

PROTEÍNA, TRIPTÓFANO Y COMPONENTES ESTRUCTURALES DEL GRANO EN HÍBRIDOS DE MAÍZ (*Zea mays* L.) PRODUCIDOS BAJO FERTIRRIGACIÓN

PROTEIN, TRYPTOPHAN, AND STRUCTURAL KERNEL COMPONENTS IN CORN (*Zea mays* L.) HYBRIDS CULTIVATED UNDER FERTIRRIGATION

Rosalba Zepeda-Bautista^{1*}, Aquiles Carballo-Carballo², Abel Muñoz-Orozco¹, J. Apolinar Mejía-Contreras²,
Benjamín Figueroa-Sandoval³, F. Valerio González-Cossio⁴, Claudia Hernández-Aguilar⁵

¹Genética, ²Producción de Semillas, ³Edafología y ⁴Estadística. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México. (rzepeda@colpos.mx, rzepeda05@yahoo.com).

⁵Sepi-Esime, Zacatenco. Unidad Profesional Adolfo López Mateos. Instituto Politécnico Nacional. Colonia Lindavista. México, D. F. 07738 México.

RESUMEN

Para determinar cómo la composición del grano puede ser modificada mediante prácticas agronómicas, se evaluó el efecto del N y P en la cantidad de proteína, Trp presente en las proteínas y componentes estructurales del grano en híbridos de cruza simple de maíz (*Zea mays* L.) adaptados a la región de los Valles Altos Centrales de México. Durante el ciclo primavera-verano de 2002, en Montecillo, Estado de México, se evaluaron 60 tratamientos que resultaron de la combinación de 10 híbridos, tres dosis de N (150, 225 y 300 kg ha⁻¹) y dos de P (60 y 120 kg ha⁻¹), en un diseño en bloques completos al azar. Los fertilizantes se aplicaron diariamente a través de riego por goteo. No hubo cambios importantes en ninguna de las variables evaluadas en respuesta a la aplicación de P. La proteína en grano varió de 9.5 a 11.5 %, y el Trp en proteína de 0.5 a 0.6 %. El nitrógeno aumentó en promedio 4 % el contenido de proteína en grano, en comparación con el testigo (150-60-80), 7 % en CS10*4 y CS6*10 con 300 kg N ha⁻¹ y 9 % en CS6*4 con 225 kg N ha⁻¹, sin afectar significativamente el contenido de Trp en proteína. También disminuyó en promedio 16.9 % el endospermo harinoso y aumentó proporcionalmente el endospermo córneo: 33.8% en CS3*9 con 225 kg N ha⁻¹, y de 21 a 25 % en CS3*4, CS10*3 y CS4*9 con 300 kg N ha⁻¹.

Palabras clave: *Zea mays* L., endospermo córneo, endospermo harinoso, fosforo, nitrógeno.

INTRODUCCIÓN

El maíz es un alimento básico para los mexicanos. En 2005, el consumo por persona fue 326 g d⁻¹, que proporcionan 37 y 46 % del requerimiento diario de proteína y energía requerida por el cuerpo humano (FAO, 2007); asimismo, es materia prima básica para la industria de la tortilla. Dado que

ABSTRACT

In order to determine how kernel composition can be modified through agronomic practices, the N and P effect on protein quantity, Trp present in proteins, and structural kernel components in hybrids of simple crosses of maize (*Zea mays* L.), adapted to the region of the Central High Valleys of México, was evaluated. Sixty treatments resulting from the combination of 10 hybrids, three doses of N (150, 225, and 300 kg ha⁻¹) and two of P (60 and 120 kg ha⁻¹) in a randomized complete block design, were assessed at Montecillo, state of México, during the spring-summer cycle of 2002. Fertilizer application through drip irrigation was carried out daily. There were no important changes in any of the variables evaluated in response to P application. Kernel protein varied between 9.5 and 11.5 %, and Trp in protein between 0.5 and 0.6 %. Nitrogen increased protein content in grain by 4 % on an average, compared to the control (150-60-80), 7 % in CS10*4 and CS6*10 with 300 kg N ha⁻¹, and 9 % in CS6*4 with 225 kg N ha⁻¹ without significantly affecting the Trp content in protein. Floury endosperm diminished as well by 16.9 % on average, and corneous endosperm increased proportionally: 33.8 % in CS3*9 with 225 kg N ha⁻¹, and between 21 and 25 % in CS3*4, CS10*3, and CS4*9 with 300 kg N ha⁻¹.

Key words: *Zea mays* L., corneous endosperm, floury endosperm, phosphorus, nitrogen.

INTRODUCTION

For Mexicans, maize is basic food. In 2005, per head consumption was 326 g d⁻¹, which provide 37 and 46 % of the daily protein and energy required by the human body (FAO, 2007); likewise, it is the raw material for tortilla industry. Since corn protein contains low amounts of Lys and Trp essential for human beings (Ahmadi *et al.*, 1995), and occasionally does not satisfy the percentage of floury and corneous endosperm, demanded by tortilla and corn milling industry (Salinas and Vázquez, 2003), it

* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: Febrero, 2008. Aprobado: Septiembre, 2008.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 43: 143-152. 2009.

la proteína del maíz contiene cantidades bajas de Lis y Trp esenciales para los humanos (Ahmadi *et al.*, 1995), y que en ocasiones no satisface el porcentaje de endospermo harinoso y córneo que demanda la industria molinera-tortillera y de harina de maíz nixtamalizado (Salinas y Vázquez, 2003), es necesario mejorar la calidad del grano de maíz con valor agregado para consumo humano y la industria.

Debido a la demanda de variedades con grano de calidad, se han desarrollado programas de mejoramiento genético para obtener variedades con mayor contenido y calidad de proteína. Así, el mutante Opaco-2 presenta un aumento significativo en el contenido de Lis y Trp en el grano (Tsai *et al.*, 1983; Tsai y Tsai, 1990; Pixley y Bjarnason, 2002). Sin embargo, en México el cultivo de estas variedades no se ha generalizado, y se siembran los maíces criollos o las variedades “normales” que ofrecen las empresas productoras de semillas. Otra estrategia usa el concepto de interacción genotipo $\times$ ambiente para hacer modificaciones en el grano mediante prácticas agronómicas.

El conocimiento, manejo y control parcial del ambiente de producción agrícola, en particular la nutrición y consumo de agua por la planta, ha permitido aumentar la cantidad de proteína del grano de maíz. En los híbridos Crows 212, 688, SL25 y SL75 cultivados en riego y en temporal y con 0, 90, 180, 270 y 360 kg N ha⁻¹, el riego disminuyó el contenido de proteína de 5 a 7 g kg⁻¹ y aumentó la Lis en proteína de 1 a 2 g kg⁻¹; el N aumentó la proteína y la Lis, pero hubo un decremento cuadrático de Lis en proteína de 0.39 a 0.36 g kg⁻¹ en todos los híbridos (Kniep y Mason, 1991).

En el híbrido Pioneer 3369A cultivado con 0, 67, 134 y 201 kg N ha⁻¹ aumentó el contenido de proteína; dosis mayores a 201 kg N ha⁻¹ no redujeron el contenido de Lis y Trp en proteína, porque hubo un aumento en la proporción del embrión y acumulación de proteína diferente a la zeína en el endospermo (Tsai *et al.*, 1978). Sin embargo, para los híbridos de maíz normal (B14 $\times$ B37), Opaco-2 homocigoto recesivo (B14o2 $\times$ B37o2) y el heterocigoto (B14o2 $\times$ B37) con 0, 67, 134, 201, 268 y 447 kg N ha⁻¹, hubo un incremento significativo de proteína al aumentar N, y un contenido de proteína distinta a la zeína de 5.9 a 6.8 % (para 0 a 447 kg N ha⁻¹); el Trp en proteína decreció significativamente de 0.98 a 0.84 % con 0 y 447 kg N ha⁻¹ (Tsai *et al.*, 1983).

En maíces cultivados con dosis altas de N se puede modificar la composición del grano. Al evaluar el efecto de 0, 90 y 180 kg N ha⁻¹ por tres años y en cuatro localidades, en el cv Funk 4023 hubo un aumento promedio de 8.40 % en la concentración de proteína en el grano, en todas las localidades y años. Además, no cambió la concentración de lípidos, pero sí disminuyeron

is necessary to improve maize kernel quality with added value for human consumption and industry.

Due to the demand for varieties with quality grain, genetic improvement programs have been developed in order to obtain varieties with higher protein content and quality. Thus, the opaque-2 mutant presents a significant increment in Lys and Trp content in the kernel (Tsai *et al.*, 1983; Tsai and Tsai, 1990; Pixley and Bjarnason, 2002). Nevertheless, in México, the cultivation of these varieties has not been generalized, and native corn or the “normal” varieties are being sown, which are offered by seed producer companies. Another strategy utilizes the concept of genotype $\times$ environment interaction, in order to make modifications in the kernel by agronomic practices.

Knowledge, management, and partial control of agricultural production environment, particularly nutrition and plant water consumption have allowed increasing protein quantity of the maize kernel. In hybrids Crows 212, 680, SL25, and SL75, cultivated under irrigation and rainfed conditions and with (0, 90, 180, 270, and 360 kg N ha⁻¹, irrigation diminished the protein content between 5 and 7 g kg⁻¹, and increased Lys in protein from 1 to 2 g kg⁻¹; with N, protein and were increased, and there was quadratic decrease of Lys in protein from 0.39 to 0.36 g kg⁻¹ in all hybrids (Kniep and Mason, 1991).

In the Pioneer 3369A hybrid, cultivated with 0, 67, 134, and 201 kg N ha⁻¹, there was an increment in protein content; furthermore, higher doses than 201 kg N ha⁻¹ did not reduce Lys and Trp contents in protein because there was an increase in embryo proportion and protein accumulation different from zein in the endosperm (Tsai *et al.*, 1978). Nevertheless, for the normal corn hybrids (B14 $\times$ B37), the recessive Opaque-2 homozygote (B14o2 $\times$ B37o2) and the heterozygote (B14o2 $\times$ B37) with 0, 67, 134, 201, 268, and 447 kg N ha⁻¹, there was a significant protein increment increasing N level, and protein content distinct from zein from 5.9 to 6.8 % (for 0 to 447 kg N ha⁻¹), Trp in protein decreased significantly from 0.98 to 0.84 % with 0 and 447 kg N ha⁻¹ (Tsai *et al.*, 1983).

In corn cultivated with high N doses, kernel composition can be modified. At evaluating the effect of 0, 90, and 180 kg N ha⁻¹ for three years and in four localities, in cv Funk 4023, there was an average increment of 8.40 % in kernel protein concentration in all locations and years. Furthermore, lipid concentration was not affected, but percentages of fiber and cellulose in kernel did diminish as protein increased (Zhang *et al.*, 1993).

When five improved corn varieties were sown with 0, 30, 60, and 160 kg N ha⁻¹ during two years, N increased protein in all cultivars; but with 30 to 60 kg

los porcentajes de fibra y celulosa del grano al aumentar la proteína (Zhang *et al.*, 1993).

Al sembrar cinco variedades mejoradas de maíz con 0, 30, 60 y 160 kg N ha⁻¹ por dos años, el N aumentó la proteína en todos los cultivares; pero con 30 a 60 kg N ha⁻¹, los cultivares 8644-27 y TZPB-SR tuvieron mayor porcentaje de granos flotantes, y SPL y TZB-SR el menor, debido a un cambio en la proporción de endospermo harinoso y córneo (Oikeh *et al.*, 1998).

Los híbridos de maíz difieren en su requerimiento de N para obtener su máximo rendimiento de grano, que afecta su textura. Al sembrar ocho híbridos de maíz con 0, 67, 134, 201, 268 y 402 kg N ha⁻¹ por tres años, los híbridos en condiciones deficientes de N produjeron granos menos translúcidos y más susceptibles a daño mecánico durante su procesamiento, que aquellos producidos con suficiente N. Además en B73×Mo17, con un aumento de proteína total de 71 a 105.3 g kg⁻¹ (para 0 y 402 kg N ha⁻¹), los granos fueron más translúcidos y vítreos (Tsai *et al.*, 1992). Asimismo, al cultivar 10 híbridos de maíz con 300 kg de N ha⁻¹ aumentaron los porcentajes de pericarpio y germen pero disminuyó el índice de flotación del grano (Zepeda *et al.* (2007).

El cultivo *in vitro* de granos de la variedad W64A y dos mutantes (Shrunken-1 y Brittle-2) con N (0 y 50 mM) o P (0 y 6 mM), mostró que sólo el N aumentó el contenido de proteína soluble y carbohidratos. Además en el grano normal hubo una ligera influencia positiva en la proteína soluble con la aplicación de 2 mM de P (Faleiros *et al.*, 1996).

Para determinar como la composición del grano puede ser modificada mediante prácticas agronómicas, el efecto de la fertilización con nitrógeno y fósforo en el contenido de proteína y Trp en proteína, y en la proporción del endospermo corneo y harinoso, pedicelo, pericarpio y germen del grano, fue evaluado en 10 híbridos de cruza simple de maíz adaptados a la región de Valles Altos Centrales de México.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se hizo en el Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México, México (19° 29' N, 98° 53' O, y 2250 m de altitud); el clima es subhúmedo con lluvias en verano (C(w_o)(w)b(i')), precipitación media anual de 625 mm y temperatura media anual de 15.1 °C (García, 1987). Las determinaciones de proteína y Trp se hicieron en el Laboratorio de Suelos y Nutrición Vegetal del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), El Batán, Texcoco, México. Se usaron 10 híbridos de cruza simple adaptados a la región de Valles Altos Centrales, con diferente índice de flotación; estos híbridos fueron proporcionados por el Área de Mejoramiento y Control de la Calidad Genética del Programa en Producción de Semillas del Colegio de Postgraduados.

N ha⁻¹, the cultivars 8644-27 and TZPB-SR had higher percentage of floating kernels, and SPL and TZB-SR had lower percentage, due to a change in floury and corneous endosperm proportion (Oikeh *et al.*, 1998).

The corn hybrids differ in their N requirements to obtain their maximum kernel yield, affecting its texture. At sowing eight corn hybrids with 0, 67, 134, 201, 268, and 402 kg N ha⁻¹ during three years, the hybrids under deficient N conditions produced kernels less translucent and more susceptible to mechanical damage during their processing, than those produced with sufficient N. Besides, in B73×Mo17, with a total protein increment from 71 to 105.3 g kg⁻¹ for 0 and 402 kg N ha⁻¹, the grains became more translucent and vitreous (Tsai *et al.*, 1992). Likewise, when 10 corn hybrids were cultivated with 300 kg N ha⁻¹ an increase in percentages of pericarp and germ and a diminution of kernel flotation index were observed (Zepeda *et al.*, 2007).

The *in vitro* cultivation of W64A variety kernels and two mutants (Shrunken-1 and Brittle-2) with N (0 and 50 mM) or P (0 and 6 mM), showed that only the N increased the content of soluble protein and carbohydrates. Besides, in the normal grain there was a slight positive influence on soluble protein with application of 2 mM of P (Faleiros *et al.*, 1996).

In order to determine how to modify kernel composition through agronomical practices, the effect of fertilizing with nitrogen and phosphorus on protein content and Trp in protein and on the proportion of corneous and floury endosperm, the pedicel, pericarp, and kernel germ was evaluated in 10 maize hybrids, adapted to the region of the Central High Valleys of México.

MATERIALS AND METHODS

This study was carried out at the Colegio de Postgraduados, Montecillo, state of México, Mexico (19° 29' N, 98° 53' W and at 2250 m altitude); the climate is subhumid with rainfalls in the summer (C(w_o)(w)b(i')), annual mean precipitation 625 mm and annual mean temperature 15.1 °C (García, 1987). Protein and Trp determinations were carried out at the Laboratorio de Suelos y Nutrición Vegetal (Laboratory of Soils and Vegetal Nutrition) of the Centro Internacional de Mejoramiento de Maiz y Trigo (International Center of Maize and Wheat Improvement (CIMMYT), El Batán, Texcoco, México. Ten hybrids of simple crossing, adapted to the region of Central High Valleys, were used with different flotation index; these hybrids were provided by the Area de Mejoramiento y Control de la Calidad Genética del Programa en Producción de Semillas (Area of Improvement and Genetic Quality Control of the Seed Production Program) of the Colegio de Postgraduados.

The soil used in the experiment was loam sandy clay, pH 7.5, non-saline, low N content (0.11 %, Kjeldahl) and very high P and K

El suelo usado en el experimento fue franco arcillo arenoso, pH 7.5, no salino, bajo contenido de N (0.11 %, Kjeldahl), y muy alto contenido de P y K (70 ppm, Olsen y 1.49 meq 100g⁻¹, NH₄OAc 1 N pH 7) (Cadahia y Lucena, 1998). En el ciclo primavera-verano de 2002 se estableció un lote de evaluación, en un diseño de bloques completos al azar con dos repeticiones y un arreglo factorial de tratamientos (10×3×2): 10 genotipos, tres dosis de N (150, 225 y 300 kg ha⁻¹) y dos de P (60 y 120 kg ha⁻¹). La fertilización fue 150N-60P-80K como testigo, por ser la más usada en Valles Altos Centrales de México. La unidad experimental fue 16 surcos de 3.5 m longitud y 0.3 m anchura (16.8 m²).

Los fertilizantes se aplicaron diariamente con el agua de riego (fertirrigación). Con base en las curvas de absorción de N y P (INPOFOS, 1997), se fraccionaron las dosis en 26, 34, 16, 14 y 10 % y periodos aproximados de 25 d cada una, cuando las plantas tuvieron 6 y 10 hojas liguladas, en floración y llenado de grano (V6, V10, V18, R2 y R4) (Ritchie *et al.*, 1993). Se usó urea, nitrato de potasio y ácido fosfórico como fuentes de N y P. La siembra se hizo el 25 de abril de 2002, se colocó una semilla cada 50 cm para tener una densidad de población de 66 666 plantas ha⁻¹. El lote se mantuvo sin malezas y se controlaron las plagas durante el ciclo de cultivo.

En la cosecha se tomaron al azar 20 mazorcas de cada unidad experimental, se desgranaron manualmente en la parte media cuando su contenido de humedad fue alrededor de 13 %. Luego se separaron al azar muestras de granos sanos, con estructura completa y no vanos para las evaluaciones de proteína, Trp y estructura.

Para cuantificar el porcentaje de proteína en grano (PPG), se determinó el N %; (micro-Kjeldahl), de acuerdo a Villegas y Mertz, (1971). Para determinar Trp en la proteína se eliminó el efecto del P porque no fue significativo ($p > 0.05$) en el porcentaje de proteína en grano. Trp (%) en grano se cuantificó con el método de Opienska-Blauth modificado por Hernández y Bates (1969), y se calculó el porcentaje de Trp en proteína (PTP) según Villegas (1972).

Para evaluar los porcentajes de endospermo harinoso (PEH), endospermo córneo (PEC), embrión (PE) y pedicelo (PP) se utilizó la técnica de procesamiento digital de imágenes (Leyva *et al.*, 2002). Cinco granos fueron disectados transversalmente, adheridos en una hoja de papel bond azul y digitalizados con un equipo Canon CanoCraft modelo CS-P 3.8 y una computadora. La conversión a escala de grises (8 bits), el marcado y copiado de cada imagen fue realizada con el programa Irfan View versión 3.80, y el procesamiento de imágenes con el programa de cómputo UTHSCSA Image Tool versión 3.0 del Departamento de Ciencias de la Salud de la Universidad de Texas. Para la estimación se consideró un píxel negro equivalente a 1 %; así, se definió el área total del grano, endospermo harinoso, embrión y pedicelo, todas en píxeles. Luego se calcularon los porcentajes de cada componente y, por diferencia, se obtuvo el porcentaje de endospermo córneo.

Para el análisis de varianza se usó el procedimiento GLM (SAS, 1989); para las variables con cuadrados medios significativos se usó la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Entre variables se hizo un análisis de correlación con el procedimiento CORR (SAS, 1989).

content (70 ppm, Olsen and 1.49 meq 100 g⁻¹, NH₄OAc 1 N pH7) (Cadahia y Lucena, 1998). During the spring-summer cycle of 2002, an assessment plot was established using a design of randomized complete blocks with two replications and a factorial arrangement of treatments (10×3×2): 10 genotypes, three N doses (150, 225, and 300 kg ha⁻¹) and two of P (60 and 120 kg ha⁻¹). Fertilization of 150N-60P-80K was used as control, for being the mostly used in Central High Valleys of Mexico. The experimental unit was 16 rows of 3.5 m length and 0.3 m width (16.8 m²).

Fertilizers were applied daily through irrigation water (fertirrigation). Based on the curves of N and P absorption (INPOFOS, 1997), the doses were fractionated in 26, 34, 16, 14, and 10 %, and periods of approximately 25 d each, when the plants had 6 and 10 liguled leaves, were flowering and filled with kernels (V6, V10, V18, R2 and R4) (Ritchie *et al.*, 1993). Urea, potassium nitrate, and phosphoric acid were used as N and P sources. Sowing was done on April 25th, 2002, one seed was placed every 50 cm in order to obtain a population density of 66 666 plants ha⁻¹. The plot was kept free of weeds, and pests were controlled during the cultivation cycle.

During harvest, 20 corn cobs were randomly taken from each experimental unit, the kernels were manually separated from the cob in the middle part, when they had a moisture content of around 13 %. Then healthy kernel samples with complete structure and not empty, were randomly separated, for evaluation of protein, Trp, and structure.

In order to quantify protein percentage in kernel (PPG), N % was determined (micro-Kjeldahl) according to Villegas and Mertz, (1971). To determine Trp in the protein P effect was eliminated because it was not significant ($p > 0.05$) in the percentage of kernel protein. Trp (%) in kernel was quantified with the Opienska-Blauth method, modified by Hernández and Bates (1969), and the Trp percentage in protein (PTP) was calculated, according to Villegas (1972).

To evaluate floury endosperm (PEH), corneous endosperm (PEC), embryo (PE), and pedicel (PP) percentages, the digital image processing technique was employed (Leyva *et al.*, 2002). Five kernels were transversely dissected, adhered to a sheet of blue bond paper and digitalized with a Canon equipment, CanoCraft model CS-P 3.8, and a computer. The conversion was made, at a scale of grays (8 bits), each of the images was marked and copied with the Irfan View program, version 3.80, and the programming of images was carried out with the UTHSCSA Image Tool computer program version 3.0, from the Health Science Department of the University of Texas. For the estimate, a black pixel equivalent to 1 % was considered; thus, the total kernel area, floury endosperm, embryo, and pedicel, were defined, all in pixels. Then, the percentages of each component were calculated and the corneous endosperm percentage was obtained by difference.

The analysis of variance was performed using GLM procedure (SAS, 1989); for the variables with significant mean squares, the Tukey test ($p \leq 0.05$) was applied. Among variables a correlation analysis with the CORR procedure was made (SAS, 1989).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido de proteína y Trp

Hubo diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre híbridos y dosis de N para el porcentaje de proteína (PTG), y entre híbridos para el porcentaje de Trp en proteína (PTP) (Cuadro 1). Esto indica que por lo menos un híbrido tuvo contenido de proteína diferente al resto, debido a sus características genéticas particulares, y que el efecto de la fertirrigación con N favoreció su absorción y asimilación por la planta para finalmente concentrarse en el grano (Marschner, 1995; Zepeda *et al.*, 2007). En consecuencia se aumentó el contenido de proteína. Resultados similares fueron observados en híbridos de maíz fertilizados con 0, 90, 180, 270 y 360 kg ha⁻¹ N (Knip y Mason, 1991); y en el cv Funk 4023 se obtuvo el mismo efecto con la aplicación de 90 y 180 Kg N ha⁻¹ (Zhang *et al.*, 1993). La fertilización con N no tuvo efecto significativo ($p > 0.05$) en el % de Trp expresado en proteína; así, aumentó la proteína y se mantuvo sin cambios significativos el Trp. Según Tsai *et al.* (1983), esto sugiere que la fracción que aumentó significativamente fue la zeína, y hubo un aumento no significativo de la fracción no zeína.

La fertilización con P no cambió ($p > 0.05$) el contenido de proteína en grano (PPG) ni el de Trp en proteína (PTP), debido a que en el suelo había suficiente P (70 ppm P) para el crecimiento y desarrollo de las plantas, a los factores del suelo (pH, contenido de humedad, concentraciones iones y cationes), y las características metabólicas de la planta (concentración de iones y cationes, potencial osmótico, evapotranspiración) que favorecieron su absorción. Los contenidos de P en hoja cuando la planta tuvo 10 hojas liguladas y en floración media (0.43 y 0.34 %) estuvieron dentro de la amplitud de suficiencia mencionados por Mills y Jones (1996).

En el Cuadro 1 se observa que el híbrido CS2*10 tuvo el mayor porcentaje de proteína en grano (PPG); además superó con 20.91 % en proteína en grano al híbrido CS4*9, que tuvo el menor contenido. Hubo un grupo de seis híbridos con 10.02 a 10.72 % de proteína que, según Watson (2003), son superiores en 5.47 y 12.84 % a la media (9.5 %), mientras que CS3*9, CS4*9 y CS2*5 presentaron valores similares a la media. Los híbridos CS10*4 y CS6*5 tuvieron el mayor porcentaje de Trp en proteína (PTP), que fue ligeramente inferior a lo reportado por Zarkadas *et al.* (1995), mientras que el híbrido CS3*4 tuvo el menor porcentaje. Esto indica que el contenido de proteína en grano y Trp en proteína fueron diferentes entre híbridos debido a sus características genéticas particulares; además,

RESULTS AND DISCUSSION

Protein and Trp content

There were significant differences ($p \leq 0.05$) between hybrids and N dose for protein percentage (PPG), and between hybrids for protein Trp percentage (PTP) (Table 1). This indicates that at least one hybrid had protein content different from the rest, due to their particular genetic characteristics; and the effect of N fertirrigation favored its absorption and assimilation by the plant, as to finally become concentrated in the kernel (Marschner, 1995; Zepeda *et al.*, 2007). Consequently, the protein content increased. Similar results were observed in corn hybrids fertilized with 0, 90, 180, 270, and 360 kg ha⁻¹ N (Knip and Mason, 1991), and in cv Funk 4023 the same effect was obtained with the application of 90 and 180 kg N ha⁻¹ (Zhang *et al.*, 1993). Nitrogen fertilization did not have a significant result ($p > 0.05$) in Trp % expressed in protein, so that protein did increase and Trp remained without significant changes. According to Tsai *et al.* (1983), this suggests that the fraction which increased

Cuadro 1. Comparación de medias para los porcentajes de proteína y triptófano de híbridos de maíz cultivados con dosis de N en fertirrigación.

Table 1. Comparison of means for protein and tryptophan percentages of corn hybrids cultivated with N doses under fertirrigation.

Híbridos de cruza simple	PPG (%)	PTP(%)
CS3,9	9.507 e	0.515 ab
CS3,4	10.261 cb	0.512 b
CS10,4	10.023 cd	0.570 a
CS6,5	10.048 cd	0.568 ab
CS4,9	9.495 e	0.550 ab
CS6,10	10.061 cd	0.547 ab
CS10,3	10.252 cb	0.537 ab
CS2,10	11.480 a	0.515 ab
CS6,4	10.725 b	0.535 ab
CS2,5	9.550 ed	0.548 ab
DSH	0.512	0.057
Watson (2003), Zarkadas <i>et al.</i> (1995)	9.5	0.6
Dosis de nitrógeno (kg ha ⁻¹)		
150	9.903 b	0.542 a
225	10.232 a	0.543 a
300	10.285 a	0.534 a
DSH	0.206	0.022

Medias con diferente letra en cada columna son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$). PPG=Porcentaje de proteína en grano; PTP=Porcentaje de triptófano en proteína ♦ Means with different letter in each column are statistically different ($p \leq 0.05$) PPG=Protein percentage in grain; PTP=Tryptophan percentage in protein.

para algunos casos el tipo de endospermo no fue indicativo del contenido de proteína del grano, porque los híbridos con menor proteína tuvieron indistintamente endospermo semicristalino (CS2*5 y CS3*9) o harinoso (CS4*9). Esto se confirma con el coeficiente de correlación negativo ($R = -0.44$; $p \leq 0.01$) entre porcentaje de proteína y endospermo harinoso.

La fertilización con 300 y 250 kg N ha⁻¹ causó contenidos de proteína y Trp similares ($p > 0.05$) en el grupo de los 10 híbridos, pero superior en la proteína y parcialmente mayor en el Trp respecto a la dosis de referencia (150 kg N ha⁻¹) usada en Valles Altos Centrales de México (Cuadro 1). Esto sugiere que la aportación de N mediante el agua de riego aumentó en promedio 4 % el contenido de proteína en grano, sin un decremento significativo en el porcentaje de Trp en proteína. Este resultado coincide con lo encontrado por Tsai *et al.* (1978) en el híbrido Pioneer 3369A; pero contrasta con los resultados reportados por Tsai *et al.* (1983), quienes al evaluar los híbridos B14×B37, B14o2×B37o2 y B14o2×B37 observaron un aumento en la proteína y una disminución significativa del Trp en proteína. Esto significa que no todos los híbridos responden igual a la fertilización con N.

Componentes estructurales del grano

Entre los híbridos hubo diferencias altamente significativas ($p \leq 0.01$) en todas las estructuras del grano debido a la variabilidad genética entre ellos que origina las diferentes proporciones de endospermo harinoso y córneo, así como a diversas proporciones de embrión y pedicelo (Leyva *et al.*, 2002). También entre dosis de N hubo un efecto altamente significativo ($p \leq 0.01$) en los porcentajes de endospermo harinoso y córneo; no así para los de embrión y pedicelo (Cuadro 2). Según Tsai *et al.* (1992), el N indujo un aumento en la acumulación de α y γ -zeína y glutelina del grano, las cuales aparentemente tienen una función importante en su textura. Resultados similares fueron observados en híbridos de maíz fertilizados con 300 kg N ha⁻¹ mediante fertirrigación (Zepeda *et al.* 2007). La aplicación de cuatro dosis de N en cinco variedades de maíz cambió la proporción de endospermo harinoso en el híbrido B73×Mo17 (Oiken *et al.* 1998). Además Tsai *et al.* (1992) observaron un efecto similar cuando los granos llegaron a ser más translúcidos y vítreos con 402 kg N ha⁻¹. La aportación de P no tuvo efecto significativo ($p > 0.05$) en los componentes estructurales del grano porque el suelo tenía una cantidad suficiente (de P 70 ppm).

La interacción genotipo - nitrógeno (Gen-N) fue altamente significativa ($p \leq 0.01$) para los porcentajes de endospermo harinoso, endospermo córneo y embrión

considerablemente was zein, and there was a non significant increase of the non-zein fraction.

Phosphorus fertilization did not change ($p > 0.05$) content of kernel protein (PPG) or Trp in protein (PTP), due to the fact that there was enough P in the soil (70 ppm P) for plant growth and development, to the factors of the soil (pH, moisture content, ion and cation concentrations), and metabolic plant characteristics (ion and cation concentrations, osmotic potential, evapotranspiration), favoring their absorption. The P contents in the leaf when the plant had 10 liguled leaves and at flowering (0.43 and 0.34 %) were within the range of sufficiency mentioned by Mills and Jones (1996).

In Table 1 it is shown that hybrid CS2*10 had the highest kernel protein percentage (PPG); besides, it surpassed hybrid CS4*9 in kernel protein by 20.91 %, which was the lowest content. There was a group of six hybrids with to 10.02 protein, 10.72% was observed, which according to Watson (2003) are higher than the average (9.5 %) by 5.47 and 12.84%, whereas CS3*9, CS4*9, and CS2*5 showed values similar to the mean. Hybrids CS10*4 and CS6*5 had the highest Trp percentage in protein (PTP), which was slightly lower than that reported by Zarcadas *et al.* (1995), while hybrid CS3*4 had the lowest percentage. This indicates that the contents of kernel protein and Trp in protein were different among hybrids due to their particular genetic characteristics; besides, for some cases, the endosperm type was not indicative of kernel protein content, because the hybrids with less protein without distinction had semi-crystalline (CS2*5 and CS3*9) or floury (CS4*9) endosperm. This is confirmed by the negative correlation coefficient ($R = -0.44$; $p \leq 0.01$) between protein percentage and floury endosperm.

Fertilization with 300 and 225 kg N ha⁻¹ caused similar protein and Trp contents ($p > 0.05$) in the groups of the 10 hybrids, but higher in protein and partly larger in Trp with respect to the dose of reference (150 kg N ha⁻¹) used in the Central High Valleys of México (Table 1). This suggests that the N contribution through irrigation water increased kernel protein content by 4 % on average, without significant decrease in Trp percentage in protein. This result agrees with the one found by Tsai *et al.* (1978) in Pioneer 3369A hybrid but it contrasts with the results reported by Tsai *et al.* (1983), who evaluated hybrids B14×B37, B14o2×B37o2, and B14o2×B37 and observed an increment in protein and a considerable diminution of Trp in protein. This means that not all the hybrids respond equally to N fertilization.

Cuadro 2. Cuadrados medios y significancia estadística para los componentes estructurales del grano en híbridos de maíz cultivados con dosis de N y P en fertirrigación.

Table 2. Half squares and statistical significance for structural grain components in maize hybrids cultivated with N and P doses under fertirrigation.

FV	GL	PEH	PEC	PEM	PP
Repeticiones	1	0.75	7.48	7.38	0.19
Tratamientos	59	80.37 [†]	83.42 [†]	4.16	2.11 [†]
Genotipos (Gen)	9	413.73 [†]	423.17 [†]	8.87 [†]	6.38 [†]
Nitrógeno (N)	2	340.07 [†]	385.07 [†]	1.63	0.95
Fósforo (P)	1	2.14	0.84	1.97	1.04
Gen×N	18	10.95 [†]	12.42 [†]	5.98 [†]	1.55
Error	59	4.43	3.25	3.37	0.78

[†], [†] significativo ($p \leq 0.01$; $p \leq 0.05$); PEH=porcentaje de endospermo harinoso; PEC=porcentaje de endospermo córneo; PEM=porcentaje de embrión; PP=Porcentaje de pedicelo ♦ Significant; PEH=floury endosperm percentage PEC=corneous endosperm percentage; PEM=embryo percentage; PP=pedicel percentage.
DSH = 9.44

(Cuadro 2). Esto es, por lo menos un genotipo respondió de manera diferente a las dosis de N. En algunos híbridos disminuyó el porcentaje de endospermo harinoso al aumentar el N, mientras que en otros no hubo respuesta a su incremento (Figura 1). Lo opuesto se notó con el porcentaje de endospermo córneo, ya que ambos se complementan. Cambios en la proporción de endospermo córneo y harinoso medido con el índice de flotación en respuesta a la fertilización con 300 kg N ha⁻¹ fueron reportados por Zepeda *et al.* (2007); asimismo, Oikeh *et al.* (1998) sembraron cinco variedades mejoradas de maíz con 0, 30, 60 y 160 kg N ha⁻¹ y observaron una respuesta diferencial de cada variedad con 30 a 60 kg N ha⁻¹. Los cultivares 8644-27 y TZPB-SR tuvieron mayor porcentaje de granos flotantes, y SPL y TZB-SR el menor. La aplicación de 225 kg N ha⁻¹ en el híbrido CS3*9 redujo el porcentaje de endospermo harinoso en 33.77%, mientras que con 300 kg N ha⁻¹ en CS3*4, CS10*3 y CS4*9 fue entre 25 y 21 %, en comparación con la dosis de 150 kg N ha⁻¹.

El híbrido CS4*9 tuvo el mayor porcentaje de endospermo harinoso y el menor de endospermo córneo; lo contrario ocurrió en CS2*10 y CS10*3. Asimismo, hubo dos grupos de híbridos: uno con tipo de grano (40 y 43 % de endospermo harinoso) y otro con grano semicristalino con 31 y 34 % de endospermo harinoso (Cuadro 3). Si se consideran los porcentajes de endospermo harinoso y córneo demandados por la industria: de la masa y la tortilla ≥ 30 y ≥ 48 (Salinas y Vázquez, 2003), los híbridos CS3*9, CS10*3, CS2*10 y CS2*5 satisfacen esos requerimientos dado que los componentes estructurales del grano influyen en el proceso de nixtamalización y calidad de la tortilla. Zepeda *et al.* (2007), al evaluar la calidad del nixtamal y la

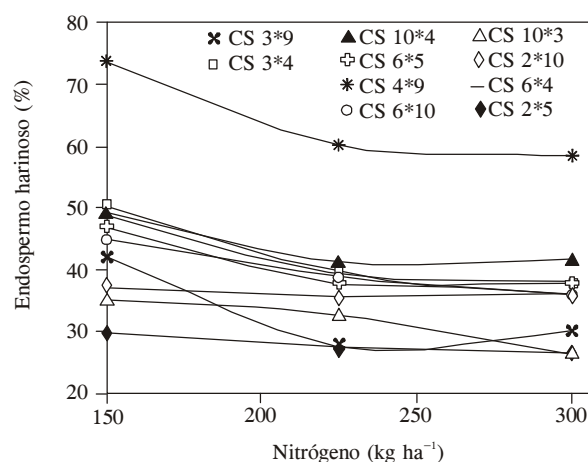


Figura 1. Interacción genotipo - nitrógeno para porcentaje de endospermo harinoso del grano en híbridos de maíz en fertirrigación.

Figure 1. Interaction genotype - nitrogen for floury endosperm percentage of grain in maize hybrids under fertirrigation.

Structural kernel components

There were highly significant differences ($p \leq 0.01$) among hybrids in all kernel structures because the genetic variability among them originates different proportions of floury and corneous endosperms, as well as diverse proportions of embryo and pedicel (Leyva *et al.*, 2002). Also among N doses there was a highly significant effect ($p \leq 0.01$) in floury and corneous endosperm percentages, which was not the case with embryo and pedicel (Table 2). According to Tsai *et al.* (1992), N induced an increment in the accumulation of a and g-zein and grain glutelin, that apparently play an important role in their texture. Similar results were observed in corn hybrids fertilized with 300 kg N ha⁻¹ by fertirrigation (Zepeda *et al.*, 2007). The application of four doses of N to five corn varieties, changed the floury endosperm proportion, in the B73×Mo17 hybrid (Oikeh *et al.*, 1998). Besides, Tsai *et al.* (1992) observed a similar effect, when the kernels became more translucent and vitreous with 402 kg N ha⁻¹. Phosphorus contribution did not have significant effect ($p \leq 0.05$) on structural kernel components because the soil contained a sufficient amount (of P 70 ppm).

The genotype - nitrogen (Gen-N) interaction was highly significant ($p \leq 0.01$) for the percentages of floury endosperm, corneous endosperm, and embryo (Table 2). This means, at least one genotype responded differently to the N doses. In some hybrids in floury endosperm percentage was decreased at increasing N, while in others there was no response to its increment (Figure 1). The contrary was noticed with corneous endosperm percentage, since both complement each

Cuadro 3. Comparación de medias para los componentes estructurales del grano de híbridos de maíz cultivados con dosis de N en fertirrigación.**Table 3. Comparison of means for structural grain components of maize hybrids cultivated with N doses under fertirrigation.**

Híbridos	PEH (%)	PEC (%)	PEM (%)	PP (%)	IF [†] (%)
CS3*9	33.53 ed	49.27 ab	11.30 b	5.88 ab	35.25 e
CS3*4	42.86 b	38.17 c	13.30 ab	5.65 bc	49.00 c
CS10*4	44.18 b	37.69 c	12.32 ab	5.79 b	42.50 d
CS6*5	41.20 b	40.54 c	12.89 ab	5.34 bc	23.50 f
CS4*9	64.32 a	18.97 d	11.30 b	5.39 bc	90.50 a
CS6*10	40.26 bc	41.48 c	13.15 ab	5.10 bc	30.75 e
CS10*3	31.60 ef	50.18 ab	13.49 ab	4.72 c	19.00 fg
CS2*10	28.10 f	51.82 a	14.62 a	5.44 bc	13.50 h
CS6*4	42.12 b	38.21 c	12.75 ab	6.91 a	62.00 b
CS2*5	36.50 cd	46.06 b	12.26 ab	5.16 bc	16.75 gh
DSH	4.54	4.12	2.73	1.03	4.992
MASECA [‡]	≥30	≤48	≤13	≤2	15-55

Dosis de nitrógeno (kg ha⁻¹)

150	46.09 a	35.51 b	12.79 a	5.59 a	40.10 a
225	38.29 b	43.62 a	12.46 a	5.62 a	
300	37.02 b	44.59 a	12.97 a	5.40 a	36.45 b
DSH	1.82	1.65	1.09	0.41	1.315

Medias con diferente letra en una columna son estadísticamente diferente ($p \leq 0.05$). PEH=porcentaje de endospermo harinoso; PEC=porcentaje de endospermo córneo; PEM=porcentaje de embrión; PP=porcentaje de pedicelo ♦ Means with different letter in a column are statistically different ($p \leq 0.05$). PEH = floury endosperm percentage; PEC=corneous endosperm Percentage; PEM=embryo percentage; PP = pedicel percentage.

[†] Salinas y Vázquez (2003).

[‡] Zepeda *et al.* (2007).

tortilla del grano de los híbridos CS3*9, CS10*3, CS2*10 y CS2*5, reportaron que cumplen los requerimientos de la industria.

Respecto a la proporción de embrión, sólo hubo diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre CS2*10 y los híbridos CS4*9 y CS3*9, donde el primero tuvo la mayor proporción y los segundos la menor (Cuadro 3). Situación semejante se tuvo con el porcentaje de pedicelo; el híbrido CS6*4 fue estadísticamente superior a CS10*4 y CS10*3, mientras que seis de ellos tienen proporciones similares. Los porcentajes máximos de embrión y pedicelo requeridos por la industria son 13 y 2. Todos los híbridos evaluados cumplen el primer requerimiento, no así para porcentaje de pedicelo, cuyos valores son mayores al aceptado. Sin embargo, estos resultados se pueden deber a la técnica de procesamiento de imágenes usada para medir los componentes estructurales del grano, ya que según Leyva *et al.* (2002) es recomendable sólo para cuantificar endospermo harinoso y córneo.

La fertilización con 225 y 300 kg N ha⁻¹ disminuyó significativamente ($p \leq 0.05$) el endospermo harinoso (16.92 %) y aumentó proporcionalmente el endospermo córneo, en comparación con la dosis de referencia en la región de los Valles Altos Centrales de México (150 kg N ha⁻¹). Esto se confirma con la disminución del índice de flotación (IF) reportado por

other. Changes in corneous and floury endosperm proportion, measured with the flotation index in response to fertilization with 300 kg N ha⁻¹ were reported by Zepeda *et al.* (2007); likewise, Oikeh *et al.* (1998) sowed five improved corn varieties with 0, 30, 60, and 160 kg N ha⁻¹ and observed a differential response of each variety, with 30 to 60 kg N ha⁻¹. Cultivars 8644-27 and TZB-SR had higher percentage of floating kernels, and SPL and TZB-SR had lowest. Applying 225 kg N ha⁻¹, in hybrid CS3*9 decreased by 33.77 % floury endosperm percentage, whereas with 300 kg N ha⁻¹, the decrease in hybrids CS3*4, CS10*3, and CS4*9 was 25 and 21 %, compared to the 150 kg N ha⁻¹ dose.

Hybrid CSa*9 had the highest percentage of floury endosperm and the lowest of corneous endosperm, the opposite occurred in CS2*10 and CS10*3. Likewise, two hybrid groups were observed: one with respect to the kernel type (40 and 43 % of floury endosperm), and the other with semi-crystalline kernel with 31 and 34 % endosperm values (Table 3). If the percentages of floury and corneous endosperm demanded by masa and tortilla industry are considered: ≥ 30 and ≥ 48 (Salinas and Vázquez, 2003), hybrids CS3*9, CS10*3, CS2*10, and CS2*5 will satisfy those requirements since the structural kernel components influence the "nixtamalization" process (processing of cooked maize)

Zepeda *et al.* (2007) (Cuadro 3). Oikeh *et al.* (1998) y Tsai *et al.* (1992) también observaron el cambio en las proporciones de endospermo harinoso y córneo mediante la medición del porcentaje de granos flotantes y la observación de granos translúcidos y vítreos. La fertilización con nitrógeno no modificó significativamente los porcentajes de embrión y pedicelo.

CONCLUSIONES

En comparación con la dosis de referencia (150 kg N ha⁻¹), la fertilización con 225 y 300 kg N ha⁻¹ con el agua de riego, incrementó el contenido de proteína en el grano, sin afectar significativamente el porcentaje de Trp en proteína. Además modificó en diferentes proporciones el endospermo harinoso y córneo del grano, lo que es favorable para la industria de la tortilla.

La fertilización con fósforo no tuvo efecto significativo en el contenido de proteína y porcentaje de triptófano en proteína, ni en los componentes estructurales del grano, debido a que las plantas estaban en suelos con suficiente P.

LITERATURA CITADA

- Ahmadi, M. W. J., J. E. Wiebold, K. Beuerlein, and D. Kephart. 1995. Protein quality of corn hybrids differing for endosperm characteristics and the effect of nitrogen fertilization. *J. Plant Nut.* 18(7): 1471-1481.
- Cadahia L., C., y J. J. Lucena M. 1998. Diagnóstico de nutrición y recomendaciones de abonado. In: Cadahia L., C. (ed). *Fertirrigación: Cultivos Hortícolas y Ornamentales*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. pp: 172-246.
- Faleiros, R. R. S., J. R. Seebauer, and F. E. Below. 1996. Nutritionally induced changes in endosperm of shrunken-1 and brittle-2 maize kernels grown *in vitro*. *Crop Sci.* 36: 947-954.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2007. FAOSTAT (FAO Statistical Databases) Agriculture, Fisheries, Forestry, Nutrition. Rome, Italy. <http://faostat.fao.org/default.aspx/>. Noviembre de 2007.
- García, M., E. 1987. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. Universidad Nacional Autónoma de México. México. D. F. 217 p.
- Hernández, H. H., and L. S. Bates. 1969. A modified method for rapid tryptophan analysis of maize. *Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. Mexico City, México. Res. Bull.* No.13.
- INPOFOS (Instituto de la Potasa y el Fósforo). 1997. Maximice la eficiencia de su fertilizante mediante curvas de absorción de N, P, y K en maíz de grano. *Informaciones Agronómicas* 2: 1-4.
- Knip, K. R., and S. C. Mason. 1991. Lysine and protein content of normal and opaque-2 maize kernel as influenced by irrigation and nitrogen. *Crop Sci.* 31: 177-181.
- Leyva O., O. R., A. Carballo C., J. A. Mejía C., y M. G. Vázquez C. 2002. Procesamiento digital de imágenes para la estimación de textura de endospermo en líneas de maíz. *Rev. Fitotec. Mex.* 25(4): 355-365.
- Marschner, H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 2nd. ed. Academic Press Limited. London, Great Britain. pp: 229-277.
- Mills, H. A., and J. B. Jones Jr. 1996. *Plant Analysis Handbook II: A Practical Sampling, Preparation, Analysis, and Interpretation Guide*. Micromacro Publishing, Georgia, USA. pp: 112-191.

and tortilla quality. Zepeda *et al.* (2007) at assessing quality of "nixtamal" and tortilla of hybrid kernels CS3*9, CS10*3, CS2*10, and CS2*5, reported that they fulfilled the requirements of industry.

With respect to embryo proportion, there were only significant differences ($p \leq 0.05$) between CS2*10 and hybrids CS4*9 and CS3*9, where the first had the highest proportion and the second ones had the lowest (Table 3). A similar situation was obtained with the pedicel percentage; hybrid CS6*4 was statistically superior to CS10*4 and CS10*3, while six of them had similar proportions. Maximum embryo and pedicel percentages required by industry are 13 and 2. All the evaluated hybrids fulfill the first requirement, which pedicel percentage does not; its values are above the accepted. These results, however, may be due to the image processing technique used for measuring the structural kernel components, since according to Leyva *et al.* (2002), it is recommendable only for quantifying floury and corneous endosperm.

Fertilization with 225 and 300 kg N ha⁻¹ significantly decreased ($p \leq 0.05$) floury endosperm (16.92 %) and increased proportionally corneous endosperm, in comparison with the reference dose in the region of the Central High Valleys of Mexico (150 kg N ha⁻¹). This is confirmed through the decrease of the flotation index (IF) reported by Zepeda *et al.* (2007) (Table 3). Oikeh *et al.* (1998) and Tsai *et al.* (1992) also observed the change in floury and corneous endosperm proportions by measurement of floating kernel percentage and observation of translucent and vitreous kernels. Nitrogen fertilization did not significantly modify embryo and pedicel percentages.

CONCLUSIONS

Compared to the reference dose (150 kg N ha⁻¹), fertilization with 225 and 300 kg N ha⁻¹ through irrigation water increased kernel protein content without significantly affecting Trp percentage in protein. Besides it modified floury and corneous kernel endosperm in different proportions, which is favorable for the tortilla industry.

Phosphorus fertilization did not have significant effect on protein content and Trp percentage in protein, nor on structural kernel components, due to the fact that the plants were in soils with sufficient P.

End of the English version—



- Oikeh, S. O., J. G. Kling, and A. E. Okoruwa. 1998. Nitrogen fertilizer management effects on maize kernel quality in the West African moist Savanna. *Crop Sci.* 38: 1056-1061.

- Pixley, K. V., and M. S. Bjarnason. 2002. Stability of kernel yield, endosperm modification, and protein quality of hybrid and open-pollinated quality protein maize (QPM) cultivars. *Crop Sci.* 42: 1882-1890.
- Ritchie, W. S., G. O. Benson, S. J. Lupkes, and R. J. Salvador. 1993. How a corn plant develops. Cooperative Extension Service. Ames, Iowa. Iowa State University of Science and Technology. <<http://www.ag.iastate.edu/departments/agronomy/corngrows.html>>. Consulta 2002.
- Salinas M., Y., y G. Vázquez C. 2003. Calidad de maíz para las industrias molinero-tortillera y de harinas nixtamalizadas. *In: 60 Años de Investigación al Servicio de México 1943-2003 Campo Experimental Valle de México El Horno*. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Centro. Campo Experimental Valle de México. Chapingo, Estado de México. Memoria Técnica No. 6. 96 p.
- SAS (Statistical Analysis System Institute). 1989. SAS/SAT User's Guide. Version 6. Fourth Edition. SAS Institute Inc. Cary, N.C. 943 p.
- Tsai, C. L., and C. Y. Tsai. 1990. Endosperm modified by cross-pollinating maize to induce changes in dry matter and nitrogen accumulation. *Crop Sci.* 30: 804-808.
- Tsai, C. Y., D. M. Huber, and H. L. Warren. 1978. Relationship of the kernel sink for N to maize productivity. *Crop Sci.* 18: 399-405.
- Tsai, C. Y., H. L. Warren, D. M. Haber, and R. A. Bressani. 1983. Interaction between the kernel N sink, kernel yield and protein nutritional quality of maize. *J. Sci. Food Agric.* 34: 255-263.
- Tsai, C. Y., I. Dweikat, D. M. Huber, and H. L. Warren. 1992. Interrelationship of nitrogen nutrition with maize (*Zea mays*) kernel yield, nitrogen use efficiency and kernel quality. *J. Sci. Food Agric.* 58: 1-8.
- Villegas, E. 1972. An integral system for chemical screening of quality protein maize. *In: High Quality Protein Maize. International Maize and Wheat Improvement Center. Purdue University. International Symposium on Protein Quality in Maize, El Batán, México.* pp: 330-336.
- Villegas, E., and E. T. Mertz. 1971. Chemical screening methods for maize protein quality at CIMMYT. *CIMMYT Res. Bull.* 20. CIMMYT, Mexico City, Mexico.
- Watson, S. A. 2003. Description, development, structure, and composition of the corn kernel. *In: White, P. J., and L. A. Johnson (eds). Corn: Chemistry and Technology. American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, USA.* 892 p.
- Zarkadas, C. G., Z. Yu, R. I. Hamilton, P. L. Patison, and N. G. Rose. 1995. Comparison between protein quality of northern adapted cultivars of common maize and quality protein maize. *J. Agric. Food Chem.* 43: 84-93.
- Zepeda B., R., A. Carballo C., A. Muñoz O., J. A. Mejía C., B. Figueroa S., y F. V. González C. 2007. Fertilización nitrogenada y características físicas, estructurales y calidad del nixtamal-tortilla del grano de híbridos de maíz. *Agric. Téc. Méx.* 33(1):17-24.
- Zhang, F., A. F. Mackenzie, and D. L. Smith. 1993. Corn yield and shifts among corn quality constituents following application of different nitrogen fertilizer sources at several times during corn development. *J. Plant Nut.* 16(7): 1317-1337.