

Formación de híbridos de maíz con calidad proteica: lisina, triptófano e índice de calidad

Formation of quality protein maize hybrids: lysine, tryptophan and quality index

G.F. Gutiérrez Hernández¹, J.L. Arellano Vázquez², J.M. Vázquez Ramos³,
E. García Ramírez³, P. Vázquez Lozano¹ y E. Flores Gómez¹

¹Departamento de Bioprocesos, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Instituto Politécnico Nacional. Av. Acueducto s/n C. P. 07340, La Laguna Ticomán. México, D. F. ²Programa de Maíz, Campo Experimental Valle de México, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Carretera Los Reyes- Texcoco km 13.5 C. P. 56250. Coatlinchán, Texcoco, México. ³Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. Av. Universidad y Copilco, Ciudad Universitaria. C. P. 04510. México, D. F.

Resumen

En el CEVAMEX (Chapingo, México) se desarrollaron híbridos experimentales de maíz con calidad de proteína con seis líneas (L_1 a L_6), derivadas de la fuente de *opaque2* CML176 (CIMMYT), y sus 15 cruza simples. Se determinaron lisina, triptófano, cantidad y calidad de proteína y las ganancias genéticas de las cruza respecto al promedio de progenitores y del mejor de ellos. Se utilizó un diseño completamente al azar con dos repeticiones (100 semillas), se calcularon análisis de varianza, comparación de medias (Tukey, 0,05) y la correlación lineal entre las variables, los avances genéticos se analizaron con la prueba de "t". Destacaron por su calidad proteica L_2 , L_3 y L_6 . La cruza $L_2 \times L_6$ sobresalió ($\alpha=0,01$) por su ganancia genética para proteína (2,3%) e índice de calidad (-0,5%) en promedio de progenitores y en todas las evaluaciones respecto al mejor progenitor, además de que sus incrementos en proteína y aminoácidos se correspondieron con altos índices de calidad. También $L_1 \times L_4$ y $L_4 \times L_5$ mostraron ambos avances genéticos aceptables para triptófano y lisina y trascendió la cantidad de



aminoácidos a calidad de proteína, a diferencia de las cruzas $L_2 \times L_4$, $L_3 \times L_6$ y $L_4 \times L_6$ con avance favorable en promedio de progenitores sólo en lisina, triptófano y proteína total. El índice de calidad no correlacionó con proteína pero si con triptófano ($r=0,9$) y con lisina ($r=0,7$). En algunas cruzas se mantuvo la calidad proteica *per se* de las líneas L_2 , L_3 y L_6 .

Palabras clave: Avance genético, calidad proteica, lisina, *opaco2*, triptófano.

Abstract

At CEVAMEX (Chapingo, Mexico) it was developed experimental hybrids of quality protein maize with six lines (L_1 to L_6) derived from CML176 *opaco2* source (CIMMYT), and their 15 single crosses. Lysine, tryptophan, quantity and quality of protein and genetic gains of the crosses were determined from the parent's average and the best of them. A completely randomized design with two replications (100 seeds) was performed. A variance analysis, means test (Tukey, 0.05), linear correlation between the variables, and the genetic advances were performed and analyzed with the "t" test. It was detected L_2 , L_3 , and L_6 as quality protein maize. $L_2 \times L_6$ was the best cross ($\alpha=0.01$) for their genetic gain of protein (2.3%) and quality index (-0.5%) in parent's average, and in genetic advance for the best parent through all parameters, as well, their increases in protein and amino acids corresponded with the protein quality index. Also $L_1 \times L_4$ and $L_4 \times L_5$ showed acceptable genetic advances both in tryptophan and lysine; furthermore their amount of amino acids impacted the protein quality, unlike the crosses $L_2 \times L_4$, $L_3 \times L_6$, and $L_4 \times L_6$ with favorable gain in parent's average in lysine, tryptophan, and total protein. The protein quality index did not correlate with protein but it did with tryptophan ($r=0.9$) and lysine ($r=0.7$). In some crosses remained the quality protein of L_2 , L_3 , and L_6 lines.

Key words: Genetic advance, quality protein, lysine, *opaco2*, tryptophan.

Introducción

El maíz es un alimento importante para latinoamericanos y africanos (OCDE/FAO, 2011), para los mexicanos es actualmente el ingrediente fundamental de su ingesta y una de sus principales fuentes de energía (Fernández *et al.*, 2013), sobre todo en sectores sociales rurales o marginados, en los cuales es prioritario satisfacer los requerimientos de cantidad y calidad de proteína de niños y mujeres embarazadas o lactantes.

Introduction

Maize is an important food for Latin Americans and Africans (OCDE/FAO, 2011), for Mexicans it is currently the main ingredient in their intake and one of the main energy sources (Fernández *et al.*, 2013), specially in social rural or marginal areas, where the priority is to satisfy the quantity and quality protein requirements in children and pregnant women or nursing women.

It is important to improve the nutritional maize grain composition,

Es relevante mejorar la composición nutricional del grano de maíz, en cuyo endospermo se acumula 75% de almidón y 15% de proteínas (Manicacci *et al.*, 2009), predominando la zeína, proteína de almacenamiento deficiente en los aminoácidos lisina y triptófano (Serna *et al.*, 2008), considerados esenciales porque sus niveles son directamente proporcionales a la calidad biológica de las proteínas (cantidad de N₂ asimilado) y no se sintetizan en animales monogástricos (Ufaz y Galili, 2008) por lo que deben formar parte de su ingesta cotidiana.

Se ha documentado la existencia de germoplasma de maíz con altos contenidos de aminoácidos esenciales producto del gen mutante *opaco2* y esto posibilita la generación de genotipos con calidad proteica de grano a través del fitomejoramiento convencional, del asistido por marcadores moleculares o mediante la transgenesis (Ufaz y Galili, 2008; Manicacci *et al.*, 2009). A estos maíces con calidad de proteína (MCP) se les denomina también modificados o QPM (quality protein maize, para su acrónimo en inglés).

El gen *opaco2* es una mutación en un loci regulatorio del brazo corto del cromosoma siete, su herencia es mendeliana simple y regula negativamente la transcripción de la zeína (Zarkadas *et al.*, 2000), eleva la proporción de proteínas ricas en lisina y triptófano, incrementa del 60 al 100% la concentración de estos aminoácidos en forma libre (Ufaz y Galili, 2008) y también duplica la digestibilidad y valor biológico de las proteínas en comparación con el maíz no modificado o

where 75% of starch and 15% of proteins are accumulated on its endosperm (Manicacci *et al.*, 2009), predominating the zein, storing protein deficient in lysine and tryptophan (Serna *et al.*, 2008), aminoacids considered essentials because their levels are directly proportional to the biological quality of proteins (quantity of assimilated N₂) and are not synthesized in monogastric animals (Ufaz and Galili, 2008), thus, should be part of their daily intake.

It is reported the existence of the maize germplasm is showing high content of essential aminoacids as a result of the *opaco2* mutant gene and this allows the genotypes generation with protein quality of the grain through conventional plant breeding, assisted by molecular markers or by the transgenesis (Ufaz and Galili, 2008; Manicacci *et al.*, 2009). This quality protein maize is also called modified or QPM (quality protein maize, acronyms in English).

The *opaco2* gene is a mutation in a regulatory loci of the seven chromosome, its inheritance is simple Mendelian and it regulates negatively the zein transcription (Zarkadas *et al.*, 2000), it elevates the proportion of proteins rich in lysine and tryptophan, it increases from 60 to 100% the concentration of these amino acids freely (Ufaz and Galili, 2008), also, it duplicates the digestibility and the biological value of these proteins compared to the non modified or normal maize (Paredes *et al.*, 2008-2009). It is estimated that the tryptophan and lysine proportion in the total protein is from 0.8 and 2%, respectively (Zarkadas *et al.*, 2000).

normal (Paredes *et al.*, 2008-2009). Se estima que la proporción de triptófano y lisina en la proteína total es del 0,8 y 2%, respectivamente (Zarkadas *et al.*, 2000).

Las modificaciones anteriores conllevan problemas agronómicos (rendimiento bajo, viabilidad reducida, grano liviano, elevada susceptibilidad a plagas de almacén, etc.) y de nixtamalización, los cuales gradualmente han sido superados mediante el trabajo genotécnico hasta obtener líneas parentales derivadas de *opaco2* con proteína de calidad, rendimiento unitario aceptable y grano de características semejantes a los no modificados (Mendoza *et al.*, 2006).

Este proceso genotécnico es laborioso dada la herencia compleja de este carácter y a que el desarrollo del endospermo se regula por la expresión coordinada de innumerables genes (Liu *et al.*, 2003); pocos de los cuales han sido identificados (Manicacci *et al.*, 2009), y esto limita el uso de métodos de mejoramiento más directos y eficientes como la transgenesis.

En México se ha planteado la estrategia de incorporar las características favorables del MCP al germoplasma de los programas nacionales de mejoramiento para obtener cultivares que, además de los atributos genéticos, agronómicos y fisiológicos favorables para su región, presenten un incremento significativo del contenido de lisina, triptófano y calidad proteica en el grano producido.

En el Programa de Maíz del Campo Experimental Valle de México (Chapingo, México) se optó por emplear

The latter modifications lead agronomic problems (low yield, reduced viability, light grain, high sensitivity to store pests, etc.) and nixtamalization disadvantages, which have gradually been excelled with the genetic improvement until obtaining parental lines derived from *OPACO2* with quality protein, acceptable unit yield and grain with similar characteristics to the non-modified (Mendoza *et al.*, 2006).

This plant breeding process is arduous due to the complex heritage of *opaco2* and because the endosperm development is regulated by the coordinated expression of a lot of genes (Liu *et al.*, 2003); and only few of these have been identified (Manicacci *et al.*, 2009), all this limits the use of more direct and more efficient breeding methods, such as transgenesis.

In Mexico has arisen the strategy of incorporating the favorable characteristics of QPM to the germplasm of the national breeding programs to obtain cultivars with genetic, agronomic and favorable physiological attributes for their adaptation region, and with a significant increment in the content of lysine, tryptophan and protein quality in the grain produced.

In the maize program of the Experimental Station Valle de Mexico (Chapingo, Mexico) the hybridization was employed to form QPM, strategy which takes advantage of the expression of a characteristic is higher in the progeny than in the average of the homozygous progenitors (heterosis), or than the best of these (heterobeltiosis) (Springer and Stupar, 2007).

The quantification of the genetic progress (response or gaining on each

la hibridación para formar MCP, esquema consistente en aprovechar que la expresión de una característica sea mayor en la descendencia que en el promedio de sus progenitores homocigóticos (heterosis), o bien, al mejor de éstos (heterobeltiosis) (Springer y Stupar, 2007).

La cuantificación del avance genético (respuesta o ganancia en cada ciclo de mejoramiento), ha sido útil para evaluar progenitores y su descendencia mediante la manifestación de la característica bajo mejoramiento en sus combinaciones híbridas (Iqbal *et al.*, 2010).

Con la hibridación se aparean los cromosomas de ambos progenitores y la heterosis se deriva de esa combinación alélica (Schon *et al.*, 2010) asumiendo valores proporcionales a lo positivo que ésta resulte para la expresión del carácter de interés, ya que se pueden acumular genes favorables con dominancia completa, parcial o sobredominancia, o bien, presentarse interacciones epistáticas entre distintos loci. Se considera que el primero de los fenómenos señalados es el más probable (Escorcía *et al.*, 2010).

El objetivo del presente trabajo fue determinar las características de calidad proteica de seis líneas de maíz y sus 15 cruza simples directas, en términos del contenido de lisina, triptófano, proteína total e índice de calidad proteica y con base en ellas seleccionar progenitores y combinaciones híbridas sobresalientes para el conjunto de las variables mencionadas, con respecto al promedio de progenitores o al mejor de ellos en cada cruza.

breeding cycle) has been useful to evaluate progenitors and the progeny by the characteristic under breeding on the hybrid combinations (Iqbal *et al.*, 2010).

With the hybridation, the chromosomes of both progenitors match and the heterosis derive from this allelic combination (Schon *et al.*, 2010) assuming proportional values to its positive result, since favorable genes can accumulate complete or partial dominance and overdominance, or can arise epistatic interaction among different loci. It is considered that the first phenomenon is more likely to happen (Escorcía *et al.*, 2010).

The aim of this research was to determine the protein quality characteristics of six maize lines and their 15 simple direct crosses, in terms of lysine, tryptophan, total protein and protein quality index, based on these, to select progenitors and outstanding hybrid combinations for the variables mentioned before, regarding the average of progenitors or the best of these on each cross.

Materials and methods

Genetic material. Six experimental endogamic lines of white maize were used (L_1 to L_6), derived from the opaco2 source of the International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT) and their 15 simple direct crosses. Three witnesses were included, a modified maize with high protein quality (CML503B), and two non modified with intermediate qualities (CMLBA2192503 HEW2) and low (H70, commercial hybrid) (table 1).

Materiales y métodos

Material genético. Se utilizaron seis líneas endogámicas experimentales de maíz blanco (L_1 a L_6), derivadas de la fuente de *opaco2* CML176 del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) y sus 15 cruza simples directas. Se incluyeron tres testigos, un maíz modificado con alta calidad proteica (CML503B), y dos no modificados con calidades intermedia (CMLBA2192503 HEW2) y baja (H70, híbrido comercial) (cuadro 1). La semilla de los maíces modificados y del H70 se produjo en el 2010 mediante el Programa de Maíz del Campo Experimental Valle de México del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (CEVAMEX, INIFAP), con un riego de siembra y una dosis de fertilización N 120-P 60-K 30, mientras que la de los testigos de calidades intermedia y alta fue cultivada en el CIMMYT, bajo riego y con N 180-P 90-K 60. La cosecha fue manual y las semillas se almacenaron con un contenido de humedad de entre 8 y 10% en una bodega con temperatura ambiental de 10 a 15°C ubicada en Chapingo, México, sitio con clima templado subhúmedo con lluvias en verano (Gutiérrez *et al.*, 2011).

Los experimentos se efectuaron en el 2011, bajo un diseño completamente al azar con dos repeticiones de 100 semillas, en la Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología del Instituto Politécnico Nacional y en la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Cuantificaciones químicas. Se molieron 100 semillas de cada genotipo, se desgrasaron con hexano

Seeds of modified maize and the H70 were produced in 2010 in the Maize Program at the Experimental Station Valle de Mexico, belonging to the National Institute of Forestry, Agriculture and Livestock Research (CEVAMEX, INIFAP) with a sow irrigation and a fertilization dose N 120-P 60-K 30, meanwhile those seeds of the witnesses with intermediate and high qualities were cultivated at the CIMMYT, under irrigation and with N 180-P 90-K 60. The harvest was manual and the seeds were stored with a humidity content from 8 to 10% in a cellar with an environment temperature from 10 to 15°C, located in Chapingo, Mexico, area with template sub-humid weather with rainfalls in summer (Gutiérrez *et al.*, 2011).

The experiments were carried out in 2011, using a completely randomized design with two replications of 100 seeds, at the Interdisciplinary Professional Unit of Biotechnology of the National Polytechnic Institute and the Chemistry Faculty of the National Autonomous University of Mexico.

Chemical quantifications. 100 seeds coming from each genotype were milled, defatted with hexane in a Soxhlet equipment for 6 h, 100 mg of this flour were used for the colorimetric determination of the essential amino acids, for lysine was used as base the reaction of 2-chloride, 3, 5-dinitropyridine (390 nm) and for tryptophan the glyoxylic acid (560 nm) (Galicía *et al.*, 2009). For the total nitrogen (%), the Technicon AutoAnalyzer II was used, and the protein quantity was estimated by the

Cuadro 1. Líneas y cruzas simples de maíz con calidad de proteína (MCP) y testigos utilizados (CEVAMEX, 2010).**Table 1. Lines and simple maize crosses with protein quality (QPM) and witnesses used (CEVAMEX, 2010).**

Tratamiento	Genealogía
1	Testigo no MCP (CMLBA2192503 HEW2)
2	Testigo MCP (CML503B)
3	Testigo no MCP (H70)
4	L ₁ (CH46)
5	L ₂ (CH47)
6	L ₃ (CH48)
7	L ₄ (CH49)
8	L ₅ (CH50)
9	L ₆ (CH51)
10	L ₁ x L ₂
11	L ₁ x L ₃
12	L ₁ x L ₄
13	L ₁ x L ₅
14	L ₁ x L ₆
15	L ₂ x L ₃
16	L ₂ x L ₄
17	L ₂ x L ₅
18	L ₂ x L ₆
19	L ₃ x L ₄
20	L ₃ x L ₅
21	L ₃ x L ₆
22	L ₄ x L ₅
23	L ₄ x L ₆
24	L ₅ x L ₆

en el equipo Soxhlet por 6 h y de esta harina se emplearon 100 mg para la determinación colorimétrica de los aminoácidos esenciales, para lisina se tomó como base la reacción del 2-cloro, 3, 5-dinitropiridina (390 nm) y para triptófano la del ácido glioxílico (560 nm) (Galicía *et al.*, 2009). Para nitrógeno total (%) se utilizó el método del Technicon AutoAnalyzer II y se estimó la cantidad de proteína con la ecua-

equation. Protein (%) = N₂ (%) (6.25) (Salinas and Vázquez, 2006; Galicía *et al.*, 2009). The protein quality index was calculated in relation to the tryptophan present in the total protein: IC = [Tryptophan (%) x 10²] [Protein (%)]⁻¹ (Galicía *et al.*, 2009).

Response to breeding. It estimated using the formula: genetic gain in relation to the average of progenitors in the cross (GAP) = (F₁ -

ción: Proteína (%) = N_2 (%) (6,25) (Salinas y Vázquez, 2006; Galicia *et al.*, 2009). El índice de calidad de proteína se calculó en relación al triptófano presente en la proteína total: IC = [Triptófano (%) x 10²] [Proteína (%)]⁻¹ (Galicia *et al.*, 2009).

Respuesta al mejoramiento.

Se estimó mediante las fórmulas: Ganancia genética respecto al promedio de progenitores de la crucea (GPP) = $(F_1 - PP) (10^2) (PP)^{-1}$ y Ganancia genética respecto al valor del mejor progenitor de la crucea (GMP) = $(F_1 - MP) (10^2) (MP)^{-1}$; donde F_1 = Valor de la crucea, PP = Valor promedio de progenitores de la crucea y MP = Valor del mejor progenitor de la crucea.

Análisis estadístico. Las variables se analizaron con el paquete estadístico SAS (SAS Institute, 2002), a través del análisis de varianza para un diseño completamente al azar, la comparación de medias se hizo por el método de Tukey ($\alpha=0,05$) y se calcularon los coeficientes de correlación lineal ($\alpha=0,01$) entre las variables estudiadas. Se empleó la prueba de “t” para discriminar si la media de la F_1 correspondiente fue significativamente ($\alpha=0,05$) diferente de GPP y de GMP. Previamente a su análisis, los datos porcentuales se transformaron con la función arcoseno \sqrt{x} con el fin de ajustarlos a una distribución normal (Gutiérrez *et al.*, 2011).

Resultados y discusión

Se detectaron diferencias significativas ($\alpha=0,01$) en el análisis de varianza para lisina, triptófano y cantidad y calidad proteica en los tratamientos bajo estudio (datos no incluidos), hecho indi-

PP) $(10^2) (PP)^{-1}$ and genetic gain regarding the value of the best progenitor of the cross (GBP) = $(F_1 - MP) (10^2) (MP)^{-1}$; where F_1 = value of the cross, PP = Average value of the cross progenitors and MP = value of the best progenitor of the cross.

The variables were analyzed using the statistical software SAS (SAS Institute, 2002), using the variance analysis for a completely randomized design, the mean comparison tests was carried out using the Tukey test ($\alpha=0.05$) and the linear correlation coefficients were measured ($\alpha=0.01$) among the evaluated variables. The “t” test was applied for discriminating whether the corresponding F_1 was significantly different ($\alpha=0.05$) to GPP and GMP. Before the analysis, the percentage data was transformed with the function arcise \sqrt{x} with the aim of adjusting them to a regular distribution (Gutiérrez *et al.*, 2011).

Results and discussion

Significant differences were detected ($\alpha=0.01$) in the variance analysis for lysine, tryptophan and quantity and protein quality in the wide genotypic treatments under study (data not included), fact that indicates the heterogeneity, which was also expressed in the mean comparison of the evaluated characteristics (tables 2 and 3).

The negative witnesses used (CMLBA2192503 HEW2 and H70) had a significant ($\alpha=0.05$) low content of essential amino acids, and quantity and protein quality (table 2), even though on this CMLBA2192503 HEW2 it reached an intermediate

cativo de su heterogeneidad, la cual se expresó también en la comparación de las medias de las características evaluadas (cuadros 2 y 3).

Los testigos negativos utilizados (CMLBA2192503 HEW2 y H70) tuvieron significativamente ($\alpha=0,05$) el menor contenido de aminoácidos esenciales y de cantidad y calidad de proteína

value (table 3). The positive witness (CML503B) showed the highest values ($\alpha=0.05$) in tryptophan, lysine and quantity and protein quality, even on this parameter none line or simple cross was equal (tables 2 and 3). These results served as reference to classify the modified studied genotypes by their protein quality, that is, it was

Cuadro 2. Contenido de aminoácidos esenciales en los genotipos de maíz bajo estudio.

Table 2. Content of essential amino acids in the maize genotypes under research.

Genotipo	Triptófano (%)	Genotipo	Lisina (%)
$L_2 \times L_4$	0,12 ^{af}	$L_2 \times L_6$	0,49 ^a
CML503B	0,12 ^a	L_2	0,49 ^{ab}
L_2	0,12 ^a	$L_2 \times L_4$	0,48 ^{abc}
L_3	0,12 ^{ab}	L_3	0,47 ^{bc}
$L_2 \times L_6$	0,12 ^{ab}	CML503B	0,47 ^{abcd}
$L_3 \times L_6$	0,11 ^{ab}	$L_3 \times L_6$	0,44 ^{abcde}
L_6	0,10 ^{bc}	L_6	0,43 ^{abcde}
$L_2 \times L_5$	0,09 ^{cd}	L_5	0,41 ^{abcde}
$L_3 \times L_5$	0,08 ^{cde}	$L_5 \times L_6$	0,36 ^{abcdef}
L_4	0,08 ^{cde}	$L_4 \times L_6$	0,35 ^{abcdef}
$L_5 \times L_6$	0,08 ^{cde}	$L_2 \times L_5$	0,34 ^{abcdef}
$L_1 \times L_4$	0,08 ^{def}	$L_3 \times L_5$	0,34 ^{abcdef}
$L_4 \times L_5$	0,07 ^{def}	$L_2 \times L_3$	0,32 ^{abcdefg}
$L_3 \times L_4$	0,07 ^{def}	$L_3 \times L_4$	0,31 ^{bcdefg}
$L_1 \times L_3$	0,07 ^{def}	$L_1 \times L_4$	0,31 ^{bcdefg}
$L_2 \times L_3$	0,07 ^{def}	$L_1 \times L_6$	0,31 ^{bcdefg}
L_1	0,07 ^{def}	L_4	0,30 ^{cdefg}
L_5	0,07 ^{def}	L_1	0,29 ^{defg}
$L_4 \times L_6$	0,07 ^{def}	$L_4 \times L_5$	0,29 ^{defg}
$L_1 \times L_6$	0,07 ^{ef}	$L_1 \times L_2$	0,28 ^{efg}
$L_1 \times L_2$	0,06 ^{ef}	$L_1 \times L_5$	0,28 ^{efg}
$L_1 \times L_5$	0,06 ^f	$L_1 \times L_3$	0,26 ^{efg}
CMLBA2192503 HEW2	0,06 ^f	CMLBA2192503 HEW2	0,24 ^{fg}
H70 (F1)	0,04 ^g	H70 (F1)	0,18 ^g

† = Medias con la misma letra fueron significativamente iguales ($\alpha=0,05$).

Cuadro 3. Contenido de proteína e índice de calidad proteica en los genotipos de maíz bajo estudio.**Table 3. Protein content and index of the protein quality in the maize genotypes under research.**

Genotipo	Proteína (%)	Genotipo	Índice de calidad de proteína
L ₂ x L ₃	14,8 ^{af}	CML503B	1,07 ^a
L ₃ x L ₆	14,5 ^{ab}	L ₂ x L ₄	0,89 ^b
L ₂	14,5 ^{ab}	L ₃	0,85 ^{bc}
L ₂ x L ₆	14,2 ^{abc}	L ₂	0,85 ^{bc}
L ₂ x L ₅	14,1 ^{abc}	L ₆	0,83 ^{bc}
L ₃	13,9 ^{abcd}	L ₂ x L ₆	0,81 ^{bc}
L ₂ x L ₄	13,8 ^{abcde}	L ₃ x L ₆	0,75 ^{cd}
L ₁ x L ₂	13,8 ^{abcde}	L ₅ x L ₆	0,63 ^{de}
L ₁ x L ₃	13,7 ^{bcdef}	L ₃ x L ₅	0,62 ^{de}
L ₃ x L ₅	13,5 ^{bcdefg}	L ₅	0,62 ^{de}
L ₁ x L ₄	13,5 ^{bcdefg}	CMLBA2192503 HEW2	0,60 ^{ef}
L ₄ x L ₆	13,2 ^{cdefgh}	L ₂ x L ₅	0,60 ^{ef}
L ₁	13,2 ^{cdefgh}	L ₄	0,59 ^{ef}
L ₃ x L ₄	13,1 ^{defgh}	L ₄ x L ₅	0,58 ^{ef}
L ₄ x L ₅	12,9 ^{defgh}	L ₁	0,57 ^{ef}
L ₄	12,8 ^{efgh}	L ₃ x L ₄	0,57 ^{ef}
L ₅ x L ₆	12,6 ^{fghi}	L ₁ x L ₄	0,56 ^{ef}
L ₅	12,6 ^{fghi}	L ₁ x L ₆	0,53 ^{efg}
L ₁ x L ₆	12,6 ^{fghi}	L ₁ x L ₃	0,52 ^{efg}
L ₆	12,5 ^{fghi}	L ₄ x L ₆	0,51 ^{efg}
L ₁ x L ₅	12,3 ^{hi}	L ₁ x L ₅	0,51 ^{efg}
CML503B	11,7 ⁱ	L ₂ x L ₃	0,47 ^{fg}
CMLBA2192503 HEW2	10,4 ^j	L ₁ x L ₂	0,47 ^{fg}
H70 (F1)	10,1 ^j	H70 (F1)	0,40 ^g

† = Medias con la misma letra fueron significativamente iguales ($\alpha=0,05$).

(cuadro 2), aunque en ésta CMLBA2192503 HEW2 alcanzó un valor intermedio (cuadro 3). El testigo positivo (CML503B) mostró los valores más altos ($\alpha=0,05$) en triptófano, lisina e índice de calidad de proteína, incluso en éste parámetro ninguna línea o cru-

considered QPM those that reached the double tryptophan and lysine than the negative witnesses mentioned (Mendoza *et al.*, 2006).

The criteria mentioned before to catalogue the cultivars by their protein quality is relative, since it implies

za simple lo igualó (cuadros 2 y 3). Estos resultados sirvieron de referencia para clasificar por su calidad proteica a los genotipos modificados estudiados, es decir, se consideraron MCP a los que alcanzaron el doble de triptófano y lisina que los mencionados testigos negativos (Mendoza *et al.*, 2006).

El criterio antes señalado para catalogar a los cultivares por su calidad proteica es relativo puesto que implica comparar maíces modificados con los normales de una región y en el presente estudio podrían haber influido también las ya descritas condiciones de producción de los testigos utilizados, dado que los provenientes del CIMMYT, cultivados con mayores insumos, se comportaron mejor que los cosechados en el CEVAMEX, cuyo nivel tecnológico es más cercano al prevaleciente en la región del valle de México y por ello el híbrido comercial H70 fue un buen referente para evaluar los MCP en proceso de mejoramiento; estos efectos del ambiente y del genotipo sobre la calidad proteica del maíz han sido documentados también por Vázquez *et al.* (2012).

Por otra parte, la comparación con cultivares de calidad proteica superior permitió estimar el potencial de mejoramiento de esta característica, apreciándose (cuadros 2 y 3) que es aceptable la respuesta de los cultivares experimentales en términos del contenido de proteína total y de aminoácidos libres pero hay que incidir en elevar la proporción con que éstos se incorporan a la secuencia proteica, puesto que se obtuvieron significativamente ($\alpha=0,05$) mayores proporciones de estos componentes en líneas y cruzas que en los

comparing modified maize to those regular of a region, and in the current research, the already mentioned production conditions of the used witnesses could have had an influence, since those coming from the CIMMYT, developed with high production technology, behaved much better than those cropped at CEVAMEX, which technological level is closer to the one of the Mexico valley, for this reason the commercial H70 hybrid was a good referent to evaluate the QPM under breeding process; these environmental effects and the ones of the genotype on the protein quality of maize have also been documented by Vázquez *et al.* (2012).

On the other hand, the comparison with cultivars with superior protein quality allowed estimating the breeding potential of this characteristic, evidencing (tables 2 and 3) that the response of the experimental cultivars is acceptable in terms of total protein content and free amino acids, but to increase evaluating the proportion in which these are incorporated to the protein sequence, since higher proportions of these components were obtained ($\alpha=0.05$) in lines and crosses in relation to the witnesses; however, the protein quality index in none case surpassed the value obtained by the positive witness, this implies that the increments of tryptophan and lysine achieved with the mutant gene *opa-co2* (Ufaz and Galili, 2008) are not directly added to the composition of the proteins.

Therefore, the most accurate designation of the QPM must include quality aspects (index of protein

testigos; sin embargo, el índice de calidad de proteína en ningún caso superó el valor obtenido por el testigo positivo, situación que implica que los aumentos de triptófano y lisina que se logran con el gen mutante *opaco2* (Ufaz y Galili, 2008) no se añaden directamente a la composición de las proteínas.

Por tanto, la designación más exacta de los MCP debe incluir aspectos de calidad (índice de calidad proteica), además de los cuantitativos indicados por Mendoza *et al.* (2006).

De las líneas endogámicas destacaron L_2 , L_3 y L_6 porque tuvieron significativamente ($\alpha=0,05$) la mayor cantidad de triptófano, lisina y proteína, inclusive con el doble del contenido de los aminoácidos esenciales de ambos testigos negativos (cuadros 2 y 3), por tanto, fueron *sensu stricto* las únicas líneas con calidad de proteína del experimento.

Se alcanzaron los más altos valores significativos ($\alpha=0,05$) para ambos aminoácidos en seis cruzas en las cuales intervinieron L_2 , L_3 y L_6 ($L_2 \times L_3$, $L_2 \times L_4$, $L_2 \times L_5$, $L_2 \times L_6$, $L_3 \times L_5$ y $L_3 \times L_6$) (cuadro 2), en cinco para proteína total ($L_2 \times L_3$, $L_2 \times L_4$, $L_2 \times L_5$, $L_2 \times L_6$ y $L_3 \times L_6$) y en sólo dos para el índice de calidad ($L_2 \times L_4$ y $L_2 \times L_6$) (cuadro 3); sobresalió también que todas estas cruzas fueron iguales ($\alpha=0,05$) precisamente a L_2 , L_3 y L_6 , ya antes clasificadas como MCP y las cuales en consecuencia fueron buenas progenitoras de cultivares MCP tanto en aspectos de cantidad (cuantía de aminoácidos y de proteína) como de calidad (índice de calidad proteica).

En el análisis de varianza de las ganancias genéticas se detectaron di-

quality), besides the quantitative indicated by Mendoza *et al.* (2006).

The endogamic lines L_2 , L_3 and L_6 outstanding because they had the highest quantity of tryptophan, lysine and protein, even with double the content of the essential amino acids of both negative witnesses (tables 2 and 3), therefore, they were *sensu stricto* the only lines with protein quality on this research.

The highest significant values were obtained ($\alpha=0.05$) for both amino acids in six crosses, where L_2 , L_3 and L_6 intervened ($L_2 \times L_3$, $L_2 \times L_4$, $L_2 \times L_5$, $L_2 \times L_6$, $L_3 \times L_5$ and $L_3 \times L_6$) (table 2), in five crosses for the total protein ($L_2 \times L_3$, $L_2 \times L_4$, $L_2 \times L_5$, $L_2 \times L_6$ and $L_3 \times L_6$) and two crosses for the quality protein index ($L_2 \times L_4$ and $L_2 \times L_6$) (table 3); also, all these crosses were equal ($\alpha=0.05$) to L_2 , L_3 and L_6 , previously classified as QPM, and which consequently were good progenitors of QPM, in both the quantity aspect (quantity of amino acids and protein) and the quality aspect (protein quality index).

In the variance analysis of genetic gains, highly significant differences were detected (table 4) and on the "t" test was obtained that the breeding advances reached on the protein quantity (table 5) varied very little among cultivars, and were mostly positive (GPP from -0.57 to 3.2% and GMP from -1.2 to 0.71 %), meanwhile, for all the quality measures (lysine, tryptophan and quality index) the response interval was wide, negative and with similar magnitudes among the variables and for both genetic gains, for instance, protein quality index GAP from -48.6

Cuadro 4. Cuadrados medios y significancia estadística de las ganancias genéticas obtenidas respecto al promedio de progenitores (GPP) y al mejor de ellos (GMP) para aminoácidos esenciales, proteína e índice de calidad proteica, en las cruzas simples de maíz bajo estudio.

Table 4. Mean squares and statistical significance of the genetic gains obtained regarding the average of progenitors (GAP) and the best of them (GBP) for essential amino acids, protein and index of protein quality in the simple maize crosses under research.

	GPP	GMP
Triptófano	735,2**	480,9**
Lisina	688,4**	438,7ns
Proteína	173,7**	195,0ns
Índice de calidad de proteína	584,5**	449,3**

** = Altamente significativo ($\alpha=0,01$); ns = No significativo.

ferencias altamente significativas (cuadro 4) y en la prueba de “t” se obtuvo que los avances de mejoramiento alcanzados en cantidad de proteína (cuadro 5) variaron muy poco entre cultivares y en su mayoría fueron positivos (GPP de -0,57 a 3,2% y GMP de -1,2 a 0,71%), mientras que para todas las mediciones de calidad (lisina, triptófano e índice de calidad) el intervalo de respuesta fue amplio, negativo y con magnitudes muy semejantes entre las variables mismas y para ambas ganancias genéticas, por ejemplo, índice de calidad proteica, GPP de -48,6 a -0,2% y GMP de -50,3 a -0,6%), datos coincidentes con reportes de avances genotécnicos negativos para contenidos químicos de maíz (Iqbal *et al.*, 2010).

Respecto a la consistencia de las cruzas en los distintos parámetros evaluados, destacó $L_2 \times L_6$ (ambas líneas sobresalientes) porque su GPP fue altamente significativa ($\alpha=0,01$) y favo-

to -0.2% and GBP from -50.3 to -0.6%, data which agreed to the reports of the negative genetic advances for chemical contents of maize (Iqbal *et al.*, 2010).

Regarding the consistency of the crosses in the different parameters evaluated, $L_2 \times L_6$ highlighted (both outstanding lines) because their GAP was highly significant ($\alpha=0.01$) and favorable in quantity of protein (2.3%) in their quality index (-0.5%), and also by their GBP in all the parameters, here, the increment in protein and amino acids had an effect in the quality index; $L_1 \times L_4$ and $L_4 \times L_5$ showed acceptable levels in both genetic gains for tryptophan, lysine and quality index, thus, transcending the quantity of amino acids to the protein quality, though the values are lower to those of the first cross mentioned, therefore, it is possible to mention that in these hybrids conditions the quantitative and qualitative effects combined positively; situation that was not

Cuadro 5. Ganancias genéticas (%) obtenidas respecto al promedio de progenitores (GPP) y al mejor de ellos (GMP) para aminoácidos esenciales, proteína e índice de calidad proteica, en las cruizas simples de maíz bajo estudio.

Table 5. Genetic gains (%) obtained regarding the average of progenitors (GAP) and the best of them (GBP) for essential amino acids, protein and index of protein quality in the simple maize crosses under research.

Genotipo	Triptófano		Lisina		Proteína		Índice de calidad de proteína	
	GPP	GMP	GPP	GMP	GPP	GMP	GPP	GMP
L ₁ x L ₂	-34,4**	47,1**	-22,8**	-46,9**	-0,01**	-0,85**	-30,1**	-48,6**
L ₁ x L ₃	-26,3**	-17,9**	-27,3**	-19,5**	0,04**	0,04**	-20,4**	-14,0**
L ₁ x L ₄	0,1ns	0,0**	0,6ns	0,1**	0,42**	0,15**	-0,2**	-0,6**
L ₁ x L ₅	-17,3**	-19,1**	-10,9**	-22,6**	-0,57**	-1,20**	-5,6**	-8,9**
L ₁ x L ₆	-25,7**	-36,0**	-5,5**	-21,0**	-0,11**	-0,61**	-17,4**	-35,5**
L ₂ x L ₃	-41,8**	-42,7**	-31,9**	-34,6**	0,57**	0,12**	-48,6**	-50,3**
L ₂ x L ₄	23,6ns	0,0**	10,6ns	-0,4**	0,05**	-0,67**	15,8ns	0,7ns
L ₂ x L ₅	-14,9**	-30,6**	-14,3**	-28,5**	0,55**	-0,23**	-9,2**	-22,9**
L ₂ x L ₆	3,7ns	-0,1**	1,9ns	0,3**	2,30**	0,66**	-0,5**	-1,0**
L ₃ x L ₄	-23,4**	-45,9**	-11,0**	-30,5**	-0,11**	-0,98**	-14,5**	-30,5**
L ₃ x L ₅	-14,5**	-29,1**	-14,6**	-27,6**	0,16**	-0,20**	-7,3**	-20,8**
L ₃ x L ₆	-1,5**	-8,0**	-0,6**	-1,9**	3,20**	0,71**	-3,7**	-4,6**
L ₄ x L ₅	-3,2**	-5,1**	-8,7**	-18,8**	0,08**	0,00**	-0,7**	-1,4**
L ₄ x L ₆	-24,1**	-34,5**	-0,9**	-10,8**	0,60**	0,29**	-21,6**	-38,3**
L ₅ x L ₆	-12,8**	-23,7**	-4,6**	-14,3**	0,02**	-0,01**	-5,7**	-17,5**

** = Altamente significativo ($\alpha=0,01$); ns = No significativo.

rable en cantidad de proteína (2,3%), en el índice de calidad de la misma (-0,5%) y también por su GMP en todos los parámetros, en ella el incremento en proteína y aminoácidos si repercutió en el índice de calidad; $L_1 \times L_4$ y $L_4 \times L_5$ mostraron valores aceptables en ambas ganancias genéticas para triptófano, lisina e índice de calidad, es decir, también trascendió la cantidad de aminoácidos a la calidad de la proteína aunque sus valores son menores a los de la primera cruce mencionada, por lo cual es posible señalar que en estas combinaciones híbridas se conjuntaron positivamente efectos cuantitativos y cualitativos; situación que no se presentó en las cruces $L_2 \times L_4$, $L_3 \times L_6$ y $L_4 \times L_6$ con GPP favorable pero sólo en lisina, triptófano y proteína.

En las referidas combinaciones híbridas favorables pudo haberse establecido la condición homocigótica recesiva del gen *opaco2* (*o2o2*) con el consiguiente aumento de lisina, triptófano y proteína; sin embargo, el avance genotécnico es reducido por la compleja herencia de la calidad de proteína, ya que durante el desarrollo del endospermo se expresan muchos genes (Liu *et al.*, 2003) con interacciones y magnitudes diferentes y altamente afectados por el ambiente.

Además, la interacción de los alelos involucrados en la calidad proteica está en función de la acción génica que se genere entre ellos, de cómo ocurra la transcripción de la característica y de la diversidad genética de las líneas (Schon *et al.*, 2010). En este sentido, las líneas bajo estudio tuvieron una base genética común y estrecha ya que comparten la fuente de *opaco2* (CML176), hecho que aunado a lo

observed in the crosses $L_2 \times L_4$, $L_3 \times L_6$ and $L_4 \times L_6$ with a favorable GAP, but only in lysine, tryptophan and protein.

In the referred favorable hybrid combinations, a recessive homozygous condition of the *opaco2* gene (*o2o2*) could had established with the increment of lysine, tryptophan and protein; however, the genetic advance was reduced by the complex heritage of the protein quality, since during the development of the endosperm, many genes are expressed (Liu *et al.*, 2003) with different interactions and magnitudes, and highly affected by the environment.

Also, the interaction of the alleles involved in the protein quality is in function of the gene action generated among them, the transcription characteristics and the genetic diversity of the lines (Schon *et al.*, 2010). On this sense, the lines under research, had a common and narrow origin, since they share the source of *opaco2* (CML176), situation that joined to the fact of the complex expression of the protein quality, might explain that not all the crosses were identified as a outstanding QPM.

The referred statistical equality detected between the crosses and lines in the essential amino acids, protein and the quality, as well as the positive GAP of the total protein, and the negative GAP (table 5), indicate that the protein increased and remained quality protein properties of lines, fact that is relevant due to it is about a quantitative characteristic handling by hybridation, and in the second aspect, is a qualitative characteristic with Mendelian heritage that is usable by selection, thus, both are different

complejo de la expresión de la calidad proteica, pudiera explicar que no todas las cruzas hayan sido destacadas.

La referida igualdad estadística detectada entre cruzas y líneas en aminoácidos esenciales, proteína y calidad de ésta, así como la GPP positiva de proteína total y la escasamente negativa de los aspectos de calidad (cuadro 5), indican que se logró incrementar la proteína y se mantuvieron las propiedades de calidad proteica de las líneas, hecho relevante dado que en el primer caso se trata de una característica cuantitativa manejable por hibridación y en el segundo de una cualitativa con herencia Mendeliana que se aprovecha por selección, siendo entonces procesos distintos y debido a esto, en la mayoría de las cruzas, los aumentos en la cantidad de proteína y aminoácidos no se reflejaron en la composición aminoacídica de las proteínas.

Ambos aminoácidos evaluados tuvieron una correlación alta y significativa ($\alpha=0,01$) con el índice de calidad proteica (cuadro 6) y el triptófano presentó la más alta ($r=0,9$), por lo que resultó un buen indicador del balance de aminoácidos en la proteína de los cultivares, aunque existen también reportes que toman como referente a la lisina porque su contenido en la composición de las proteínas duplica el de triptófano (Zarkadas *et al.*, 2000).

Además, la cuantía de proteína no correlacionó con el índice de calidad, resultado que evidencia también que el proceso para mejorar el balance de aminoácidos no depende solo de la cantidad de triptófano o lisina y apoya el argumento de que estos procesos tienen distinto control genético y bioquímico.

processes, and in most of the crosses the increments in the quantity of protein and amino acids were not impacted in the amino acid composition of the proteins.

Both amino acids evaluated had a high and significant correlation ($\alpha=0.01$) with the index of the protein quality (table 6), and the tryptophan had the highest correlation ($r=0.9$), resulting a good indicator of the amino acids balance in the protein of the cultivars, even though there are reports that consider as referent the lysine, because its content in the composition of the proteins duplicates the tryptophan (Zarkadas *et al.*, 2000).

Also, the quantity of protein was not related to the quality index, result that proves that the process to improve the amino acids balance does not only depend on the quantity of tryptophan or lysine, and supports the fact that these processes have different genetic and biochemical control.

Conclusions

The lines L_2 , L_3 and L_6 and the crosses $L_2 \times L_4$ and $L_2 \times L_6$ were identified as protein quality maize, the first by their content of tryptophan and lysine, and the second because also showed a high protein quality index.

The cross $L_2 \times L_6$ also highlighted by its genetic gain ($\alpha=0.01$) on protein progenitors (2.3%) and the quality index (-0.5%), because it surpassed the best progenitors in all the parameters and because on this cross the increment in the protein and in the amino acids did have an effect on the quality index.

Cuadro 6. Correlación lineal para aminoácidos esenciales, contenido de proteína e índice de calidad proteica en los genotipos de maíz bajo estudio.

Table 6. Linear correlation for the essential amino acids, protein content and index of the protein quality in the maize genotypes under research.

	Triptófano	Lisina	Proteína	Índice de calidad de proteína
Triptófano	1,0	0,8**	0,5**	0,9**
Lisina		1,0	0,5**	0,7**
Proteína			1,0	0,2ns
Índice de calidad de proteína				1,0

** = Altamente significativo ($\alpha=0,01$) ns = No significativo.

Conclusiones

Se identificaron como maíces con calidad proteica a las líneas L_2 , L_3 y L_6 y a las cruzas $L_2 \times L_4$ y $L_2 \times L_6$, las primeras por sus contenidos de triptófano y lisina y las segundas porque además de esto expresaron alto índice de calidad de proteína.

La crusa $L_2 \times L_6$ destacó también por su ganancia genética ($\alpha=0,01$) sobre progenitores en proteína (2,3%) y en el índice de calidad de la misma (-0,5%), porque superó al mejor progenitor en todos los parámetros y porque en ella el incremento en proteína y aminoácidos si repercutió en el índice de calidad.

La cantidad de proteína no correlacionó con su índice de calidad, pero triptófano y lisina si lo hicieron alta y significativamente ($\alpha=0,01$), alcanzando el primero de ellos el valor más alto ($r=0,9$).

En las cruzas sobresalientes ($L_2 \times L_6$, $L_2 \times L_4$, $L_1 \times L_4$ y $L_4 \times L_6$), con la

The quantity of protein did not have any correlation to its quality index, however, tryptophan and lysine was high and significant ($\alpha=0.01$), reaching the highest value ($r=0.9$).

In the outstanding crosses ($L_2 \times L_6$, $L_2 \times L_4$, $L_1 \times L_4$ and $L_4 \times L_6$), the levels of tryptophan, lysine and total proteins increased with the hybridation, and the properties of the protein quality of the lines kept steady, that is, were positively joined the quantitative and qualitative effects involved in the process.

Acknowledgement

The authors want to thank the INIFAP, UNAM and the Project SIP-IPN 2012-2013.

End of english version

hibridación se incrementaron los niveles de triptófano, lisina y proteína total y se mantuvieron las propiedades de calidad proteica de las líneas *per se*, es decir, se conjuntaron positivamente los efectos cuantitativos y cualitativos involucrados en el proceso.

Agradecimientos

Extendemos nuestra gratitud al INIFAP, a la UNAM y al Proyecto SIP-IPN 2012-2013.

Literatura citada

- Escorcia Gutiérrez N., J.D. Molina Galán, F. Castillo González, J.A. Mejía Contreras. 2010. Rendimiento, heterosis y depresión endogámica de cruzas simples de maíz. *Rev. Fitotec. Mex.* 33 (3):271- 279.
- Fernández Suárez R., L.A. Morales Chávez y A. Gálvez Mariscal. 2013. Importancia de los maíces nativos de México en la dieta nacional. Una revisión indispensable. *Rev. Fitotec. Mex.* 36 Supl. 3-A:275-283.
- Galicia L., E. Nurit, A. Rosales and N. Palacios-Rojas. 2009. Laboratory protocols: Maize nutrition quality and plant tissue analysis laboratory. CIMMYT. El Batán, Texcoco, México. 42 pp.
- Gutiérrez Hernández G.F., J.M. Vázquez Ramos, E. García Ramírez, M.O. Franco Hernández, J.L. Arellano Vázquez y D. Durán Hernández. 2011. Efecto del envejecimiento artificial de semillas de maíces criollos azules en su germinación y huella genómica. *Rev. Fitotec. Mex.* 34 (2):77- 84.
- Iqbal M., K. Khan, H. Rahman, I.H. Khalil, H. Sher and J. Bakht. 2010. Heterosis for morphological traits in subtropical maize (*Zea mays* L.). *Maydica* 55:41-48.
- Liu K.J., M. Goodman, S. Muse, J.S. Smith, E. Buckler and J. Doebley. 2003. Genetic structure and diversity among maize inbred lines as inferred from DNA microsatellites. *Genetics* 165:2117- 2128.
- Manicacci D., L. Camus-Kulandaivelu, M. Fourmann, Ch. Arar, S. Barrault, A. Rousselet, N. Feminias, L. Consoli, L. Francès, V. Méchin, A. Murigneux, J.L. Prioul, A. Charcosset and C. Darneval. 2009. Epistatic interactions between *Opaque2* transcriptional activator and its target gene *CyPzPDK1* control kernel trait variation in maize. *P. Physiol.* 150:506 - 520.
- Mendoza-Elos M., E. Andrio-Enríquez, J.M. Juárez-Goiz, C. Mosqueda-Villagómez, L. Latournerie-Moreno, G. Castañón-Nájera, A. López-Benítez y E. Moreno-Martínez. 2006. Contenido de lisina y triptófano en genotipos de maíz de alta calidad proteica y normal. *Rev. Univ. y Ciencia* 22 (2):153-161.
- Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos y Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (OCDE/FAO). 2011. *Perspectivas Agrícolas 2011-2020*. OECD Publishing/FAO. 227 pp.
- Paredes López O., L.F. Guevara, P.L.A. Bello. 2008-2009. La nixtamalización. *Rev. Ciencias UNAM* 92/93:60-70.
- Salinas M.Y. y C.G. Vázquez. 2006. Metodologías de análisis de la calidad nixtamalera-tortillera en maíz. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). México D. F. F. Téc. 23. 91 pp.
- Serna S.S.O., G.C.A. Amaya, M.P. Herrera, C.J.L. Melesio, O.R.E. Preciado, I.A.D. Terrón and C.G. Vázquez. 2008. Evaluation of the lime-cooking and tortilla making properties of quality protein maize hybrids grown in Mexico. *P. Food Human Nutr.* 63:119-125.
- SAS, Statistic Analysis System. 2002. SAS/STAT. Ver. 9. SAS Inst. Inc. Cary NC, USA.
- Schon C.C., B.S. Dhillon, H.F. Utz and A.E. Melchinger. 2010. High congruency

- of QTL positions for heterosis and grain yield in three crosses of maize. *Theor. Appl. Genet.* 120:321-332.
- Springer N.M. and R.M. Stupar. 2007. Allelic variation and heterosis in maize: How to two halves make more than a whole? *Genome Res.* 17:264-275.
- Ufaz S. and G. Galili. 2008. Improving the content of essential amino acids in crop plants: Goals and opportunities. *P. Physiol.* 147: 954 - 961.
- Vázquez C.G.M., A.H. Mejía, C.C. Tout y M.N. Gómez. 2012. Características de granos y tortillas de maíces de alta calidad protéica desarrollados para los valles altos centrales de México. *Rev. Fitotec. Mex.* 35 (1):23-31.
- Zarkadas C.G., R.I. Hamilton, Z.R. Yu, V.K. Choi, S. Khanizadeh, N.G.W. Rose, P.L. Pattison. 2000. Assessment of the protein quality of 15 new northern adapted cultivars of quality protein maize using amino acid analysis. *J. Agric. Food Chem.* 48:5351-5361.