

CARACTERIZACIÓN FÍSICA, FISIOLÓGICA Y DE LAS PROTEÍNAS DE SEMILLAS DE MAÍZ (*Zea mays* L.) DE GUANAJUATO E HIDALGO, MÉXICO

Rosario Y. Godínez Galán¹; J. Guadalupe García Rodríguez¹; Juan Carlos Raya Pérez¹; Irma Morales Rodríguez²; Juan G. Ramírez Pimentel¹; Jorge A. Torres Castillo³; César L. Aguirre Mancilla^{1§}

¹Instituto Tecnológico de Roque. Celaya, Guanajuato, México. ²Universidad Autónoma de Hidalgo. Tulancingo, Hidalgo, México. ³Universidad Autónoma de Tamaulipas. Tamaulipas, México. §Autor para correspondencia: cesar.aguirre.m@gmail.com

Recibido: Marzo 31, 2014 Aceptado: Junio 2, 2014

RESUMEN

El maíz es el cultivo agrícola más importante de México, se siembra en todo el país y es la base de la alimentación de su pueblo; la imagen de la milpa es un símbolo de la cultura mexicana. La calidad física y fisiológica de este cereal son los factores con importancia mayor para los productores y agricultores. En el presente estudio se evaluó la calidad física, fisiológica y bioquímica (contenido de proteína soluble: albumina, globulina, prolamina y glutelina) de la semilla de maíz de 13 genotipos del Programa de Mejoramiento Genético de Instituto Tecnológico de Roque (ITR), en Celaya Guanajuato, dos recolectas del Estado de Hidalgo, la raza Jala y seis híbridos comerciales. Las variables evaluadas fueron: peso de mil semillas, peso hectolítrico, porcentaje de germinación, respuesta al envejecimiento acelerado y longitud de plúmula. El peso hectolítrico de Roque 0, Roque 1, Roque 2, Amarillo, Amarillo 2 y el híbrido CRM-52 estuvieron por arriba del valor de 75 kg/hL; el

peso mayor de 1000 semillas correspondió a la raza Jala (499 g); Roque, SB-309, Roque 2, 12013 y 42013 mostraron 100 % de germinación; y los demás cumplieron con la normas de certificación, con al menos 85 %. En la prueba de envejecimiento acelerado destacaron SB-39, 22013 Roque y Roque 1 con 99 %. Roque y Roque 2 tuvieron la longitud mayor de plúmula y la longitud de plántula mayor (11.25 y 10.7 cm). Los genotipos 12013, 42013 presentaron los niveles más altos en albumina (1.34 y 1.35 g de proteína/100 g de harina), Amarillo y B2013 presentaron la fracción mayor de globulina (0.71 y 0.95 g), los Amarillos 1 y 2 sobresalen con 2.38 y 1.64 g de la fracción de prolaminas, y Roque 2 y Amarillo 2 sobresalieron por la fracción de glutelinas mayor (0.71 y 0.62 g).

Palabras clave: Proteína, calidad física, fisiológica, solubilidad

ABSTRACT

Maize is the most important agricultural crop in Mexico is planted throughout the country, is the staple food of the people and the image of the cornfield, is a symbol of mexican culture. Physical and physiological quality of maize, are of the utmost importance for producers and farmers to estimate the efficiency of the seeds that will lead to their production. In this work, the physical, physiological and biochemical quality of maize seed was studied, 13 genotypes Genetic Improvement Program of Instituto Tecnológico de Roque (ITR) of Celaya, Guanajuato were used, 2 collects of the State of Hidalgo, the race Jala and 6 commercial hybrids. We evaluated: thousand seed weight, hectoliter weight, seed germination, accelerated aging and plumule length. The hectoliter weight Roque 0, Roque 1, Roque 2, Amarillo, Amarillo 2 and the hybrid CRM-52 were above of 75 kg/hL; the greater weight of 1000 seeds correspond to the Jala race (499 g), Roque, SB-

309, Roque 2, 12013, 42013, showed 100 % of germination, however all materials were in the values established by certification standards that is at least 85 %. In the accelerated aging test highlighted SB-39, 22013 Roque and Roque 1 with 99 %. The greater length of plumule Roque obtained with an emergency length of 11.25 cm followed by Roque 2 with 10.7 cm. For biochemical characterization, concentration was assessed and total soluble protein content: albumins, globulins, prolamins and glutelin. Genotypes 12013, 42013 with the highest levels in albumins (g protein per 100 g of flour): 1.34 and 1.35 in the globulin fraction, Amarillo and B2013 with 0.71 and 0.95 in the prolamins fraction, Amarillo 1 and 2 with 2.38 and 1.64, followed by Roque with 1.54 and for the glutelin fraction, Amarillo 2 and Roque 2 were the cultivars with the highest concentration (0.71 and 0.62).

Key words: Protein, seed physic quality, seed physiological quality, solubility.

INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es el cereal que más se produce en el mundo y constituye uno de los cuatro alimentos básicos, junto con trigo, arroz y papa. Dicho cultivo es importante social y económicamente por ser fuente de trabajo. El destino principal de la producción de éste cereal es la industria de alimentos, tanto animal como humana, entre otros usos industriales (SIAP, 2012). México es el centro de origen del cultivo del maíz, donde representa la principal fuente de alimentación (Reyes, 1990). Sin embargo, la proteína que contiene el maíz, presenta baja calidad nutricional: de las fracciones totales en el grano, las prolaminas, también denominadas (zeínas) constituyen más de 50 %, tienen bajo contenido de lisina y carecen de triptófano (Serna-Saldívar *et al.*, 1988; Sproule *et al.*, 1988; Amaya-Guerra *et al.*, 2004). Por el contrario, las fracciones de albumina, globulina y glutelinas, que constituyen el 20 %, contienen niveles relativamente elevados de lisina y triptófano, aminoácidos esenciales de valor nutritivo. Estas fracciones se encuentran en el embrión, capa de aleurona y endospermo. Mediante métodos de mejoramiento genético se ha buscado mejorar la calidad nutricional del maíz al incrementar contenido de aminoácidos esenciales en el grano, sin sacrificar otras características fenotípicas, tanto del cultivo como del grano (Sproule *et al.*, 1988; Vivas-Rodríguez *et al.*, 1990).

Debido a que México es el país de origen del maíz, existe evidencia de variabilidad genética entre genotipos, como rendimiento, susceptibilidad a plagas y enfermedades, tamaño, forma, color y textura de grano, dureza del endospermo, tipo de almidón, capas

de aleurona, tamaño de embrión, contenido de aceite, así como composición química, entre ellas, cantidad de aminoácidos esenciales (Kato, 2009). De tal diversidad, se han obtenido poblaciones y variedades de polinización abierta con grupos de genes con características específicas que se encuentran en bancos de germoplasma y son utilizados en los programas de mejoramiento. También se ha considerado la caracterización de genotipos mediante la obtención de huellas moleculares particularmente patrones electroforéticos; lo anterior como una estrategia para fortalecer y agilizar el proceso de mejoramiento, al reducir el tiempo necesario para el desarrollo de germoplasma. Dicha caracterización involucra utilización de métodos bioquímicos de extracción, cuantificación de proteínas, basados entre otras propiedades en características de proteínas, como solubilidad (Aguirre *et al.*, 2012).

Generalmente, la caracterización de genotipos se basa en la descripción de características físicas y fisiológicas de las semillas; no obstante, también se tiende a incluir la cuantificación de fracciones proteicas, al considerar las implicaciones que éstas tienen en la dieta alimenticia que busca mejorar la nutrición. Por ello, el objetivo de éste estudio fue comparar las características físicas, fisiológicas y bioquímicas de semillas de genotipos de maíz del programa de Mejoramiento Genético del Instituto Tecnológico de Roque (ITR), colectas de maíz criollo del estado de Hidalgo e híbridos comerciales para encontrar diferencias entre genotipos e identificar características deseables de cada uno de los genotipos analizados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Los 22 cultivares de maíz proporcionados por el Programa de Mejoramiento Genético de Instituto Tecnológico de Roque, fueron Roque, Roque 0, Roque 1, Roque 2, Amarillo, Amarillo 1, Amarillo 2, 12013, 22013, 32013, 42013, A2013 y B2013; del estado de Hidalgo provienen Hidalgo 1 e Hidalgo 2; el criollo Jala; Puma, CRM-30 y CRM-52 comercializados por Monsanto; P55W y P3368W de Pioneer y; SB-309 de Berentsen. La cantidad de muestra colectada fue 5 kg, proveniente de una selección masal de 250 mazorcas obtenidas de plantas con competencia completa por cultivar. Se

desgranaron tres hileras por mazorca y fueron mezclados para obtener la muestra representativa.

Peso de 1000 semillas (PMS)

A partir de cuatro repeticiones al azar de 100 semillas limpias y puras. Cada repetición se pesó de manera individual por tratamiento y se calculó la varianza y coeficiente de varianza.

Peso hectolítrico (PH)

Para determinar peso hectolítrico (PH, kg/hL) se utilizó un tubo de ensayo graduado con capacidad de 100

mL, el cual se llenó de semilla y rasó; luego fue pesada en una balanza analítica.

Prueba de germinación estándar (GER)

La técnica empleada fue entre papel (EP) (ISTA, 1995). Para ello se utilizó una muestra de 200 semillas, que fue dividida en 4 repeticiones de 50 semillas. Cada repetición se colocó sobre el papel de estraza e introducidas en la cámara de germinación a 25 °C y 80 % de humedad relativa.

Prueba de envejecimiento acelerado (EA)

La prueba se realizó adaptando la metodología descrita por Perry (1987). En un vaso de precipitado con 250 mL de agua destilada, se colocó una malla metálica y sobre ésta se dispusieron 220 semillas, aproximadamente. Los vasos de precipitado se cerraron con papel aluminio e incubados en la cámara de crecimiento a 42 °C por 96 horas. Después de este tiempo, 200 semillas de cada genotipo fueron evaluadas con la prueba de germinación.

Evaluación de la longitud de la plúmula (LP)

La técnica se realizó de acuerdo a Moreno-Martínez (1996). En hojas de papel germinador se trazó una línea en la parte central, de igual manera se marcaron cinco líneas paralelas a la línea central cada 2 cm entre líneas, dibujadas en la parte superior de la hoja. Después se colocó una cinta adherible, de manera que las semillas se fijaron sobre la hoja. Las semillas se colocaron en la línea central con el embrión hacia arriba y con la plúmula dirigida hacia la parte superior de la hoja, donde se localizan las líneas paralelas a la central. Después fueron cubiertas con una hoja de papel de estraza y enrolladas en forma de taco,

enseguida colocados verticalmente en bolsas de polietileno dentro de un recipiente e introducidos en la cámara de germinación a 25 °C y 80 % de humedad relativa, por 4 d.

Extracción de proteína

Después de obtener las harinas se realizaron las siguientes extracciones, de acuerdo al método propuesto por Osborne (1924), con modificaciones (Aguirre *et al.*, 2012):

Fracción Albumina: obtenida al pesar 0.1 g de harina y adición de 1 mL de agua, agitada por 5 min y centrifugado a 16100g. El sobrenadante fue recuperado.

Fracción Globulina: adición de 1 mL de la solución de Tris 50 Mm pH 8 y agitación por 5 min. Posteriormente se centrifugó a 16100g y se recuperó el sobrenadante.

Fracción Prolamina: al re-suspender el precipitado de la fracción anterior y agregarle 1 mL de la solución de isopropanol al 55 %, luego agitado por 5 min y centrifugado a 16100g. Finalmente, se recuperó la fracción de prolamina. Por último, mediante el procedimiento descrito anteriormente se obtuvo la fracción Glutelina, con una solución de Boratos 0.1 M con SDS 0.5 %, agitación y centrifugación por 5 min a 16100g.

Cuantificación de proteína

La cuantificación de proteína extraída se determinó por el método Bradford (1976), utilizado como colorante brillante el azul de Cromassine G-250. El cambio de color generado se tomó a una longitud de onda en espectrofotómetro, a 595 nm. Como estándar se utilizó una curva patrón de albumina de suero de bovino.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El valor máximo del peso de 1000 semillas correspondió al criollo Jala seguido del genotipo 22013 y el valor más bajo correspondió al híbrido CRM-52. La semilla de la raza Jala se distinguió por ser de tamaño grande, la del genotipo 22013 tiene tamaño medio y el híbrido CRM-52 es un material de semillas pequeñas. El efecto del tamaño de la semilla es importante, ya que existe una relación entre tamaño con el peso de la semilla. Respecto al peso volumétrico, el valor mayor lo presentó Amarillo 1, seguido de Amarillo 2; con menor peso fue A2013 (Cuadro 1). El porcentaje de germinación varió entre 96 y 100 %, los cultivares Roque, Roque 2, Amarillo, Amarillo 2, 12013, 32013, 42013 y el híbrido SB-309

presentaron el porcentaje mayor de germinación y los que tuvieron porcentaje menor de germinación fueron la raza Jala y el híbrido CRM-52 (Cuadro 2). En la prueba envejecimiento acelerado, el análisis de varianza mostró diferencias significativas entre los materiales: el híbrido SB-309 mostró el mayor porcentaje de germinación, seguido del genotipo 22013, aunque no fueron estadísticamente diferentes a los cultivares Roque y Roque 0, Roque 1 y Roque 2, y el valor más bajo lo presentó el híbrido Puma. En la prueba de longitud de plúmula Roque fue sobresaliente, seguido de Roque 2; el genotipo que obtuvo el valor más bajo de longitud de plúmula fue el híbrido Puma (Cuadro 2).

Cuadro 1. Peso de 1000 semillas y peso hectolítrico de cultivares de maíz del Programa de Mejoramiento del ITR.

Genotipo	PMS ¹ (g)	PH ² (kg/hL)
Roque	458.50 abc	69.9 hij
Roque 0	426.00 bcd	75.2 cdef
Roque 1	428.25 bcd	77.5 bc
Roque 2	442.75 bc	78.3 ab
Amarillo	346.50 fg	77.1 bcd
Amarillo 1	331.25 fgh	80.0 a
Amarillo 2	360.75 efg	78.5 ab
Hidalgo 1	372.25 ef	71.4 gh
Hidalgo 2	390.75 de	69.1 hij
Jala	499.00 a	68.1 ij
12013	425.25 bcd	64.1 k
22013	460.00 ab	63.7 k
32013	417.00 dc	63.3 k
42013	392.50 de	68.4 ij
A2013	396.50 de	62.5 k
B2013	399.00 de	67.1 j
H-Puma	294.33 hi	73.2 fg
H-CRM-30	329.18 ghi	74.8 def
H-CRM-52	241.13 j	77.2 bc
H-P55W	368.60 efg	75.7 cde
H-P3368W	287.40 i	74.6 ef
H-SB-309	330.48 fgh	70.1 hi
Media	381.69	71.85
DMS	42.935	2.3853

¹Peso de 1000 semillas; ²Peso hectolítrico. Medias con la misma letra en la columna, son estadísticamente iguales con Tukey, $\alpha \leq 0.05$).

La fracción albumina de los 22 genotipos de maíz estudiados, se encontró una variación de 0.30 a 1.35 g de proteína/100 g de harina. Los genotipos con los valores más altos fueron 12013 y 42013. Los genotipos con la concentración más baja de albumina fueron los materiales Roque 1 y SB-309. Por otra parte, la concentración de proteína en la fracción globulina, el valor estadísticamente más alto fue en el cultivar Amarillo, mientras la concentración más baja para ésta fracción correspondió a Roque 1. En las Glutelinas los genotipos con mayor contenido de esta fracción fueron Amarillo 2 y Roque 2, los que presentaron los valores bajos fueron los genotipos 12013 y el híbrido Puma. Por otro lado, la fracción Prolaminas que para el caso del maíz corresponde a las zeínas, los genotipos que presentaron mayor

concentración de dicha fracción fueron Amarillo 1 y Amarillo 2, en tanto que los materiales con menor contenido son Puma y SB-309.

La distribución de las fracciones proteicas de cada genotipo, al tomar como 100 % el total de la suma de dichas fracciones, muestra un incremento en la concentración de proteína en las fracciones Albumina y Globulina, que han tenido los materiales 12013, 22013, 32013, 42013, A2013, B2013, del programa de mejoramiento. En estas fracciones, los valores fueron superiores que los materiales de las empresas comerciales. Un maíz típico presenta una distribución de fracciones como los genotipos de Roque 1, Amarillo 1, Hidalgo 1 e Hidalgo 2, al manifestar más del 50 % de la fracción de Prolaminas.

Cuadro 2. Pruebas de calidad fisiológica de semilla de maíces del Programa de Mejoramiento del ITR.

Genotipo	GER ¹ (%)	EA ² (%)	LP ³ (cm)
Roque	100 a	99.0 ab	11.2 a
Roque 0	99.2 ab	99.0 ab	10.6 ab
Roque 1	99.5 a	99.0 ab	10.0 abc
Roque 2	100 a	99.0 ab	10.7 ab
Amarillo	100 a	97.0 abcd	9.9 bc
Amarillo 1	98.0 ab	97.0 abcd	8.6 defg
Amarillo 2	100 a	99.0 ab	9.9 abc
Hidalgo 1	97.5 ab	91.5 de	8.6 defg
Hidalgo 2	97ab	93.0 bcd	9.8 bcd
Jala	96.0 b	96.5 abcd	9.1 cde
12013	100 a	98.0 abc	7.7 fghi
22013	98.0 ab	99.2 ab	7.5 ghi
32013	100 a	96.0 abcd	7.7 fghi
42013	100 a	99.0 ab	8.3 efgh
A2013	99.2 ab	97.2 abcd	8.0 efgh
B2013	97.2 ab	96.0 abcd	7.9 efgh
H-Puma	99.2 ab	77.0 f	5.5 j
H-CRM-30	98.0 ab	85.5 e	7.2 hi
H-CRM-52	96.0 b	96.0 abcd	9.8 bcd
H-P55W	98.0 ab	92.0 cd	7.2 ih
H-P3368W	98.5 ab	96.5 abcd	6.5 ij
H-SB-309	100 a	99.5 a	8.8 cdef
Media	98.69	95.5	8.7
DMS	3.34	6.40	1.30

¹Germinación; ²Vigor; ³Envejecimiento acelerado. Medias con la misma letra en la columna son iguales estadísticamente con Tukey, $\alpha \leq 0.05$.

CONCLUSIONES

La constitución genética y la acumulación de proteínas en la semilla, son parte de los atributos de calidad; por lo que el genotipo Roque posee características sobresalientes de germinación y vigor de semilla, similares a las de híbridos comerciales.

La cuantificación de las fracciones proteicas son parámetros confiables para la caracterización de la

semilla de maíz, destinada para alimentación o la industria. Los materiales del programa de mejoramiento del ITR, se han caracterizado por poseer altas concentraciones de la fracciones proteicas albumina y globulina, que representan más de 50 % del contenido soluble total de proteína.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Aguirre C; Torres I; Mendoza-Hernández G; García-Gasca T; Blanco-Labra A (2012). Analysis of protein fractions and some minerals present in Chan (*Hyptis suaveolens* L.) seeds. *Journal of Food Science*. 71: C15-C19.
- Amaya-Guerra C; Alanis-Guzman MG; Serna-Saldivar SO (2004). Effects of soybean fortification on protein quality of tortilla based diets from regular and quality protein maize. *Plant Foods for Human Nutrition* 59: 45-50.
- Bradford MM (1976). A rapid and sensitive method foots the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-354.
- ISTA. International Seed Teesting Association (1995). Rules. Seed of vigor test methods. 2nd. ed. Zurich. 117 p.
- Kato TA; Mapes C; Mera LM; Serratos JA; Bye RA (2009). Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. Universidad Nacional Autónoma de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F. 116 p.

Cuadro 3. Fracciones proteicas (g de proteína/100 g harina) en las semillas de maíz del Programa de Mejoramiento del ITR.

Genotipo	ALB ¹	GBL ²	PRL ³	GLT ⁴	Total ⁵
Roque	0.853 e	0.429 jh	1.540 c	0.456 d	3.280 b
Roque 0	0.616 gh	0.458 fg	1.210 f	0.484 d	2.780 cd
Roque 1	0.300 m	0.253 k	1.340 e	0.408 e	2.300 f
Roque 2	0.822 e	0.375 i	1.340 e	0.628 b	3.170 b
Amarillo	0.734 f	0.950 a	0.856 g	0.354 f	2.890 c
Amarillo 1	0.456 kl	0.395 hi	2.380 a	0.530 c	3.780 a
Amarillo 2	0.836 e	0.481 ef	1.640 b	0.710 a	3.670 a
Hidalgo 1	0.625 g	0.409 hi	1.300 e	0.463 d	2.800 c
Hidalgo 2	0.610 gh	0.310 j	1.450 d	0.535 c	2.920 c
Jala	0.437 l	0.304 j	0.812 g	0.374 ef	1.920 h
12013	1.350 a	0.397 e	0.820 g	0.141 k	2.800 c
22013	1.050 d	0.596 e	0.635 h	0.177 ijk	2.460 e
32013	1.130 bc	0.689 b	0.774 g	0.212 hi	2.810 c
42013	1.340 a	0.682 b	0.599 hi	0.191 ij	2.810 c
A2013	1.190 b	0.618 c	0.614 hi	0.235 gh	2.620 de
B2013	1.090 cd	0.711 b	0.602 hi	0.189 ij	2.600 e
H-PUMA	0.546 hij	0.499 e	0.267 k	0.144 k	1.480 j
H-CRM-30	0.588 ghi	0.452 fg	0.478 j	0.193 ij	1.710 i
H-CRM-52	0.509 jk	0.428 gh	0.539 ij	0.195 hij	1.670 i
H-P55W	0.534 ij	0.694 b	0.591 hi	0.256 g	2.060 gh
H-P3368W	0.841 e	0.547 d	0.629 h	0.205 hij	2.220 fg
H-SB-309	0.361 m	0.488 ef	0.334 k	0.166 jk	1.360 j
Media	0.76	0.512	0.945	0.329	2.55
DMS	0.0706	0.0388	0.0883	0.0412	0.160

¹Albuminas; ²Globulinas; ³Prolaminas; ⁴Glutelinas; ⁵Contenido total de proteína. Medias con la misma letra en la columna son iguales estadísticamente con Tukey, $\alpha \leq 0.05$.

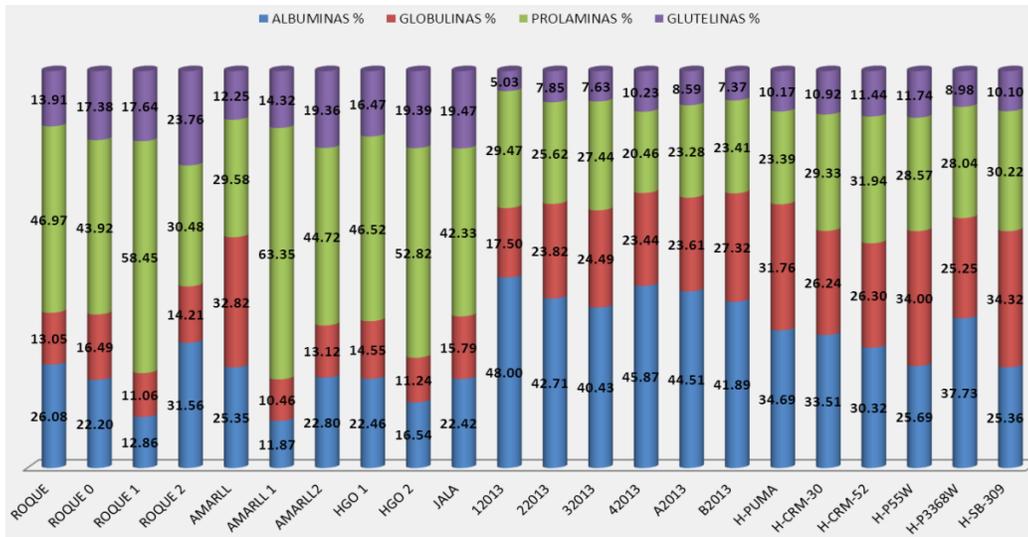


Figura 1. Distribución de fracciones de proteína en 22 genotipos de maíz del Programa de Mejoramiento del IT Roque.

- Moreno-Martínez E (1996). Análisis Físico y Biológico de Semillas Agrícolas. Ed. UNAM, México. 393 p.
- Osborne TB (1924) *The Vegetable Protein*. 2nd ed. Longmans, Green and Co. London.
- Perry DA (1987). Introduction: methodology and application of vigour tests. Growth and evaluation tests: Topographical Tetrazolium test. *ISTA. Handbook of vigour tests methods*. Ed. Zurci, Switzerland. 72 p
- Reyes CP (1990) *El maíz y su cultivo*. AGT Editor, S.A., México, D.F. pp. 32, 66-69-459.
- Serna-Saldivar SO; Knabe DA; Rooney LW; Tanksley TD; Sproule AM (1988). Nutritional value of sorghum and maize tortillas. *Journal of Cereal Science* 7: 83-94.
- SIAP (2012) Módulo Agrícola del SIACON 1980-2011. Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera. <http://www.siap.gob.mx>.
- Sproule AM; Serna-Saldivar SO; Bockholt AJ; Rooney LW; Knabe DA (1988). Nutritional evaluation of tortillas and tortilla chips from quality protein maize. *Cereal Food World* 33: 233-236.
- Vivas-Rodríguez NE; Serna-Saldivar SO; Waniska RD; Rooney LW (1990). Effect of tortilla chip preparation on the protein fractions of quality protein maize, regular maize and sorghum. *Journal of Cereal Science* 12: 289-296.