



Cruzas simples exploratorias de maíz morado para producción de pigmentos en pericarpio y olote*

Exploratory single crosses of purple maize for pericarp and cob pigment production

José Luis Ramírez Díaz¹, Alejandro Ledesma Miramontes¹, Yolanda Salinas Moreno¹, Ivone Alemán de la Torre¹, Thanda Dhliwayo², Víctor Antonio Vidal Martínez³

* Recepción: 13 de agosto, 2024. Aceptación: 21 de octubre, 2024. Este trabajo formó parte de la investigación “Formación de un patrón heterótico de maíz morado para la producción de antocianinas en grano y olote” desarrollado en el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias de México. Financiado parcialmente por el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo.

¹ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Centro-Altos de Jalisco. Av. Biodiversidad 2470. 47714 Tepatitlán, Jalisco, México. ramirez.joseluis@inifap.gob.mx (autor para la correspondencia; <https://orcid.org/0000-0001-6378-1615>), ledesma.alejandra@inifap.gob.mx (<https://orcid.org/0000-0002-2670-6242>), salinas.moreno@inifap.gob.mx (<https://orcid.org/0000-0002-1828-5839>), aleman.ivone@inifap.gob.mx (<https://orcid.org/0000-0001-9491-6754>).

² Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. Carretera México-Veracruz, km. 45, El Batán 56237 Texcoco, Estado de México, México. d.thanda@cgiar.org (<https://orcid.org/0000-0001-8583-129X>)

³ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Santiago Ixcuintla. Carretera Internacional México-Nogales Kilómetro 6, Centro, 63300 Santiago Ixcuintla, Nayarit, México. vidal.victorantonio@inifap.gob.mx (<https://orcid.org/0000-0003-0368-3524>).

Resumen

Introducción. Los pigmentos vegetales representan una alternativa a los colorantes artificiales y contribuyen al consumo de alimentos saludables. **Objetivo.** Evaluar, en campo y laboratorio, cruzas simples exploratorias (CSE) de maíz con grano y olote morado, formadas con líneas aleatorias, para analizar la integración del patrón heterótico B-49N x B-41N. **Materiales y métodos.** La investigación se llevó a cabo en Tepatitlán, Jalisco, México, durante los años 2021 y 2022. Se formaron CSE entre seis líneas S₅ de la población B-49N y cuatro líneas S₃ de B-41N, todas con grano y olote morado. En 2022, las cruzas y cinco testigos fueron evaluados bajo condiciones de temporal en la misma localidad, mediante un diseño experimental de bloques completos al azar con tres repeticiones. La parcela consistió en un surco de 4 m de largo, 0,8 m de ancho y 0,16 m entre plantas, con veinticinco plantas por surco. Se recolectaron datos de características de planta y mazorca. En siete cruzas se evaluó el contenido de antocianinas total en grano (CATg) y olote (CATo). Se realizaron análisis de varianza y pruebas de medias para todas las variables, con el programa estadístico SAS. **Resultados.** Se obtuvieron doce CSE con rendimiento igual ($p < 0,05$) que el testigo blanco, pero con grano y olote morado. Se observó una variación significativa ($p < 0,05$) en antesis (de 80 a 90 días), acame de tallo (de 0 a 12,6 %) y calificación de mazorca (de 1,5 a 2,7). El grano de las CSE presentó textura suave a muy suave. No hubo asociación entre el rendimiento y contenidos de CATg y CATo. **Conclusión.** Los resultados de CSE muestran avances positivos en la integración del patrón heterótico de maíz morado B-49N x B-41N. En el futuro, deberá aumentarse el contenido de antocianinas en grano y olote, y dureza del grano.

Palabras claves: *Zea mays* L. Antocianinas, hibridación, mejoramiento poblacional.



Abstract

Introduction. Plant pigments represent an alternative to artificial colorants and contribute to the consumption of healthier foods. **Objective.** To evaluate, both in field and laboratory, exploratory single crosses (ESCs) of maize purple grain and cob developed using random lines, to assess the integration of the heterotic pattern B-49N x B-41N. **Material and methods.** The research was conducted in Tepatitlán, Jalisco, Mexico, during 2021 and 2022. ESCs were formed using six S_5 lines from the B-49N population and four S_3 lines from B-41N, all with purple grain and cob. In 2022, the crosses and five controls were evaluated under rainfed conditions in the same location, using a randomized complete block experimental design with three replications. Each plot consisted of a single row, 4 m long, 0.8 m wide, and 0.16 m between plants, with 25 plants per row. Data were collected on plant and ear characteristics. Total anthocyanin content in grain (CATg) and cob (CATo) was measured in seven of the crosses. Analysis of variance and mean comparison tests were conducted for all variables using SAS statistical software. **Results.** Twelve ESCs were identified with grain yield equal ($p < 0.05$) to the white control, but with purple grain and cob. Significant variation ($p < 0.05$) was observed in days to anthesis (ranging from 80 to 90 days), stalk lodging (from 0 to 12.6 %), and ear scoring (from 1.5 to 2.7). Grain texture ranged from soft to very soft among the ESCs. No association was found between grain yield and levels of CATg and CATo. **Conclusion.** The results from the ESCs indicate positive progress in the integration of the purple maize heterotic pattern B-49N x B-41N. However, future efforts should focus on increasing anthocyanin content in grain and cob, as well as improving grain hardness.

Keywords: *Zea mays* L. Anthocyanins, hybridization, population improvement.

Introducción

Los pigmentos naturales, como sustitutos de los artificiales, representan una opción para que la población consuma alimentos más saludables y con menor riesgo de enfermedades (Basu & Kumar, 2014). El maíz morado constituye una fuente alternativa para la producción de pigmentos conocidos como antocianinas, ya que estas se generan en casi todas sus estructuras, aunque es más común obtenerlas del grano y olote. Este tipo de maíz presenta una amplia adaptación ecológica y variabilidad genética en cuanto al contenido de pigmentos (Mendoza-Mendoza et al., 2017). En México existen poblaciones de maíz con grano morado; sin embargo, las originarias de Perú y Ecuador superan a las mexicanas en concentración de antocianinas (Salinas-Moreno et al., 2021).

El pigmento en el grano de maíz se localiza en el pericarpio, en la capa de aleurona o en ambas. Su ubicación determina su uso: si se encuentra en la aleurona, se destina principalmente a la industria de la masa y tortilla; mientras que si está en el pericarpio y el olote, se utiliza para la extracción industrial de antocianinas, ya que estas estructuras concentran más antocianinas que la aleurona (Salinas Moreno et al., 2005). Para que la extracción comercial de antocianinas sea rentable, se requieren híbridos adaptados a sistemas de producción intensivos, con tolerancia al acame (caída o quiebra antes de la cosecha) (Xue et al., 2017), facilidad para la remoción mecánica de las capas periféricas pigmentadas del grano (perlabilidad), y alta concentración de antocianina en grano y olote (Salinas-Moreno et al., 2021).

Los maíces nativos presentan altos contenidos de antocianinas en grano y olote, pero no se adaptan a los sistemas intensivos de producción ni al manejo industrial del grano, debido a que son plantas muy altas, susceptibles al acame, propensas a pudriciones de mazorca y con adaptación localizada (Mendoza-Mendoza et al., 2019). En cuanto a las características del grano, este presenta una textura 100 % harinosa, lo que dificulta el perlado y limita el aprovechamiento del endospermo y el germen para alimentación animal o la obtención de etanol (Salinas-Moreno et al., 2021; Paulsmeyer et al., 2017).

En el mejoramiento genético de maíces pigmentados, los sitios de selección de progenies son clave, ya que la eficiencia en la síntesis de antocianinas varía con la altitud (Jing et al., 2007), lo que puede afectar negativamente la selección de progenies con alto contenido de estos compuestos. En un estudio se encontró que el contenido de antocianinas en grano y olote fue mayor cuando el maíz pigmentado se produjo en verano a 1900 m de altitud, en comparación con el mismo material sembrado en otoño-invierno a 300 m de altitud (Aguilar-Hernández et al., 2019). La selección de genotipos con grano y olote morado es compleja y costosa, debido a que dichas características son de herencia cuantitativa con efectos epistáticos (Harakotr et al., 2016; Xu et al., 2015), por lo que se requiere apoyo constante de laboratorio para identificar progenies con endospermo córneo y alto contenido de antocianinas en grano y olote.

Con el objetivo de generar híbridos con potencial para la extracción comercial de antocianinas, se integró el patrón heterótico de maíz morado B-49N x B-41N, a partir de una cruce simple sobresaliente de grano blanco. El proceso inició con la selección de poblaciones de maíz morado y de donadores (Ramírez Díaz et al., 2017; Salinas-Moreno, et al., 2021), seguido de la evaluación de líneas mediante aptitud combinatoria general (Ramírez-Díaz et al., 2019), la síntesis del primer ciclo de selección de la población morada B-49N (Ramírez-Díaz et al., 2022), y la evaluación industrial del perlado del grano morado en híbridos no convencionales (Ledesma-Miramontes et al., 2022). El mayor avance se ha logrado en la población B-49N, debido a que la selección del donador en B-41N fue posteriormente.

Después de varias generaciones de autofecundación, se identificaron líneas con grano y olote morado en ambas poblaciones. Sin embargo, se desconoce el tipo de híbridos que pueden generarse dentro del patrón heterótico B-49N x B-41N, así como la variación fenotípica en planta, la heterosis en rendimiento, las características físicas del grano y contenido de antocianinas en grano y olote, necesarios para confirmar o reorientar los enfoques de investigación. El objetivo de esta investigación fue evaluar, en campo y laboratorio, cruces simples exploratorias de maíz formadas con líneas aleatorias con grano y olote morado, para analizar la integración del patrón heterótico B-49N x B-41N.

Materiales y métodos

Material genético

La formación de un patrón heterótico de maíz con grano y olote morado se inició en 2015, a partir de la cruce de maíz de grano blanco B-49 x B-41, progenitora del híbrido H-377 (Ramírez-Díaz et al., 2010). Esta cruce dio lugar a plantas de porte bajo, con tolerancia al acame, grano semidentado y buena adaptabilidad a condiciones del trópico y subtropico. Como donadores del pigmento morado en grano y olote se utilizaron los maíces nativos Kulli y ECU-12696, seleccionados con base en la evaluación de maíces nativos con grano y olote morado realizada por Ramírez Díaz et al. (2017) y Salinas et al. (2016). En la línea B-49 se utilizó como donador el material Kulli, mientras que en B-41 se utilizó ECU-12696.

La introducción del color se realizó mediante el método de retrocruza limitada (Márquez-Sánchez, 1990), con el objetivo de conservar la heterosis remanente del donador. Así, el patrón heterótico de maíz morado quedó integrado como B-49N x B-41N. La selección de progenies se llevó a cabo mediante el método de selección recurrente recíproca, modificado por Ramírez-Díaz et al. (2015), adaptado para el aprovechamiento de maíces nativos. En la selección intrafamiliar de las características de grano y olote morado, así como de la intensidad del color, se aplicó el método de pedigrí hasta alcanzar el color objetivo (grano y olote con color morado intenso). La formación de la población B-41N se retrasó en comparación con B-49N, ya que el donador ECU-12696 fue seleccionado hasta 2016 y la conversión inició en 2017 (Ramírez Díaz et al., 2017).

Después de seis años de trabajo en la conversión de B-49N y B-41N, aún se desconocían los tipos de híbridos esperados, la variación fenotípica y el contenido de antocianinas en grano y olote. Para abordar esta incertidumbre, se seleccionaron aleatoriamente seis líneas S_5 de la población B-49N y cuatro líneas S_3 de B-41N, con las cuales se formaron 21 cruza simples exploratorias durante el ciclo agrícola primavera-verano (PV) 2021, en el Campo Experimental Centro Altos de Jalisco (CECAJAL), ubicado en Tepatitlán, Jalisco, México (20° 52' 23" N, 102° 42' 49" O; altitud 1956 m). Las líneas de B-49N se usaron como progenitoras femeninas y las de B-41N como masculinas. El pericarpio de la semilla cosechada de B-49N mostró el color morado objetivo, lo que, dada su herencia materna (Ron-Parra et al., 2016), indica que el color ya está fijado en esta población. En contraste, en B-41N se observó segregación hacia tonos rojo oscuro, lo cual evidencia que el color morado aún no está completamente fijado.

Las 21 cruza, junto con tres poblaciones de grano morado: Morado Original (donador de B-49), Morado 1 (sintético de cuatro líneas S_6 , seleccionadas del Morado Original), y Morado 2 (sintético formado por 13 líneas S_5 seleccionadas de B-49N), además de dos testigos (un híbrido comercial de grano blanco, H-392, y la cruza interpoblacional de grano morado VC-42 x Kulli), fueron sembradas el 24 de junio de 2022, bajo condiciones de temporal, en el CECAJAL. El experimento se estableció en un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones. El tamaño de parcela fue un surco de 4,0 m de largo con 25 plantas, 0,8 m entre surcos y 0,16 m entre plantas, lo que equivale a una densidad de población de 78,125 plantas/ha.

Manejo agronómico

La fórmula de fertilización se determinó con base en un análisis de suelo, se aplicó la dosis 200N-70P-70K, distribuida en tres tiempos: a la siembra, a los 30 y 60 días después de la siembra (DDS). Para el control de la maleza, se aplicó una mezcla de herbicidas con ingredientes activos Atrazina + S-Metaloclor, en una dosis de 3,0 L ha⁻¹, en preemergencia tanto al cultivo como a la maleza. Durante la etapa de floración, se empleó una combinación de herbicidas postemergentes: Tembotrione + ([Dicamba + 24D] + Atrazina, en dosis de 300 mL y 2,0 L ha⁻¹ para el control de maleza de hoja ancha. Las principales plagas foliares, gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) y picudos (*Nicentrites testaceipes* y *Geraeus senilis*) se controlaron mediante dos aplicaciones de una mezcla de insecticidas con ingredientes activos Benzoato de Emamectina + Lambdacihalotrina, en dosis de 100 mL y 200 mL ha⁻¹, respectivamente, realizadas a los 35 y 42 DDS. En ambas aplicaciones se incluyó un fertilizante foliar a base de micronutrientes, en dosis de 1,5 L ha⁻¹.

Toma de datos agronómicos

Se evaluó el rendimiento de grano (REND) ajustado al 12 % de humedad (kg ha⁻¹), número de días a floración masculina (FM) y femenina (FF), altura de planta y mazorca (cm), porcentaje de acame de raíz y tallo, número de plantas "horras" (sin mazorca) y con carbón común, así como la calificación visual de planta y mazorca, en una escala de 1 a 5, donde 1 = lo mejor y 5 = lo peor. Durante el mes de octubre se presentó un periodo de sequía y una helada temprana ligera, lo cual afectó principalmente el REND de los genotipos de ciclo tardío, ya que se encontraban en la etapa reproductiva final (R3).

Análisis estadístico

Se hizo análisis de varianza (ANVAR) para todas las variables evaluadas, así como la correlación de Pearson entre REND, FM y FF, mediante el programa estadístico SAS 9.2 (Statistical Analysis System, 2009). El REND se ajustó por covarianza, se tomó como covariable el número de plantas por parcela. La comparación de medias se efectuó mediante la prueba de la diferencia mínima significativa (DMS) al nivel de 0,05 de probabilidad.

Selección de cruzas para análisis de características de grano y cuantificación de pigmentos en grano y olote

Después de la cosecha, las mazorcas de cada parcela se extendieron para su revisión. A partir de una evaluación visual, se seleccionaron nueve parcelas que presentaban mazorcas uniformes, con intensidad y estabilidad en el color objetivo del grano. Estas parcelas correspondieron a las cruzas simples experimentales (CSE): CSE-1, CSE-18, CSE-17, CSE-13, CSE-12, CSE-14 y CSE-20, en los casos de CSE-13 y CSE-14, se muestrearon dos repeticiones.

Caracterización física del grano

En cada parcela seleccionada, se tomó una muestra de 250 g de grano limpio, a la cual se les determinó el contenido de humedad y peso hectolítrico (lb/bu) utilizando un determinador Dickey-John. El valor del peso hectolítrico se convirtió a kg/hL, mediante la multiplicación por el factor 1,2695. Para evaluar la dureza del grano, se aplicaron las técnicas del índice de flotación, peso de 100 semillas, densidad verdadera y tipo de endospermo, con base en la metodología propuesta por Salinas y Vázquez (2006).

Contenido de antocianinas en grano y olote

La cuantificación del contenido de antocianinas total (CAT) en el grano se realizó a partir de una muestra de 30 granos, los cuales se remojaron 15 min en agua caliente a 40 °C. Posteriormente, con ayuda de un bisturí, se removió el germen. Los granos sin germen se dejaron en condiciones de oscuridad por 24 h. Una vez secos, se molieron en un molino tipo ciclónico (UDY Corporation, USA) equipado con una malla de 0,5 mm. La harina obtenida se almacenó en frascos de vidrio y se mantuvo en refrigeración hasta su análisis. Para el análisis del CAT en olote, se seleccionó una muestra representativa de cinco olotes por parcela, los cuales fueron triturados manualmente con un marro, luego molidos en un molino Wiley provisto de malla de 1,0 mm.

Los tamaños de muestra utilizados para el análisis fueron: 1,0 g de harina para grano y 100 mg para olote. La extracción de las antocianinas en ambos casos se realizó conforme a lo descrito por Salinas Moreno et al. (2005), con algunas modificaciones, que incluyeron una etapa de sonicación de 15 min en un baño sónico (Branson, modelo 2510R-MT, Estados Unidos), seguida de un reposo bajo refrigeración por 105 min. Al finalizar este tiempo, la muestra se agitó y se centrifugó (Centrifuga Universal Modelo 32. Hettich®, Alemania) durante 10 min a 4000 rpm, para facilitar la separación del sobrenadante.

Para determinar el CAT, se realizaron dos extracciones sucesivas tanto en grano como en olote. Los sobrenadantes obtenidos de cada extracción se mezclaron, y se registró el volumen total. La absorbancia se midió en un espectrofotómetro (UVI-lambda 25, Perkin-Elmer, Estados Unidos) a 530 nm. Para la cuantificación, se empleó una curva patrón construida con el estándar comercial cianidina 3-glucósido (Extrasynthase, Francia), los resultados se expresaron en función de esta antocianina. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

Resultados

Evaluación agronómica

En el análisis de varianza, los híbridos mostraron diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) en rendimiento de grano, número de días a floración masculina y femenina, altura de planta y calificación de planta; así como diferencias significativas ($p < 0,05$) en el porcentaje de acame de tallo y en la calificación de mazorca. Por otro

lado, no se observaron diferencias significativas en la altura de mazorca, porcentaje de plantas acamadas de raíz, porcentaje de plantas “horras” (sin mazorca), ni en la presencia de carbón común (*Ustilago maydis*) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Cuadrados medios y significancia estadística de características de planta y mazorca de cruza simples exploratorias de maíz morado del patrón heterótico B-49N x B-41N. Tepatitlán, Jalisco, México. 2022.

Table 1. Mean squares and statistical significance of plant and ear characteristics from single exploratory crosses of purple maize of heterotic pattern B-49N x B-41N. Tepatitlán, Jalisco, Mexico. 2022.

FV	GL	REND	Floración		Altura		Acame		Plantas		Calificación	
			Mas	Fem	Pta	Maz	Raíz	Tallo	Horras	CC	Pta	Maz
Bloques	2	494 919	7*	12,3**	226,2	58,2	4,9	17,9	9,1	0,03	0,28*	0,22
Híbridos	24	3 708 132**	29,9**	37,0**	724,3**	225,1	8,2	32,7*	23,9	0,8	1,03**	0,18*
Error	47	1 192 307	1,6	2,0	173,5	155,5	4,9	16,3	22,7	0,87	0,32	0,08
CV		23,6	1,5	1,6	4,8	10,1	667,8	226,6	169,8	516,6	15,2	21,3

*, ** Valores significativos al 0,05 y 0,1 de probabilidad. **FV:** Fuente de variación; **GL:** Grados de libertad; **REND:** Rendimiento de grano al 12 % de humedad; **Mas:** Masculina; **Fem:** Femenina; **Pta:** Planta; **Maz:** Mazorca; **CC:** Porcentaje de carbón común; **CV:** Coeficiente de variación. / *, ** Significant values at 0.05 and 0.01 of probability. **FV:** Source of variation; **GL:** Degrees of freedom; **REND:** Grain yield at 12 % moisture; **Mas:** Male flowering; **Fem:** Female flowering; **Pta:** Planta; **Maz:** Ear; **CC:** Corn smut percentage; **CV:** Coefficient of variation.

Las diferencias en REND entre las cruza simples exploratorias (CSE) oscilaron entre 3685 y 6099 kg ha⁻¹. De estas, 12 cruza presentaron un REND estadísticamente igual ($p < 0,05$) al del testigo de grano blanco H-392 (6208 kg ha⁻¹). Destacaron las cruza CSE-9, CSE-17 y CSE-7, con rendimientos de 6099, 6032 y 5821 kg ha⁻¹, respectivamente. Las medias de REND registradas en las poblaciones de maíz morado y en la cruza VC42 x Kulli fueron estadísticamente iguales entre sí, pero estadísticamente menores ($p < 0,05$) que las obtenidas por CSE-9, CSE-17 y CSE-7. Cabe señalar que los genotipos no expresaron su potencial de REND total, debido a la sequía que se presentó durante la etapa fenológica R3 (Cuadro 2).

Hubo diferencias significativas ($p < 0,05$) en floración masculina (FM) y femenina (FF) entre las cruza simples exploratorias (CSE), así como entre estas y los testigos. La CSE-16 fue la más precoz (80 días a FM y FF) y estadísticamente menor que el resto de CSE y los testigos, excepto la cruza VC-42 x Kulli (74 y 75 días a FM y FF) y la CSE-2 (83 días a FM). Entre las poblaciones moradas, las diferencias en floración solo fueron significativas ($p < 0,05$) para FF. La media de FF de la población Morado 2 (86 días) fue estadísticamente menor que la de Morado Original (89 días) y estadísticamente igual a la de Morado 1 (87 días).

El testigo H-392 fue el más tardío, con 89 y 91 días a FM y FF, respectivamente (Cuadro 2). Respecto al porcentaje de acame de tallo (AT), solo la media del testigo VC-42 x Kulli (16,3 %) fue significativamente diferente ($p < 0,05$) del resto. Entre las poblaciones, Morado 2 destacó con 0 % de acame tanto de tallo como de raíz.

En cuanto a la calificación de planta, las CSE-1 (3,5), CSE-11 (3,3) y CSE-12 (3,3), así como las poblaciones Morado Original (3,7) y Morado 2 (3,7), presentaron las calificaciones más altas y fueron estadísticamente diferentes de las CSE-20 (1,8), CSE-21 (1,7) y CSE-14 (2,0). La calificación de mazorca tuvo poca variación (de 1,5 a 2,7 %). La CSE-2 (2,7) y VC-42 x Kulli (2,3) presentaron los valores más altos y fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$) a las CSE-9 (1,7), CSE-17 (1,8), CSE-7 (1,8) y el testigo H-392 (1,8) (Cuadro 2).

Las alturas de planta de las CSE exploratorias fueron menores que la del testigo comercial H-392 (305 cm), y en 15 de ellas esta diferencia fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$). Entre las poblaciones, el sintético Morado 2 presentó la menor altura de planta (233 cm) y fue significativamente menor ($p < 0,05$) que Morado Original (270 cm) y Morado 1 (272 cm). Además, Morado 2 tuvo menor media en altura de mazorca y 0 % de acame de raíz y tallo, lo cual refleja el avance en el proceso de conversión y selección llevado a cabo en la población B-49N (Cuadro 2).

Cuadro 2. Rendimiento de grano y características de planta y mazorca de cruzas simples exploratorias de maíz morado formadas entre líneas del patrón heterótico B-49N x B-41N. Tepatitlán, Jalisco, México. 2022.

Table 2. Grain yield, plant, and ear characteristics of exploratory single crosses of purple maize developed from lines of the heterotic pattern B-49N x B-41N. Tepatitlán, Jalisco, Mexico. 2022.

Genealogía	REND (kg ha ⁻¹)	Floración (d)		Altura (cm)		Acame (%)		Plantas (%)		Calificación	
		Mas	Fem	Pta	Maz	Raíz	Tallo	Horras	Carbón	Maz	Pta
CSE-9	6099	86	85	288	136	0,0	2,4	0,0	0,0	1,7	2,5
CSE-17	6032	84	87	295	138	0,0	1,4	0,0	2,0	1,8	2,3
CSE-7	5821	87	87	290	129	0,0	3,3	0,0	0,0	1,8	2,7
CSE-2	5577	83	83	281	135	0,0	3,0	0,0	0,0	2,7	2,7
CSE-16	5228	80	80	287	117	0,0	0,0	4,0	0,0	1,7	3,2
CSE-14	5056	87	88	268	124	0,0	4,0	0,0	0,0	1,7	2,0
CSE-1	4960	87	86	275	135	0,0	0,0	2,0	0,0	1,8	3,5
CSE-4	4849	89	85	257	115	0,0	0,0	2,0	0,0	1,7	2,3
CSE-11	4842	84	83	276	127	0,0	0,0	0,0	0,0	1,7	3,3
CSE-12	4563	86	86	278	132	0,0	4,2	3,0	0,0	1,8	3,3
CSE-19	4523	86	88	268	110	0,0	0,0	6,0	0,0	1,8	2,5
CSE-21	4470	88	91	295	135	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	1,7
CSE-5	4395	88	87	257	120	0,0	1,7	1,0	0,0	2,0	3,2
CSE-8	4258	87	86	271	127	0,0	0,0	7,0	0,0	1,7	2,8
CSE-13	4035	87	87	257	113	0,0	2,0	8,0	0,0	1,8	2,8
CSE-6	4018	87	86	263	118	0,0	1,3	1,0	1,0	2,0	2,3
CSE-20	4011	86	89	277	121	0,0	1,3	4,0	0,0	1,5	1,8
CSE-18	3829	88	91	280	119	0,0	0,0	7,0	0,0	1,8	2,2
CSE-3	3771	86	87	258	123	0,0	0,0	4,0	0,0	1,7	2,3
CSE-15	3685	90	90	268	126	8,3	0,0	1,0	1,0	1,8	2,2
Morado original	3807	85	89	270	129	0,0	2,4	8,0	0,0	2,0	3,7
Morado 2	3505	86	87	233	106	0,0	0,0	0,0	0,0	2,2	3,7
Morado 1	3410	85	88	272	129	0,0	1,3	7,0	0,0	2,0	2,8
H-392 Testigo	6208	89	91	305	117	0,0	0,0	5,0	0,0	2,0	1,8
VC-42 x Kulli	4508	74	75	261	117	0,0	16,2	0,0	0,0	2,3	3,2
DMS (0,05)	1794	4	2	22	ns	ns	6,7	ns	ns	0,5	0,9

CSE: Cruza simple exploratoria; **REND:** Rendimiento de grano al 12 % de humedad (kg ha⁻¹). **Mas:** Masculina; **Fem:** Femenina; **Pta:** Planta; **Maz:** Mazorca; La calificación de mazorca (Maz) y planta (Pta) se hizo con una escala visual, donde: 1 = lo mejor y 5 = lo peor, **DMS:** Diferencia mínima significativa. / **CSE:** Exploratory single cross; **REND:** Grain yield 12 % moisture (kg ha⁻¹). **Mas:** Male flowering; **Fem:** Female flowering; **Pta:** Plant; **Maz:** Ear. Ear (Maz) and plant (Pta) ratings were assessed using a visual scale, where: 1 = the best, and 5 = the worst, DMS: Least significant difference.

Características físicas del grano de cruzas simples exploratorias

En las muestras de las CSE seleccionadas, el contenido de humedad del grano (H) osciló entre 9,8 a 10,8 %, valores inferiores a la humedad comercial habitual, que se encuentra entre 12 y 14 %. El peso hectolítrico (PH) varió entre 71 kg hL⁻¹ (CSE-17) y 77 kg hL⁻¹ (CSE-13). En cuanto a la densidad verdadera (DV) los valores variaron entre 1,138 g cm⁻³ (CSE-20) y 1,214 g cm⁻³ (CSE-13), lo que corresponde a maíces de grano suave o harinoso. El peso de cien semillas (P100S) se ubicó entre 23,0 g (CSE-13) y 28,5 g (CSE-14), lo cual indica que se trata de granos de tamaño pequeño. En el índice de flotación (IF), los valores extremos se registraron en CSE-13 (43,5) y CSE-17 (90,5), lo que indica una variabilidad en la dureza del grano, que va de suave a muy suave. El tipo de endospermo (TE), expresado como porcentaje de endospermo harinoso, se situó entre 50 y 100 % (Cuadro 3).

Cuadro 3. Características físicas del grano de cruza simples exploratorias de maíz morado formadas a partir de patrón heterótico B-49N x B-41N. Tepatitlán, Jalisco, México. 2022.

Table 3. Physical grain characteristics of exploratory single crosses of purple maize formed from heterotic pattern B-49N x B-41N. Tepatitlán, Jalisco, Mexico. 2022.

Genealogía	H	PH	DV	P100S	IF	TE
CSE18	10,2±0,2	74,5±0,3	1,179±0,000	25,4±0,1	76,5±0,7	100±0,
CSE1	10,3±0,2	71,4±0,3	1,155±0,003	25,3±0,0	85,0±0,0	75±0,0
CSE14 (780)‡	10,2±0,1	75,0±0,3	1,195±0,002	28,5±0,4	45,5±0,7	50±0,0
CSE20	10,2±0,1	71,1±0,2	1,138±0,004	23,2±0,6	78,5±0,7	75±0,0
CSE14 (802)	10,4±0,3	74,8±0,0	1,191±0,008	24,0±0,3	59,0±0,0	50±0,0
CSE17	9,8±0,1	71,0±0,5	1,150±0,009	25,5±0,1	90,5±2,1	75±0,0
CSE13 (811)	10,8±0,1	77,0±0,3	1,202±0,005	24,2±0,2	62,5±2,1	50±0,0
CSE13 (766)	10,4±0,0	75,9±0,0	1,214±0,003	23,0±0,5	43,5±3,5	50±0,0
CSE12	11,4±0,1	72,6±0,0	1,165±0,005	25,5±0,4	62,0±1,4	75±0,0

‡ El número entre paréntesis corresponde al número de parcela de la muestra en la segunda repetición. **H:** humedad (%), **PH:** peso hectolítrico (kg hL⁻¹), **DV:** Densidad verdadera (g cm⁻³), **P100S:** Peso de cien semillas (g), **IF:** Índice de flotación (%), **TE:** Tipo de endospermo (porcentaje de endospermo harinoso). / ‡ Numbers in parentheses indicate plot number of the sample in the second replication. **H:** Moisture (%), **PH:** Hectoliter weight (kg hL⁻¹), **DV:** True density (g cm⁻³), **P100S:** Weight of one hundred seeds (g), **IF:** Flotation index (%), **TE:** Endosperm type (percentage of floury endosperm).

Contenido de pigmentos en grano y olote

En cinco de las nueve muestras de mazorcas correspondientes a las CSE seleccionadas, se observó que el grano presentaba coloración pálida en las caras germinal y abgerminal, lo que resultó en bajo contenido de pigmentos (Figura 1). Este resultado evidencia la necesidad de complementar la selección visual basada en la uniformidad e intensidad del color de la mazorca, con una evaluación específica del color en ambas caras del grano, a fin de asegurar una expresión pigmentaria adecuada.

En las poblaciones moradas, el testigo VC-42 x Kulli mostró la mayor segregación a color, lo cual era esperado, ya que corresponde a la F₂ de la cruce. Este patrón es consistente, dado que el color morado del grano en el progenitor VC-42 se localiza en la capa de aleurona, mientras que su olote es blanco. Por otro lado, en las poblaciones Morado Original y Morado 1 se observó una mayor concentración de color que en Morado 2; sin embargo, las tres poblaciones presentaron segregación a colores rojo y rojo oscuro. En cuanto a las características morfológicas, la población Morado 2 (B-49N C₁) exhibió mazorcas más cortas, pero más uniformes y con mayor número de hileras en comparación con Morado 1 y la población original (Figura 2).

En las parcelas muestreadas de las CSE, el contenido de antocianinas en grano (CATg) varió entre 148,65 y 288,95 mg ECG/100 g base seca (BS). Las CSE-1, CSE-20 y CSE-17 presentaron los valores más altos de CATg. El contenido de antocianinas en olote (CATo) osciló entre 663,91 y 2481,66 mg ECG/100 g BS, en donde sobresalieron las CSE-1 y CSE-13 (811) con valores de CATo superior o cercano a 2000 mg/100 g de muestra seca, lo que equivale a 2 % de antocianinas. Las CSE-1, CSE-20 y CSE-17 se destacaron por su alto CATg, pero, solo la CSE-1 mostró también valores elevados en CATo. En contraste, en la CSE-17 se combinó un potencial de rendimiento de grano con un CATg elevado, pero con un bajo CATo, mientras que en la CSE-20, el rendimiento de grano y CATo fueron bajos, pero su CATg fue alto (Figura 3, Cuadros 2 y 3). En las cruza donde se muestrearon dos parcelas, una de cada repetición, en la CSE-14 (780) y CSE-14 (802), los valores de CATg y CATo fueron



Figura 1. Color de grano y olote de siete cruzas simples experimentales (CSE) de maíz morado. Las CSE-13 y CSE-14, se muestrearon en dos repeticiones. Tepatitlán, Jalisco, México, 2022.

Figure 1. Grain and corn color of seven experimental single crosses (CSE) of purple maize. The CSE-13 and CSE-14 were sampled in two replications. Tepatitlán, Jalisco, Mexico, 2022.



Figura 2. Segregación a color en las poblaciones de maíz Morado original, Morado 1 y Morado 2 (B-49N C1). Tepatitlán, Jalisco, México, 2022.

Figure 2. Color segregation in Original Purple, Purple 1, and Purple 2 (B-49N C1) maize populations. Tepatitlán, Jalisco, Mexico, 2022.

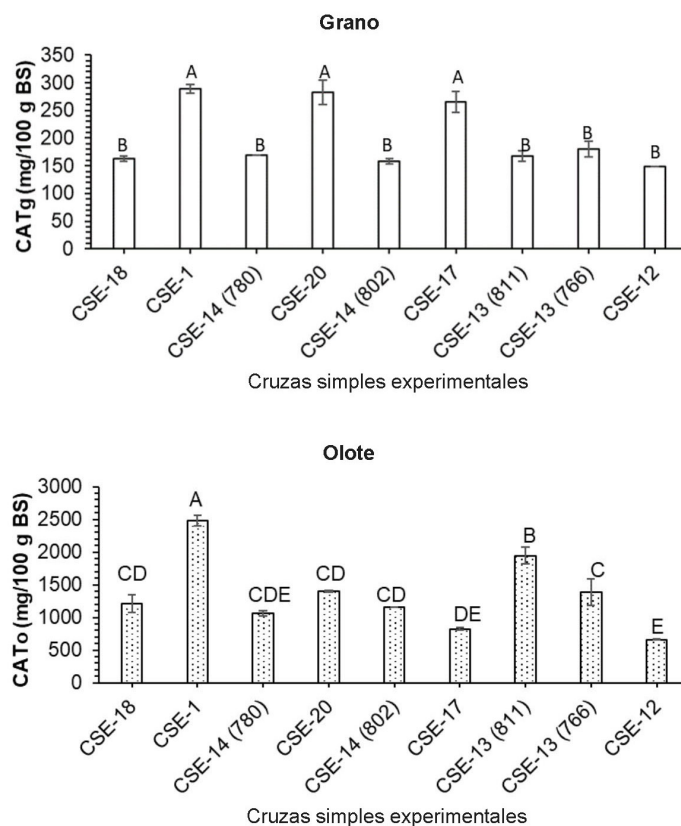


Figura 3. Contenido de antocianinas totales en grano (CATg) y en oloote (CATo) de cruza simple experimental (CSE) de maíz morado. Entre paréntesis, el número de parcela de la CSE de la segunda repetición.

Figure 3. Total anthocyanin content in grain (CATg) and cob (CATo) of experimental single crosses (CSE) of purple maize. CSE plot numbers from the second replication are shown in parentheses.

similares. Sin embargo, en las CSE-13 (811) y CSE-13 (766), el CATg de CSE-13 (766) fue 7,7 % mayor que el CATg de CSE-13 (811), mientras que el CATo de CSE-13 (811) fue 40,6 % mayor que el de CSE-13 (766), y estas diferencias fueron significativas (Figura 3, Cuadros 2 y 3).

Discusión

Las diferencias estadísticas significativas entre los híbridos en REND, precocidad, tolerancia al acame y calificación de planta y mazorca (Cuadro 1), muestran que, entre los grupos de líneas aleatorias que conformaron las CSE, hubo suficiente variabilidad genética que permitió observar diferencias en planta y mazorca. Esto sugiere que las poblaciones que integran el patrón heterótico B-49N x B-41N con grano y oloote morado tienen la variabilidad genética necesaria para formar híbridos comerciales competitivos de maíz morado. Sin embargo, para confirmar la hipótesis, será necesario ampliar el tamaño de muestra de las líneas en cada población y realizar evaluaciones en más años y localidades.

Las CSE-19, CSE-17 y CSE-7 fueron estadísticamente iguales ($p < 0,05$) al testigo de grano blanco H-392 (Cuadro 2) en REND. Este resultado es importante porque: a) es posible obtener híbridos comerciales competitivos

con grano y olote morado del patrón heterótico B-49N x B-41N en formación, b) se contribuirá con la aportación de antocianinas de los híbridos liberados, y c) se ha logrado una efectividad en la selección del color, dado la complejidad en la herencia del grano y olote morado (Harakotr et al., 2016; Xu et al., 2015). Las CSE, poblaciones y testigos no expresaron todo su potencial de REND, debido a que en la etapa R3 se presentó un periodo de sequía, lo cual redujo el llenado del grano, como se ha señalado en estudios previos (Ibarra Sánchez et al., 2020; Sheoran et al., 2022).

Las diferencias en precocidad entre las CSE fueron significativas ($p < 0,05$), con una variación de 11 días en los días de floración masculina (FM) y femenina (FF), entre 80 y 91 días. Estas variaciones se deben a la variación genética generada en el proceso de formación del patrón heterótico B-49N x B-41N. Este margen de precocidad, de hasta 11 días, permitirá ajustar la precocidad de los híbridos morados al ambiente objetivo, ya que la localidad tiene un efecto significativo en la producción de antocianinas (Jing et al., 2007). El ambiente objetivo del patrón heterótico B-49N x B-41N corresponde a zonas agrícolas ubicadas entre 1900 y 2100 m de altitud, con 750 mm de precipitación, donde los híbridos deberán tener entre 78 y 84 días a FM y FF.

La restricción de humedad, en la época de lluvias, será un factor determinante para definir el ciclo de madurez de los híbridos del patrón heterótico B-49N x B-41N. Si hay restricción de humedad durante el llenado del grano, los genotipos precoces tienden a expresar más su potencial de rendimiento que los tardíos, como fue el caso de la cruz VC-42 x Kulli, que tuvo entre 12 y 15 días menos a FM y FF que H-392 y algunas CSE, y su media de rendimiento fue estadísticamente igual (Cuadro 2). Este comportamiento se debe a las correlaciones negativas y significativas ($p < 0,05$) encontradas entre el REND y los días a FM ($r = -0,480$) y FF ($r = -0,482$). Resultados similares en líneas de maíz sometidas a condiciones de restricción hídrica han sido reportados previamente (Rebolloza-Hernández et al., 2020). La restricción de humedad en líneas de maíz redujo el rendimiento de grano en 77,7 % (Ibarra Sánchez et al., 2020) y 40 % (Rebolloza-Hernández et al., 2020).

Las CSE fueron estadísticamente iguales al testigo comercial en tolerancia al acame de raíz y tallo (Cuadro 2). Este comportamiento se explica por el porte bajo y la tolerancia al acame de la cruz de origen, B-49 x B-41 (Ramírez-Díaz et al., 2010), y por la selección estricta que se ha hecho para tolerancia al acame en las progenies de grano morado de B-49N y B-41N, como se observa en la población Morado 2, sintético de B-49N, que tuvo 0 % de acame de raíz y tallo. Algunas líneas que integran esta población son progenitores de las CSE. El reto sigue siendo formar híbridos de grano y olote morado resistentes al acame (Xue et al., 2017) para sembrarlos en los sistemas intensivos de producción de maíz.

La sanidad de las CSE, evaluada mediante la calificación de planta (CPL) y mazorca (CMZ), es una medida clave de adaptación del patrón heterótico B-49N x B-41N. Esto es importante debido a que este patrón incluye un 25 % de germoplasma nativo exótico, el cual presenta problemas de sanidad de planta y mazorca fuera de su área de adaptación (Mendoza-Mendoza et al., 2019). Con base en la CPL y CMZ (Cuadro 2), se observa un mayor avance en sanidad de mazorca que en la de la planta, dado que en el proceso de conversión a grano y olote morado, la sanidad de la mazorca ha sido el principal criterio de selección. Esto se debe a que tanto el pericarpio como el olote son las estructuras de interés económico, al concentrarse ahí las antocianinas. Para la sanidad de planta, únicamente se han eliminado familias acamadas o muy enfermas.

Las alturas de planta de las CSE fueron menores que las del testigo H-392, y la población Morado 2, sintético de B-49N, presentó la altura de planta y mazorca más baja de todos los genotipos. Esto se debe a que la cruz B-49 x B-41, utilizada para formar el patrón heterótico B-49N x B-41N, tiene porte bajo y tolerancia al acame (Ramírez-Díaz et al., 2010). No fue posible medir la heterosis para REND en las CSE, pues no se evaluaron los progenitores. Sin embargo, si se asume como progenitor a Morado 2 (Sintético de B-49N), por ser componente de B-49N x B-41N, la heterosis estimada para REND con la mejor CSE fue 74 %, un porcentaje alto para obtener híbridos de grano morado con alto REND.

El peso hectolítrico (PH) de CSE-14 (780 y 802) y CSE-13 (811 y 766) fue mayor o igual a 75 kg hL^{-1} , similar a los híbridos comerciales de grano azul (Gerde et al., 2016; Urias-Lugo et al., 2015). El PH estuvo asociado con valores altos de densidad verdadera (DV). No obstante, los valores de DV registrados en las CSE señaladas son menores que los informados ($1,25$ y $1,27 \text{ g cm}^{-3}$) para maíces de grano dentado (García-Lara et al., 2019). En cuanto al peso de 100 semillas (P100S), las CSE analizadas se clasificaron como de grano pequeño, lo cual es deseable para la extracción de pigmentos (Arellano Vázquez et al., 2021). El P100S se encuentra dentro del intervalo requerido ($21,6$ a $34,5 \text{ g}$) para maíces destinados a la molienda seca (Macke et al., 2016).

El índice de flotación (IF) en las muestras fue alto, con valores entre $43,5$ y $90,5$, debido a que los granos tuvieron una textura (T) con porcentajes de harina de 50 a 100% . La separación mecánica eficiente del pericarpio del grano (perlado) se logra con granos duros e IF entre 22 y 42% (Ledezma-Miramontes et al., 2022). Sin embargo, el IF de las muestras de CSE estuvo fuera de ese intervalo. En el futuro, la selección se centrará en obtener progenies cuyos híbridos tengan IF menores que 45% y contenidos altos de antocianinas en grano y olote. Hasta esta etapa de mejoramiento, las muestras de CSE del universo del patrón heterótico B-49N x B-41N indican que las progenies de grano morado están asociadas con granos suaves. De acuerdo con las variables físicas del grano asociadas con su dureza: PH, DV, IF y textura (TE), los granos de las CSE seleccionadas por color objetivo, se clasificaron con dureza intermedia a suave.

Con base en la variación observada en la concentración de antocianinas de las CSE, con valores que oscilaron entre $148,65$ a $288,95 \text{ mg ECG/100 g}$ en CATg y entre $663,91$ a $2481,66 \text{ mg ECG/100 g BS}$ en CATo, se considera que es posible obtener híbridos con alta concentración de antocianinas del patrón heterótico B-49N x B-41N. Tres de las nueve muestras de CSE en CATg de grano, y dos de nueve CSE en CATo olote, estuvieron dentro de los intervalos reportados por Aguilar-Hernández et al. (2019) para maíz morado peruano. Las cruces CSE-17 y CSE-13 (766), cuyos CATo fueron menores a $1000 \text{ mg ECG/100 g BS}$ (Figura 3), resultaron similares al CATo de $854 \text{ mg ECG/100 g BS}$ registrado en un híbrido de maíz morado italiano (De Nisi et al., 2021).

No se observó una asociación definida entre el CATg, CATo y REND alto entre las muestras evaluadas de las CSE (Cuadro 1 y Figura 3), lo cual indica cierta independencia entre los genes que controlan CATg y CATo. Se ha encontrado que en la síntesis de antocianinas del grano y olote morado intervienen genes de los cromosomas 6 y 9, con efectos epistáticos. En el incremento de antocianinas en el grano, los efectos aditivos x dominantes fueron más importantes, mientras que en el olote predominan los efectos aditivos x aditivos (Xu et al., 2015). En el caso del olote, los efectos genéticos aditivos fueron clave para aumentar la concentración del CATo. Al respecto Khamphan et al. (2020) incrementaron el CATo en cinco poblaciones mediante selección masal. Estos resultados contribuirán a mejorar los criterios actuales de selección en B-49N y B41N.

En el patrón heterótico B-49N x B-41N, la conversión del color del grano y olote, así como la mejora en la estructura de la planta, se ha realizado simultánea, y se ha avanzado gracias a que las correlaciones del contenido de antocianinas con el REND, altura de planta y mazorca son bajas y no significativas (Khamphan et al., 2020). Con los resultados obtenidos en las CSE, se lograron las primeras metas, que fueron: obtener mazorcas con grano y olote morado, con potencial de REND y estructura de planta similar a los testigos comerciales de grano blanco. Las metas siguientes incluyen: a) concluir la conversión a color morado en B-49N y B-41N, b) incrementar el CATg, CATo y dureza del grano, c) seleccionar progenies con buena aptitud combinatoria general y específica para REND y valores altos de CATg y CATo, y d) liberar híbridos comerciales morados.

En el futuro, la selección de progenitores deberá complementarse con la selección asistida por marcadores moleculares, para lograr mayor respuesta a la selección y reducir costos en el laboratorio.

Con base en los resultados obtenidos en una localidad y un año de evaluación, se cumplió el objetivo, ya que se logró conocer el avance logrado en la conformación del patrón heterótico de grano y olote morado B-49N x B-41N, así como confirmar y modificar estrategias para seleccionar características agronómicas de planta y calidad de grano en los próximos ciclos de selección.

Conclusiones

En el patrón heterótico de maíz morado B-49N x B-41N se lograron mejoras en rendimiento de grano, tolerancia al acame y precocidad. Se obtuvieron cruza exploratorias más precoces, con una ventaja de tres a cuatro días, manteniendo un rendimiento de grano y tolerancia al acame similar al testigo comercial de grano blanco, pero con grano y olote morado.

No se observó una tendencia definida de asociación entre el alto contenido de antocianinas en grano y olote con un rendimiento de grano elevado en las muestras analizadas de las cruza simples exploratorias. En cuanto a la dureza del grano, se clasificó como suave a muy suave.

Referencias

- Aguilar-Hernández, Á. D., Salinas-Moreno, Y., Ramírez-Díaz, J. L., Alemán-De la Torre, I., Bautista-Ramírez, E., & Flores-López, H. E. (2019). Antocianinas y color en grano y olote de maíz morado peruano cultivado en Jalisco, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(5), 1071–1082. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i5.1828>
- Arellano Vázquez, J. L., Herrera Zamora, A., Gutiérrez Hernández, G. F., Ceja Torres, L. F., & Flores Gómez, E. (2021). Color, contenido de antocianinas y dimensiones de semilla en líneas endogámicas de maíz azul y sus cruza. *Idesia (Arica)*, 39(3), 75–82. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292021000300075>
- Basu, A., & Kumar, G. S. (2014). Study on the interaction of the toxic food additive carmoisine with serum albumins: A microcalorimetric investigation. *Journal of Hazardous Materials*, 273, 200–206. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.03.049>
- De Nisi, P., Borlini, G., Parizad, P. A., Scarafoni, A., Sandroni, P., Cassani, E., & Pilu, R. (2021). Biorefinery approach applied to the valorization of purple corn cobs. *Sustainable Chemistry and Engineering*, 9(10), 3781–3791. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c08717>
- García-Lara, S., Chuck-Hernandez, C., & Serna-Saldivar, S. O. (2019). Development and structure of the corn kernel. In S. O. Serna-Saldivar (Ed.), *Corn* (3rd ed., pp. 147–163). AACC International Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811971-6.00006-1>
- Gerde, J. A., Tamagno, S., Di Paola, J. C., & Borrás, L. (2016). Genotype and nitrogen effects over maize kernel hardness and endosperm zein profiles. *Crop Science*, 56(3), 1225–1233. <https://doi.org/10.2135/cropsci2015.08.0526>
- Harakotr, B., Suriham, B., Lertrat, K., & Scott, M. P. (2016). Genetic analysis of anthocyanin content in purple waxy corn (*Zea mays* L. var. *ceratina* Kulesh) kernel and cob. *SABRAO Journal of Breeding and Genetics*, 48(2), 230-239. <https://dr.lib.iastate.edu/server/api/core/bitstreams/94785693-a44a-4157-9482-0936d9040e5e/content>
- Ibarra Sánchez, E., Castillo Gutiérrez, A., Núñez Valdéz, M. E., Suárez Rodríguez, R., Andrade Rodríguez, M., & Perdomo Roldán, F. (2020). Caracterización de la respuesta a la sequía de líneas segregantes de maíz. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(7), 1511–1524. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i7.2196>
- Jing, P., Noriega, V., Schwuartz, S. J., & Giusti, M. M. (2007). Effects of growing conditions on purple corn cob. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 55(21), 8625–8629. <https://doi.org/10.1021/jf070755q>

- Khamphan, P., Lomthaisong, K., Harakotr, B., Scott, M. P., Lertrat, K., & Suriharn, B. (2020). Effects of mass selection on husk and cob color in five purple field corn populations segregating for purple husks. *Agriculture*, *10*(8), Article 311. <https://doi.org/10.3390/agriculture10080311>
- Ledesma-Miramontes, A., Salinas-Moreno, Y., Ramírez-Díaz, J. L., & Alemán-de la Torre, I. (2022). Contenido de antocianinas en mestizos de maíz morado sometidos al proceso de perlado del grano. *Acta Fitogenética*, *8*(1), 59. https://www.somefi.mx/wp-content/uploads/2022/11/ACTA_MAICES_2022_Chiapas_Noviembre.pdf
- Macke, A. J., Bohn, O. M., Rausch, D. K., & Mumm, H. R. (2016). Genetic factors underlying dry-milling efficiency and flaking-grit yield examined in the US maize germplasm. *Crop Science*, *56*(5), 2516–2526. <https://doi.org/10.2135/cropsci2016.01.0024>
- Márquez-Sánchez, F. (1990). Backcross theory for maize. I. Homozygosis and heterosis. *Maydica*, *35*, 17-22.
- Mendoza-Mendoza, C. G., Mendoza-Castillo, M. del C., Delgado-Alvarado, A., Castillo-González, F., Kato-Yamakake, T. A., & Cruz Izquierdo, S. (2017). Antocianinas totales y parámetros de color en líneas de maíz morado. *Revista Fitotecnia Mexicana*, *40*(4), 471–485. <https://revfitotecnia.mx/index.php/RFM/article/view/185/163>
- Mendoza-Mendoza, C. G., Mendoza-Castillo, M. del C., Castillo-González, F., Sánchez-Ramírez, F. J., Delgado-Alvarado, A., & Pecina-Martínez, A. (2019). Agronomic performance and grain yield of Mexican purple corn populations from Ixtenco, Tlaxcala. *Maydica*, *64*(3), 1–9. <https://journals-crea.4science.it/index.php/maydica/article/view/1947>
- Paulsmeyer, M., Chatham, L., Becker, T., West, M., West, L., & Juvik, J. (2017). Survey of anthocyanin composition and concentration in diverse maize germplasm. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *65*(21), 4341–4350. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b00771>
- Ramírez Díaz, J. L., Salinas Moreno, Y., Alemán de la Torre, I., Bautista-Ramírez, E., & Esquivel Esquivel, G. (2019). Aptitud combinatoria en líneas de maíz pigmentado. *Acta Fitogenética*, *6*(1), 30. https://www.somefi.mx/wp-content/uploads/2019/11/ACTA6_6Nov_opt.pdf
- Ramírez Díaz, J. L., Salinas Moreno, Y., Alemán de la Torre, I., Esquivel Esquivel, G., & Vidal Martínez, V. A. (2017). Formación de un patrón heterótico de maíz para producción de pigmentos en olote y el pericarpio del grano. *Acta Fitogenética*, *4*(1), 19. <https://www.somefi.mx/wp-content/uploads/2017/12/Acta-Fitogenetica-Vol-4.-2017.-29-Agosto.pdf>
- Ramírez-Díaz, J. L., Chuela-Bonaparte, M., Vidal-Martínez, V. A., Vallejo-Delgado, H. L., Ramírez-Zamora, R., Peña-Ramos, A., Ortega-Corona, A., Córdova-Orellana, H., Morfín-Valencia, A., Gómez-Montiel, N. O., Caballero-Hernández, F., Ramírez-Márquez, M., Vázquez-Carrillo, M. G., Ruíz-Corral, A., Ron-Parra, J., Sánchez González, J. J., & Soltero-Díaz, L. (2010). H-377. *Híbrido de maíz de grano blanco para riego y buen temporal para la zona centro occidente de México* (Folleto Técnico No. 3). Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.
- Ramírez-Díaz, J. L., Ledesma-Miramontes, A., Vidal-Martínez, V. A., Gómez-Montiel, N. O., Ruiz-Corral, J. A., Velázquez-Cardelas, G. A., Ron-Parra, J., Salinas-Moreno, Y., & Nájera-Calvo, L. A. (2015). Selección de maíces nativos como donadores de características agronómicas útiles en híbridos comerciales. *Revista Fitotecnia Mexicana*, *38*(2), 119–131. <https://revfitotecnia.mx/index.php/RFM/article/view/410/377>
- Ramírez-Díaz, J. L., Salinas-Moreno, Y., Ledesma-Miramontes, A., & Alemán-de la Torre, I. (2022). Formación de un patrón heterótico de maíz morado: Generación de la población B-49N. *Acta Fitogenética*, *8*(1), 54. https://www.somefi.mx/wp-content/uploads/2022/11/ACTA_MAICES_2022_Chiapas_Noviembre.pdf

- Rebolloza-Hernández, H., Cervantes-Adame, Y. F., Broa-Rojas, E., Bahena-Delgado, G., & Olver-Velona, A. (2020). Fenotipo y selección de líneas S1 segregantes de maíz tolerantes a estrés hídrico. *Biotechnia*, 22(3), 20–28. <https://biotecnia.unison.mx/index.php/biotechnia/article/view/1130/448>
- Ron-Parra, J., Morales-Rivera, M. M., Jiménez-López, J., Jiménez-Cordero, Á. A., De la Cruz-Larios, L., & Sánchez-González, J. J. (2016). Maternal genetic inheritance of red pericarp in the grain of maize. *Maydica Electronic Publication*, 61, 1–5. <http://core.ac.uk/download/pdf/230662999.pdf>
- Salinas, Y., Esquivel, G., Ramírez, J. L., & Alemán, I. (2016). *Selección y evaluación de poblaciones nativas de maíz con potencial para la extracción de pigmentos* (Folleto Técnico No. 7). Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.
- Salinas, Y., & Vázquez, G. (2006). *Metodologías de análisis de la calidad nixtamalera-tortillera en maíz* (Folleto Técnico No. 23). Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.
- Salinas Moreno, Y., Salas Sánchez, G., Rubio Hernández, D., & Ramos Lobato, N. (2005). Characterization of anthocyanin extracts from maize kernels. *Journal of Chromatographic Science*, 43, 483–487. <https://doi.org/10.1093/chromsci/43.9.483>
- Salinas-Moreno, Y., Esquivel-Esquivel, G., Ramírez-Díaz, J. L., Alemán-de la Torre, I., Bautista-Ramírez, E., & Santillán-Fernández, A. (2021). Selección de germoplasma de maíz morado (*Zea mays* L.) con potencial para extracción de pigmentos. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 44, 309–321. <https://doi.org/10.35196/rfm.2021.3.309>
- Sheoran, S., Kaur, Y., Kumar, S., Shukla, S., Rakshit, S., & Kumar, R. (2022). Recent advances for drought stress tolerance in maize (*Zea mays* L.): Present status and future prospects. *Frontiers in Plant Science*, 13, Article 872566. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.872566>
- Statistical Analysis System. (2009). *SAS/STAT® 9.2 User's guide* (2nd ed.). SAS Institute Inc. <https://bit.ly/3XkrzFE>
- Urias-Lugo, D. A., Heredia, J. B., Valdez-Torres, J. B., Muy-Rangel, M. D., Serna-Saldivar, S. O., & García-Lara, S. (2015). Physical properties and chemical characterization of macro- and micronutrients of elite blue maize hybrids (*Zea mays* L.). *Cereal Research Communications*, 43(2), 295–306. <https://doi.org/10.1556/crc.2014.0044>
- Xu, D., Mei, X., Yu, T., Yuan, W., Gu, D., Liu, X., & Cai, Y. (2015). Further mapping and epistasis analysis of two quantitative trait loci of kernel and cob anthocyanin contents in maize. *Crop Science*, 56(1), 12–18. <https://doi.org/10.2135/cropsci2015.04.0201>
- Xue, J., Xie, R.-z., Zhang, W.-f., Wang, K.-r., Hou, P., Ming, B., Gou, L., & Li, S. (2017). Research progress on reduced lodging of high-yield and-density maize. *Journal of Integrative Agriculture*, 6(12), 2717–2725. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\)61785-4](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61785-4)