyo rango de variación fue de 14  $\mu\text{mol TROLOX/g}$  a 55  $\mu\text{mol TROLOX/g}$  de harina. Similares resultados fueron reportados por Lopez-Martinez *et al.* (2009) en maíces pigmentados, donde la actividad antiradicalaria de las muestras de maíz morado fue mayor que las muestras de maíz negro y rojo.

Las progenies P12, P6, P2 y la POr se destacaron por presentar mayor FRAP (233  $\mu\text{mol TROLOX/g}$ , 173,7  $\mu\text{mol TROLOX/g}$ , 111,2  $\mu\text{mol TROLOX/g}$  y 145  $\mu\text{mol TROLOX/g}$ , respectivamente) y ABTS (55  $\mu\text{mol TROLOX/g}$ , 44  $\mu\text{mol TROLOX/g}$ , 47  $\mu\text{mol TROLOX/g}$  y 38  $\mu\text{mol TROLOX/g}$ , respectivamente), lo que fue concomitante a la fuerte correlación obtenida entre estos dos parámetros ( $r = 0,91$ ;  $p < 0,05$ ). Además, estas progenies presentaron los mayores contenidos de polifenoles totales y antocianinas (Figura 3.19). Lopez-Martinez *et al.* (2009) obtuvieron mayor capacidad antioxidante en las muestras con mayores contenidos de antocianinas y polifenoles libres, unidos y totales. Das *et al.* (2014) reportaron mayor actividad antiradicalaria y poder reductor en las muestras con mayores niveles de polifenoles y flavonoides. Una mayor concentración de compuestos pigmentados implica mayor capacidad antioxidante, como fue demostrado también en frutos rojos, pasas de uva, dátiles, ciruelas (Miller *et al.*, 2000), sorgo y arroz (Choi *et al.*, 2005). Sin embargo, Corona-Terán *et al.* (2017) no encontraron una relación directa entre el contenido de polifenoles totales y la actividad antioxidante de 32 variedades de maíces mexicanos, indicando que los compuestos fenólicos no son las únicas moléculas que contribuyen a la capacidad antioxidante. Los niveles de capacidad antioxidante dependen de la composición polifenólica de cada genotipo, así como la interacción con otros componentes de los granos (Del Pozo-Insfran *et al.*, 2006).



Medias seguidas por letras distintas, indican diferencias significativas

**Figura 3.21.** Comparación del contenido de polifenoles totales y de la capacidad antioxidante (FRAP y ABTS) en maíz morado (promedio de las progenies en ambos años de estudio) con maíz pisingallo (PS), maíz *opaco-2* (O2) y blanco (BL) usados como testigos.

El contenido promedio de polifenoles totales de todas las progenies de maíz morado (1023,4 mg AG/100 g de harina) fue significativamente mayor a los valores obtenidos en maíz pisingallo (278,7 mg AG/100 g de harina), *opaco-2* (205,8 mg AG/100 g de harina) y blanco (319,2 mg AG/100 g de harina) usados como testigos no-morados (Figura 3.21). Similares resultados fueron reportados por Lopez-Martinez *et al.* (2009) en variedades mexicanas de maíz blanco, naranja y amarillo (170 mg AG/100 g, 215 mg AG/100 g y 551 mg AG/100 g, respectivamente). Das *et al.* (2014) obtuvieron mayores niveles de polifenoles en maíz pisingallo, amarillo y QPM (796 mg AG/100 g, 595 mg AG/100 g y 621 mg AG/100 g, respectivamente). Sin embargo, Del Pozo-Insfran *et al.* (2006) obtuvieron mayor contenido de polifenoles totales en maíz blanco (489,9 mg AG/100 g) respecto a las muestras de maíz morado. Los granos de maíces blancos y endosperma duro poseen altas concentraciones de ácido ferúlico libre y esterificado (Kroon y Williamson, 1999; Bily *et al.*, 2004), ácido diferúlico y cumárico (Urias-Lugo *et al.*, 2015).

Los genotipos usados como testigos no-morados en esta tesis, no presentaron niveles detectables de antocianinas con la técnica empleada, y el promedio de todas progenies de maíz morado fue de 172,1 mg c3-G/100 g. Lopez-Martinez *et al.* (2009, 2011) reportaron significativamente menores contenidos de antocianinas en maíz amarillo, naranja y blanco respecto a variedades pigmentadas de coloración morado, rojo y azul. Los principales pigmentos en maíces de granos naranjas y amarillos son los carotenoides, particularmente en la forma de luteínas y zeaxantinas (Kurilich y Juvik, 1999), carotenos y xantofilas (Das *et al.*, 2014).

Los valores promedio en la capacidad antioxidante determinada tanto por FRAP y ABTS en genotipos morados (110,2  $\mu\text{mol TROLOX/g}$  y 30,8  $\mu\text{mol TROLOX/g}$ , respectivamente) fueron significativamente mayores a los de maíz blanco (12,2  $\mu\text{mol TROLOX/g}$  y 0,7  $\mu\text{mol TROLOX/g}$ , respectivamente), *opaco-2* (8,8  $\mu\text{mol TROLOX/g}$  y 1,8  $\mu\text{mol TROLOX/g}$ , respectivamente) y pisingallo (11,3  $\mu\text{mol TROLOX/g}$  y 1,9  $\mu\text{mol TROLOX/g}$ , respectivamente) (Figura 3.21). Similares resultados fueron reportados por Das *et al.* (2014) en maíz pisingallo, amarillo y QPM, donde el mecanismo de poder reductor fue mayor a la actividad antiradicalaria de los granos. Lopez-Martinez *et al.* (2009) reportaron mayor actividad antiradicalaria en los maíces pigmentados morado, negro y rojo respecto las muestras de maíces blanco y naranja. Del mismo modo, Del Pozo-Insfran *et al.* (2006) obtuvieron mayor actividad antiradicalaria en las muestras de maíz morado (25  $\mu\text{mol TROLOX/g}$  - 29  $\mu\text{mol TROLOX/g}$ ) respecto al maíz blanco, a pesar del mayor contenido de polifenoles totales presentado por éste, indicando que las diferencias se debieron a las antocianinas del maíz morado. Las fuertes correlaciones positivas obtenidas entre las antocianinas con los polifenoles ( $r = 0,89$ ;  $p < 0,05$ ), FRAP ( $r = 0,8$ ;  $p < 0,05$ ) y ABTS ( $r = 0,94$ ;  $p < 0,05$ ) en las progenies (Tabla 3.31) sugieren que los compuestos fenólicos que más contribuyeron a la capacidad antioxidante del maíz morado fueron las antocianinas. Esto fue consistente a lo reportado por Del Pozo-Insfran *et al.* (2006), Bello-Pérez *et al.* (2015) y Salinas-Moreno *et al.* (2012). La capacidad antioxidante mostrada por los genotipos no-morados utilizados como controles en esta tesis (Figura 3.21) podría ser atribuida

a otros compuestos fenólicos, como los carotenoides en granos naranjas (Kurilich y Juvik, 1999; Das *et al.*, 2014) como el maíz pisingallo y el ácido ferúlico presente en maíz blanco (Kroon y Williamson, 1999; Bily *et al.*, 2004; De la Parra *et al.*, 2007; Lopez-Martinez *et al.*, 2011).

Los mayores valores obtenidos por FRAP en comparación con ABTS en este estudio de tesis (Figura 3.21), indican que el poder reductor de las muestras fue el mecanismo de capacidad antioxidante que predominó tanto en maíz morado como en los testigos blanco, pisingallo y *opaco-2*. Similares resultados fueron obtenidos por Das *et al.* (2014) en maíz amarillo, pisingallo y QPM, y por Harakotr *et al.* (2014) en maíz morado *waxy*. Consistentemente, Yang y Zhai (2010) obtuvieron mayor poder reductor de las antocianinas extraídas de las mazorcas respecto a los granos de maíces morados chinos. Sin embargo, Oboh *et al.* (2010) reportaron mayor capacidad atrapadora de radicales libres en comparación al poder reductor en granos de maíz amarillo y blanco. La capacidad antioxidante depende de la composición polifenólica propia de cada genotipo (Del Pozo-Insfran *et al.*, 2006).

### **Componentes de la varianza**

Se estimaron las contribuciones relativas de las distintas fuentes de variación a la variabilidad total en el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de los genotipos de maíz morado.

**Tabla 3.29.** Contribución relativa de la varianza genética (VG), del año (VA) y de la interacción genotipo x año ( $V_{G \times A}$ ) a la variabilidad total en el contenido polifenoles totales, de antocianinas, y de los mecanismos de capacidad antioxidante de poder reductor (FRAP) y capacidad atrapadora de radicales libre (ABTS) de maíz morado

	<b>Polifenoles</b>	<b>Antocianinas</b>	<b>FRAP</b>	<b>ABTS</b>
<b>VG (%)</b>	89,93	71,67	94,73	96,30
<b>VA (%)</b>	4,85	23,10	2,70	2,38
<b><math>V_{G \times A}</math> (%)</b>	5,22	5,23	2,57	1,32

La varianza genética representó la mayor contribución a la variabilidad total (> 70 %) en el contenido de polifenoles, antocianinas y la capacidad antioxidante (Tabla 3.29). Similares resultados fueron reportados por Urias-Peraldí *et al.* (2013) donde el efecto genético representó más del 80 % de la variabilidad total mostrada en el contenido de polifenoles libres, unidos, totales, y en la capacidad antioxidante en 25 híbridos experimentales de maíz morado. La varianza genética en el contenido de antocianinas representó ligeramente una menor contribución a la variabilidad total (71,67 %) respecto al resto de los caracteres, y fue similar al efecto del genotipo reportado por Urias-Peraldí *et al.* (2013) en las antocianinas totales (79 %).

La varianza de la interacción genotipo x año mostró considerablemente menor contribución en la variabilidad total obtenida en todas las características analizadas, y el efecto del año fue mayor en el contenido de antocianinas (Tabla 3.29), indicando una mayor influencia del año en este rasgo. Urias-Peraldí *et al.* (2013) no obtuvo un efecto significativo del ambiente en el contenido de antocianinas y polifenoles libres. Por otro lado, Espinosa-Trujillo *et al.* (2009) demostraron que el contenido de antocianinas en las semillas de maíz morado posee un fuerte efecto aditivo y materno, indicando su eficiencia en el mejoramiento mediante planes de selección recurrente.

La fuerte contribución genética obtenida en esta tesis indica que los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante son altamente dependientes del genotipo, lo que coincide con lo reportado por Del Pozo-Insfran *et al.* (2006). Distintos tipos de maíces pueden exhibir diferencias en su actividad antioxidante de acuerdo a sus perfiles de compuestos fitoquímicos en los granos (Lopez-Martinez *et al.*, 2009; Das *et al.*, 2014).

### Variaciones anuales en los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante

Los contenidos medios de polifenoles totales y antocianinas de las progenies, así como su capacidad antioxidante, mostraron variaciones significativas entre los ciclos de multiplicación (Tabla 3.30).

**Tabla 3.30.** Variación anual en el contenido de polifenoles totales, de antocianinas, y de la actividad antioxidante (FRAP y ABTS) de las harinas en los dos años de multiplicación (2014 y 2015) de progenies de medios hermanos de maíz morado

		<sup>1</sup> 2014	2015
<b>Polifenoles (mg AG/100 g)</b>		1073,2 b	973,4 a
<b>Antocianinas (mg c3-G/100 g)</b>		194,9 b	149,1 a
<b>Actividad antioxidante (µmol Trolox/g)</b>	<b>FRAP</b>	120,4 b	99,6 a
	<b>ABTS</b>	35,2 b	26,2 a

Valores seguidos por letras distintas en la misma fila son significativamente distintos ( $p < 0,05$ )

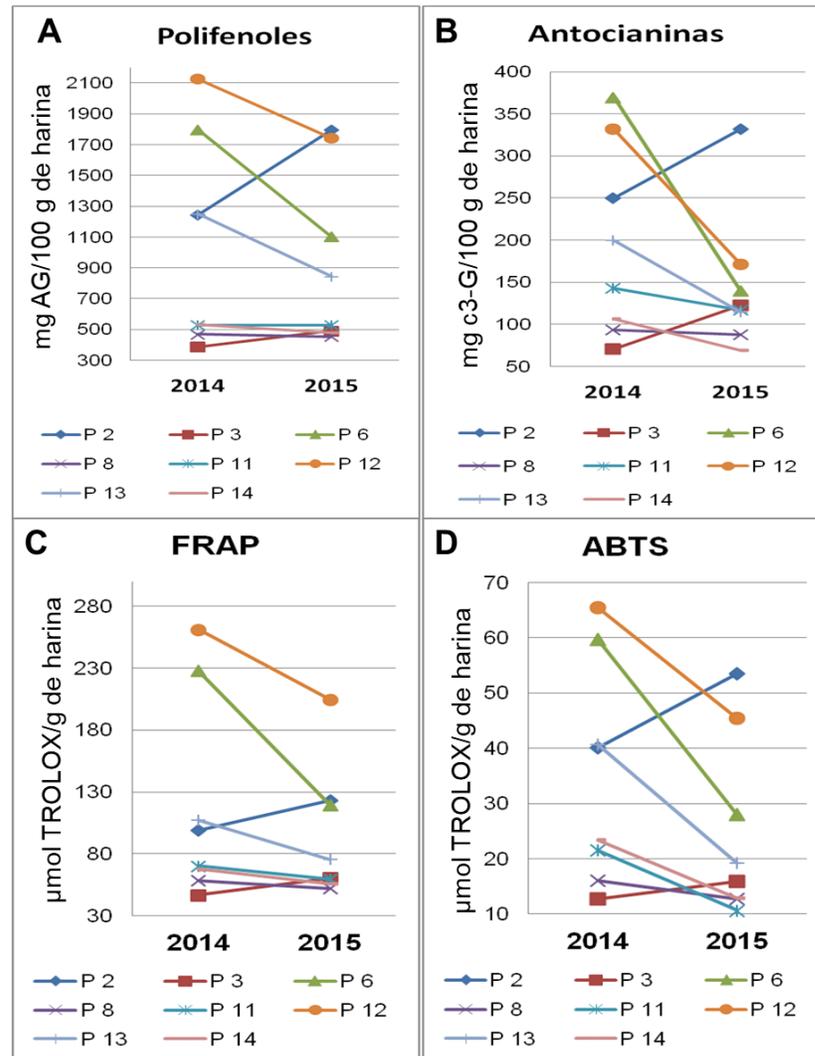
<sup>1</sup>Los valores mostrados en 2014 y 2015 corresponden a los promedios de las ocho progenies de medios hermanos en cada año.

Tanto el contenido de polifenoles totales y antocianinas mostraron una disminución de una cosecha a la otra, y concomitantemente, se observó una disminución anual en ambos mecanismos de capacidad antioxidante (Tabla 3.30). Esto fue concordante a las fuertes correlaciones positivas obtenidas entre polifenoles y antocianinas con la capacidad antioxidante (Tabla 3.31). Los polifenoles son compuestos altamente sensibles a los cambios ambientales

(Jing *et al.*, 2007). Del Pozo-Insfran *et al.* (2006) obtuvieron la misma composición polifenólica en dos genotipos de maíz morado cultivados en distintas regiones geográficas. Sin embargo, la distribución relativa de cada compuesto mostró variaciones entre genotipos, cuyas diferencias fueron atribuidas a las condiciones ambientales de crecimiento, como había sido sugerido en otros reportes previos (Kroon y Williamson, 1999; Adom y Liu, 2002).

Se ha demostrado que factores de estrés ambiental, como la luz visible, la radiación UV, las temperaturas frías, estrés hídrico o sequías temporales, inducen la acumulación de antocianinas en los granos y en diferentes partes de las plantas (Chalker-Scott, 1999; Jing *et al.*, 2007). En tanto, condiciones de altas temperaturas inhiben su síntesis durante el desarrollo de los granos (Arellano-Vazquez *et al.*, 2003; Jing *et al.*, 2007). De hecho, en climas cálidos se ha detectado que la tasa de acumulación de antocianinas se reduce, probablemente a que se requiere una mayor cantidad de energía para su biosíntesis (Brat *et al.*, 2008). Las temperaturas máximas mensuales significativamente mayores registradas en 2015 en los meses de abril y mayo respecto al año 2014 (Tabla 2.1, Anexo 3), sugieren posibles condiciones de estrés por altas temperaturas no sólo al inicio, si no durante todo el período de llenado de los granos, reflejado además en las elevadas temperaturas máximas diarias persistentes durante todo el mes de mayo 2015 (Figura 2 de Anexo 3). Esto pudo haberse traducido en la disminución del contenido de polifenoles totales y antocianinas en 2015 (Tabla 3.30), y concomitantemente, de la capacidad antioxidante debido a una menor concentración de estos componentes en el grano. Esto podría representar una posible causa del mayor efecto de la varianza del año en la variabilidad total obtenida en el contenido de antocianinas (Tabla 3.29), debido a la gran sensibilidad de estos compuestos a las altas temperaturas como fue reportado por otros autores (Jing *et al.*, 2007; Brat *et al.*, 2008). Por otro lado, a pesar de que el año 2015 registró mayores precipitaciones acumuladas en todo el ciclo respecto a 2014 (Tabla 2.1), particularmente durante el periodo de llenado de granos en 2015 (abril-mayo), la cantidad de lluvia caída fue menor en comparación al año anterior (Anexo 4). No obstante, las precipitaciones registradas durante los meses anteriores de enero y febrero de 2015 (Tabla 2.1, Anexo 4), sugieren una mayor acumulación

de agua en el perfil del suelo y concomitantemente, mayor disponibilidad para el cultivo insinuando ausencia de condiciones de estrés hídrico.



**Figura 3.22.** Variaciones anuales individuales en el contenido de polifenoles totales (A), antocianinas (B) y en la capacidad antioxidante (C y D) de las ocho progenies de medios hermanos de maíz morado multiplicadas en 2014 y 2015

Al analizar el comportamiento individual de cada genotipo en el año 2014 y en 2015, se pudo observar que todas las progenies presentaron la misma tendencia tanto en el contenido de

polifenoles y antocianinas (Figura 3.22 A y B), como en ambos mecanismos de capacidad antioxidante (Figura 3.22 C y D). Esto puede explicar la baja contribución de la interacción genotipo x año a la variabilidad total obtenida (Tabla 3.29) en todas las características estudiadas.

## RELACIONES ENTRE CARACTERES DE CALIDAD ANALIZADOS EN LABORATORIO Y RASGOS ASOCIADOS AL RENDIMIENTO

Se presenta a continuación una tabla de correlaciones donde se incluyeron todas las características analizadas en laboratorio y los rasgos asociados al rendimiento, realizada a partir de los valores de ambos años de estudio (2014 y 2015) (Tabla 3.31).

**Tabla 3.31.** Correlaciones entre características químicas de los granos analizadas en laboratorio y rasgos asociados al rendimiento de progenies de medios hermanos de maíz morado. Los coeficientes de correlación se obtuvieron con los valores de ambos años de (2014 y 2015)

	<sup>1</sup> PT	Dig	AT	LP	ANT	POL	FRAP	ABTS	NGM	P100	Rto
PT	1										
Dig	0,03	1									
AT	-0,35*	-0,32	1								
LP	0,13	-0,58**	-0,3	1							
ANT	0,01	0,8**	-0,45**	0,26	1						
POL	0,04	0,78**	-0,65**	0,26	0,89**	1					
FRAP	-0,07	0,68**	-0,64**	0,41*	0,8**	0,92**	1				
ABTS	-0,21	0,8**	-0,57**	0,39*	0,94**	0,97**	0,91**	1			
NGM	-0,58**	-0,26	0,53**	-0,11	-0,38**	-0,44**	-0,4*	-0,35*	1		
P100	0,11	0,23	-0,41**	0,03	0,44**	0,59**	0,48**	0,56**	-0,21*	1	
Rto	-0,06	-0,11	0,08	-0,05	-0,22	-0,11	-0,13	-0,14	0,69**	0,31*	1

Los asteriscos (\* y \*\*) indican correlaciones significativas ( $p < 0,05$  y  $p < 0,01$ , respectivamente)

PT = proteína; Dig = digestibilidad *in vitro* de proteínas; AT = almidón; LP = lípidos; ANT = antocianinas; POL = polifenoles; FRAP = poder reductor; ABTS = capacidad atrapadora de radicales libre; NGM = número de granos por mazorca; P100 = peso de 100 granos, Rto = rendimiento

Las asociaciones positivas encontradas entre el contenido de polifenoles totales y antocianinas con los mecanismos de capacidad antioxidante, fueron citadas anteriormente durante el análisis de dichas características.

La digestibilidad *in vitro* de las proteínas correlacionó positivamente con el contenido de polifenoles, antocianinas, y con ambos mecanismos de capacidad antioxidante (Tabla 3.31). Cabe aclarar que la digestibilidad de las proteínas se determinó en la harina luego de ser sometida a cocción en agua. En cambio, las mediciones del contenido de polifenoles, antocianinas y capacidad antioxidante se hicieron a partir de las extracciones realizadas sobre la harina cruda. Varias investigaciones demostraron que las proteínas pueden unirse a los polifenoles mediante interacciones principalmente hidrofóbicas no covalentes (Arts *et al.*, 2002; Frazier *et al.*, 2010; Stojadinovic *et al.*, 2013) y estabilizarse como puentes de hidrógeno (Yuksel *et al.*, 2010). Estas interacciones proteína-polifenol pueden cambiar la estructura de las proteínas (Yuksel *et al.*, 2010) y afectar sus propiedades funcionales, como la digestibilidad (Petzke *et al.*, 2005). Sin embargo, otros autores sugirieron que la capacidad de unión de los polifenoles a las proteínas depende de la estructura química del polifenol (Bravo, 1998). Los fenoles de bajo peso molecular son incapaces de precipitar a las proteínas y se ha demostrado que los oligómeros deben contener al menos tres subunidades de flavonol para que la proteína se precipite eficazmente (Hagerman, 1989). Urias-Peraldí *et al.* (2013) reportaron una correlación positiva entre la capacidad antioxidante y las proteínas solubles de los granos de maíz morado. En relación a esto, algunos estudios demostraron efectos positivos de las interacciones proteínas-polifenoles. Ribnicky *et al.* (2014) reportaron mayor digestibilidad y biodisponibilidad tanto de los polifenoles de *Artemisia dracuncululus* como de las proteínas de soja, presentes en forma de extractos o complejos proteicos. Stojadinovic *et al.* (2013) por su parte, también sugirieron que las proteínas son buenos portadores de polifenoles en el tracto gastrointestinal, ya que al unirse con las proteínas, pueden preservar su actividad antioxidante, como fue demostrado en polifenoles de té verde (Von Staszewski *et al.*, 2012). En este estudio de tesis, al determinarse la digestibilidad en diferentes condiciones que los polifenoles,

antocianinas y capacidad antioxidante, no se puede aseverar que estos compuestos mejoren la digestibilidad proteica tal como son consumidos en un alimento elaborado. Si bien, numerosas fuentes bibliográficas anteriormente citadas apoyan las correlaciones positivas encontradas en esta tesis, cabe aclarar que todos los ensayos deberían realizarse posteriormente a la cocción de la harina de maíz, para asegurar fehacientemente que los compuestos con capacidad antioxidante favorecen la digestibilidad proteica. Del mismo modo, resulta fundamental evaluar la capacidad antioxidante en condiciones reales de consumo y verificar el aporte de antioxidantes en la dieta que puede tener un alimento elaborado.

El contenido de lípidos correlacionó positivamente con FRAP y ABTS (Tabla 3.31). Los lípidos del grano de maíz se encuentran principalmente en el germen (Lambert *et al.*, 1998), y durante el almacenamiento de las harinas integrales pueden ocurrir diferentes transformaciones que afecten su valor nutricional, debido a la producción de compuestos volátiles que imparten olores y sabores desagradables (Badui, 2006). La hidrólisis de los lípidos en los granos almacenados de maíz tiene lugar mucho más rápido que la hidrólisis de las proteínas o de los carbohidratos (Dhingra *et al.*, 1998; Hernández *et al.*, 2009). Los lípidos pueden experimentar procesos de degradación oxidativa que conducen al aumento de productos de la peroxidación lipídica (Gorelik *et al.*, 2013). La presencia de polifenoles puede generar un ambiente antioxidante positivo o reaccionar con los productos dañinos provenientes de la peroxidación de los lípidos (Jakobek, 2015). Las correlaciones positivas entre los lípidos y la capacidad antioxidante obtenidas en esta tesis, podrían indicar que las condiciones de almacenamiento de las harinas integrales previo a ser analizadas, pudieron haber inducido un ambiente oxidativo, y consecuentemente, aumentar la capacidad antioxidante ante la presencia de los compuestos fenólicos de los granos. Sin embargo, se requiere el desarrollo de ensayos más específicos para dar mayores evidencias sobre estos supuestos.

El contenido de almidón correlacionó negativamente con el de polifenoles totales y el de antocianinas (Tabla 3.31). Los polifenoles y pigmentos antociánicos en maíz morado se asocian

principalmente a las estructuras anatómicas más externas de la semilla, como la capa de aleurona y el pericarpio (Ruíz-Torres *et al.*, 2008; Salinas-Moreno *et al.*, 2013), y de hecho, son los principales compuestos que contribuyen al color visible de los granos (Del Pozo-Insfran *et al.*, 2006). El almidón en cambio, se ubica casi en su totalidad en el endosperma (Boyer y Hannah, 2001; Arendt y Emanuele, 2013). Por lo tanto, un mayor contenido de almidón, indica mayor proporción de endosperma y consecuentemente, menor proporción de pericarpio y capa de aleurona, implicando menor contenido de compuestos fenólicos. Esto podría explicar las relaciones inversas entre el almidón con los polifenoles y las antocianinas observadas en esta tesis (Tabla 3.31). En este sentido, Betrán *et al.* (2001) indicaron que los granos más pequeños poseen una coloración más intensa, ya que la proporción de capa de aleurona es mayor y los pigmentos se encuentran menos diluidos por el endosperma amiláceo.

Los compuestos fenólicos forman interacciones no covalentes con el almidón, que implican puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas, iónicas y electrostáticas (Bordenave *et al.*, 2014). Estas interacciones pueden afectar en gran medida las propiedades fisicoquímicas y nutricionales tanto del almidón como de los compuestos fenólicos de diversos orígenes, y dependen de la composición química de ambos componentes, así como de las condiciones experimentales (Zhu, 2015; Amoako y Awika, 2016). Las fuertes interacciones no covalentes polifenoles-almidón forman complejos insolubles que además pueden afectar la funcionalidad de los polifenoles (Zhu, 2015; Camelo-Méndez *et al.*, 2017). Las relaciones inversas obtenidas en esta tesis entre el contenido de almidón y la actividad antioxidante (FRAP y ABTS) en maíz morado (Tabla 3.31), podrían indicar que las interacciones formadas entre el almidón con los polifenoles pueden causar una disminución de la capacidad antioxidante.

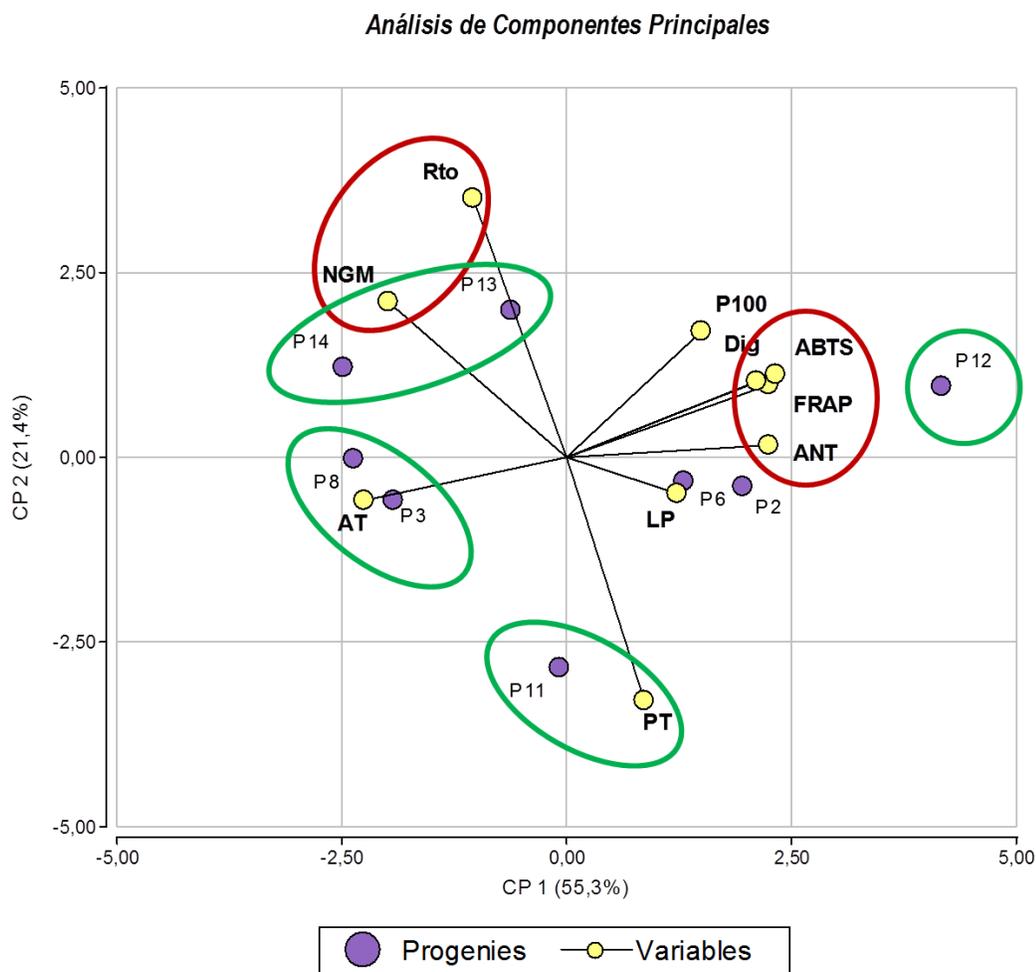
El número de granos por mazorca (NGM) correlacionó positivamente con el contenido de almidón y negativamente con el contenido de proteína (Tabla 3.31). Un mayor NGM implicaría proporcionalmente mayor cantidad de almidón debido a que conforma más del 80 % del peso de los granos (Boyer y Hannah, 2001), y por lo tanto, la relación proteína/almidón es

menor. La disminución del peso de los granos ante mayores cantidades de granos por mazorca fue demostrada en varias investigaciones (Kiniry *et al.*, 1990; Borrás y Otegui, 2001; Cirilo *et al.*, 2011). De hecho, la correlación negativa obtenida entre el número y el peso de los granos, podría indicar que el aumento del contenido de almidón por mayor número de granos, implica menor peso de los mismos, lo que se vio reflejado en la relación inversa encontrada entre el almidón y el peso de los granos. Del mismo modo, las correlaciones negativas observadas entre el NGM con los polifenoles, antocianinas y capacidad antioxidante (Tabla 3.31), podría indicar que mayor cantidad de granos implicaría mayor relación endosperma/pericarpio, consistente a la correlación positiva obtenida entre el NGM con el almidón ( $r = 0,53$ ;  $p < 0,05$ ), por lo que el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante disminuye. De igual manera, la relación inversa entre el peso de los granos y el almidón, sugeriría que el mayor peso de los granos podría implicar alta proporción de capas externas de los mismos y menos endosperma, manifestándose en las correlaciones positivas obtenidas entre el P100 y el contenido de polifenoles, antocianinas y capacidad antioxidante (Tabla 3.31), ya que estos componentes se depositan principalmente en el pericarpio y capa de aleurona.

Finalmente, no se observaron correlaciones significativas entre el rendimiento y el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de los granos. Esto coincide con Jing *et al.* (2007), quienes no encontraron una relación directa entre el rendimiento en antocianinas con los mayores rendimientos en grano de 18 variedades de maíz morado peruanas evaluadas en distintos ambientes.

## ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES

Se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) con el objetivo de representar en un gráfico biplot las características estudiadas en todas las progenies.



**Figura 3.23.** Gráfico biplot resultado del Análisis de Componentes Principales en maíz morado. Genotipos: P = progenies de maíz morado. Variables: AT = almidón total; PT = proteína total; Dig = digestibilidad *in vitro* de proteínas; LP = lípidos; ANT = antocianinas; ABTS = capacidad antiradicalaria; FRAP = poder reductor; P100 = peso de 100 granos; NGM = número de granos por mazorca; Rto = rendimiento.

Los caracteres mostrados en el biplot (Figura 3.23) formaron nuevas componentes principales (CP1 y CP2) que explican el 76,7 % de la variabilidad total analizada en los genotipos morados. Los rasgos que más permitieron diferenciar a los genotipos según la CP1 (que indica el 55,3 % de la variabilidad total), fueron el contenido de antocianinas ( $e = 0,38$ ) y la capacidad antioxidante tanto por FRAP ( $e = 0,38$ ) y ABTS ( $e = 0,39$ ), ubicados hacia la derecha del gráfico; y el contenido de almidón ( $e = -0,38$ ) y número de granos por mazorca ( $e = -0,34$ ), cuyas ubicaciones en el plano fueron opuestas a las anteriores (Figura 3.23). Según la CP2 (21,4 % de la variabilidad total), las variables que más diferencias mostraron entre genotipos fueron el rendimiento ( $e = 0,60$ ), y ubicada de manera opuesta en el plano, el contenido de proteína ( $e = -0,56$ ).

De manera general, se observó que (según la CP1) las características de calidad de los granos, como el contenido de antocianinas, la capacidad antioxidante y la digestibilidad *in vitro* de las proteínas, estuvieron fuertemente correlacionadas entre sí y se asociaron a mayores pesos de 100 granos. Sin embargo, se ubicaron de manera opuesta al número de granos por mazorca y al rendimiento. Según la CP2, las progenies que presentaron mayores rendimientos, tuvieron menor contenido de proteína. Sin embargo, no se obtuvieron correlaciones significativas entre estas dos variables (Tabla 3.31).

Al observar las posiciones en el plano de los genotipos, las progenies P13 y P14 presentaron mayores números de granos por mazorca y rendimientos, pero mostraron menor contenido de antocianinas, capacidad antioxidante y digestibilidad de proteínas, que conforman caracteres de calidad de los granos. De manera contraria, la P12 sobresalió por sus mayores contenidos de antocianinas, capacidad antioxidante y digestibilidad, pero mostraron menor rendimiento. Del mismo modo, las P3 y P8 presentaron el mayor contenido de almidón, y la P11 el de proteína, y se ubicaron de manera opuesta al número de granos por mazorca y rendimiento.

## CONCLUSIONES PARCIALES

Las diferencias mostradas por los genotipos analizados sugieren la existencia de variabilidad en las características de los materiales genéticos estudiados en esta tesis.

La composición centesimal de las harinas de maíz morado no mostró grandes diferencias al maíz blanco, pisingallo y *opaco-2*. La principal característica diferencial del maíz morado fue su alto contenido de compuestos fenólicos, especialmente las antocianinas, así como la mayor capacidad antioxidante en relación a los genotipos no-morados usados como controles.

La mayor contribución de la varianza genética a la variabilidad total obtenida en el contenido de polifenoles, antocianinas y la capacidad antioxidante indicaría que las diferencias observadas se debieron principalmente al genotipo. Esto resulta de un gran aporte a la mejora genética de estos rasgos dado que la evaluación de progenies de medios hermanos aprovecha los efectos aditivos de la población original analizada. Sin embargo, las variaciones anuales entre las progenies, y en especial la mayor contribución del efecto del año mostrada por las antocianinas, indica que estos compuestos pudieron haber sido más sensibles a las condiciones ambientales de estrés como las altas temperaturas registradas durante el período de llenado de los granos en el año 2015.

Las asociaciones positivas encontradas entre los polifenoles y la capacidad antioxidante con la mayor digestibilidad *in vitro* de las proteínas, sugiere un efecto sinérgico positivo de las propiedades de ambos componentes, que conlleva a un mayor valor nutritivo de los mismos. Sin embargo, ambas características deberían determinarse bajo las mismas condiciones experimentales (en harina cocida) para asegurar fehacientemente este supuesto. Del mismo

modo, las asociaciones positivas halladas entre la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos de los granos con los lípidos sugerirían un ambiente antioxidante beneficioso para la harina integral luego del almacenamiento. Sin embargo, es necesario profundizar con estudios más específicos para comprobar la oxidación de los lípidos en presencia de compuestos antioxidantes.

El análisis de componentes principales indicó que los genotipos que presentaron mejores características de calidad de los granos, como el contenido de antocianinas, capacidad antioxidante y la digestibilidad de proteínas, estuvieron asociados negativamente con el rendimiento. No obstante, la fuerte dependencia del genotipo de los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante del maíz morado, indica que estas características se adaptarían eficientemente a diferentes planes de selección recurrente para el mejoramiento poblacional.

Las diferencias obtenidas entre las progenies individuales permiten la identificación de genotipos con mayor contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante para dar continuidad al proceso de mejora genética, y luego de varios ciclos de selección, evaluación y recombinación, lograr el desarrollo de variedades mejoradas en cuanto a sus compuestos bioactivos y capacidad antioxidante. Esto sería de gran impacto para la producción de materia prima para la industria de alimentos con propiedades funcionales que aporten beneficios a la salud.

## CAPÍTULO 4

### CONCLUSIONES GENERALES

La selección y evaluación individual realizada en esta tesis, permitió identificar progenies de medios hermanos de maíz *opaco-2* y morado con diferencias en la composición química de los granos.

En maíz *opaco-2*, el menor contenido de zeínas demostró mayor contenido de lisina, indicando que el contenido de zeínas en relación a las otras fracciones proteicas, es un rasgo eficiente para la identificación de genotipos con mayor calidad proteica de los granos.

En maíz morado, los genotipos que mostraron mayor contenido de compuestos fenólicos presentaron mayor capacidad antioxidante. Esto evidencia las características de calidad diferenciada de los granos en el material genético analizado en esta investigación en relación al maíz tradicional.

Las características y propiedades del almidón del maíz *opaco-2*, indican que estos genotipos poseen aptitud para diferentes usos en alimentos procesados, y son relevantes desde el punto de vista nutricional debido a su mejor calidad proteica.

Las diferencias obtenidas en los rendimientos de las progenies individuales tanto en maíz *opaco-2* como en morado, indican una respuesta adaptativa diferencial a las condiciones ambientales en que fueron desarrolladas.

La mayor contribución de la varianza de la interacción genotipo x año observada en los caracteres a campo en maíz morado, induce la necesidad de realizar futuros ciclos de selección, recombinación y evaluación para verificar su performance en términos de adaptabilidad ante condiciones climáticas cambiantes y de manejo específicas, contribuyendo favorablemente a la selección de los individuos que muestren mejor comportamiento en la zona de estudio.

La mayor contribución de la varianza genética a la variabilidad total obtenida en la mayoría de las características químicas de los granos, sugieren un mayor efecto del genotipo. Sin embargo, se requieren de análisis mediante experimentos con mayor cantidad de ambientes y mayor tamaño de muestra para dar inferencias más consistentes de los efectos genéticos de estos rasgos, ya que las contribuciones de las varianzas del año y de la interacción genotipo x año mostradas por algunas características en este estudio de tesis, evidencian influencia ambiental.

Los resultados de este trabajo de tesis permitieron identificar genotipos con características nutricionales mejoradas en relación a la calidad proteica en el caso del maíz *opaco-2* y con mayor contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en el caso del maíz morado. Estos hallazgos permitirán dar continuidad al proceso de mejoramiento genético de estos materiales.

La caracterización físico-química de los granos de maíz *opaco-2* y morado, y el análisis del comportamiento de sus componentes como almidón, proteínas y compuestos antioxidantes durante el procesamiento, permitió identificar genotipos con propiedades más adecuadas para la obtención de alimentos con un perfil nutricional mejorado. Paralelamente, estos resultados representan un aporte para la mejora genética de estos rasgos mediante sucesivos ciclos de selección, recombinación y evaluación para el desarrollo de nuevas variedades mejoradas en características nutricionales.

## **APORTES Y PERSPECTIVAS FUTURAS**

Las diferencias en la composición química de los granos de las progenies de maíz *opaco-2* y morado encontradas en este trabajo de tesis, indicarían que la selección mediante familias de medios hermanos podría ser un método adecuado para el mejoramiento de la calidad nutricional de los granos de estos maíces. Esto resulta en un gran aporte desde el punto de vista de la mejora genética, debido a que la evaluación realizada mediante prueba de progenies, enfatiza principalmente los efectos aditivos de los rasgos evaluados dentro de la población original de ambos tipos varietales, lo que resulta favorable al momento de fijar dichos caracteres mediante la selección de los mejores individuos. De hecho, la identificación de los genotipos con mejores propiedades en cuanto a calidad proteica y contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, conformarían la base para un nuevo ciclo de selección recurrente con un incremento de las frecuencias génicas favorables en características de calidad de los granos.

Si bien hay varios reportes que confirman que existe un mayor contenido de lisina en maíz mutante *opaco-2*, en esta tesis se evaluó y corroboró dicha característica en las progenies estudiadas. Además, se evaluaron otras propiedades relacionadas con el almidón, que son pocos

los reportes existentes sobre las características y funcionalidad de este compuesto en maíces opacos.

Los resultados de esta investigación son pertinentes para futuras investigaciones basadas en la elaboración de alimentos con un perfil nutricional mejorado. En el caso de maíz *opaco-2*, resulta más apto para la obtención de harina debido al tipo de endospema que poseen los granos, y por lo tanto, la elaboración de productos ricos en almidón contribuiría además en alimentos mejorados en su calidad proteica por su alto contenido de lisina. En el caso de maíz morado, se posibilitará la elaboración de alimentos con propiedades funcionales debido a su mayor contenido de compuestos bioactivos con mayor actividad antioxidante.

No obstante, desde este punto de vista nutricional, se requieren de estudios basados en la biodisponibilidad y bioaccesibilidad de estos componentes para ser aprovechados por el organismo, ya que, si bien la materia prima posee características nutricionales diferenciales a otro tipo de maíz, los procesos de elaboración de alimentos pueden alterar las propiedades funcionales de estos componentes, y afectar su biodisponibilidad.

Desde el punto de vista del mejoramiento a mediano plazo, esta investigación genera un gran aporte para el desarrollo de cultivares de polinización libre mejoradas en rasgos de calidad nutricional mediante sucesivos ciclos de selección recurrente. El logro de este tipo de variedades contribuiría al desarrollo económico y social de pequeños productores que no tienen acceso a semillas híbridas convencionales, debido al alto costo que representan en los sistemas de producción agrícola. Por otro lado, se abre la posibilidad de inserción en el mercado de variedades con características de calidad diferencial, debido a las propiedades nutricionales particulares que presentan estos genotipos, avalados científicamente mediante esta tesis.

Del mismo modo, estos materiales podrían representar la base para el mejoramiento a largo plazo, que impliquen el desarrollo de líneas endocriadas para la obtención de híbridos que demuestren una respuesta heterótica en rendimiento, con características de calidad diferenciada de los granos. De hecho, las fuertes contribuciones genéticas de estos rasgos de calidad, favorecerían el proceso de endocria de las líneas parentales de híbridos.

Desde el punto de vista industrial, la obtención de nuevas variedades con estos maíces abre un gran panorama de posibilidades para el desarrollo de alimentos con propiedades funcionales, y de este modo, las industrias se favorecerían económicamente por ser un mercado diferencial, y socialmente por producir alimentos que beneficien la salud de los consumidores, como principal factor que contribuye a la calidad agroalimentaria.

Este enfoque además, contribuiría a un mayor valor agregado y eventualmente, nuevas perspectivas para el uso de estos tipos de maíces especiales.

## BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Abdel-Aal, E. M., Young, J. C., and Rabalski, I. 2006. Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple, and red cereal grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54:4696-4704.
- Abdel-Aal, E.-S. M., and Hucl, P. 2003. Composition and stability of anthocyanins in blue-grained wheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 2174–2180.
- Abdelrahman, A. A. and Hoseney, R. C. 1984. Basics for hardness in pearl millet, grain sorghum and corn. *Cereal Chemistry*, 61: 232-235.
- Acosta, R. 2009. El cultivo del maíz, su origen y clasificación. *El maíz en Cuba. Cultivos Tropicales*, 30:113-120.
- Acquaah, G. 2012. *Principles of Plant Genetics and Breeding*. 2<sup>nd</sup> Edition. John Wiley & Sons, Ltd, USA. 758 pp.
- Adom K.K. and Liu R.H. 2002. Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 50:6182–6187.
- Agama-Acevedo, E., Juárez-García, E., Evangelista-Lozano, S., Rosales-Reynoso, O. and Bello-Pérez, L. 2013. Characteristics of maize starch and relationship with its biosynthesis enzymes. *Agrociencia*, 47:1-12.
- Aguilera-Ortíz, M., Reza-Vargas, M., Chew-Madinaveitia, R. y Meza-Velázquez, J. 2011. Propiedades funcionales de las antocianinas. *BIOTecnia*, XIII:16-22.
- Akerberg, A., Liljeberg, H. and Bjorck, I. 1998. Effects of amylose/amylopectin ratio and baking conditions on resistant starch formation and glycaemic indices. *Journal of Cereal Science*, 28: 71-80.
- Alaiz, M., Navarro, J. L., Girón J. and Vioque, E. 1992. Amino acid análisis by high performance chromatography after derivatization with diethyl ethoxymethylenemalonate. *Journal of Chromatography A*. 591: 181-186.
- Alarcón, C. P., Olivo, M. y Solís, L. 2001. Diversidad gastronómica de los pueblos indios de México. *Etnoecológica*, 6:100-102.
- Alfaro, Y. y Segovia, V. 2000. Maíces del sur de Venezuela clasificados por taxonomía numérica. I. Caracteres de la planta y de la mazorca. *Agronomía Tropical*, 50: 413-433.
- Almeida-Dominguez, H. D., Suhendro, E. L. and Rooney, L.W. 1997. Factors affecting Rapid Visco Analyser curves for the determination of maize kernel hardness. *Journal of Cereal Science*, 25: 93-102.
- Alvarez-Rodríguez, A. y Ruiz de Galarreta, J. I. 1995. Variedades locales de maíz de Gipuzkoa: evaluación y clasificación. Vitoria: Diputación Foral de Gipuzkoa, D.L. España.
- American Association of Cereal Chemists International. *Approved Methods of Analysis*, 11th Ed. Methods 08-01.01, 44-19.01, 46-13.01, 30-25.01 and 32-40.01 AACC International, St. Paul, MN.
- Amoako, D., and Awika, J. M. 2016. Polyphenol interaction with food carbohydrates and consequences on availability of dietary glucose. *Current Opinion in Food Science*, 8:14-18.

- Anderson, E. and Cutler, H. C. 1942. Races of *Zea mays*: I. Their recognition and classification. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 29:69- 88.
- Andreasen, M. F., Kroon, P. A., Williamson, G. and Garcia-Conesa, M. T. 2001. Esterase activity able to hydrolyze dietary antioxidant hydroxycinnamates is distributed along the intestine of mammals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49:5679–5684.
- Anselmi, C., Centini, M., Granata, P., Sega, A., Buonocore, A., Bernini, A. and Facino, R. M. 2004. Antioxidant activity of ferulic acid alkyl esters in a heterophasic system: A mechanistic insight. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52:6425–6432.
- Antonio-Miguel, M., Arellano-Vazquez, J.L., Garcia-Santos, G., Miranda-Colin, S., Mejia-Contreras, J.A., y Gonzalez-Cossio, F.V. 2004. Variedades criollas de maíz azul raza chalqueño. Características agronómicas y calidad de semilla. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 27:9–15.
- AOAC International. Official Methods of Analysis, 17th Ed. 2002. Method 2002.02. Resistant starch in starch and plant materials.
- AOAC International. Official Methods of Analysis. 16th Ed. 1999. Method 994.12. Gaithersburg, USA.
- Aoki, H., Kuze, N. and Yoshiaki, K. 2002. Anthocyanins isolated from purple corn (*Zea mays* L.). *Foods and Food Ingredients Journal of Japan*, 199:41–45.
- Aoki, H., Wada, K., Kuzo, N., Ogawa, Y. and Koda, T. 2004. Inhibitory effect of anthocyanin colors on mutagenicity induced by 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP). *Foods and Food Ingredients Journal of Japan*, 209:240–246.
- Aragón, C.F., Taba, S., Hernández, J.M., Figueroa, J., Serrano, V. y Castro, F.H. 2006. Catálogo de maíces criollos de Oaxaca. INIFAP-SAGARPA. Libro Técnico Número 6. Oaxaca, Oaxaca. México. 334 pp.
- Arellano-Vázquez, J. L., Tut-Couoh, C., Ramírez, A. M., Salinas-Moreno, Y. y Taboada Gaytán, O. R. 2003. Maíz azul de los valles altos de México. I. Rendimiento de grano y caracteres agronómicos. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 26: 101 – 107.
- Arendt, E. K. and Emanuele, Z. 2013. Cereal grains for the food and beverage industries. Woodhead Publishing Ltd. Elsevier. Cambridge, UK, 512 pp.
- Arnao, M. B. 2000. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. *Trends in Food Science and Technology*, 11:419–421.
- Arnason J.T., Baum B., Gale J., Lambert J.D.H., Bergvinson D., Philogene B.J.R., Serratos A., Mihm J. and Jewell D.C. 1994. Variation in resistance of Mexican landraces of maize to maize weevil *Sitophilus zeamais*, in relation to taxonomic and biochemical parameters. *Euphytica*, 74:227-236.
- Arrieta, F., Gugger, F., Matélica, M., Pereyra, D. y Luque, S. 2016. Evaluación del cultivo de maíz en siembras tardías y ultra tardías en el Centro Norte de la Provincia de Córdoba. Trabajo Académico Integrador. Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Córdoba, Argentina, 20 pp.
- Arruda, P., Da-Silva, W. J., and Teixeira, J. P. F. 1978. Protein and free amino acids in a high lysine maize double mutant. *Phytochemistry*, 197:1217-1218.
- Arteaga, L. V. 2004. Caracterización y evaluación de seis híbridos y seis variedades de polinización libre de maíz (*Zea mays* L.) en El Viejo, Chinandega. Tesis de Grado. Universidad Nacional Agraria, Facultad de Agronomía. Managua, Nicaragua, 43 pp.

- Arts, M., Haenen, G. R., Wilms, L. C., Beetstra, S. A., Heijnen, C. G., Voss, H.-P., and Bast, A. 2002. Interactions between flavonoids and proteins: Effect on the total antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50:1184–1187.
- Asaoka, M., Okuno, K., Sugimoto, Y., Kawakami, J. and Fuwa, H., 1984. Effect of environmental temperature during development of rice plants on some properties of endosperm starch. *Starch*, 36: 189-193.
- Atwell, W. A., Hood, L. F., Lineback, D. R., Varriano-Marston, E., and Zobel, H. F. 1988. The terminology and methodology associated with basic starch phenomena. *Cereal Foods World*, 33:308–331.
- Azevedo, R. A, Damerval, C., Landry, J., Lea, P. J., Bellato, C. M., Meinhardt, L. W., Guilloux, M. L., Delhaye, S., Toro, A. A., Gaziola, S. A., and Berdejo, D. A. 2003. Regulation of maize lysine metabolism and endosperm protein synthesis by opaque and floury mutations. *European Journal of Biochemistry*, 270:4898–4908.
- Azevedo, R. A. and Arruda, P. 2010. High-lysine maize: the key discoveries that have made it possible. *Amino Acids*, 39:979–989.
- Azevedo, R.A., Arana, J.L. and Arruda, P. 1990. Biochemical genetics of the interaction of the lysine plus threonine resistant mutant Ltr\*19 with opaque-2 maize mutant. *Plant Science*, 70:81–90.
- Bach-Knudsen, K.E., Kirleis, A.W., Eggum, B.O. and Munck, L. 1988. Carbohydrate composition and nutritional quality for rats of sorghum to prepared from decorticated white and whole grain red flour. *Journal of Nutrition*, 118:588–597.
- Badui, S. 2006. *Química de los Alimentos*, 4ta edición, pp. 68-180, Longman, México.
- Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Casanoves F., Di Rienzo J.A., y Robledo C.W. 2008. *Manual del Usuario de InfoStat*. Editorial Brujas, Córdoba, Argentina.
- Bao, J. S., Kong, X. L., Xie, J. K., and Xu, L. J. 2004. Analysis of genotypic and environmental effects on rice starch. 1. Apparent amylose content, pasting viscosity, and gel texture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52:6010–6016.
- Barnes, D L. and Wolley, D G. 1969. The effect of moisture stress at different stages of plant growth. I. Comparison of a single-eared and two-eared corn hybrid. *Agronomy Journal*, 61:788-790.
- Batterman-Azcona, S.J. and Hamaker, B.R. 1998. Changes occurring in protein body structure and  $\alpha$ -zein during cornflake processing. *Cereal Chemistry*, 75: 217–221.
- Battisti, D. S. and Naylor, R. L. 2009. Historical warnings of future food insecurity with unprecedented seasonal heat. *Science*, 323:240–244.
- Baxter, G., Blanchard, C., and Zhao, J. 2014. Effects of glutelin and globulin on the physicochemical properties of rice starch and flour. *Journal of Cereal Science*, 60:414-420.
- Beckles, D. M., and Thitisaksakul, M. 2014. How environmental stress affects starch composition and functionality in cereal endosperm. *Starch*, 66:58–71.
- Beckles, D. M., Tananuwong, K., and Shoemaker, C. F. 2012. Starch characteristics of transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.) overexpressing the Dx5 high molecular weight glutenin subunit are substantially equivalent to those in nonmodified wheat. *Journal of Food Science*, 77: 437–442.

- Bellon M.R., Pham J. L. and Jackson M. T. 1997. Genetic conservation: a role for rice farmer's. In: Plant Conservation: The *in situ* Approach. Maxted N., Ford-Loyd B.V., Hawkes J.G. (eds.). London, UK, pp. 263-284.
- Bellon, M.R., Adato, M., Becerril, J. and Mindek, D. 2003. The impact of improved maize germplasm on poverty alleviation: The case of Tuxpeno-derived material in Mexico. International Food Policy Research Institute No. 162. CIMMYT.
- Bello-Pérez, L. A., Flores-Silva, P. C., Camelo-Méndez, G. A., Paredes-López, O. and Figueroa-Cárdenas, J. 2015. Effect of nixtamalization process on dietary fiber content, starch digestibility, and antioxidant capacity of blue maize tortilla. *Cereal Chemistry*, 92:265-270.
- Benzie I.F.F. and Strain J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239: 70-76.
- Berthaud J. and Gepts P. 2004. Maize and biodiversity: the effects of transgenic maize in Mexico. North American Commission for Environmental Cooperation. Montreal, Canada.
- Beta, T., and Corke, H. 2001. Genetic and Environmental Variation in sorghum Starch Properties. *Journal of Cereal Science*, 34:261–268.
- Betrán, J., Bockholt, A. J., and Rooney, L. W. 2001. Blue corn. In *Specialty corns*, Hallauer, A. R. (ed.) pp. 293–301. Boca Raton: CRC Press.
- Biasutti, C. A. y Nazar, M. C. 2016. Mejoramiento Genético Vegetal: Principios y Procedimientos. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina, 190 pp.
- Biasutti, C. A. y Peiretti, D. A. 1992. Asociación de caracteres morfológicos en poblaciones de maíz (*Zea mays* L.) en condiciones de estrés y no estrés hídrico. *Agriscientia*, IX:59-64.
- Biliaderis, C. G. 2009. Structural transitions and related physical properties of starch. Pages 293-372 In *Starch: Chemistry and Technology*, 3rd. ed. J. BeMiller and R. Whistler, eds. Academic Press: USA.
- Bily, A. C., Burt, A. J., Ramputh, A., Livesey, J., Regnault-Roger, C., and Philogene, B. R. 2004. HPLC-PAD-APCI/MS assay of phenylpropanoids in cereals. *Phytochemical Analysis*, 15:9–15.
- Bird, A.R., Brown, I.L. and Topping, D.L. 2006. Low and high amylose maize starches acetylated by a commercial or a laboratory process both deliver acetate to the large bowel of rats. *Food Hydrocolloids*, 20:1135-1140.
- Blazek, J., and Copeland, L. 2009. The effect of monopalmitin on pasting properties of wheat starches with varying amylose content. *Carbohydrate Polymers*, 78:131–136.
- Bohn, L., Meyer, A. and Rasmussen, S. 2008. Phytate: impact on environment and human nutrition. A challenge for molecular breeding. *Journal of Zhejiang University – Science B*, 9:165–191.
- Bolsa de Cereales. 2016. Anuario Meteorológico 2016. Red de Estaciones Meteorológicas del Departamento de Información Agroeconómica. Disponible en [https://es.scribd.com/document/336995943/Anuario-Meteorologico-2016#fullscreen&from\\_embed](https://es.scribd.com/document/336995943/Anuario-Meteorologico-2016#fullscreen&from_embed) (25 de febrero de 2018).
- Bolsa de Comercio de Rosario. 2017a. Argentina en el mercado mundial de granos y subproductos. Disponible en [https://www.bcr.com.ar/Pages/Publicaciones/informativosemanal\\_noticias.aspx?pidNoticia=693](https://www.bcr.com.ar/Pages/Publicaciones/informativosemanal_noticias.aspx?pidNoticia=693) (20 de octubre de 2017).

- Bolsa de Comercio de Rosario. 2017b. Estimaciones de Producción. Disponible en <https://www.bcr.com.ar/Pages/gea/estimaProd.aspx> (20 de octubre de 2017).
- Boltz, K. W., and Thompson, D. B. 1999. Initial heating temperature and native lipid affects ordering of amylose during cooling of high-amylose starches. *Cereal Chemistry*, 76:204-212.
- Bonhomme R., Derieux, M., Kiniry, J.R., Edmeades, G.O. and Ozier-Lafontaine, H. 1991. Maize leaf number sensitivity in relation to photoperiod in multilocation field trials. *Agronomy Journal*, 83:153-157.
- Bonhomme, R., Derieux, M. and Edmeades, G.O. 1994. Flowering of diverse maize cultivars in relation to temperature and photoperiod in multilocation field trials. *Crop Science*, 34:156-164.
- Bordenave, N., Hamaker, B. R., and Ferruzzi, M. G. 2014. Nature and consequences of non-covalent interactions between flavonoids and macronutrients in foods. *Food and Function*, 5:18-34.
- Borojevic, S. 1990. Methods of Selection. Pages 122-152 *In Principles and methods of plant breeding*. Developments in Crop Science 17. Elsevier: New York, USA.
- Borrás, L. and Otegui, M. E. 2001. Maize kernel weight response to postflowering source–sink ratio. *Crop Science*, 49:1816-1822.
- Boyer, C. D. and Hannah, L. C. 2001. Kernel mutants of corn. Pages 10-40 *In Specialty Corns*, 2nd Ed. A. R. Hallauer, ed. CRC Press: Boca Raton, FL.
- Boyer, C. D. and Shannon, C. J. 2003. Carbohydrates of the kernel. *In White, P. J. and Johnson, L. A. (eds.) Corn: Chemistry and Technology (2nd ed)*. St Paul, MN: AACC International, Inc.
- Boyer, C. D. and Shannon, J. C. 1982. The use of endosperm genes for sweet corn improvement. *In: Plant Breeding Reviews*. Janick, J., (ed.), AVI Publishing Co., Westport, CT.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., and Berset, C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologie*, 28:25–30.
- Brat, P., Tourniaire, F., and Amiot-Carlin, M. J. 2008. Stability and Analysis of Phenolic Pigments. *In Food Colorants: Chemical and Functional Properties*. Socaciu C. (ed). CRC Press LCC. USA. 71-83 pp.
- Bravo, L. 1998. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56:317-333.
- Brennan, C. S., Samaan, J., and El-Khayat, G. H. 2012. The effect of genotype and environmental conditions on grain physiochemical properties of Syrian durum wheat cultivars. *International Journal of Food Science and Technology*, 47:2627–2635.
- Brewer, M.S. 2011. Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Institute of Food Technologist - Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10: 221–247.
- Brockett, E., Thompson, D., Davis, T., and Boyer, C. 1988. Gelatinization characteristics of starch from du, wx, ae, and ae wx endosperm of sweet corn inbred IA 5125. *Starch*, 40:175-177.
- Brummer, E. C. 2004. Breeding for sustainable cropping systems. *In Proceedings of Summit on Seeds and Breeds for 21st Century Agriculture*, Washington, DC. Sligh, M. and Lauffer,

- L. (eds.) Rural Advancement Foundation International- USA: Pittsboro, NC, USA, pp. 63-67.
- Bunzel, M., Ralph, J., Martia, J. M., Hatfield, R. D. and Steinhart, H. 2001. Diferulates as structural components in soluble and insoluble cereal dietary fibre. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81:653-660.
- Burachik, M. 2010. Experience from use of GMOs in Argentinian agriculture, economy and environment. *New Biotechnology*, 27:588-592.
- Cagampang, G.B., Greek, M.I. and Kirleis, A.W. 1985. Properties of starches isolated from sorghum floury and corneous endosperm. *Starch*, 37: 253-257.
- Cai, Y.Z., Luo, Q., Sun, M. and Corke, H. 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, 74: 2157–2184.
- Cairns, J. E., Sonder, K., Zaidi, P. H., Verhulst, N., Mahuku, G., Babu, R., Nair, S. K., Das B., Govaerts, B., Vinayan, M. T., Rashid, Z., Noor, J. J., Devi, P., San Vicente, F. and Prasanna, B. M. 2012. Maize production in a changing climate: Impacts, adaptation, and mitigation strategies. *In* Donald S, ed., *Advances in Agronomy*. Academic Press, Burlington, USA. pp. 1–58.
- Camelo-Méndez, G. A., Agama-Acevedo, E., Tovar, T y Bello-Pérez, L. 2017. Functional study of raw and cooked blue maize flour: starch digestibility, total phenolic content and antioxidant activity. *Journal of Cereal Science* (2017), doi: 10.1016/j.jcs.2017.06.009
- Cameron, R. E., and Donald, A. M. 1992. A small-angle X-ray scattering study of the annealing and gelatinization of starch. *Polymer*, 33: 2628–2636.
- Camussi, P. L., Spagnoletti, Z. and Melchiorre, P. 1983. Numerical taxonomy of Italian maize populations: Genetic distances on the basis of heterotic effects. *Maydica*, 28:411-424.
- Carena, M. J. 2005. Maize commercial hybrids compared to improved population hybrids for grain yield and agronomic performance. *Euphytica*, 141: 201-208.
- Carena, M.J. and Hallauer, A.R. 2001. Response to inbred progeny selection in Leaming and Midland yellow dent maize populations. *Maydica*, 46:1-10.
- Careri, M., Corradini, C., Elviri, L., Nicoletti, I. and Zagnoni, I. 2003. Direct HPLC analysis of quercetin and *trans*-resveratrol in red wine, grape and winemaking byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 5226–5231.
- Carhuapoma-Yance, M. y López-Guerra, S. 2008. Maíz morado: Purple corn. Moléculas bioactivas antioxidantes y anticancerígenas. 1ra. Edición. Ed. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. Perú, 132 pp.
- Cázares-Sánchez, E., Chávez-Servia, J. L., Salinas-Moreno, Y., Castillo-González, F. y Ramírez-Vallejo, P. 2015. Variación en la composición del grano entre poblaciones de maíz (*Zea mays* L.) nativas de Yucatán, México. *Agrociencia*, 49:15-30.
- Ceccarelli, S. and Grando, S. 1996. Drought as a challenge for the plant breeder. *Plant Growth Regulation*, 20:149–155.
- Centro de Corredores. 2014. El Maíz en Argentina. Centro de Corredores y Agentes de la Bolsa de Cereales. Disponible en <http://www.centrodecorredores.com/index.php/maiz>. (23 de mayo de 2017).
- Cervantes-Ortiz, F., Gasca-Ortiz, M.T, Enriquez, E.A., Mendoza-Elos, M., Guevara-Acevedo, L.P., Vázquez-Moreno, F. y Rodríguez-Herrera, S. 2014. Densidad de población y

- correlaciones fenotípicas en caracteres agronómicos y de rendimiento en genotipos de maíz. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria México*, 2: 7-18.
- Cevallos-Casals, B. A. and Cisneros-Zevallos, L. 2003. Stoichiometric and kinetic studies of phenolic antioxidants from Andean purple corn and red-fleshed sweetpotato. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:3313–3319.
- Chalker-Scott, L. 1999. Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. *Photochemistry and Photobiology*, 70:1–9.
- Champagne, E. T., Wood, D. F., Juliano, B. O. and Bechtel, D. B. 2004. The rice grain and its gross composition. *In* Champagne, E. T. (ed.) *Rice: Chemistry and Technology* (3<sup>rd</sup> ed). St Paul, MN: AACC International, Inc., pp 77–107.
- Chandrasekara, A., Naczk, M. and Shahidi, F. 2012. Effect of processing on the antioxidant activity of millet grains. *Food Chemistry*, 133: 1–9.
- Cheeseman, K.H. and Slater, T.F. 1993. An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin*, 49:481-493.
- Choi, Y., Ku, J. B., Chang, H. B., and Lee, J. 2005. Antioxidant activity of methanolic extracts from some grains consumed in Korea. *Food Chemistry*, 103:130–138.
- Chowdhury, S. I. and Wardlaw, I. F. 1978. The effect of temperature on kernel development in cereals. *Australian Journal of Agricultural Research*, 29:205-223.
- Christianson, D. D., Nielsen, H. C., Khoo, U., Wolf, M. J., and Wall, J. S. 1969. Isolation and chemical composition of protein bodies and matrix proteins in corn endosperm. *Cereal Chemistry*, 46:372-381.
- Chung, H. J., and Liu, Q. 2009. Impact of molecular structure of amylopectin and amylose on amylose chain association during cooling. *Carbohydrate Polymers*, 77:807–815.
- CIMMYT. 1994. CIMMYT 1993/94 World maize facts and trends. Maize seed industries, revisited: Emerging roles of the public and private sectors. México, D.F.
- CIMMYT. 1999. Programa de Maíz: Desarrollo, mantenimiento y multiplicación de semilla de variedades de polinización libre. 2a ed. México, D.F. Recuperado de <http://repository.cimmyt.org/xmlui/bitstream/handle/10883/762/68195.pdf> (23 de setiembre de 2016).
- Cirilo, A. G. 2004. Fecha de siembra y rendimiento en maíz. *Revista de información sobre investigación y desarrollo agropecuario*, *Idia XXI* 4:122-127.
- Cirilo, A., Andrade, F., Otegui, M., Maddonni, G., Vega, C. y Valentinuz, O. 2015. Ecofisiología del cultivo de maíz. En: *Bases para el manejo del cultivo de maíz*. Eyherabide, G. H. (ed). INTA Pergamino, Buenos Aires, Argentina, pp 25-52.
- Cirilo, A.G., Actis, M., Andrade, F.H., and Valentinuz, O.R. 2011. Crop management affects dry-milling quality of flint maize kernels. *Field Crops Research*, 122:140–150.
- Colombo, A., Leon, A. E., and Ribotta, P. D. 2011. Rheological and calorimetric properties of corn-, wheat-, and cassava-starches and soybean protein concentrate composites. *Starch*, 63: 83–95.
- Cooper, M., Messina, C.D., Podlich, D., Radu Totir, L., Baumgarten, A., and Hausmann, N.J. 2014. Predicting the future of plant breeding: Complementing empirical evaluation with genetic prediction. *Crop and Pasture Science*, 65:311–336.

- Coors, J.G. 1999. Selection methodology and heterosis. *In* The genetics and exploitation of heterosis in crops. Coors, J.G. and Pandey, S. (eds.) American Society of Agronomy, Crop Science Society of America. Soil Science Society of America: Madison, WI, USA.
- Corbeil R R, and Searle, S. R. 1976. Restricted maximum likelihood (REML) estimation of variance components in the mixed model. *Technometrics*, 18:31-38.
- Corcuera, V. R., Pennisi, M., Kandus, M. y Salerno, J. C. 2016. Composición química del grano de maíces especiales desarrollados en la Argentina para la industria alimentaria. *La Alimentación Latinoamericana* N° 325.
- Corcuera, V., Salmoral, E., Kandus, M., Ferrero, V., y Salerno, J. 2013. Análisis proximal del grano de los maíces de uso especial. I. Contenido de proteína, almidón y aceite. XIV Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Asociación Argentina de Tecnólogos Alimentarios. ISBN: 978-987-22165-5-9.
- Córdova H. S., Barreto H. J. y Crossa J. 1994. Impacto del desarrollo de híbridos de maíz en Centroamérica. *Agronomía Mesoamericana*, 5: 78-87.
- Corke, H. 2004. Grain, morphology of internal structure. *In* Wrigley, C., Corke, H. and Walker, C. (eds). *Encyclopedia of Grain Science*. Oxford: Elsevier.
- Corona-Terán, J., López-Orona, C.A., Romero-Gómez, S.J. y Martínez-Campos, A.R. 2017. Caracterización física, contenido de fenoles y capacidad antioxidante de maíces nativos (*Zea mays* L.) del Estado de México. *ITEA: Revista de la Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario*, 113: 5-19.
- Correa, C.E., Shaver, R.D., Pereira, M.N. and Lauer, J.G. 2002. Relationship between corn vitreousness and ruminal *in situ* starch degradability. *Journal of Dairy Science*, 85: 3008-3012.
- Crosbie, G. B., and Ross, A. S. 2007. *The RVA handbook*. St. Paul, MN: AACC
- Cuevas-Montilla, E., Antezana A. y Winterhalter P. 2008. Análisis y caracterización de antocianinas en diferentes variedades de maíz (*Zea mays* L.) boliviano. En: *Memorias Red-Alfa Lagrotech, Comunidad Europea, Cartagena, Colombia*, pp. 79-95.
- Cuevas-Rodríguez, E.O., Verdugo-Montoya, N.M., Angulo-Bejarano, P.I., Milán-Carrillo, J., Mora-Escobedo, R., Bello-Pérez, L.A., Garzón-Tiznado, J.A., and Reyes-Moreno, C. 2006. Nutritional properties of tempeh flour from quality protein maize (*Zea mays* L.). *LWT Food Science and Technology*, 39:1072–1079.
- Dannenhoffer, J.M., Bostwick, D.E., Or, E. and Larkins, B.A., 1995. *Opaque-15*, a maize mutation with properties of a defective *opaque-2* modifier. *Proceedings of the National Academy of the Sciences of the United States of America*, 92:1931–1935.
- Darrah, L. L., Macmullen, M. D. and Zuber, M. S. 2003. Breeding, genetics, and seed corn production. *In* White, P. J. and Johnson, L. A. (eds). *Corn: Chemistry and Technology* (2nd edn). St Paul, MN: AACC International, Inc.
- Darrah, L.L., Eberhart, S.A. and Penny, L.H. 1972. A maize breeding methods study in Kenya. *Crop Science*, 12, 605-608.
- Das, A. M., Sreerama, Y. N., and Singh, V. 2014. Diversity in phytochemical composition and antioxidant capacity of dent, flint, and specialty corns. *Cereal Chemistry*, 91:639–645.
- Das, O. P. and Messing, J. 1987. Allelic variation and differential expression of the 27 kD zein locus in maize. *Molecular and Cellular Biology*, 7: 4490.

- De la Parra C, Serna-Saldivar SO, and Liu RH. 2007. Effect of processing on the phytochemical profiles and antioxidant activity of corn for production of masa, tortillas, and tortilla chips. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55:4177–4183.
- De Pascual-Teresa, S. and Sanchez-Ballesta, M. T. 2008. Anthocyanins: From plant to health. *Phytochemistry Reviews*, 7:281–299.
- Debet, M. R., and Gidley, M. J. 2006. Three classes of starch granule swelling: Influence of surface proteins and lipids. *Carbohydrate Polymers*, 64: 452–465.
- Del Pozo-Insfran, D., Brenes, C. H., and Talcott, S. T. 2004. Phytochemical composition and pigment stability of Açai (*Euterpe oleracea*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54:1539–1545.
- Del Pozo-Insfran, D., Brenes, C. H., Serna Saldivar, S. O. and Talcott, S. T. 2006. Polyphenolic and antioxidant content of white and blue corn (*Zea mays* L.) products. *Food Research International*, 39:696–703.
- Delcour, J. A. and Hoseney, R. C. 2010. Minor constituents. In Delcour, J. A. and Hoseney, R. C. (eds) *Principles of Cereal Science and Technology* (3rd ed). St Paul, MN: AACC International, Inc., pp 71–85.
- Dewanto, V., Wu, X., and Liu, R. H. 2002. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50:4959–4964.
- Dhingra, O.D., Gulab J., and Napoleao, I. 1998. Ergosterol accumulation and oil quality changes in stored soybean invaded by *Aspergillus rubber* (*A. glaucus* group). *Mycopathologia*, 143:85-91.
- Dhital, S., Shrestha, A. K., Hasjim, J. and Gidley, M. J. 2011. Physicochemical and structural properties of maize and potato starches as a function of granule size. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59: 10151–10161.
- Di Rienzo, J. A., Macchiavelli, R., y Casanoves, F. 2017. *Modelos Lineales Mixtos: Aplicaciones en InfoStat*. 1a. Ed. Grupo Infostat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba.
- Di Rienzo, J., Guzmán, A., and 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 Environmental Statistics*, 7:1-14.
- Dias, J. S. 2012. Nutritional quality and health benefits of vegetables: a review. *Food and Nutrition Sciences*, 3:1354-1374.
- Diplock, A. T. 1997. Will the ‘good fairies’ please prove to us that vitamin E lessens human degenerative disease?. *Free Radical Research*, 27:511-532.
- Dolfini, F. S., Landoni, M., Tonelli, C., Bernard, L. and Viotti, A. 1992. Spatial regulation in the expression of structural and regulatory storage protein genes in *Zea mays* endosperm. *Genesis: Journal of Genetics and Development*, 13:264–276.
- Dombrink-Kurtzman, M. A. and Bietz, J. A. 1993. Zein composition in hard and soft endosperm of maize. *Cereal Chemistry*, 70: 105-108.
- Dombrink-Kurtzman, M. A., and Knutson, C. A. 1997. A study of maize endosperm hardness in relation to amylose content and susceptibility to damage. *Cereal Chemistry*, 74:776–780.
- Dong, H. Z., Hou, H. X., Liu, C. F. and Zhang, H. 2008. Relationships between some physicochemical properties of starches from maize cultivars grown in East China. *Starch*, 60:305–314.

- Doutch, J., Bason, M., Franceschini, F., James, K., Clowes, D. and Gilbert, E. P. 2012. Structural changes during starch pasting using simultaneous Rapid Visco Analysis and small-angle neutron scattering. *Carbohydrate Polymers*, 88:1061–1071
- Duodu, K. G., Nunes, A., Delgadillo, I., Parker, M. L., Mills, E. N. C., Belton, P. S. and Taylor, J. R. N. 2002. Effect of grain structure and cooking on sorghum and maize *in vitro* protein digestibility. *Journal of Cereal Science*, 35:161–174.
- Earle, F. R. 1977. Protein and oil in corn – variation by crop years from 1907 to 1972. *Cereal Chemistry*, 54:70–79.
- Earle, F. R., Curtis, J. J., and Hubbard, J. E. 1946. Composition of the component parts of the corn kernel. *Cereal Chemistry*, 23:504–501.
- Earley, E. B. 1952. Percentage of carbohydrates in kernels of Station Reid Yellow Dent corn at several stages of development. *Plant Physiology*, 27:184–190.
- East, E.M. 1908. Inbreeding in corn. *In Connecticut Agricultural Experimental Station Rpt*, 1907, p. 419–428
- Eberhart, S. A., Salhuana, W., Sevilla, R. and Taba, S. 1995. Principles for tropical maize breeding. *Maydica*, 40:339–355.
- Eberhart, S.A. and Russell, W.A. 1969. Yield and stability for a 10-line diallel of single-cross and double-cross maize hybrids. *Crop Science*, 9:357–361.
- Eckhoff, S. R. 2004. MAIZE: Dry Milling. *In Wrigley, C., Corke, H. and Walker, C. (eds). Encyclopedia of Grain Science*. Oxford: Elsevier.
- Economista América. 2013. El etanol, el nuevo “buen negocio” de los argentinos. Disponible en: <http://www.economistaamerica.com.ar/economia-eArgentina/noticias/5171490/09/13/El-etanol-el-nuevo-buen-negocio-de-los-argentinos-produccion-se-duplica-en-un-ano.html#.Kku8bUImktMU9R2>. (20 de octubre de 2017).
- Ellis, R.H., Summerfield, R.J., Edmeades, G.O. and Roberts, E.H. 1992. Photoperiod, temperature, and the interval from sowing to tassel initiation in diverse cultivars of maize. *Crop Science*, 32:1225–1232.
- Elverdín, J., Catalano, J., Cardozo, F., Ramilo, D., Tito, G., Cittadini, R., Giordano, G., Gómez, M., Paulizzi, C., Alcoba, D., Aradas, M., Braña, J., Bilbao, L., Cap, G., Dumrauf, S., Golsberg, C., López, A., Maggio, A., Marasas, M., Mazacotte, V., Prividera, G., Quiroga Mendiola, M., Setta, D., Rolón, N. y Videla, F. 2007. La Pequeña Agricultura Familiar en Argentina: Problemas, oportunidades y líneas de acción. CIEA. Bs. As. Disponible en <http://agro.unc.edu.ar/~extrural/Elverdín.pdf> (22 de octubre de 2017).
- Englyst, H. N., Kingman, S. M., and Cummings, J. H. 1992. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46: S33–S50.
- Eno, C. and Carena, M.J. 2008. Adaptation of elite temperate and tropical maize populations to North Dakota. *Maydica*, 53: 217–226.
- Escribano-Bailón, M. T., Santos-Buelga, C. and Rivas-Gonzalo, J. C. 2004. Anthocyanins in cereals. *Journal of Chromatography A*, 1054:129–141.
- Esen, A. 1980. A simple colorimetric method for zein determination in corn and its potential in screening for protein quality. *Journal of Cereal Chemistry*, 57:129–132.
- Espinosa-Trujillo, E., Mendoza-Castillo, M., Castillo-González, F., Ortiz-Cereceres, J., Delgado-Alvarado, A. y Carrillo-Salazar, A. 2009. Acumulación de antocianinas en

- pericarpio y aleurona del grano y sus efectos genéticos en poblaciones criollas de maíz pigmentado. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 32:303-309.
- Esteva, G. 2003. Los árboles de las culturas mexicanas. En: Esteva, G. y Marielle, C. (eds). *Sin maíz no hay país*. CONACULTA. Museo Nacional de las Culturas Populares. México. pp 17-28.
- Eyhérabide, G. H. 2015. Bases para el manejo del cultivo de maíz. INTA Pergamino, Buenos Aires, Argentina. 299 pp.
- Eyhérabide, G., Borrás, F., Robutti, J., Presello, D., and White, P. 2007a. Gelatinization and retrogradation traits of starches from Argentinian maize inbred lines: Patterns of correlation among traits. *Cereal Chemistry*, 84: 220–224.
- Eyhérabide, G., Borrás, F., Robutti, J., Presello, D., and White, P. 2007b. Characterization of thermal traits of starches from Argentinian maize inbreds: Genotypic and crop year variability. *Cereal Chemistry*, 84:92–96.
- Fageer, S. M. and Tinay, A. H. 2004. Effect of genotype, malt pretreatment and cooking on in vitro protein digestibility and protein fractions of corn. *Food Chemistry*, 84:613–619.
- Falconer, D.S. and Mackay, T.F.C., 1996. *Introduction to Quantitative Genetics*, 4<sup>th</sup> edition. Pearson Education Limited, Prentice Hall, Essex, England, 480 pp.
- FAO. 2017. Situación Alimentaria Mundial. Disponible en <http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/es/> (17 de abril de 2017).
- Feet, R., y Troncoso, A. M. 2004. Actividad antioxidante de pigmentos antociánicos. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 24:691–693.
- Fernández-Suárez R., Morales-Chávez L. A. y Gálvez-Mariscal A. 2013. Importancia de los maíces nativos de México en la dieta nacional. Una revisión indispensable. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36: 275-283.
- Fimognari, C., Berti, F., Nüsse, M., Cantelli-Forti, G. and Hrelia, P. 2004. Induction of apoptosis in two human leukemia cell lines as well as differentiation in human promyelocytic cells by cyanidin-3-O- $\beta$ -glucopyranoside. *Biochemical Pharmacology*, 67:2047–2056.
- FOPEX. 1985. Fondo de promoción de exportación no tradicionales. Estudio de factibilidad del cultivo de maíz morado. Manual de cultivo. Lima-Peru.
- Frazier, R. A., Deaville, E. R., Green, R. J., Stringano, E., Willoughby, I., Plant, J., and Mueller-Harvey, I. 2010. Interactions of tea tannins and condensed tannins with proteins. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 51:490–495.
- Fufa, H., Akalu, G., Wondimu, A., Taffesse, S., Gebre, T., Schlosser, K., Noetzold, H., and Henle, T. 2003. Assessment of protein nutritional quality and effects of traditional processes: a comparison between Ethiopian quality protein maize and five Ethiopian adapted normal maize cultivars. *Nahrung/Food*, 47:269-273.
- fyo. 2014. La cadena de maíz. Disponible en <http://news.agrofy.com.ar/especiales/maiz13-14/comercializacion.php> (20 de octubre de 2017).
- fyo. 2017. Especial Maíz. Estimaciones de siembra. Disponible en <https://news.agrofy.com.ar/especiales/maiz16-17/siembra-maiz> (20 de octubre de 2017).
- Gambin, B. L., Coyos, T., Di Mauro, G., Borrás, L., and Garibaldi, L. A. 2016. Exploring genotype, management, and environmental variables influencing grain yield of late-sown maize in central Argentina. *Agricultural Systems*, 146:11–19.

- Gardner, C.O. 1961. An evaluation of effects of mass selection and seed irradiation with thermal neutrons on yield of corn. *Crop Science*, 1: 241-245.
- Gardner, C.O. 1978. Population improvement in maize. *In Maize Breeding and Genetics*. Walden, D.B. (ed.). John Wiley and Sons: New York, NY, USA.
- Gardon, M. H. 1990. The mechanism of antioxidant action *in vitro*. Pages 1-18 *In Food Antioxidants*. B. J. F. Hudson, ed. Elsevier Applied Science: London, U.K.
- Gayral, M., Bakan, B., Dalgalarondo, M., Elmorjani, K., Delluc, C., Brunet, S., Linossier, L., Morel, M.H., and Marion, D. 2015. Lipid partitioning in maize (*Zea mays* L.) endosperm highlights relationships among starch lipids, amylose, and vitreousness. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63:3551-3558.
- Gayral, M., Gaillard, C., Bakan, B., Dalgalarondo, M., Elmorjani, K., Delluc, C., Brunet, S., Linossier, L., Morel, M.-H., and Marion, D., 2016. Transition from vitreous to floury endosperm in maize (*Zea mays* L.) kernels is related to protein and starch gradients. *Journal of Cereal Science*, 68:148-154.
- Gear J. R. 2010. El cultivo del maíz en la Argentina. Recopilación de Revista ILSI Argentina. Extraído de Maíz: Cadena de Valor Agregado. Alternativas de transformación e industrialización. PRECOP II. INTA. Disponible en: <http://www.cosechaypostcosecha.org/data/folleto/FolletoMaizConValorAgregado.pdf> (20 de octubre de 2017).
- Geetha, K.B., Lending, C.R., Lopes, M.A., Wallace, J.C. and Larkins, B.A. 1991. *Opaque-2* modifiers increase g-zein synthesis and alter its spatial distribution in maize endosperm. *Plant Cell*, 3: 1207–1219.
- Geraghty, D. E., Messing, J., and Rubenstein, I. 1982. Sequence analysis and comparison of cDNAs of the zein multigene family. *EMBO Journal*, 1:1329.
- Gibbon, B., and Larkins, B. 2005. Molecular genetic approaches to developing quality protein maize. *Trends in Genetics*, 21: 227-233.
- Gibbon, B.C., Wang, X., and Larkins, B.A. 2003. Altered starch structure is associated with endosperm modification in quality protein maize. *Proceeding of the National Academy of Science of the United States of America*, 100:15329-15334.
- Gibson, T. S., Solah, V. A., and McCleary, B. V. 1997. A procedure to measure amylose in cereal starches and flours with concanavalin A. *Journal of Cereal Science*, 25:111–119.
- Giusti, M. M. and Wrolstad, R. E. 2003. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochemical Engineering Journal*, 14: 217–225.
- Godic, A., Poljsak, B., Adamic, M. and Dahmane, R. 2014. The role of antioxidants in skin cancer prevention and treatment. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Article ID 860479, pp 6.
- Gomand, S. V., Lamberts, L., Visser, R. G. F., and Delcour, J. A. 2010. Physicochemical properties of potato and cassava starches and their mutants in relation to their structural properties. *Food Hydrocolloids*, 24: 424–433.
- González-Paramás, A. M., Lopes da Silva, F., Martín-López, P., Macz-Pop, G., González-Manzano, S., Alcalde-Eon, C., Pérez-Alonso, J. J., Escribano-Bailón, M. T., Rivas-Gonzalo, J. C. and Santos-Buelga, C. 2006. Flavanol-anthocyanin condensed pigments in plant extracts. *Food Chemistry*, 94: 428–436.

- Goodman M.M. and Bird R. M. 1977. The races of maize IV: tentative groupings of 219 Latin American races. *Economical Botany*, 31:204-221
- Gorelik, S., Kanner, J., Schurr, D. and Kohen, R. 2013. A rational approach to prevent postprandial modification of LDL by dietary polyphenols. *Journal of Functional Foods*, 5: 163–169.
- Gowda, M., Das, B., Makumbi, D., Babu, R., Semagn, K., Mahuku, G., Olsen, M., Bright, J. M., Beyene, Y. and Prasanna, B. M. 2015. Genome-wide association and genomic prediction of resistance to maize lethal necrosis disease in tropical maize germplasm. *Theoretical and Applied Genetics*, 128:1957–1968.
- Gris, E.F., Mattivi, F., Ferreira, E.A., Vrhovsek, U., Pedrosa, R.C. and Bordignon-Luiz, M.T. 2011. Proanthocyanidin profile and antioxidant capacity of Brazilian *Vitis vinifera* red wines. *Food Chemistry*, 126:213–220.
- Gudmundsson, M. 1994. Retrogradation of starch and the role of its components. *Thermochimica Acta*, 329–341.
- Guillén-Sánchez, J., Mori-Arismendi, S. y Paucar-Menacho, L. M. 2014. Características y propiedades funcionales del maíz morado (*Zea mays* L.) var. *Subnigroviolaceo*. *Scientia Agropecuaria*, 5:211 – 217.
- Gunaratna, N. S., Groote, H., Nestel, P., Pixley, K. V. and McCabe, G. P. 2010. A meta-analysis of community-based studies on quality protein maize. *Food Policy*, 35:202–210.
- Gutiérrez-Dorado, R., Ayala-Rodríguez, A. E., Milán-Carrillo, J., López-Cervantes, J., Garzón-Tiznado, J. A., López-Valenzuela, J. A., Paredes-López, O., and Reyes-Moreno, C. 2008. Technological and nutritional properties of flours and tortillas from nixtamalized and extruded quality protein maize (*Zea mays* L.). *Cereal Chemistry*, 85:808–816.
- Gutierrez-Rojas, A., Scott, M. P., Leyva, O. R., Menz, M. and Betrán, J. 2008. Phenotypic characterization of quality protein maize endosperm modification and amino acid contents in a segregating recombinant inbred population. *Crop Science*, 48:1714–1722.
- Habben, J. E., Kirleis, A.W. and Larkins, B.A. 1993. The origin of lysinecontaining proteins in *opaque-2* maize endosperm. *Plant Molecular Biology*, 23:825–838.
- Hagerman, A.E. 1989. Chemistry of tannin-protein complexation. In Hemingway RW, Karchesy JJ, eds. *Chemistry and significance of condensed tannins*. New York: Plenum Press, 323-33.
- Hallauer A. R. and Carena M. J. 2009. Maize breeding, pp. 3-98. In *Handbook of plant breeding: Cereals*. Carena M.J. (ed). Springer, New York, NY.
- Hallauer, A. R. 2001. *Specialty Corns*, 2nd Ed. CRC Press: Boca Raton, FL.
- Hallauer, A. R. and Carena, M. J. 2012. Recurrent selection methods to improve germplasm in maize. *Maydica*, 57:266-283.
- Hallauer, A.R, Carena, M.J and Miranda Filho, J.B. 2010. *Quantitative genetics in maize breeding*. 3rd ed, Springer, NewYork, NY.
- Hallauer, A.R. and Miranda, J.B. 1988. *Quantitative Genetics in Maize Breeding*, 2nd ed. Iowa State University Press: Ames, IA, USA.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. and Cross, C.E. 1992. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now?. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 119:598-620.
- Hamaker, B. R., Kirleis, A.W., Butler, L.G., Axtell, J.D and Mertz, E.T. 1987. Improving the *in vitro* protein digestibility of sorghum with reducing agents. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 84: 626-628.

- Hamaker, B.R., Kirleis, A.W., Mertz, E.T. and Axtell, J.D. 1986. Effect of cooking on the protein profiles and *in vitro* digestibility of sorghum and maize. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34:647–649.
- Harakotr, B., Suriharn, B., Tangwongchai, R., Scott, M. P., and Lertrat, K. 2014. Anthocyanin, phenolics and antioxidant activity changes in purple waxy corn as affected by traditional cooking. *Food Chemistry*, 164:510–517.
- Harikumar, K. B. and Aggarwal, B. B. 2008. Resveratrol: a multitargeted agent for age-associated chronic diseases. *Cell Cycle*, 7:1020-1035.
- Harville, D. A. 1977. Maximum likelihood approaches to variance component estimation and to related problems. *Journal of the American Statistical Association*, 72:320-340.
- Hatfield, J.L., and Walthall, C.L., 2015. Meeting global food needs: realizing the potential via Genetics × Environment × Management interactions. *Agronomy Journal*, 107:1215–1226.
- Hegenbart, S. 1996. Understanding starch functionality. *Food Products. Design* January: 23-34. <http://www.naturalproductsinsider.com/articles/1996/01/understanding-starch-functionality.aspx>
- Hernández, C., Rodríguez, Y., Niño, Z y Pérez, S. 2009. Efecto del almacenamiento de granos de maíz (*Zea mays* L.) sobre la calidad del aceite extraído. *Información Tecnológica*, 20:21-30.
- Hernandez, H.H., and Bates, L.S., 1969. A modified method for rapid tryptophan analysis in maize. *CIMMYT Research Bulletin* 13.
- Herrera-Cabrera, E. B., Castillo-González, F., Ortega-Pazkca, R. A. y Delgado-Alvarado A. 2013. Poblaciones superiores de la diversidad de maíz en la región oriental del estado de México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36: 33 – 43.
- Hohls, T., Shanahan, P.E., Clarke, G.P., and Gevers, H.O. 1996. Genetic control of kernel modification found in South African quality protein maize inbred lines. *Euphytica*, 87:103-109.
- Holding, D. R. 2014. Recent advances in the study of prolamin storage protein organization and function. *Frontiers in Plant Science: Plant Evolution and Development*, 276:1-9.
- Holding, D.R. and Larkins, B.A., 2009. Zein storage proteins. *In* Kriz, A.L. and Larkins, B.A. (eds.), *Molecular Genetic Approaches to Maize Improvement*. Springer-Verlag, Heidelberg, pp. 269-286.
- Hoseney, C. R. 1998. *Principles of Cereal Science and Technology*, 2nd Ed. AACC International: St. Paul, MN.
- Hou J. H., Zheng H. L., Yang L. J., and Zhang J. H. 2001. Correlation analysis between quality characters and agronomical traits in maize germplasm resources. *Journal of Inner Mongolia Agricultural University*, 22:71–74.
- Hu, Y.-B., Wang, Z. and Xu, S.-Y. 2008. Treatment of corn bran dietary fiber with xylanase increases its ability to bind bile salts, *in vitro*. *Food Chemistry*, 106:113–121.
- Huamán-Alvino, C. 2008. Origen del maíz morado. En: *Maíz morado Purple Corn. Moléculas bioactivas antioxidantes y anticancerígenas*. Carhuapoma-Yance M y López-Guerra S (eds). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú, pp. 33-37.
- Huamán-Alvino, C. K., Aquino-Méndez E. M., Chirinos R., Campos D. y Gálvez-Ranilla L. 2016. Compuestos fenólicos bioactivos de accesiones de maíz (*Zea mays* L.) morado nativo del Perú. *Agronomía Colombiana, Suplemento* 34: 1352-1355.

- Huang, D., Ou, B., and Prior, R. L. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53:1841–1856.
- Huang, S., Frizzi, A., Florida, C.A., Kruger, D.E. and Luethy, M.H., 2006. High lysine and high tryptophan transgenic maize resulting from the reduction of both 19- and 22-kD alpha-zeins. *Plant Molecular Biology*, 61:525-535.
- Hunter, B.G., Beatty, M.K., Singletary, G.W., Hamaker, B.R., Dilkes, B.P., Larkins, B.A. and Jung, R. 2002. Maize opaque endosperm mutations create extensive changes in patterns of gene expression. *Plant Cell*, 14:2591–2612.
- Hurkman, W. J., McCue, K. F., Altenbach, S. B., and Korn, A. 2003. Effect of temperature on expression of genes encoding enzymes for starch biosynthesis in developing wheat endosperm. *Plant Science*, 164: 873–881.
- Hurrell, R. F. 2004. Phytic acid degradation as a means of improving iron absorption. *International Journal for Vitamin Nutrition and Research*, 74:445–452.
- Inouchi, N., Glover, D. V., Sugimoto, Y., and Fuwa, H. 1984. Development changes in starch properties of several endosperm mutants of maize. *Starch*, 36:8-12.
- Inouchi, N., Glover, D. V., Takaya, T. and Fuwa, H. 1983. Development changes in fine structure of starches of several endosperm mutants of maize. *Starch*, 35:371-376.
- Ioannou, I., Hafsa, I., Hamdi, S., Charbonnel, C., and Ghoul, M. 2012. Review of the effects of food processing and formulation on flavonol and anthocyanin behaviour. *Journal of Food Engineering*, 111:208–217.
- Jakobek, L. 2015. Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins. *Food Chemistry*, 175:556–567.
- James, C. 2011. Global status of commercialized biotech/GM Crops: 2011. ISAAA Brief No. 43. ISAAA: Ithaca, NY. 338 pp.
- Jane, J., Chen, Y. Y., Lee, L. F., McPherson, A. E., Wong, K. S., Radosavljevic, M., and Kasemsuwan, T. 1999. Effects of amylopectin branch chain length and amylose content on the gelatinization and pasting properties of starch. *Cereal Chemistry*, 76:629–637.
- Jellum, M. D., Boswell, F. C. and Young, C. T. 1973. Nitrogen and boron effects on protein and oil of corn grain. *Agronomy Journal*, 65:330–331.
- Jenkins, M.T. 1978. Maize breeding during the development and early years of hybrid maize. *In* *Maize Breeding and Genetics*. Walden, D.B. (ed.). John Wiley and Sons: New York, NY, USA.
- Jenner, C.F., Ugalde, T.D. and Aspinall, D., 1991. The physiology of starch and protein deposition in the endosperm of wheat. *Australian Journal of Plant Physiology*, 18: 211-226.
- Jia, M., Wu, H., Clay, K.L., Jung, R., Larkins, B.A., and Gibbon, B.C., 2013. Identification and characterization of lysine rich proteins and starch biosynthesis genes in the *opaque-2* mutant by transcriptional and proteomic analysis. *BMC Plant Biology*, 13: 60-74.
- Jiang, H. W., Dian, W. M., and Wu, P. 2003. Effect of high temperature on fine structure of amylopectin in rice endosperm by reducing the activity of the starch branching enzyme. *Phytochemistry*, 63:53–59.
- Jing, P., Noriega, V., Schwartz, J and Giusti, M. 2007. Effects of Growing Conditions on Purple Corn cob (*Zea mays* L.) Anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55:8625–8629.

- Jones, D. F. 1918. The effects of inbreeding and cross-breeding upon development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 4: 246-250.
- Joshi, S., Lodha, M. L., and Mehta, S. L. 1980. Regulation of starch biosynthesis in normal and *opaque-2* maize during endosperm development. *Phytochemistry*, 19:2305-2309.
- Jumbo, M.B. and Carena, M.J. 2008. Combining ability, maternal, and reciprocal effects of elite early-maturing maize population hybrids. *Euphytica*, 162: 325-333.
- Kato, T. A., Mapes, C., Mera, L. M., Serratos, J. A. y Bye, R. A. 2009. Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Ed. Apolo, S.A. de C.V. D.F., México. 116 pp.
- Keeling, P.L., Banisadr, R., Barone, L., Wasserman, B.P. and Singletary, G.W., 1994. Effect of temperature on enzymes in the pathway of starch biosynthesis in developing wheat and maize grain. *Australian Journal of Plant Physiology*, 21: 807-827
- Keller, D.R. and Brummer, E.C. 2002. Putting food production in context: Toward a postmechanistic agricultural ethic. *Bioscience*, 52:264-271.
- Kiniry, J.R., Wood, C.A., Spanel, D.A and Bockholt, A. J. 1990. Seed weight response to decreased seed number in maize. *Agronomy Journal*, 54:98-102.
- Kiseleva, V. I., Tester, R. F., Wasserman, L. A., and Krivandin, A. V. 2003. Influence of growth temperature on the structure and thermodynamic parameters of barley starches. *Carbohydrate Polymers*, 51:407-415.
- Kniep, K.R., and Mason, S.C., 1991. Lysine and protein content of normal and opaque-2 maize grain as influenced by irrigation and nitrogen. *Crop Science*, 31:177-181.
- Krivanek, A. F., Groote, H., Gunaratna, N. S., Diallo, A. O and Friesen, D. 2007. Breeding and disseminating quality protein maize (QPM) for Africa. *African Journal of Biotechnology*, 6:312-324.
- Kroon, P. A., and Williamson, G. 1999. Hydroxinnamates in plants and food: current and future perspectives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79:355-361.
- Krueger, B. R., Knutson, C. A., Inglett, G. E., and Walker, C. E. 1987. A differential scanning calorimetry study on the effect of annealing on gelatinization behavior of corn starch. *Journal of Food Science*, 52:715-718.
- Kurilich, A. C., and Juvik, J. A. 1999. Quantification of carotenoids and tocopherol antioxidants in *Zea mays*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47:1948-1955.
- Kutka, F. 2011. Open-Pollinated vs. Hybrid Maize Cultivars. *Sustainability*, 3: 1531-1554.
- Laemmli, U. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage. T4. *Nature*, 227:681-685.
- Lambert, R. J. 2001. High-oil corn hybrids. *In* Specialty Corns, 2nd ed. A. R. Hallauer, ed. CRC Press LLC, USA.
- Lambert, R. J., Alexander, D. E., and Han, Z. J. 1998. A high oil pollinator enhancement of kernel oil and effects on grain yields of maize hybrids. *Crop Science*, 90:211-215.
- Lamkey, K.R. 2001. Breeding and evaluating open pollinated varieties of corn. In: Report of the North Central Corn Breeding Research Committee, Proceedings of NCR-167 Annual Meeting, Ames, IA, USA, 5-6 February 2001. Hallauer, A.R. (ed.). Iowa State University: Ames, IA, USA, p. 20; Available online: [http://www.agron.iastate.edu/corn/ncr167/Minutes/2001\\_NCR167\\_Minutes.pdf](http://www.agron.iastate.edu/corn/ncr167/Minutes/2001_NCR167_Minutes.pdf)

- Landry, J. 1997. Comparison of Extraction Methods for Evaluating Zein Content of Maize Grain. *Cereal Chemistry*, 74:188-189.
- Landry, J. 2002. A linear model for quantitating the accumulation of zeins and their fractions ( $\alpha + \delta$ ,  $\beta$  and  $\gamma$ ) in developing endosperm of wild-type and mutant maizes. *Plant Science*, 163:111–115.
- Landry, J. and Moureaux, T., 1980. Distribution and amino acid composition of protein groups located in different histological parts of maize grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28: 1186-1191.
- Landry, J., and Moureaux, T. 1970. Hétérogénéité des glutélines du grain de maïs: Extraction sélective et composition en acides aminés des trois fractions isolées. *Bulletin de la Societe de Chimie Biologique*, 52:1021–1037.
- Landry, J., Damerval, C., Azevedo, R., and Sonia, D. 2005. Effect of the opaque and floury mutations on the accumulation of dry matter and protein fractions in maize endosperm. *Plant Physiology and Biochemistry*, 43: 549–556.
- Landry, J., Delhayé, S., and Damerval, C. 2002. Effect of the *opaque-2* gene on accumulation of protein fractions in maize endosperm. *Maydica*, 47:59-66.
- Landry, J., Delhayé, S., and Damerval, C. 2004. Protein distribution pattern in floury and vitreous endosperm of maize grain. *Cereal Chemistry*, 81:153–158.
- Lao, F, Sigurdson, G, and Giusti, M. 2017. Health benefits of purple corn (*Zea mays* L.) phenolic compounds. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16:234-246.
- Larkins, B. A. and Hurkman, W. J. 1978. Synthesis and deposition of zein protein bodies in maize endosperm. *Plant Physiology*, 62:256.
- Lee J., Durst R. W., and Wrolstad R. E. 2005. Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*, 88:1269- 1278.
- Lenihan, E., Pollak, L. and White, P. 2005. Thermal properties of starch from exotic-by-adapted corn (*Zea mays* L.) lines grown in four environments. *Cereal Chemistry*, 82:683–689.
- Li, H. C., Liu, Y. B., Cheng, R. X., Sun, X. Z., Wang, Y., Tang, J. H., and Liu, Z. H. 2009. Inheritance effect of protein content in maize kernels and its relation to yield. *Acta Agronomica Sinica*, 35:755–760.
- Li, J. S. and Vasal, S. K. 2004. MAIZE: Quality protein maize. In Wrigley, C., Corke, H. and Walker, C. (eds) *Encyclopedia of Grain Science*. Oxford: Elsevier.
- Li, J., Berke, T. G., and Glover, D. V. 1994. Variation for thermal properties of starch in tropical maize germ plasm. *Cereal Chemistry*, 71:87-90.
- Li, J., Walker, E. C., and Faubion, M. J. 2011. Acidulant and oven type affect total anthocyanin content of blue corn cookies. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91:38-43.
- Li, W., Pickard, M. D. and Beta, T. 2007. Effect of thermal processing on antioxidante properties of purple wheat bran. *Food Chemistry*, 104: 1080-1086.
- Ligarreto, M. G., Ballén, P. A. y Huertas, B. D. 1998. Evaluación de las características cuantitativas de 25 accesiones de maíz (*Zea mays* L.) de la zona andina. *Revista Corpoica*, 2:2.
- Lin L., Guo D., Zhao L., Zhang X., Wang J., Zhang F. and Wei, C. 2016. Comparative structure of starches from high-amylose maize inbred lines and their hybrids. *Food Hydrocolloids*, 52: 19-28.

- Liu, H., Yu, L., Simon, G., Dean, K., and Chen, L. 2009. Effects of annealing on gelatinization and microstructures of corn starches with different amylose/amylopectin ratios. *Carbohydrate Polymers*, 77:662–669.
- Liu, P., Guo, W., Jiang, Z., and Pu, H. 2011. Effects of high temperature after anthesis on starch granules in grains of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Agricultural Science*, 149:159–169.
- Liu, Q. and Thompson, D.B., 1998. Effect of moisture content and different gelatinization heating temperatures on retrogradation of waxy-type maize starches. *Carbohydrate Research*, 314: 221–235
- Lloyd, B. J., Siebenmorgen, T. J. and Beers, K. W. 2000. Effect of commercial processing on antioxidants in rice bran. *Cereal Chemistry*, 77:551-555.
- Lonnquist, J. H. 1964. Modification of the ear-to-row procedure for the improvement of maize populations. *Crop Science*, 4:227-228.
- Lonnquist, J.H. and Gardner, C.O. 1961. Heterosis in intervarietal crosses in maize and its implication in breeding procedures. *Crop Science*, 1:179-183.
- Lopes, M.A. and Larkins, B.A., 1991. Gamma-zein content is related to endosperm modification in quality protein maize. *Crop Science*, 31:1655–1662.
- Lopez-Alarcóna, C. and Denicola, A. 2013. Evaluating the antioxidant capacity of natural products: a review on chemical and cellular-based assays. *Analytica Chimica Acta*, 763:1-10.
- Lopez-Martinez, L. X., Oliart-Ros, R. M., Valerio-Alfaro, G., Lee, C. H., Parkin, K. L., and Garcia H. S. 2009. Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *LWT Food Science and Technology*, 42: 1187–1192
- Lopez-Martinez, L., Parkin, K. and Garcia, H. 2011. Phase II-Inducing, Polyphenols content and Antioxidant Capacity of Corn (*Zea mays* L.) from Phenotypes of White, Blue, Red and Purple Colors Processed into Masa and Tortillas. *Plant Foods for Human Nutrition*, 66:41–47.
- Loy, D. D. and Wright, K. 2003. Nutritional properties and feeding value of corn and its by-products. In White, P. J. and Johnson, L. A. (eds). *Corn: Chemistry and Technology*. St Paul, MN: AACC International, Inc.
- Lu, D. L., and Lu, W. P. 2013. Effects of heat stress during grain filling on the functional properties of flour from fresh waxy maize. *Cereal Chemistry*, 90:65–69.
- Lu, D. L., Sun, X., Yan, F., and Wang, X. 2013. Effects of high temperature during grain filling under control conditions on the physicochemical properties of waxy maize flour. *Carbohydrate Polymers*, 98:302–310.
- Lu, D., Yang, H., Shen, X. and Lu, W. 2016. Effects of high temperature during grain filling on physicochemical properties of waxy maize starch. *Journal of Integrative Agriculture*, 15: 309–316.
- Lu, T. J., Jane, J. L., Keeling, P. L., and Singletary, G. W. 1996. Maize starch fine structures affected by ear developmental temperature. *Carbohydrate Research*, 282:157–170.
- Maillard, M. N. and Berset, C. 1995. Evolution of antioxidant activity during kilning: Role of insoluble bound phenolic acids of barley and malt. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43:1789-1793.

- MAIZAR. 2011. El maíz, primero en el mundo. <http://www.maizar.org.ar/vertext.php?id=392> (15 de mayo de 2017).
- MAIZAR. 2013. La cadena del maíz y las oportunidades para desarrollo en Argentina. Disponible en <http://www.maizar.org.ar/vertext.php?id=425> (15 de junio de 2017).
- Malumba, P., Vanderghem, C., Deroanne, C., and Béra, F. 2008. Influence of drying temperature on the solubility, the purity of isolates and the electrophoretic patterns of corn proteins. *Food Chemistry*, 111:564–572.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., and Jiménez, L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79: 727–47.
- Manjarrez-Salgado, M., Palemón-Alberto, F., Gómez-Montiel, N. O., Espinosa-Calderón, A., Rodríguez-Herrera, S. A., Nava, A. D, Hernández-Castro, E. y Cruz-Lagunas, B. 2014. Aptitud combinatoria general y específica de maíces normales y de alta calidad de proteína. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5:1261-1273.
- Mapes-Sánchez, C. y Mera-Ovando, L. M. 2009. Manejo de la diversidad. En: Origen y Diversificación del Maíz: Una Revisión Analítica. Kato, T. A., Mapes, C., Mera, L. M., Serratos, J. A. y Bye, R. A (eds). Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Ed. Apolo, S.A. de C.V. D.F., México, pp 83-86.
- Marín-Gómez, L. F. 2008. Evaluación agronómica de variedades comerciales de maíz (*Zea mays*, L.) en relación a sus ciclos de maduración. Tesis de Grado. Ingeniería Técnica Agrícola en la Escuela Universitaria Politécnica de La Almunia de D<sup>a</sup> Godina. Zaragoza, España, 93 pp.
- Marshall, J. J. and Whelan, W. J. 1974. Multiple branching in glycogen and amylopectin. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 161:234–238.
- Martínez, M., Ortiz, R., Ríos, H. y Acosta, R. 2010. Análisis de las correlaciones en poblaciones cubanas de maíz. *Cultivos Tropicales*, 31:82-91.
- Martínez-Alvarez, D. 2015. Ecofisiología del cultivo de maíz. En: El cultivo de maíz en San Luis. Garay, J. A. y Colazo, J. C., (eds). INTA San Luis, Ediciones. San Luis, Argentina, pp 7-31.
- Matsuzoe, N., Yamaguchi, M., Kawanobu, S., Watanabe, Y., Higashi, H. and Sakata, Y. 1999. Effect of dark treatment of the eggplant on fruit skin color and its anthocyanin components. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 68:138-145.
- Matveev, Y.I., Van Soest, J.J.G., Nieman, C., Wasserman, L.A., Protserov, V.A., Ezernitskaja, M., and Yuryev, V.P. 2001. The relationship between thermodynamic and structural properties of low and high amylose maize starches. *Carbohydrate Polymers*, 44:151-160.
- Maulik, N., McFadden, D., Otani, H., Thirunavukkarasu, M. and Parinandi, N. L. 2013. Antioxidants in longevity and medicine. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Article ID 820679, 3 pp.
- Medina, I., Gallardo, J.M., González, M.J., Lois, S., and Hedges, N. 2007. Effect of molecular structure of phenolic families as hydroxycinnamic acids and catechins on their antioxidant effectiveness in minced fish muscle. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 55:89–95.
- Melesio-Cuéllar, J. L., Preciado-Ortiz, R. E., Terrón-Ibarra, A. D., Vázquez-Carrillo, M. G., Herrera-Macías, P., Amaya-Guerra, C. A. y Serna-Saldívar, S. O. 2008. Potencial

- productivo, propiedades físicas y valor nutrimental de híbridos de maíz de alta calidad proteínica. *Agricultura Técnica en México*, 34:225-233.
- Méndez-Montealvo, G., Sanchez-Rivera, M. M., Paredes-Lopez, O. and Bello-Perez, L. A. 2006. Thermal and rheological properties of nixtamalized maize starch. *International Journal of Biological Macromolecules*, 40:59–63.
- Méndez-Montealvo, G., Solorza-Feria, J., Velázquez del Valle, M., Gómez-Montiel, N., Paredes-López, O., and Bello-Pérez, L. 2005. Chemical composition and calorimetric characterization of hybrids and varieties of maize cultivated in México. *Agrociencia*, 39:267-274.
- 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, México*, 22:153-162.
- Mera-Ovando, L M. 2009. Diversificación y distribución reciente del maíz en México. En: *Origen y Diversificación del Maíz: Una Revisión Analítica*. Kato, T. A., Mapes, C., Mera, L. M., Serratos, J. A. y Bye, R. A (eds). Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Ed. Apolo, S.A. de C.V. D.F., México, pp 69-81.
- Mertz, E. 1970. Nutritive value of corn and its products. *In* Inglett, G. (ed.) *Corn: Culture, Processing, Products*. Westport, CT: AVI.
- Mertz, E.T., Bates, L.S., and Nelson, O.E., 1964. Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. *Science*, 145:279–280.
- Mertz, E.T., Hassen, M.M., Cairns-Whittern, C., Kirleis, A.W., Tu, L. and Axtell, J.D. 1984. Pepsin digestibility of proteins in sorghum and other major cereals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 81: 1–2.
- Meyer, K. 1985. Maximum likelihood estimation of variance components for a multivariate mixed model with equal design matrices. *Biometrics*, 41:153-165.
- Miller, H. E., Rigelhof, F., Marquart, L., Prakash, A., and Kanter, M. 2000. Antioxidant content of whole grain breakfast cereals, fruits and vegetables. *American Journal of Clinical Nutrition*, 19:312–319.
- Mora-Avilés, A., Lemus-Flores, B., Miranda-López, R., Hernández-López, D., Pons-Hernández, J. L., Acosta-Gallegos, J. A., and Guzmán-Maldonado, S. H. 2007. Effects of common bean enrichment on nutritional quality of tortillas produced from nixtamalized regular and quality protein maize flours. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87:880-886.
- Mora-Rochín, S., Gaxiola-Cuevas, N., Gutiérrez-Urbe, J. A., Milán-Carrillo, J., Milán-Noris, E. M., Reyes-Moreno, C., Serna-Saldivar, S. O. and Cuevas-Rodríguez, E. O. 2016. Effect of traditional nixtamalization on anthocyanin content and profile in Mexican blue maize (*Zea mays* L.) landraces. *LWT Food Science and Technology*, 68:563-569.
- Morrison, W. R. 1978. Wheat lipid-composition. *Cereal Chemistry*, 55: 548–558.
- Morrison, W. R. 1988. Lipids in cereal starches: a review. *Journal of Cereal Science*, 8:1-15.
- Morrison, W. R. and Milligan, T. P. 1982. Lipids in maize starch. *In* Inglett, G. E. (ed.) *Recent Progress in Chemistry and Technology*. New York: Academic Press.
- Morrison, W. R., Milligan, T. P. and Azudin, M. N. 1984. A relationship between the amylose and lipid contents of starches from diploid cereals. *Journal of Cereal Science*, 2: 257–271.

- Motto, M., Di Fonzo, N., Hartings, H., Maddaloni, M., Salamini, F., Soave, C. and Thompson, R. 1989. Regulatory genes affecting maize storage protein synthesis. *Oxford Survey, Plant Molecular and Cellular Biology*, 6:87-114.
- Motto, M., Hartings, H., Maddaloni, M., Lohmer, S., Salamini, F. and Thompson, R. 1996. Genetic manipulations of protein quality in maize grain. *Field Crops Research*, 45:37-48.
- Mu-Forster, C. and Wasserman, B. P. 1998. Surface localization of zein storage proteins in starch granules from maize endosperm. Proteolytic removal by thermolysin and in vitro cross-linking of granule-associated polypeptides. *Plant Physiology*, 116: 1563–1571.
- Munaro, E. M., Eyhéabide, G.H., D’Andrea, K.E., Cirilo, A.G. and Otegui, M.E. 2011. Heterosis×environment interaction in maize: What drives heterosis for grain yield?. *Field Crops Research*, 124:441–449.
- Murphy, D. 2007. *Plant Breeding and Biotechnology: Societal Context and the Future of Agriculture*; Cambridge University Press: New York, NY, USA.
- Naqvi S., Ramessar K., Farré G., Sabalza M., Miralpeix B., Twyman R., Capell T., Zhu C. and Christou P. 2011. High-value products from transgenic maize. *Biotechnology Advances*, 29: 40–53.
- Narváez, G.D.E., Figueroa J. D., Taba S., Tostado R.A y Martínez P. 2007. Aspectos microestructurales y posibles usos del maíz de acuerdo con su origen geográfico. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30:321-325.
- Narváez-González, D. E., Figueroa-Cárdenas, J. D., Taba, S., and Rincón, S. F. 2006. Kernel microstructure of Latin American races of maize and their thermal and rheological properties. *Cereal Chemistry*, 83: 605-610.
- Nazar, M. C., Santiago, A., Mansilla, P., Quiroga, N., Biasutti, C., de la Torre, V., Pérez, G., Casas, M. E., Cravero Banegas, M., Rodríguez, V., Giordano, A., Rodríguez, N., Aimar, B., Uranga, J, Cingolani, M., y Volonte, M. 2014. *Agricultura, Alimentación, Nutrición: Estrategias de seguridad alimentaria, para el desarrollo local y sustentable en las escuelas rurales periurbanas cordobesas. Proyecto subsidiado por Secretaría de Extensión Universitaria. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.*
- Nazar, M.C. y Quiroga N. Colaboradores: Mansilla, P.; Camiletti, B.; Cravero Banegas, M.; Perrachione, M. 2012. *Maíces Especiales: Saberes y Sabores. Ed. Universidad Nacional de Córdoba. 62 pp.*
- Nelles, E. M, Dewar, J., Bason, M. L. and Taylor, R. N. 2000. Maize Starch Biphasic Pasting Curves. *Journal of Cereal Science*, 31: 287–294.
- Ng, K.-Y., Pollak, L. M., Duvick, S. A., and White, P. J. 1997a. Thermal properties of starch from 62 exotic maize (*Zea mays L.*) lines grown in two locations. *Cereal Chemistry*. 74:837–841.
- Ng, K.-Y., Pollak, L. M., Duvick, S. A., and White, P. J. 1997b. Thermal properties of starch from selected maize (*Zea mays L.*) mutants during development. *Cereal Chemistry*, 74:288–292.
- Ng, P. K. and 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.

- Ngaboyisonga, C., Njoroge, K., Kirubi, D., and Githiri, S.M., 2008. Effects of field conditions, low nitrogen and drought on genetic parameters of protein and tryptophan concentration in grain of quality protein maize. *International Journal of Plant Production*, 2:137–152.
- Norton, R. A. 1999. Inhibition of aflatoxin B1 biosynthesis in *Aspergillus flavus* by anthocyanidins and related flavonoides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47:1230-1235.
- Nowotnaa, A., Gambus, H., Kratsch, G., and Krawontka, J. 2007. Effect of nitrogen fertilization on the physico-chemical properties of starch isolated from german triticale varieties. *Starch*, 59:397–399.
- Nuss, E.T. and Tanumihardjo, S.A. 2010. Maize: a paramount staple crop in the context of global nutrition. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9:417-436.
- Oboh, G., Ademiluyi, A. O., and Akindahunsi, A. A. 2010. The effect of roasting on the nutritional and antioxidant properties of yellow and white maize varieties. *International Journal of Food Science and Technology*, 45:1236-1242.
- Oikeh, S. O., Menkir, A., Maziya-Dixon, B., Welch, R. and Glahn, R. P. 2003. Genotypic differences in concentration and bioavailability of kernel-iron in tropical maize varieties grown under field conditions. *Journal of Plant Nutrition*, 26:2307–2319.
- Oliveira, G. and Rodriguez-Amaya, D. 2007. Processed and prepared corn products as sources of lutein and zeaxanthin: compositional variation in the food chain. *Journal of Food Science*. 72:S079-S085.
- Ordas, B., Butron, A., Alvarez, A., Revilla, P. and Malvar, R. A. 2012. Comparison of two methods of reciprocal recurrent selection in maize (*Zea mays* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 124:1183–1191.
- Oria, M.P., Hamaker, B.R. and Shull, J.M. 1995. Resistance of sorghum  $\alpha$ -,  $\beta$ -, and  $\gamma$ -kafirins to pepsin digestion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43: 2148-2153.
- 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 subtrópico de México. Ed. INIFAP. Folleto Técnico No. 41:4-15.
- Ortega, E. L., Villegas, E., and Vassal, S. K. 1986. A comparative study of protein changes in normal and quality protein maize during tortilla making. *Cereal Chemistry*, 63:446-451.
- Ortega-Paczka, R. 2003. La diversidad del maíz en México. En: Esteva, G., y C. Marielle (Coordinadores). Sin maíz no hay país. Consejo Nacional para la Cultura y las Artes, Dirección General de Culturas Populares e Indígenas, México, D. F. pp. 123-154.
- Ortiz-Martinez, M., Otero-Pappatheodorou, J. T., Serna-Saldívar, S. O. and García-Lara, S. 2017. Antioxidant activity and characterization of protein fractions and hydrolysates from normal and quality protein maize kernels. *Journal of Cereal Science*, 76: 85-91.
- Ortiz-Monasterio, J. I., Palacios-Rojas, N., Meng, E., Pixley, K., Trethowan, R. and Peña, R. J. 2007. Enhancing the mineral and vitamin content of wheat and maize through plant breeding. *Journal of Cereal Science*, 46:293–307.
- Osborne, T. B. 1924. *The Vegetable Proteins*, 2nd ed. Longmans, Green, and Co., London, UK.
- Ozturk, S.; Koxsel, H. and Ng, P. K. W. 2009. Characterization of resistant starch samples prepared from two high-amylose maize starches through debranching and heat treatments. *Cereal Chemistry*, 86: 503-510.

- Pandey, S and Gardner, C. O. 1992. Recurrent selection for population, variety, and hybrid improvement in tropical maize. *Advances in Agronomy*, 48: 1-87.
- Pandey, S., Narro-Leon, L. A., Friesen, D.K. and Waddington, S.R. 2007. Breeding maize for tolerance to soil acidity. *Plant Breeding Reviews*, 28: 59-100.
- Panozzo, J. F., and Eagles, H. A. 1998. Cultivar and environmental effects on quality characters in wheat. I. Starch. *Australian Journal of Agricultural Research*, 49:757-766.
- Paredes, O., Guevara, F., y Bello-Pérez, L. A. 2009. La nixtamalización y el valor nutritivo del maíz. *Ciencias*, 92:60-70.
- Paredes-López, O., and Mora, R. M. 1983. Influence of storage on the quality of maize meal for tortilla making. *Journal of Food Technology*, 18:53-57.
- Park, E. Y., Baik, B. K., and Lim, S. T. 2009. Influences of temperature-cycled storage on retrogradation and *in vitro* digestibility of waxy maize starch gel. *Journal of Cereal Science*, 50:43-48.
- Pascual-Teresa, S., Santos-Buelga, C. and Rivas-Gonzalo, J. C. 2002. LC-MS analysis of anthocyanins from purple corn cob. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82:1003-1006.
- Paterniani, E. 1990. Maize breeding in the tropics. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 9: 125-154.
- Patterson, J. I., Brown, R. R., Linkswiter, H., and Harper, A. E. 1980. Extraction of tryptophan-tryptophan metabolites by young men: effect of tryptophan, leucine and vitamin B6 intakes. *American Journal of Clinical Nutrition*, 33:2157-2167.
- Paulis, J. W. 1982. Recent developments in corn protein research. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30:14-20.
- Paulis, J. W., and Wall, J. S. 1969. Albumins and globulins in extracts of corn grain parts. *Cereal Chemistry*, 46: 263-273.
- Paulis, J. W., Wall, J. S., and Kwolek, W. F. 1974. A rapid turbidimetric analysis for zein in corn and its correlation with lysine content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 22:313-317.
- Percival, M. 1998. Antioxidants. *Clinical Nutrition Insights*, 10: 1-4.
- Peredo, E. 2005. El maíz en América Latina: Contaminación del centro de origen del maíz. Recuperado de <http://www.voltairenet.org/article126401.html> (17 de junio 2017).
- Pereira, R. C., Davide, L. C., Pedrozo, C.A., Carneiro, N.P., Souza, I.R.P., and Paiva, E. 2008. Relationship between structural and biochemical characteristics and texture of corn grains. *Genetics and Molecular Research*, 7: 498-508.
- Pérez, S., Baldwin, P. M. and Gallant, D. J. 2009. Structural Features of Starch Granules I. Pages 149-188 *In Starch: Chemistry and Technology*, 3rd. ed. J. BeMiller and R. Whistler, eds. Academic Press: USA.
- Pesantes-Vera, M. y Rodríguez-Soto, J. 2011. Efecto de la selección recurrente simple sobre caracteres de interés agronómico en una población original de maíz morado adaptada a condiciones de costa de la provincia de Trujillo, Perú. *Revista REBIOL de la Universidad Nacional de Trujillo, Perú*, 31: 1-8.
- Petzke, K. J., Schuppe, S., Rohn, S., Rawel, H. M., and Kroll, J. 2005. Chlorogenic acid moderately decreases the quality of whey proteins in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53:3714-3720.

- Phiri, M.A., Mekuria, M and Banziger, M. 2003. Assessment of smallholder farmers' utilization of improved maize seed in the SADC region: A study of Malawi, Tanzania, Zambia and Zimbabwe. Southern African Drought and Low Fertility Project (SADLF), Harare, Zimbabwe: CIMMYT.
- Pineda-Hidalgo, K. V, Lavin-Aramburo, M., Salazar-Salas, N. Y., Chavez-Ontiveros, J., Reyes-Moreno, C., Muy-Rangel, M. D., Larkins, B. A, and Lopez-Valenzuela, J. A. 2011. Characterization of free amino acid QTLs in maize *opaque2* recombinant inbred lines. *Journal of Cereal Science*, 53: 250-258.
- Pisoschi, A. M. and Pop, A. 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97: 55-74.
- Pixley K. V. 2006. Hybrid and Open-Pollinated Varieties in Modern Agriculture. En: *Plant Breeding: The Arnel R. Hallauer International Symposium*. Lamkey, K. R; Lee, M., (eds.). Blackwell Publishing, USA, pp. 234-250.
- Pixley, K., and M. Banziger. 2004. Open-pollinated maize varieties: A backward step or valuable option for farmers? In: Friesen, D.K., and Palmer, A.F.E. (eds.), *Integrated approaches to higher maize productivity in the new millennium: Proceedings of the seventh Eastern and Southern Africa Regional Maize Conference, 5–11 February 2002, Nairobi, Kenya*. CIMMYT (International Maize and Wheat Improvement Center) and KARI (Kenya Agricultural Research Institute). pp. 22–28.
- Pixley, K.V. and Bjarnason, M.S. 1993. Combining ability for yield and protein quality among modified-endosperm *opaque-2* tropical maize inbreds. *Crop Science*, 33:1229–1234.
- Pixley, K.V. and Bjarnason, M.S. 2002. Stability of grain yield, endosperm modification and protein quality of hybrid and open-pollinated quality protein maize (QPM) cultivars. *Crop Science*, 42:1882–1890.
- Podio, N.S., Baroni, M.V. and Wunderlin, D.A. 2017. Relation between polyphenol profile and antioxidant capacity of different Argentinean wheat varieties. 2017. A Boosted Regression Trees study, *Food Chemistry*, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.123>
- Poehlman, J. M., and Sleper, D. A. 1995. Quantitative inheritance in plant breeding. Pages 60-84 *In* *Breeding Field Crops*, 4th Ed. Iowa State University Press: Ames, IA.
- Poljsak, B., Suput, D. and Milisav, I. 2013. Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Article ID 956792, pp 11.
- Popcorn Board. 2016. Maíz Pisingallo. Andreoli S.A. <http://www.andreolisa.com.ar/maiz.html> (07/07/2016).
- Prasad, P. V., Staggenborg, S. A., and Ristic, Z. 2008. Impacts of drought and/or heat stress on physiological, developmental, growth, and yield processes of crop plants. In response of crops to limited water, understanding and modeling water stress effects on plant growth processes. *In* Ahuja L. H., Saseendran S. A., eds., *Advances in Agricultural Systems Modeling Series*. ASA-CSSA: Madison, WI, USA. pp. 301–355.
- Prasanna, B. M., Vasal, S. K., Kassahun, B., and Singh, N. N. 2001. Quality protein maize. *Current Science*, 81:1308-1319.
- Pressoir, G. and Berthaud, J. 2004. Population structure and strong divergent selection shape phenotypic diversification in maize landraces. *Heredity*, 92:95-101.
- Raboy, V. 2003. myo-Inositol-1,2,3,4,5,6-hexakisphosphate. *Phytochemistry*, 64:1033–1043.

- Ragae, S., and Abdel-Aal, E. 2006. Pasting properties of starch and protein in selected cereals and quality of their food products. *Food Chemistry*, 95: 9–18.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. and Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26: 1231–1237.
- Regina, A., Bird, A., Topping, D., Bowden, S., Freeman, J., Barsby, T., Kosar-Hashemi, B., Li, Z., Rahman, S. and Morell, M. 2006. High-amylose wheat generated by RNA interference improves indices of large-bowel health in rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103:3546-3551.
- Reich, V.H. and Atkins, R.E. 1970. Yield stability of four population types of grain sorghum, *Sorghum bicolor* (L.) Moench, in different environments. *Crop Science*, 10:511–517.
- Reiners, R. A. and Gooding, C. M. 1970. Corn oil. In Inglett, G. (ed.) *Corn: Culture, Processing, Products*. Westport, CT: AVI.
- Rendon-Villalobos, R., Bello-Perez, L. A., Osorio-Diaz, P., Tovar, J. and Paredes-Lopez, O. 2002. Effect of storage time on *in vitro* digestibility and resistant starch content of nixtamal, masa, and tortilla. *Cereal Chemistry*, 79: 340–344.
- Reyes-Moreno, C., Milán-Carrillo, J., Gutiérrez-Dorado, R., Paredes-López, O., Cuevas-Rodríguez, E. O, and Garzón-Tiznado, J. A. 2003. Instant flour from quality protein maize (*Zea mays* L). Optimization of extrusion process. *LWT Food Science and Technology*, 36:685–695.
- Ribnicky, D. M., Roopchand, D. E., Poulev, A., Kuhn, P., Oren, A., Cefalu, W. T., and Raskin, I. 2014. *Artemisia dracunculus* L. polyphenols complexed to soy protein show enhanced bioavailability and hypoglycemic activity in C57BL/6 mice. *Nutrition*, 30:S4–S10.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., and Paganga, G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of xavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20:933–956.
- Riley, P.A. 1994. Free radicals in biology: oxidative stress and the effects of ionizing radiation. *International Journal of Radiation Biology*, 65:27-33.
- Robutti, J. L. 2004. Calidad y usos del maíz. *Revista de información sobre investigación y desarrollo agropecuario*, Idia XXI 6:100-104.
- Robutti, J. L. 2010. *Calidad y Usos del Maíz*. INTA Pergamino, Buenos Aires. Extraído de *Maíz: Cadena de Valor Agregado. Alternativas de transformación e industrialización*. Disponible en: <http://www.cosechaypostcosecha.org/data/folleto/FolletoMaizConValorAgregado.pdf> (26 de febrero de 2015).
- Robutti, J., Borrás, F., Ferrer, M., Percibaldi, M., and Knutson, A. 2000. Evaluation of quality factors in Argentine maize races. *Cereal Chemistry*, 77: 24–26.
- Robutti, J.L, Hosney, R.C and Wassom, C.E. 1974. Modified *opaque-2* corn endosperms. II. Structure viewed with a scanning electron microscope. *Cereal Chemistry*, 51: 173-179.
- Rodriguez-Nogales, J. M., Garcia, M. C. and Marina, M. L. 2006. High-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis for the analysis of maize proteins. *Journal of Separation Science*, 29:197-210.
- Rojas, M. y Jiménez, K. 1986. Prueba de aptitud combinatoria general en líneas de maíz de alta calidad proteínica. *Agronomía Costarricense*, 10:29-32.

- Rojas-Molina, I., Gutiérrez, E., Cortés-Acevedo, M. E., Falcón, A., Bressani, R., Rojas, A., Ibarra, C., Pons-Hernández, J. L., Guzmán-Maldonado, S. H., Cornejo-Villegas, A. and Rodríguez, M. E. 2008. Analysis of quality protein changes in nixtamalized QPM flours as a function of the steeping time. *Cereal Chemistry*, 85:409–416.
- Romo, M., Mize, C. and Warfel, K. 2008. Addition of Hi-maize, natural dietary fiber, to a commercial cake mix. *Journal of the American Dietetic Association*, 108, A-76.
- Rooney, L. W. and Serna-Saldivar, S. O. 2003. Food use of whole corn and dry-milled fractions. *In* White, P. J. and Johnson, L. A. (eds.) *Corn: Chemistry and Technology* (2nd edn). St Paul, MN: AACC, Inc.
- Roostaei, M., Mohammadi, R., and Amri, A. 2014. Rank correlation among different statistical models in *ranking* of winter wheat genotypes. *The Crop Journal*, 2:154–163.
- Rossi D. 2007. Evolución de los cultivares de maíz utilizados en la Argentina. *Revista Agromensajes de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario*. Recuperado de <http://www.fcagr.unr.edu.ar/Extension/Agromensajes/22/1AM22.htm>. (25 de mayo de 2017).
- Ruíz-Torres, N.A., Rincón-Sánchez, F., Hernández-López, V.M., Figueroa-Cárdenas, J.D. and Loarca-Piña, M. G. 2008. Determinación de compuestos fenólicos y su actividad antioxidante en granos de maíz. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 31: 29-34.
- Russell, P. L., Berry, C. S, and Greenwell, P. 1989. Characterisation of Resistant Starch from Wheat and Maize. *Journal of Cereal Science*, 9:1-15.
- Sajilata, M. G., Singhal, R. S. and Kulkarni, P. R. 2006. Resistant starch—a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5:1–17.
- Salazar-Salas, N. Y., Pineda-Hidalgo, K. V, Chavez-Ontiveros, J., Gutierrez-Dorado, R., Reyes-Moreno, C., Bello-Pérez, L. A., Larkins, B. A., and Lopez-Valenzuela, J. A. 2014. Biochemical characterization of QTLs associated with endosperm modification in quality protein maize. *Journal of Cereal Science*, 60:255-263.
- Salinas-Moreno, Y., Cruz-Chávez, F. J., Díaz-Ortiz, S. A. y Castillo-González, F. 2012. Granos de maíces pigmentados de Chiapas, características físicas, contenido de antocianinas y valor nutracéutico. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 35: 33-41.
- Salinas-Moreno, Y., Soria R. J. y Espinosa T. E. 2010. Aprovechamiento y Distribución de Maíz Azul en el Estado de México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Folleto Técnico No 42.
- Salinas-Moreno, Y.; García, C.; Coutiño, B. y Vidal, V. 2013. Variabilidad en contenido y tipos de antocianinas en granos de color azul/morado de poblaciones mexicanas de maíz. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36: 285-294.
- Salman, H. and Copeland, L. 2010. Effect of repeated heating and cooling cycles on the pasting properties of starch. *Journal of Cereal Science*, 51:105–109.
- Sánchez, J. J., Goodman, M. M. and Stuber, C. W. 2000. Isozymatic and morphological diversity in the races of maize of Mexico. *Economical Botany*, 54:43-59.
- Sánchez-Madrigal, M. A., Quintero-Ramos, A., Martínez-Bustos, F., Meléndez-Pizarro, C. O., Ruiz-Gutiérrez, M. G. and Camacho-Dávila, A. 2015. Effect of different calcium sources on the bioactive compounds stability of extruded and nixtamalized blue maize flours. *Journal of Food Science and Technology*, 52:2701-2710.

- Sanders, E. B., Thompson, D. B, and Boyer, C. D. 1990. Thermal behavior during gelatinization and amylopectin fine structure for selected maize genotypes as expressed in four inbred lines. *Cereal Chemistry*, 67:594-602.
- Sandhu K. S., Singh N., and Kaur, M. 2004. Characteristics of the different corn types and their grain fractions: physicochemical, thermal, morphological, and rheological properties of starches. *Journal of Food Engineering*, 64: 119-127.
- Sandhu, K. S., and Singh, N. 2007. Some properties of corn starches II: physicochemical, gelatinization, retrogradation, pasting and gel textural properties. *Food Chemistry*, 101:1499-1507.
- Sandoval-Aldana, A., Rodríguez-Sandoval, E. and Fernandez-Quintero, A. 2005. Application of analysis by Differential Scanning Calorimetry (DSC) for the characterization of the modifications of the starch. *Dyna*, 72: 45-53.
- Sandstead, H. H., Munoz, J. M., Jacob, R. A., Klevay, L. M., Reck, S. J., Logan, G. M., Dintzis, F. R., Inglett, G. E. and Shuey, W. C. 1978. Influence of dietary fiber on trace-element balance. *American Journal of Clinical Nutrition*, 31:S180–S184.
- Sang, Y. J., Bean, S., Seib, P. A., Pedersen, J. and Shi, Y. C. 2008. Structure and functional properties of sorghum starches differing in amylose content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 6680-6685.
- Santa Rosa, R.H.; Muñoz, A.G.; Santacruz Varela, A.; López Sánchez, H.; López, P.A. y Colín, S.M. 2012. Diversidad fenotípica de maíces nativos del Altiplano centro-oriente del estado de Puebla, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 35: 97–109.
- Sathaporn, S. and Jane, J.L. 2007. Physicochemical properties of starch affected by molecular composition and structures: a review. *Food Science and Biotechnology*, 16: 663–674.
- Saunders, R. M., Walker, H. G. and Kohler, G. O. 1969. Aleurone cells and the digestibility of wheat mill feeds. *Poultry Science*, 48:1497–1503.
- Schaeffer L. R, Wilton, J. W., and Thompson, R. 1978. Simultaneous estimation of variance and covariance components from multitrait mixed model equations. *Biometrics*, 34:199-208.
- Schmidt, R.J., Ketudat, M., Aukerman, M.J. and Hoschek, G. 1992. *Opaque-2* is a transcriptional activator that recognizes a specific target site in 22-kd-zein genes. *Plant Cell*, 4:689–700.
- Schnell, F.W. and Becker, H.C. 1986. Yield and yield stability in a balanced system of widely differing population structures in *Zea mays* L. *Plant Breeding*, 97:30–38.
- Scriber, J.M. 2001. Bt or not Bt: Is that the question?. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98:12328-12330.
- Seetharaman, K., Tziotis, A., Borrás, F., White, P. J., Ferrer, M., and Robutti, J. 2001. Thermal and functional characterization of starch from Argentinean corn. *Cereal Chemistry*, 78: 379–386.
- SENASA. 2017. Exportación de maíz pisingallo. <http://www.senasa.gob.ar/cadena-vegetal/cereales/industria/establecimientos/exportacion-de-maiz-pisingallo> (08/08/2017).
- Serna-Saldivar, S. O. 2010. *Cereal Grains: Properties, Processing, and Nutritional Attributes*. CRC Press: Boca Raton, FL, 796 pp.
- Serna-Saldivar, S. O., Canett, R., Vargas, J., González, M., Bedolla, S., and Medina, C. 1988. Effect of soybean and sesame addition on the nutritional value of maize and decorticated sorghum tortillas produced by extrusion cooking. *Cereal Chemistry*, 65:44-48.

- Serna-Saldivar, S.O., Amaya Guerra, C.A., Herrera Macias, P., Melesio Cuellar, J.L., Preciado Ortiz, R.E., Terron Ibarra, A.D., and Vazquez Carrillo, G., 2008. Evaluation of the lime-cooking and tortilla making properties of quality protein maize hybrids grown in Mexico. *Plant Foods for Human Nutrition*, 63:119-125.
- Serratos-Hernández, J. A. 2009. El origen y la diversidad del maíz en el continente americano. Universidad Autónoma de la Ciudad de México para Greenpeace México. 33 pp.
- Setchell, K. D. R., and Aedin, C. 1999. Dietary isoflavones: biological effects and relevance to human health. *Journal of Nutrition*, 129:758–767.
- Shahidi, F., and Naczki, M. 1995. Phenolic Compounds in grains. In *Food Phenolics: Sources, chemistry, effects, applications*; Technomic Publishing Company Inc: Lancaster, PA, pp 3-39.
- Shan, B., Cai, Y.Z., Sun, M. and Corke, H. 2005. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 7749–7759.
- Shewry, P. T. 2007. Improving the protein content and composition of cereal grain. *Journal of Cereal Science*, 46:239–250.
- Shull, G.H. 1909. A pure-line method of corn breeding. *American Breeders Association*, 5: 51-59.
- Simmonds, D.H, Barlow, K.K. and Wrigley, C.W. 1973. The biochemical basis of grain hardness in wheat. *Cereal Chemistry*, 50: 553-562.
- Slade, A. J., McGuire, C., Loeffler, D., Mullenberg, J., Skinner, W., Fazio, G., Holm, A., Brandt, K., Steine, M. N., Goodstal, J. F. and Knauf, V. C. 2012. Development of high amylose wheat through TILLING. *BMC Plant Biology*, 12:69.
- Smith, D.A. and Banks, S.W. 1986. Formation and biological properties of isoflavonoid phytoalexins. In Cody, V, Middleton, E and Harborne, J.B. (eds). *Plant Flavonoids in Biology and Medicine: Biochemical, Pharmacological, and Structure-Activity Relationships*. New York. Alan R. Liss, pp 113-124.
- Smith, J. S. and Smith, O. S. 1989. The description and assessment of distance between inbred lines of maize: I. The use of morphological traits as descriptors. *Maydica*, 34:141-150.
- Smith, M., Seiter, S., Mt. Pleasant, J. and Kutka, F. 2003. Performance of open-pollinated corn varieties for grain and silage production. In *Proceedings of the 58th Northeast Corn Improvement Conference*, Ottawa, ON, Canada, 13–14 February 2003. Reid, L. (ed.). Agriculture and Agri-Food Canada: Ottawa, Canada.
- Sodek, 1976. Biosynthesis of lysine and other amino acids in the developing maize endosperm. *Phytochemistry*, 15:1903-1906.
- Somavat, P., Li, Q., Gonzalez de Mejia, E., Liu, W., and Singh, V. 2016. Coproduct yield comparisons of purple, blue and yellow dent corn for various milling processes. *Industrial Crops and Products*, 87:266–272.
- South, J. B., Morrison, W. R. and Nelson, O. E. 1991. A relationship between the amylose and lipid contents of starches from various mutants for amylose content in maize. *Journal of Cereal Science*, 14: 267–278.
- Sprague, G.F. 1955. Corn breeding. In *Corn and Corn Improvement*; Sprague, G.F., Ed.; Academic Press: New York, NY, USA.
- Stapleton, A.E. and Walbot, V. 1994. Flavonoids can protect maize DNA from the induction of ultraviolet radiation damage. *Plant Physiology*, 105:881-889.

- Stojadinovic, M., Radosavljevic, J., Ognjenovic, J., Vesic, J., Prodic, I., Stanic-Vucinic, D., and Velickovic, T. C. 2013. Binding affinity between dietary polyphenols and blactoglobulin negatively correlates with the protein susceptibility to digestion and total antioxidant activity of complexes formed. *Food Chemistry*, 136:1263–1271.
- Sugawara, M., Suzuki, T., Totsuka, A., Takeuchi, M. and Ueki, K. 1994. Composition of corn hull dietary fiber – Zusammensetzung der Rohfaser von Maisschalen. *Starch*, 46: 335-337.
- Tan, S. and Morrison, W. 1979. The distribution of lipids in the germ, endosperm, pericarp and *tip cap* of amylomaize, LG-11 hybrid maize and waxy maize. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 56:531–535.
- Tang, J. H., Ji, H. Q., Liu, Y. B., Zhang, J., Tan, X., Hu, Y. M., and Liu, Z. H. 2011. Inheritance of lysine content in kernel and relationship between lysine content and yield in maize. *Acta Agronomica Sinica*, 37:1585–1591.
- Tang, M., He, X., Luo, Y., Ma, L., Tang, X., and Huang, K., 2013. Nutritional assessment of transgenic lysine-rich maize compared with conventional quality protein maize. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93:1049-1054.
- Tapia, M. E. y Fries, A. M. 2007. Guía de campo de los cultivos andinos. FAO y ANPE. Lima, Perú, pp 69-74.
- Teixeira, E. I., Zhao, G., Ruiter, J., Brown, H., Ausseil, A. G., Meenken, E., and Ewert, F. 2017. The interactions between genotype, management and environment in regional crop modelling. *European Journal of Agronomy*, 88:106–115.
- Tenorio-López, F. A., Mondragón, L. y Pastelín-Hernández, G. 2006. Los flavonoides y el sistema cardiovascular: ¿Pueden ser una alternativa terapéutica?. *Archivos de Cardiología de México*, 54: 76:33-45
- Tester, R. F. 1997. Starch: The polysaccharide fractions. *In* Frazier, P. J., Richmond, P., and Donald, A. M. (eds.), *Starch, Structure and Functionality*. Royal Society of Chemistry, London, UK. pp. 163–171.
- Tester, R. F., and Karkalas, J. 2001. The effects of environmental conditions on the structural features and physico-chemical properties of starches. *Starch*, 53:513–519.
- Thitisaksakul, M., Jiménez, R. C., Arias, M. C. and Beckles, D. M. 2012. Effects of environmental factors on cereal starch biosynthesis and composition. *Journal of Cereal Science*, 56: 67-80.
- Thompson, L. U. 1994. Antioxidant and hormone-mediated health benefits of whole grains. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34:473-497.
- Toda, S. 2011. Polyphenol content and antioxidant effects in herb teas. *Chinese Medicine*, 2:29-31.
- Tomes, D.T. 1998. Heterosis: performance stability, adaptability to changing technology, and foundation of agriculture as a business. *In* Lamkey, K.R., and J.E. Staub (eds.), *Concepts and breeding of heterosis in crop plants*. CSSA Special Publ. No. 25, Crop Science, Soc. Amer., Madison, WI. 127 pp.
- Toyoshi, T. and Kohda, T. 2004. Antihypertensive activity of purple corn color in spontaneously hypertensive rats. *Foods and Food Ingredients Journal of Japan*, 209: 671–679.
- Trombino, S., Serini, S., Di Nicuolo, F., Celleno, L., Andò, S., Picci, N., Calviello, G. and Palozza, P. 2004. Antioxidant effect of ferulic acid in isolated membranes and intact cells:

- Synergistic Interactions with  $\alpha$ -Tocopherol,  $\beta$ -Carotene, and Ascorbic Acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52:2411–2420.
- Tsuda, T., Horio, F., Uchida, K., Aoki, H. and Osawa, T. 2003. Dietary cyanidin 3-O-b-glucoside-rich purple corn color prevents obesity and ameliorates hyperglycemia in mice. *Nutri-Gene Interactions*, 133:2125–2130.
- Uarrota, V. G., Amante, E. R., Demiate, I. M., Vieira, F., Delgadillo, I. and Maraschin, M. 2013. Physicochemical, thermal, and pasting properties of flours and starches of eight Brazilian maize landraces (*Zea mays* L.). *Food Hydrocolloids*, 30:614-624.
- Uriarte-Aceves, P. M., Cuevas-Rodríguez, E. O., Gutiérrez-Dorado, R., Mora-Rochín, S., Reyes-Moreno, C., Puangpraphant, C. and Milán-Carrillo, J. 2015. Physical, compositional, and wet-milling characteristics of Mexican blue maize (*Zea mays* L.) landrace. *Cereal Chemistry*, 92:491-496.
- Urias-Lugo, D. A., Heredia, J. B., Muy-Rangel, M. D., Valdez-Torres, J. B., Serna-Saldívar, S. O. and Gutiérrez-Urbe, J. A. 2015. Anthocyanins and phenolic acids of hybrid and native blue maize (*Zea mays* L.) extracts and their antiproliferative activity in Mammary (MCF7), Liver (HepG2), Colon (Caco2 and HT29) and Prostate (PC3) Cancer Cells. *Plant Foods for Human Nutrition*, 70:193-199.
- Urias-Peraldí, M., Gutiérrez-Urbe, J. A., Preciado-Ortiz, R. E., Cruz-Morales, A. S., Serna-Saldívar, S. O. and García-Lara, S. 2013. Nutraceutical profiles of improved blue maize (*Zea mays*) hybrids for subtropical regions. *Field Crops Research*, 141:69–76.
- USDA. 2017. Informes USDA 2017. Disponible en <http://www.granar.com.ar/listado.asp?tid=8> (14 de abril de 2017)
- Vargas, L. A. 2007. La historia incompleta del maíz y su nixtamalización. *Cuadernos de Nutrición*, 30:97-102.
- Varisi, V. A., Medici, L. O., van der Meer, I., Lea, P. J. and Azevedo, R. A. 2007. Dihydrodipicolinate synthase in opaque and floury maize mutants. *Plant Science*, 173:458–467.
- Vasal, S. K. 2000. The quality protein maize story. *Food and Nutrition Bulletin*, 21:445–450.
- Vasal, S. K., 2001. High quality protein corn. In Hallauer, A.R. (Ed.), *Speciality Corns*. CRC Press, Washington, DC, pp. 85–129.
- Vasal, S.K., Srinivasan, G., Pandey, S., González, C.F., Crossa, J., and Beck, D.L. 1993. Heterosis and combining ability of CIMMYT's quality protein maize germplasm: I. Lowland tropical. *Crop Science*, 33:46–51.
- Vázquez, C.G., Ortega, C.A., Morales, G.M., y Arenas L.C. 2002. Impacto del mejoramiento genético en la calidad de los maíces de alta calidad de proteína (ACP). *Revista Chapingo, Serie Ingeniería Agropecuaria*, 5:129–131.
- Venturini, C.D, Merlo, S., Souto, A.A, da Cruz Fernandes, M., Gomez, R. y Rhoden, C.R. 2010. Resveratrol and red wine function as antioxidants in the central nervous system without cellular proliferative effects during experimental diabetes. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 3:434-441.
- Vera-Guzmán A. M., Chávez-Servia J. L. y Carrillo-Rodríguez J. C. 2012. Proteína, lisina y triptófano en poblaciones nativas de maíz mixteco. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 35: 7-13.

- Vigouroux Y., Glaubitz J.C, Matsuoka Y., Goodman M. M., Sánchez G., and Doebley J. 2008. Population structure and genetic diversity of new world maize races assessed by DNA microsatellites. *American Journal of Botany*, 95:1240-1253.
- Villegas, E., Vasal, S.K., and Bjarnason, M., 1992. Quality protein maize – what is it and how was it developed. *In* Mertz, E.T. (Ed.), *Quality Protein Maize*. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN, pp. 27–48.
- Virmani, S. S. 2001. Opportunities and challenges of developing and using hybrid rice technology in the tropics. *In* Peng, S., and B. Hardy (eds.). *Rice research for food security and poverty alleviation*. Proceedings of the International Rice Research Conference, 31 March–3 April 2000, Los Banos, Philippines: IRRI. 692 pp.
- Vitale, A., Soave, C. and Galante, E. 1980. Peptide mapping of IEF zein components of maize. *Plant Science Letters*, 18:57-64.
- Vivas, N. E., Waniska, R. D., and Rooney, L. W. 1987. Effect of tortilla production on proteins in sorghum and maize. *Cereal Chemistry*, 64:384- 389.
- 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.
- Von Staszewski, M., Jara, F. L., Ruiz, A. L. T. G., Jagus, R. J., Carvalho, J. E., and Pilosof, A. M. R. 2012. Nanocomplex formation between b-lactoglobulin or caseinomacropeptide and green tea polyphenols: Impact on protein gelation and polyphenols antiproliferative activity. *Journal of Functional Foods*, 4:800–809.
- Waigh, T. A., Gidley, M. J., Komanshek, B. U., and Donald, A. M. 2000. The phase transformations in starch during gelatinisation: A liquid crystalline approach. *Carbohydrate Research*, 328: 165–176.
- Wall, J.S. and Bietz, J.A. 1987. Differences in corn endosperm proteins in developing seeds of normal and *opaque-2* corn. *Cereal Chemistry*, 64: 275-280.
- Wallace, J. C., Lopes, M. A., Paiva, E. and Larkins, B.A. 1990. New methods for extraction and quantitation of zeins reveal a high content of gamma-zein in modified *opaque-2* maize. *Plant Physiology*, 92: 191-196.
- Wang, L., Xu, C., Qu, M. and Zhang, J. 2008. Kernel amino acid composition and protein content of introgression lines from *Zea mays* ssp. *mexicana* into cultivated maize. *Journal of Cereal Science*, 48:387–393.
- Wang, S. and Liu, F. 2000. The preparation, property and application of a highly active corn dietary fiber. *Food Science*, 21:22–24.
- Wang, X. and Larkins, B.A. 2001. Genetic analysis of amino acid accumulation in *opaque-2* maize endosperm. *Plant Physiology*, 125:1766–1777.
- Wang, Y., and Frei, M. 2011. Stressed food - The impact of abiotic environmental stresses on crop quality. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 141:271–286.
- Waterborg, J. H. 2002. The Lowry Method for Protein Quantitation. Pages 7-9 *In* The Protein Protocols Handbook, 2nd ed. J. M. Walker (ed), Humana Press Inc., Totowa, NJ.
- Watson, J. 2008. Diversidad genética del maíz morado. En: Maíz morado: Purple corn. Moléculas bioactivas antioxidantes y anticancerígenas. Carhuapoma-Yance, M. y López-Guerra, S., (eds). Lima, Perú, pp 47-51.

- Watson, S. A. 2003. Description, development, structure, and composition of the corn kernel. In: White, P. J. and Johnson, L. A. (eds). *Corn: Chemistry and Technology* (2nd ed). St Paul, MN: AACC International, Inc.
- Wegary, D., Labuschagne, M. T and Vivek, B. S. 2011. Protein quality and endosperm modification of quality protein maize (*Zea mays* L.) under two contrasting soil nitrogen environments. *Field Crops Research*, 121: 408–415.
- Wei, L. M., Dai, J. R., and Liu, Z. X. 2008. Genetic effects of grain protein, starch and oil contents in maize. *Science Agriculture Sin*, 41:3845–3850 (In Chinese).
- Wellhausen E., Roberts L. M, Hernández E. y Mangelsdorf P. C. 1951. Razas de maíz en México, su origen, características y distribución. Folleto Técnico N° 5, Oficina de Estudios Especiales, Secretaría de Agricultura y Ganadería. México, D. F.
- White, P. J. 2001. Properties of corn starch. In *Specialty Corns*, 2nd ed. A. R. Hallauer, ed. CRC Press LLC, USA.
- White, P. J., and Johnson, L. A. 2003. Description, development, structure and composition of the corn kernel. Pages 69-78 In *Corn: Chemistry and Technology*. AACC International: St. Paul, MN.
- White, P., Abbas, I., Pollak, L., and Johnson, L. 1990. Intra- and interpopulation variability of thermal properties of maize starch. *Cereal Chemistry*, 67: 70-73.
- Wilkes, G. 1988. Teosinte and the Other Wild Relatives of Maize. In *Recent Advances in the Conservation and Utilization of Genetic Resources: Proceedings of The Global Maize Germplasm Workshop*. CIMMYT, México. D.F, pp. 70-80.
- Wilkes, H.G. 1979. Mexico and Central America as a centre for the origin of agriculture and the evolution of maize. *Crop Improvement*, 6:1–18.
- Wilson, D. R. and Larkins, B. A. 1984. Zein gene organization in maize and related grasses. *Journal of Molecular Evolution*, 20:330-340.
- Wiseman, B. R., and Snook, M. E. 1995. Effect of corn silk age on flavone content and development of corn earworm (*Lepidoptera: Noctuidae*) larvae. *Journal of Economic Entomology*, 88:1796-1800.
- Wokadala, O. C., Ray, S. S, and Emmambux, M. N. 2012. Occurrence of amylose–lipid complexes in teff and maize starch biphasic pastes. *Carbohydrate Polymers*, 90:616– 622.
- Wolf, M. J., Watson, S. A., Smith, R. J., and Barabolok, R. 1969. Distribution and subcellular structure of endosperm protein in varieties of ordinary and high-lysine maize. *Cereal Chemistry*, 46:253-263.
- Wong, R., Gutiérrez, E., Rodríguez, S. A., Palomo, A., Córdova, H. y Espinoza, A. 2006. Aptitud combinatoria y parámetros genéticos de maíz para forraje en la Comarca Lagunera, México. *Universidad y Ciencia*, 22:141-151.
- Wrigley, C. W., Booth, R. I., Bason, M. L., and Walker, C. E. 1996. Rapid Visco Analyser: Progress from concept to adoption. *Cereal Foods World*, 41:6–11.
- Wu, V., and Wall, J. S. 1980. Lysine content of protein increased by germination of normal and high lysine sorghum. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28: 455–458.
- Wu, Y., Holding, D. R. and Messing, J. 2010.  $\gamma$ -Zeins are essential for endosperm modification in quality protein maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107:12810-12815.
- Xia, E., He, X., Li, H., Wu, S., Li, S. and Deng, G. 2013. Biological activities of polyphenols from grapes. *Polyphenols in Human Health and Disease*, 1: 47–58.

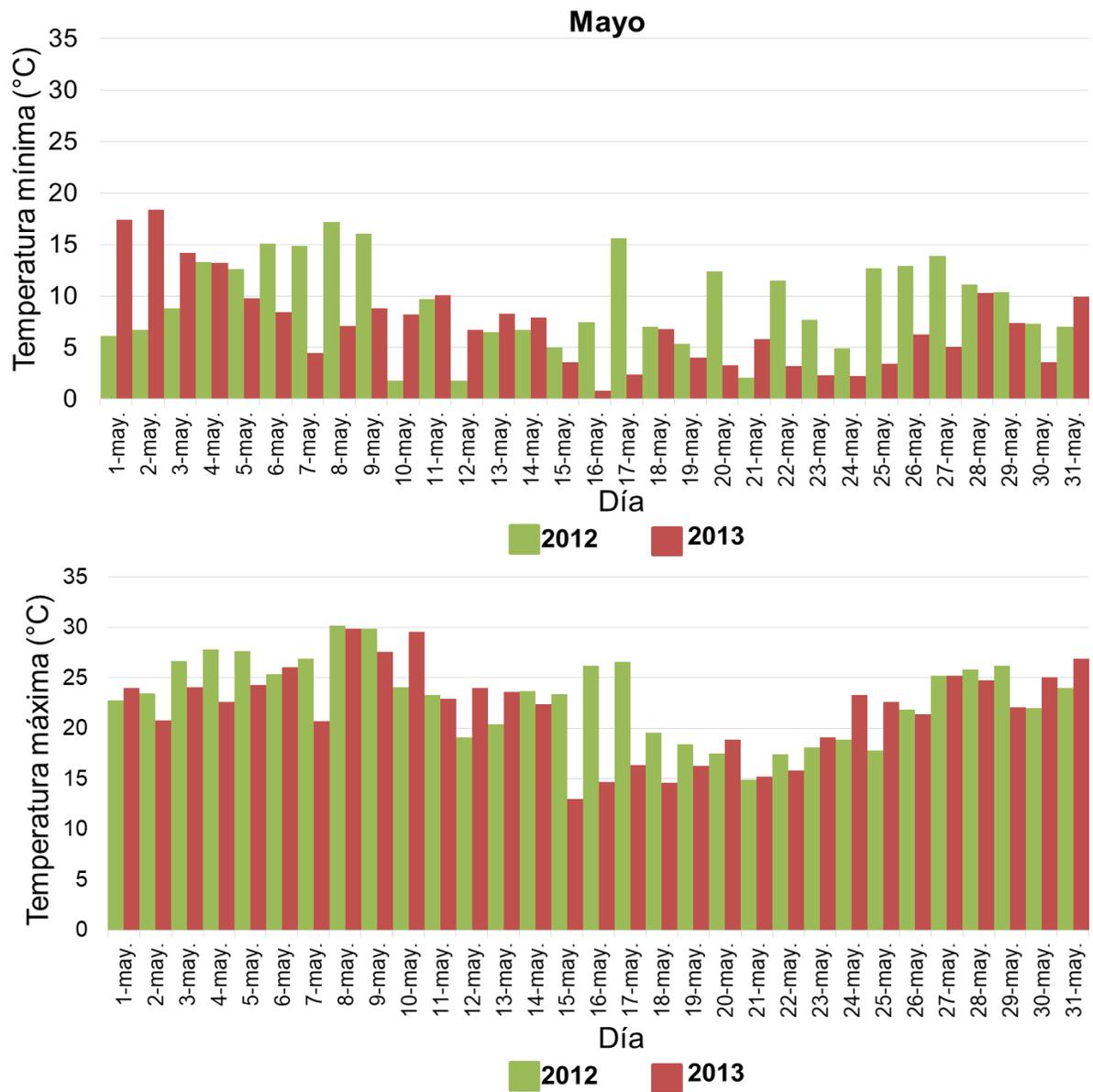
- Xu, B., and Chang, S. K. C. 2008. Total phenolics, phenolic acids, isoflavones, and anthocyanin and antioxidant properties of yellow and black soybeans as affected by thermal processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56:7165–7175.
- Yamin, F. F., Lee, M., Pollak, L. M., and White, P. J. 1999. Thermal properties of starch in corn variants isolated after chemical mutagenesis of inbred line B73. *Cereal Chemistry*, 76:175–18.
- Yang, Z. and Zhai, W. 2010. Identification and antioxidant activity of anthocyanins extracted from the seed and cob of purple corn (*Zea mays* L.). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11:169–176.
- Yau, J. C., Bockholt, A. J, Smith, J. D., Rooney, L. W. and Waniska, R. D. 1999. Maize endosperm proteins that contribute to endosperm lysine content. *Cereal Chemistry*, 76:668–672.
- Yu, S., Ma, Y., and Sun, D. W. 2009. Impact of amylose content on starch retrogradation and texture of cooked milled rice during storage. *Journal of Cereal Science*, 50:139–144.
- Yuan, R. C., Thompson, D. B. and Boyer, C. D. 1993. Fine structure of amylopectin in relation to gelatinization and retrogradation behavior of maize starches from three wx-containing genotypes in two inbred lines. *Cereal Chemistry*, 70:81-89.
- Yuksel, Z., Avci, E., and Erdem, Y. K. 2010. Characterization of binding interactions between green tea flavonoids and milk proteins. *Food Chemistry*, 121:450–456.
- Zannini, E., Jones, J. M., Renzetti, S. and Arendt, E. K. 2012. Functional replacements for gluten. *Annual Review of Food Science and Technology*, 3: 227–245.
- Zeng, M., Morris, C. F., Batey, I. L., and Wrigley, C.W. 1997. Sources of variation for starch gelatinization, pasting, and gelation properties in wheat. *Cereal Chemistry*, 74:63–71.
- Zhong, L. J., Cheng, F. M., Wen, X., Sun, Z. X., and Zhang, G. P. 2005. The deterioration of eating and cooking quality caused by high temperature during grain filling in early-season indica rice cultivars. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 191:218–225.
- Zhu, F. 2015. Interactions between starch and phenolic compound. *Trends in Food Science and Technology*, 43:129-143.
- Zhuang, H., Tang, N., Dong, S.-T., Sun, B., and Liu, J.-B., 2013. Optimisation of antioxidant peptide preparation from corn gluten meal. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93:3264-3270.
- Zilic, A., Vancetovic, J., Jankovic, M. and Maksimovic, V. 2014. Chemical composition, bioactive compounds, antioxidant capacity and stability of floral maize (*Zea mays* L.) pollen. *Journal of Functional Foods*, 10:65–74.
- Zilic, S., Kocadagli, T., Vancetovic, J. and Gokmen, V. 2016. Effects of baking conditions and dough formulations on phenolic compound stability, antioxidant capacity and color of cookies made from anthocyanin-rich corn flour. *LWT Food Science and Technology*, 65:597-603.
- Zobel, H.F., Young, S.N. and Rocca, L.A., 1988. Starch gelatinization: an X-ray diffraction study. *Cereal Chemistry*, 65: 443–446.

## **ANEXO 1**

**Temperaturas mínimas y máximas diarias durante los meses de abril y mayo (período de llenado de granos) de los años de cultivo de maíz *opaco-2* (2012 y 2013)**



**Figura 1.** Temperaturas mínimas y máximas diarias de abril de 2012 y 2013

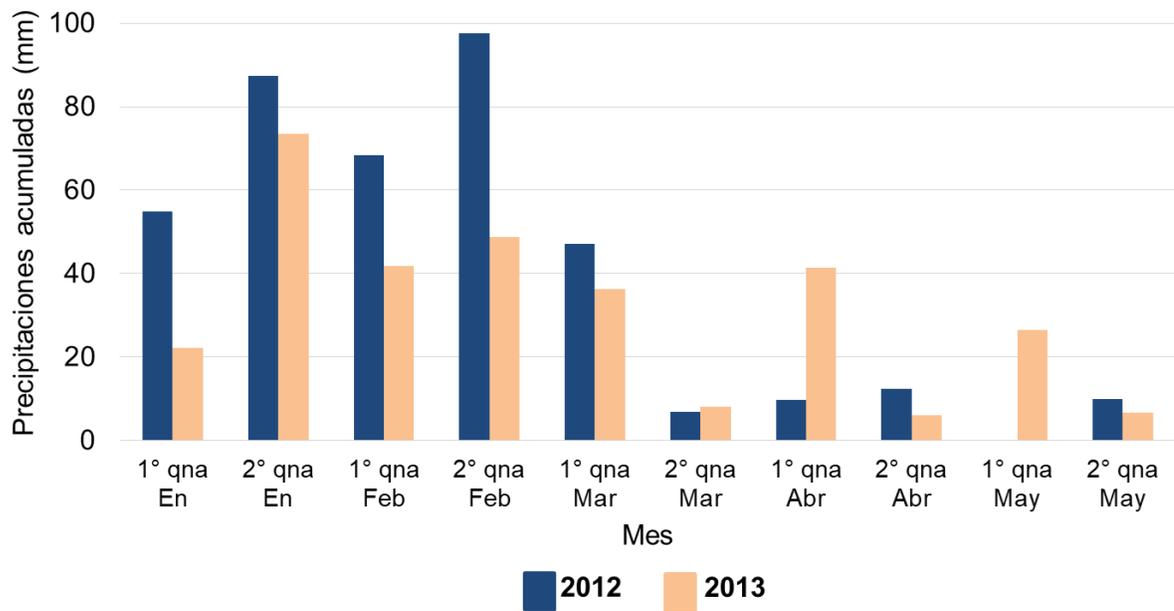


**Figura 2.** Temperaturas mínimas y máximas diarias de mayo de 2012 y 2013

## **ANEXO 2**

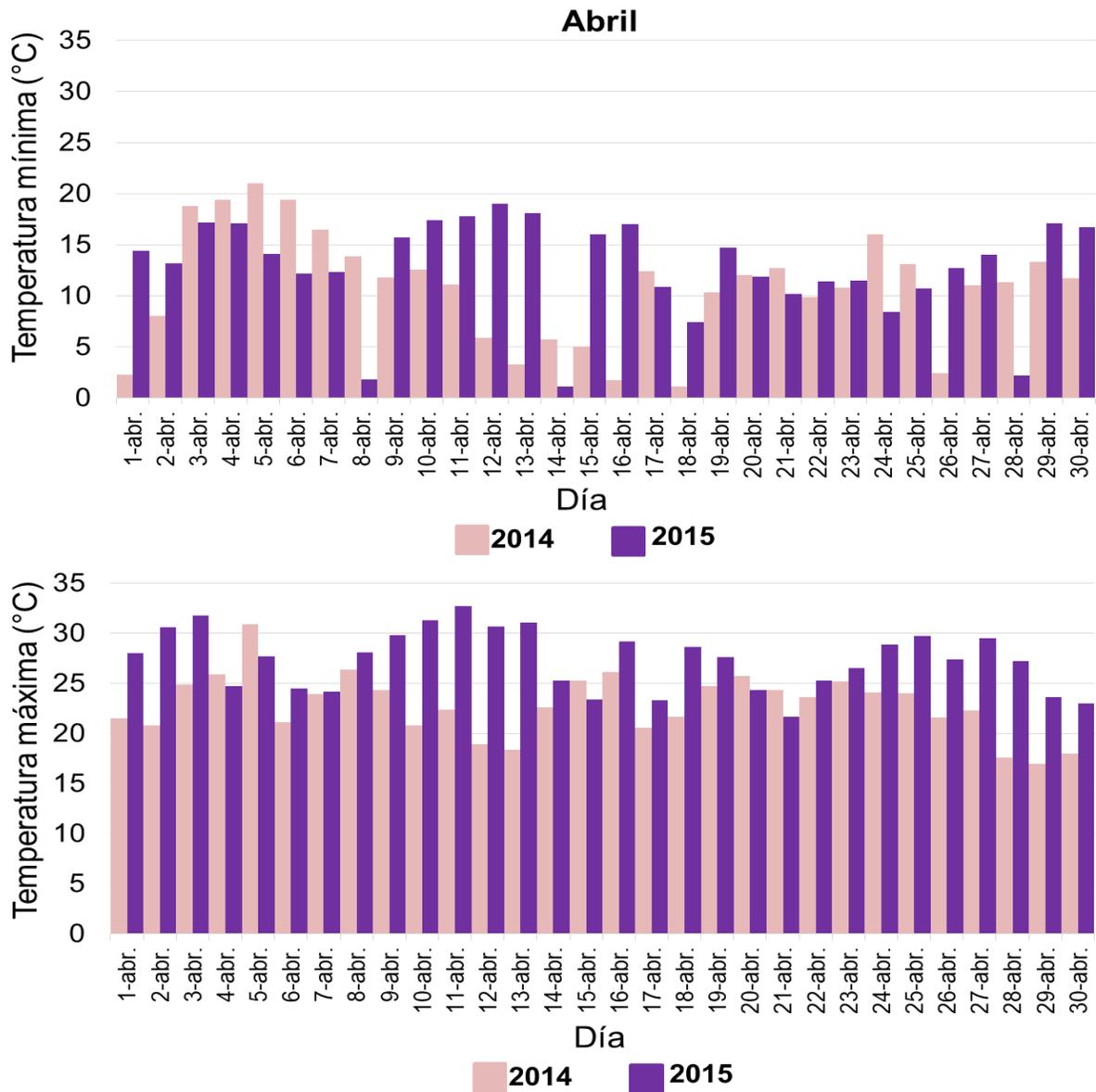
### **Precipitaciones acumuladas durante los ciclos de cultivo de maíz *opaco-2* (2012 y 2013)**

## Precipitaciones acumuladas por quincena (qna) durante los meses de cultivo de maíz *opaco-2* (2012 y 2013)

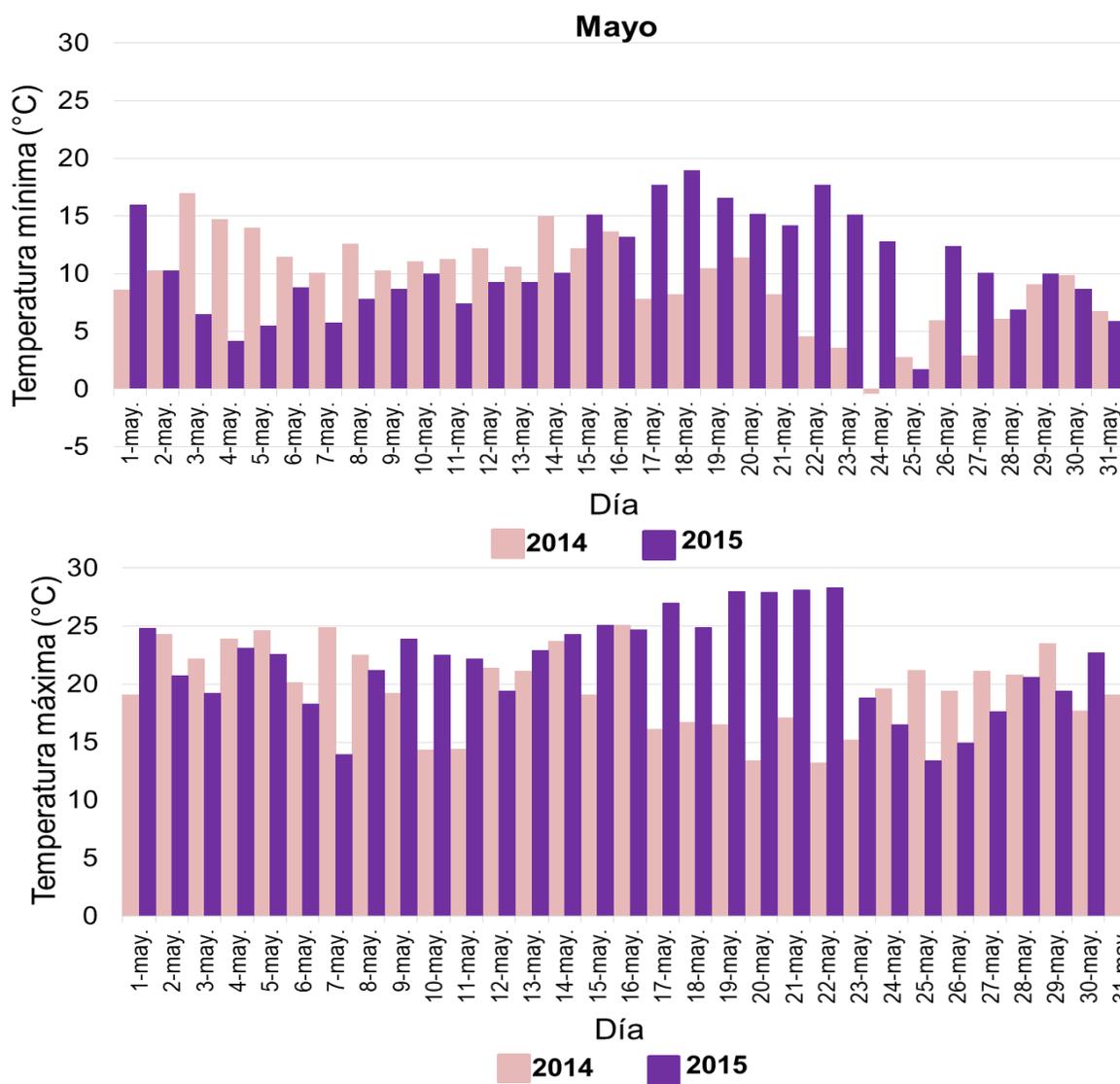


## **ANEXO 3**

**Temperaturas mínimas y máximas diarias durante los meses de abril y mayo (período de llenado de granos) de los años de cultivo de maíz morado (2014 y 2015)**



**Figura 1.** Temperaturas mínimas y máximas diarias de abril de 2014 y 2015



**Figura 2.** Temperaturas mínimas y máximas diarias de mayo de 2014 y 2015

## **ANEXO 4**

### **Precipitaciones acumuladas durante los ciclos de cultivo de maíz morado (2014 y 2015)**

## Precipitaciones acumuladas por quincena (qna) durante los meses de cultivo de maíz morado (2014 y 2015)

