

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



MEJORAMIENTO DE DOS CRIOLLOS TROPICALES DE MAÍZ DE GRANO
AZUL POR RETROCRUZA LIMITADA

Tesis

Que presenta ÁNGEL REYES MACÍN

como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN FITOMEJORAMIENTO

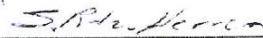
Saltillo, Coahuila

Junio 2019

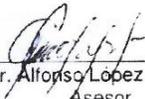
MEJORAMIENTO DE DOS CRIOLLOS TROPICALES DE MAÍZ DE GRANO
AZUL POR RETROCRUZA LIMITADA

Tesis

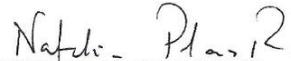
Elaborada por Ángel Reyes Macín como requisito parcial para obtener el grado
de Maestro en Ciencias en Fitomejoramiento con la supervisión y aprobación
del Comité de Asesoría



Dr. Sergio Alfredo Rodríguez Herrera
Asesor principal



Dr. Alfonso López Benítez
Asesor



Dra. Natalia Palacios Rojas
Asesor



Dr. Cesar Daniel Petroli Leguiza
Asesor



Dr. Marcelino Cabrera De la Fuente
Subdirector de Postgrado
UAAAN

Saltillo, Coahuila

Junio 2019

AGRADECIMIENTOS

A MasAgro financiado por SAGARPA (ahora SADER) y CIMMYT, en especial al componente MasAgro Biodiversidad por el apoyo financiero para realizar parte de la presente investigación, la estancia académica en las instalaciones de CIMMYT y los datos genotípicos.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca para la realización de mis estudios de postgrado.

Al Dr. Sergio A. Rodríguez Herrera por permitir incorporarme a su equipo de trabajo y el apoyo en la realización del presente trabajo.

Al Dr. Cesar D. Petroli por el apoyo y tiempo brindado en las diferentes visitas realizadas a CIMMYT y, sus aportaciones y sugerencias en el trabajo de investigación. También a su equipo de trabajo en SAGA para la obtención de los datos genotípicos.

A la Dra. Natalia Palacios Rojas por la asesoría y sugerencias brindadas para enriquecer el presente trabajo. También a su equipo de trabajo del Laboratorio de Calidad Nutricional de Maíz de CIMMYT por su apoyo en la obtención de los datos del grano.

Al Dr. Alfonso López Benítez por la disponibilidad y asesoría para la revisión del presente trabajo.

Al Dr. Terry Molnar, al M. P. Daniel Chepetla y su equipo de trabajo en la estación de Agua Fría de CIMMYT por su apoyo brindado en el cuidado del ensayo de rendimiento.

DEDICATORIA

A mi familia

Estefania

Diana Ivonne

Angel Taiyari

A mis padres

Angel y Angelica

A mis hermanas

Angelica Beatriz y Salma

ÍNDICE GENERAL

LISTA DE CUADROS	vii
LISTA DE FIGURAS	ix
RESUMEN.....	x
ABSTRACT.....	xi
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS E HIPÓTESIS	3
Objetivos.....	3
Hipótesis.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Importancia y Producción del Maíz en México	4
Variabilidad del Maíz en México	4
Aprovechamiento de la Diversidad del Maíz.....	6
Retrocruza Limitada.....	8
Usos de Maíz.....	10
Estructura del Grano.....	11
Antocianinas en el Maíz.....	13
Marcadores Moleculares	20
MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
Material Genético	23
Variables Químicas.....	25
Variables Físicas	31
Evaluación de Campo.....	32
Análisis de Diversidad Genética	34
Análisis de Datos.....	36
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
Variables Químicas.....	37
Variables Físicas	53
Correlaciones	64
Caracteres Vegetativos y Agronómicos.....	70
Caracteres de la Mazorca.....	76

Diversidad Genética	82
CONCLUSIONES	90
REFERENCIAS	91

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Genes presentes en la biosíntesis de las antocianinas del maíz y otros pigmentos de la planta.....	18
Cuadro 2. Descripción del pedegree utilizado	23
Cuadro 3. Cuadrados medios y significancias del análisis de varianza para variables químicas de laboratorio	38
Cuadro 4. Cuadrados medios y significancias del análisis de varianza para variables físico químicas de laboratorio	38
Cuadro 5. Contenido promedio y análisis de medias de variables físico químicas de laboratorio de los diferentes genotipos evaluados	39
Cuadro 6. Contenido promedio y análisis de medias de variables físico químicas de laboratorio de los diferentes genotipos evaluados	40
Cuadro 7. Estructura del grano donde se encuentran las antocianinas.....	42
Cuadro 8. Determinación de la presencia de carotenos en el endospermo harinoso y vítreo a simple vista.....	48
Cuadro 9. Índice de flotación y dureza del grano de 17 genotipos	57
Cuadro 10. Cuadrados medios del análisis de varianza para los parámetros de color	60
Cuadro 11. Comparación de medias y promedio de los parámetros de color ..	60
Cuadro 12. Diferencias del color de grano de maíz en base a CIEDE2000	64
Cuadro 13. Cuadrados medios y significancias del análisis de varianza para caracteres vegetativos y agronómicos.....	71
Cuadro 14. Cuadrados medios y significancias del análisis de varianza para caracteres agronómicos.....	71
Cuadro 15. Medias de caracteres vegetativos y agronómicos, de los diferentes tipos y genotipos evaluados.....	73
Cuadro 16. Medias de caracteres agronómicos, de los diferentes tipos y genotipos evaluados	75
Cuadro 17. Cuadrados medios y significancias de los análisis de varianza para las variables de mazorca	79

Cuadro 18. Comparación de medias para las variables tomadas a la mazorca de los diferentes genotipos	80
Cuadro 19. Índices de diversidad genética para los 17 genotipos secuenciados	84

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Disección de un grano de maíz amarillo dentado	12
Figura 2. Arreglo químico de las seis principales antocianinas en el maíz	15
Figura 3. Color del grano de los diferentes genotipos.....	41
Figura 4. Disección de las diferentes estructuras del grano	43
Figura 5. Boxplot's de los carotenos presentes en el grano de maíz de los genotipos analizados	49
Figura 6. Correlación entre variables físicas y químicas de los diferentes genotipos.	66
Figura 7. Reporte meteorológico de agosto de 2018 de la estación experimental de Agua Fría	74
Figura 8. Distribución de parámetros de calidad de los marcadores SNP's	83
Figura 9. Distribución de distancias genéticas de Rogers entre la comparación por pares de los genotipos.....	86
Figura 10. Grafica del análisis de escalamiento multidimensional con clasificación por color de grano. Vista desde dos ángulos diferentes	86
Figura 11. Grafica del análisis de escalamiento multidimensional con clasificación por origen de material. Vista desde dos ángulos diferentes	87
Figura 12. Grafica del análisis de escalamiento multidimensional con clasificación por tipo de material. Vista desde dos ángulos diferentes.....	88
Figura 13. Agrupación de los 17 genotipos analizados por el método de UPGMA con las distancias de Rogers	89

RESUMEN

Mejoramiento de dos criollos tropicales de maíz de grano azul por retrocruza limitada

Ángel Reyes-Macín

Maestría en Ciencias en Fitomejoramiento

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Dr. Sergio Alfredo Rodríguez-Herrera

Explorar el comportamiento de maíces (*Zea mays* L.) pigmentados para su uso en programas de mejoramiento, toma mayor relevancia, por el incremento en la demanda de este tipo de granos. Dos maíces nativos tropicales, uno de grano azul y otro magenta, se cruzaron con materiales mejorados, y posteriormente se retrocruzaron con el método de retrocruza limitada. Los genotipos fueron sometidos a cinco etapas de evaluación: 1) variables químicas del grano, 2) variables físicas del grano, 3) caracteres vegetativos y agronómicos, 4) caracteres de la mazorca, y 5) análisis de diversidad genética. En general todas las RC1F1 acumularon una menor cantidad de las moléculas evaluadas en comparación con sus progenitores criollos, con excepción de los carotenos. En las variables físicas la dureza cambió en las RC1F1 en comparación con sus progenitores por un cambio en la proporción de las estructuras del grano, los parámetros de color mostraron discrepancia por la diferencia en la acumulación de pigmentos. Se encontraron correlaciones significativas que ayudarían a seleccionar caracteres relacionados. La reducción del acame de tallo y raíz, así como el incremento en el número de hileras por mazorca mejoró en general el rendimiento de las RC1F1 en comparación con sus progenitores recurrentes. El gráfico del análisis de escalamiento multidimensional y el análisis de conglomerados confirmaron la existencia de patrones heteróticos que se pueden explotar. Las RC1F1 se deben llevar a RC1F2, y realizar la selección de familias para su evaluación, generación de cruces de prueba y avanzar generacionalmente las familias que muestren heterosis.

Palabras clave: maices pigmentados, programas de mejoramiento, retrocruza limitada, antocianinas, diversidad genética.

ABSTRACT

Breeding of two tropical blue grain native maize's by backcross limited

Ángel Reyes-Macín

Maestría en Ciencias en Fitomejoramiento

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Dr. Sergio Alfredo Rodríguez-Herrera

Exploring the behavior of maize (*Zea mays* L.) pigmented for use in breeding programs, becomes more relevant, due to the increase in demand for this type of grain. Two native tropical maizes, one of blue grain and another magenta, were crossed with improved materials, and later backcrossed with the limited backcross method. The genotypes were subjected to five stages of evaluation: 1) chemical variables of the grain, 2) physical variables of the grain, 3) vegetative and agronomic characters, 4) characters of the cob, and 5) analysis of genetic diversity. In general, all the RC1F1 accumulated a smaller quantity of the molecules evaluated in comparison with their native parents, with the exception of the carotenes. In the physical variables, the hardness changed in the RC1F1 in comparison with their parents due to a change in the proportion of the grain structures, the color parameters showed discrepancy due to the difference in the accumulation of pigments. Significant correlations were found that would help to select related characters. The percentage reduction of root and stalk lodging, as well as the increase in the number of rows per ear, generally improved the performance of RC1F1 compared to its recurrent parents. The graph of multidimensional scaling analysis and cluster analysis confirmed the existence of heterotic patterns that can be exploited. The RC1F1 should be taken to RC1F2, and make the selection of families for evaluation, generation of test crosses and generationally advancing families that show heterosis.

Key words: pigmented maize, breeding programs, limited backcrossing, anthocyanins, genetic diversity.

INTRODUCCIÓN

En México durante el año agrícola 2017 se dedicó el 50.26% de la superficie sembrada en el territorio nacional a la producción de maíz en grano (SIAP, 2018). Estadística que refleja que es el cultivo más importante por su amplia utilización en la dieta nacional, y los diferentes usos que presenta en varias industrias.

La diversidad genética del cultivo es sumamente amplia en todo el mundo, pero la mayoría se concentra en México (Figuroa *et al.*, 2013), donde es posible encontrarla en los campos agrícolas en forma de variedades nativas (Perales y Golicher, 2014). Esta gran diversidad genética del cultivo es de suma importancia para diversos sectores que la utilizan, principalmente los agricultores para su producción y, los investigadores para su estudio y aplicación (Prasanna, 2012). El reporte más completo menciona la identificación de 59 razas de maíz para México (Sanchez *at al.*, 2000), encontrándose también una gran diversidad entre razas y dentro de razas (González-Castro *et al.*, 2013).

Desde mediados del siglo pasado se comenzó a coleccionar la diversidad genética del maíz en México (Wellhausen *et al.*, 1951), diversidad que ha sido subvalorada al tenerse en resguardo pero sin ser utilizada, en el mejor de los casos se realizaron estudios para detectar características sobresalientes de las poblaciones pero sin llegar a ser utilizadas. Posiblemente al amplio uso de los ya conocidos grupos heteróticos con los que cuentan las empresas e instituciones, dedicándose en muchos casos a solo reciclar líneas para mejorar el mejor híbrido con el que cuentan.

Recientemente esta diversidad se ha puesto en la mira de diversos investigadores, al ofrecer la oportunidad de incorporar características favorables dentro del germoplasma elite (Prasanna, 2012), al poseer características de rusticidad, tolerancia a enfermedades, alto rendimiento, calidad industrial y calidad nutricional (González-Castro *et al.*, 2013), la revalorización de la diversidad también se debe a la existente demanda del mercado de incluir mejores características agronómicas y de calidad (Hellin *et al.*, 2013).

Entre las características que han tomado más importancia se encuentra la calidad nixtamalera y tortillera, el rendimiento y calidad elotera, el incremento de la concentración de aminoácidos esenciales (lisina y triptófano) y de microelementos (Fe y Zn) por mencionar algunas. Regularmente estas cualidades se encuentran ausentes en los híbridos comerciales tradicionales al darle más importancia al rendimiento de grano durante la selección. El uso de híbridos no convencionales como los QPM y los enriquecidos con carotenos se ha incrementado principalmente en países en vías de desarrollo, con el fin de disminuir los problemas de desnutrición.

Una de las demandas más recientes es la producción y comercialización de más volumen de maíces pigmentados con antocianinas, por su uso tradicional y potencial en mercados especializados (Salinas *et al.*, 2013b), la industria alimentaria también ha buscado su implementación al generar una alternativa a los colorantes sintéticos, pero la que más llama la atención es la presencia de moléculas funcionales (antocianinas y otros compuestos fenólicos) que ayudan a la salud (Lao *et al.*, 2017).

Las condiciones ambientales de alta luminosidad y bajas temperaturas nocturnas que prevalecen en las zonas denominadas como tierras altas, favorecen mejor la síntesis y acumulación de antocianinas (Salinas *et al.*, 2013b), condición que posiblemente ha incentivado el estudio de las razas aclimatadas a esta zona. La evaluación de maíces pigmentados tropicales de tierras bajas (0 a 1000 msnm) ha estado más limitada en cuanto al número de poblaciones y/o accesiones utilizadas, posiblemente a un menor hacinamiento de antocianinas en el grano, por la presencia de altas temperaturas diurnas y nocturnas (Paliwal *et al.*, 2001).

El mejoramiento genético de los maíces de grano pigmentado es un tema que hasta la fecha ha sido poco abordado por los mejoradores de este cultivo. La exploración del comportamiento de este tipo de maíces tropicales pigmentados al cruzarse con materiales mejorados, se abordó como eje central del presente estudio, con la finalidad de conocer su potencial en la acumulación de diferentes compuestos nutraceuticos (antocianinas, lisina, triptófano y carotenos), así como

los cambios que se presenten en las variables físicas del grano (color, índice de flotación, peso de 100 granos y peso proporcional de las estructuras del grano), agronómicas (altura de planta y de mazorca, acame y rendimiento) y de la mazorca (peso de mazorca, índice de desgrane, número de hileras, número de granos por hilera, etc.) en las diferentes retrocruzas formadas en comparación con sus progenitores recurrentes y donantes, con la finalidad de generar poblaciones base de premejoramiento. También se analizó la diversidad genética de los genotipos con SNP's.

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

Objetivos

Objetivo general

Mejorar dos criollos de maíz de grano azul mediante el método de retrocruza limitada.

Objetivos específicos

Identificar cual es la mejor retrocruza en comparación con sus progenitores, de acuerdo a cada variable.

Describir los cambios en las diferentes variables analizadas presentes en las diferentes retrocruzas, en comparación con sus progenitores.

A partir del análisis de diversidad genética con SNP's observar cómo están distribuidos los genotipos de acuerdo a su distancia genética.

Hipótesis

Al menos una de las RC1F1 mostrara mejores características agronómicas y un aumento en los compuestos nutraceuticos en comparación con su progenitor recurrente.

REVISIÓN DE LITERATURA

Importancia y Producción del Maíz en México

En México el maíz (*Zea mays* L.) es el cereal básico dentro de la alimentación, conjuntamente dentro del territorio nacional se encuentra la mayor diversidad genética de la especie, por la gran cantidad de condiciones ambientales en las que se cultiva, aunado a la inmensa diversidad de usos en las que se han empleado todas las partes de la planta, especialmente el grano (Hernández y Esquivel, 2004).

El maíz de grano en sus diferentes modalidades, fue el cultivo de más importancia de acuerdo a la superficie sembrada en el año agrícola 2017, con 7.54 millones de hectáreas bajo condiciones de riego y temporal. Durante este año se presentó una producción de 27.76 millones de toneladas de grano, de este total cerca del 99.62% fue maíz de grano blanco o amarillo los que cubren las necesidades de la industria de la masa, harina y alimentos balanceados. El 0.38% restante corresponde a maíces de especialidad, los que están comprendidos por maíces de colores, pozolero, azul y palomero, que representaron una producción de 58.43, 30.54, 10.34 y 0.69% respectivamente (SIAP, 2018).

Variabilidad del Maíz en México

Un gran segmento de la diversidad genética del maíz se concentra dentro del continente Americano, especialmente en México (Figuroa *et al.*, 2013), donde es sumamente abundante en las variedades nativas. (Perales y Golicher, 2014). De acuerdo a Caraballos-Torrecilla *et al.* (2000) la variabilidad genética del maíz, está dada por los mismos mecanismos que operan en las poblaciones bajo proceso evolutivo, tanto de manera espontánea como bajo domesticación. La diversidad del maíz también se puede atribuir a la selección realizada por los agricultores, así como a los factores ambientales que llevaron a la evolución de un gran número de variedades locales (Perales y Golicher, 2014). Esta gran

diversidad aun es de gran importancia para los agricultores productores de maíz de ciertas regiones de México, así como para la comunidad científica (Prasanna, 2012), la cual aún se puede encontrar en los campos agrícolas en forma de variedades criollas en su centro de origen (Herrera *et al.*, 2000).

La raza se ha utilizado históricamente como la unidad de análisis de la diversidad del maíz desde el planteamiento del concepto hasta la actualidad (Brush y Perales, 2007), concepto que fue definido por Anderson y Cutler (1942) como “un grupo de individuos relacionados con suficientes características en común para permitir su reconocimiento como grupo; y que desde el punto de vista genético, una raza es un grupo de individuos con un número significativo de genes en común; las razas principales tienen un número menor en común que las sub-razas”.

Wellhausen *et al.* (1951) realizaron la primera publicación de la clasificación racial y su distribución del maíz dentro del territorio mexicano, donde plasmaron la descripción de 25 razas concentradas en cuatro grupos, tres sub-razas y siete razas no bien definidas, mediante el uso de rasgos morfológicos, genéticos, citológicos y fisiológicos. A través del análisis de 696 colectas de maíz de la Sierra Madre Occidental Hernández y Alanís (1970) consiguieron registrar cinco razas más originarias del norte y noreste de México. Posteriormente, con los estudios realizados por Ortega-Paczka (1985) y, Ortega-Paczka y Barajas (1994) se pudieron identificar 10 razas más. De acuerdo a la metodología que propuso Benz (1986) consiguió definir cinco nuevas razas. Por ultimo Sánchez-González (1989) logro caracterizar y concretar cuatro razas más. Sumando el número de razas mencionadas anteriormente, da como resultado las 59 razas identificadas por Sanchez *et al.* (2000) quienes utilizaron características morfológicas e isoenzimáticas, para su identificación.

La gran diversidad que existe entre razas es evidente, sin embargo, al estudiarse la variabilidad dentro de razas esta disminuye (González-Castro *et al.*, 2013), no obstante como estos mismos autores lo mencionan en sus resultados, la variabilidad intrarracial presenta fluctuaciones porcentuales muy notorias y

dispersas, lo cual relacionan con diferentes factores como la distribución geográfica, la erosión genética, la escasa superficie de siembra y/o la amplia adaptabilidad que presentan las diferentes razas analizadas. Esta gran abundancia de variantes dentro de razas ha sido reportada por Herrera-Cabrera *et al.* (2004) y Wen *et al.* (2012) quienes encontraron una gran diversidad en las razas Chalqueño y Tuxpeño respectivamente.

Aprovechamiento de la Diversidad del Maíz

La gran diversidad genética del maíz ofrece un gran número de oportunidades para el mejoramiento genético, a través de la incorporación de alelos favorables en el germoplasma del maíz, para la producción de nuevas variedades (Prasanna, 2012). El conocimiento de las virtudes de la variabilidad del maíz, da como resultado el uso potencial que esta pueda tener en los programas de mejoramiento. Además, el uso de los maíces nativos puede asegurar su conservación a través de los caracteres deseables que estos pueden tener como rusticidad, tolerancia a enfermedades, alto rendimiento, calidad industrial y nutricional (González-Castro *et al.*, 2013). El potencial que presentan los maíces nativos de México aún puede revelar grandes cosas, por lo que se requiere proteger este germoplasma (Serna-Saldívar *et al.*, 2013).

De acuerdo a Turrent-Fernández *et al.* (2012) la variabilidad que presentan los maíces nativos ha sido subvalorada por los investigadores, al centrar por mucho tiempo sus investigaciones en el rendimiento de la materia seca del grano. La evaluación de un gran número de accesiones de maíces criollos para incrementar el rendimiento de grano se ha hecho por mucho tiempo, encontrando poblaciones sobresalientes con potencial de uso (Castro-Nava *et al.*, 2014; Herrera-Cabrera *et al.*, 2013; Navarro-Garza *et al.*, 2012; Palemón-Alberto *et al.*, 2017; Pecina-Martínez *et al.*, 2011; Tadeo-Robledo *et al.*, 2015).

La apreciación de algunas otras características como la calidad, la biofortificación y la actividad antioxidante por mencionar algunas, presentes en ciertas

poblaciones nativas, ha tomado importancia recientemente por parte de los investigadores. La revalorización de la diversidad se debe a la existente demanda del mercado de incluir características agronómicas y de calidad (Hellin *et al.*, 2013). Aunque conviene enfatizar que la diversidad del maíz nativo entre y dentro de razas, juega un papel substancial que incluye la presencia de compuestos nutraceuticos (Serna-Saldívar *et al.*, 2013).

Algunas otras nuevas características que se han explorado en la diversidad, es la calidad nixtamalera y tortillera que presentan los maíces criollos (Antuna-Grijalva *et al.*, 2008; Gaytán-Martínez *et al.*, 2013; Jiménez-Juárez *et al.*, 2015; Mauricio-Sánchez *et al.*, 2004; Salinas-Moreno *et al.*, 2010; Vázquez-Carrillo *et al.*, 2011; Vázquez-Carrillo *et al.*, 2010), recientemente se ha reportado la evaluación de algunos otros atributos, como los aspectos microestructurales que presenta el grano en relación a su uso final y las propiedades térmicas del almidón (Narvárez-González *et al.*, 2007), y su posible uso industrial (Aragón Cuevas *et al.*, 2012; Gaytán-Martínez *et al.*, 2013).

La evaluación de poblaciones de diferentes regiones para el rendimiento y calidad elotera, ha determinado la presencia de atributos deseables que podrían utilizarse en programas de mejoramiento (Coutiño *et al.*, 2010; Coutiño *et al.*, 2015; Ortiz-Torres *et al.*, 2013). La calidad del grano de la raza Cacahuacintle y Ancho ha retomado importancia ante la necesidad de encontrar poblaciones con potencial agronómico y con aspectos potenciales de calidad para el pozole (Hernández *et al.*, 2014; Romero Portillo *et al.*, 2018; Vázquez *et al.*, 2010). La caracterización de los maíces nativos amarillos por su parte se encuentra limitada (Lozano-Alejo *et al.*, 2007; Salinas *et al.*, 2008), posiblemente a que ya se cuenta con maíces mejorados de este tipo. Dentro de las exploraciones en las colectas de maíces de diferentes zonas geográficas de México se han encontrado poblaciones con altos contenidos de lisina y triptófano, algunos hasta con el 50 por ciento de los requerimientos del humano de estos dos aminoácidos, y la superación de testigos QPM (Cázares-Sánchez *et al.*, 2015; Vera-Guzmán *et al.*, 2012; Vidal *et al.*, 2008).

Los maíces pigmentados han tomado gran importancia, por el amplio uso que tienen en el uso tradicional y su potencial en mercados especializados (Salinas *et al.*, 2013b). La evaluación de poblaciones mexicanas con diferentes grados de tonalidad se ha realizado por mucho tiempo, con la finalidad de determinar el contenido de antocianinas totales (Espinosa *et al.*, 2009; Hernández-Quintero *et al.*, 2017; Salinas-Moreno, *at al.*, 2012; Salinas *et al.*, 2013a; Salinas *at al.*, 2012; Salinas *at al.*, 1999), aunque aún se requiere ampliar más la información sobre las razas de maíz con variantes de grano pigmentado.

Como se mencionó anteriormente se han evaluado varios atributos dentro de las poblaciones, siendo evidente la superioridad que presentan algunas accesiones en rasgos específicos. Una vez identificadas estas poblaciones superiores se deben de iniciar programas de pre-mejoramiento, a través de la cruce de los materiales nativos con líneas elite (Pixley *et al.*, 2018). Para esto hay que tomar en cuenta que la introgresión de caracteres controlados por genes de efectos mayores se pueden hacer en fases tempranas, y las controladas por genes menores se deben de ayudar en la selección genómica a fin de aumentar los alelos favorables (Gorjanc *et al.*, 2016).

Retrocruza Limitada

Los maíces criollos se encuentran amenazados por el desplazamiento de los maíces mejorados en gran parte del país, siendo más evidente en las zonas donde se realizó una agricultura más industrial. En muchas regiones aún se siguen sembrando las variedades locales que se emplean en platillos típicos, al presentar características únicas de calidad en las diferentes preparaciones culinarias que se utilizan y que los maíces mejorados no presentan (Fernández *et al.*, 2013). El aumento del potencial de rendimiento y mejora del arquetipo de las poblaciones nativas, resulta ser una buena alternativa para la conservación de los criollos y que estos sean atractivos para el productor y se continúen sembrando (Ramírez *et al.*, 2003), garantizando así su preservación.

De acuerdo con Hallauer *et al.* (2010) la retrocruza se utiliza para la incorporar un (os) gen (es) específico (s) en un genotipo deseable. El objetivo del retrocruzamiento es transferir una característica específica, del padre donante (no recurrente) al progenitor recurrente, recuperando el genotipo del padre recurrente en retrocruzas sucesivas e incorporar el rasgo deseado del padre donante. Esta metodología también se puede utilizar para rasgos que no dependen de uno o dos genes, como la incorporación de germoplasma exótico en poblaciones adaptadas.

Partiendo de este principio Márquez (1990) propuso incorporar a las razas de maíz, características deseables de poblaciones genéticamente mejoradas ya existentes, por medio de la retrocruza. En los estudios teóricos que este mismo autor desarrolló, pudo demostrar que las retrocruzas continuas reducen la heterosis que se produce entre el progenitor donante y el recurrente hasta situarse en cero en la generación teórica infinito, sin embargo, esta misma heterosis aún se conserva en la generación RC1F2, por lo que planteó detener el retrocruzamiento en esta generación para explotar la heterosis que llamo "heterosis residual". En base a los resultados que obtuvo Márquez (1990), sugirió el método llamado retrocruza limitada, que consiste en cruzar variedades mejoradas (progenitor donante) con variedades nativas (progenitor recurrente), y luego efectuar una sola retrocruza hacia las variedades nativas para explotar la heterosis entre ambos progenitores, a la que llamo "heterosis residual", y posteriormente utilizar esta población como base de selección recurrente y/o hibridación. Casi diez años más tarde, Márquez *et al.* (1999) sugieren que la retrocruza limitada es un método genotécnico que mejora el rendimiento, explotando la heterosis residual en la primer retrocruza, disminuye la altura de planta y mazorca, y consecuentemente disminuye el porcentaje de acame. Esta misma metodología fue usada por diferentes autores (Barrera *et al.*, 2005; Ramírez *et al.*, 2015; Ramírez *et al.*, 2003; Sahagún *et al.*, 2008) donde la disminución de altura de planta y mazorca fue un resultado en común. También se logra obtener maíces más rendidores que el criollo original, pero con mejor calidad de nixtamalización y de elaboración de tortillas (Vázquez *et al.*, 2003).

Usos de Maíz

El maíz es el cereal con más demanda en el mundo y es uno de los cultivos que presenta el mejor crecimiento anual en cuanto a volumen (Lozano y Fernández, 2019). El uso del maíz es de una forma muy diversa, entre las principales se encuentran el consumo humano; la alimentación de animales y fermentado para la elaboración de productos industriales (Paliwal *et al.*, 2001). Un gran número de personas en África y América Latina dependen del maíz, al utilizarlo en la elaboración de alimentos tradicionales e industrializados (Serna-Saldivar y Perez, 2019).

El grano de maíz se puede separar en las diferentes estructuras que lo componen, física o químicamente, para obtener fracciones refinadas y molidas en seco, almidón o subproductos. Este conjunto de materias primas obtiene un valor agregado al convertirse en cereales, bocadillos, productos de panadería, dextrosa, glucosa, dextrinas, alcohol etílico o alcoholes destilados, bioetanol y aceite de maíz (Lozano y Fernández, 2019).

Este grano también se ha propuesto como una opción para elaborar productos sin gluten. La industria de la molienda en seco y de procesamiento de alimentos, demanda granos con más rendimiento y calidad, para mejorar las aptitudes del producto final. Algunos tipos de grano de uso especial como el maíz azul, son cada vez más pedidos en las tiendas de alimentos especializados. Otra opción son los híbridos con calidad proteica (QPM) que muestran un óptimo valor nutricional, para transformarse en excelentes alimentos (Serna-Saldivar y Perez, 2019).

De acuerdo con Serna-Saldivar *et al.* (2013) los maíces nativos conservan una gran diversidad genética y potencial para generar alimentos funcionales, para que la población más indefensa pueda enfrentar problemas de desnutrición y salud, a través de los compuestos fitoquímicos conocidos como nutraceuticos, que se encuentran dentro de diferentes poblaciones nativas de maíz. Estos

compuestos nutraceuticos presentes en el maíz, no son nutrientes que se asocian con deficiencias presentes en la dieta, sino moléculas que al consumirse ayudan a prevenir y/o tratar diferentes enfermedades crónico-degenerativas. Adicionalmente este mismo autor clasifica los principales compuestos nutraceuticos asociados a maíces criollos, sin especificar raza, accesión o estructura donde se les encuentre, o el efecto preventivo o terapéutico que tienen. Por otra parte Fernández *et al.* (2013) realizaron una recopilación de los usos más comunes y las razas de maíz empleadas, resaltando la identificación de propiedades nutrimentales que dan una mejor calidad a las poblaciones nativas, permitiendo el uso de precios diferenciales por calidad.

Estructura del Grano

Posterior a la polinización, la planta de maíz tiene como función principal desarrollar mazorcas, cada mazorca puede producir entre 600 y 1000 granos (García-Lara y Serna-Saldivar, 2019). Conocer la composición del grano de maíz es vital para preservar una excelente calidad en la recolección, secado, almacenamiento y comercialización, independientemente del uso o aplicación que se le dé (Watson, 2003).

De acuerdo con García-Lara *et al.* (2019) el grano de maíz es un cariósipide (fruta seca, indehiscente, de una sola semilla y pericarpio fuertemente adherido al endospermo, el cual no se separa de manera natural) conformado por tres órganos principales: germen, endospermo y pericarpio; adicionalmente se encuentra el pedicelo, estructura que no es propiamente del fruto (figura 1). Este mismo autor describe los diferentes órganos como a continuación se presentan:

El fruto se encuentra fusionado a la mazorca a través del pedicelo, una extensión de la mazorca. Este órgano se encuentra en pequeñas proporciones, pero es de suma importancia por conducir los productos de la fotosíntesis al grano en desarrollo. Durante el proceso de desgrane, el pedicelo se rompe de la mazorca, dejando un extremo triangular en el grano.

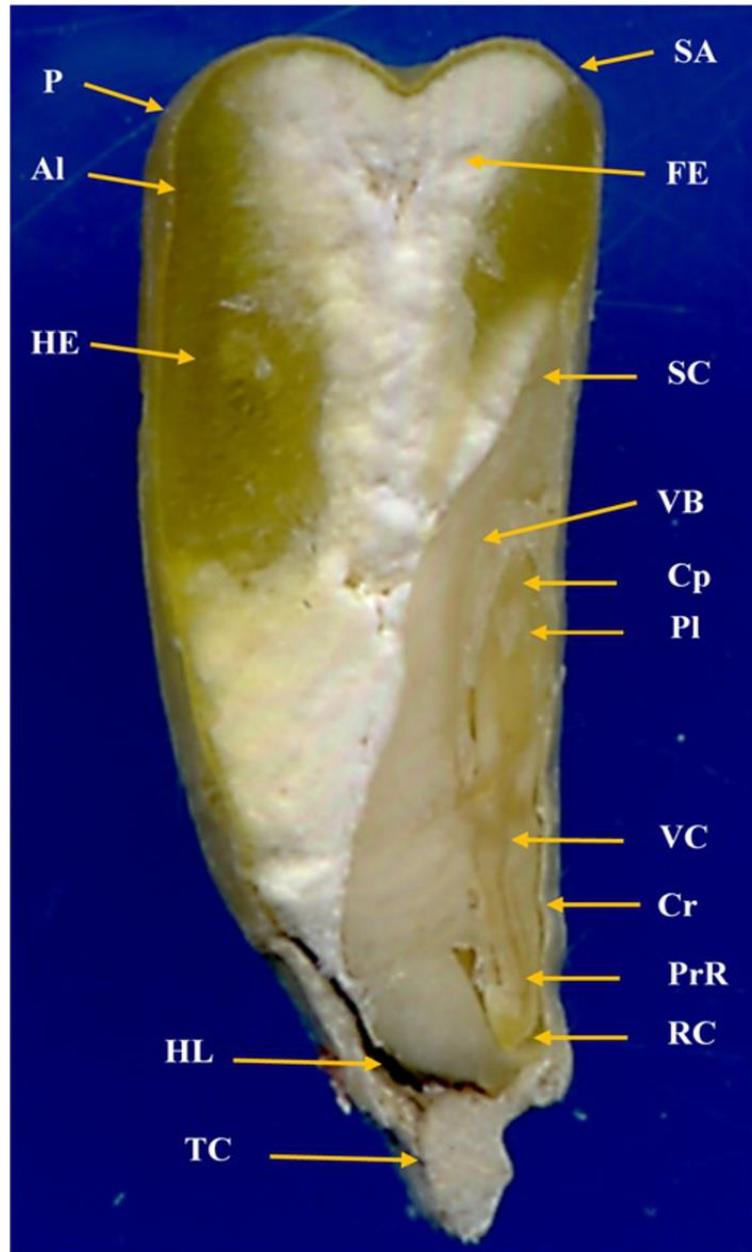


Figura 1. Disección de un grano de maíz amarillo dentado. Vista longitudinal y perpendicular hacia la cara del grano (80 μ m a 10X). Al: capa de aleurona; FE: endospermo harinoso; HE: endospermo corneo; HL: capa hilar; P: pericarpio; SA: cicatriz del estigma; Sc: escutelo; TC: pedicelo. El embrión incluye los siguientes tejidos anatómicos, Cp: coleóptilo; Cr: coleorriza; Pl: plúmula; PrR: raíz primaria; RC: caliptra; VB: haz vascular; VC: cilindro vascular. Desde Sc hasta RC se denominan colectivamente "germen". Fuente: García-Lara *et al.* (2019).

El pericarpio se produce a partir de las paredes ováricas, teniendo como principal objetivo proteger la semilla del estrés biótico o abiótico. Esta parte del grano constituye del 5 – 7% del peso seco del grano, se subdivide en epicarpio,

mesocarpio y endocarpio, este conjunto de tejidos se conforma de células fibrosas ricas en fitoquímicos. La epidermis es la capa más externa, y se extiende por todo el grano, excepto en la punta, y está compuesta por una hilera de células recubiertas de una capa cerosa que restringe la absorción de agua. El mesocarpio es la capa más gruesa representando el 90% del pericarpio, esta estructura está compuesta de dos tipos de células, cruzadas y tubulares que juegan un papel crucial para la distribución del agua dentro del grano. La capa de la semilla es la estructura más externa, es una membrana delgada, hialina, suberizada, casi invisible y se encuentra junto a las células tubulares. Se adhiere fuertemente a la superficie exterior de la capa de aleurona y se cree que imparte propiedades semipermeables al grano de maíz.

El germen se compone de: el epicotilo compuesto de tallo y hojas primordiales, el mesocotilo, en el que se combinan los haces vasculares del escutelo y el embrión, y el escutelo. El escutelo o cotiledón es el primer tejido de reserva abundante en proteínas, lípidos y micronutrientes que proporcionan al embrión los nutrimentos necesarios para la germinación. El germen representa alrededor del 12% del peso del grano, el 85% de la grasa total y, la mayoría de las albúminas y globulinas.

El endospermo es la estructura mayoritaria con un 80 - 82% del peso del grano, se compone de 86 - 89% de almidón, y este a su vez se divide en la capa de aleurona y endospermo almidonado. El endospermo almidonado se subdivide en corneo o vítreo y harinoso. La aleurona es una capa de células y se considera el recubrimiento externo del endospermo. Las células del endospermo almidonado están compuestas por un panel celular delgado, gránulos de almidón empotrados en una matriz proteica y cuerpos de proteínas de forma esférica.

Antocianinas en el Maíz

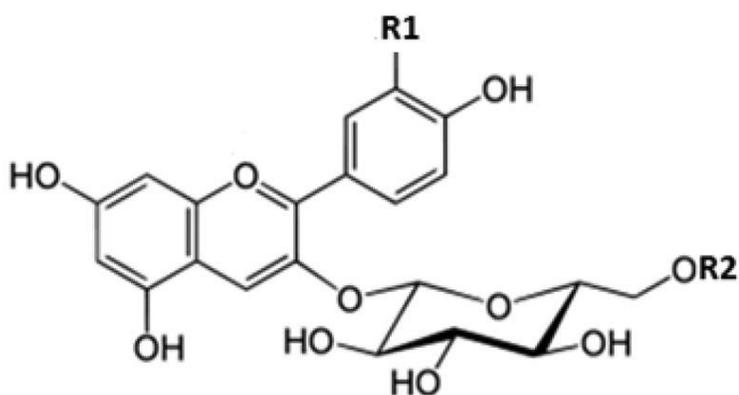
Dentro de las razas reportadas en México, existen poblaciones que presentan grano pigmentado con tonalidades que inician desde el rosa pálido hasta el negro (Salinas *et al.*, 2012), de acuerdo con Ortega *et al.* (1991) estas variantes

pigmentadas se presentan en 41 razas dentro del grano, hojas, tallo y mazorca. La preferencia de la población de ciertas regiones por el consumo de maíz pigmentado (rojo, azul, morado y negro) se debe a la diferencia de sabor y textura que estos presentan, en comparación con el maíz blanco (Bello-Pérez *et al.*, 2016). Investigaciones recientes han demostrado que las antocianinas de los maíces pigmentados son una alternativa a los colorantes sintéticos en la industria alimentaria, además de que ayudan a la salud (Lao *et al.*, 2017).

Las antocianinas son compuestos fenólicos solubles en agua que dan el color rojo, púrpura o negro al grano de maíz (Lao *et al.*, 2017). Estas moléculas pertenecen al grupo de los flavonoides, y su arreglo básico es un núcleo de flavona que presenta dos anillos aromáticos ensamblados por una unidad de tres carbonos, los diferentes grupos funcionales que se sustituyen en las regiones *R1* y *R2* (figura 2) determinan el tipo de antocianidina o aglicona (Salinas *et al.*, 2013b). Las principales antocianinas presentes en el maíz morado son seis, aunque se ha informado la presencia de otras 17 en menores cantidades (Lao *et al.*, 2017). En los granos de maíces con tonalidades azul, morado, negro y magenta, la antocianidina dominante es cianidina, ya que la mayoría de las antocianinas se derivan de ella (Salinas *et al.*, 1999; Salinas *et al.*, 2013a).

La presencia de las antocianinas en el maíz se encuentra en diversas partes de la planta como el tallo, vaina, hojas e inflorescencias; dentro de la mazorca se encuentran en las brácteas, raquis y grano. En el grano se acumulan en el pericarpio, la capa de aleurona, o en ambas estructuras (Cui *et al.*, 2012; Salinas *et al.*, 2012; Salinas *et al.*, 2005) en menor cantidad también las podemos encontrar en el endospermo almidonoso y el embrión (Cui *et al.*, 2012).

La acumulación del pigmento en las estructuras del grano determina el uso de este tipo de maíces (Salinas *et al.*, 2013b), si se encuentra en la aleurona, el grano puede ser nixtamalizado para la elaboración de productos con tonalidades azules, cuando se acumula en el pericarpio y en cantidad suficiente podría considerarse para la extracción de pigmentos (Salinas *et al.*, 1999; Salinas, 2009). Conforme a la recopilación de Salinas *et al.* (2013b) los contenidos de antociani-



Antocianina	R1	R2
Cianidina -3- glucósido	OH	H
Pelargonidina-3-glucósido	H	H
Peonidina-3-glucósido	OCH ₃	H
Cianidina-3- (6"-malonilglucósido)	OH	COCH ₂ COOH
Pelargonidina-3(6"-malonilglucósido)	H	COCH ₂ COOH
Peonidina-3(6"-malonilglucósido)	OCH ₃	COCH ₂ COOH

Figura 2. Arreglo químico de las seis principales antocianinas en el maíz. Fuente: Lao *et al.* (2017).

nas totales (ANTO) presentes en los granos de maíz, pueden variar en función del color del grano, la técnica de extracción y del germoplasma utilizado, por ejemplo los maíces azul/morado, púrpura y magenta generan más contenido de antocianinas que en los maíces de color rojo (Espinosa *et al.*, 2009; Espinosa *et al.*, 2010; Paulsmeyer *et al.*, 2017; Ryu *et al.*, 2013a; Salinas *et al.*, 2012).

Salinas *et al.* (2013b) mencionan la existencia de un número reducido de estudios efectuados a maíces con pigmentos del tipo antocianino, realizados predominantemente en poblaciones nativas aclimatadas a altitudes elevadas que presentan una mejor acumulación de ANTO por efecto de las condiciones ambientales que prevalecen en estas regiones de alta luminosidad y bajas temperaturas nocturnas. Entre los resultados más notables se encuentran los de Espinosa *et al.* (2009), quienes reportan 1269.4 μg de ANTO g^{-1} de grano en una población púrpura proveniente de la recombinación de una accesión de grano azul y otra de grano púrpura. Salinas-Moreno *et al.* (2012), evaluaron la

concentración de ANTO en 18 muestras colectadas en el Estado de México, Ciudad de México y Oaxaca del total de muestras, seis presentaron valores de ANTO superiores a los 1000 μg equivalentes de cianidina 3-glucosido (ECG) g^{-1} de muestra seca (MS). En otro estudio Hernández-Quintero *et al.* (2017), después del análisis de 554 muestras identificaron tres accesiones provenientes del estado de Tlaxcala que mostraron concentraciones de ANTO de 1989.97, 1952.49 y 1741.89 μg equivalentes de pelargonidina (Pel) g^{-1} . También fueron evaluadas 124 líneas S₂ por Mendoza-Mendoza *et al.* (2017), provenientes de poblaciones nativas de Tlaxcala y del programa de mejoramiento de Colegio de Posgraduados, para las cuales hallaron que las 10 mejores líneas acumularon entre 1840 y 3090. μg de ANTO g^{-1} de grano.

Con base en la revisión de literatura, la evaluación de maíces pigmentados tropicales de tierras bajas (0 a 1000 msnm) ha estado limitada en cuanto al número de poblaciones utilizadas, por ejemplo, Hernández-Quintero *et al.* (2017), mencionan que utilizaron 554 muestras, pero solo 44 accesiones eran de procedencia tropical pertenecientes a 14 razas de maíz, sin dar a conocer sus resultados. Ryu *et al.* (2013) entre las accesiones que analizaron, cuatro muestras correspondían a cuatro razas mexicanas provenientes de los estados de Sonora y Chihuahua, sin embargo, los resultados se exponen de forma agrupada por tipo de grano y color, no de cada una de las accesiones en específico. De la misma forma Salinas *et al.* (2012) analizaron 52 accesiones de siete razas provenientes del estado de Chiapas, aunque no especifica la altitud en la que se colectaron cada una de las muestras, se sabe que de estas razas seis se encuentran predominantemente por debajo de los mil metros de altitud, con excepción de Olotón, sin embargo los resultados son muy variables y no se muestran por accesión, pero de acuerdo a las medias grupales se observan accesiones con valores por encima de los 500 μg g^{-1} de ANTO en las razas Zapalote grande, Tepecintle, Vandeño y Olotillo. En otro estudio realizado por Salinas *et al.* (2013a), con 18 colectas pertenecientes a seis razas de la parte tropical del estado de Oaxaca identificaron alta variabilidad en el contenido de ANTO con valores entre 186.5 y 1512.1 μg ECG g^{-1} . Todos estos resultados

indican que existe una variabilidad importante en los materiales tropicales pigmentados en relación al contenido de antocianinas y actividad antioxidante que justifica el desarrollo de un programa de mejoramiento genético de estos maíces.

La mejora genética de características de importancia agronómica en el maíz azul aún es incipiente (Antonio *et al.*, 2004), por lo que es indispensable generar estrategias de mejoramiento genético que tengan como finalidad producir poblaciones con alto contenido de antocianinas, para cubrir las demandas humanas de: nutrición, salud, industriales, entre otras más (Espinosa *et al.*, 2012).

Desde principios del siglo pasado diversos investigadores mostraron interés por saber la genética de la pigmentación del grano de maíz (Shull, 1911; East, 1912; Emerson, 1912; Hayes, 1917; Kempton, 1919). Varios estudios tuvieron que realizarse para entender la coloración del grano, actualmente se sabe que la biosíntesis de las antocianinas en el grano es compleja (Espinosa *et al.*, 2012), en la ruta de biosíntesis y enzimas participantes actúan diversos genes (cuadro 1) estructurales, reguladores y transportadores (Cone, 2007).

El gran número de genes y alelos que intervienen en la síntesis de las antocianinas trae consigo diferentes efectos genéticos, que dificulta la selección de poblaciones con todos los alelos responsables de la acumulación de antocianinas. La injerencia de los genes reguladores sobre los genes transcripcionales de la síntesis de las antocianinas, exhibe la manifestación de epistasis (Espinosa *et al.*, 2012). La epistasis transcripcional, afecta las interacciones genéticas de la tasa de transcripción de otro gen o conjunto de genes, dando como resultado una sobredominancia, que no es efecto de las interacciones alélicas de genes estructurales (Springer y Stupar, 2007).

La presencia de efectos maternos ha sido corroborada por Espinosa *et al.* (2009) quienes encontraron que el progenitor que presenta la función de hembra en cruza dialélicas de maíces pigmentados mostro efectos significativos en la acumulación de antocianinas en el pericarpio y en la aleurona. Afirmación que

Cuadro 1. Genes presentes en la biosíntesis de las antocianinas del maíz y otros pigmentos de la planta.

Loci	Cr	Nombre	Alelos	Tipo	Long (pb)	Enzima
<i>pal</i>	-	-	-	E	-	PAL
<i>c4h</i>		Cinamic acid hidroxylase		E		C4H
<i>4cl</i>		4-Coumaryl CoA Ligase		E		4CL
<i>c2</i>	4 L	Colorless-2	C2, c2, C2-ldf, Whp	E	1203	CHS
<i>chi</i>	-	Chalcone isomerase-1	Chi1, Chi2, Chi3, Po	E	693	CHI
<i>fht1</i>	-	Flavanone hidroxylase	Fht, fht	E	1119	F3H
<i>pr1</i>	5 L	Purple aleurone	P.p	E	-	F3'H
<i>a1</i>	3 L	Anthocyanin-1	A, a, A-b, a-B, A-d	E	1073	DFR
<i>a2</i>	5 S	Anthocyanin-2	A2, a2	E	1188	ANS
<i>bz1</i>	9 S	Bronze-1	Bz1, bz1	E	1416	F3GT
<i>bz2</i>	1 L	Bronze-2	Bz2, bz2	T	-	GST
<i>ZmMr4</i>	-	-	-	T	-	MRP
<i>c1</i>	9 S	Colored-1	C1, c, Pl, C-l, C-S, c-p, c-n, c-m1, cm2	R	837	R2R3- MYB
<i>pl1</i>	6	Purple leaf-1	Pl1-Blotched	R	-	R2R3- MYB
<i>r1</i>	10 L	Red	R-r, R-g, r-g, r-r, Rst, R-sc, R-mb, R-ni, Lc, Sn, S	R	1935	bHLH
<i>b1</i>	2	Booster-1	B-Peru, B-Bolivia	R	-	bHLH
<i>p1</i>	1 S	Pericarp color 1	P1-wr, P1-ww, P- vv	R	-	-
<i>vp1</i>	L	Viviparous	Vp1, vp1, vp-mc, vp-c	R	-	-
<i>in1</i>	7 S	Intensifier	In, in	R	-	LH
<i>pac1</i>	-	Pale aleurone color-1	Pac, pac	R	-	WD40
<i>dek-1</i>	1 S	Defective kernel	dek-1, dek-2, dek- 21	R	-	-

Cr= Cromosoma, Long= Longitud, pb= Pares de bases, E= Gen estructural, R= Gen regulador, T= Gen que codifica al transportador; PAL= Fenil alanina amonioliasa, CHS= Chalcona sintetasa, CHI= Chalcona isomerasa, FHT= Flavanona-3-hidroxilasa, F3'H= Flavonoide-3-hidroxilasa, DFR= Dihidroflavonol reductasa, ANS= Antocianidina sintetasa, F3GT= Flavonoide-3-O-glucosil transferasa, GST= Glutación-S-transferasa, MRP= Transportador resistente a multidroga, (-) = Desconocido. Fuente: recopilación realizada por Espinosa *et al.*, 2012.

sugiere que las poblaciones empleadas como hembra que exhiban acumulación de antocianinas en el pericarpio, demostrarán un efecto positivo en el carácter

cuando se empleen en las cruzas recíprocas (Espinosa *et al.*, 2012). En otro trabajo publicado por Espinosa *et al.* (2010) encontraron que la contribución de los efectos aditivos (ACG) de los genes que intervienen en el rendimiento de antocianinas por planta son mayores que los efectos maternos. Adicionalmente, la acumulación de antocianinas se encuentra sujeta a más causas, por otro tipo de efectos.

En el genoma del maíz se han identificado varios transposones y retransposones (Liu *et al.*, 2007), que da como resultado un patrón de variegación en el grano (Chang *et al.*, 2005), al alterar la expresión de genes que intervienen en la síntesis de las antocianinas. Espinosa *et al.* (2010) también encontraron significativo el efecto recíproco sobre el rendimiento del pigmento por planta, situación que indica que la dirección en la que se hacen las cruzas (directa y recíproca) presenta un efecto en la acumulación de antocianinas, lo que refiere a la interacción entre factores extranucleares y nucleares en las cruzas (Kang *et al.*, 1999).

Se ha demostrado que el efecto de xenia afecta diversas características del grano (Liu *et al.*, 2010) y el color del endospermo (Waller, 1917). Los genes *booster* (*b*) y *red* (*r*) codifican elementos de transcripción que regulan la síntesis de antocianinas en el maíz, pero en ambos loci existen alelos paramutables (*Rr.standard*, *B-1*) y otros alelos paramutagénicos (*R-stippled*, *B'*) donde los alelos paramutables presentan una expresión más alta que los alelos paramutagénicos, además la impresión genética también afecta a la paramutación (Vedova y Cone, 2004). El efecto de dosis, es otro factor que interactúa específicamente en el endospermo donde la hembra contribuye con la doble (2:1) cantidad de cromosomas con respecto al macho (Edwards *et al.*, 2001).

La presencia de efectos no aditivos (ACE), también han sido significativos para la acumulación de antocianinas (Espinosa *et al.*, 2009; Espinosa *et al.*, 2010), lo que podría permitir separar las mejores y peores combinaciones específicas sobre la base de la media (Sprague y Tatum, 1942). La existencia de heterosis

en el contenido de antocianinas de algunas cruzas de maíces pigmentados, sugiere un efecto de dominancia completa, sin embargo, también se sugiere incrementar el rendimiento de los pigmentos mediante heterobeltiosis, con el uso de progenitores diferentes en el contenido de antocianinas (Espinosa *et al.*, 2010). La estimación de la heredabilidad (H^2) de algunos componentes de maíces pigmentados recientemente han sido dados a conocer, donde el valor más bajo de H^2 fue de 0.532 para Pn3DMG y el más alto para C3G con una H^2 de 0.974, estos resultados de H^2 indican que gran parte de la variabilidad en la producción de antocianinas se imputa a factores genéticos y no a factores ambientales (Paulsmeyer *et al.*, 2017).

Sin duda alguna en el mejoramiento genético del maíz azul se debe contemplar la existencia de la gran variación que hay en la estructura química de las antocianinas. A pesar del involucramiento de los diversos factores antes mencionados en la acumulación de antocianinas, es factible mejorar su acumulación (Espinosa *et al.*, 2012), para formar poblaciones con un mejor arquetipo y un alto contenido de antocianinas.

Marcadores Moleculares

La gran revolución que han tenido los procesos y herramientas biotecnológicas han transformado la investigación en las ciencias agrícolas, al ampliar la comprensión del genoma de diferentes especies, el descubrimiento de genes, las variaciones genómicas y la manipulación de características de interés en plantas (Varshney *et al.*, 2018). De acuerdo con Davey *et al.* (2011) los marcadores genéticos son polimorfismos heredables localizados en una o más poblaciones, de modo que presentan la función central de ayudar en el estudio de la genética moderna a través de brindar solución a interrogantes de genética de poblaciones, genética ecológica y evolución.

En los últimos treinta años se han desarrollado varios marcadores basados en la diversidad del ADN, como las isoenzimas, polimorfismos de restricción de

longitud de fragmentos (RFLP), amplificación aleatoria de ADN polimórfico (RAPD), secuencias simples repetidas (SSR) o microsatelites, polimorfismos de longitud de fragmentos amplificados (AFLP), polimorfismo de un solo nucleótido o de nucleótido simple (SNP), tecnología de microarreglos y genotipificación por secuenciación (GBS), por mencionar algunos métodos (Agarwal *et al.*, 2008; Nadeem *et al.*, 2018). De estos marcadores los RAPD, RFLP y AFLP se utilizan comúnmente para la asociación del marcador a un rasgo, pero su uso se ha visto limitado por los fitomejoradores debido a su poca reproducibilidad, dificultad de manejo, uso de personal altamente calificado y el empleo de elementos radiactivos para la obtención de estos marcadores (Gupta *et al.*, 2010). Por su parte el uso de los marcadores RAPD, SSR y SNP's ha sido amplio, por su gran poder informativo, gran cantidad en diferentes genomas, distribución relativamente homogénea dentro de los genomas, etc.

La secuenciación de próxima generación revolucionó la manera en que se estudia, preserva y utiliza la diversidad genética (Romay, 2018). Al obtener una gran cantidad de marcadores como lo permiten las técnicas que detectan SNP's, la genotipificación por secuenciación (GBS), presenta una gran variedad de aplicaciones como la selección asistida por marcadores, la selección genómica, la vinculación del fenotipo con los genes, el código de barras del ADN, análisis de diversidad y la mejora en el ensamblado de genomas (Scheben *et al.*, 2018). Las dos plataformas más comunes de genotipado de alto rendimiento son los ensayos comerciales SNP's, donde los más utilizados son Illumina Infinium y el Affymetrix GeneChip®, y el genotipado por secuenciación donde existe una gran diversidad de metodologías que utilizan representaciones reducidas del genoma completo para determinar los polimorfismos en el genoma (Scheben *et al.*, 2018).

En 2001 Jaccoud *et al.* (2001) presentaron una nueva plataforma de tecnología de genotipificación por microarreglos, para el análisis de polimorfismos de ADN, esta técnica es mejor conocida como DArT (Diversity Array Technology). La metodología de DArT se fundamenta en la reducción de la complejidad del genoma a través del uso de una combinación de dos enzimas de restricción,

seguida de la hibridación con microarreglos para estudiar de manera conjunta miles de polimorfismos procedentes de un genoma específico (Sansaloni *et al.* 2011)

En los últimos 10 años DArT se ha dedicado a generar dos tipos de marcadores i) silicoDArT y ii) marcadores SNP's. Los primeros son genéticamente dominantes y análogos a los obtenidos por la técnica de microarreglos, y representan la presencia o ausencia de un solo alelo, ya en los segundos los fragmentos existentes son "expuestos" a un proceso de secuenciación en un secuenciador de próxima generación. Este proceso, presenta como resultado final un número de decenas o centenas de miles de marcadores dominantes y codominantes adicionales, tecnología conocida como DArTseq (Sansaloni *et al.*, 2011).

Además, Chen *et al.* (2016), comparó el sistema GBS desarrollado y utilizado en la Universidad de Cornell para la detección de SNP's con la tecnología DArTseq, concluyendo que DArTseq produce menos cantidad de marcadores (50, 000 a 300, 000 SNP's), pero presenta mayor cobertura y menor cantidad de datos faltantes. Permitiendo también, además de identificar la variación de presencia/ausencia de fragmentos de ADN (PAV's o SilicoDArT), aumentar el potencial de apreciar directamente las muestras heterogéneas/heterocigotas, lo que permite su aplicación en temas de diversidad y también de selección genómica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Genético

Se utilizaron dos criollos como progenitores recurrentes, uno de grano magenta y otro azul, ambos de adaptación tropical. Como materiales donadores se usaron dos líneas endogámicas de grano blanco y una variedad sintética de grano amarillo (cuadro 1). La primera línea procedente de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), la segunda línea y la variedad provienen del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). En base al número de progenitores se produjeron seis retrocruzas cero en estado F1 (RC0F1) y seis retrocruzas uno en estado F1 (RC1F1), dando un total de 17 (1-17) genotipos para su análisis (cuadro 1). Los genotipos restantes (18 – 20) se utilizaron como testigos en el ensayo de rendimiento en campo.

Cuadro 2. Descripción del pedegree utilizado.

Genotipo	Tipo de material	Pedegree
1	Criollo	Criollo Morado Tenampulco
2	Criollo	Criollo Negro Acapulco
3	Donador	18(19)
4	Donador	S03-TLYQAB-03
5	Donador	CML-312
6	RC0F1	Tenampulco*18(19)
7	RC0F1	Tenampulco*S03-TLYQAB-03
8	RC0F1	Tenampulco*CML-312
9	RC0F1	Acapulco*18(19)
10	RC0F1	Acapulco*S03-TLYQAB-03
11	RC0F1	Acapulco*CML-312
12	RC1F1	[(Tenampulco*18(19))*Tenampulco]
13	RC1F1	[(Tenampulco*S03-TLYQAB-03)*Tenampulco]
14	RC1F1	[(Tenampulco*CML-312)*Tenampulco]
15	RC1F1	[(Acapulco*18(19))* Acapulco]
16	RC1F1	[(Acapulco*S03-TLYQAB-03)* Acapulco]
17	RC1F1	[(Acapulco*CML-312)* Acapulco]
18	Hibrido	CLTHW14001
19	Hibrido	CLTHY13002
20	Hibrido	P4028W

El 10 de febrero de 2017 se sembraron en el invernadero número 5 de la UAAAN los diferentes genotipos (1 – 5) que se utilizaron para formar las RC0F1. Se depositaron granos manualmente a 80 cm entre surco y a 20 cm entre plantas, de los dos criollos se utilizaron 50 semillas y de los donadores 25 semillas. Se dieron riegos de auxilio conforme a la demanda, la fertilización se realizó con una fórmula de 180-90-90 a base de urea y triple 17, el control de malezas se hizo manualmente, el de plagas con clorpirifos etil + permetrina, y dimetoato. Por la interacción de los progenitores con el ambiente del invernadero (altas temperaturas en floración) únicamente se realizó la formación de los genotipos 7, 8, 10 y 11, con un bajo número de mazorcas en la cosecha (28/05/17).

Con este problema el proyecto se retrasó, decidiendo sembrar los materiales nuevamente, pero ahora a campo abierto, y en base a la experiencia previa del comportamiento de la floración se programaron siembras escalonadas de los diferentes materiales. El día dos de junio de 2017 se comenzó sembrando en el sitio denominado “Los Pinos en la UAAAN” cincuenta semillas del genotipo tres, posteriormente el día 9 de ese mismo mes se sembraron 100 semillas de ambos criollos y, 50 semillas de los donadores cuatro y cinco, adicionalmente se volvieron a sembrar 25 semillas más del donador tres, para asegurar la generación por completo de las diferentes retrocruzas, el día 16 se sembraron nuevamente 50 semillas de ambos criollos y, 25 semillas de los donadores tres y cuatro. La siembra se realizó manualmente, con una separación de surcos de 80 cm y, 20 cm entre planta y planta, el manejo agronómico fue similar al registrado en el invernadero. El 22 de noviembre se cosecharon los materiales generados y se seleccionaron los granos con más intensidad de color azul/magenta para la producción de las RC1F1. Las siembras de enero y junio se realizaron dentro de las instalaciones de la UAAAN ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, sus coordenadas geográficas son 25° 23' latitud norte y 101° 02' longitud oeste, a una altura de 1743 m.s.n.m.

En diciembre se sembró en Tenampulco, Puebla ubicado en las coordenadas 20°11' 51.92" latitud norte y 97°22' 9.44" longitud oeste, a una altura de 224

msnm. En un diseño de bloques al azar, las seis RC0F1 y los cinco progenitores para formar las RC1F1, formar nuevas RC0F1 y se incrementó el grano de los progenitores. La siembra se realizó manualmente, con una separación de surcos de 80 cm y 20 cm entre planta y planta, la parcela experimental consistió en dos surcos de tres metros. La cosecha se realizó manualmente el 11 de mayo de 2018. El manejo agronómico consistió en aplicar glifosato como herbicida pre-emergente, posterior a la siembra se selló con atrazina, y se aplicó una dosis de fertilización 90-90-90, al mes se agregaron 90 unidades más de nitrógeno, como fuente de fertilizante se utilizó triple 17 y urea, el control de plagas se realizó con clorpirifos de acuerdo a la incidencia de gusano cogollero, el control de malezas se realizó manualmente.

Una vez obtenidas las mazorcas se procedió a desgranar en promedio 20 por material, ya separado del olote se apartó el grano de las RC0F1 y RC1F1 de acuerdo a la coloración que presentaban, se tomaron solo aquellos granos con más intensidad de color azul/magenta descartando los granos más pálidos, blancos o amarillos.

Variables Químicas

El conjunto de análisis de esta sección se realizó en el Laboratorio de Calidad Nutricional de Maíz “Evangalina Villegas” de CIMMYT, ubicado en El Batán, Texcoco, estado de México. Para determinar todas las variables se utilizaron los protocolos de Palacios-Rojas (2018), así como en los procesos de molienda y desgrasado, como se describen a continuación. Los análisis descritos en esta sección se realizaron a los genotipos 1 – 17. Se molieron 20 granos enteros por genotipo, la molienda se realizó para cada variable estudiada con el molino mezclador MM400 Retsch™. Cada análisis se realizó por duplicado.

ANTO: de cada muestra se pesaron 20 mg de harina en un tubo eppendorf de 1.5 mL al que se le adiciono 1.3 mL de TFA al 1%. Los tubos se agitaron en vórtex y se colocaron sobre un agitador horizontal (Eberbach) con hielo (4°C) durante 90 minutos a 150 rpm. Posterior a la incubación en hielo se centrifugaron los

tubos a 14000 rpm durante 5 minutos. Sucesivamente se colocaron 200 μL del sobrenadante de cada muestra en los pozos de una microplaca por duplicado. Se descartó el sobrenadante restante y se repitieron los pasos desde la adición del TFA hasta la obtención de los 200 μL , pero esta vez solo se agitaron las muestras por 30 minutos. Se leyó la absorbancia a 520 nm en el lector de microplacas BioTek® ($\mu\text{Quant MQX200}$, Winooski, Vermont, USA). Para conocer el contenido de ANTO se sumó la cantidad de ambas extracciones. Se preparó una curva estándar de cloruro de pelargonidina en TFA al 1% de 0, 1, 3, 5, 10 y 15 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Los resultados se expresaron en $\mu\text{g Pel}$ (pelargonidina) g^{-1} de muestra en peso seco (PS).

Para determinar lisina (LISI), triptófano (TRIP) y proteína (PROT) se desgraso la harina utilizada, para ello se vació cada muestra en un cartucho de papel filtro y se colocaron dentro de la trampa Soxhlet (Barnstead Lab line multi-unit extracción heater 5000). Se agregaron 300 mL de hexano a cada matraz balón y se encendió el equipo Soxhlet y el recirculador a temperatura máxima durante 10 horas, pasado el tiempo se secaron los cartuchos dentro de una campana de extracción.

LISI: se pesaron 100 mg de harina desgrasada en tubos falcón de 5 mL con tapa, se agregaron 5 mL de papaína (4 mg mL^{-1}) y se mezclaron en vortex, posteriormente se incubaron por 16 h a 64°C . Adicionalmente se mezclaron en vortex transcurrida la primera hora y una hora antes de cumplir el periodo de incubación. Pasado el tiempo, se agitaron los tubos en vórtex y centrifugaron a 2500 rpm por 5 min. A continuación, se adicionaron en tubos de vidrio de 5 mL, siguiendo este orden: 0.5 mL de buffer de carbonatos, 1 mL de alícuota y 0.5 mL de fosfato de cobre. Se agitaron los tubos de forma manual y constantemente en una gradilla por 5 min y se centrifugaron a 2500 rpm por 5 min. Se colocó 1 mL del sobrenadante de cada muestra en tubos de vidrio de 20 mL y se agregó 0.1 mL de 2 cloro 3, 5 dinitropiridina. Posteriormente se agitaron los tubos manualmente en una gradilla, dejándolos reposar por 2 h en ausencia de luz, se agitaron cada 30 min. Al transcurrir el tiempo se adicionaron 5 mL de HCl 1.2 N

a cada tubo y se mezclaron en vortex. A cada uno de los tubos se le agregó 5 mL de acetato de etilo y se mezcló la solución invirtiendo los tubos 10 veces. Una vez hecha la mezcla se retiró el sobrenadante para descartarlo. Se repitieron los pasos desde agregar el acetato de etilo hasta el retiro del sobrenadante completando tres lavados. Se transfirieron 0.2 mL de las muestras por duplicado en microplacas NUNC de 96 pozos y se tomó la lectura en un espectrofotómetro de microplacas BioTek® (μ Quant MQX200, Winooski, Vermont, USA) a 390 nm. Se preparó una curva de calibración de lisina diluida en buffer de fosfatos en las siguientes proporciones: 0.0, 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 $\mu\text{g LISI mL}^{-1}$. Los resultados se expresaron en porcentaje de LISI.

TRIP: se pesaron 30 mg de harina desgrasada de cada muestra y se colocaron en tubos eppendorf de 1.5 mL, a cada tubo se le agregó 1.125 mL de solución de papaína (1 mg mL^{-1}). Se agitaron los tubos en vortex y se colocaron en una estufa de incubación a 65°C por 16 horas, las muestras posteriormente se agitaron pasada la primera hora de incubación y una hora antes de terminarla. Al concluir el tiempo se sacaron los tubos de la estufa y se dejaron enfriar a temperatura ambiente. A continuación, se agitaron los tubos en vortex y centrifugaron a 14000 rpm por 5 minutos. Del sobrenadante se transfirieron 50 μL de cada muestra a los pozos de la microplaca, adicionalmente se agregaron 150 μL del reactivo colorimétrico (ácido sulfúrico 30 N + cloruro férrico 1.8 mM) en cada pozo. Se cubrió la placa con cinta de aluminio y se agitó en el agitador de microplacas (Cole-Parmer 2020T4) de la siguiente forma: a) 1000 rpm durante 10 segundos, b) 400 rpm durante 10 segundos y, c) 1000 rpm durante 10 segundos. Pasado el tiempo se colocó la placa en una estufa de incubación a 64°C durante 30 minutos para el desarrollo de color, posteriormente se sacó y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 25 minutos. La absorbancia fue leída a 560 nm en el espectrofotómetro de placas BioTek® (μ Quant MQX200, Winooski, Vermont, USA). Se preparó una curva estándar con diluciones de TRIP a 0, 10, 15, 20, 25 y 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Los resultados se expresaron en porcentaje de TRIP. El índice de calidad de proteína de ambos aminoácidos se obtuvo de la siguiente manera, $\text{IC} = (\% \text{ aminoácido} / \% \text{ de proteína}) * 100$.

PROT: sobre un tubo de digestión de 75 mL, se adicionaron 50 mg de cada muestra desgrasada, 2 g de la mezcla catalítica (sulfato de potasio + selenio negro 1: 0.005) y 2.5 mL de H₂SO₄ (sin diluir). Los tubos se colocaron en el digester FOSS 2040 precalentado a 380°C para digerir las muestras durante 90 minutos. Pasado el tiempo se sacaron los tubos y se dejaron enfriar a temperatura ambiente por 15 min. Se agregó agua destilada hasta la mitad del tubo y se agito en vórtex, una vez homogenizada la muestra, se aforo a 75 mL con agua destilada, posteriormente se homogenizaron las muestras invirtiendo 30 veces los tubos. Se transfirieron 2 mL de la solución a cápsulas de muestreo y se situaron en el carrusel del analizador Technicon Autoanalyzer II. Se encendió la bomba de flujo del equipo y se hizo un lavado de las líneas con agua destilada por 5 min, una vez hecho esto se conectaron las diferentes soluciones a cada línea para realizar la reacción colorimétrica en el equipo y procesar las cápsulas.

Para determinar el porcentaje de nitrógeno amoniacal presente en la dilución se utilizó la siguiente formula:

$$N_2 \text{ (mg)} = (\% T \times 0.002 \text{ mg mL}^{-1}) / (70\%) \times 75 \text{ ml}$$

Dónde:

%T= porcentaje del valor de transmitancia de la muestra en la gráfica; 0.02 mg mL⁻¹= concentración del estándar sulfato de amonio; 70%= porcentaje de transmitancia del estándar sulfato de amonio 0.02 mg mL⁻¹ en la gráfica; 75 mL = volumen final de la dilución de la muestra.

En el cálculo del porcentaje de nitrógeno amoniacal de la muestra, se empleó la siguiente formula:

$$\% N_2 = (N_2 \text{ (mg)}) / W \times 100 \%$$

Dónde:

N₂ (mg)= concentración de nitrógeno amoniacal de la dilución; W= Peso inicial de la muestra.

Para el cálculo del porcentaje de proteína se utilizó la siguiente formula:

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ N}_2 \times 6.25$$

Dónde:

$\% \text{ N}_2$ = porcentaje de nitrógeno amoniacal de la muestra; 6.25 = factor asignado para el maíz.

Cuantificación de carotenos: se pesaron 600 mg de harina por muestra y se depositaron en un tubo de vidrio de 15 mL, se agregaron 6 mL de etanol con 0.1% de BHT y se agito en vórtex. Las muestras se incubaron a 85°C durante 5 minutos en baño María. Pasado el tiempo se retiraron los tubos y se adicionaron 500 μL de hidróxido de potasio al 80 % y se agito en vórtex. Se volvieron a incubar los tubos por 10 minutos a 85°C, a los 5 minutos se mezclaron en vórtex y se regresaron al baño María hasta completar los 10 minutos. Concluido el tiempo se colocaron los tubos en un recipiente con hielo triturado. A cada tubo se le añadieron 3 mL de agua desionizada fría y se agito en vórtex. Sobre una campana de extracción, se agregaron 3 mL de hexano a cada tubo y se homogenizo la muestra en vórtex. Los tubos se centrifugaron por 3 minutos a 3000 rpm. Con la ayuda de una pipeta Pasteur, se transfirió el sobrenadante a un tubo limpio, las muestras fueron colocadas sobre hielo. Se repitieron los pasos desde el agregado del hexano hasta la extracción del sobrenadante dos veces más. Los tubos con el sobrenadante obtenido se colocaron en un evaporador con vacío Speed Vac (Thermo Scientific Savant, SPD121P) por 50 minutos a 35°C y presión de vacío de 2.5 psi. Se reconstruyeron las muestras evaporadas al agregar 500 μL de metanol: 1,2-dicloroetano (50:50). Posteriormente se filtró cada muestra con acrodiscos de 0.22 μm , el filtrado se colocó directamente en viales para su inyección al UPLC. Concluido el análisis en el cromatógrafo, se incorporó cada pico de interés obtenido en el cromatograma para calcular el área bajo la curva.

Los cálculos se efectuaron en base a la siguiente ecuación obtenida a partir de la curva de calibración.

$$\text{CBH inicial} = (m \times \text{área} \pm b \times (V_r / V_i) / M) \times (1 / 1000)$$

Donde:

CBH inicial= concentración de cada carotenoide en base húmeda ($\mu\text{g g}^{-1}$ de muestra); m = pendiente de la recta característica del carotenoide; área= área bajo la curva de cada carotenoide presente en la muestra; b = ordenada al origen de la recta característica; V_r = volumen de reconstitución (500 μL); V_i = volumen de inyección (2 μL); M = peso de la muestra (0.6 g); 1/1000 = factor para convertir de ng g^{-1} a $\mu\text{g g}^{-1}$.

Se realizó una corrección de la concentración de carotenoides con base a la eficiencia de extracción con la siguiente formula:

$$\text{CBH} = \text{CBH inicial} / \text{EE}$$

Donde:

CBH = Concentración de cada carotenoide corregido en base húmeda ($\mu\text{g g}^{-1}$);
 CBH inicial = Concentración de cada carotenoide en base húmeda ($\mu\text{g g}^{-1}$); EE = valor de eficiencia de extracción (se obtiene de agaragar a cada muestra 200 μL de apocaroteno después de la hidrolisis; se realiza el proceso de extracción y se compara el área obtenida con la encontrada para el apocaroteno puro).

Se realizó la corrección por humedad con la siguiente formula

$$\text{CBS} = (\text{CBH} \times 100) / (100 - \%H)$$

Donde:

CBS= Concentración de cada carotenoide en base seca ($\mu\text{g g}^{-1}$ de muestra);
 CBH= Concentración de cada carotenoide en base húmeda ($\mu\text{g g}^{-1}$); H=contenido de humedad (%) determinado por el método de termobalanza.

Los carotenos determinados fueron los siguientes: luteína (LEUT), zeaxantina (ZEAX), β -Criptoxantina (BCRI), 13-cis- βC (TREC), β -caroteno (BCAR) y 9-cis- βC (NUEC).

El contenido de Pro-Vitamina A (PROA) se calculó de la siguiente manera:

$$\text{PROA} (\mu\text{g g}^{-1}) = (0.5 \times \text{BCRI}) + \text{TREC} + \text{NUEC} + \text{BCAR}$$

Variables Físicas

Para peso de 100 granos (P100) e índice de flotación (INFL) se utilizaron 100 granos tomados al azar con excepción del genotipo 10, del cual no se completó la semilla requerida., también por falta de semilla las dos variables anteriores solo se realizaron en una sola repetición. Las variables descritas en esta sección únicamente se realizaron a los genotipos 1 – 17. Para determinar el P100 se registró el peso de los 100 granos seleccionados con una balanza analítica (Mettler Toledo MS204S), los resultados se obtuvieron en g, la clasificación del tamaño de grano se realizó conforme a lo planteado por Salinas y Vázquez (2006).

La dureza del grano se realizó a través del índice de flotación en nitrato de sodio (Palacios-Rojas, 2018), se preparó una solución de nitrato de sodio al 41 % y se ajustó la densidad de la solución a $1.250 \pm 0.001 \text{ mg mL}^{-1}$. Después del registro del P100, se adicionaron 500 mL de la solución de nitrato en un vaso de precipitado de 1 L, vertiendo los 100 granos de cada muestra en la solución, se agito 3 veces a la derecha y 3 veces a la izquierda con ayuda de un agitador de vidrio. Se dejaron reposar los granos por 30 segundos para que floten o se hundan. Con la ayuda de una cuchara perforada, se depositaron los granos flotantes en un colador y se cuantificaron. La dureza de la muestra se determinó de acuerdo a lo expuesto en la metodología.

La disección de los granos de los diferentes genotipos se realizó en dos repeticiones de 10 semillas cada una, sin embargo una repetición se realizó en el mes de junio y la otra en noviembre de 2018, como lo describe Palacios-Rojas (2018), se pesaron cinco recipientes de aluminio (limpios y secos) en una balanza analítica (Mettler Toledo MS204S) para cada muestra, los 10 granos seleccionados por muestra se colocaron en agua durante 15 minutos. Pasado el tiempo se separó cada estructura del grano pedicelo (PEDI), pericarpio (PERI), germen (GERM), endospermo vítreo (EVIT) y endospermo harinoso (EHAR) con la ayuda de un bisturí, colocando cada estructura en un recipiente de aluminio.

De cada recipiente se registró el peso con una balanza analítica (Mettler Toledo MS204S). Los recipientes con el tejido se introdujeron a una estufa de secado (Barnstead Thermolyne Mod. OV47525) a 130°C por una hora, pasado el tiempo se volvió a registrar el peso de cada recipiente con una balanza analítica (Mettler Toledo MS204S). Se calculó el porcentaje de cada estructura en base a su peso seco.

Los parámetros de color CIELab fueron registrados en tres repeticiones de grano entero (Palacios-Rojas, 2018) con un colorímetro (Minolta CR-410). Antes de realizar cada lectura se calibro el colorímetro con el mosaico blanco de calibración, sobre el aro de la base de la cápsula se agregaron los granos enteros y fue colocado el colorímetro, asegurado el colorímetro con la base se procedió a tomar la lectura de luminosidad (L), tonalidades de verde a rojo (a^*) y tonalidades de amarillo a azul (b^*). Con las coordenadas a^* y b^* , se estimó el ángulo hue (h) con la fórmula $h = \tan^{-1}(b^*/a^*)$ (grados) y el croma (C) = $(a^*)^2 + (b^*)^2$. Para el cálculo de la diferencia de color se utilizó la formula CIEDE2000 (Sharma *et al.*, 2005), la clasificación que se estableció para las diferencias de color fue: altas $\geq \mu + \sigma$; bajas $\leq \mu - \sigma$; medias = $\mu \pm \sigma$.

Evaluación de Campo

El día 14 de julio de 2019 se realizó el establecimiento del ensayo de rendimiento de los diferentes genotipos (1-20) en la Estación Experimental Agua Fría de CIMMYT, ubicada en el municipio de Venustiano Carranza, Puebla con las coordenadas 20°27'19.57" latitud norte y 97°38'28.17" longitud oeste, a 110 msnm. La siembra se realizó manualmente, cada unidad experimental consistió en dos surcos de 4 m de longitud, 0.8 m entre surcos y siembra de 74 semillas, para su posterior aclareo a 48 plantas y obtener una densidad de 75, 000 plantas ha^{-1} , cada genotipo contó con tres repeticiones. Los riegos se efectuaron a través de riego por goteo con cintilla conforme a la demanda del cultivo, la dosis de fertilización (150-75-30) se aplicó a través del riego, el fosforo y potasio se aplicaron a la siembra, mientras que el nitrógeno se dosifico en 20% del total a

emergencia, 40% a los 35 días y el resto con la aparición de órganos reproductivos. En el control de malezas se utilizó atrazina para el sellado y, mesotriona y paraquat+diquat en la post-emergencia. Para el control de plagas se utilizaron spinetoram, lambdacialotrina, emamectina, clorpirifos etil y abamectina+ tiametoxam.

Se tomaron las siguientes variables agronómicas y fenológicas: acame de raíz (%), acame de tallo (%), días a floración masculina y femenina (días transcurridos desde la siembra hasta que el 50% de las plantas liberaron polen y/o expusieron estigmas), asincronía floral (diferencia entre floración masculina y femenina), todas estas variables fueron tomadas en los 20 genotipos establecidos. La cosecha se realizó de manera manual (18/10/2019), se tomó el número de mazorcas por parcela y el peso de campo (kg), se estimó el rendimiento de grano ($t\ ha^{-1}$) ajustado al 12% de humedad y en base al índice de desgrane que presento cada material. Los genotipos 3 y 5 no presentaron desarrollo de mazorcas, para la repetición número tres del genotipo 10 se corrigió el peso de campo al presentar únicamente 39 plantas con la fórmula de Iowa (Mejía y Molina, 1999):

$$P_{cf} = P_c \times \left(H - \left(\frac{0.03 \times M}{H - M} \right) \right)$$

Donde:

P_{cf} = Peso corregido por fallas; P_c = Peso de campo; H = Número de plantas por parcela útil; M = Número de fallas por parcela; 0.3= Coeficiente de corrección de la sobreproducción registrada en las plantas debida a la menor competencia causada por fallas.

Una vez pesadas las mazorcas se seleccionó una muestra al azar de 10 mazorcas por unidad experimental, para tomar las siguientes variables: peso de mazorca (g) ajustado al 12% de humedad, longitud de mazorca (cm), diámetro de mazorca (cm) en la parte media, número de hileras por mazorca, número de granos por hilera, número de granos por mazorca (resultado de la multiplicación de las dos variables anteriores), porcentaje de desgrane (%) calculado en base

al peso de grano con el de la mazorca, peso de grano por mazorca (g) ajustado al 12% de humedad, peso de cien granos (g) se tomaron 10 granos de la parte media de cada mazorca para el estimado ajustado al 12% de humedad y diámetro de olote (cm) en la parte media.

Análisis de Diversidad Genética

El material genético se colectó el día 4 de julio de 2018, 30 hojas por genotipo (1 – 17) de la primera repetición de la siembra realizada para la evaluación de campo. Una vez colectadas las muestras fueron colocadas sobre bolsas herméticas previamente identificadas, y colocadas en una hielera con refrigerante para su traslado al Laboratorio de Análisis Genético para la Agricultura (SAGA) de CIMMYT en El Batán, Texcoco, Edo. de México. El material foliar fue resguardado a -80 °C para la posterior extracción del ADN genómico. Posteriormente, y una vez descongeladas las muestras, se colectó un área similar de cada una de las 30 hojas/plantas, se liofilizó el tejido y se extrajo el ADN genómico con el método de CTAB (Bromuro de hexadeciltrimetilamonio) modificado (CIMMYT, 2005), la solución de ADN se guardó a 4 °C hasta su uso.

La producción de los datos genotípicos fue realizada a través de la tecnología DArTseq, descrita por Sansaloni *et al.* (2011), y que a continuación se describe. La preparación del ADN templado, se realizó reduciendo la complejidad del ADN con la ayuda de un mix llamado digestión/ligación, el cual contiene una combinación de dos enzimas, una de corte frecuente y otra de corte específico. Además, el mix de digestión/ligación posee una ligasa que une los adaptadores específicos al ADN digerido para su identificación, y *primers* para la posterior amplificación de los fragmentos en una reacción de PCR. Concluido el tiempo de PCR se revisó la calidad de los fragmentos, ahora llamados *targets*, en un gel de agarosa al 1.2%. Se construyó un *pool* de *targets*, se mezclaron los mismos en un solo tubo eppendorf, y luego fueron purificados con el kit comercial QIAquick PCR Purification (QIAGEN ®). Se realizó un control de calidad de los *targets* purificados en un gel de agarosa 1.2% para confirmar la ausencia de dímeros y

bandas que reflejen la existencia de tamaños específicos de fragmentos. Se cuantificó la cantidad de ADN en los tubos, con los *targets* combinados, para conocer la cantidad de material genético que sería incluido para su secuenciación.

Generadas las bibliotecas (purificadas y cuantificadas), se realizó otro proceso de amplificación de fragmentos de mayor capacidad en un equipo llamado cBot, el cual utiliza un proceso de amplificación conocido como puente, esto generó *clusters* de fragmentos de acuerdo a la secuencia de los mismos. En la preparación del material genético, primero se diluyeron las muestras a una misma concentración y se desnaturalizaron las cadenas de ADN, formando cadenas simples. Producida la desnaturalización, se volvieron a diluir las muestras en un buffer de hibridación y se introdujeron en el cBot. Transcurrido el tiempo en el cBot la celda de secuenciación (Flow Cell) se resguardo hasta su introducción al secuenciador *Illumina HiSeq 2500*, secuenciando los fragmentos templados, comenzando por el adaptador. Se verifico la calidad de los datos con el software *Illumina Sequencer Analysis Viewer* que revisa la calidad de imágenes tomadas, así como la calidad y cantidad de datos. La traducción de la información obtenida se realizó con el sistema *Laboratory Information Management System (LIMS)*, el mismo sistema elimina la información que no cumple con los parámetros de calidad e identifica la muestra con el barcode. Concluido este proceso, fue realizado el reconocimiento de los marcadores, sobre una biblioteca desarrollada por la compañía *Diversity Ararys Technology* para maíz, la cual se actualiza automáticamente con el descubrimiento de nuevos fragmentos. Este proceso se vió seguido de un primer filtrado de calidad utilizando una serie de parámetros que auxiliaron en la selección de los mejores marcadores. El informe final consiste en un archivo Excel, con los genotipos y los parámetros de calidad en las columnas, y los marcadores en las líneas. Los reportes presentados fueron dos, uno con los datos de SNP's y otro con los datos *SilicoDArT* o *PAV's*.

Análisis de Datos

Para las variables físicas y químicas se realizó un análisis de varianza, el diseño experimental fue completamente al azar asimétrico con criterios de clasificación de genotipos anidados en tipos. En las variables del ensayo de rendimiento se utilizó un diseño de bloques al azar asimétrico con criterios de clasificación de genotipos anidados en tipos. Los análisis de varianza se realizaron con el procedimiento PROC GLM del paquete estadístico SAS 9.4, en todos los casos se utilizó la suma de cuadrados tipo III. La comparación de medias también fue realizada en el mismo paquete estadístico con la prueba de tukey. La matriz de correlación se realizó con los paquetes psych, corrplot y ggplot2 en el paquete estadístico RStudio, de los parámetros de color únicamente se tomaron en cuenta las primeras dos repeticiones para realizar la prueba.

Un segundo filtrado de datos genotípicos fue llevado a cabo utilizando las variables de reproducibilidad, tasa de llamada, y valores del Coeficiente de Información Polimórfica (PIC), sobre el archivo Excel reportado para los marcadores SNP's a fin de conocer su distribución. En el análisis de diversidad únicamente se utilizaron los SNP's, sin ser filtrados. Los valores de heterocigosidad esperada, heterocigosidad observada, número de alelos efectivos, índice de Shannon, número de alelos raros, proporción de valores perdidos y las distancias genéticas de Rogers se determinaron con el software Bio-R (Pacheco *et al.*, 2016), el análisis de conglomerados se obtuvo con el mismo programa a partir de las distancias de Rogers. A partir del archivo de salida "MDStable" de BIO-R, se generó un nuevo archivo de entrada para el software CurlyWirlhy, con el objetivo de generar los gráficos que permitan una mejor visualización de la estructura poblacional, dentro del archivo se clasificaron los genotipos por color de grano, origen y tipo de material.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Variables Químicas

Los resultados del análisis de varianza mostraron diferencias ($p \leq 0.01$) dentro del modelo, entre tipos y la clasificación de genotipos anidados en tipos, en la mayoría de las variables evaluadas (cuadro 3 y 4). Lo que sugiere que existe diversidad genética dentro de los tipos y genotipos, por las diferencias físico químicas de los granos. Las variables sin diferencia ($p \geq 0.01$) se deben a los altos coeficientes de variación que hay en estas variables (PEDI, GERM y EHAR).

En ANTO las medias de los tipos fluctuaron entre 4.91 - 705.01 $\mu\text{g Pel g}^{-1}$ para donadores y criollos respectivamente (cuadro 5). Las medias de los genotipos mostraron más variación con contenidos entre 0.62 - 807.87 $\mu\text{g Pel g}^{-1}$, con una media de 296.63 $\mu\text{g Pel g}^{-1}$ (cuadro 5), la amplitud de rangos se debe a la variación de color del grano entre los progenitores involucrados (recurrentes y donadores), así como las tonalidades generadas en la RC0F1 y RC1F1 (figura 3). Resultados con una amplitud de valores en el contenido de ANTO también se han reportado con anterioridad al evaluar granos de maíz de diferentes tonalidades (Espinosa *et al.*, 2010; Harakotr *et al.*, 2014; Lopez-Martinez *et al.*, 2009; Paulsmeyer *et al.*, 2017; Ryu *et al.*, 2013; Žilic, *et al.*, 2012).

Los valores de ANTO de los dos criollos se consideran altos (cuadro 5) dentro de los maíces pigmentados tropicales, por el bajo número de accesiones que los superan en el contenido de ANTO (Salinas *et al.*, 2012, 2013a). Sin embargo, los resultados del genotipo uno junto con sus retrocruzas podrían estar sesgados y poseer más ANTO, al expresar los resultados en equivalentes de pelargonidina clorada un estándar no adecuado para reportar el contenido de antocianinas en maíces de grano magenta, porque las antocianinas de este tipo de maíces se derivan principalmente de cianidina (Salinas *et al.*, 2012, 2013a), y generalmente los granos de color rojo magenta concentran hasta 10 veces más antocianinas que los de grano azul/morado (Salinas Moreno *et al.*, 2013a).

Cuadro 3. Cuadrados medios y significancias del análisis de varianza para variables químicas de laboratorio.

FV	GL	ANTO µg Pel g ⁻¹	TRIP %	LISI %	PROT %	LEUT µg/g PS	ZEAX µg/g PS	BCRI µg/g PS	TREC µg/g PS
MO	16	92591.89 **	0.000155 **	0.005089 **	3.152 **	0.66611 **	10.364 **	0.78499 **	0.02182 **
TI	3	392770.32 **	0.000014 **	0.001223 **	4.106 **	0.46261 **	11.184 **	0.20060 **	0.02306 **
G/T	13	23319.94 **	0.000188 **	0.008111 **	2.931 **	0.71307 **	10.175 **	0.91985 **	0.02153 **
ER	17	378.67	0.000002	0.004392	0.033	0.00131	0.0117	0.00077	0.00015
CV		6.56	2.27	8.79	1.63	10.87	9.61	5.84	4.89

FV: fuentes de variación; MO: modelo; TI: tipos; G/T: genotipos(tipos); ER: error; CV: coeficiente de variación expresado en porcentaje; GL: grados de libertad; ANTO: antocianinas totales; TRIP: triptófano; LISI: lisina; PROT: proteína; LEUT: luteína; ZEAX: zeaxantina; BCRI: β-criptoxantina; TREC: 13-cis-βC; PS: peso seco; **: significativo al 0.01 de probabilidad.

Cuadro 4. Cuadrados medios y significancias del análisis de varianza para variables físico químicas de laboratorio.

FV	GL	BCAR µg/g PS	NUEC µg/g PS	PROA µg/g PS	PEDI %	PERI %	GERM %	EHAR %	EVIT %
MO	16	0.19436 **	0.04735 **	1.4025 **	0.915 ns	1.199 **	4.332 ns	100.623 **	87.636 **
TI	3	0.07609 **	0.01122 **	0.4569 **	1.627 ns	0.771 **	10.345 ns	17.945 ns	55.221 **
G(T)	13	0.22165 **	0.05568 **	1.6207 **	0.750 ns	1.298 **	2.944 ns	119.703 **	95.117 **
ER	17	0.00032	0.00018	0.0025	1.214	0.159	13.261	23.417	11.372
CV		4.08	4.64	4.08	54.53	7.99	36.48	18.21	5.97

FV: fuentes de variación; MO: modelo; TI: tipos; G/T: genotipos(tipos); ER: error; CV: coeficiente de variación expresado en porcentaje; GL: grados de libertad; BCAR; β-caroteno; NUEC: 9-cis-βC; PROA: provitaminas A; PEDI: pedicelo; PERI: pericarpio; GERM: germen; EHAR: endospermo harinoso; EVIT: endospermo vítreo; PS: peso seco; **: significativo al 0.01 de probabilidad; ns: no significativo.

Cuadro 5. Contenido promedio y análisis de medias de variables físico químicas de laboratorio de los diferentes genotipos evaluados.

GENO	TIPO	ANTO	TRIP	ICTR	LISI	ICLI	PROT	LEUT	ZEAX	BCRI
1	Criollo	632.88 *	0.0721 *	0.599	0.3801	3.16	12.037 *	0.1207	0.6494	0.1686
2	Criollo	777.14 *	0.0669	0.562	0.4501 *	3.78	11.900 *	0.0528	0.2175	0.1056
	Promedio	705.01 a	0.0694 ab		0.4150 ab		11.968 A	0.0867 c	0.4334 c	0.1371 c
3	Donador	3.14	0.0698	0.695	0.3869	3.85	10.041	0.0298	0.1425	0.0000
4	Donador	10.35	0.0891 *	0.817	0.4871 *	4.47	10.896	2.1974 *	9.5177 *	1.2693 *
5	Donador	1.25	0.0526	0.417	0.3787	3.00	12.622 *	0.0284	0.1297	0.0971
	Promedio	4.91 c	0.0704 a		0.4175 a		11.187 b	0.7518 a	3.2633 a	0.4554 b
6	RC0F1	175.00	0.0811 *	0.596	0.5118 *	3.76	13.607 *	0.0350	0.1714	0.0985
7	RC0F1	287.27	0.0791 *	0.593	0.4473 *	3.35	13.346 *	0.8711 *	1.9989 *	1.5496 *
8	RC0F1	328.98	0.0635	0.518	0.3622	2.96	12.251 *	0.0309	0.1289	0.0945
9	RC0F1	214.20	0.0673	0.628	0.3897	3.64	10.702	0.0360	0.1808	0.0981
10	RC0F1	302.95	0.0567	0.523	0.3952	3.65	10.840	0.5507 *	1.2002	0.7158 *
11	RC0F1	492.38 *	0.0667	0.676	0.4034	4.09	9.870	0.1011	0.4033	0.4104
	Promedio	300.13 b	0.0690 ab		0.4182 a		11.769 a	0.2707 b	0.6805 b	0.4945 b
12	RC1F1	182.21	0.0664	0.736	0.3430	3.80	9.017	0.0402	0.1707	0.1003
13	RC1F1	214.51	0.0695	0.640	0.4061	3.74	10.851	1.0928 *	2.6032 *	2.1434 *
14	RC1F1	194.76	0.0628	0.640	0.3513	3.58	9.801	0.0509	0.3351	0.1060
15	RC1F1	355.01	0.0653	0.598	0.3485	3.19	10.925	0.1053	0.3348	0.1886
16	RC1F1	371.32 *	0.0756 *	0.671	0.3911	3.47	11.265	0.3049	0.8104	0.8405 *
17	RC1F1	499.50 *	0.0647	0.585	0.3293	2.98	11.057	0.0319	0.1503	0.1155
	Promedio	302.89 b	0.0673 b		0.3615 b		10.486 c	0.2710 b	0.6805 b	0.5823 a
	Media	296.64	0.0688	0.617	0.3978		11.237	0.3341	1.1262	0.4766
	Tukey	29.87	0.0024		0.0537		0.283	0.0558	0.1663	0.0428

Medias con letras iguales en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05); GENO: genotipo; ANTO: antocianinas totales; TRIP: triptófano; ICTR: índice de calidad triptófano; LISI: lisina; ICLR: índice de calidad lisina; PROT: proteína; LEUT: luteína; ZEAX: zeaxantina; BCRI: β-criptoxantina.

Cuadro 6. Contenido promedio y análisis de medias de variables físico químicas de laboratorio de los diferentes genotipos evaluados.

GENO	TIPO	TREC	BCAR	NUEC	PROA	PEDI	PERI	GERM	EHAR	EVIT
1	Criollo	0.2352	0.3148	0.2485	0.8829	1.8088	6.522	7.303	19.916	64.450
2	Criollo	0.2112	0.2384	0.2105	0.7129	1.6975	4.496	9.373	33.665	50.769
	Promedio	0.2232 b	0.2766 c	0.2295 d	0.7978 d	1.7531 a	5.509 a	8.338 a	26.790 a	57.610 a
3	Donador	0.0000	0.2154	0.2084	0.4237	2.5542	4.499	10.251	43.772	38.924
4	Donador	0.3018 *	0.6142 *	0.4947 *	2.0453 *	1.8579	5.520	12.254	22.859	57.510
5	Donador	0.2087	0.2109	0.2052	0.6733	3.5220	4.159	12.665	20.419	59.235
	Promedio	0.1701 c	0.3468 b	0.3027 b	1.0474 c	2.6447 a	4.726 b	11.723 a	29.016 a	51.889 b
6	RC0F1	0.2075	0.2141	0.0000	0.4709	1.9687	6.061	10.159	23.562	58.249
7	RC0F1	0.3700 *	0.7957 *	0.4358 *	2.3763 *	2.2918	5.189	9.008	26.549	56.962
8	RC0F1	0.2022	0.2074	0.2018	0.6587	1.2368	6.207	11.009	17.868	63.679
9	RC0F1	0.2111	0.2116	0.2113	0.6831	3.0768	4.628	8.280	35.891	48.124
10	RC0F1	0.2933 *	0.5548 *	0.3381	1.5441 *	2.4110	5.304	8.009	25.732	58.544
11	RC0F1	0.4270 *	0.9595 *	0.5001 *	2.0919 *	2.1851	3.577	11.004	29.315	53.919
	Promedio	0.2851 a	0.4905 a	0.2811 c	1.3041 b	2.1950 a	5.161 ab	9.578 a	26.486 a	56.579 ab
12	RC1F1	0.2138	0.2190	0.2130	0.6959	1.0750	4.692	10.232	33.513	50.488
13	RC1F1	0.4573 *	1.2258 *	0.6372 *	3.3920 *	1.7488	5.320	10.166	16.418	66.346
14	RC1F1	0.2226	0.2379	0.2189	0.7324	1.3728	5.122	11.738	23.249	58.518
15	RC1F1	0.2349	0.3399	0.2524	0.9214	0.9864	4.378	8.878	29.859	55.899
16	RC1F1	0.3419 *	0.6772 *	0.4107 *	1.8501 *	2.1507	4.758	9.339	23.632	60.120
17	RC1F1	0.2437	0.2818	0.2421	0.8253	2.4051	4.482	10.020	25.472	57.620
	Promedio	0.2856 a	0.4969 a	0.3290 a	1.4028 a	1.6232 a	4.792 b	10.062 a	25.357 a	57.610 a
	Media	0.2578	0.4423	0.2958	1.2341	2.0206	4.995	9.982	26.570	56.433
	Tukey	0.0194	0.0277	0.0211	0.0773	1.6917	0.613	5.591	7.429	5.177

Medias con letras iguales en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05); GENO: genotipo; TREC: 13-cis-βC; BCAR; β-caroteno; NUEC: 9-cis-βC; PROA: provitaminas A; PEDI: pedicelo; PERI: pericarpio; GERM: germen; EHAR: endospermo harinoso; EVIT: endospermo vítreo.



Figura 3. Color del grano de los diferentes genotipos. Los números indican el genotipo al que pertenecen.

Estadísticamente los grupos de las RC0F1 y RC1F1 son iguales (cuadro 5), pero con diferencias numéricas en retrocruzas provenientes de los mismos progenitores. La disminución del contenido de ANTO en la RC0F1 se debe a la incorporación de alelos que no sintetizan antocianinas con el uso de donadores de grano blanco y amarillo, afectando genes estructurales y reguladores que interfieren en la biosíntesis de antocianinas. Resultados similares obtuvo Espinosa *et al.* (2010) en la reducción del contenido de ANTO al realizar cruzas directas y recíprocas, entre genotipos pigmentados y un progenitor con grano blanco.

Esto se puede rectificar con los resultados obtenidos de las RC1F1 que involucran al genotipo dos al incrementar el contenido de ANTO por incorporar nuevamente una parte del genoma del progenitor recurrente. Resultado contrario se obtuvo en las RC1F1 del progenitor uno, en promedio estas retrocruzas decrecieron su contenido de ANTO en comparación con las RC0F1.

Lo anterior se entiende al revisar la pigmentación por antocianinas en las diferentes estructuras de los granos (cuadro 7). En el caso del progenitor dos y sus respectivas retrocruzas solo presentan antocianinas en la aleurona, notándose más opacidad en las diferentes retrocruzas en comparación con su progenitor recurrente. En las RC0F1 y RC1F1 del progenitor uno fue más evidente el cambio de la intensidad del color, la disminución de ANTO (figura 3 y 4, cuadro 5) se debe a la presencia de pericarpios incoloros en el genotipo 14 (cuadro 7) y pigmentación de solo la mitad del pericarpio en los genotipos 12 y 13 (cuadro 7).

Cuadro 7. Estructura del grano donde se encuentran las antocianinas

Genotipo	Pericarpio	Embrión	Aleurona
1	X	X	X
2	ND	X*	X
3	ND	ND	ND
4	ND	ND	ND
5	ND	ND	ND
6	X°	ND	X"
7	X	X*	X
8	X	X*	X
9	ND	ND	X
10	ND	ND	X
11	ND	ND	X
12	X°	X*	X
13	X°	X*	X
14	X'	X*	X
15	ND	X*	X
16	ND	X*	X
17	ND	X*	X

X: presencia de antocianinas; ND: no disponibles; *: presencia de antocianinas en algunos embriones de los granos evaluados; ": presencia de aleuronas blancas; °: pigmentación del pericarpio de la mitad del grano hacia arriba; ': presencia de pericarpios incoloros.

En los maíces rojo magenta las antocianinas se concentran principalmente en el pericarpio (Salinas *et al.*, 2013a), y al no sintetizar completamente el pigmento en esta estructura, se propició la disminución en el contenido de ANTO. El genotipo seis que también involucra al progenitor uno, fue el que menos ANTO acumuló, al presentar antocianinas en la mitad del pericarpio y algunas aleuronas incoloras (cuadro 7). Aquí probablemente esté involucrado un efecto de xenia, puesto que

el pericarpio es una estructura materna y al ser la primera cruza se supone que la síntesis de las antocianinas no se ve afectada en el pericarpio, sin embargo, no fue así.

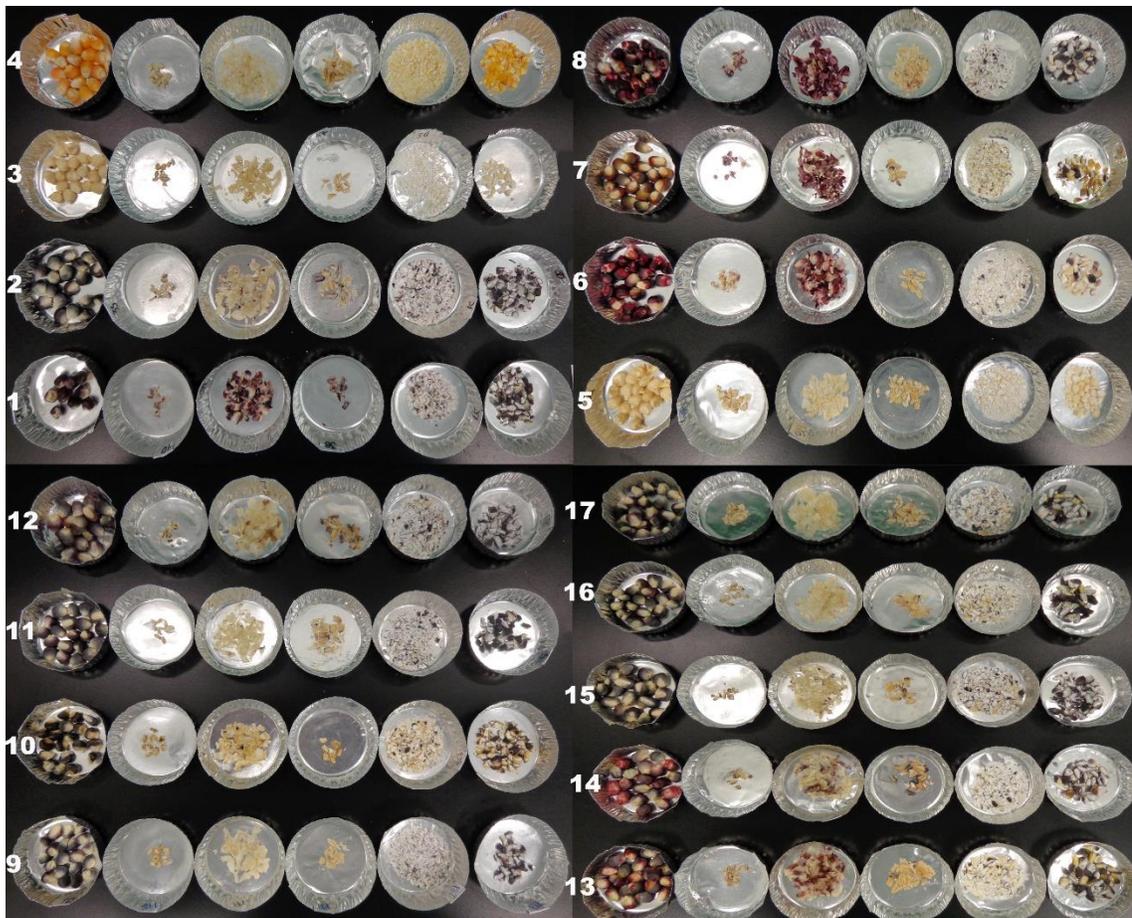


Figura 4. Disección de las diferentes estructuras del grano. El numero indica el genotipo; comenzando de izquierda a derecha se presenta: el grano entero y sus diferentes estructuras que lo conforman “pedicelo, pericarpio, germen, endospermo harinoso y endospermo vítreo”.

Al no realizar ningún estudio complementario sobre los efectos genéticos responsables de disminuir la acumulación de ANTO, solo se puede concluir que el uso de donantes con diferente pigmentación a la azul/magenta en el grano, afecta la ruta metabólica de las antocianinas. Basta con entender que la aleurona exhibe el genotipo AAA en los granos azules mientras que en los blancos es aaa (Espinosa *et al.*, 2010) y al producir la RC0F1 se generan genotipos AAa, disminuyendo la acumulación de antocianinas como se muestra en las RC1F1 (cuadro 5). Esto al suponer que cada A representa una unidad de intensidad del

color azul o magenta, lo que genera una variación en el color del grano, sobre todo si el número de loci involucrados se incrementa (Espinosa *et al.*, 2010).

En general la retrocruza limitada no ayudo a mejorar la acumulación de ANTO, por el uso de donantes de grano blanco y amarillo. Sin embargo, dentro de estos tipos se encontraron granos con más intensidad de pigmentación, en comparación con la mayoría de los demás, lo que sugiere la existencia de individuos que se podrían seleccionar al llevar la RC1F1 a RC1F2. Al avanzar generacionalmente las RC1F2, el contenido de ANTO se podría aumentar al autofecundar las plantas y así generar más loci en estado homocigoto que intervengan en la biosíntesis de las antocianinas. La selección genómica podría ayudar a seleccionar individuos con más alelos favorables en la acumulación de ANTO, pero aumentaría el costo. Diseccionar granos de las diferentes familias generadas en base a las estructuras del grano y observar en que parte se concentran las antocianinas, así como seleccionar las de mejor tonalidad de manera visible o a través de análisis de laboratorio, ayudaría en la selección de genotipos superiores aún menor costo.

El contenido de TRIP en base seca del grano entero presento una alta variabilidad entre genotipos anidados en tipos, que entre tipos (cuadro 5). De los tipos analizados ninguno se considera QPM, mientras que los genotipos 4, 6, 7 y 16 mostraron un contenido $\geq 0.075\%$ de TRIP en grano entero, lo que les confiere el estado de QPM (Vivek *et al.*, 2008). El porcentaje de TRIP aquí reportado en 15 de los 17 materiales, exceptuando los genotipos 5 y 10, es equiparable y/o superior al reportado en tres líneas y 11 cruza de maíz QPM realizadas por Gutiérrez *et al.* (2014), y superior al reportado en 45 accesiones de maíz del estado de Nayarit (Vidal *et al.*, 2008).

Vera-Guzmán *et al.* (2012) colectaron y agruparon por color de grano 70 muestras de maíz de la Mixteca de Oaxaca, del total de muestras 5, 3 y 5 accesiones de color rojo, azul y variegado respectivamente, exhibieron porcentajes superiores a la media aquí reportada de TRIP. Caso contrario se presentó con las 41 poblaciones de la Península de Yucatán estudiadas por

Cázares-Sánchez *et al.* (2015) del total de accesiones que avaluaron, solo 8 presentaron contenidos inferiores de TRIP que el genotipo cuatro.

El genotipo cuatro presento más de 0.8% de índice de calidad de triptófano (ICTR) para considerarlo QPM (Vivek *et al.*, 2008). El ICTR fue superior a la media del índice reportado por Vidal *et al.* (2008) en la mayoría de los genotipos que evaluamos con excepción del donador cinco, pero inferiores a los informados (0.85 a 0.95 %) por Cázares-Sánchez *et al.* (2015) para cuatro tipos de maíces. A diferencia de la variable TRIP el ICTR se vio afectado de manera positiva en las RC1F1 en comparación con los progenitores recurrentes, al aumentar el ICTR en todas las retrocruzas, dando como resultado proteína de mejor calidad.

Los valores promedio del contenido de LISI entre los tipos donadores, RC0F1 y criollos pertenecen al mismo grupo estadístico (cuadro 5), y fueron superiores en el porcentaje de LISI en comparación con la mejor población (0.386%) evaluada por Vidal *et al.* (2008). En general los genotipos mostraron una media (0.3978%) superior de LISI que once cruzas y tres líneas de maíz QPM evaluadas por Gutiérrez *et al.* (2014) y las 41 poblaciones que analizó Cázares-Sánchez *et al.* (2015). El genotipo seis (0.5118%) superó a la mejor cruza (0.49%) formada por Gutiérrez *et al.* (2014) y, a todas las cruzas y líneas que evaluó Arellano-Vázquez *et al.* (2012) en el contenido de lisina. Vera-Guzmán *et al.* (2012) reporta tres poblaciones en maíces de grano azul, rojo y variegado, con valores superiores al mejor genotipo (6) aquí reportado en el contenido de lisina, lo que sugiere la existencia de materiales pigmentados con altos contenidos de LISI.

Las RC1F1 fue el tipo que presentó en promedio menos porcentaje de LISI, pero existe variabilidad entre los genotipos que se agrupan en este tipo para la generación de familias con contenidos deseables del aminoácido. Los promedios del índice de calidad de lisina (ICLI) de los genotipos presento más variabilidad que el ICTR (cuadro 5). Los promedios de 16 de los genotipos analizados mostraron un mejor ICLI que los cuatro grupos que analizo Cázares-Sánchez *et al.* (2015). Las medias de los genotipos son superiores y/o equiparables con materiales QPM (Mendoza-Elos *et al.*, 2006; Vázquez *et al.*, 2012), los genotipos

4 y 11 superaron el 4% de lisina en proteína que les confiere el estado de QPM (Vivek et al., 2008). En general el ICLI se mejoró en la mayoría de las retrocruzas en el que intervino el genotipo uno, pero se disminuyó en las del genotipo dos, con excepción del genotipo 11, el cual logró obtener el grado de QPM.

En el contenido de PROT, la comparación de medias agrupo a los tipos en tres clases de grupos diferentes ($P \leq 0.05$), indicando que los criollos y las RC0F1 son iguales estadísticamente (cuadro 5) con los mejores promedios de PROT. Las medias de los tipos criollos y RC0F1 mostraron valores superiores a los cuatro grupos que analizó Cázares-Sánchez *et al.* (2015) en poblaciones de maíz de Yucatán. Los cuatro grupos presentaron mejores promedios que la media (10.3%) de 45 maíces nativos de Nayarit estudiados por Vidal *et al.* (2008). Caso contrario sucedió con los resultados de Vera-Guzmán *et al.* (2012) quienes informaron que los grupos formados de acuerdo al color del grano, exhibieron medias superiores a 11.9% de proteína en base seca.

Seis de los 17 genotipos presentaron promedios superiores a la media más dos veces el error estándar, sin embargo, ninguno de estos genotipos se encontró en las RC1F1, dentro de este tipo se ubicaron las medias más bajas en cuanto al contenido de PROT, resultados similares reporto Vázquez *et al.* (2003) al observar que la PROT de los maíces criollos fue superior al de sus retrocruzas. Los seis genotipos con mejor contenido de PROT mostraron durezas de intermedio a muy duro (cuadro 9), estos mismos resultados los encontró Salinas y Pérez (1997) en maíces comerciales, quienes relacionan la textura dura con el alto contenido de proteína.

Las proteínas presentes en el maíz muestran discrepancias en la mezcla de aminoácidos que las conforman, dando como resultado diferencias en su estructura. Las glutelinas, globulinas y albúminas exhiben tasas más altas de lisina (5% –6%), en comparación con el 0.1% de las zeínas (Larkins, 2019). Los maíces que presentan en estado homocigoto el gen opaco-2 producen mayores cantidades de lisina a los que no presentan estos alelos (Mertz et al., 1964), al reducir la acumulación de zeína (Larkins, 2019).

Los resultados anteriores del porcentaje de PROT sugieren que el gen *opaco-2* no se encuentra en estado homocigoto, en caso de ser el responsable de la acumulación de LISI y TRIP, al carecer de altos niveles de LISI y TRIP, y por ser generaciones aun segregantes. Sin embargo, en los resultados se observa una reducción del porcentaje de PROT, ayudando a obtener una mejor calidad y no cantidad de PROT.

Al llevar las RC1F1 a RC1F2 se podrían encontrar familias con mejores cantidades de lisina y triptófano, y al estudiar maíces que no solo se basen en el aumento de la calidad proteica como lo es con los QPM, sino en conjugar varias moléculas funcionales que aumenten la calidad nutricional y funcional del maíz, valores aceptables de LISI y TRIP en las poblaciones podrían tomarse como complementarios, al proporcionar una cantidad significativa de los requerimientos diarios de estos aminoácidos.

Los carotenos son pigmentos que se encuentran en el maíz amarillo y naranja, y algunos de ellos son precursores de vitamina A (Scott *et al.*, 2019), estos colores se deben al contenido de carotenos en el endospermo, y se dividen generalmente en carotenos y xantofilas (García-Lara *et al.*, 2019). En la mayoría de los maíces analizados se encontró LEUT, ZEAX, BCRI, TREC, BCAR y NUEC.; con excepción de los genotipos tres y seis, en el primer caso no presento BCRI y TREC, mientras que el segundo fue NUEC (cuadros 3 y 4), resultados que podrían estar relacionados con no haber encontrado el pigmento típico amarillo a simple vista en el endospermo harinoso y vítreo (cuadro 8), estructuras donde se almacena del 95% -97% del pigmento (García-Lara *et al.*, 2019).

Cabrera-Soto *et al.* (2018) y García-Lara *et al.* (2019) mencionan que LEUT y ZEAX son los principales carotenoides en maíz amarillo, de acuerdo a nuestros resultados LEUT presento la media más baja en comparación con los demás carotenos en todos los genotipos (figura 5). Este resultado se debe a que la mayoría de los genotipos que analizamos son de grano azul/magenta, y los carotenos no se presentan en todos los endospermos de los granos o están ocultos por las antocianinas (cuadro 8). Por el contrario, ZEAX fue el caroteno

con la mejor media en todos los genotipos (figura 5), la gráfica no muestra las medias del genotipo cuatro de ZEAX al tomarse como valores fuera de tipo.

Cuadro 8. Determinación de la presencia de carotenos en el endospermo harinoso y vítreo a simple vista.

GENO	EHAR	EVIT
1		X*
2		X*
3		
4	X	X
5		
6		
7	X	X
8		X*
9		X*
10		X
11		X*
12		
13	X*	X*
14		X*
15		
16	X*	X*
17		X*

GENO: genotipo; EHAR: endospermo harinoso; EVIT: endospermo vítreo; X: presencia de carotenos; *: presencia en solo algunos granos.

LEUT y ZEAX son las principales xantofilas en los granos de maíz, que no tiene la capacidad de ser PROA, pero presentan beneficios para la salud al ser antioxidantes y presentar actividad anticancerígena (Wang y White, 2019). Las medias de los cuatro tipos vario entre 0.0867 a 0.7518 $\mu\text{g g}^{-1}$ en base seca para LEUT, y de 0.4334 a 3.2633 $\mu\text{g g}^{-1}$ para ZEAX en base seca. La prueba de medias encontró diferencias que permitieron separar los cuatro tipos en tres grupos con diferencias estadísticas ($P \leq 0.05$) en ambas variables. Correspondiendo la media más baja a los criollos y la más alta a los donadores, sin embargo, a nivel de genotipo los dos criollos presentaron valores más altos de LEUT y ZEAX que los donadores tres y cinco (cuadro 3).

Las medias de los tipos criollos, RC0F1 y RC1F1 son inferiores a las medias de estas dos variables, en comparación con los híbridos catalogados como de baja

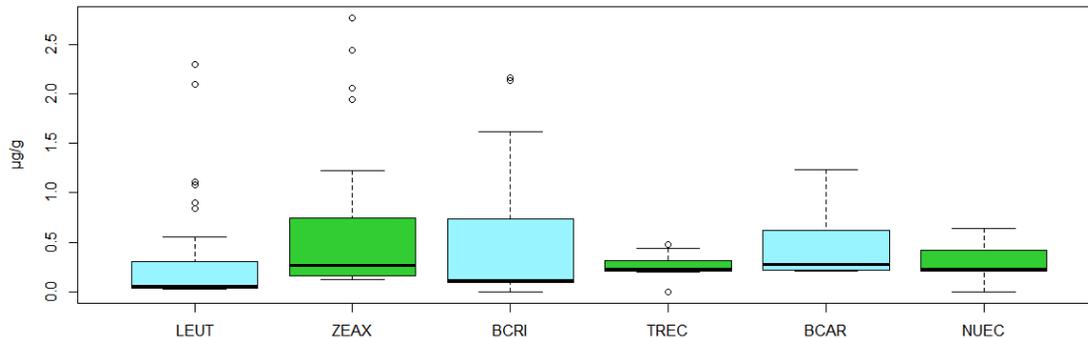


Figura 5. Boxplot's de los carotenos presentes en el grano de maíz de los genotipos analizados. LEUT: luteína, ZEAX: zeaxantina, BCRI: β -criptoxantina, TREC: 13-cis- β caroteno, BCAR: β -caroteno, NUEC: 9-cis- β caroteno.

concentración de carotenos por Suwarno *et al.* (2019) y aún más bajo a los resultados de Lozano-Alejo *et al.* (2007), pero algunos genotipos presentaron medias por encima del mínimo reportado en algunas líneas de maíz amarillo (Menkir *et al.*, 2008). Los niveles de ambos carotenos aumentan notablemente en algunas de las RC0F1 y RC1F1, siendo más notorio donde está involucrado el genotipo cuatro que es de grano amarillo (figura 3), resultado que se debe a la presencia de carotenos en más cantidad y tonalidad en el endospermo (figura 4 y cuadro 8).

La BCRI tiene un grupo OH en uno de los anillos que la conforman, quedando disponible solo la otra mitad de la molécula para su conversión a vitamina A (Wang y White, 2019), de ahí que para el cálculo de la PROA esta se debe de multiplicar por 0.5. El análisis de medias mostro diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre los cuatro tipos analizados, separando a los tipos en tres grupos, el promedio de los tipos varió de 0.1371 a 0.5823 $\mu\text{g g}^{-1}$ de peso seco de BCRI, la media más baja correspondió al tipo criollos mientras que las más alta fue de las RC1F1, resaltando los genotipos 13 y 16 que se encontraron por encima de las medias más dos veces el error estándar (cuadro 4). El genotipo 16 se cataloga como de concentración baja de carotenos, al exhibir una media similar a híbridos así catalogados por Suwarno *et al.* (2019), mientras que el genotipo 13 presenta un 54% más BCRI que la media de los híbridos catalogados como de alto contenido de carotenoides por el mismo autor, y similar a algunas líneas

sobresalientes de grano amarillo reportadas por Menkir *et al.* (2008), sin embargo se han reportado valores de hasta 19.0 $\mu\text{g g}^{-1}$ por Lozano-Alejo *et al.* (2007).

Dentro de los carotenoides existen isómeros geométricos (cis) especiales (Meléndez-Martínez, 2017), uno de ellos es TREC, carotenoide con actividad de PROA. La media para los diferentes tipos varió entre 0.1701 a 0.2856 $\mu\text{g g}^{-1}$ en base seca (cuadro 3), el grupo de los donadores mostro el promedio más bajo al no acumular esta molécula el genotipo tres, las RC0F1 y RC1F1 fueron estadísticamente iguales ($p \leq 0.05$), pero con la mejor acumulación de TREC (cuadro 3). Dentro de las RC0F1 destacan los genotipos 7, 10 y 11 (cuadro 3), los primeros dos pertenecientes a cruzas con el genotipo 4, que es de grano amarillo, sin embargo, el genotipo 11 llama la atención por sus niveles de TREC en comparación con los genotipos 7 y 10, al provenir de materiales de grano azul y blanco. Además, a simple vista solo se observó la presencia de carotenos en el endospermo vítreo de algunos granos de este genotipo, en comparación con los genotipos 7 y 10 que acumularon carotenos en todos sus endospermos (figura 4 y cuadro 8).

Entre las RC1F1, como era de esperarse sobresalieron las retrocruzas 13 y 16 donde intervino el genotipo cuatro, en estos materiales aumentó el contenido de TREC en 51 y 13% más en comparación con el genotipo cuatro, en el genotipo 11 se redujo su contenido a una media comparable con la de sus progenitores. Las medias de los tipos criollos, RC0F1 y RC1F1 son superiores a la de dos híbridos de maíz comercial de grano amarillo, e inferiores a los resultados de los siete híbridos enriquecidos con PROA (Rosales *et al.*, 2016).

El principal carotenoide precursor de la PROA es BCAR (Wang y White, 2019), una sola molécula dentro del humano se convierte en dos moléculas activas de vitamina A (Díaz-Gómez *et al.*, 2017), estas moléculas también pueden regenerar la actividad de la vitamina E y la de algunos otros antioxidantes (Acosta-Estrada *et al.*, 2019), o actuar como antioxidantes (Serna-Saldivar, 2010b). Las medias de los tipos oscilo entre 0.2766 y 0.4969 $\mu\text{g g}^{-1}$ en base seca para BCAR (cuadro 4), los tipos RC0F1 y RC1F1 son estadísticamente iguales ($P \leq 0.05$), los valores

más bajos de BCAR se presentaron en los donadores de grano blanco, dentro de las RC0F1 y RC1F1 se observó el mismo patrón de la variable TREC, con los genotipos 7, 10 y 11 (cuadro 4). El aumento y disminución posiblemente se deben a la acción del efecto de dosis, donde la intensidad del color amarillo varía de acuerdo a la dosis del gen Y1 en el endospermo (Ramírez *et al.*, 2007), razón por la cual algunos granos presentan a simple vista el color amarillo típico de los carotenos (figura 4 y cuadro 8). Los genotipos 13 y 16 mostraron aumentos del 99 y 10% respectivamente en el contenido de BCAR, en comparación con el genotipo cuatro. Los cuatro tipos en general acumularon menos carotenos que los híbridos catalogados como de bajo contenido de carotenos por Rosales *et al.* (2016) y Suwarno *et al.* (2019), sin embargo el genotipo 13 se considera de alto contenido de BCAR al presentar una media superior que algunos híbridos catalogados en esta categoría por los mismos autores.

El isómero NUEC, es un caroteno cíclico que tiene la estructura de BCAR, pero con un doble enlace cis en la posición 9,10. La prueba de medias separó a los diferentes tipos en cuatro grupos diferentes con una diferencia significativa ($P \leq 0.05$), las medias de los tipos oscilaron entre 0.2295 y 0.3290 $\mu\text{g g}^{-1}$ en base seca para la variable NUEC (cuadro 4). Las medias de ambos criollos y de los donadores blancos son muy parecidas, sin embargo, se complementan en algunas RC0F1 y RC1F1 al producir genotipos con medias superiores a las de sus progenitores (cuadro 4). Dentro de las RC1F1 al menos cuatro de las seis presentaron porcentajes superiores del caroteno en comparación con su progenitor criollo, mientras que el genotipo 13 superó en un 28% al donador cuatro. En general las medias de los cuatro tipos fueron superiores a las medias de híbridos comerciales de grano amarillo en la variable NUEC (Rosales *et al.*, 2016), sin embargo el genotipo 13 presentó una media superior a uno de los híbridos catalogados como enriquecidos con provitamina A.

Cualquier pigmento del tipo carotenoide que presente similitud con la estructura del carbono de la vitamina A en cualquiera de sus extremos, es PROA (Loy y Lundy, 2019), esta vitamina se considera la más importante en la nutrición y salud

de los humanos, al prevenir la ceguera parcial y completa, la xeroftalmía, el cáncer y enfermedades cardiovasculares, además de fortalecer el sistema inmunológico (Acosta-Estrada *et al.*, 2019). La comparación de medias reconoció el agrupamiento de los tipos en cuatro grupos estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$), la media de los cuatro tipos fluctuó entre 0.7978 a 1.4028 $\mu\text{g g}^{-1}$ de peso seco de PROA (cuadro 4), el grupo de los criollos presentó menos acumulación de PROA y el tipo RC1F1 mostró la mejor acumulación.

Algunos genotipos presentaron menos PROA que la media de los criollos, entre los que se encuentran los donadores de grano blanco y algunas de sus cruzas. Seis genotipos presentaron medias superiores a la media más dos veces el error estándar (cuadro 4), dentro de estos genotipos destacan las RC1F1 13 y 16 que tienen en común el donador de grano amarillo, pero sin duda la que muestra más cantidad de provitamina es el genotipo 13 que presenta un 56% más de PROA que el genotipo cuatro. La media de las RC0F1 es similar a la de los híbridos catalogados como de bajo contenido de carotenoides por Suwarno *et al.* (2019), mientras que la de RC1F1 es 5% superior a la media de esos híbridos, esto mismo sucedió con los análisis de Rosales *et al.* (2016) donde las medias de las dos retrocruzas fue superior a los maíces híbridos de grano amarillo, pero únicamente supero a uno de los híbridos (BEH6) que esta enriquecido con provitamina A.

Acosta-Estrada *et al.*, (2019) en la recopilación que hace sobre el contenido de carotenoides totales en el grano de maíz, menciona que los de grano blanco presentan cantidades mínimas de carotenos con solo 3 $\mu\text{g g}^{-1}$, los maíces de grano amarillo normal 66 $\mu\text{g g}^{-1}$ y los maíces con alto contenido de carotenoides rangos entre 60 y 95 $\mu\text{g g}^{-1}$. Con base a lo anterior, las medias de los tipos criollos, RC0F1 y RC1F1 presentan valores más bajos que los maíces blancos, mientras que la de donadores es de 5.2901 $\mu\text{g g}^{-1}$, pero los genotipos tres y cinco presentan menos de 3 $\mu\text{g g}^{-1}$ de carotenoides. Destacan los genotipos 7 y 13 con bajo contenido de carotenos y más PROA, resultado que se debe a que exhiben menos cantidad de luteína y zeaxantina moléculas que solo dan color, pero no

son precursores de PROA, mientras que las que si son precursoras de PROA se acumulan en cantidades ligeramente superiores.

La biofortificación del maíz tiene como objetivo la producción de variedades con mayores cantidades de micronutrientes a través del mejoramiento genético convencional (Ortiz-Monasterio *et al.*, 2007), en la actualidad se han producido materiales ricos en provitamina A, hierro, zinc y QPM todos estos por separado. Los resultados anteriores sugieren viable la producción de maíces con un endospermo rico en carotenos y, la presencia de antocianinas en la aleurona y pericarpio, para conjuntar las propiedades de estos dos tipos de maíces en un solo material, además agregar altos contenidos de lisina y triptófano, con la finalidad de ofrecer una nueva opción de alimento funcional. Esta propuesta se puede lograr con el uso de líneas enriquecidas con PROA y transformadas a QPM pertenecientes a un patrón heterótico que se utilizarían como donadores, y localizar criollos de maíz pigmentado que muestren heterosis al cruzarse, para utilizarlos como donadores de antocianinas para formar las poblaciones base de premejoramiento, y en un futuro en base a retrocruzas formar familias o poblaciones mejoradas con la presencia de estos tres atributos.

Lo anterior podría desencadenar en la generación de una nueva gama de líneas que conjunten estos rasgos dando nuevas opciones de biofortificación en maíz. Esta propuesta se escucha complicada pero dado que en la biosíntesis de antocianinas y carotenos interfieren genes diferentes, y se les haya en estructuras opuestas, su acumulación en conjunto y en cantidades aceptables podrían lograrse de una manera más rápida con la ayuda de la selección genómica. Esto también se puede lograr de una manera más rápida con donadores de grano blanco (QPM), debido a que los marcadores fenotípicos de las antocianinas facilitarían la selección.

Variables Físicas

La comparación de medias no mostro diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre los cuatro tipos para la variable PEDI, sin embargo, son notorias las diferencias

numéricas que hay entre algunos genotipos (cuadro 6). Como se puede observar las medias de los criollos fueron inferiores a las de los donadores, disminuyendo en la RC0F1 y aún más en la RC1F1. En general la mayoría de las RC1F1 cumple el requerimiento de $\leq 2\%$ de pico (Salinas-Moreno *et al.*, 2010), con excepción de los genotipos 16 y 17 que sobrepasan el valor ligeramente. Conocer el porcentaje que esta estructura representa del total del peso del grano es de suma importancia para las industrias de la masa y tortilla, al no hidrolizarse durante el proceso de nixtamalización ocasionando una tonalidad oscura en la tortilla, afectando su calidad (Salinas-Moreno *et al.*, 2010), lo anterior resulta de importancia en la industria de la tortilla blanca donde los granos carecen de pigmento, por lo que esta característica no afectaría a las tortillas elaboradas a partir de grano azul/morado donde las tortillas adquieren diferentes tonalidades de oscurecimiento por el efecto de la concentración de antocianinas en el grano.

Las medias de los cuatro tipos en el porcentaje de PERI, se agruparon en dos grupos estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$) (cuadro 6). Las medias de los tipos oscilo entre 4.726 y 5.509, los criollos presentaron los valores más altos de PERI, este resultado concuerda con los datos de Vázquez-Carrillo *et al.* (2010) quien encontró altos porcentajes de PERI en maíces criollos. Los donadores, las RC0F1 y las RC1F1 fueron estadísticamente iguales ($p \leq 0.05$), y presentaron medias con valores inferiores a los de 27 muestras de maíz agrupadas por su dureza (Salinas-Moreno y Aguilar-Modesto, 2010).

Diez de los diecisiete genotipos mostraron de 5 –7% de PERI con respecto al peso total del grano, valores que son propios del maíz (García-Lara *et al.*, 2019). La industria de la harina nixtamalizada y, la industria de masa y tortilla requiere maíces con valores de 4.5 - 6% de PERI (Salinas-Moreno *et al.*, 2010), con estos valores de referencia los cuatro tipos se ubican dentro de los rangos, pero de manera más concreta cinco de los seis genotipos que conforman las RC1F1 se adecúan para su uso en estas industrias (cuadro 6). Sin embargo, la industria de la masa nixtamalizada utiliza maíces con durezas de duro o muy duro, y presentar

esta característica la mayoría de los maíces aquí estudiados (cuadro 9), sería más adecuado su uso en esta industria.

Las medias de las RC1F1 y RC1F1 que involucraron al genotipo uno, en general presentan porcentajes más altos de PERI que las cruza donde intervino el genotipo dos, este resultado es bueno porque estos genotipos acumulan antocianinas en el pericarpio, por lo que a más porcentaje de pericarpio se espera más acumulación de antocianinas. Este resultado se ha informado con anterioridad, donde los maíces que reservan antocianinas en el pericarpio y aleurona, muestran más acumulación del pigmento sobre el pericarpio que en la aleurona (Espinosa *et al.*, 2009; Salinas *et al.*, 2013a), dentro de un programa de mejoramiento genético de maíces azules se debe tomar en cuenta este criterio (Espinosa Trujillo *et al.*, 2010), siendo deseable utilizar hembras que presenten altos porcentajes de pericarpio, de más grosor y que acumulen antocianinas en esta estructura, para el aprovechamiento de los efectos maternos en la acumulación de pigmentos (Espinosa *et al.*, 2012).

Con los resultados anteriores las RC1F1 se deben de llevar a RC1F2 para encontrar poblaciones que presenten la combinación de características deseables en maíces azules/magenta. Partiendo de estas poblaciones generar un patrón heterótico, a partir de una población (A) base de mejoramiento con granos de tonalidades magenta y/o rojo intenso que acumule antocianinas en el PERI y en la capa de aleurona, y una segunda población (B) con tonalidad azul que almacene pigmento en la capa de aleurona, para posteriormente formar líneas que generen híbridos que expresen heterobeltiosis en el rendimiento de antocianinas (Espinosa *et al.*, 2012), esto mismo se debe contemplar en la propuesta anterior de formar un patrón heterótico que acumule carotenos en el endospermo y antocianinas en el pericarpio y aleurona.

Con el aumento del porcentaje y grosor del PERI se podrían superar los límites de esta estructura, pero esto no representa un problema para la industria de la masa y tortilla, donde se prefieren porcentajes bajos para mantener la estética de la tortilla blanca, al incorporar la estructura colores indeseables (Vázquez-Carrillo

et al., 2010), sin embargo sucedería lo mismo que con PEDI donde el color de las antocianinas ocultaría estas características indeseables de estética.

Las medias de GERM no mostraron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) aunque si existe una diferencia numérica entre tipos y más aún entre los genotipos. Los criollos presentaron menos porcentaje de germen, y en los de tipo donador se presentó más porcentaje de germen con respecto al peso total del grano (cuadro 6). También se puede observar un aumento del porcentaje de germen en todas las RC1F1 del genotipo uno, mientras que en el genotipo dos solo se presentó el aumento en una de las retrocruzas, a pesar del aumento del GERM estos valores se encuentran dentro del rango que piden las industria de la masa y tortilla ($\leq 13\%$) y de las harinas nixtamalizadas ($\leq 12\%$).

El endospermo es la estructura más abundante en el grano de maíz, representa del 80 - 82% del peso total (García-Lara *et al.*, 2019). El porcentaje de EVIT para los tipos que se evaluaron oscilaron entre 51.889 - 57.610% (cuadro 6), Salinas Moreno *et al.* (2012) encontraron que las razas Tuxpeño y Vandeño con altos porcentajes de EVIT presentaron los índices de flotación más bajos y textura dura, estos resultados concuerdan con los aquí reportados en genotipos que presentan altos índices de EVIT al reflejar durezas de duras a muy duras y bajos índices de flotación (cuadro 9). De acuerdo a la industria de las harinas nixtamalizadas los balances de EHAR y EVIT determina que maíces utilizan, prefiriendo aquellos con más de 48% de EVIT (Salinas-Moreno y Aguilar-Modesto, 2010), con base a lo anterior todas las RC1F1 cumplen este requerimiento.

Todas las variables antes descritas de las estructuras del grano presentan variaciones, que se deben al contenido de humedad, la variedad y la interacción genotipo ambiente (Watson, 2003). Las muestras pertenecen únicamente a un ambiente y se diseccionaron en diferentes fechas, hechos que influyeron en los datos existiendo un posible sesgo, dando como resultado altos coeficientes de variación en PEDI, GERM y EHAR, sin poder encontrar diferencias significativas que separaran los tipos en diferentes grupos estadísticos.

El peso del grano es un buen indicador del tamaño del grano, y que se encuentra relacionado con los rendimientos en la molienda, prefiriendo la industria granos grandes y uniformes, por contener más proporción de endospermo o almidón, además de que la prueba es simple, práctica y rápida (Serna-Saldivar, 2010). El peso de 100 granos (P100) varió en los genotipos de 26.13 a 41.63 g (cuadro 9), valores similares (29.5 a 41.9 g) en el P100 fueron reportados por Salinas-Moreno *et al.* (2010) en híbridos, variedades sintéticas y variedades de polinización libre. Salinas y Vázquez (2006) menciona que los granos grandes poseen un P100, ≥ 38 g, los granos medianos oscilan entre los 33 y 38 g, y los pequeños muestran pesos ≤ 33 g.

Cuadro 9. Índice de flotación y dureza del grano de 17 genotipos.

GENO	P100 (g)	INFL (%)	DURE
1	31.75	25	Duro
2	31.46	40	Intermedio
3	28.09	18	Duro
4	35.03	2	Muy Duro
5	26.13	58	Intermedio
6	36.50	8	Muy Duro
7	26.66	7	Muy Duro
8	38.55	20	Duro
9	29.26	12	Muy Duro
10	-	-	-
11	28.01	16	Duro
12	33.61	11	Muy Duro
13	40.67	4	Muy Duro
14	37.24	11	Muy Duro
15	41.04	21	Duro
16	35.53	7	Muy Duro
17	41.63	7	Muy Duro

GENO: genotipo; P100: peso de 100 granos; INFL: índice de flotación; número de granos flotantes; DURE: dureza.

Con la clasificación anterior los genotipos 6, 8, 13, 14, 15 y 17 se consideran de grano grande, como medianos a 4, 12 y 16, y como chicos a los genotipos 1, 2, 3, 5, 7, 9 y 11, estas diferencias se deben al uso de materiales diferentes (líneas, criollos, variedades y dos tipos de retrocruza). La determinación del tamaño de grano, es una variable de interés en el proceso de nixtamalización, por el efecto que presenta sobre el grado de cocimiento y absorción de agua; granos con el mismo valor de dureza, pero de diferente tamaño, muestran diferencias en los

tiempos de cocción (Salinas-Moreno *et al.*, 2010). Al solo analizar una repetición, los valores probablemente no representen a las diferentes poblaciones, por la ausencia de heterosis al tratarse de semilla original en las diferentes cruzas y retrocruzas, sin embargo, una vez que se lleven a estado de RC1F2 será necesario realizar el análisis a cada familia para conocer el P100 de cada familia formada, y así poder determinar el tamaño del grano.

El INFL se desarrolló como una prueba rápida para determinar la densidad de grano y calidad de molienda en seco (Serna-Saldivar, 2010). Para los genotipos analizados el INFL varió de 2% para el genotipo cuatro hasta 58% en el genotipo cinco, ambos donadores, y que se clasifican de acuerdo a la DURE en el grano, como muy duro o intermedio para ambos casos (Palacios-Rojas, 2018). En general el INFL de los dos criollos disminuyó en sus tres diferentes RC1F1, caso contrario se presentó en los análisis de Vázquez *et al.* (2003) quien describió que el INFL se mantuvo en la raza Blando de Sonora en sus dos retrocruzas, mientras que las retrocruzas de Complejo Serrano presentaron un incremento en su INFL, causando que la dureza pasara de dura a intermedia, en este caso las retrocruzas del genotipo uno pasaron de duro a muy duro, y en el genotipo dos de intermedio a duro y muy duro.

La relación entre EHAR y EVIT determina la DURE y densidad del grano (García-Lara *et al.*, 2019), en los resultados de Salinas-Moreno y Aguilar-Modesto (2010) los maíces de grano duro presentaron los valores más bajos de EHAR y el porcentaje más elevado de EVIT, sin embargo en sus resultados los maíces duros mostraron porcentajes de EHAR más altos y más bajos en EVIT, en comparación con las medias de los cuatro grupos aquí analizados (cuadro 4).

En el grano de maíz interactúan diferentes factores genéticos sobre el pericarpio, la aleurona, el germen y el endospermo que dan como resultado diferencias en el color (blanco, amarillo, naranja, rojo, púrpura, azul y marrón principalmente) sin embargo, los maíces de grano amarillo y blanco son los que principalmente se cultivan, y en menos cantidad los de tonalidad roja y azul (García-Lara *et al.*, 2019). Los análisis de varianza empleados sobre las variables que se utilizaron

para definir los parámetros de color en el grano mostraron diferencias significativas ($p \leq 0.01$) en el modelo, los tipos y genotipos anidados en tipos (cuadro 10), resultados evidentes por el nivel de discrepancia en el color que existe entre los diferentes genotipos analizados (figura 3).

El parámetro L se refiere al grado de brillantez que presenta la muestra (0= negro y 100= blanco), de acuerdo a la prueba de medias los maíces del tipo donador presentaron los valores más elevados de L con una media de 77.31%, pero los genotipos de grano blanco (cuadro 10) expresaron más L sobre la media del grupo, el tipo con la media más baja fueron las RC1F1 (50.76%). En las medias de los genotipos que se agrupan en el tipo RC1F1 del genotipo uno se nota el incremento del porcentaje de L comparadas con su progenitor criollo y sus RC0F1, caso contrario sucedió con las cruzas del criollo dos donde se observó en general una disminución de la L (cuadro 10), el aumento de la L en los genotipos 12, 13 y 14 se debe a que los pericarpios de los granos disminuyeron su concentración de ANTO (cuadro 5, figura 3 y figura 4). Los maíces de grano azul presentan valores más altos de L que los de grano rojo magenta (Salinas Moreno *et al.*, 2012), resultado que concuerda con lo aquí reportado. Resultados con menos porcentaje de L han sido reportados con anterioridad para razas de maíces tropicales (Salinas, *et al.*, 2013a), y aún más bajos en genotipos de valles altos por su alta concentración de ANTO (Mendoza-Mendoza *et al.*, 2017).

La a^* define los colores que van de rojo a verde, si a^* es positiva representa el rojo y por el contrario si presenta valores negativos indican el verde, si el valor encontrado es cercano a cero representa una baja tonalidad, pero si es cercano a -100 o +100 la tonalidad es alta (Palacios-Rojas, 2018). La media de esta variable en todos los tipos fue positiva representando el color rojo, las medias de los tipos oscilaron entre 2.790 y 7.470, la media más baja corresponde a criollos, y la más alta a RC0F1. El valor de la media en criollos se debe al bajo promedio del genotipo dos, donde la tonalidad es baja por la reflectancia de su pericarpio blanco, por su parte la media más elevada se debe a los altos valores que muestran los genotipos 6, 7 y 8 predominando los pericarpios rojizos (figura 3 y

Cuadro 10. Cuadrados medios del análisis de varianza para los parámetros de color.

FV	GL	L*	a*	b*	h°	C
Modelo	16	495.968 **	60.567 **	299.615 **	807.651 **	290.324 **
Tipo	3	1509.454 **	58.042 **	1282.805 **	705.657 **	1237.074 **
Genotipo(Tipo)	13	262.086 **	61.150 **	72.725 **	831.188 **	71.843 **
Error	34	0.614	0.513	1.374	8.481	1.472
CV %		1.36	13.43	7.26	4.15	6.87

FV: fuentes de variación; GL: grados de libertad; CV: coeficiente de variación; L = luminosidad o brillantez; a* y b*: coordenadas de cromaticidad; h°= color o tono; C= croma o pureza de color; **: significativo al 0.01 de probabilidad.

Cuadro 11. Comparación de medias y promedio de los parámetros de color.

GENO TIPO	L*	a*	b*	h°	C
1 Criollo	41.673	5.423	7.047	52.398	8.897
2 Criollo	68.587	0.163	12.333	88.465	12.340
Promedio	55.130 b	2.790 d	9.690 c	70.430 b	10.610 c
3 Donador	84.857	3.183	32.407	84.386	32.563
4 Donador	72.947	11.893	41.877	74.153	43.534
5 Donador	74.150	2.967	29.353	84.230	29.503
Promedio	77.310 a	6.010 b	34.540 a	80.920 a	35.190 a
6 RC0F1	43.273	16.507	10.803	33.232	19.729
7 RC0F1	63.303	9.410	25.650	69.886	27.323
8 RC0F1	43.563	10.970	8.253	37.019	13.747
9 RC0F1	70.640	4.110	17.857	76.952	18.332
10 RC0F1	56.157	0.907	13.543	86.226	13.575
11 RC0F1	51.063	2.970	9.687	72.812	10.141
Promedio	54.660 b	7.470 a	14.290 b	62.680 c	17.140 b
12 RC1F1	55.267	3.090	10.880	74.263	11.329
13 RC1F1	43.070	6.530	10.893	59.098	12.722
14 RC1F1	53.923	6.693	12.457	61.735	14.184
15 RC1F1	50.643	1.400	10.093	81.988	10.198
16 RC1F1	50.677	2.300	11.147	78.114	11.403
17 RC1F1	51.003	2.150	10.097	77.506	10.347
Promedio	50.760 c	3.690 c	10.920 c	72.110 b	11.690 c
Media	57.341	5.333	16.140	70.145	17.639
Tukey	0.934	0.850	1.396	3.468	1.440
EE	1.766	0.622	1.378	2.276	1.357

Medias con letras iguales en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05); GENO: genotipo; L = luminosidad o brillantez; a y b: coordenadas de cromaticidad; h°= color o tono; C= croma o pureza de color.

4). La disminución de los valores en las RC1F1 de estos mismos genotipos se debe a la presencia de pericarpios sin pigmento en algunos granos de estos genotipos (cuadro 7 y figura 4), por su parte las retrocuzas del genotipo dos presentaron un aumento de a^* (cuadro 11). En el estudio de 124 líneas S2 de clima templado se encontró que la variable oscilo entre 0.5 y 10.5 (Mendoza-Mendoza *et al.*, 2017).

La coordenada b^* define la tonalidad de amarillo si b^* es positiva, y si los valores son negativos el azul, si el parámetro se encuentra cerca de cero son de baja tonalidad, y de alta tonalidad si están cerca de -100 y +100 (Palacios-Rojas, 2018). Las medias de los cuatro tipos fueron positivas al igual que la de los genotipos, lo que indica que se ubican dentro del color amarillo, los valores de los tipos oscilaron entre 9.69 para los criollos y 34.54 para donadores donde prevalecen los granos blancos y amarillos (figura 3 y 4), los resultados sugieren que los criollos presentan tonalidades más bajas del color amarillo, de forma general dentro de casi todas las RC0F1 las tonalidades amarillas aumentaron, pero estas disminuyeron al realizar la RC1F1 al estabilizarse de nuevo las tonalidades amarillas (cuadro 11). Mendoza-Mendoza *et al.* (2017) también reportaron que todos sus valores encontrados para este parámetro fueron positivos con un intervalo de entre 1.1 y 5.8.

El h es un valor angular que variá entre 0° y 360° para estímulos cromáticos, estableciendo el color básico de un objeto (rojo, violeta, azul, verde, amarillo, naranja ó púrpura (Carvajal Herrera *et al.*, 2011). Las medias de los tipos de h mostraron diferencias ($p \leq 0.05$), el intervalo de h fue de 62.680° en las RC0F1 a 80.920° en los criollos y una media de 70.145° (cuadro 11), los resultados indican que en promedio los tipos mostraron un h que fue del rojo intenso al anaranjado, aunque hubo genotipos que presentaron valores de menos de 40° que se relacionan con h de rojo y morado, y algunos por encima de los 80° con tonos amarillos. Salinas *et al.* (2012) reportaron tonalidades de 80.3° para maíces de grano azul, y 45.9° en granos rojo magenta, sin embargo h no representa el color observado de una manera visual (Mendoza-Mendoza *et al.*, 2017), en los granos

pigmentados por la presencia de h más claros en la cara del endospermo y el pericarpio (Salinas Moreno *et al.*, 2012). Se observó que las RC1F1 del genotipo uno el valor del h aumento, mientras que las retrocruzas del genotipo dos se notó una disminución (cuadro 11), resultado que tiene que ver con el cambio de tonalidades y la disminución del contenido de ANTO (cuadro 5 y figuras 3 y 5).

La pureza del color o C se relacionada con el índice de saturación del color, los colores puros presentan altos valores, por el contrario los colores mate o de menos pureza presentan valores bajos (Salinas *et al.*, 2012). Los valores de C para las medias de los tipos oscilo entre 10.61 y 35.19 (cuadro 11), con diferencias estadísticas ($p \leq 0.05$), los criollos y las RC1F1 fueron iguales, la crusa de los criollos con los donadores propicio el aumento del C (figura 3 y 5), pero disminuyo nuevamente en las RC1F1, también se notó una ligera disminución del croma en las RC1F1 15, 16 y 17 en comparación con su progenitor recurrente, y un ligero aumento en las retrocruzas del progenitor uno (cuadro 11). Los maíces azules que estudio Salinas Moreno *et al.* (2012) presentaron valores inferiores de C que los de rojo magenta, resultado contrario al aquí reportado en los criollos, por el contrario Mendoza-Mendoza *et al.* (2017) reportaron que las líneas con menos C fueron las que catalogo como de grano morado intenso y las de valores máximos de C fueron las de granos menos oscuros, resultado que tiene que ver con el encendido de los colores al encontrarse más saturado, este mismo resultado se puede observar en las retrocruzas 6, 7 y 8 donde se presentaron altos valores de cromaticidad (cuadro 11).

La concentración de los diferentes pigmentos que le brindan el color al grano, determinara el color de los diferentes productos que se elabore con ellos, se recomienda tomar los valores de color en harina de maíz para tener un valor más reproducible al mezclase de una manera homogénea las diferentes estructuras del grano y los pigmentos con los que cuente, esto porque los materiales que presentan carotenos en el endospermo y, antocianinas en el pericarpio y aleurona en general no mostraron tendencias hacia esa tonalidad.

Para el cálculo de la diferencia de color se utilizan los valores de la muestras menos los de la muestra a comparar (Jha, 2010). La fórmula CIEDE2000 proporciona un mecanismo mejorado para calcular estas diferencias de color (Sharma *et al.*, 2005). Existe casi nula información sobre la diferencia del color entre granos de maíz, el único registro que se encontró en la literatura fue el de Antuna-Grijalva *et al.* (2008), sin embargo utilizó la fórmula CIE76 la cual se ha demostrado tener menos eficacia en la detección de las diferencias de color (Sharma *et al.*, 2005). Las diferencias de color que se observaron entre criollos vs donadores, criollos vs RC0F1, criollos vs RC1F1, donadores vs RC0F1 y donadores vs RC1F1 fueron medias en base a la clasificación que se estableció (cuadro 12), de forma general la mayoría de las diferencias catalogadas como altas se obtuvieron al comparar el genotipo uno con sus donadores o algunas de sus retrocruzas, estos cambios radicales en la diferencia de color (figura 3 y 4) se deben directamente a la disminución de la acumulación de ANTO que sufrieron las diferentes retrocruzas del genotipo uno al cruzarse con materiales de colores diferentes, acumulación que fue menos afectada en las retrocruzas del genotipo dos (cuadro 5). Por su parte las diferencias mostradas como bajas muestran diferencias a simple vista (figura 3 y 4), de acuerdo a Mokrzycki y Tatol (2011) clasifica las diferencias de color de la siguiente manera:

$0 < \Delta E < 1$: no se nota la diferencia

$1 < \Delta E < 2$: solo un observador experimentado puede notar la diferencia

$2 < \Delta E < 3.5$: un observador inexperto también nota la diferencia

$3.5 < \Delta E < 5$: se nota una clara diferencia de color

$5 < \Delta E$: se perciben dos colores diferentes

Aunque la mayoría de las muestras presentan diferencias de color a simple vista, una variable cuantitativa hace más fácil su reproducibilidad que una cualitativa al mostrar sesgos al clasificar el color. CIEDE2000 es aplicable preferentemente en pequeñas diferencias de color, pero su uso en contrastes más amplios no confunde la variación de la precisión numérica (Sharma *et al.*, 2005).

Cuadro 12. Diferencias del color de grano de maíz en base a CIEDE2000.

GEN1	GEN2	L1	a1	b1	L2	a2	b2	ΔE_{2000}	DIF
1	3	41.670	5.420	7.050	84.857	3.183	32.407	39.350	A
1	6	41.670	5.420	7.050	43.273	16.507	10.803	9.596	M
1	12	41.670	5.420	7.050	55.267	3.090	10.883	14.260	M
3	5	84.857	3.183	32.407	43.273	16.507	10.803	39.794	A
3	12	84.857	3.183	32.407	55.267	3.090	10.883	25.448	M
1	4	41.670	5.420	7.050	72.947	11.893	41.877	33.297	A
1	7	41.670	5.420	7.050	63.303	9.410	25.650	23.936	M
1	13	41.670	5.420	7.050	43.070	6.530	10.893	3.104	B
4	7	72.947	11.893	41.877	63.303	9.410	25.650	10.060	M
4	13	72.947	11.893	41.877	43.070	6.530	10.893	30.691	A
1	5	41.670	5.420	7.050	74.150	2.967	29.353	32.607	A
1	8	41.670	5.420	7.050	43.563	10.970	8.253	5.702	B
1	14	41.670	5.420	7.050	53.923	6.693	12.457	12.679	M
5	8	74.150	2.967	29.353	43.563	10.970	8.253	32.191	A
5	14	74.150	2.967	29.353	53.923	6.693	12.457	20.050	M
2	3	68.587	0.163	12.333	84.857	3.183	32.407	15.516	M
2	9	68.587	0.163	12.333	70.640	4.110	17.857	5.697	B
2	15	68.587	0.163	12.333	50.643	1.400	10.093	16.034	M
3	9	84.857	3.183	32.407	70.640	4.110	17.857	12.382	M
3	15	84.857	3.183	32.407	50.643	1.400	10.093	29.496	A
2	4	68.587	0.163	12.333	72.947	11.893	41.877	15.258	M
2	10	68.587	0.163	12.333	56.157	0.907	13.543	10.652	M
2	16	68.587	0.163	12.333	50.677	2.300	11.147	16.116	M
4	10	72.947	11.893	41.877	56.157	0.907	13.543	19.649	M
4	16	72.947	11.893	41.877	50.677	2.300	11.147	23.997	M
2	5	68.587	0.163	12.333	74.150	2.967	29.353	9.997	M
2	11	68.587	0.163	12.333	51.063	2.970	9.687	16.045	M
2	17	68.587	0.163	12.333	51.003	2.150	10.097	15.828	M
5	11	74.150	2.967	29.353	51.063	2.970	9.687	22.350	M
5	17	74.150	2.967	29.353	51.003	2.150	10.097	22.176	M
	Media	64.004	4.081	19.633	57.636	5.672	17.000	19.465	
	σ	15.701	3.744	13.018	12.517	4.507	10.136	9.927	

GENO1: muestra; GENO2: valor contra el que se compara la muestra; L1,a1 y b1: valores de luminosidad y coordenadas a y b de la muestra; L2, a2 y b2: valores de luminosidad y coordenadas a y b del estándar contra el que se compara; DIF: diferencia (A:alta, M:media y B:baja).

Correlaciones

En la figura seis se reportan las correlaciones de *Pearson* que presentaron significancia ($p \leq 0.01$), los cuadros que no muestran círculos presentaron

($p > 0.01$), la intensidad del color y el tamaño del círculo son proporcionales a los coeficientes de correlación. Las ANTO se relacionaron negativamente con LEUT, ZEAX, L, b^* y C (figura 6). Las primeras dos correlaciones indican que a menos LEUT y ZEAX, más acumulación de ANTO se presentará, permitiendo que estos dos pigmentos de tipo carotenoide no fueran los más abundantes en los cuatro tipos de maíz analizados (figura 5), como normalmente lo son en los maíces de grano amarillo. Las siguientes tres correlaciones muestran que una alta concentración de ANTO disminuye los valores de L, b^* y C presentando granos con luminosidades más cercanas a cero, de baja tonalidad amarilla y poca saturación, Salinas-Moreno *et al.* (2012) encontraron también correlaciones negativas entre la L y el C con el contenido de ANTO, lo que indica que valores bajos de L y C presentan mayores contenidos de ANTO.

La variable TRIP mostro correlaciones fuertes con LISI, LEUT, ZEAX y a^* , moderadamente fuertes con BCRI y C, y moderadas con PERI, todas las anteriores positivas, y moderada pero negativa con h (figura 6). Las siete primeras correlaciones revelan que a más porcentaje de triptófano se incrementaran los valores y/o contenidos de estas variables en diferentes proporciones, Gutiérrez *et al.* (2014) reportan una correlación también fuerte y positiva entre triptófano y lisina, lo que indica que cuando uno de los dos aminoácidos incrementa su porcentaje el otro también lo hará.

El aumento del porcentaje de TRIP en base al porcentaje de PERI se debe a que están relacionados, Gómez *et al.* (1996) atribuyeron la disminución de TRIP en tortillas con respecto al maíz entero utilizado en su elaboración, por la pérdida de PERI en el proceso de nixtamalización, lo que indica que el aminoácido se encuentra presente en esta estructura del grano. El aumento de los carotenos en porción al porcentaje de TRIP se debe al incremento del aminoácido en las diferentes retrocruzas que involucran al donador amarillo. Por su parte los maíces con tonalidades rojas y de colores más puros fueron los de más porcentaje de TRIP, los genotipos con mejor contenido de TRIP presentaron tonos más cercanos a cero, lo que sugiere que en maíces más cercanos a colores morados

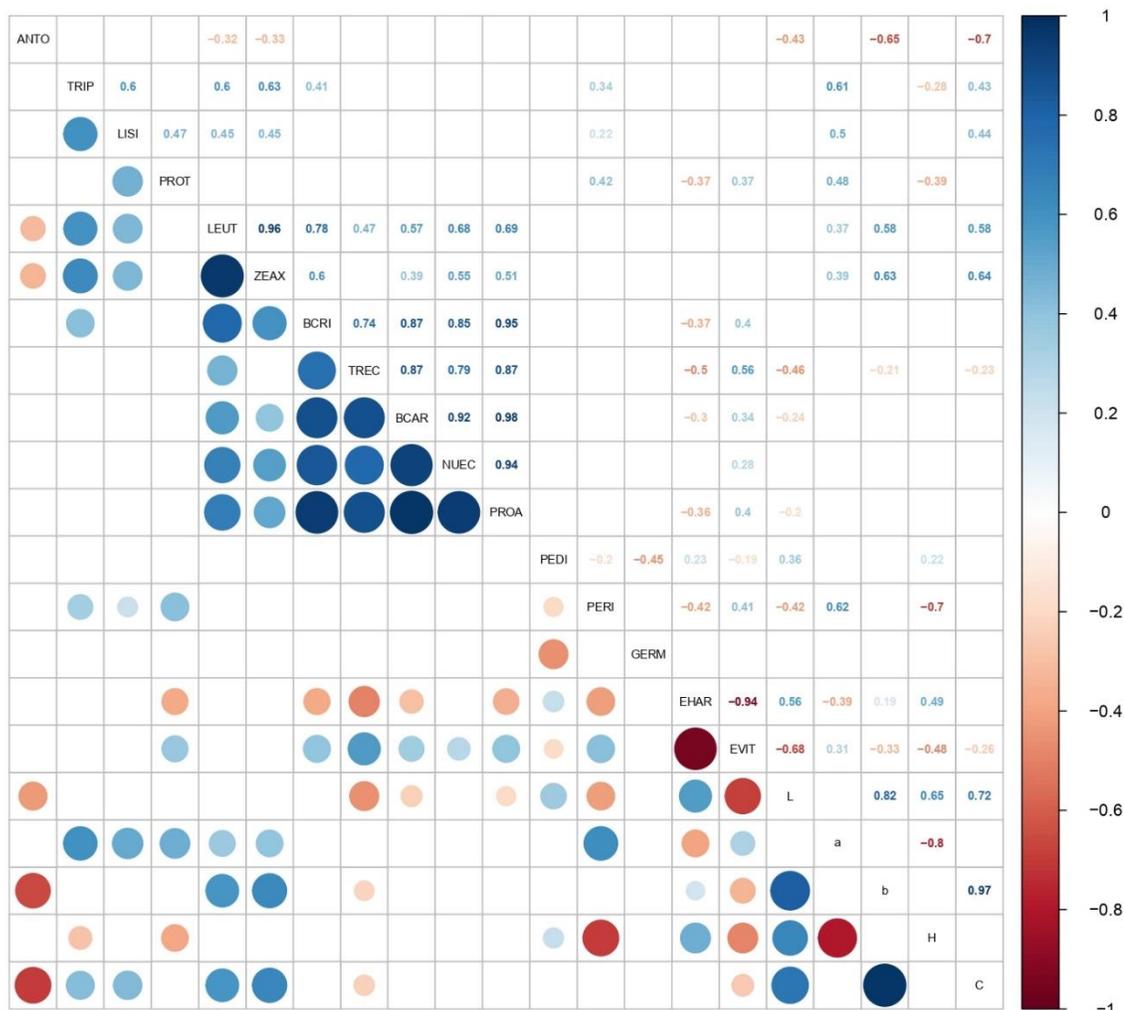


Figura 6. Correlación entre variables físicas y químicas de los diferentes genotipos.

es mejor su contenido de TRIP.

LISI correlacionó de manera positiva y moderadamente fuerte con PROT, LEUT, ZEAX, a* y C, y de forma moderada con PERI. Gutiérrez *et al.* (2014) encontró una correlación similar entre PROT y LISI, indicando que el incremento de LISI aumento la PROT, sin embargo hay que tomar en cuenta el índice de calidad. Los niveles de LISI también aumentaron en las retrocruzas donde se involucró al donador cuatro, propiciando la correlación donde se aumenta el contenido de LEUT y ZEAX. Los maíces con presencia de tonalidades rojas (a*) y con más C aumentaron sus niveles de lisina.

El porcentaje de PROT correlaciono moderadamente fuerte con PERI y a^* , y de forma moderada con EVIT, en los tres casos positivamente, con el EHAR presento una conducta moderada pero negativa (figura 6). Los maíces con alto porcentaje de PERI presentaron más PROT, resultado que concuerda con los de Vázquez *et al.* (2003). Los maíces de tonalidades más rojas exhibieron un aumento en el contenido de PROT, este incremento se debe a un incremento en la proporción de EVIT, de acuerdo con (Agama-Acevedo *et al.* (2013) los granos con más proporción de EVIT presentan más PROT que los granos con mayores porciones de EHAR.

De forma general todos los carotenoides se correlacionaron de manera positiva con formas de moderadamente fuerte a muy fuertes, correlaciones positivas entre la mayoría de las combinaciones han sido reportadas con anterioridad en maíces PROA (Muzhingí *et al.*, 2016; Suwarno *et al.*, 2019; Suwarno *et al.*, 2014), el único arreglo de todos los carotenos que no presento significancia ($p \leq 0.01$) en la correlación (figura 6) fue ZEAX y TREC, sin embargo correlaciones positivas y significativas entre estos dos carotenos se han reportado antes (Muzhingí *et al.*, 2016; Suwarno *et al.*, 2014). LEUT y ZEAX también correlacionaron de una forma fuerte con b^* y el C, y moderadamente fuerte con a^* , lo que indica que maíces con más contenido de estos dos carotenos presentan un aumento en los valores de estas variables, reduciendo así el contenido de ANTO en los genotipos con esta combinación de resultados, caso contrario encontró Lozano-Alejo *et al.* (2007) quienes reportan correlaciones negativas entre ZEAX y, el valor de b^* y C. El caroteno BCRI presentó correlaciones moderadamente fuertes con el EHAR (negativamente) y con el EVIT (positivamente), sugiriendo que un alto porcentaje de EVIT mejora el contenido de BCRI, este resultado se debe a que el 75% de los carotenos se presentan en el endospermo vítreo (García-Lara *et al.*, 2019), resultado que da esta correlación.

El isómero TREC exhibió correlaciones moderadamente fuertes y negativas con el EHAR y luminosidad, negativas pero moderadas con b^* y C, y fuerte con EVIT. La correlación con el EVIT sugiere que, a más cantidad de este tipo de

endospermo la cantidad del caroteno se incrementara, caso contrario pasa con el EHAR. Los maíces que presentan valores más cercanos de cero en luminosidad, b^* y croma aumentaron la cantidad del isómero. Los BCAR y la PROA indicaron correlaciones moderadamente fuertes con el EHAR (negativamente) y con el EVIT (positivamente), y de manera moderada pero negativa con luminosidad, en el primer caso el aumento de ambos componentes se debe a la presencia de estas moléculas principalmente en el EVIT, este mismo caso paso con NUEC, y de manera viceversa en el endospermo harinoso. En general la correlación negativa de los carotenos promotores de PROA con L permitiría seleccionar granos con más presencia de estos compuestos y con alto contenido de ANTO, ya que los bajos rangos de L se correlacionan con la acumulación de estos pigmentos, dando soporte a la propuesta planteada anteriormente de generar materiales que conjunten los beneficios de las antocianinas y los carotenos.

La estructura del PEDI mostro correlaciones moderadas con PERI y EVIT (negativas), y con el EHAR y h (positivas), asimismo indico una correlación moderadamente fuerte pero negativa con el GERM y positivamente con L. El aumento del porcentaje del PEDI disminuye la cantidad de PERI y EVIT, contrario a esto el EHAR se aumenta conforme aumenta el pedicelo. Vázquez *et al.* (2003) reportaron una correlación positiva entre el PEDI y el PERI, la discrepancia en esta correlación posiblemente se debe a menos muestras analizadas. Maíces de dureza suave (mas harinosos) también han presentado incremento del porcentaje de PEDI (Salinas-Moreno y Aguilar-Modesto, 2010). Las correlaciones que tienen que ver con los valores del color (h y L) tienden a aumentar sus rangos al presentar los granos h más claros en el PEDI (Salinas *et al.*, 2012), y el PEDI al carecer de pigmentos produce un aumento de estas dos variables.

La variable PERI formo correlaciones moderadamente fuertes con el EHAR, L y EVIT, las primeras dos fueron negativas y la última positiva, al mismo tiempo también presento correlaciones fuertes con a^* (positivamente) y con h (negativamente). Los maíces con menos porcentaje de EHAR presentaron un

incremento en el porcentaje de PERI, Vázquez *et al.* (2003) también reportaron una correlación negativa entre estas dos variables. Los maíces con valores más bajos de L y h, presentaron niveles más altos de PERI, la correlación positiva con el valor a^* muestra que el incremento del porcentaje de PERI se relaciona con una tendencia hacia el rojo, lo que explica la presencia de antocianinas en el pericarpio de los granos magenta.

El EHAR produjo correlaciones del siguiente tipo muy fuerte pero negativa con EVIR, fuerte y positiva con L, moderadamente fuertes con a^* (negativa) y con h (positiva), y moderada con la coordenada b^* . La disminución de la parte harinosa con respecto a la córnea se debe a que los maíces analizados son muy duros, este mismo resultado fue informado por Salinas-Moreno y Aguilar-Modesto (2010). Las correlaciones positivas con los parámetros de L, h y b^* , indican que el incremento de la fracción harinosa del endospermo producirá granos más blancos y con tonalidades que tiendan hacia el color amarillo, mientras que con la disminución de a^* tenderán los granos hacia una coloración rojiza pero más tenues, al ser una correlación negativa.

Las correlaciones entre L, b^* , h y C (figura 6), muestran que están relacionadas con el porcentaje de EVIT de manera negativa, mientras que a^* lo hace positivamente. Las primeras tres correlaciones indican que con altos niveles de este tipo de endospermo los maíces mostraran tonalidades más oscuras, colores amarillos con valores cercanos a cero, y coloraciones más tenues. Caso contrario sucedió con la variable a^* donde las tonalidades sugieren el aumento de los colores rojos. Para el caso de L presento únicamente correlaciones positivas de fuertes a muy fuertes, lo que sugiere que los maíces con tonalidades más claras, presentan coloraciones que tienden hacia el amarillo y con colores más puros. La coordenada a^* , correlacionó muy fuertemente, pero de manera negativa con el h, lo que explica la apreciación de colores rojos en los granos, cuando disminuyen los grados de h acercándolos a tonalidades moradas. El incremento de los valores de b^* propicia el incremento de colores más puros, como lo muestra la correlación entre b^* y C.

Caracteres Vegetativos y Agronómicos

En el análisis de varianza se presentaron diferencias significativas ($p \leq 0.01$) en el ACAT (cuadro 13), para tipos como para genotipos dentro de tipos, por la diferencia entre los materiales evaluados, el alto coeficiente de variación en la variable se debe a que no presenta una distribución normal. Los criollos, donadores, RC0F1 y RC1F1 fueron estadísticamente iguales ($p \leq 0.01$), el porcentaje más bajo de ACAT lo presentó el tipo testigos (cuadro 15), a pesar de ser iguales estadísticamente los tipos de interés, se muestra una disminución del porcentaje de acame de 37.6% en las RC1F1 en comparación con los criollos, y del 21.5% entre RC1F1 con RC0F1, Ramírez *et al.* (2003) reportan también una disminución del porcentaje de acame entre las RC1F1 y, sus RC0F1 y progenitores recurrentes, lo que atribuyen a la disminución de ALMZ, sin embargo nuestros resultados indican que la ALMZ entre criollos y RC1F1 fueron iguales estadísticamente, la disminución del ACAT se debe al incremento del diámetro del tallo, variable que no se tomó, pero se apreció en campo. También se presentaron las RC1F1 (13 y 14) que mostraron menos porcentaje de acame en comparación con su progenitor recurrente.

En ALMZ y ALPT se presentaron diferencias significativas para los tipos y para genotipos dentro de tipos (cuadro 13), diferencias que son notables por la variación de los materiales empleados en las diferentes cruzas. La prueba de medias indica que las RC1F1 y los criollos fueron estadísticamente iguales, el tipo criollos presentó los genotipos más altos y los donadores fueron los de menor porte. A pesar de este agrupamiento estadístico entre criollos y RC1F1 se nota una discrepancia entre las medias de los genotipos que conforman estos dos tipos, lo que resulta en una disminución en promedio del 6.5% de ALPT y 5.5% en ALMZ en las RC1F1 en comparación con sus donadores recurrentes. Resultados similares sobre la disminución de la ALMZ y ALPT en maíces criollos retrocruzados (3/4 criollo, 1/4 mejorado) se han reportado con anterioridad (Márquez *et al.*, 1999; Márquez *et al.*, 2000; Ramírez *et al.*, 2003; Sahagún *et al.*, 2008).

Cuadro 13. Cuadrados medios y significancias del análisis de varianza para caracteres vegetativos y agronómicos.

FV	GL	ACAR %	ACAT %	ALMZ cm	ALPT cm	FLFE d	FLMA d	ASFL d
REP	2	16.57 ^{ns}	26.12 ^{ns}	169.13 ^{ns}	46.86 ^{ns}	1.51 ^{ns}	0.60 ^{ns}	0.21 ^{ns}
TIPO	4	16.46 ^{ns}	208.67 ^{**}	12021.63 ^{**}	11762.54 ^{**}	63.76 ^{**}	54.44 ^{**}	7.02 ^{**}
G/T	15	24.55 ^{ns}	81.82 ^{**}	955.61 ^{**}	1086.62 ^{**}	35.11 ^{**}	19.92 ^{**}	3.76 ^{**}
ER	38	13.36	27.41	123.73	297.55	1.02	0.86	0.28
CV %		142.32	63.09	7.74	6.73	1.68	1.55	146.06

FV: fuentes de variación; REP: repetición; G/T: genotipos(tipos); ER: error; GL: grados de libertad; ACAR: acame de raíz; ACAT: acame de tallo; ALMZ: altura de mazorca; ALPT: altura de planta; FLFE: floración femenina; FLMA: floración masculina; ASFL: Asincronía floral; **: significativo al 0.01 de probabilidad; ^{ns}: no significativo.

Cuadro 14. Cuadrados medios y significancias del análisis de varianza para caracteres agronómicos.

FV	GL	MAPA	REND t ha ⁻¹
REP	2	7.90 ^{ns}	0.22 ^{ns}
TIPO	4	247.05 ^{**}	50.29 ^{**}
G/T	13	66.47 ^{**}	5.99 ^{**}
ER	34	16.35	0.34
CV %		10.46	8.30

FV: fuentes de variación; REP: repetición; G/T: genotipos(tipos); ER: error; GL: grados de libertad; MAPA: número de mazorcas por parcela; REND: rendimiento; **: significativo al 0.01 de probabilidad; ^{ns}: no significativo.

Se presentaron diferencias significativas para la FLMA y FLFE ($p \leq 0.01$), dentro de los tipos y los genotipos anidados en tipos (cuadro 13), el tipo testigos fue el grupo más precoz (cuadro 15), al ser materiales mejorados y estables, los más tardíos fueron los del tipo criollo, a pesar de ser los más tardíos ambos materiales se consideran como maíces intermedios de acuerdo al número de días transcurridos desde la siembra hasta la fecha de floración masculina y femenina en su área de adaptación (SNICS-SAGARPA, 2014). Se presentaron RC0F1 con una disminución de los días a FLMA y FLFE, con resultados similares a los de testigos. Espinosa *et al.* (1997) y Espinosa *et al.* (2000) lograron disminuir en algunas cruzas el número de días a floración masculina en cruzas de variedades nativas de valles altos con híbridos de esa misma adaptación.

Las RC1F1 presentaron una disminución en el número de días a FLMA (3.61 días) y FLFE (2.11 días) en comparación con sus progenitores recurrentes (cuadro 15), con excepción del genotipo 15 que presentó un aumento en el número de días a floración. El método de retrocruza limitada también ha ayudado a incrementar la precocidad masculina y femenina en ciertas razas de maíz en estado RC1F7 (Barrera *et al.*, 2005).

La ASFLI mostró diferencias significativas ($p \leq 0.01$) en los tipos y genotipos dentro de tipos (cuadro 13), en general el desfase por notorio por ASFL se presentó en el tipo donadores (cuadro 15), este fenómeno se atribuye a la falta de adaptación de los materiales donantes al clima de evaluación (figura 7), de acuerdo a Paliwal *et al.* (2001) las temperaturas que no corresponden al rango de adaptación del genotipo producen efectos negativos sobre él, lo que origina que no se presentara la formación de grano en estos materiales. Los tipos que presentaron medias con menos ASFL fueron los testigos y las RC1F1 (cuadro 15), al ser estadísticamente iguales. La ASFL es una característica indeseable en los materiales modernos donde se busca un comportamiento homogéneo en las variedades, al disminuir este carácter se propician mejores características en las poblaciones.

La variable MAPA muestra diferencias significativas ($p \leq 0.01$) en los tipos y genotipos anidados en tipos, indicando que no todos los genotipos producen la

Cuadro 15. Medias de caracteres vegetativos y agronómicos, de los diferentes tipos y genotipos evaluados.

Genotipo TIPO	ACAR	ACAT	ALMZ	ALPT	FLFE	FLMA	ASFL
1 Criollo	2.78	13.20	160.50	277.83	63.33	63.67	-0.33
2 Criollo	3.47	13.89	186.17	286.83	63.67	62.00	1.67
Promedio	3.13 a	13.54 a	173.33 a	282.33 a	63.5 a	62.83 a	0.67 b
3 Donador	0.69 *	18.06	67.50 *	152.67 *	63.67	61.00	2.67
4 Donador	0.00 *	0.69 *	135.33	244.50 *	52.00 *	53.00 *	-1.00 *
5 Donador	6.94	3.47 *	65.83 *	190.00 *	67.67	63.67	4.00
Promedio	2.55 a	7.41 a	89.556 d	195.72 c	61.11 b	59.22 c	1.89 a
6 RC0F1	0.69 *	15.97	172.83	284.17	60.00	59.67	0.33
7 RC0F1	2.08	6.94	153.33	260.50	57.67 *	57.33 *	0.33
8 RC0F1	2.08	6.25 *	154.67	272.17	58.00 *	58.67 *	-0.67 *
9 RC0F1	5.56	15.97	169.83	288.83	61.00	60.33	0.67
10 RC0F1	2.08	6.25 *	148.67	255.83	56.00 *	56.00 *	0.00 *
11 RC0F1	3.47	13.19	139.67	261.67	60.67	60.00	0.67
Promedio	2.55 a	10.76 a	156.50 b	270.53 a	58.89 c	59.22 c	0.22 bc
12 RC1F1	0.00 *	12.50	164.67	281.00	60.67	61.33	-0.67 *
13 RC1F1	0.69 *	2.08 *	160.17	268.67	60.00	60.67	-0.67 *
14 RC1F1	0.69 *	4.86 *	153.50	269.17	62.33	62.33	0.00 *
15 RC1F1	2.78	9.03	157.33	270.83	65.00	65.00	0.00 *
16 RC1F1	6.94	15.28	178.33	266.83	61.00	60.00	1.00
17 RC1F1	9.72	6.94	159.17	269.00	59.33	59.33	0.00 *
Promedio	3.47 a	8.45 a	162.19 ab	270.92 a	61.39 b	59.22 b	-0.06 c
18 Híbrido	0.00 *	0.00 *	122.33 *	237.17 *	55.33 *	56.00 *	-0.67 *
19 Híbrido	0.00 *	0.69 *	106.83 *	235.17 *	56.33 *	56.33 *	0.00 *
20 Híbrido	0.69 *	0.69 *	116.33 *	246.83	57.67 *	57.67 *	0.00 *
Promedio	0.23 a	0.46 b	115.17 c	239.72 b	56.44 d	56.67 d	-0.22 c
Media	2.56	8.29	143.65	255.98	60.06	59.70	0.36
Tukey	4.68	6.704	14.24	22.09	1.30	1.19	0.69
EE	0.52	0.94	4.37	4.60	0.48	0.39	0.16

Medias con letras iguales son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05); ACAR: acame de raíz; ACAT: acame de tallo; ALMZ: altura de mazorca; ALPT; altura de planta; FLFE: floración femenina; FLMA: floración masculina; ASFL: Asincronía floral; * valores menores a la media menos dos veces el error estándar; EE: error estándar.

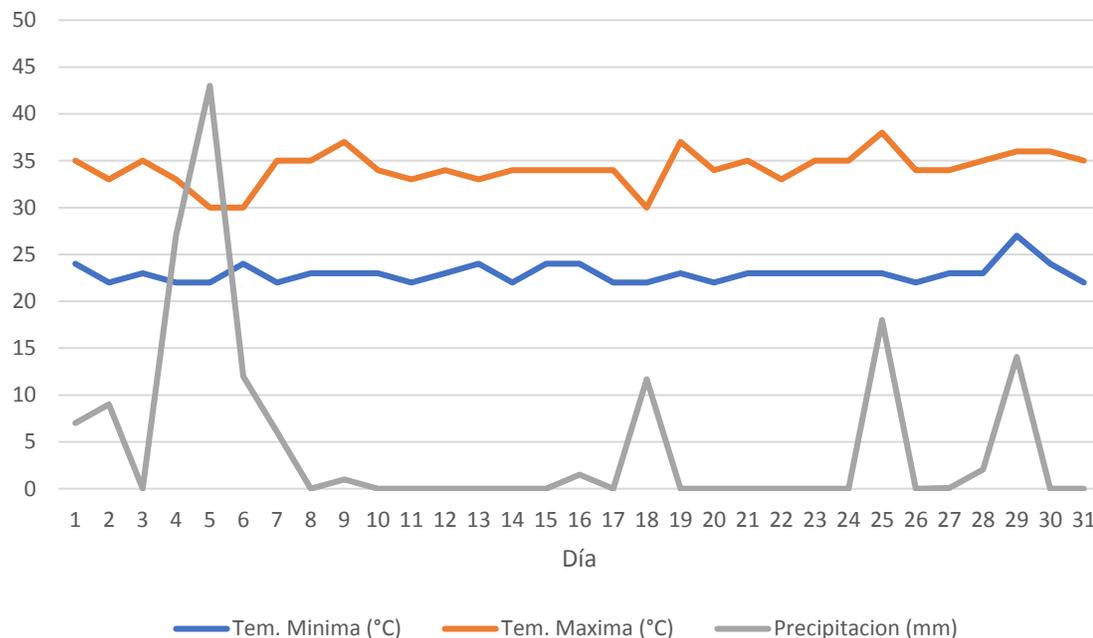


Figura 7. Reporte meteorológico de agosto de 2018 de la estación experimental de Agua Fría

misma cantidad de mazorcas. La mejor producción de mazorcas se dio en el tipo donadores y testigos, mientras que criollos, RC0F1 y RC1F1 fueron estadísticamente iguales ($p \leq 0.05$) pero con menos número de mazorcas, lo anterior se debe a que los primeros dos tipos son materiales mejorados que carecen de plantas jorras. También se observa una diferencia numérica entre los tipos con menos número de mazorcas, en promedio las RC0F1 produjeron tres mazorcas más que los criollos, bajando el número de plantas jorras, pero este vuelve a aumentar al realizar la primer retrocruza (cuadro 16).

A pesar de este resultado por tipos, se observan genotipos (7, 8 y 13) que producen un número de mazorcas por encima de la media más dos veces el error estándar, resultado que se relaciona con el aumento de rendimiento (cuadro 16) y la disminución de los porcentajes de acame de raíz y tallo (cuadro 15). Otra explicación al bajo número de mazorcas en las cruza y retrocruzas son la presencia de altas temperaturas provocadas por la canícula que coincidieron con la floración de todos los materiales, disminuyendo la viabilidad del polen y por ende la disminución de fertilización de las mazorcas (figura 7). Paliwal *et al.*, (2001) mencionan que ambientes cálidos y secos, deshidratan los estambres de-

Cuadro 16. Medias de caracteres agronómicos, de los diferentes tipos y genotipos evaluados.

Genotipo	Tipo	MAPA	REND
1	Criollo	39.67	6.28
2	Criollo	29.00	3.97
	Promedio	34.33	5.13
4	Donador	47.00 *	9.24 *
	Promedio	47.00	9.24
6	RC0F1	36.33	7.85 *
7	RC0F1	46.67 *	8.57 *
8	RC0F1	41.00 *	8.04 *
9	RC0F1	36.00	5.44
10	RC0F1	33.67	6.19
11	RC0F1	32.00	4.70
	Promedio	37.61	6.80
12	RC1F1	38.33	6.66
13	RC1F1	41.67 *	7.44
14	RC1F1	31.67	5.15
15	RC1F1	31.00	4.06
16	RC1F1	35.00	4.95
17	RC1F1	38.00	5.65
	Promedio	35.94	5.65
18	Hibrido	46.33 *	11.30 *
19	Hibrido	46.00 *	9.35 *
20	Hibrido	46.33 *	11.82 *
	Promedio	46.22	10.82
	Media	38.65	7.04
	Tukey	6.26	0.90
	EE	0.92	0.32

Medias con letras iguales son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05); MAPA: mazorcas por parcela; REND: rendimiento; * valores superiores a la media más dos veces el error estándar; EE: error estándar.

-teniendo el crecimiento del tubo polínico y la fertilización.

Se presentaron diferencias significativas ($p \leq 0.01$) para el rendimiento entre tipos y genotipos dentro de tipos (cuadro 14), por la diferencia marcada de los materiales, y posiblemente a la heterosis y heterosis residual que se produjo en las diferentes cruza y retrocruza. El mejor rendimiento lo presentó el tipo testigos por ser híbridos, presentando en su mayoría componentes de rendimiento deseables en comparación con los criollos y materiales segregantes (cuadro 18). Aunque no se tienen los datos de todos los donadores, se puede realizar una comparación de los progenitores recurrentes, su cruza original

(RC0F1) y sus retrocruzas. El tipo RC0F1 presento una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) de 33 y 20% más rendimiento en comparación con los criollos y RC1F1 respectivamente, Ramírez *et al.* (2003) reportaron un comportamiento similar donde las RC0F1 mostraron un más rendimiento en comparación con la media de los padres, Hameed *et al.* (1994) también informaron que la RC0F1 supero el rendimiento de la RC1F1.

Las RC1F1 y los criollos presentaron un rendimiento estadísticamente igual, aunque el primero grupo supero numéricamente en 10% al segundo, lo que significa media tonelada más en producción de grano, este resultado indica que se presentó el fenómeno de heterosis residual en la mayoría de las RC1F1 con excepción del genotipo 14, Márquez (1990) informo que la heterosis para la variable rendimiento en retrocruzas se presenta de forma negativa cuando la dominancia es parcial. La presencia de heterosis residual da pauta a mejorar las poblaciones que se han formado, a fin de avanzarlas filialmente más generaciones con el propósito de recombinar y aumentar los alelos favorables.

Con base en estos resultados, se observa que en general las medias de las RC1F1 del criollo uno, presentan un mejor rendimiento que las que involucran al criollo dos, ratificando aún más las propuestas anteriores sobre la formación de patrones heteróticos que involucren a los maíces con antocianinas en el pericarpio y aleurona como hembra, al mostrar un mejor rendimiento se obtendría más cantidad de semilla, pero se deben hacer las cruzas de prueba para observar la presencia de heterosis entre las diferentes retrocruzas. La introducción de germoplasma diferente al de la región de interés, como aquí se hizo al utilizar dos donadores subtropicales, abre la posibilidad de utilizar nuevos patrones heteróticos que ayuden a mejorar el rendimiento y otros caracteres de interés (Hernández y Esquivel, 2004).

Caracteres de la Mazorca

El análisis de varianza realizado a las diferentes variables tomadas a la mazorca mostro diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en las repeticiones para LOMA y PEGR,

en PEGR también se presentaron diferencias, pero con diferente nivel de significancia ($p \leq 0.01$). Para los tipos y genotipos anidados en tipos la mayoría de las variables mostraron diferencias significativas ($p \leq 0.01$), con excepción de PEGG que no mostro diferencias significativas en los genotipos anidados en tipos (cuadro 17). Las diferencias mostradas se deben a la variabilidad de los materiales.

El mejor PMAZ lo obtuvo el tipo testigos, por ser materiales mejorados (híbridos). Al igual que en REND, el tipo RC0F1 presento pesos superiores de mazorca de 18.9% y 12.8%, en los tipos criollo y RC1F1 respectivamente, de forma significativa ($p \leq 0.05$), sugiriendo la presencia de heterosis entre las cruzas. Estos dos últimos tipos mostraron ser estadísticamente iguales, pero con una diferencia numérica del 16.5%, superando las RC1F1 a los criollos, lo que apunta a la presencia de heterosis residual en las RC1F1. Zamudio-González *et al.* (2015) encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.01$) entre los pesos de mazorca de 11 genotipos de maíz, sin embargo los cinco tipos aquí estudiados mostraron medias superiores a las reportadas por estos autores. Las medias de los genotipos que presentaron valores por encima de la media más dos veces el error estándar, fueron los genotipos con más REND, lo que indica que el PMAZ mejora el REND de grano, Martínez-Vidal *et al.* (2001) mencionan que la variable PMAZ es de las que más contribuye a explicar el rendimiento.

La diferencia entre repeticiones para LOMA, se debe a que las poblaciones no son uniformes, exceptuando a los donadores y testigos, o a la interacción de la variable con el ambiente; de acuerdo a Zamudio-González *et al.* (2015) los factores genéticos y agronómicos sobre el cultivo, afectan la longitud de mazorca. La LOMA varió en los tipos de 15.10 a 16.54 cm y el NGRH oscilo entre 28.80 y 32.56 (cuadro 18), Martínez *at al.* (2010) indican que la longitud de la mazorca y el número de granos por hilera están altamente correlacionados.

Pecina *et al.* (2011) reportaron valores más bajos en las medias de LOMA y NGRH en maíces del trópico seco evaluados en ambientes contrastantes. Los tipos criollos, RC0F1 y RC1F1 presentaron las mazorcas más largas, con una

longitud estadísticamente similar ($p \leq 0.05$), y por ende el mejor NGRH, en esta última variable los tipos donadores fueron estadísticamente iguales ($p \leq 0.05$) que los tres tipos antes mencionados, este resultado se debe a la presencia de granos más chicos permitiendo acomodar más granos en menos espacio, esto se corrobora con el PEGC al quedar catalogados como maíces de grano pequeño (Salinas y Vázquez, 2006).

De forma general todas las RC0F1 y RC1F1 donde intervino el genotipo uno redujeron la LOMA, siendo más notorio en las RC0F1, porque en las RC1F1 los tamaños de mazorca vuelven a aumentar pero sin alcanzar la media del criollo, de acuerdo a Ramírez *et al.* (2003) la retrocruza tiende a parecerse al progenitor recurrente. Caso contrario sucedió con las RC0F1 del genotipo dos, donde se incrementó el tamaño de la mazorca y se redujo en RC1F1. Respecto al DIMA, las mazorcas más gruesas corresponden a los testigos (4.92 cm) que presentan el más NUHI, mientras que las más delgadas correspondieron al tipo criollos (3.97 cm) con el menos NUHI (cuadro 18).

Los caracteres DIMA y NUHI presentan una alta correlación positiva al medir el mismo carácter (Martínez *et al.*, 2010). El tipo RC0F1 presentó más DIMA que el tipo criollos, lo que indica que las mazorcas fueron 10% más gruesas, e incrementaron en promedio 1.7 más hileras (cuadro 18), por su parte los tipos criollos y RC1F1 fueron estadísticamente similares ($p \leq 0.05$), sin embargo, hay una diferencia numérica del incremento del DIMA en 4% en las RC1F1 sobre los criollos, representando el incremento promedio de 0.61 hileras. Hernández y Esquivel (2004) al cruzar diferentes razas con líneas elite reportaron en promedio diámetros y números de hileras superiores a las que presentan los materiales aquí evaluados, sin embargo no muestran los datos de los progenitores para poder realizar una comparación más sustancial. Estas dos características explican el incremento del rendimiento en las RC0F1 y su disminución al pasar a RC1F1, siendo las variables que expresan la heterosis y heterosis residual. La selección de familias en estado RC1F2 con un más NUHI favorecerá el incremento del REND más que la selección de mazorcas grandes.

Cuadro 17. Cuadrados medios y significancias de los análisis de varianza para las variables de mazorca.

FV	GL	PMAZ g	LOMA cm	DIMA cm	NUHI	NGRH	NGRM	PODE %	PEGR g	PCGR g	DIOL cm
REP	2	134.15 ^{ns}	0.77 [*]	0.02 ^{ns}	0.32 ^{ns}	1.25 ^{ns}	687.96 ^{ns}	4.16 ^{**}	126.75 [*]	2.26 ^{ns}	0.022 ^{ns}
TIPO	4	3886.37 ^{**}	4.15 ^{**}	1.23 ^{**}	31.66 ^{**}	12.48 ^{**}	28526.77 ^{**}	4.76 ^{**}	2852.39 ^{**}	18.68 ^{**}	0.440 ^{**}
G/T	13	400.37 ^{**}	1.47 ^{**}	0.09 ^{**}	2.19 ^{**}	11.28 ^{**}	2718.75 ^{**}	2.43 ^{**}	280.78 ^{**}	5.43 ^{ns}	0.057 ^{**}
ER	34	52.73	0.20	0.02	0.16	1.50	367.32	0.81	36.59	4.91	0.012
CV %		4.84	2.82	3.29	3.30	3.91	4.94	1.04	4.70	6.58	4.49

FV: fuentes de variación; REP: repeticiones; G/T: genotipos(tipos); ER: error; CV: coeficiente de variación; GL: grados de libertad; PMAZ: peso de mazorca; LOMA: longitud de mazorca; DIMA: diámetro de mazorca; NUHI: número de hileras por mazorca; NGRH: número de granos por hilera; NGRM: número de granos por mazorca; PODE: porcentaje de desgrane; PEGR: peso de grano por mazorca; PCGR: peso de cien granos; DIOL: diámetro de olote; *: significativo al 0.05 de probabilidad; **: significativo al 0.01 de probabilidad; ns: no significativo.

Cuadro 18. Comparación de medias para las variables tomadas a la mazorca de los diferentes genotipos.

Genotipo	Tipo	PMAZ	LOMA	DIMA	NUHI	NGRH	NGRM	IDGR	PEGR	DIOL	PECG
1	Criollo	138.28	17.61*	3.96	11.07	32.47*	359.93	85.27	118.02	2.07	34.09
2	Criollo	120.39	15.47	3.99	10.20	29.17	299.60	85.03	102.55	2.22	30.55
	Promedio	129.33	c 16.54a	3.97	c 10.63	d 30.81a	329.77	c 85.15ab	110.28	c 2.15	c 32.32 ab
4	Donador	151.01	15.26	4.58*	13.87*	28.80	399.40	84.24	126.74	2.73*	30.30
	Promedio	151.01	b 15.26 b	4.57 b	13.86 b	28.80 b	399.40 b	84.24 b	126.73 b	2.73a	30.30 b
6	RC0F1	166.59*	16.31	4.44*	12.60	34.17*	429.40*	86.77*	144.54*	2.40	34.41*
7	RC0F1	155.89*	16.41	4.37	12.93*	31.37	404.87*	84.98	132.53	2.56*	34.13
8	RC0F1	167.05*	16.75*	4.57*	13.33*	30.90	409.80*	86.65*	144.92*	2.47	35.92*
9	RC0F1	142.00	16.17	4.32	11.60	34.27*	398.20	87.93*	124.78	2.30	33.14
10	RC0F1	151.66	16.89*	4.21	12.27	34.10*	415.07*	86.09	130.76	2.42	34.02
11	RC0F1	139.53	16.18	4.35	11.27	30.57	342.27	86.59*	120.56	2.50*	35.12
	Promedio	153.78	b 16.45a	4.37 b	12.33	c 32.56a	399.93 b	86.50a	133.01 b	2.44 b	34.46 ab
12	RC1F1	142.85	16.59*	4.20	11.40	34.00*	390.27	86.89*	124.39	2.24	32.86
13	RC1F1	143.07	17.12*	4.11	11.60	30.90	358.07	85.50	122.58	2.28	35.02*
14	RC1F1	145.04	17.59*	4.08	12.60	30.43	381.73	85.67	124.46	2.36	34.99*
15	RC1F1	123.30	15.48	4.14	10.47	29.43	308.40	86.04	106.08	2.37	35.42*
16	RC1F1	128.04	15.97	3.97	10.47	31.37	329.00	85.54	109.56	2.29	33.05
17	RC1F1	135.19	16.09	4.22	10.93	30.10	330.27	85.57	115.77	2.45	35.12*
	Promedio	136.24	c 16.47a	4.12	c 11.24	d 31.03a	349.62	c 85.87a	117.13	c 2.33 b	34.41 a
18	Hibrido	186.86*	14.59	5.00*	15.80*	29.47	462.20*	84.00	157.18*	2.73*	32.52
19	Hibrido	164.89*	15.64	4.51*	14.00*	34.20*	477.80*	86.98*	143.44*	2.45	31.01
20	Hibrido	194.80*	15.08	5.27*	16.20*	29.53	477.60*	85.71	166.86*	3.03*	34.52*
	Promedio	182.18a	15.10 b	4.92a	15.33a	31.06a	472.53a	85.57ab	155.82a	2.74a	32.68ab
	Media	149.80	16.17	4.35	12.36	31.40	387.43	85.86	128.65	2.44	33.68
	Tukey	11.23	0.70	0.22	0.63	1.90	29.66	1.39	9.36	0.16	3.43
	EE	2.82	0.12	0.04	0.23	0.29	7.55	0.17	2.40	0.03	0.33

Medias con letras iguales son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05); PMAZ: peso de mazorca; LOMA: longitud de mazorca; DIMA: diámetro de mazorca; NUHI: número de hileras por mazorca; NGRH: número de granos por hilera; NGRM: número de granos por mazorca; PODE: porcentaje de desgrane; PEGR: peso de grano por mazorca; PCGR: peso de cien granos; DIOL: diámetro de olote; * valores superiores a la media más dos veces el error estándar; EE: error estándar.

El incremento y disminución de las cuatro variables anteriores fueron las responsables directas de afectar el NGRM y el PEGR. El NGRM presenta correlaciones significativas de moderadamente fuertes a muy fuertes con LOMA, DIMA, NUHI y NGRH (Martínez *et al.*, 2010), sin embargo la que más incremento el número de granos para este caso fue el incremento del NUHI. Estadísticamente el tipo RC0F1 fue superior a los tipos criollos y RC1F1, mientras que estos últimos dos tipos fueron iguales ($p \leq 0.05$) para las variables NGRM y PEGR, a pesar de ser semejantes estadísticamente estos tipos las RC1F1 presentaron en promedio 19.8 y 6.85 g más por mazorca que los criollos, permitiendo un mejor REND de las RC1F1 sobre los criollos. A pesar de esto, la mayoría de los materiales evaluados presento medias superiores en NGRM que los resultados de Pecina *et al.* (2011) en maíces del trópico seco.

El IDGR presento diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.01$) entre las repeticiones, esta variable es afectada por la interacción genotipo ambiente (Pecina *et al.*, 2011), generando diferencias entre las repeticiones. El tipo donadores presento el porcentaje más bajo de IDGR, mientras que las RC0F1 obtuvieron el mejor IDGR (cuadro 16) al presentar granos más grandes que los donadores, los IDGR mayores a 85% en maíz influyen de manera positiva en el en el REND (Pecina *et al.*, 2011), los resultados sugieren que en general todas las RC1F1 cumplen con este parámetro y es superior al de los testigos. Los DIOL fueron estadísticamente iguales ($P \leq 0.01$) en las RC0F1 y RC1F1 con diferencias sobre el tipo criollo de 16 y 8% más DIOL respectivamente, el incremento del diámetro se relaciona con el incremento del NUHI.

A diferencia del P100 de semillas netamente de los diferentes tipos (semilla original), en el ensayo de rendimiento se produjeron polinizaciones libres en todos los materiales modificando los datos sobre PEGG. Los resultados en general mostraron menos PEGG, pero con menos variabilidad entre los datos, el mejor P100 se debe a que los materiales se produjeron en el ciclo de invierno donde se alarga el ciclo del cultivo por la presencia de temperaturas más frescas durante un periodo más largo de acumulación de fotosintatos, Pecina *et al.*,

(2011) mencionan que esta variable también es afectada por el ambiente. Los resultados de PEGG presentaron más repeticiones acercando los resultados a valores más reales.

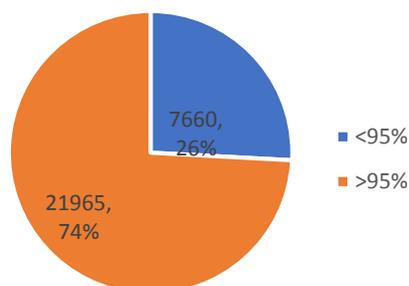
Los tipos con los mejores PEGG de acuerdo a la prueba de medias lo mostraron RC1F1, criollos, RC0F1 y testigos, sin embargo, se nota una marcada diferencia numérica entre las medias de los genotipos ahí agrupados, los granos con menos peso fue el tipo donador. De acuerdo a la clasificación de Salinas y Vázquez (2006) los tipos RC0F1 y RC1F1 presentan granos medianos, con excepción de los del genotipo 12 que se clasifican como pequeños. La diferencia entre los genotipos, se debe también a la segregación que aún existe en los materiales, la prueba se puede realizar en generaciones más avanzadas cuando las poblaciones se encuentren más homogéneas.

Diversidad Genética

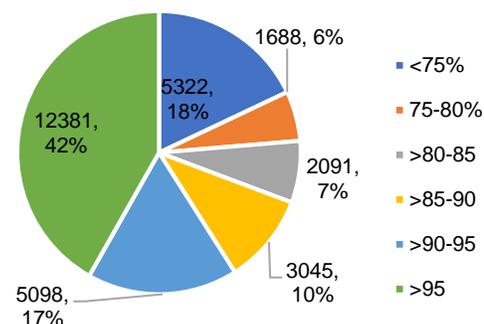
Se identificaron 35,054 marcadores SNP's, todos estos marcadores codominantes fueron sometidos a un exigente filtrado de calidad, primeramente, fueron eliminados los marcadores monomórficos, también fueron utilizados los coeficientes de llamada de SNPs y la Reproducibilidad o Consenso entre los datos generados para una muestra y su réplica. Así, fueron seleccionados un total de 29,625 marcadores polimórficos por SAGA. Los marcadores reportados mostraron una reproducibilidad de 96.40% entre las muestras réplicas, y 87.97% en promedio de tasa de llamada, de los 29,625 SNP's identificados el 82.03% mostraron una tasa de llamada $\geq 76\%$ (figura 8).

Todos los marcadores SNP's mostraron valores de PIC entre 0.0 y 0.50, los grupos con rangos entre 0.35 y 0.50 agruparon el 63% de los marcadores identificados, el resto de las clases presento valores muy cercanos entre 5 y 9% con excepción del grupo de 0.15-0.20 que únicamente exhibió el 2% del total de marcadores (figura 8).

Reproducibilidad de los SNP's



Tasa de llamada de los SNP's



Valores de PIC de los SNP's

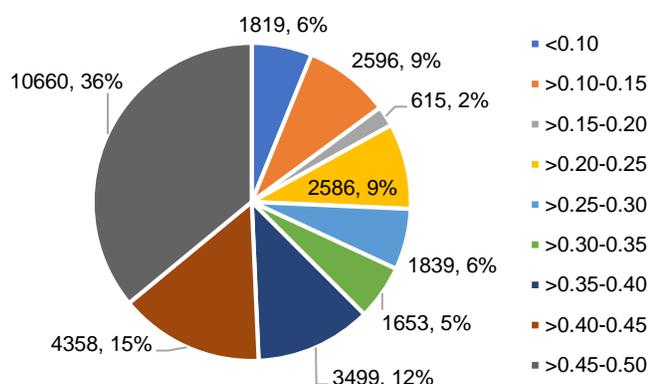


Figura 8. Distribución de parámetros de calidad de los marcadores SNP's.

La tasa de heterocigocidad esperada (H_e), es la proporción esperada de individuos heterocigotos en un grupo de datos que cumpla los lineamientos del equilibrio Hardy-Weinberg (Isik *et al.*, 2017). La variable obtuvo un valor promedio en los genotipos de 0.299% (cuadro 19), sin embargo, este parámetro de diversidad no es útil en poblaciones utilizadas para el mejoramiento genético, donde se practica la selección artificial de individuos.

La heterocigocidad observada (H_o) es la proporción de individuos heterocigotos en la población bajo estudio, el empleo de este parámetro es para definir la variación genética (Isik *et al.*, 2017). La media de H_o fue de 0.378 (cuadro 19), el valor más bajo lo presentó el progenitor cinco que es una línea endogámica y el más alto el genotipo 15 que es una RC1F1 (cuadro 19). Los valores más alejados de cero en los donadores restantes en comparación con el anterior se deben, a que la línea 18(19) aun esta en S3 y a que una variedad de polinización libre co-

Cuadro 19. Índices de diversidad genética para los 17 genotipos secuenciados.

Gpo	He	Ho	Ae	Shannon	Alra	%NA	Grou
1	0.242	0.281	1.319	0.586	261.169	0.083	1
2	0.385	0.520	1.625	0.827	513.802	0.029	2
3	0.159	0.174	1.189	0.427	198.368	0.166	3
4	0.338	0.431	1.511	0.752	430.440	0.050	4
5	0.042	0.043	1.044	0.151	86.176	0.303	3
6	0.342	0.437	1.519	0.757	417.000	0.069	1
7	0.272	0.324	1.373	0.639	290.584	0.107	1
8	0.264	0.313	1.358	0.626	286.990	0.097	1
9	0.328	0.413	1.487	0.735	395.103	0.081	2
10	0.344	0.441	1.523	0.761	415.527	0.072	4
11	0.313	0.388	1.455	0.710	359.890	0.090	2
12	0.314	0.390	1.458	0.712	366.016	0.076	1
13	0.291	0.354	1.411	0.673	311.630	0.089	1
14	0.303	0.372	1.435	0.693	340.354	0.079	1
15	0.394	0.539	1.650	0.841	525.164	0.049	2
16	0.368	0.487	1.583	0.801	454.078	0.062	4
17	0.382	0.515	1.619	0.823	497.707	0.052	2
Media	0.299	0.378	1.445	0.677	361.764	0.091	

Gpo: genotipo; he: heterocigosidad esperada; ho: heterocigosidad observada; Ae: número de alelos efectivos; Shannon: índice de Shannon; Alra: número de alelos raros; %NA: proporción de valores perdidos; Grou: grupo *cluster* al que pertenece cada genotipo.

mo lo es el donador cuatro presenta más variabilidad que una línea altamente endogámica.

Las RC1F1 15 y 17 presentan una Ho superior y/o similar respectivamente a la de su progenitor recurrente, resultado que se obtuvo al generar una mayor cantidad de loci heterocigotos en estas poblaciones, por efecto de la segregación en las diferentes retrocruzas. El criollo uno mostro un valor más bajo de ho que el criollo dos, esta diferencia se debe posiblemente a que carece de introgración genética de otros materiales, al sembrarse aislado en tiempo de los demás cultivos de maíz en su lugar de origen.

Chen *et al.* (2016) reportaron valores promedio de heterogeneidad por cromosoma de 0.05, en 561 líneas CML de CIMMYT, Adu *et al.* (2019) también reportaron resultados cercanos a cero con promedió de 0.07, en líneas endogámicas de Guinea y Sudan. En general, la mayoría de los genotipos mostró una Ho similar a la encontrada en accesiones de maíz Tuxpeño y de razas de

maíz estadounidense (Wen *et al.*, 2012), materiales que carecen de selección y con mayor variabilidad genética.

La importancia que ha tomado el estudio de los alelos raros, se debe al uso potencial que presentan al incorporarlos en el germoplasma del maíz y generar nuevas variedades con nuevos rasgos (Prasanna, 2012). Los SNP's presentan la capacidad de detectar alelos raros con altos niveles de confianza (Romay *et al.*, 2013), la presencia de alelos raros en las poblaciones que se secuenciaron en este estudio alcanzó un valor máximo en la retrocruza 15 y el más bajo en el donador cinco (cuadro 19), los resultados de rareza presentan una tendencia similar al de Ho. Un alelo raro generalmente presenta frecuencias cercanas a cero en una población, o puede tener una alta frecuencia dentro de la población, pero la población es única entre un conjunto de poblaciones (Reyes-Valdés *et al.* 2018). En promedio los genotipos presentaron 0.091% de datos perdidos para el conjunto de 29, 625 SNP's analizados (cuadro 19).

La distancia genética de Rogers en la comparación por pares de los genotipos osciló entre 0.227 (8 x 14) y 0.372 (5 x 15), la distancia promedio fue de 0.324, la porción más abundante de comparaciones se ubicó en distancias entre 0.30 – 0.36 (figura 9). La matriz de las distancias genéticas de Rogers entre los 17 genotipos evaluados se presenta completa en el siguiente enlace:

<https://www.dropbox.com/s/li8r2z6qp3kojxu/RogersDistances.csv?dl=0>.

El gráfico del análisis de escalamiento multidimensional se presenta en la figura 10, la agrupación por color de grano revelo la presencia de dos grupos principales en esta clasificación (figura 10a y 10b), uno que pertenece al grano azul (lado negativo del eje x) y, el otro al grano magenta y azul/magenta (lado positivo del eje x), conformados por el genotipo dos y uno respectivamente incluyendo sus respectivas RC0F1 y RC1F1. Los maíces con grano de color blanco, mostraron un grupo por separado.

Este agrupamiento confirma la diferencia genética que existe entre los maíces pigmentados de grano azul en la aleurona y, los de grano magenta con antocia-

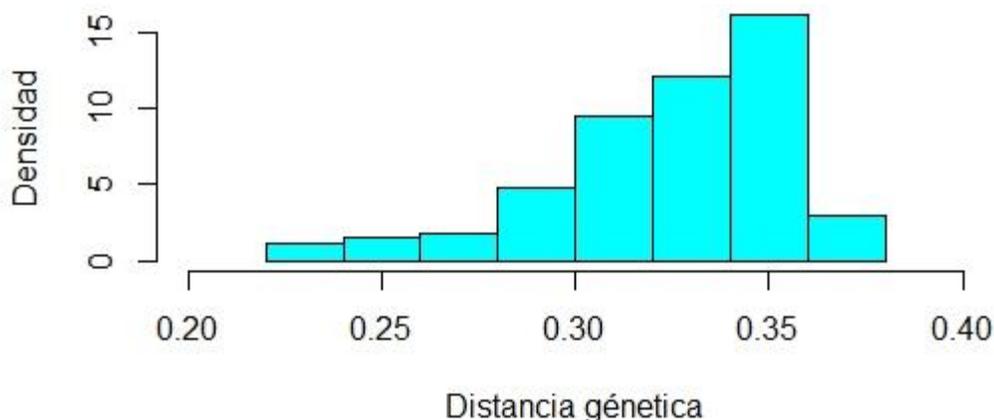


Figura 9. Distribución de distancias genéticas de Rogers entre la comparación por pares de los genotipos.

ninas en el pericarpio y aleurona, ratificando la propuesta expresada anteriormente de formar un patrón heterótico con estos dos tipos de pigmentación en el grano. Boakyewaa *et al.* (2019) y Zhang *et al.* (2016), mencionan que para aumentar la heterosis en el maíz se deben seleccionar poblaciones alejadas por una gran distancia genética, al presentar variabilidad genética sustancial, y este análisis puede auxiliar en la selección rápida y precisa de esos materiales.

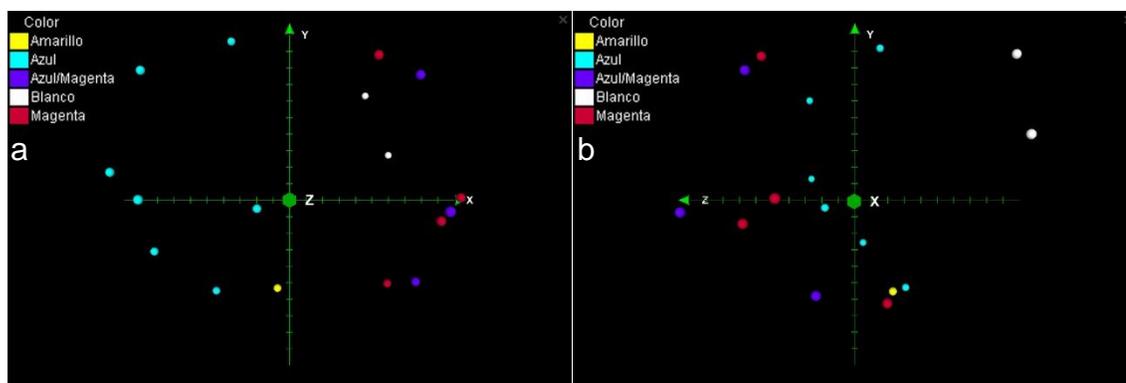


Figura 10. Grafica del análisis de escalamiento multidimensional con clasificación por color de grano. Vista desde dos ángulos diferentes.

Por mucho tiempo los fitomejoradores utilizaron diferentes líneas puras en grupos heteróticos específicos empleando cruza de prueba, pedigree's y rasgos morfológicos, sin embargo, la diferenciación de las líneas era complicado especialmente en aquellas que compartían el mismo germoplasma base. Por esta razón, el empleo de los marcadores moleculares para este propósito puede ser muy útil (Zhang *et al.*, 2016).

La clasificación de acuerdo al origen (figura 11a y 11b) demuestra una diferenciación entre los materiales tropicales (criollos, RC0F1 y RC1F1) y los de origen subtropical (donadores 3 y 4). Chen *et al.* (2016) también construyeron un gráfico de escalamiento multidimensional para 561 líneas endogámicas de CIMMYT, la agrupación identifico a las líneas por su ambiente de adaptación y el color de grano, en el grafico por origen se aprecia la distancia que existe entre los genotipos tropicales y subtropicales, patrón heterótico ampliamente utilizado.

El agrupamiento por tipo de material (figura 12a y 12b) evidenciá de mejor forma la distancia genética que existe entre ambos criollos al posicionarlos en sitios opuestos, caso similar ocurre con las RC0F1 y las RC1F1 provenientes de ambos progenitores recurrentes.

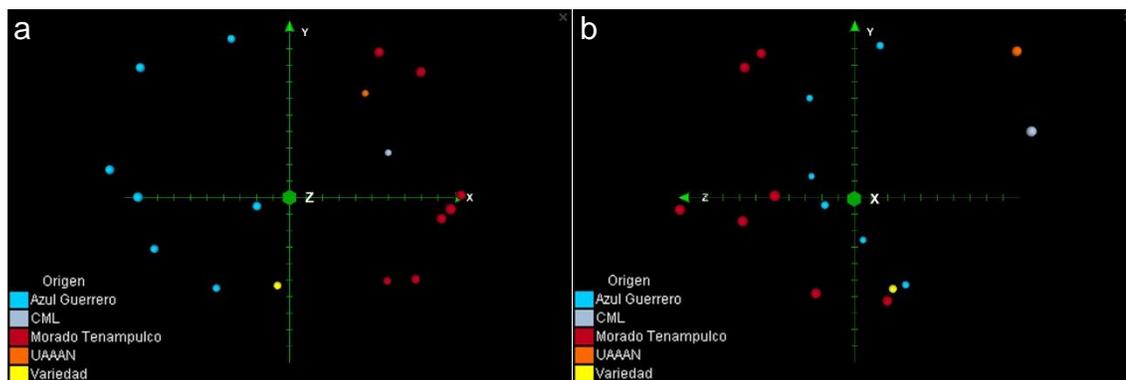


Figura 11. Grafica del análisis de escalamiento multidimensional con clasificación por origen de material. Vista desde dos ángulos diferentes.

Un ejemplo claro de un posible patrón heterótico son las RC1F1 13 y 16 que provienen de diferente progenitor recurrente, pero tienen en común el donador cuatro, ambas retrocruzas se sitúan en la parte inferior de la gráfica del análisis de escalamiento multidimensional (figura 12a y 12b) cerca de su donante, pero con una distancia notable entre ambas, al realizar cruza de prueba y observar la heterosis que se genere, se confinaría el patrón heterótico.

Otros dos grupos heteróticos que se pueden formar son los de los genotipos 12 x 17 y 14 x 15 que también muestran una separación notable (figura 12a y 12b), siempre utilizando como hembra los maíces con grano pigmentado en el pericarpio y aleurona para una mejor producción de antocianinas. Vergara *et al.*

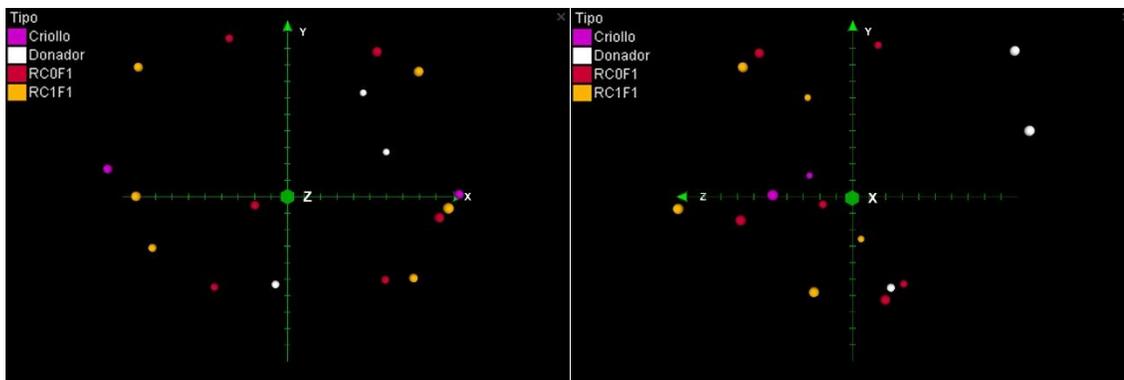


Figura 12. Grafica del análisis de escalamiento multidimensional con clasificación por tipo de material. Vista desde dos ángulos diferentes.

(2003) encontraron que el donador cinco mejora el rendimiento del donador tres, este resultado conjugado con la distancia genética que existe entre los maíces de grano azul y magenta podría explotar aún más la heterosis en las cruzas de prueba.

Los videos 3-D de las figuras 10, 11 y 12 se pueden encontrar en los siguientes enlaces:

<https://www.dropbox.com/s/Ori3aufb08vcfpi/Color.avi?dl=0>

<https://www.dropbox.com/s/ts1ihtz5cfapg4h/Origen.avi?dl=0>

<https://www.dropbox.com/s/m6g51bqbbtkat91/Tipo.avi?dl=0>

El resultado del análisis de conglomerados por el método de UPGMA se efectuó a partir de las distancias genéticas de Rogers (figura 13), los resultados del gráfico fueron similares a los de los gráficos escalamiento multidimensional. Wu *et al.* (2016) encontraron también resultados similares entre el análisis de conglomerados con el análisis de componentes principales. Se distinguen claramente cuatro grupos, así como se ven descritos en el cuadro 19, las cruzas de prueba que se sugieren efectuar entre las diferentes RC1F1 ([13 x 16], [12 x 17] y [14 x 15]), se pueden ver separadas en grupos distantes (figura 11 y figura 13).

El primer grupo de izquierda a derecha está conformado por los maíces de grano azul magenta (figura 13), todas las RC0F1 presentaron como vecino más cercano

su RC1F1. Todos los genotipos provenientes del mismo progenitor recurrente se encuentran en el mismo grupo, esto puede deberse a que comparten un gran número de marcadores moleculares (SNP's) en común. El segundo grupo se integra por las líneas 3 y 5 de grano blanco (figura 13), su agrupamiento se debe posiblemente a que presentan el mismo color de grano y son de procedencia subtropical, por lo estarían compartiendo también un porcentaje alto de alelos evolutivos.

El tercer grupo es el de los maíces azules pertenecientes al criollo dos (figura 13), a diferencia del grupo de los maíces magenta solo una RC0F1 (9) presentó como vecino más cercano su RC1F1 (11). En el último grupo se encuentra el donador cuatro que es la variedad de grano amarillo, la RC0F1 (10) y la RC1F1 (16), estas últimas dos utilizaron como donador a la variedad sintética, este agrupamiento se da al compartir más marcadores entre las retrocruzas y su donante, que con su progenitor recurrente (figura 12 a, 12b y 13).

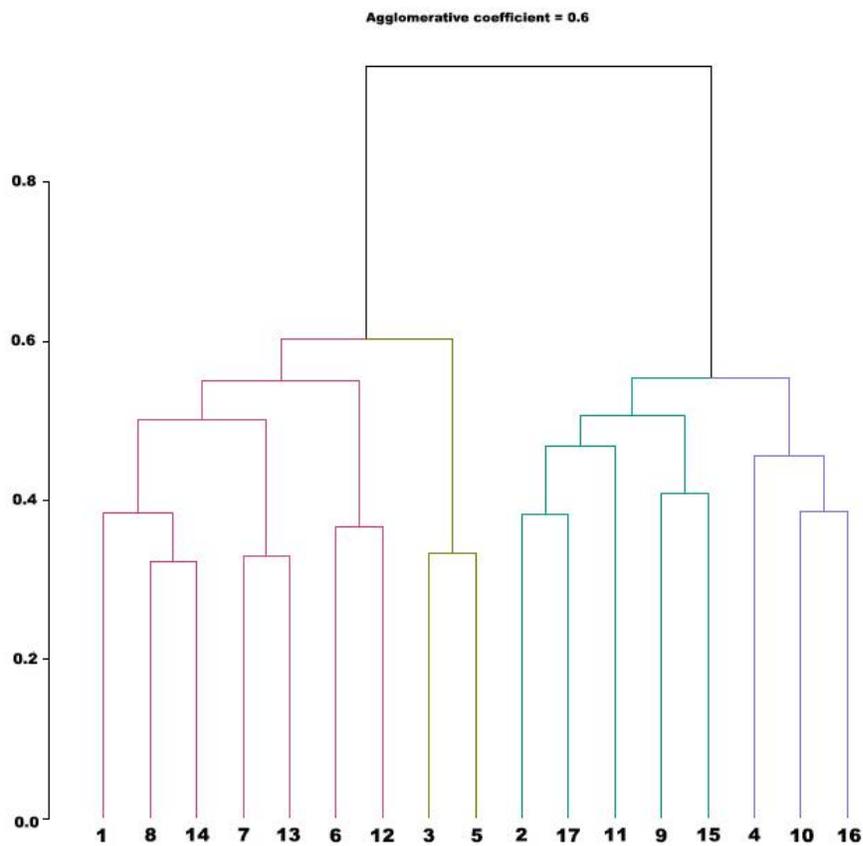


Figura 13. Agrupación de los 17 genotipos analizados por el método de UPGMA con las distancias de Rogers.

CONCLUSIONES

Todas las RC1F1 se deben de llevar a estado RC1F2, posteriormente realizar la selección de familias para su evaluación y avanzarlas generacionalmente.

A diferencia de la metodología original de la retrocruza limitada se recomienda realizar una segunda autofecundación posterior a la primera selección de familias para fijar más de alelos favorables.

Realizar las cruzas de prueba que se mencionan en los resultados para verificar la existencia de heterosis y si este es positivo, aplicar un programa de selección recíproca recurrente.

El empleo de los datos moleculares auxilia en el entendimiento del fondo genético del material con que estamos trabajando. Su análisis y evaluación pueden acelerar e incrementar la precisión de la selección de parentales para cruza. Además de confirmar, o no, que el germoplasma que estamos evaluando es que deseamos utilizar.

REFERENCIAS

- Acosta-Estrada B.A., J.A. Gutiérrez-Urbe and S.O. Serna-Saldivar. 2019. Minor constituents and phytochemicals of the kernel. *In*: Serna-Saldivar, S.O., editor, *Corn Chemistry and Technology*. 3th ed. AACCC International Press. p. 369–403.
- Agarwal M. N. Shrivastava and H. Padh. 2008. Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. *Plant Cell Rep.* 27: 617–631.
- Agama-Acevedo E., E. Juárez-García, S. Evangelista-Lozano, O.L. Rosales-Reynoso y L.A. Bello-Pérez. 2013. Características del almidón de maíz y relación con las enzimas de su biosíntesis. *Agrociencia* 47: 1–12.
- Alam M., J. Neal, K.O. Connor, A. Kilian and B. Topp. 2018. Ultra-high-throughput DArTseq-based silicoDArT and SNP markers for genomic studies in macadamia. *PLoS One* 18: 1–20.
- Anderson E. and H.C. Cutler. 1942. Races of *Zea Mays*: I. Their recognition and classification. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 29: 69–89.
- Antonio M.M., J.L. Arellano V., G. García S., S. Miranda C., J.A. Mejía C., et al. 2004. Variedades criollas de maíz azul raza Chalqueño. Características agronómicas y calidad de semilla. *Rev. Fitotec. Mex.* 27: 9–15.
- Antuna-Grijalva O., S.A. Rodríguez-Herrera, G. Arámbula-Villa, A. Palomo-Gil, E. Gutiérrez Arías, et al. 2008. Calidad nixtamalera y tortillera en maíces criollos de México. *Rev. Fitotec. Mex.* 31: 23–27.
- Aragón C.F., J. de D. Figueroa C., M. Flores Z., M. Gaytán M. y J.J. Véles M. 2012. Calidad Industrial de Maíces Nativos de la Sierra Sur de Oaxaca. Libro Técnico No. 15. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Santo Domingo Barrio Bajo, Etlá, Oaxaca, México. 249 p.
- Arellano-Vázquez J.L., J.M. Vázquez-Ramos, E. García-Ramírez, Y.M. Gómez y-Gómez y G.F. Gutiérrez-Hernández. 2012. Monitoreo de la calidad proteica de maíz o2 (*Zea mays* L.) en líneas endogámicas y su progenie F1 y F2. *Agrociencia* 51: 425–436.
- Barrera G.E., A. Muños O., F. Márquez S. y A. Martínez G. 2005. Aptitud combinatoria en razas de maíz mejoradas por retrocruza limitada. I: caracteres agronómicos. *Rev. Fitotec. Mex.* 28: 231–242.
- Bello-Pérez L.A., E. Camelo-Mendez, G.A. Agama-Acevedo y R.G. Utrilla-Coello. 2016. Aspectos nutraceuticos de los maíces pigmentados: digestibilidad de los carbohidratos y antocianinas. *Agrociencia* 50: 1041–1063.
- Benz B.F. 1986. Taxonomy and evolution of Mexican maize. *In*: Manzanilla, L., editor, *Studies in the Neolithic and Urban revolutions*. University of Colorado, Boulder. p. 121–136

- Boakyewaa A.G., B. Badu-Apraku, R. Akromah, A.L. Garcia-Oliveira, F.J. Awuku, et al. 2019. Genetic diversity and population structure of early-maturing tropical maize inbred lines using SNP markers. *PLoS One* 14: 1–12.
- Brush S.B. and H.R. Perales. 2007. A maize landscape: Ethnicity and agrobiodiversity in Chiapas Mexico. *Agric. Ecosyst. Environ.* 121: 211–221.
- Caraballosa T. V., A. Mejía C., S. Balderrama C., A. Carballo C. y F.V. González C. 2000. Divergencia en poblaciones de maíz nativas de valles altos de México. *Agrociencia* 34: 167–174.
- Carvajal H. J.J., I.D. Aristizábal T., C.E. Oliveros T. y J.W. Mejía M. 2011. Colorimetría del fruto de café (*Coffea arabica* L.) durante su desarrollo y maduración. *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín* 64: 6229–6240.
- Castro-Nava S., C.A. Reyes-Méndez y A.J. Huerta. 2014. Diversidad genética de características del área foliar en maíces nativos de Tamaulipas bajo altas temperaturas. *Rev. Fitotec. Mex.* 37: 217–223.
- Cázares-Sánchez E., J.L. Chávez-Servia, Y. Salinas-Moreno, F. Castillo-González y P. Ramírez-Vallejo. 2015. Variación en la composición del grano entre poblaciones de maíz (*Zea mays* L.) nativas de Yucatán, México. *Agrociencia* 49: 15–30.
- Chang R., S. Chopra and P.A. Peterson. 2005. Differential excision patterns of the En-transposable element at the A2 locus in maize relate to the insertion site. *Mol. Gen. Genomics* 274: 189–195.
- Chen J., C. Zavala, N. Ortega, C. Petrolí, J. Franco, et al. 2016. The development of quality control genotyping approaches: a case study using elite maize lines. *PLoS One* 11: 1–17.
- CIMMYT. 2005. Laboratory Protocols: CIMMYT Applied molecular genetics laboratory. Third edition. Mexico, D.F.: CIMMYT.
- Cone K.C. 2007. Anthocyanin synthesis in maize aleurone tissue. *Plant Cell Monogr* 8: 121–139.
- Coutiño E. B., V.A. Vidal M., B. Cruz G. y C. Cruz V. 2010. Aptitud combinatoria general y específica del contenido de azúcares en maíces criollos eloteros. *Rev. Fitotec. Mex.* 33: 57–61.
- Coutiño E. B., V.A. Vidal M., C. Cruz V. y M. Gómez G. 2015. Características eloteras y de grano de variedades nativas de maíz de Chiapas. *REMEXCA* 6: 1119–1127.
- Cui L., R. Gao, S. Dong, J. Zhang, P. Liu, et al. 2012. Effects of ear shading on the anthocyanin contents and quality of kernels in various genotypes of maize. *Aust. J. Crop. Sci.* 6: 704–710.

- Davey J.W., P.A. Hohenlohe, P.D. Etter, J.Q. Boone, J.M. Catchen, et al. 2011. Genome-wide genetic marker discovery and genotyping using next-generation sequencing. *Nat. Rev. Genet.* 12: 499–510.
- Díaz-Gómez, J., A. Javier-Ramos, C. Zhu, O. Martín-Belloso and R. Soliva-Fortuny. 2017. Influence of cooking conditions on carotenoid content and stability in porridges prepared from high-carotenoid maize. *Plant Foods Hum. Nutr.* 72: 113–119.
- East E.M. 1912. Inheritance of color in the aleurone cells of maize. *Am. Nat.* 49: 363–365.
- Edwards J., D. Stoltzfus and P.A. Peterson. 2001. The C1 locus in maize (*Zea mays* L.): effect on gene expression. *Theor. Appl. Genet.* 103: 718–724.
- Emerson R.A. 1912. The unexpected occurrence of aleurone colors in F2 of a cross between non-colored varieties of maize. *Am. Nat.* 49: 612–615.
- Espinosa C. A., M. Tadeo R. y A. Tapia-Naranjo. 2000. Variedades no convencionales como opción para elevar la productividad de maíces locales en valles altos de México. *Agron. Mesoam.* 11: 159–161.
- Espinosa A., M. Tadeo, A. Piña y R. Martínez. 1997. Capacidad productiva de cruces de variedades de maíz de polinización libre con híbridos simples. *Agron. Mesoam.* 8: 139–142.
- Espinosa T. E., M. del C. Mendoza C., F. Castillo G., J. Ortiz C., A. Delgado A., et al. 2009. Acumulación de antocianinas en pericarpio y aleurona del grano y sus efectos genéticos en poblaciones criollas de maíz pigmentado. *Rev. Fitotec. Mex.* 32: 303–309.
- Espinosa T. E., M. del C. Mendoza C., F. Castillo G., J. Ortiz C. y A. Delgado A. 2010. Aptitud combinatoria del rendimiento de antocianinas y de características agronómicas en poblaciones nativas de maíz pigmentado. *Rev. Fitotec. Mex.* 33: 11–19.
- Espinosa T. E., A.J. Gámez V., J.R.A. Dorantes G., M.A. Ávila P., I. Castro M., et al. 2012. Bioquímica y genética de las antocianinas del grano de maíz. Libro Científico No. 1. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Centro, Campo Experimental Bajío, Celaya, Guanajuato, México. 74 p.
- Fernández S. R., L.A. Morales C. y A. Gálvez M. 2013. Importancia de los maíces nativos de México en la dieta nacional. Una revisión indispensable. *Rev. Fitotec. Mex.* 36: 275–283.
- Figuroa C. J. de D., D.E. Narváez G., A. Mauricio S., T. Suketoshi, M. Gaytán M., et al. 2013. Propiedades físicas del grano y calidad de los grupos raciales de maíces nativos (criollos) de México. *Rev. Fitotec. Mex.* 36: 305–314.

- García-Lara S., C. Chuck-Hernandez and S.O. Serna-Saldivar. 2019. Development and structure of the corn kernel. *In*: Serna-Saldivar, S.O., editor, *Corn: Chemistry and Technology*. 3th. AACC International Press. p. 147–163
- García-Lara S. and S.O. Serna-Saldivar. 2019. Corn history and culture. *In*: Serna-Saldivar, S.O., editor, *Corn: Chemistry and Technology*. 3rd ed. AACC International Press. p. 1–18
- Gaytán-Martínez M., J.D. Figueroa-Cárdenas, M.L. Reyes-Vega, E. Morales-Sánchez y F. Rincón-Sánchez. 2013. Selección de maíces criollos para su aplicación en la industria con base en su valor agregado. *Rev. Fitotec. Mex.* 36: 339–346.
- Gómez A. C.A., F. Martínez B., J.D. Figueroa C., C.A. Ordorica F. y J. González H. 1996. Cambios en algunos componentes químicos y nutricionales durante la preparación de tortillas de maíz elaboradas con harinas instantáneas obtenidas por extrusión continua. *Arch. Latinoam. Nutr.* 46: 315–319.
- González-Castro M.E., N. Palacios-Rojas, A. Espinoza-Banda y C.A. Bedoya-Salazar. 2013. Diversidad genética en maíces nativos mexicanos tropicales. *Rev. Fitotec. Mex.* 36: 329–338.
- Gorjanc G., J. Jenko, S.J. Hearne and J.M. Hickey. 2016. Initiating maize pre-breeding programs using genomic selection to harness polygenic variation from landrace populations. *BMC Genomics* 17: 1–15.
- Gupta P.K., J. Kumar, R.R. Mir and A. Kumar. 2010. Marker-assisted selection as a component of conventional plant breeding. *Plant Breed.* 33: 145–217.
- Gutiérrez H. G.F., J.L. Arellano V., J.M. Vázquez R., E. García R., P. Vázquez L., et al. 2014. Formación de híbridos de maíz con calidad proteica: lisina, triptófano e índice de calidad. *Rev. Fac. Agron.* 31: 171–189.
- Hallauer A.R., M.J. Carena and J.B. Miranda Filho. 2010. Quantitative genetics in maize breeding. *In*: Prohens, J., Nuez, F., and Carena, M.J., editors, *Handbook of Plant Breeding*. Third. Springer, New York, NY. p. 663.
- Hameed A., L.M. Pollak and P.N. Hinz. 1994. Evaluation of cateto maize accessions for grain yield and other agronomic traits in temperate and tropical environments. *Crop Sci.* 34: 270–275.
- Harakotr B., B. Suriharn, R. Tangwongchai, M.P. Scott and K. Lertrat. 2014. Anthocyanins and antioxidant activity in coloured waxy corn at different maturation stages. *J. Funct. Foods* 9: 109–118.
- Hayes H.K. 1917. Inheritance of a mosaic pericarp pattern color of maize. *GENETIC* 2: 261–281.
- Hellin J., A. Keleman, D. López, L. Donnet y D. Flores. 2013. La importancia de los nichos de mercado. Un estudio de caso del maíz azul y del maíz para pozole en México. *Rev. Fitotec. Mex.* 36: 315–328.

- Hernández-Quintero J.D.D., A. Rosales-Nolasco, A. Molina-Macedo, A. Miranda-Piliado, M. Willcox, et al. 2017. Cuantificación de antocianinas mediante espectroscopia de infrarrojo cercano y cromatografía líquida en maíces pigmentados. *Rev. Fitotec. Mex.* 40: 219–225.
- Hernández C. J.M. y G. Esquivel E. 2004. Rendimiento de grano y características agronómicas en germoplasma de maíz de valles altos de México. *Rev. Fitotec. Mex.* 27: 27–31.
- Hernández G. C. del Á., Y. Salinas M., P. Antonio López, A. Santacruz V., F. Castillo G. y T. Corona T. 2014. Calidad pozolera en poblaciones de maíz Cacahuacintle de los Valles Altos de Puebla, México. *REMEXCA* 5: 703–716.
- Hernández X. E. y G. Alanís F. 1970. Estudio morfológico de cinco nuevas razas de maíz de la Sierra Madre Occidental de México: Implicaciones citogenéticas y filogenéticas. *Agrociencia* 5: 3–30.
- Herrera-Cabrera E., F. Castillo-González, R.A. Ortega-Pazkca y A. Delgado-Alvarado. 2013. Poblaciones superiores de la diversidad de maíz en la región oriental del estado de México. *Rev. Fitotec. Mex.* 36: 33–43.
- Herrera-Cabrera E.B., F. Castillo-González, J.J. Sánchez-González, J.M. Hernández-Casillas, R.A. Ortega-Pazkca, et al. 2004. Diversidad Del Maíz Chalqueño. *Agrociencia* 38: 191–206.
- Herrera C. E.B., F. Castillo G., J. de J. Sánchez G., R. Ortega P. y M.M. Goodman. 2000. Caracteres morfológicos para valorar la diversidad entre poblaciones de maíz en una región: caso la raza Chalqueño. *Rev. Fitotec. Mex.* 23: 335–353.
- Isik F., J. Holland and C. Maltecca. 2017. Genetic data analysis for plant and animal breeding. 1st ed. Springer International Publishing.
- Jaccoud D., K. Peng, D. Feinstein and A. Kilian. 2001. Diversity Arrays : a solid state technology for sequence information independent genotyping. *Nucleic Acids Res.* 29: 1–7.
- Jha S.N. 2010. Colour measurements and modeling. *In: Jha S., editor, Nondestructive Evaluation of Food Quality: Theory and Practice.* 1st ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin. p. 17–40
- Jiménez-Juárez J.A., G. Arámbula-Villa, E. de la Cruz-Lázaro y M.A. Aparicio-Trapala. 2015. Calidad nixtamalera y tortillera de maíces del trópico húmedo de México. *Phyton (B. Aires).* 84: 1–7.
- Kang M.S., A.K. Din, Y. Zhang and R. Magari. 1999. Combining ability for rind puncture resistance in maize. *Crop Sci* 39: 368–371.
- Kempton J.H. 1919. Inheritance of spotted aleurone color in hybrids of chinese maize. *Genetics* 4: 261–274.

- Kumar J., A.K. Choudhary, R.K. Solanki and A. Pratap. 2011. Towards marker-assisted selection in pulses : a review. *Plant Breed.* 130: 297—313.
- Lao F., G.T. Sigurdson and M.M. Giusti. 2017. Health benefits of purple corn (*Zea mays* L.) phenolic compounds. *Compr. Rev. Food Sci. Food. Saf.* 16: 234–246.
- Liu Y.-E., P. Liu, S.-T. Dong and J.-W. Zhang. 2010. Hormonal changes caused by the xenia effect during grain filling of normal corn and high-oil corn crosses. *Crop Sci.* 50: 215–221.
- Liu R., C. Vitte, J. Ma, A.A. Mahama, T. Dhliwayo, et al. 2007. A GeneTrek analysis of the maize genome. *Proc. Natl. Acad. Sci* 104: 11844–11849.
- Lopez-Martinez L.X., R.M. Oliart-Ros, G. Valerio-Alfaro, C.-H. Lee, K.L. Parkin, et al. 2009. Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *LWT - Food Sci. Technol.* 42: 1187–1192.
- Loy D.D. and E.L. Lundy. 2019. Nutritional properties and feeding value of corn and its coproducts (S.O. Serna-Saldivar, editor). 3rd ed. AACC International Press.
- Lozano-Alejo N., G. Vázquez-Carrillo, K. Pixley and N. Palacios-Rojas. 2007. Physical properties and carotenoid content of maize kernels and its nixtamalized snacks. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 8: 385–389.
- Lozano M. E. and J.F. Fernandez B. 2019. Economics of production, marketing and utilization. *In: Serna-Saldivar, S.O., editor, Corn Chemistry and Technology.* 3th ed. AACC International Press. p. 87–107
- Márquez S. F. 1990. Backcross theory for maize. I. Homozygosis and heterosis. *Maydica* 35: 17–22.
- Márquez S., F., J.A. Carrera V., E. Barrera G., L. Sahagún C. y M. Sierra M. 1999. Influencia del ambiente de selección en el mejoramiento de razas de maíz por retrocruza limitada. *Rev. Fitotec. Mex.* 22: 1–15.
- Márquez S., F., L. Sahagún C., J.A. Carrera V. y E. Barrera G. 2000. Retrocruza limitada para el mejoramiento genético de maíces criollos (R. Medina Gómez, editor). 1^{er} ed. Universidad Autónoma Chapingo, México, DF (México).
- Martínez-Vidal V.A., M. Clegg, B. Johnson and R. Valdivia-Bernal. 2001. Phenotypic and genotypic relationships between pollen and grain yield components in maize. *Agrociencia* 35: 503–511.
- Martínez M., R. Ortiz, H. Ríos y R. Acosta. 2010. Análisis de las correlaciones en poblaciones cubanas de maíz. *Cultiv. Trop.* 31(2): 82–91.
- Mauricio-Sánchez R.A., J. de D. Figueroa Cárdenas, S. Taba, M. de la L. Reyes-Vega, F. Rincón-Sánchez, et al. 2004. Caracterización de accesiones de maíz por calidad de grano y tortilla. *Rev. Fitotec. Mex.* 27: 213–222.

- Mejía C. A. and J.D. Molina G. 1999. Comparación de procedimientos para la conversión a rendimiento por hectárea en la evaluación de variedades tropicales de maíz. *Agrociencia* 33: 159–163.
- Meléndez-Martínez A.J. 2017. Carotenoides: estructura, propiedades y funciones. *In: Tapia, P., editor, Carotenoides en agroalimentación y salud*. 1^{er} ed. Terracota, SA de CV. p. 1–31
- Mendoza-Elos M., E. Andrio-Enríquez, J.M. Juárez-Goiz, C. Mosqueda-Villagómez, L. Latournerie-Moreno, et al. 2006. Contenido de lisina y triptófano en genotipos de maíz de alta calidad proteica y normal. *Univ. Cienc.* 22: 153–161.
- Mendoza-Mendoza C.G., M.C. Mendoza-Castillo, A. Delgado-Alvarado, F. Castillo-González, T.Á. Kato-Yamakake, et al. 2017. Antocianinas totales y parámetros de color en líneas de maíz morado. *Rev. Fitotec. Mex.* 40: 471–479.
- Menkir A., W. Liu, W.S. White, B. Maziya-Dixon and T. Rocheford. 2008. Carotenoid diversity in tropical-adapted yellow maize inbred lines. *Food Chem.* 109: 521–529.
- Mokrzycki W.S. and M. Tatol. 2011. Color difference ΔE - A survey. *M. G. V.* 20: 383–412.
- Muzhingiri T., N. Palacios-Rojas, A. Miranda, M.L. Cabrera, K.J. Yeum, et al. 2016. Genetic variation of carotenoids, vitamin E and phenolic compounds in Provitamin A biofortified maize. *J. Sci. Food Agric.* 97: 793–801.
- Nadeem M.A., M.A. Nawaz, M.Q. Shahid, Y. Doğan, G. Comertpay, et al. 2018. DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 32: 261–285.
- Narváez-González E.D., J. de D. Figueroa Cárdenas y S. Taba. 2007. Aspectos microestructurales y posibles usos del maíz de acuerdo con su origen geográfico. *Rev. Fitotec. Mex.* 30: 321–325.
- Navarro-Garza H., M. Hernández-Flores, F. Castillo-González y M.A. Pérez-Olvera. 2012. Diversidad y caracterización de maíces criollos. estudio de caso en sistemas de cultivo en la costa chica de Guerrero, México. *Agri., Soci. y Des.* 9: 149–165.
- Ortega P. R. 1985. Variedades y razas mexicanas de maíz y su evaluación en cruzamientos con líneas de clima templado como material de partida para fitomejoramiento. Traducción del capítulo “Algunas razas poco estudiadas”. Tesis de Ph. D. Instituto Vavilov. URSS. 22 p.
- Ortega-Paczka R. y V.R. Barajas. 1994. Variedades locales de maíz en el centro de Tamaulipas: Pasado y Presente. *In: MASECA and INIFAP, editors,*

- Memorias del 11^{vo} Congreso Latinoamericano de Genética (Área Vegetal) y XV Congreso de Fitogenética. Chapingo, México. p. 347
- Ortega P. R.A., J.J. Sánchez G., F. Castillo G. y J.M. Hernández C. 1991. Estado actual de los estudios sobre maíces nativos en México. *In*: Ortega P. R., Palomino H. G., Castillo G. F., González H. V.A. y Livera M. M., editors, Avances en el Estudio de los Recursos Fitogenéticos de México. SOMEFI. Chapingo, México. p. 161–185
- Ortiz-Monasterio J.I., N. Palacios-Rojas, E. Meng, K. Pixley, R. Trethowan, et al. 2007. Enhancing the mineral and vitamin content of wheat and maize through plant breeding. *J. Cereal Sci.* 46: 293–307.
- Ortiz-Torres E., P.A. López, A. Gil-Muñoz, J. de D. Guerrero-Rodríguez, H. López-Sánchez, et al. 2013. Rendimiento y calidad de elote en poblaciones nativas de maíz de Tehuacán, Puebla. *Rev. Chapingo Ser. Hortic.* 19: 225–238.
- Pacheco A., G. Alvarado, F. Rodríguez, J. Crossa and J. Burgueño. 2016. BIO-R (Biodiversity Analysis with R) Version 2.0.
- Palacios-Rojas, N. 2018. Calidad nutricional e industrial de Maíz: Laboratorio de calidad nutricional de maíz “Evangalina Villegas.” CIMMYT, CDMX, México.
- Palemón-Alberto F., N.O. Gómez-Montiel, G. Reyes-García, D. Vargas-Álvarez, A. Damián-Nava, et al. 2017. Rendimiento de maíces cultivados en la región Tierra Caliente, Guerrero, México. *Acta Agrícola y Pecu.* 3: 1–7.
- Paliwal L.R., G. Granados, H.R. Lfitte, A.D. Vliolic y J.-P. Marathée. 2001. El maíz en los trópicos: mejoramiento y producción (L. Paliwal, editor). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma.
- Paulsmeyer M., L. Chatham, T. Becker, M. West, L. West, et al. 2017. Survey of anthocyanin composition and concentration in diverse maize germplasms. *J. Agric. Food Chem.* 65: 4341–4350.
- Pecina M. J.A., M. del C. Mendoza C., J.A. López S., F. Castillo G., M. Mendoza R., et al. 2011. Rendimiento de grano y sus componentes en maíces nativos de Tamaulipas evaluados en ambientes contrastantes. *Rev. Fitotec. Mex.* 34: 85–92.
- Perales H. and D. Golicher. 2014. Mapping the Diversity of Maize Races in Mexico. *PLoS One* 9: 1–20.
- Pixley K. V, G.E. Salinas-Garcia, A. Hall, M. Kropff, C. Ortiz, et al. 2018. CIMMYT’s Seeds of Discovery Initiative: Harnessing Biodiversity for Food Security and Sustainable Development. *Indian J. Plant Genet. Resour.* 31: 1–10.
- Prasanna B.M. 2012. Diversity in global maize germplasm: Characterization and utilization. *J. Biosci.* 37: 843–855.

- Ramírez D. J.L., M. Chuela B., V.A. Vidal M., J. Ron P. y F. Caballero H. 2007. Propuesta para formar híbridos de maíz combinando patrones heteróticos. *Rev. Fitotec. Mex.* 30: 453–461.
- Ramírez M. C.A., J.C. González C. y J. Hernández G. 2015. Evaluación de la raza de maíz Zapalote Chico como donador de menor altura de mazorca. *Cienc. y Tecnol. Agrop. México* 3: 10–19.
- Ramírez M. C.A., F. Márquez S., S.A. Rodríguez H. y J. Ron P. 2003. Comportamiento de retrocruzas divergentes y cruzas entre retrocruzas de maíces criollos y mejorados. *Rev. Fitotec. Mex.* 26: 215–221.
- Reyes-Valdés M.H., J. Burgueño, S. Singh, O. Martínez and C.P. Sansaloni. 2018. An informational view of accession rarity and allele specificity in germplasm banks for management and conservation. *PLoS One* 13: 1–15.
- Romay M.C. 2018. Rapid, affordable, and scalable genotyping for germplasm exploration in maize. *In: Bennetzen J., Flint-Garcia S., Hirsch C. and Tuberosa, R., editors, The Maize Genome. Compendium of Plant Genomes.* Springer, Cham. p. 31–46.
- Romay M.C., M.J. Millard, J.C. Glaubitz, J.A. Peiffer, K.L. Swarts, et al. 2013. Comprehensive genotyping of the USA national maize inbred seed bank. *Genome Biol.* 14: 1–18.
- Romero P. J.F., A. Castillo G., V.E. Carapia R., M. Andrade R., R. Ortega P., et al. 2018. Variación morfológica en colectas de maíz ancho nativo del estado de Morelos, México. *Rev. Pensam. Actual* 18: 35–45.
- Rosales A., E. Agama-Acevedo, L.A. Bello-Pérez, R. Gutiérrez-Dorado and N. Palacios-Rojas. 2016. Effect of traditional and extrusion nixtamalization on carotenoid retention in tortillas made from provitamin A biofortified maize (*Zea mays* L.). *J. Agric. Food Chem.* 64: 8289–8295.
- Ryu S.H., L. Werth, S. Nelson, J. Scheerens and R.C. Pratt. 2013. Variation of kernel anthocyanin and carotenoid pigment content in USA / Mexico borderland land races of maize. *Econ. Bot.* 67: 98–109.
- Sahagún C. L., E. Barrera G., F. Márquez S., N. Gómez M., A. Trujillo C., et al. 2008. Evaluación de variedades de maíz del CENREMMAC mejoradas por retrocruza limitada para resistencia a sequía. *Rev. Geogr. Agrícola* 40: 91–100.
- Salinas-Moreno Y. y L. Aguilar-Modesto. 2010. Efecto de la dureza del grano de maíz (*Zea mays* L.) sobre el rendimiento y calidad de la tortilla. *Ing. Agrícola y Biosist.* 2: 5–11.
- Salinas-Moreno Y., N.O. Gómez-Montiel, J.E. Cervantes Martínez, M. Sierra Macías, A. Palafox Caballero, et al. 2010. Calidad nixtamalera y tortillera en maíces del trópico húmedo y sub-húmedo de México. *REMEXCA* 1: 509–523.

- Salinas-Moreno Y., J.J. Pérez-Alonso, G. Vázquez-Carrillo, F. Aragón-Cuevas, y G.A. Velázquez-Cardelas. 2012. Antocianinas y actividad antioxidante en maíces (*Zea mays* L.) de las razas Chalqueño, Elotes Cónicos y Bolita. *Agrociencia* 46: 693–706.
- Salinas M. Y. y G. Vázquez C. 2006. Metodologías de análisis de la calidad nixtamalera-tortillera en maíz. INIFAP. Folleto técnico. Núm. 24. 98 p.
- Salinas M. Y. 2009. Uso de maíces con pigmento tipo antocianino. *In*: De Teresa-Ochoa, A.P. and Viniestra-González, G., editors, Temas selectos de la cadena maíz-tortilla: un enfoque multidisciplinario. Universidad Autónoma Metropolitana. p. 177–202.
- Salinas M. Y., F. Aragón C., C. Ybarra M., J. Aguilar V., B. Altunar L., et al. 2013a. Caracterización física y composición química de razas de maíz de grano azul/morado de las regiones tropicales y subtropicales de Oaxaca. *Rev. Fitotec. Mex.* 36: 23–31.
- Salinas M. Y., F.J. Cruz C., S.A. Díaz O. y F. Castillo G. 2012. Granos de maíces pigmentados de Chiapas, características físicas, contenido de antocianinas y valor nutracéutico. *Rev. Fitotec. Mex.* 35: 33–41.
- Salinas M. Y., C. García S., B. Coutiño E. y V. Vidal M. 2013b. Variabilidad en contenido y tipos de antocianinas en granos de color azul / morado de poblaciones mexicanas de maíz. *Rev. Fitotec. Mex.* 36: 285–294.
- Salinas M. Y. y P. Pérez H. 1997. Calidad nixtamalera-tortillera en maíces comerciales de México. *Rev. Fitotec. Mex.* 20: 121–136.
- Salinas M. Y., S. Saavedra A., J. Soria R. y E. Espinosa T. 2008. Características fisicoquímicas y contenido de carotenoides en maíces (*Zea mays* L.) amarillos cultivados en el estado de México. *Agric. Técnica México* 34: 357–364.
- Salinas M. Y., G. Salas S., D. Rubio H. y N. Ramos L. 2005. Characterization of anthocyanin extracts from maize kernels. *J. Chromatogr. Sci.* 43: 483–487.
- Salinas M. Y., M. Soto H., F. Martínez B., V. González H. y R. Ortega P. 1999. Análisis de antocianinas en maíces de grano azul y rojo provenientes de cuatro razas. *Rev. Fitotec. Mex.* 22: 161–174.
- Sanchez G. J. J. 1989. Relationships among the Mexican races of maize. Unpublished Ph.D. Dissertation, North Carolina State Univ., Raleigh. 187 p.
- Sanchez G. J.J., M.M. Goodman and C.W. Stuber. 2000. Isozymatic and Morphological Diversity in the Races of Maize of Mexico. *Econ. Bot.* 54: 43–59.
- Sansaloni C. P., C. D Petrolí, J. Carling, C. J Hudson *et al.* 2010. Methodology A high-density Diversity Arrays Technology (DART) microarray for genome-wide genotyping in *Eucalyptus*. *Plant Methods* 6: 16.

- Sansaloni C., C. Petroli, D. Jaccoud, J. Carling, F. Detering, *et al.* 2011. Diversity Arrays Technology (DArT) and next-generation sequencing combined: genome-wide, high throughput, highly informative genotyping for molecular breeding of *Eucalyptus*. *BMC Proc.* 5: P54.
- Scheben A., J. Batley and D. Edwards. 2018. Revolution in genotyping platforms for crop improvement. *In: Varshney, R.K., Pandey, M.K., and Chitkineni, A., editors, Plant Genetics and Molecular Biology.* 1st ed. Springer International Publishing.
- Scott P. R.C. Pratt, N. Hoffman and R. Montgomery. 2019. Specialty Corns. *In: Serna-Saldivar S.O., editor, Corn: Chemistry and Technology.* 3th ed. AACC International Press. p. 289–303.
- Serna-Saldivar S.O. 2010a. Role of cereals in human nutrition and health. *In: Serna-Saldivar S.O., editor, Cereals Grains Properties, Processing, and Nutritional Attributes.* CRC Press, Boca Raton. p. 565–628.
- Serna-Saldivar S.O. 2010b. Physical properties, grading and specialty grains. *Cereal Grains: Properties, Processing and Nutritional Attributes.* CRC Press, Boca Raton. p. 43–81.
- Serna-Saldivar S.O., J.A. Gutiérrez-Urbe, S. Mora-Rochin and S. García-Lara. 2013. Potencial nutraceutico de los maíces criollos y cambios durante el procesamiento tradicional y con extrusión. *Rev. Fitotec. Mex.* 36: 295–304.
- Serna-Saldivar S.O. and E. Perez Carrillo. 2019. Food uses of whole corn and dry-milled fractions. *In: Serna-Saldivar S.O., editor, Corn: Chemistry and Technology.* 3th ed. AACC International Press. p. 435–467.
- Sharma G., W. Wu and E.N. Dalal. 2005. The CIEDE2000 Color-difference formula: implementation notes, supplementary test data, and mathematical observations. *Color Res. Appl.* 30: 21–30.
- Shull, G.H. 1911. The genotypes of maize. *Am. Nat.* 45: 234–252.
- SIAP. 2018. Producción Anual Agrícola. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> (acceso 1 July 2018).
- SNICS-SAGARPA. 2014. Guía técnica para la descripción varietal de maíz (*Zea mays* L.). 2nd ed. SNICS-SAGARPA.
- Sprague G.F. and L.A. Tatum. 1942. General vs specific combining ability in single crosses of corn. *J. Am. Soc. Agron.* 34: 923–932.
- Springer N.M. and R.M. Stupar. 2007. Allelic variation and heterosis in maize: How do two halves make more than a whole?. *Genome Res.* 17: 264–275.
- Suwarno W.B., P. Hannok, N. Palacios-Rojas, G. Windham, J. Crossa, *et al.* 2019. Provitamin A carotenoids in grain reduce aflatoxin contamination of maize while combating vitamin A deficiency. *Front. Plant Sci.* 10: 1–12.

- Suwarno W.B., K. V. Pixley, N. Palacios-Rojas, S.M. Kaeppler and R. Babu. 2014. Formation of heterotic groups and understanding genetic effects in a provitamin A biofortified maize breeding program. *Crop Sci.* 54: 14–24.
- Tadeo-Robledo M., B. Zamudio-González, A. Espinosa-Calderón, A. Turrent-Fernández, A.L. Cárdenas-Marcelo, et al. 2015. Rendimiento de maíces nativos e híbridos en diferente fecha de siembra y sus unidades calor. *REMEXCA* 6: 33–43.
- Turrent-Fernández A., T.A. Wise y E. Garvey. 2012. Factibilidad de alcanzar el potencial productivo de maíz de México. Reporte 24. Mexican Rural Development Research Reports. 38 pp.
- Varshney R.K., M.K. Pandey and A. Chitikineni. 2018. Plant genetics and molecular biology: an introduction. *In: Varshney R.K., Pandey M.K. and Chitikineni A., editors, Plant Genetics and Molecular Biology.* 1st ed. Springer International Publishing. p. 37–52
- Vázquez-Carrillo G., S. García-Lara, Y. Salinas-Moreno, D.J. Bergvinson and N. Palacios-Rojas. 2011. Grain and Tortilla Quality in Landraces and Improved Maize Grown in the Highlands of Mexico. *Plant. Foods. Hum. Nutr.* 66: 203–208.
- Vázquez-Carrillo M.G., J.P. Pérez-Camarillo, J.M. Hernández-Casillas, M. de la L. Marrufo-Díaz y E. Martínez-Ruiz. 2010. Calidad de grano y de tortillas de maíces criollos del Altiplano y Valle del Mezquital, México. *Rev. Fitotec. Mex.* 33: 49–56.
- Vázquez A. J.L., A.J. Gámez V. y M.A. Ávila P. 2010. Potencial agronómico de variedades criollas de maíz Cacahuacintle en el Valle de Toluca. *Rev* 33: 37–41.
- Vázquez C. M.G., L. Guzmán B., J.L. Andrés G., F. Márquez S. y J. Castillo M. 2003. Calidad de grano y tortillas de maíces criollos y sus retrocruzas. *Rev. Fitotec. Mex.* 26: 231–238.
- Vázquez C. M.G., H. Mejía A., C. Tut C. y N. Gómez M. 2012. Características de granos y tortillas de maíces de alta calidad proteínica desarrollados para los valles altos centrales de México. *Rev. Fitotec. Mex.* 35: 23–31.
- Della V. C.B. and K.C. Cone. 2004. Paramutation: the chromatin connection. *Plant Cell* 16: 1358–1364.
- Vera-Guzmán A.M., J.L. Chávez-Servia y J.C. Carrillo-Rodríguez. 2012. Proteína, lisina y triptófano en poblaciones nativas de maíz Mixteco. *Rev. Fitotec. Mex.* 35: 7–13.
- Vergara Á. N., S. Rodríguez H. y H. Córdova O. 2003. Potencial de líneas de maíz para mejorar híbridos. *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 26: 291–299.

- Vidal M. V.A., G. Vázquez C., B. Coutiño E., A. Corona O., J.L. Ramírez D., et al. 2008. Calidad proteínica en colectas de maíces criollos de la sierra de Nayarit, México. *Rev. Fitotec. Mex.* 31: 15–21.
- Vivek B.S., A.F. Krivanek, N. Palacios-Rojas, S. Twumasi-Afriyie y A.O. Diallo. 2008. Mejoramiento de maíz con calidad de proteína (QPM): Protocolos para generar variedades QPM. CIMMYT, CIMMYT. Resumen:
- Waller A.E. 1917. Xenia and other influences following fertilization. *Ohio J. Sci.* 17: 273–284.
- Wang T. and P.J. White. 2019. Lipids of the Kernel. *In: Serna-Saldívar S.O.*, editor, *Corn Chemistry and Technology*. 3th ed. AACCC International Press. p. 337–368
- Watson S.A. 2003. Description, development, structure, and composition of the corn kernel. *In: White P.J. and Johnson L.A.*, editors, *Corn: Chemistry and Technology*. 2nd ed. American Association of Cereal Chemists Inc. p. 69 – 106
- Wellhausen E.J., L.M. Roberts, E. Hernández X. y P.C. Mangelsdorf. 1951. Razas de Maíz en México, su origen, características y distribución (Oficina de Estudios Especiales. Secretaria de Agricultura y Ganadería, editor). Folleto Técnico 5, Mexico, D. F.
- Wen W., J. Franco, V.H. Chavez-Tovar, J. Yan and S. Taba. 2012. Genetic characterization of a Core Set of a Tropical Maize Race Tuxpeño for Further Use in Maize Improvement. *PLoS One* 7: 1–10.
- Wu Y., F. San Vicente, K. Huang, T. Dhliwayo, D.E. Costich, et al. 2016. Molecular characterization of CIMMYT maize inbred lines with genotyping-by-sequencing SNPs. *Theor. Appl. Genet.* 129: 753–765.
- Zamudio-González B., A. Espinosa-Calderón, M. Tadeo-Robledo, J.J. Encastín-Dionicio, N. Martínez Rodríguez, et al. 2015. Producción de híbridos y variedades de maíz para grano en siembra a doble hilera. *REMEXCA* 6: 1491–1505.
- Zhang X., H. Zhang, L. Li, H. Lan, Z. Ren, et al. 2016. Characterizing the population structure and genetic diversity of maize breeding germplasm in Southwest China using genome-wide SNP markers. *BMC Genomics* 17: 1–16.
- Žilic S., A. Serpen, G. Akıllıoğlu, V. Gökmen and J. Vančetovic. 2012. Phenolic compounds, carotenoids, anthocyanins, and antioxidant capacity of colored maize (*Zea mays* L.) kernels. *J. Agric.Food Chem.* 60: 1224–1231.