

Extracción y caracterización de las zeínas del grano de diez cultivares de maíz

Ligia Ortíz de Bertorelli

Profesor Titular, Instituto de Química y Tecnología, Facultad de Agronomía,
Universidad Central de Venezuela

RESUMEN. Este estudio consistió en extraer y caracterizar las zeínas del grano de maíces venezolanos, en cuanto a su solubilidad y propiedades moleculares. Los cultivares analizados fueron los híbridos CENIAP-PB8, TOCORON 127, ARICHUNA, OBREGON, CENIAP-3, COROCITO 101 y las variedades Máquina de CENIAP, CENIAP-DMR, Venezuela-1 y Venezuela-1 OPACO-2. Las zeínas fueron extraídas con etanol al 70% y fraccionadas por dos métodos: etanol al 95% y filtración en columna rellena con gel Sephadex G-200. El peso molecular de los polipéptidos de las zeínas fue determinado por electroforesis en gel discontinuo de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (PAGE-SDS). Los resultados demostraron que las zeínas representan el 36,5% de la proteína del grano de los maíces normales y el 9,38% de la del Opaco-2. Las prolaminas presentaron una fracción soluble en etanol al 95% (α zeínas) que constituye el 33,12% de las zeínas y otra insoluble (β zeínas) que forma el 66,88%. En la variedad Opaco-2 el porcentaje de α zeína (38,73%) fue más alto que en la versión normal, variedad Venezuela-1 (31,65%). Con el fraccionamiento en la columna de las zeínas se obtuvieron tres fracciones, dos principales A y C y otra B en menor cantidad, variando la proporción entre los cultivares. En las zeínas del maíz Opaco-2 predominó la fracción C, en tanto que en las del Venezuela-1 la A fue la más abundante. Las zeínas reducidas con 2-mercaptoetanol de los maíces normales fueron separadas por PAGE-SDS en dos subunidades con pesos moleculares de 21.300 y 24.300 daltones, en cambio las zeínas sin reducir presentaron agregados de gran tamaño que no penetraron al gel y mayor número de componentes (nueve) con pesos moleculares entre 24.300 y 87.000 daltones. Los patrones electroforéticos de los maíces normales fueron semejantes, pero diferentes de los patrones del Opaco-2. En este maíz, las zeínas reducidas mostraron sólo la banda correspondiente a los polipéptidos de peso molecular 24.300 daltones y las zeínas sin reducir los de peso molecular 87.000; 78.500; 48.500 y 24.300 daltones. Las α y β zeínas reducidas están formadas por los mismos componentes básicos que las zeínas reducidas. Igualmente las α zeínas sin reducir están compuestas por los mismos polipéptidos que las zeínas sin reducir. Las zeínas del Opaco-2 difieren de las del normal en que contienen más α zeínas y menos polipéptidos de alto molecular.

SUMMARY. Extraction and characterization of zeins from grains of ten mayz cultivars. The study consisted in the extraction and characterization of zeins of Venezuelan maizes, according to their solubility and molecular properties. The cultivars analyzed were the hybrids Ceniap PB8, Tocarón 127, Arichuna, Obregón, Ceniap 3, Corocito 101 and the varieties Máquina del Ceniap, Venezuela-1 and Venezuela-1 Opaco-2. Zeins were extracted with 70% ethanol and fractionated by two methods: 95% ethanol and column filtration with Sephadex G-200. The molecular weight was determined by electrophoresis in a discontinuous polyacrilamide gel with sodium dodecyl sulfate (PAGE-SDS). The results demonstrated that zeins account for 36.57% of the total protein present in normal corn grain and 9.38% in Opaque-2 corn. Prolamines presented a soluble fraction in 95% ethanol (α zeins) which represented 33.12% of zeins and another insoluble (β zeins) the 66.88%. In column fractionation, three fractions were obtained, two major A and C and another B in minor quantity, which varied in proportion between cultivars. Zeins which were reduced with 2-mercaptoethanol separated into two subunits with molecular weights of 21,300 and 24,300 daltons, whereas unreduced zeins presented large sized aggregates which remained at the origin and large numbers of bands (nine) whose molecular weights oscillated between 24,300 and 87,000 daltons. The electrophoretic patterns of normal maizes were similar, but differ from the pattern of the Opaque-2. In this maize, zeins reduced presented only the band with molecular weight 24,300 daltons and the unreduced zeins showed those with molecular weights of 87,000; 78,500; 48,500 and 24,300 daltons. Reduced α and β are made up of the same basic components of zeins. Likewise unreduced α zeins are made up of the same polypeptides as unreduced zeins. The difference between Opaque-2 zeins and normal ones in that they contain more α zeins and less polypeptides of high molecular weight.

INTRODUCCION

Las prolaminas, proteínas de reserva de los cereales, están esencialmente limitadas al endosperma. Estas proteínas son las más abundantes del grano y por lo general constituyen entre 36,9 y 41,8% de la proteína total (1,2). En el maíz reciben el nombre de zeínas y se localizan en organelos subcelulares denominados cuerpos proteicos, los cuales están encajados en una matriz proteínica (3,4). Las zeínas son solubles en soluciones alcohólicas acuosas. Se disuelven en alcohol etílico al 60-85% y en isopropanol al 70% (2,5,6), mientras que en etanol al 95% sólo se solubiliza una fracción designada α zeína, la cual representa el 14,3% de la proteína total del grano (7). Las zeínas son proteínas complejas que consisten de varios polipéptidos que pueden existir como monómeros o asociarse y formar dímeros y oligómeros (8,9). La electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE) separa las zeínas y α zeínas en nueve componentes (7), mientras que con la electroforesis en gel de poliacrilamida y dodecil sulfato de sodio (PAGE-SDS) se obtienen dos bandas de igual intensidad con pesos moleculares de 21.000 a 22.000 y de 23.000 a 24.000 daltones respectivamente (1,2,6,10,11). La introducción del gen Opaco-2 en el maíz induce cambios en la estructura del grano y altera la composición de las proteínas causando una reducción drástica de las zeínas con un concomitante incremento de las albúminas, globulinas y glutelinas (2,6,12,13,14). Los patrones electroforéticos de las fracciones proteicas del maíz Opaco-2 difieren de los del normal en la intensidad y/o carencia de algunas bandas. Una diferencia notable entre las zeínas de estos dos maíces es el componente de peso molecular 24.000-26.000 daltones, el cual no está presente en el Opaco-2 o está en muy baja concentración y aparece como una banda prominente en el normal (2,6,7,10,11,13,14).

La electroforesis ha demostrado ser una técnica de gran utilidad en el estudio de las proteínas del maíz, permitiendo el establecimiento de relaciones genéticas entre genotipos, la identificación de cultivares y la evaluación de la pureza genética de híbridos de maíz (15,16,17).

En Venezuela han sido desarrollados cultivares de maíz con altos rendimientos y buenas características agronómicas, tales como las variedades Máquina del Ceniap (18) y Ceniap DMR (19) y los híbridos Ceniap PB8 (18), Tocarón 127 (18), Ceniap 3 (20), Corocito 101 (21), Arichuna (22) y Obregón (23), de los cuales no se dispone de información relativa a la composición de las proteínas. Ahora bien, como este cereal representa en el país una de las principales fuentes proteicas, el conocimiento de las características proteínicas de los maíces desarrollados es muy importante para los estudios de mejoramiento genético y para su aplicación industrial. Por estas razones, el objetivo de este estudio consistió en extraer y caracterizar las zeínas del grano de maíces desarrollados en Venezuela, en base a la solubilidad y propiedades moleculares.

MATERIALES Y METODOS

Materiales

Los materiales analizados fueron los maíces venezolanos blancos: variedad Máquina del CENIAP (18) y los híbridos CENIAPPB8 (18), Tocarón 127 (18), Arichuna (22) y Obregón (23) y los maíces venezolanos amarillos: variedades CENIAP DMR (19), Venezuela-1 (23), Venezuela-1 Opaco-2 (23) y los híbridos CENIAP 3 (20) y Crocito 101 (21).

Métodos

1. Preparación de las harinas.

Los granos fueron lavados con agua y dejados secar durante una noche a 37°C en una estufa con aire forzado. Luego fueron molidos en un molino Cyclone Sample Mill, equipado con una malla de 0,5 mm de diámetro. La harina fue desgrasada con éter de petróleo, usando una relación 1:3 (p/v).

2. Extracción de las zeínas.

Las zeínas fueron extraídas con etanol al 70%, de la harina integral del grano desgrasada, siguiendo el esquema propuesto por Paulis y Wall (1).

3. Análisis de nitrógeno.

Fue utilizado el método micro-Kjeldahl descrito en el AOAC (24). El contenido de proteína fue calculado multiplicando el nitrógeno obtenido por 6,25.

4. Fraccionamiento de las zeínas.

4.1 En etanol al 95%

Fue aplicado el método de Paulis (7) que fracciona las zeínas en base a su solubilidad en etanol al 95%. Las zeínas solubles fueron denominadas α zeínas y las insolubles β zeínas.

4.2. Por filtración en gel de Sephadex G-200.

La filtración fue realizada en una columna de 90 cm de largo y 1,6 cm de diámetro, rellena con Sephadex G-200 (7). Como eluyente se usó urea 8M con una velocidad de flujo en contra corriente de 5 ml/hora.

5. Determinación del peso molecular de las zeínas.

Fue determinado por electroforesis en gel discontinuo de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (PAGE-SDS). El gel superior fue preparado al 4,4% de acrilamida y pH 6,8 y el gel inferior al 12,6% de acrilamida y pH 8,8 (25). La electroforesis en tubo de gel fue realizada en un aparato marca Shandon, equipado con una fuente de poder Vokan. Las dimensiones de los tubos de vidrio para los geles fueron 5mm de diámetro y 75 mm de largo. La electroforesis fue iniciada con una corriente constante de 1ma por tubo de gel y al pasar la muestra al gel inferior, la corriente fue aumentada a 3ma por

tubo de gel. El peso molecular de los polipéptidos fue calculado comparando la movilidad de las proteínas con la de proteínas estándares determinadas ambas en igualdad de condiciones (26).

Los resultados obtenidos de acuerdo a un diseño completamente aleatorizado, corresponden al promedio de tres determinaciones y se les practicó un análisis de varianza, complementado con una prueba de medias de rango múltiple de Duncan (27).

RESULTADOS Y DISCUSION

1. Extracción de las zeínas

El contenido de proteínas del grano de los maíces estudiados (Tabla 1) varía entre 11,05% (Tocorón 127 y Ceniap 3) y 12,37% (Corocito 101), presentando estos valores diferencias significativas al 1%.

TABLA 1
DISTRIBUCION DE LAS FRACCIONES α Y β DE LAS ZEINAS DEL GRANO DE DIEZ CULTIVARES DE MAIZ

Cultivares	Proteína* %	Zeínas %	% Fracción**	
			α Zeínas	β Zeínas
Máquina CENIAP	11,43d	33,45e	13,98	19,47
CENIAP PB8	11,94b	35,17d	13,46	21,71
Tocorón 127	11,05e	33,91e	12,35	21,56
Arichuna	11,73c	37,18c	11,97	25,21
Obregón	11,97b	36,90c	11,70	25,20
CENIAP DMR	11,97b	37,56b,c	10,30	27,26
CENIAP 3	11,05e	37,31b,c	8,61	28,70
Corocito 101	12,37a	39,61a	11,84	27,77
Venezuela-1	11,64c	38,04b	12,04	26,00
Promedio	11,68	36,57	11,81	24,76
V-I Opaco-2	11,44d	9,38f	3,63	5,75

* Porcentaje en base seca

** Porcentaje de la proteína del grano.

Los valores en columna que no presentan letras comunes alcanzan diferencias significativas al 1%.

Según los resultados obtenidos (Tabla 1) las zeínas comprenden el 36,57% de la proteína total del grano de maíz normal, siendo una de las fracciones más abundante (2,6). En cambio en el maíz Opaco-2 (V-02) sólo representan el 9,38%, valor muy inferior al 38,04% que corresponde a la versión normal, variedad Venezuela-1 (V-1). La introducción del gen Opaco-2 causó una notable reducción del nivel de zeína (2,6,12,13,14). En el maíz normal, la concentración de esta

proteína difiere entre los cultivares, presentando el híbrido amarillo Corocito 101 (C-101) la mayor proporción (39,61%) y el cultivar blanco Máquina del Ceniap (M-C) la menor (33,45%). Las variaciones observadas en el contenido de zeína son debidas principalmente a factores genéticos. Los valores de zeína obtenidos en este estudio son muy parecidos a los reportados por Paulis y Wall (1).

2. Fraccionamiento de las zeínas

En etanol al 95%.

Las α zeínas, prolaminas solubles en etanol al 95%, constituyen el 33,12% de las zeínas (Tabla 2), el 11,81% de la proteína del grano normal y el 3,63% de la del grano V-02 (Tabla 1). En tanto que la fracción más numerosa la forman las β zeínas, proteínas insolubles en etanol al 95%, las cuales representan el 66,88% de las zeínas (Tabla 2), el 24,76% de la proteína del grano normal y el 5,75% de la del V-02 (Tabla 1). La solubilidad en etanol al 95% de las zeínas de los cultivares analizados varía al nivel del 1% y los valores se aproximan a los hallados por Paulis (7) para otros maíces (14,30% α zeína y 26,4% β zeína). El mayor porcentaje de α zeína (41,79%) y el menor de β zeína (58,21%) lo muestra la variedad blanca M-C, en cambio el menor contenido de α zeína (23,09%) y el mayor de β zeína (76,91%) corresponden al híbrido amarillo Ceniap 3 (C-3). Además se observa que la variedad con el gen 02 introducido presenta mayor proporción de α zeína (38,73%) que la variedad normal V-1 (31,65%).

TABLA 2
CONTENIDO DE LAS FRACCIONES α Y β DE LAS ZEINAS DEL GRANO DE DIEZ CULTIVARES DE MAIZ

Cultivares	% Fracción*	
	α Zeínas	β Zeínas
Máquina CENIAP	41,79 a	58,21 i
CENIAP PB8	38,27 c	61,73 g
Tocorón 127	36,43 d	63,57 f
Arichuna	32,20 e	67,80 e
Obregón	31,72 f	68,28 d
CENIAP DMR	27,42 h	75,58 b
CENIAP 3	23,09 i	76,91 a
Corocito 101	29,88 g	70,12 c
Venezuela-a	31,65 f	68,35 d
V-1 Opaco-2	38,73 b	61,27 h
Promedio	33,12	66,88

* g fracción en 100 g zeínas.

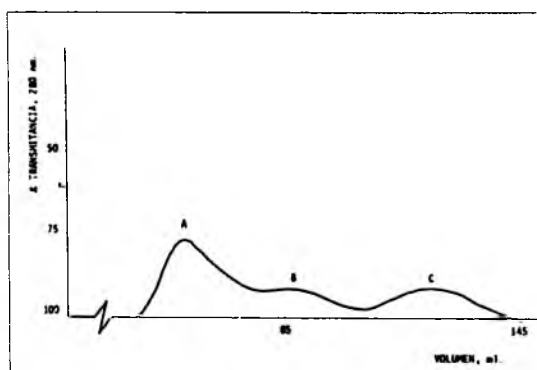
Los valores en columna que no presentan letras comunes alcanzan diferencias significativas al 1%.

Por filtración en gel de Sephadex G-200.

Las zeínas se separaron en tres fracciones por filtración en columna rellena con gel de Sephadex G-200 (Figura 1), dos principales A y C y otra B en menor cantidad. La fracción A comprende los polipéptidos de mayor peso molecular. La B está constituida por subunidades de tamaño medio y la C por los más pequeños. Las proporciones de estas fracciones cambian entre las zeínas de los cultivares analizados, de manera que en los maíces M-C, Arichuna y V-1 la fracción A es la mayor. Por el contrario en los cultivares Ceniap PB8 (C-PB8), C-3, C-101 y V-02 la fracción C es la más abundante. En los maíces Ceniap DMR (C-DMR), Tocarón 127 (T-127) y Obregón la proporción de las fracciones A y C es aproximadamente igual. Por su parte la fracción B es menor que la A en todos los cultivares. Según este análisis, la zeína de la variedad V-02 tiene menos polipéptidos de alto peso molecular que la normal, ya que mostró una fracción C mayor que la A, en tanto que en la versión normal V-1, estas dos fracciones se invierten, siendo la C menor que la A. En relación con el fraccionamiento de las α zeínas, se observó que están constituidas por las mismas fracciones que las zeínas completas (sin fraccionar con etanol al 95%), siendo la A la más abundante en todos los cultivares, seguida por la fracción C y después por la B. Las α zeínas del maíz V-02 son parecidas a las del normal, puesto que están formadas principalmente por polipéptidos de mayor tamaño (fracción A). La predominancia en las α zeínas de compuestos de alto peso molecular es probablemente debida a asociaciones hidrofóbicas y a intercambios de enlaces disulfuro que pueden ocurrir durante los procesos de extracción y diálisis que se efectúan en el fraccionamiento (7).

FIGURA 1

Fraccionamiento de las zeínas Arichuna en gel Sephadex G-200



Los resultados de este análisis indicaron heterogeneidad en el tamaño de las zeínas, las cuales consisten de varios componentes con diferentes pesos moleculares, que pueden existir como monómeros o asociarse y formar compuestos más grandes (7,8,9). Los valores obtenidos difieren de los hallados por Paulis (7) quien separó las zeínas provenientes de maíces distintos, en cuatro fracciones de proporciones parecidas entre sí.

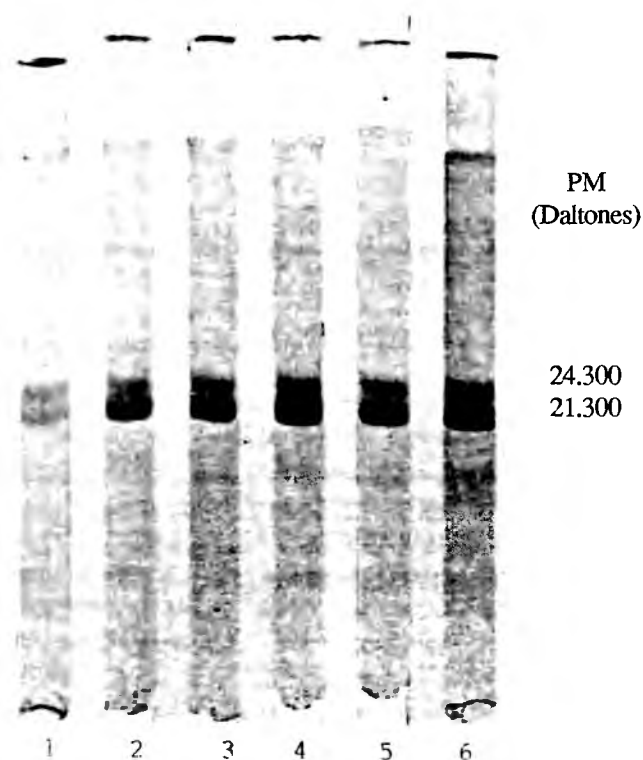
3. Peso molecular de las zeínas.

Con la aplicación de la electroforesis discontinua se logra una mejor separación de los componentes de las fracciones proteicas que con la técnica convencional, ya que se obtienen bandas bien definidas como lo demuestran las Figuras 2, 3 y 4.

En los maíces normales analizados, las zeínas reducidas con 2-mercaptoetanol se separaron, en dos subunidades con pesos moleculares de 24.300 y 21.300 daltones (Figura 2), encontrándose esta última en mayor proporción (banda más intensa) en todos esos cultivares. En el V-02 figura sólo la banda 2 correspondiente al componente principal (21.300 daltones) y la banda 1 (24.300 daltones) está ausente. Otros investigadores (2,6,7,10,11,13,28) también han observado una disminución o ausencia de las subunidades de peso molecular 24.000 daltones, en las zeínas del maíz con el gen O2 en comparación con las del maíz normal. Disminución que es atribuida a la reducción de la velocidad de síntesis de esos polipéptidos ocasionada por dicho gen (10,28). Para las α y β zeínas reducidas con 2-mercaptoetanol se consiguieron resultados idénticos que para las zeínas reducidas sin fraccionar, presentando ambas fracciones las mismas bandas y por lo tanto los mismos monómeros que las zeínas completas, resultados concordantes con los de Paulis (7).

FIGURA 2

Patrones PAGE-SDS de las zeínas de los maíces Máquina del Ceniap (1), Ceniap PB 8 (2), Tocarón 127 (3), Ceniap DMR (4), Ceniap 3 (5) y Corocito 101 (6)



Las zeínas sin reducir con 2-mercaptoetanol (Figuras 3 y 4) mostraron mayor número de bandas (nueve) que las zeínas reducidas y sus pesos moleculares oscilaron entre 24.300 y 87.000 daltones. Estas proteínas además presentaron componentes de alto peso molecular que se quedaron en el origen. Los patrones electroforéticos de las zeínas sin reducir de los maíces normales no difirieron entre si y están constituidos principalmente por componentes de alto peso molecular y por las subunidades 7 (PM=48.500 daltones) 8 (29.000 daltones) y 9 (PM=24.300 daltones) que fue la banda más intensa en todos los cultivares y en consecuencia, el componente principal, en cambio la banda 6 (PM=50.000 daltones) apareció únicamente en el híbrido blanco Arichuna. La presencia de subunidades con menor movilidad y mayor tamaño en las zeínas sin reducir, sugiere que los polipéptidos más pequeños se encuentran unidos por enlaces disulfuro (-S-S) formando oligómeros de alto peso molecular (7,8,9). Por su parte, la variedad V-02 mostró un patrón electroforético diferente al de los maíces normales, ya que sólo presentó las bandas 1 (PM=87.000 daltones), 3 (PM=78.500 daltones) 7, 9 y algunos componentes de mayor tamaño, resultados que confirman que este maíz tiene menos polipéptidos de alto peso molecular que el normal, como lo señaló el fraccionamiento en gel Sephadex G-200.

FIGURA 3

Patrones PAGE-SDS de las zeínas sin reducir de los maíces Máquina del Ceniap (1), Ceniap PB 8 (2), Tocarón 127 (3), Ceniap DMR (4), Ceniap 3 (5) y Corocito 101 (6)

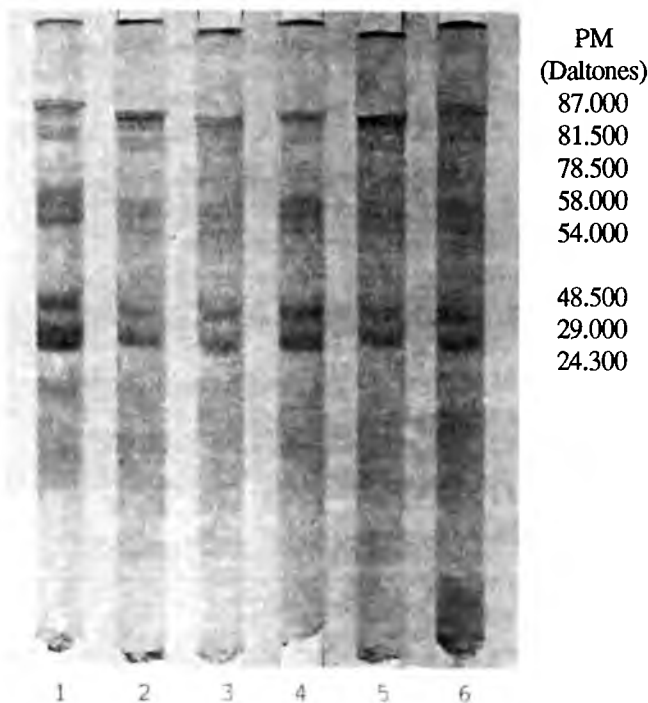
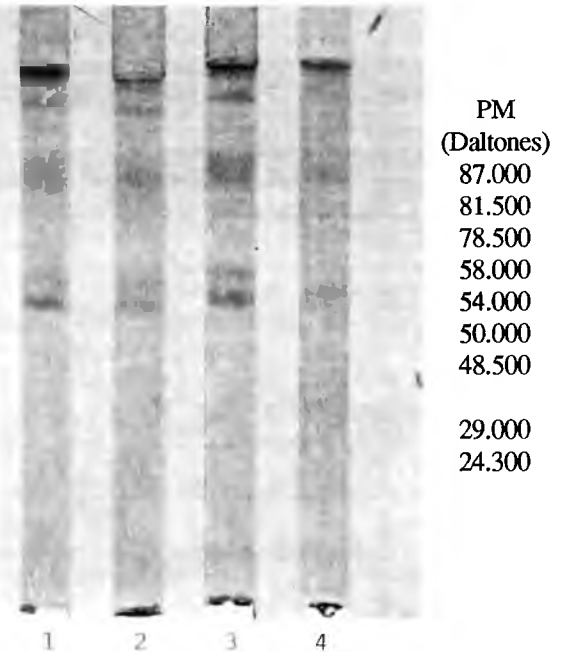


FIGURA 4

Patrones PAGE-SDS de las zeínas sin reducir de los maíces Arichuna (1), Obregón (2), Venezuela-1 (3) y Venezuela-1 Opaco-2 (4)



El análisis electroforético de las α zeínas sin reducir con 2-mercaptoetanol, indicó que esta fracción está compuesta por los mismos polipéptidos que las zeínas completas sin reducir, ya que exhibieron bandas iguales. Los resultados de este análisis se asemejan a los de Paulis (7) quien halló que las zeínas y las α zeínas sin reducir consisten principalmente de bandas con pesos moleculares de 45.000 y 68.000 daltones y una banda prominente de 24.000 daltones.

En conclusión, el contenido de zeína de los maíces analizados, varía de un cultivar a otro y las zeínas de dicho material difieren entre si en cuanto a la composición de α y β zeína y en la proporción de las fracciones A, B y C obtenidas por filtración en gel Sephadex G-200. En cambio los patrones electroforéticos PAGE-SDS de las zeínas de los maíces normales son semejantes, pero muy diferentes del patrón electroforético de las zeínas del maíz V-02.

Agradecimiento.

La autora agradece al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT), el financiamiento de esta investigación y al Ingeniero Agrónomo Arnoldo Bejarano la donación de las muestras estudiadas.

REFERENCIAS

1. Paulis J. y Wall J. Comparison of the protein compositions of selected corns and their wild relatives Teosinte and *Tripsacum*. *J. Agric Food Chem* 25 (2):265-270. 1977.
2. Ortíz L. y Guerra M. caracterización de las proteínas de los maíces Venezuela-1, Arichuna, Obregón y Venezuela-1 Opaco-2. *Arch. Latinoamer. Nutr.* 33(3):539-555. 1983.
3. Shimamoto K., Ackermann M. y Dierks-Ventling C. Expression of zein in long term endosperm cultures of maize. *Plant Physiol.* 73:915-920. 1983.
4. Taylor J., Schuesler L. y Liebenberg N. Localization of zein-2 and crosslinked kafirin in maize and sorghum protein bodies. *J. Cereal Sci.* 2(4):249-255. 1984.
5. Augustine M. y Baianu I. Basic studies of corn proteins for improved solubility and future utilization: A physicochemical approach. *J. Food Sci.* 25(3):649-652. 1987.
6. Ortíz L. Estudio comparativo de algunas características físicas, químicas y proteicas de los maíces Venezuela-1, Arichuna, Obregón y Venezuela-1 Opaco-2. *Rev. Fac. Agron. UCV.* 12(1-2):389-419. 1982.
7. Paulis J. Disulfide structures of zein proteins from corn endosperm. *Cereal Chem.* 58(6):542-546. 1981.
8. Landry J. y Sallantin M. Polymorphism of native zein as detected by gel filtration and electrophoresis in the presence or absence of sodium dodecyl sulfate. *Cereal Chem.* 60(3):242-245. 1983.
9. Paulis J. y Bietz J. Characterization of zeins fractionated by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Cereal Chem.* 65(3):215-222. 1988.
10. Gianazza E., Righetti P., Pioli F., Galante E. y Soave C. Size and charge heterogeneity of zein in normal and Opaque-2 maize endosperms. *Maydica* 21 (1):1-17. 1976.
11. Misra P. Mertz E. y Glover D. Studies in corn proteins. X Polypeptide molecular weight distribution in Landry-Moureaux fractions of normal and mutant endosperms. *Cereal Chem* 53(5):705-711. 1976.
12. Mertz E., Bates L. y Nelson O. Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. *Science.* 145:279-280. 1964.
13. Wall J. y Bietz J. Differences in corn endosperm proteins in developing seeds of normal and Opaque-2 corn. *Cereal Chem,* 64(4):275-280. 1987.
14. Paiva E., Kriz A., Peixoto M., Wallace J. y Larkins B. Quantitation and distribution of π -zein in the endosperm of maize kernels. *Cereal Chem.* 68(3):276-279. 1991.
15. Motto M., Salamini F., Reggiani R. y Soave C. Evaluation of genetic purity in hibrid corn (*Zea mays* L) seed production through zeins isoelectrophoretic patterns. *Maydica* 24:223-233. 1979.
16. Nucca R., Soave C., Motto M. y Salamini F. Taxonomic significance of the zein isoelectric focusing pattern. *Maydica* 23:239-2249.
17. Wall J., Fey D., Paulis J. y Landry J. Improved two-dimensional electrophoretic separation of zein proteins: application to study of zein inheritance in corn genotypes *Cereal Chem.* 61(2):141-146. 1984.
18. Bejarano A. y Segovia V. Ensayos regionales de rendimiento en maíz. FONAIAP, Maracay, Venezuela. 21 p. 1983.
19. Bejarano A., Segovia V., Moreno H. y Llavaneras J. Comportamiento del compuesto de maíz CENIAP-DMR. IX Reunión de maiceros de la zona Andina. Maracay, Venezuela. p. 233. 1980.
20. Bejarano A. Segovia V. Rosales N. y Andrade L. comportamiento del híbrido de maíz doble CENIAP-3. IX Reunión de maiceros de la zona Andina. Maracay, Venezuela. p.233. 1980.
21. Millán A. y Malavé E. Resultados de ensayos regionales en la faja maicera del Estado Monagas. IX Reunión de maiceros de la zona Andina. Maracay, Venezuela. p.855. 1980.
22. Obregón P. formación y prueba del híbrido de maíz Arichuna. *Rev. Fac. Agron. UCV.* 6:5-16. 1970
23. Agudelo C. Logros del mejoramiento del maíz en Venezuela. Instituto de Investigaciones Agronómicas. CENIAP FONAIAP, Maracay, Venezuela. 1976.
24. Association of Official Analytical Chemists. AOAC. Official methods of analysis. 12th ed. Washington D.C. USA. 1975.
25. Luzardo M. Características y usos de las proteínas del sorgo. Tesis de Maestría. USB. Caracas, Venezuela. 139 p. 1980.
26. Weber K. y Osborn M. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-plycrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.* 244(16):4406-4412. 1969.
27. Little T. y Hills F. Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura. Ed. Trillas 3a ed. México. 1979
28. Di Fonzo N., Fornasari E., Salamini F. y Soave C. SDS-protein subunits in normal, Opaque-2 and floury-2 maize endosperms. *Maydica* 22:77-88. 1977.

Recibido: 24-09-1992

Aceptado: 16-06-1993