

DESCRIPCION COMPARATIVA DE LOS EFECTOS EN EL GRANO DE MAIZ DE LOS GENES OPACO-2 (o_2) Y HARINOSO-2 (fl_2).

Federico R. Poey D.

RESUMEN

Los genes opaco-2 (o_2) y harinoso-2 (fl_2) modifican la proteína del endospermo del maíz, actuando como inhibidores de la síntesis de zeína (proteína de baja calidad) que resulta en mayores proporciones relativas de los aminoácidos esenciales lisina y triptofano. Sin embargo, estos genes varían entre sí en la magnitud de sus efectos tanto en la proteína como en otras características físicas del grano. La herencia de o_2 es recesiva y la de fl_2 semidominante, demostrándose efecto de dosis genéticas del endospermo en la calidad de la proteína en fl_2 pero no en o_2 , donde es necesario la condición homocigota. Opaco-2 duplica el contenido de lisina y triptofano y reduce el contenido de proteína del endospermo y aumenta el peso del germen en cruzamientos y fraternales. Harinoso-2, aumenta la lisina y triptofano en menor intensidad y más inconsistentemente, pero aumenta el contenido de metionina y proteína del endospermo en algunos materiales; el peso de grano entero se reduce con más intensidad en genotipos o_2 que en fl_2 . El tamaño de grano se incrementa en fl_2 y se mantiene constante en o_2 . La pérdida de densidad es similar para ambos mutantes. Granos o_2 retienen más humedad, y fl_2 retienen menos que los granos normales. Se describen los tipos de proteína y sus respectivas proporciones en las diferentes partes del grano de maíces o_2 , fl_2 y normal.

SUMMARY

The opaque-2 and floury-2 genes modify the protein of the endosperm of corn, acting as inhibitors of the synthesis of zein (protein of low quality) that results in a larger relative proportion of the essential amino acids lysine and tryptophan. However, these genes vary in the magnitude of their effects in protein and in other physical characteristics of the grain. The inheritance of o_2 is recessive and that of fl_2 semidominant and depends on the genetic dosage in the endosperm for the quality of the protein. In o_2 a triploid homozygous condition is necessary to produce the high quality protein. Opaque-2 doubles both the lysine and tryptophan content, reduces total protein of the endosperm and increases the weight of the germ in the crosses and sib increases. Floury-2 is less effective in increasing lysine and tryptophan and more inconsistent, but increases the content of methionine and protein of the endosperm in some backgrounds; the weight of whole grain is reduced more in o_2 genotypes than in floury-2. The size of grain is increased in floury-2 and is maintained constant in o_2 . The loss of density is similar for both mutants. Opaque-2 kernels retain more humidity and floury-2 kernels retain less than normal kernels. The types of protein and the respective proportions in the different parts of the grain of o_2 , fl_2 and normal maize kernels are described.

Los genes opaco-2 (o_2) y harinoso-2 (fl_2) modifican la proteína del endospermo de maíz actuando como inhibidores de la síntesis de zeína (proteína de baja calidad), que resultan en mayores proporciones relativas de los aminoácidos esenciales lisina y triptofano. Sin embargo, estos genes varían entre sí, en la magnitud de sus efectos, tanto en la proteína como en otras características físicas del grano.

La herencia de o_2 es recesiva y la de fl_2 semidominante, demostrándose efecto de dosis genéticas del endospermo en la calidad de la proteína en fl_2 pero no en o_2 , donde es necesario la condición homocigota. Opaco-2 duplica el contenido de lisina y triptofano y reduce el contenido de proteína del endospermo y aumenta el peso del germen en cruzamientos y fraternales. Harinoso-2 aumenta la lisina y triptofano en menor intensidad y más inconsistentemente, pero aumenta el contenido de metionina y proteína del endospermo en algunos materiales; el peso del germen se aumenta en cruzamiento pero no en fraternales. El peso de grano entero se reduce con más intensidad en genotipos o_2 que en fl_2 . El tamaño del grano se incrementa en fl_2 y se mantiene constante en o_2 . La pérdida de densidad es similar para ambos mutantes. Granos o_2 retienen más humedad, y fl_2 retiene menos que los granos normales.

Se describen los tipos de proteína y sus respectivas proporciones en las diferentes partes del grano de maíces o_2 , fl_2 y normal.

Los genes opaco-2 (o_2) y harinoso-2 (fl_2) fueron identificados con anterioridad a 1935 como modificadores fenotípicos del endospermo de maíz (Emerson, et al 1935), pero no fue sino hasta 1964 y 1965, respectivamente, cuando se descubrió su efecto en el mejoramiento de la calidad de la proteína (Mertz et al, 1964 y Nelson et al, 1965).

Para comprender los cambios motivados por estos genes conviene primero, describir los tipos de proteína y su distribución en el grano de maíz.

De acuerdo con su solubilidad en diferentes agentes, las proteínas se clasifican en cuatro grupos

principales: albúminas, globulinas, glutelinas y prolaminas (Osborne y Mendel, 1914). Las dos primeras se caracterizan por una calidad excelente y corresponden principalmente a las proteínas del germen. Las glutelinas y prolaminas, también llamadas de reserva, son proteínas de inferior calidad. De éstas, las del grupo prolaminas, que en maíz se denomina zeína, es la de más baja calidad y también la de mayor concentración en el endospermo.

La calidad de cada tipo de proteína está determinada por la proporción o balance de los aminoácidos que la componen. Algunos de éstos son más importantes que otros por la razón de que no pueden ser sintetizados por animales monogástricos, y por lo tanto se les denomina esenciales. La zeína, por ejemplo, carece prácticamente de lisina y triptófano, dos de los aminoácidos esenciales más frecuentemente limitantes en las dietas de animales monogástricos.

Al parecer, la forma en que los genes o_2 y fl_2 modifican la proteína del endospermo es actuando como inhibidores en la síntesis de zeína, durante el desarrollo del endospermo. De este modo se aumentan proporcionalmente las proteínas de mejor calidad (Mertz, 1968).

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

Puede apreciarse en los maíces o_2 y fl_2 como la zeína se reduce prácticamente a la mitad, mientras que aumentan todas las otras proteínas de mejor calidad. En el Cuadro 1 se detalla el contenido de los aminoácidos esenciales para grano entero de maíz normal, opaco-2 y harinoso-2 (Nelson, 1969). Se puede observar el notable incremento de lisina y triptófano en los maíces o_2 y fl_2 .

Los efectos genéticos de ambos mutantes en el fenotipo y calidad de la proteína del endospermo son similares, aunque en particular, varían notablemente entre sí, tanto en los efectos de la proteína como en otras características físicas del grano.

A continuación se resumen algunas comparaciones interesantes reportadas sobre estos genes.

Herencia de o_2 y fl_2

La herencia de estos mutantes es tan diferente entre sí, que su incorporación a maíces normales requiere de métodos diferentes. Conviene recordar que la herencia del endospermo está gobernada por tres gametos (triploide), dos que son aportados por el óvulo y

uno por el polen, en tanto que el germen es de naturaleza diploide. Debe tenerse presente también que el grano de maíz representa una generación más avanzada que la planta madre, aunque, por depender fisiológicamente de ella, los efectos fenotípicos estarán altamente influenciados por los efectos ambientales asociados a ella.

La manifestación fenotípica del gene o_2 depende de un mecanismo recesivo clásico Mendeliano, y para manifestar su fenotipo necesita estar en forma homocigota. Se entiende por fenotipo la calidad de la proteína además de la apariencia del grano. Esta condición implica que las tres dosis genéticas del endospermo tienen que ser o_2 para manifestar su calidad proteica y fenotipo amiláceo.

En algunos materiales segregantes de o_2 , se han observado desviaciones consistentes en obtener mayores frecuencias de granos normales que las esperadas. Esto se ha explicado como consecuencia de segregación gamética preferencial (Poey, 1970c).

El gene fl_2 , sin embargo, actúa como semidominante ya que su fenotipo se manifiesta también en granos heterocigotes con dos dosis del mutante (Nelson, 1969). En algunos materiales actúa como dominante, inclusive ante la presencia de una sola dosis. Su efecto en la calidad de proteína se ha reportado como aditivo, de acuerdo con el número de dosis de fl_2 presentes en el endospermo (Paez et al, 1970).

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

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

Efectos en la proteína del endospermo

En cuanto a la calidad de la proteína, o_2 parece ser más eficiente en aumentar el contenido de lisina y triptófano que fl_2 (Nelson et al, 1964). En un estudio realizado en Chapingo (Poey, 1970b) con 50 mazorcas segregantes para el locus o_2 y otras 50 segregantes pa-

ra fl_2 , se encontró que, en promedio, los granos o_2 duplicaron el contenido de triptófano en el endospermo, mientras que fl_2 lo aumentó en aproximadamente 50%. Estos resultados se resumen en el Cuadro 2. El contenido de lisina del endospermo se encuentra altamente correlacionado con el de triptófano ($r = .81$, Hernández y Bates, 1969) razón por la cual se consideró el contenido de triptófano en la proteína, para éste y otros estudios, como criterio de medida de la calidad de la proteína del endospermo.

La cantidad total de proteína en el maíz es tan importante como la calidad desde un punto de vista nutricional, y los genes o_2 y fl_2 parecen afectar diferentemente este criterio.

El contenido de proteína total del endospermo de las muestras mencionadas antes, disminuyó en los granos o_2 y aumentó en los fl_2 . Nelson reportó, en comparaciones de tres líneas isogénicas fl_2 y normal, incrementos relativos de más del 50%, según análisis de grano entero. Estos incrementos fueron de 10.9 a 15.7%, de 9.7 a 14.8% y de 11.5 a 14.1% (Nelson, 1969). Un estudio posterior, también realizado en Chapingo y en el cual se utilizaron varias mazorcas de 13 familias genotípicamente diferentes, confirmó la disminución de contenido de proteína en el endospermo de los materiales o_2 y un efecto inconsistente en esa variable en las familias fl_2 (Poey y Villegas, 1969). Estos datos se resumen en el Cuadro 3. En estas variables se puede observar también la misma tendencia de duplicarse el contenido de triptófano de la proteína en el endospermo de los granos o_2 , mientras que en los fl_2 este incremento es menor.

Efectos en el peso, volumen y densidad del grano.

Estas variables se estudiaron en las 50 mazorcas segregantes por cada gene del primer estudio realizado en Chapingo (Poey, 1970a). Se compararon los granos normales y los segregantes para cada mutante. Los resultados se resumen en el Cuadro 4.

Se puede apreciar que o_2 ocasionó una pérdida de peso del 13% contra 9% en el caso de la comparación de los granos fl_2 con los normales. En la variable volumen del grano (tamaño) fl_2 acusó un aumento significativo, mientras que en la comparación de las muestras o_2 éstos valores fueron similares. La pérdida de densidad fue de 12% aproximadamente y estadísticamente igual en ambos mutantes.

Efectos de cruzamiento y selección

En un estudio llevado a cabo en la Universidad de Purdue se compararon los efectos de cruzamiento en materiales isogénicos con ambos mutantes (Sreeramulu et al, 1970). Se encontró que al cruzar ambos

mutantes entre sí, pero en genotipos no emparentados se aumentó significativamente el peso de grano y el peso de grano por mazorca. Este aumento fue mayor que el encontrado en el cruzamiento de los mismos genotipos sin los genes o_2 o fl_2 . Al cruzarse fraternalmente, el peso del germen de los dos mutantes fue superior al de los correspondientes genotipos normales. Al cruzarse líneas con estos mutantes pero en genotipos no emparentados, se aumentó el peso del endospermo en los tres tipos o_2 , fl_2 y normal, y también el del germen en o_2 y normal, pero no en fl_2 .

Otras cualidades de índole práctica fueron estudiadas en maíces fl_2 y o_2 en la Universidad de Missouri, y se concluyó también que había algunas diferencias significativas en el comportamiento de ambos mutantes. La humedad del grano a la cosecha fue mayor en los maíces o_2 que en los normales y menor en los fl_2 . La selección fue efectiva para obtener precocidad en las progenies de fl_2 . La selección de alto y bajo contenido de humedad dentro de cada grupo fue también efectiva, sin que esto influyera en la densidad o quebraduras del grano (Paez et al, 1969a).

Efectos modificadores del fenotipo

Se han observado fenotipos modificados en granos o y fl_2 que consisten en proporciones variables de endospermo córneo. Estudios realizados en materiales o_2 con estos fenotipos modificados sugieren compatibilidad de la calidad de la proteína con aumentos en la densidad e inclusive con endospermo de apariencia totalmente córnea en maíces homocigotes o_2 .

El primer reporte sobre este fenotipo modificado fue realizado en Missouri (Paez et al, 1969). Su estudio describe un fenotipo con la mitad inferior del grano amiláceo y la superior normal o córnea. Ambas porciones demostraron contenido semejante de proteína, comparable a los totalmente amiláceos. En otro trabajo más reciente, en Chapingo (Poey y Villegas, 1970), se analizaron muestras de endospermo similares a las reportadas en Missouri, y otras de proporciones variables de endospermo córneo. Se encontró en los modificados una tendencia a un mayor contenido de proteína, pero de menor contenido de triptófano en la proteína. Sin embargo, la gran variabilidad observada en éstos valores sugiere buenas posibilidades de selección positiva en estas variables.

La presencia simultánea y homocigota para ambos mutantes o_2 y fl_2 había sido reportada como causa de un fenotipo prácticamente normal (Nelson, 1966). Sin embargo, un estudio de frecuencias fenotípicas realizado en Chapingo con estos genotipos, sugiere el efecto de un mecanismo modificador que en presencia de ambos genes, o de uno de ellos, es la causa del cambio

fenotípico y no el efecto epistático entre o_2 y fl_2 .

Evaluación nutricional

El valor biológico de la proteína de estos maíces, especialmente el o_2 , ha sido ampliamente confirmado en animales monogástricos. Con el maíz fl_2 no se han realizado tantas evaluaciones nutricionales, pero se pueden citar los trabajos de Cromwell et al (1968) con pollos, y de Harpstead et al (1969) con niños desnutridos, como evidencia de su superior valor nutritivo. En la alimentación de pollos se concluyó que la superioridad del maíz, fl_2 se debió a su mayor contenido de triptofano y metionina. En los niños desnutridos la retención de nitrógeno en los alimentos con maíz fl_2 fue cuatro veces superior a la obtenida por maíz normal. Este resultado fue similar al obtenido con maíz o_2 .

En México, el Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias (INIP) comprobó la calidad superior del maíz o_2 , al comparar la ganancia en peso de cerdos con ambos tipos de maíces (Martínez y Shimada, 1970). A los 56 días, a una parte de los animales de cada tratamiento se les cambió el tipo de maíz, mientras que el resto siguió con la dieta inicial. Fue evidente la superioridad del maíz o_2 sobre el normal, tanto en los animales alimentados desde el inicio con o_2 como en los que se les cambió la dieta a los 56 días. En la Figura 2 se resumen estos resultados.

En pollos, los investigadores del INIP obtuvieron resultados altamente significativos en cuanto a eficiencia y lograron aumentos de peso por ave en la cuarta semana, de 792 gramos con dieta a base de maíz

o_2 , contra aumentos de 253 gramos con dieta de maíz normal (Cuca, et al, 1970).

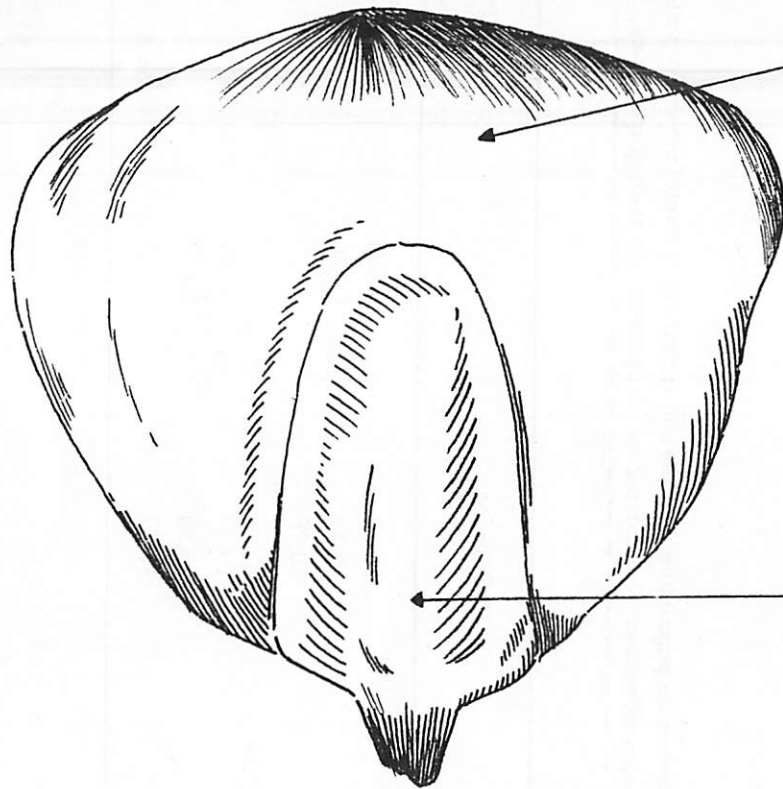
Sin embargo, ha sido en pruebas con niños desnutridos donde estos nuevos maíces han demostrado los resultados más dramáticos. En Guatemala, el Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá (IN-CAP), demostró que la retención de nitrógeno en niños al suministrárseles maíz o_2 fue similar en un 90% de la obtenida con leche, mientras que el maíz corriente produjo retenciones cinco veces menores que la leche en un niño, y en otro ocasionó retención negativa (Bressani, 1968).

En la Universidad del Valle, en Cali, Colombia, dos niños gravemente desnutridos de edad cronológica de 6 años pero con equivalentes a 1.4 y 1.7 años, respectivamente, no sólo se recuperaron de los efectos de la desnutrición, sino que aumentaron peso y restauraron el crecimiento de huesos con dietas cuya única fuente de proteína fue el maíz o_2 (Harpstead et al, 1969).

Estos datos sólo representan parte de algunas observaciones y conclusiones experimentales que respaldan la esperanza de convertir el maíz en un alimento balanceado para animales monogástricos, incluyendo al hombre.

Para México, donde el maíz significa la más importante fuente de proteínas de su población, realizar esa esperanza constituye un inaplazable reto a aquellos que en alguna forma intervienen en el mejoramiento, producción y comercialización del maíz.

FIGURA 1. Distribución de la proteína y sus componentes en el grano de maíz (Concon, 1966, Nelson, 1969)



ENDOSPERMO: 75-85% de la proteína total.

	% de la proteína		
	Normal	Opaco-2	Harinoso-2
Albúminas	3.8	12.1	9.6
Globulinas	2.0	5.1	7.3
Prolaminas (zeína)	55.1	22.9	29.0
Glutelinas	31.8	50.1	40.8

GERMEN: 15-20% de la proteína total.

	Normal
Albúminas y Globulinas	30-40
Prolaminas (zeína)	5-10
Glutelinas	49-54

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

AMINOACIDO	Común	Opaco-2	Harinoso-2
Lisiana	3.0	5.0	4.8
Triptofano	0.7	1.3	- -
Treonina	4.1	3.8	4.1
Cistina	1.7	2.0	1.6
Valina	5.7	5.2	5.7
Metionina	1.3*	2.2	2.7
Isoleucina	4.2	3.4	4.0
Leucina	14.6	9.3	12.0
Tirosina	5.2	4.2	4.6
Fenilalanina	5.8	4.4	5.2

*Más bajo de lo esperado; algo pudo ser destruido por la hidrólisis.

CUADRO 2. Promedios de porcentos de proteína, triptofano, y triptofano en la proteína de granos normales y opaco-2, y normales y harinoso-2 en 50 mazorcas de cada grupo (Poey, 1970b).

	%Proteína	% Triptofano	% Triptofano en la Proteína
Normal	11.59	0.043	0.38
Opaco-2	9.92	0.080	0.81
Promedio	10.76		
Normal	13.04	0.044	0.34
Harinoso-2	13.58	0.077	0.57
Promedio	13.31		

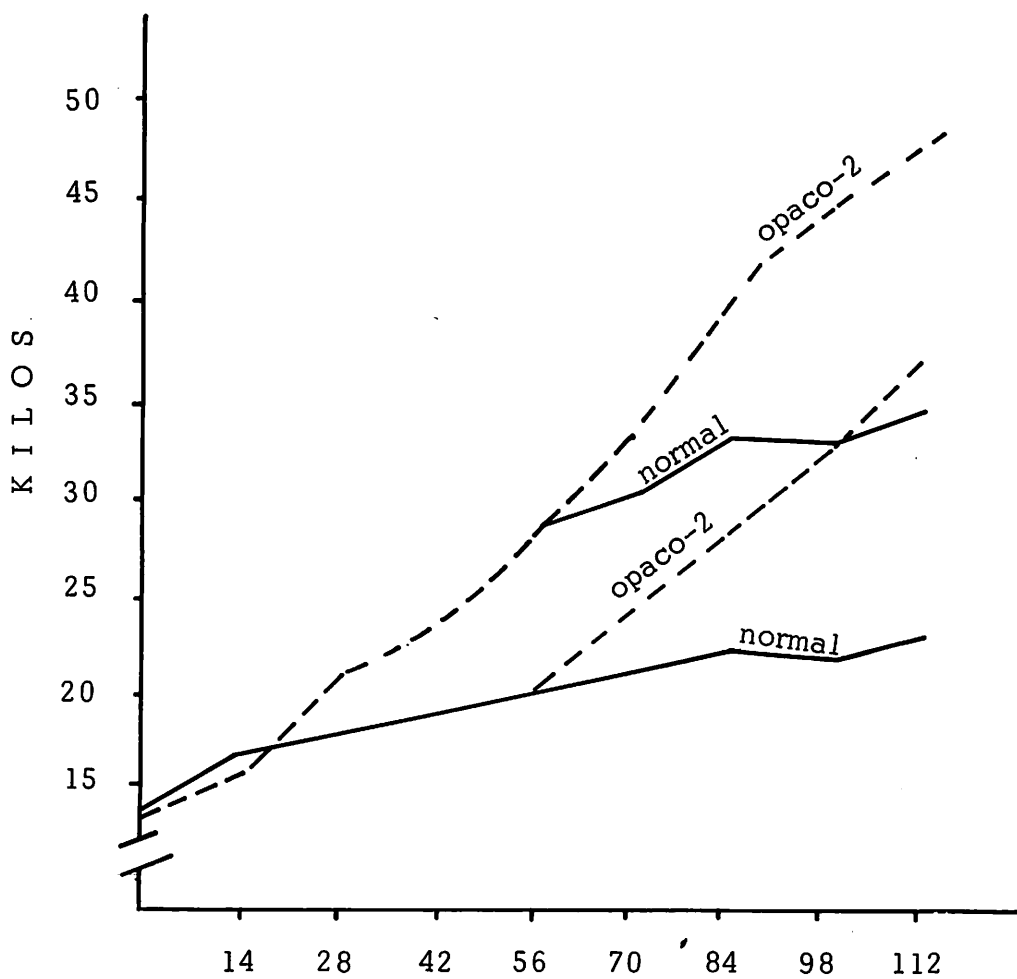
CUADRO 3. Promedio de contenido de proteína y triptofano de endospermo de granos normales y opaco-2 y de normales y harinoso-2 de 30 y 29 mazorcas segregantes respectivamente de diferentes orígenes (Poey y Villegas, 1969).

	% Proteína	% Triptofano	% Triptofano en la Proteína
Opaco-2	9.67	.078	.82
Normal	11.05	.043	.39
Harinoso-2	12.34	.065	.53
Normal	12.07	.041	.34

CUADRO 4. Promedios de peso, volumen y densidad de 100 semillas segregantes opaco-2 harinoso-2 y sus respectivos normales de 50 mazorcas de cada gene (Poey, 1970a).

	Peso		Volumen		Densidad	
	gms	% Normal	cm ³	% Normal	P/V	% Normal
Normal	27.81		21.66		1.28	
o ₂	24.16	86.87**	21.43	98.94	1.13	88.28**
Normal	24.44		18.72		1.30	
fl ₂	22.23	90.96**	19.39	103.58**	1.14	87.69**

FIGURA 2. Aumentos de peso obtenidos en cerdos en crecimiento con maíz normal y opaco-2. A los 56 días, a la mitad de los cerdos se les cambió el maíz por el tipo opuesto*



*Datos sin publicar. Martínez y Shimada, INIP 1970.

BIBLIOGRAFIA

- Cromwell, G. L., J. C. Rogler, W. R. Featherstone, and T. R. Cline. 1968. A comparison of the nutritive value of opaque-2, floury-2 and normal corn for the chick. *Poultry Science*. 840-847.
- Cuca, M. E. Avila y O. Neri. 1970. Comparación entre el maíz común y el opaco-2, energía metabolizable y valor nutritivo para pollos en iniciación. *Técnica Pecuaria, México*. En prensa.
- Emerson, R. A., G. W. Beadle and A. G. Fraser. 1935. A summary of linkage studies in maize. *Cornell Univ-Agr. Exp. Sta. Mem.*, p. 180.
- Harpstead, D. D. A. Pradilla, and F. Linares, 1969. Response of malnourished children to diets of opaque-2 floury-2 and normal maize. *Agronomy Abstracts*, A. S. A. 59.
- Hernández H. y L. S. Bates, 1969. A Modified Method for rapid tryptophan analysis of maize. *CIMMYT, México*.
- Martínez L. y A. Shimada, 1970. Valor nutritivo del maíz opaco-2 vs. maíz común para el cerdo en crecimiento. *Journal of Animal Science*. E.U.A. En prensa.
- Mertz, E. T. High Lysine Corn. 1968. *Agricultural Science Review* vol. 6 No. 3. 1-6.
- Mertz, T. T., L. S. Bates and O. E. Nelson. 1964. Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. *Science* 145: 279-280.
- Nelson, O. E., 1969. The modification by mutation of protein quality in maize. New approaches to breeding for improved plant protein. *International Atomic Energy Agency, Vienna*. 41-54.
- Nelson, O. E., E. T. Mertz and L. S. Bates. 1965. Second mutant gene affecting the amino acid pattern of maize endosperm proteins. *Science* 150: 1469.
- Osborne, T. B., Mendel, L. B. 1941. Nutritive properties of the maize kernel. *J. Biol. Chem.* 18. 1-16.
- Paez, A. V., J. L. Helm, and M. S. Zuber, 1969a. Comparison of kernel properties from progenies segregating for normal, opaque-2 and floury-2 type endosperms. *Agronomy Abstracts*. 1969 Annual Meeting A. S. A. Detroit, Michigan.
- Paez, A. V., J. L. Helm, and M. S. Zuber, 1969b. Lysine content of opaque-2 maize kernels having different phenotypes. *Crop Science* 9: 251-252.
- Paez, A. V., J. L. Helm and M. S. Zuber, 1970. Dosage effects of opaque-2 and floury-2 on lysine, protein and light transmission of maize endosperm. *Sonderdruck aus "Zeitschrift fur Pflanzenzuchtung"*. Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg.
- Poey, F. R. 1970a. Comparación de los efectos de los efectos de los genes opaco-2 y harinoso-2 en el peso vudumen y densidad en grano de maíces tropicales. *Agrociencia, México* Vol. 4 No. 1: 47-65.
- Poey, F. R. 1970b. Efectos de los genes opaco-2 y harinoso-2 en el contenido de proteína y triptofano del endospermo de maíces tropicales. *Agrociencia, México*. Vol 4 No. 1: 67-68.
- Poey, F. R. 1970c. Herencia de los mutantes opaco-2 y harinoso-2 e identificación del doble mutante homocigote. Tesis M. C. Colegio de Postgraduados, Chapin-go, México.
- Poey, F. R. y E. Villegas, 1969. Effects of o₂ and fl₂ mutants on endosperm protein and tryptophan content of tropical maize. *Agronomy Abstracts*. A. S. A. 61.
- Sreeramulu, C., L. F. Bauman and G. Roth, 1970. Effect of outcrossing on protein quality, kernel weight and related characters in opaque-2 and floury-2 maize (*Zea Mays* L.). *Crop Science* 10.