



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

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

José Luis Ramírez Díaz<sup>1</sup>, Alejandro Ledesma Miramontes<sup>1</sup>, Yolanda Salinas Moreno<sup>1</sup>, Ivone Alemán de la Torre<sup>1</sup>, Thanda Dhliwayo<sup>2</sup>, Víctor Antonio Vidal Martínez<sup>3</sup>

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

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

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

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

### Resumen

**Introducción.** Los pigmentos vegetales son una opción para sustituir los artificiales y consumir alimentos sanos. **Objetivo.** Evaluar en campo y laboratorio cruzas simples exploratorias (CSE) de maíz con grano y olote morado, formadas con líneas aleatorias, para analizar la integración del patrón heterótico B-49N x B-41N. **Materiales y Métodos.** La investigación se llevó a cabo en Tepatitlán, Jalisco, México durante el 2021-2022. Se formaron CSE entre seis líneas S5 de la población B-49N y cuatro S3 de B-41N con grano y olote morado. En 2022, las cruzas y cinco testigos se evaluaron, en temporal, en la misma localidad mediante un diseño experimental de bloques completos al azar con tres repeticiones. Tamaño de parcela, consistió de un surco de 4 m de largo, 0,8 m de ancho y 0,16 m entre plantas con 25 plantas por surco. Se tomaron datos de planta y mazorca. En siete cruzas se evaluó el contenido de antocianinas total en grano (CATg) y olote (CATo). Se hicieron análisis de varianza y pruebas de medias en todas las variables con el programa estadístico SAS. **Resultados.** Se obtuvieron 12 CSE con rendimiento igual ( $p < 0,05$ ) que el testigo blanco, pero con grano y olote morado. Se observó una variación significativa ( $p < 0,05$ ) en antesis (de 80 a 90 días), acame de tallo (de 0 a 12,6 %) y calificación de mazorca (de 1,5 a 2,7). El grano de las CSE fue suave a muy suave. No hubo asociación entre el rendimiento y contenidos altos de CATg y CATo. **Conclusión.** Los resultados de CSE muestran avances positivos en la integración del patrón heterótico de maíz morado B-49N x B-41N, pero, en el futuro, deberá aumentarse el contenido de antocianinas en grano y olote, y dureza del grano.

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



## Abstract

**Introduction.** Plant based pigments could replace artificial pigments and consume healthy food products. **Objective.** To evaluate in the field and laboratory exploratory purple grain and cob maize single cross hybrids (CSE), formed with random lines, to analyze the integration of the B-49N x B-41N heterotic pattern. **Material and methods.** The research was carried out in Tepatitlán, Jalisco, Mexico during 2021-2022. CSEs were formed between six S5 lines from population B-49N and four S3 from B-41N with purple grain and cob. The crosses and five controls were evaluated in 2022 in the same location. A randomized complete block experimental design with three repetitions was used. Plot size, a row of 4 m long, 0,8 m wide and 0,16 m between plants with 25 plants per row. Plant and ear data were taken. In seven crosses total anthocyanin content in grain (CATg) and cob (CATo) were evaluated. Analysis of variance and tests of means were performed on all variables using the statistical SAS program. **Results.** There were 12 CSEs with the same yield ( $p < 0,05$ ) as the white control, but with purple grain and cob, significant variation ( $p < 0,05$ ) in anthesis (from 80 to 90 days), stem lodging (from 0 to 12,6 %). and ear grade (from 1,5 to 2,7). The grain of the CSEs was soft to very soft, and there was not association between yield and high CATg and CATo contents. **Conclusion.** CSE results show positive progress in the integration of the heterotic purple maize pattern B-49N x B-41N, but, in the future, the anthocyanin content in grain and cob, and grain hardness, should be increased.

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

## Introducción

Los pigmentos naturales, como sustitutos de los artificiales, son una opción para que la población consuma alimentos sanos y menor riesgo de enfermedades (Basu & Kumar, 2014). El maíz morado es una fuente alternativa para producción de pigmentos llamados antocianinas, pues se producen en casi todas sus estructuras, pero, es más común que éstas se obtengan del grano y olote. Tiene amplia adaptación ecológica y variabilidad genética en contenido de pigmentos (Mendoza-Mendoza et al., 2017). En México hay poblaciones de maíz de grano morado, pero las originarias de Perú y Ecuador, superan a las mexicanas en concentración de antocianinas (Salinas-Moreno et al., 2021).

El pigmento en el grano de maíz se ubica en el pericarpio y capa de aleurona o en ambas, su ubicación define su uso, si está en capa de aleurona se destina a la industria de la masa y tortilla, y si está en pericarpio y olote, a la extracción industrial de antocianinas, pues, estas estructuras concentran más antocianinas que la capa de aleurona (Salinas et al., 2005). La extracción comercial de antocianinas rentable requiere de híbridos adaptados a los sistemas intensivos de producción, tolerantes al acame (Jun et al., 2017), facilidad en la remoción mecánica de las capas periféricas coloridas del grano (perlado) y alta concentración de antocianina en grano y olote (Salinas-Moreno et al., 2021).

Los maíces nativos tienen alto contenido de antocianinas en grano y olote, pero no se adecuan a los sistemas intensivos de producción y al manejo industrial del grano porque son muy altos, susceptibles a la caída o quiebra de las plantas antes de la cosecha (acame), pudriciones de la mazorca y adaptación localizada (Mendoza-Mendoza et al., 2020). En cuanto a las características del grano, este tiene textura 100 % harinosa, esta característica dificulta el perlado y el aprovechamiento del endospermo y el germen en la alimentación animal o en la obtención de etanol (Salinas-Moreno et al., 2021; Paulsmeyer et al., 2017).

En el mejoramiento genético son muy importantes los sitios de selección de progenies de maíces pigmentados, pues la eficiencia en la síntesis de antocianinas varía con la altitud (Jing et al., 2007), y esta puede impactar de

forma negativa la selección de progenies con alto contenido de antocianinas. Aguilar-Hernández et al. (2019) encontraron que el contenido de antocianinas en grano y olote del maíz pigmentado fue mayor cuando se produjo en verano a 1900 m de altitud, que cuando se produjo en otoño-invierno, del mismo año, sembrado a 300 m de altitud. La selección de genotipos con grano y olote morado es compleja y gravosa, porque las características son de herencia cuantitativa con efectos epistáticos (Harakotr et al., 2016; Xu et al., 2015), y requiere apoyo permanente del laboratorio para identificar progenies con grano de endospermo corneo y alto contenido de antocianinas en grano y olote.

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

Después de varias generaciones de autofecundación se identificó, en ambas poblaciones, líneas con grano y olote morado, pero, se desconoce los tipos de híbridos esperados en el patrón heterótico B-49N × B-41N; así como, la variación fenotípica en planta, heterosis en rendimiento, características físicas del grano y contenido de antocianinas en grano y olote para confirmar u orientar los enfoques de investigación. El objetivo de esta investigación fue evaluar, en campo y laboratorio, cruces simples exploratorias de maíz formadas con líneas aleatorias con grano y olote morado, para analizar el avance en la integración del patrón heterótico B-49N × B-41N.

## Materiales y métodos

### Material genético

Se inició la formación de un patrón heterótico de maíz con grano y olote morado en 2015, a partir de la cruce simple de maíz de grano blanco (B-49 × B-41), progenitora del híbrido H-377 (Ramírez-Díaz et al., 2010). La cruce B-49 × B-41 es una planta de porte bajo de planta, con tolerancia al acame, grano semidentado y adaptabilidad en el trópico y subtropico. Como donadores del pigmento morado en grano y olote, se utilizaron los maíces nativos Kulli y ECU-12696, los cuales se seleccionaron con base en la evaluación de maíces nativos con grano y olote morado realizada por Ramírez-Díaz et al. (2017) y Salinas et al. (2016), en la línea B-49 se utilizó el donador Kulli y en B-41, ECU-12696.

El color se introdujo por el método de retrocruza limitada (Márquez, 1990), para aprovechar la heterosis remanente del donador, de esta manera el patrón heterótico de maíz morado quedó integrado como B-49N × B-41N. En la selección de progenies se aplicó el método de selección recurrente recíproca modificado por Ramírez-Díaz et al. (2015), propuesto para el aprovechamiento de maíces nativos. En la selección intrafamiliar de las características de grano y olote morado e intensidad del color, se utilizó el método de pedigrí hasta lograr el color objetivo (grano y olote con color morado intenso). La formación de la población B-41N se retrasó respecto a B-49N porque hasta el 2016 se seleccionó el donador ECU-12696 y en 2017 inició la conversión (Ramírez-Díaz et al., 2017).

Después de trabajar seis años en la conversión de B-49N y B-41N, se desconocía los tipos de híbridos esperados, variación fenotípica y contenido de antocianinas en grano y olote. Se seleccionaron, de forma aleatoria, seis líneas S5 de la población B-49N y cuatro S3 de B-41N, con estas, se formaron 21 cruces simples exploratorias en el ciclo agrícola primavera-verano (PV) 2021, en el Campo Experimental Centro Altos de Jalisco (CECA-JAL), ubicado en Tepatitlán, Jal. México, con coordenadas geográficas 20° 52' 23'' N de latitud, 102° 42' 49'' W de longitud y 1,956 m de altitud. Las líneas de B-49N se utilizaron como hembras y las de B-41N como machos. El

pericarpio de la semilla cosechada en B-49N tuvo el color objetivo, lo que indicó, por su origen materno (Ron-Parra et al., 2016), que está fijo el color morado, en cambio, en B-41N, hubo segregación a colores rojo oscuro, lo cual mostró que aún no se fija el color morado.

Las 21 cruzas, tres poblaciones de grano morado: a) Morado Original (donador de B-49), Morado 1 (Sintético de cuatro líneas S6, seleccionadas del Morado Original), y Morado 2 (Sintético de 13 líneas seleccionadas de B-49N), y dos testigos, un comercial de grano blanco (H-392) y la crusa interpoblacional de grano morado VC-42 x Kulli, se sembraron el 24 de junio de 2022, en condiciones de temporal en el CECAJAL. El experimento se diseñó en bloques completos al azar con tres repeticiones. Tamaño de parcela, un surco de 4,0 m de largo con 25 plantas, 0,8 m de separación entre surcos y 0,16 m entre plantas, equivalente a una densidad de población de 78,125 plantas/ha.

### Manejo agronómico

La fórmula de fertilización se calculó con base en un análisis de suelo, se aplicó la fórmula 200N-70P-70K, distribuida en tres tiempos: a la siembra, a los 30 y 60 días después de la siembra (DDS). Para el control de la maleza se aplicó el herbicida con el ingrediente activo Atrazina + S-Metaloclor en dosis de 3,0 L ha<sup>-1</sup>, en pre-emergencia al cultivo y a la maleza. En la etapa de floración, se aplicó una mezcla de herbicidas post-emergentes (Tembotrione + [Dicamba + 24D] + Atrazina) en dosis de 300 mL y 2,0 L ha<sup>-1</sup> para el control de la maleza de hoja ancha. Las plagas del follaje, gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) y picudos (*Nicentrites testaceipes* y *Geraeus senilis*) se controlaron con dos aplicaciones de una mezcla de insecticidas (Benzoato de Emamectina + Lambdacihalotrina) en dosis de 100 mL y 200 mL ha<sup>-1</sup>; a los 35 y 42 DDS, junto con el insecticida se mezcló fertilizante foliar a base de micronutrientes en dosis de 1,5 L ha<sup>-1</sup>.

### Toma de datos agronómicos

Se evaluó el rendimiento de grano (REND) al 12 % de humedad (kg ha<sup>-1</sup>), número de días a floración masculina y femenina, altura de planta y mazorca (cm), porcentaje de acame de raíz y tallo, número de plantas “horras” (sin mazorca) y con carbón común, calificación de planta y mazorca en escala visual de 1 a 5, donde: 1 = lo mejor y 5 = lo peor. En el mes de octubre hubo un periodo de sequía y una helada temprana ligera, que afectó más el REND de los genotipos tardíos, pues estaban en la etapa reproductiva final (R3).

### Análisis estadístico

Se hizo análisis de varianza (ANVAR) en los datos de todas las variables y la correlación de Pearson entre el REND, FM y FF, mediante el programa estadístico SAS 9.2 (Statistical Analysis System, 2009). El REND se corrigió por covarianza, se tomó como covariable el número de plantas. La comparación de medias se hizo con la prueba de la Diferencia Mínima Significativa al 0,05 de probabilidad.

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

Después de la cosecha, se extendieron las mazorcas de cada parcela, de donde se seleccionaron, de manera visual, nueve parcelas, con mazorcas uniformes e intensidad y estabilidad en el color objetivo de grano, que correspondieron a las cruas simples experimentales (CSE): CSE1, CSE-18, CSE-17, CSE-13, CSE-12, CSE-14 y CSE-20, pues, en las CSE-13 y CSE-14 se muestrearon dos repeticiones.

## Caracterización física del grano

En cada parcela seleccionada, se tomó una muestra de 250 g de grano limpio, a las cuales se les determinó contenido de humedad y peso hectolítrico (lb/bu) con un determinador Dickey-John, el peso hectolítrico se multiplicó por el factor 1,2695 para obtener el peso en kg/hL. Para la dureza del grano, se usó la técnica del índice de flotación, peso de 100 semillas, densidad verdadera y tipo de endospermo. Las determinaciones se hicieron con base en lo propuesto por Salinas y Vázquez (2006).

## Contenido de antocianinas en grano y olote

La cuantificación del contenido de antocianinas total (CAT) del grano se hizo en una muestra de 30 granos, los cuales se remojaron 15 min en agua caliente a 40 °C, luego, con un bisturí, se removió el germen del grano. Los granos sin germen se dejaron en condiciones de oscuridad por 24 h, una vez secos, se molieron en un molino tipo ciclónico (UDY Corporation, USA) dotado con malla de 0,5 mm, la harina obtenida se depositó en frascos de vidrio y se refrigeró hasta su análisis. Para el análisis del CAT del olote, se seleccionó una muestra representativa de cinco olotes por parcela, estos se trituraron con un marro, luego se molieron en un molino Wiley provisto de malla de 1,0 mm.

Los tamaños de muestra empleados en el análisis del CAT fueron: 1,0 g de harina para el grano y 100 mg para el olote. La extracción de las antocianinas de grano y olote se efectuó de acuerdo con lo descrito por Salinas et al. (2005), con algunas modificaciones, que incluyeron, una etapa de sonicado de 15 min en un baño sonicador (Branson, modelo 2510R-MT, USA), y un reposo bajo refrigeración por 105 min. Al completar este tiempo, la muestra se agitó y se centrifugó (Centrifuge Universal Model 32. Hettich®, Germany) por 10 min a 4000 rpm para favorecer la separación del sobrenadante.

Para determinar el CAT, se realizaron dos extracciones sucesivas en grano como en olote. Los sobrenadantes de cada extracción se juntaron y se registró el volumen total. La absorbancia se midió en un espectrofotómetro (UVI-lambda 25, Perkin-Elmer, USA) a 530 nm. Se empleó una curva patrón del estándar comercial cianidina 3-glucósido (Extrasynthase, France) para expresar los resultados en función de esta antocianina. Las determinaciones se realizaron por duplicado.

## Resultados

### Evaluación agronómica

En el análisis de varianza, los híbridos tuvieron diferencias altamente significativas ( $p < 0,01$ ) en rendimiento de grano, número de días a floración masculina y femenina, altura de planta y calificación de planta, significativas ( $p < 0,05$ ) en porcentaje de acame de tallo y calificación de mazorca y no hubo diferencias significativas en altura de mazorca, porcentaje de plantas acamadas de raíz, plantas “horras” (sin mazorca) y carbón común (*Ustilago maydis*) (Cuadro 1).

Las diferencias en REND entre las cruza simples exploratorias (CSE) osciló de 3,685 a 6,099 kg ha<sup>-1</sup>, de estas, 12 tuvieron REND estadísticamente igual ( $p < 0,05$ ) que el testigo de grano blanco H-392 (6,208 kg ha<sup>-1</sup>), destacaron las cruza exploratorias CSE-9, CSE-17 y CSE-7 con 6,099, 6,032 y 5,821 kg ha<sup>-1</sup>. Las medias de REND entre las poblaciones de maíz morado y la cruza VC42 × Kulli fueron estadísticamente iguales, pero estadísticamente menores ( $p < 0,05$ ) que las registradas en las CSE-9, CSE-17 y CSE-7. Los genotipos no expresaron su potencial

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

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

FV	GL	REND	Floración		Altura		Acame		Plantas		Calificación	
			Mas	Fem	Pta	Maz	Raíz	Tallo	Hurras	CC	Pta	Maz
Bloques	2	494919	7*	12,3**	226,2	58,2	4,9	17,9	9,1	0,03	0,28*	0,22
Híbridos	24	3708132**	29,9**	37,0**	724,3**	225,1	8,2	32,7*	23,9	0,8	1.03**	0.18*
Error	47	1192307	1,6	2,0	173,5	155,5	4,9	16,3	22,7	0,87	0,32	0,08
CV		23,6	1,5	1,6	4,8	10,1	667,8	226,6	169,8	516,6	15,2	21,3

\*, \*\* Valores significativos al 0,05 y 0,1 de probabilidad. FV = fuente de variación; GL = grados de libertad; REND = rendimiento de grano al 12 % de humedad; Mas = masculina; Fem = femenina; Pta = planta; Maz = mazorca; CC = porcentaje de carbón común; CV = coeficiente de variación. / \*, \*\* Significant values at 0,05 and 0,01 of probability. FV = source of variation; GL = degrees of freedom; REND = grain yield at 12 % moisture; Mas = male; Fem = female; Pta = planta; Maz = ear; CC = percentage of corn smut; CV = coefficient of variation.

de REND total, debido a la sequía que se presentó cuando las plantas estaban en la etapa fenológica R3 (Cuadro 2).

Hubo diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en floración masculina (FM) y femenina (FF) entre CSE y estas con los testigos. La CSE 16 fue la más precoz (80 días a FM y FF) y estadísticamente menor que el resto de CSE y testigos, excepto la cruza VC-42 x Kulli (74 y 75 días a FM y FF) y la CSE2 (83 días a FM). Entre las poblaciones moradas, las diferencias en floración sólo fueron significativas ( $p < 0,05$ ) en FF, la media de FF de la población Morado 2 (86 días) fue estadísticamente menor que Morado original (89 días) e igual a Morado 1 (87 días). El testigo H-392 fue el más tardío con 89 y 91 días a FM y FF (Cuadro 2).

En el porcentaje de acame de tallo (AT), sólo la media del testigo VC-42 x Kulli (16,3 %) fue significativamente ( $p < 0,05$ ) diferente del resto. Entre las poblaciones destacó Morado 2 con 0 % en ambos tipos de acame. Las calificaciones de planta en las CSE1 (3,5), CSE11 (3,3) y CSE12 (3,3) y las poblaciones Morado original (3,7) y Morado 2 (3,7) fueron las más altas y diferentes a las CSE20 (1,8), CSE21 (1,7) y CSE14 (2,0). La calificación de mazorca tuvo poca variación, de 1,5 a 2,7%, la CSE2 (2,7) y VC-42 x Kulli (2,3) tuvieron los valores más altos y diferentes ( $p < 0,05$ ) a las CSE-9 (1,7), CSE-17 (1,8), CSE-7 (1,8) y el testigo H-392 (1,8) (Cuadro 2).

La altura de planta de las CSE exploratorias fueron menores que la del testigo comercial H-392 (305 cm) y en 15 de ellas, la altura fue estadísticamente ( $p < 0,05$ ) menor que la del testigo. Entre poblaciones, el sintético Morado 2 tuvo la altura de planta más baja con 233 cm y fue significativamente menor ( $p < 0,05$ ) que el de las poblaciones Morado original (270 cm) y Morado 1 (272 cm). Además, el sintético Morado 2 tuvo menor media en altura de mazorca y 0 % de acame de raíz y tallo, lo cual refleja el trabajo de conversión y selección que se ha hecho en la población B-49N (Cuadro 2).

### Características físicas del grano de cruza simples exploratorias

En las muestras de las CSE seleccionadas, la humedad del grano (H) osciló de 9,8 a 10,8 %, valores menores que la humedad comercial que es entre 12 y 14 %. El peso hectolítrico (PH) varió entre 71 (CSE17) y 77 kg hL<sup>-1</sup> (CSE13). En la densidad verdadera (DV) los valores oscilaron entre 1,138 (CSE-20) y 1,214 g/cm<sup>3</sup> (CSE13), que corresponden a maíces de grano suave o harinoso. El peso de cien semillas (P100S) se ubicó entre 23,0 (CSE13) y 28,5 g (CSE14), valores que indican que son granos de tamaño pequeño. En el índice de flotación (IF) los valores extremos en las CSE se registraron en la CSE13 (43,5) y CSE17 (90,5), esta variación indica que son granos de

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

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

Genealogía	REND (kg ha <sup>-1</sup> )	Floración (d)		Altura (cm)		Acame (%)		Plantas (%)		Calificación	
		Mas	Fem	Pta	Maz	Raíz	Tallo	Horras	Carbón	Maz	Pta
CSE 9	6099	86	85	288	136	0,0	2,4	0,0	0,0	1,7	2,5
CSE 17	6032	84	87	295	138	0,0	1,4	0,0	2,0	1,8	2,3
CSE 7	5821	87	87	290	129	0,0	3,3	0,0	0,0	1,8	2,7
CSE2	5577	83	83	281	135	0,0	3,0	0,0	0,0	2,7	2,7
CSE 16	5228	80	80	287	117	0,0	0,0	4,0	0,0	1,7	3,2
CSE 14	5056	87	88	268	124	0,0	4,0	0,0	0,0	1,7	2,0
CSE 1	4960	87	86	275	135	0,0	0,0	2,0	0,0	1,8	3,5
CSE 4	4849	89	85	257	115	0,0	0,0	2,0	0,0	1,7	2,3
CSE 11	4842	84	83	276	127	0,0	0,0	0,0	0,0	1,7	3,3
CSE 12	4563	86	86	278	132	0,0	4,2	3,0	0,0	1,8	3,3
CSE 19	4523	86	88	268	110	0,0	0,0	6,0	0,0	1,8	2,5
CSE 21	4470	88	91	295	135	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	1,7
CSE 5	4395	88	87	257	120	0,0	1,7	1,0	0,0	2,0	3,2
CSE 8	4258	87	86	271	127	0,0	0,0	7,0	0,0	1,7	2,8
CSE 13	4035	87	87	257	113	0,0	2,0	8,0	0,0	1,8	2,8
CSE 6	4018	87	86	263	118	0,0	1,3	1,0	1,0	2,0	2,3
CSE 20	4011	86	89	277	121	0,0	1,3	4,0	0,0	1,5	1,8
CSE 18	3829	88	91	280	119	0,0	0,0	7,0	0,0	1,8	2,2
CSE 3	3771	86	87	258	123	0,0	0,0	4,0	0,0	1,7	2,3
CSE 15	3685	90	90	268	126	8,3	0,0	1,0	1,0	1,8	2,2
Morado original	3807	85	89	270	129	0,0	2,4	8,0	0,0	2,0	3,7
Morado 2	3505	86	87	233	106	0,0	0,0	0,0	0,0	2,2	3,7
Morado 1	3410	85	88	272	129	0,0	1,3	7,0	0,0	2,0	2,8
H-392 Testigo	6208	89	91	305	117	0,0	0,0	5,0	0,0	2,0	1,8
VC-42 x Kulli	4508	74	75	261	117	0,0	16,2	0,0	0,0	2,3	3,2
DMS (0,05)	1794	4	2	22	ns	ns	6,7	ns	ns	0,5	0,9

CSE = cruza simple exploratoria; REND = rendimiento de grano al 12 % de humedad (kg ha-1). Mas = masculina; Fem = femenina; Pta = planta; Maz = mazorca; La calificación de mazorca (Maz) y planta (Pta) se hizo con una escala visual, donde: 1 = lo mejor y 5 = lo peor, DMS = diferencia mínima significativa. / CSE = exploratory single cross; REND = grain yield 12 % moisture (kg ha-1). Mas = male; Fem = female; Pta = plant; Maz = ear. The grading of ear (Maz) and plant (Pta) was done on a visual scale, where: 1 = the best, and 5 = the worst, DMS = least significant difference.

dureza suave a muy suave. El tipo de endospermo (TE), en porcentajes de endospermo harinoso, se situó entre 50 y 100 % (Cuadro 3).

### Contenido de pigmentos en grano y olote

En cinco de las nueve muestras de mazorcas de CSE, el grano estaba pálido en sus caras germinal y abgerminal, lo cual ocasionó que el contenido de pigmentos fuera bajo (Figura 1). Esto demuestra que, la selección visual por uniformidad e intensidad del color de la mazorca debe complementarse con la inspección del color en ambas caras del grano.

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

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

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

‡ El número entre paréntesis corresponde al número de parcela de la muestra en la segunda repetición. H = humedad (%), PH = peso hectolítrico (kg hL<sup>-1</sup>), DV = densidad verdadera (g cm<sup>-3</sup>), P100S = peso de cien semillas (g), IF = índice de flotación (%), TE = tipo de endospermo (porcentaje de endospermo harinoso). / ‡ The number in parentheses corresponds to the plot number of the sample in the second repetition. H = moisture (%), PH = hectoliter weight (kg hL<sup>-1</sup>), DV = true density (g cm<sup>-3</sup>), P100S = weight of one hundred seeds (g), IF = flotation index (%), TE = endosperm type (percentage of floury endosperm).



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

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

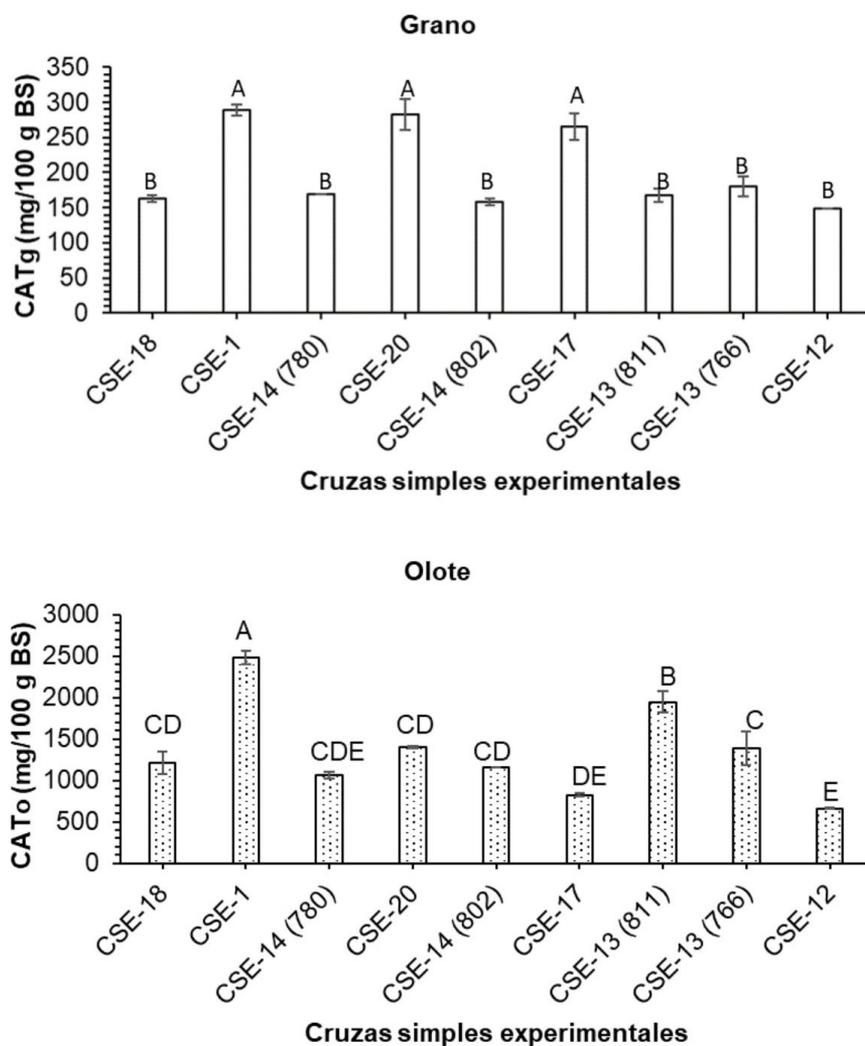
En las poblaciones moradas, el testigo VC-42 x Kulli presentó la mayor segregación a color, lo cual era de esperarse, pues corresponde a la F2 de la cruce. Además, el color morado del grano del progenitor VC-42 está en capa de aleurona y tiene olote blanco. En las poblaciones Morado original y Morado 1 se observó mayor concentración de color que en Morado 2, pero, las tres poblaciones segregaron a colores rojo y rojo oscuro. La población Morado 2 (B-49N C1) tuvo mazorcas más cortas, pero, más uniformes y con mayor número de hileras que Morado 1 y la original (Figura 2).



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

**Figure 2.** Color segregation in Morado original, Morado 1, and Morado 2 (B-49 C1) maize populations. Tepatitlán, Jalisco, México. 2022.

En las parcelas muestreadas de las CSE, el contenido de antocianinas en grano (CATg) varió de 148,65 a 288,95 mg ECG/100 g Base Seca (BS). Las CSE1, CSE20 y CSE17 tuvieron el CATg más alto. El contenido de antocianinas en olote (CATo) osciló entre 663,91 y 2481,66 mg ECG/100 g BS, en donde sobresalieron las CSE1 y CSE13 (811) con CATo superior o cercano a 2000 mg/100 g de muestra seca, contenido equivalente a 2 % de antocianinas. Las CSE1, CSE20 y CSE17 sobresalieron en CATg, pero, sólo la CSE1 tuvo valores altos en CATo. En la CSE17 se combinaron potencial alto de rendimiento de grano y CATg, pero bajo CATo, caso contrario, en la CSE20 tuvo rendimiento de grano y CATo bajos, pero alto CATg (Figura 3, Cuadros 2 y 3). En las cruces en donde se muestrearon dos parcelas, una de cada repetición, en la CSE14 (780) y CSE14 (802), tuvieron valores similares en CATg y CATo, pero, en la CSE13 (811) y CSE13 (766), el CATg de la CSE13 (766) fue 7,7 % mayor que el



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

**Figure 3.** Total anthocyanin content in grain (CATg) and cob (CATo) of experimental purple maize single crosses (CSE). In parentheses, the CSE plot number of the second repetition.

CATg de CSE13 (811); pero, el CATo de la CSE13 (811) fue 40,6 % mucho mayor que el CATo de CSE13 (766) y sus diferencias fueron significativas (Figura 3, Cuadros 2 y 3).

## Discusión

Las diferencias estadísticas significativas entre los híbridos en REND, precocidad, tolerancia al acame y calificación de planta y mazorca (Cuadro 1), muestran que, entre los grupos de líneas aleatorias que conformaron las CSE, hubo suficiente variabilidad genética que permitió observar diferencias en planta y mazorca. De donde se infiere

que, las poblaciones que integran el patrón heterótico B-49N × B-41N con grano y olote morado tiene variabilidad genética suficiente para formar híbridos comerciales competitivos de maíz morado. Pero, para confirmarlo, habrá que ampliar el tamaño de muestra de las líneas en cada población y evaluar en más años y localidades.

Las CSE-19, CSE-17 y CSE-7 estadísticamente fueron iguales ( $p < 0.05$ ) que el testigo de grano blanco H-392 (Cuadro 2) en REND, este resultado es importante debido a que: a) es posible obtener híbridos comerciales competitivos con grano y olote morado del patrón heterótico B-49N × B-41N en formación, b) la aportación que habrá de antocianinas de los híbridos liberados, y c) la efectividad lograda en la selección del color, dada la complejidad en la herencia del grano y olote morado (Harakotr et al., 2016; Xu et al., 2015). Las CSE, poblaciones y testigos no expresaron todo su potencial de REND, debido a que en la etapa R3 hubo un periodo de sequía, lo cual reduce el llenado del grano, tal como lo señalan Ibarra et al. (2020) y Sheoran et al. (2022).

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

La restricción de humedad, en la época de lluvias, será un factor importante para definir el ciclo de madurez de los híbridos del patrón heterótico B-49N × B-41N, pues si hay restricción de humedad en el llenado del grano, los genotipos precoces expresan más su potencial de rendimiento que los tardíos, tal fue el caso de la cruza VC-42 × Kulli, que tuvo entre 12 y 15 días menos a FM y FF que H-392 y algunas CSE, y su media de rendimiento fue estadísticamente igual (Cuadro 2), lo cual se debió a las correlaciones negativas y significativas ( $p < 0,05$ ) encontradas, entre las CSE, del REND con la FM ( $r = -0,480$ ) y FF ( $r = -0,482$ ). Resultados similares en líneas de maíz sometidas a condiciones de restricción hídrica han sido reportados previamente (Rebolloza et al., 2020). La restricción de humedad en líneas de maíz redujo el rendimiento de grano en 77.7 % (Ibarra et al., 2020) y 40 % (Rebolloza et al., 2020).

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

La sanidad de las CSE, evaluada mediante la calificación de planta (CPL) y mazorca (CMZ), es una medida de adaptación del patrón heterótico B-49N × B-41N, es importante porque este tiene 25 % de germoplasma nativo exótico, el cual presenta problemas de sanidad de planta y mazorca fuera de su área de adaptación (Mendoza-Mendoza et al., 2020). Con base en la CPL y CMZ (Cuadro 2), hay más avance en sanidad de mazorca que en planta, debido a que, en el proceso de conversión a grano y olote morado, la sanidad mazorca ha sido el principal criterio de selección porque el pericarpio y olote son las estructuras de interés económico por concentrarse ahí las antocianinas. Para sanidad de planta solo se han eliminado familias acamadas o muy enfermas.

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

El peso hectolítrico (PH) de CSE-14 (780 y 802) y CSE-13 (811 y 766) fue mayor o igual a  $75 \text{ kg hL}^{-1}$ , similares a los híbridos comerciales de grano azul (Gerde et al., 2016; Urias-Lugo et al., 2015), el PH estuvo asociado con valores altos de densidad verdadera (DV), aunque, los valores de DV registrados en las CSE señaladas, son menores que los informados de  $1,25$  y  $1,27 \text{ g/cm}^3$  para maíces de grano dentado (García-Lara et al., 2019). Para el peso de 100 semillas (P100), las CSE analizadas se clasificaron como de grano pequeño, tamaños que son deseables para extracción de pigmentos (Arellano et al., 2021). El P100 está dentro del intervalo requerido,  $21,6$  a  $34,5 \text{ g}$ , para maíces destinados a la molienda seca (Macke et al., 2016).

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

Con base en la variación observada en concentración de antocianinas de CSE,  $148,65$  a  $288,95 \text{ mg ECG/100 g}$  en CATg y  $663,91$  a  $2481,66 \text{ mg ECG/100 g BS}$  en CATo, se considera que es posible obtener híbridos con alta concentración de antocianinas del patrón heterótico B-49N  $\times$  B-41N, pues, tres de las nueve muestras de CSE en CATg de grano, y dos de nueve CSE en CATo olote, estuvieron dentro de los intervalos de CATg y CATo de maíz morado peruano informados por Aguilar-Hernández et al., (2019). las cruza CSE17 y CSE13 (766), cuyos CATo fueron menores que  $1000 \text{ mg ECG/100 g BS}$  (Figura 3), resultaron similares al CATo de  $854 \text{ mg ECG/100 g BS}$  registrado en un híbrido de maíz morado italiano (De Nisi et al., 2021).

No hubo asociación definida entre el CATg y CATo y REND alto entre las muestras evaluadas de las CSE (Cuadro 1 y Figura 3), lo cual indica cierta independencia entre los genes que controlan el CATg y CATo. Se ha encontrado que en la síntesis de antocianinas del grano y olote morado participan genes de los cromosomas 6 y 9 con efectos epistáticos, en el incremento de antocianinas en grano fueron más importante los efectos aditivo  $\times$  dominante y para el olote aditivo  $\times$  aditivo (Xu et al., 2015). En el caso del olote, los efectos genéticos aditivos fueron importantes para aumentar la concentración del CTAo, al respecto Khamphan et al. (2020), incrementaron el CATo en cinco poblaciones mediante selección masal, estos resultados permitirán mejorar los criterios actuales de selección en B-49N y B41N.

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

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

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

## Conclusiones

En el patrón heterótico de maíz morado B-49N × B-41N hubo mejoras en rendimiento de grano, tolerancia al acame y precocidad. Se obtuvieron cruzas exploratorias más precoces de tres a cuatro días, con rendimiento de grano y acame similar al testigo comercial de grano blanco, pero, con grano y olote morado.

No hubo una tendencia definida de asocio en el contenido alto de antocianinas en grano y olote con rendimiento de grano elevado en las muestras analizadas de las cruzas simples exploratorias. La dureza del grano se clasificó como suave a muy suave.

## Referencias

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

- Jun, X., Rui-Zhi, X., Wang-Feng, Z., Ke-Ru, W., Peng, H., Bo, M., Ling, G., & Shaokun, L. (2017). Research progress on reduced lodging of high-yield and-density maize. *Journal of Integrative Agriculture*, 6, 2717-2725. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\)61785-4](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61785-4)
- Khamphan, P., Lomthaisong, K., Harakotr, B., Scott, M. P., Lertrat, K., & Suriharn, B. (2020). Effects of mass selection on husk and cob color in five purple field corn populations segregating for purple husks. *Agriculture*, 10(8), Article 311. <https://doi.org/10.3390/agriculture10080311>
- Ledesma-Miramontes, A., Salinas-Moreno, Y., Ramírez-Díaz, J. L., & Alemán-de la Torre, I. (2022). Contenido de antocianinas en mestizos de maíz morado sometidos al proceso de perlado del grano. *Acta Fitogenética*, 8(1), 59.
- Macke, A. J., Bohn, O. M., Rausch, D. K., & Mumm, H. R. (2016). Genetic factors underlying dry-milling efficiency and flaking-grit yield examined in the US maize germplasm. *Crop Science*, 66, 2516-2526.
- Márquez, S. F. (1990). Backcross theory for maize. I. Homozygosis and heterosis. *Maydica*, 35, 17-22.
- Mendoza-Mendoza, C. G., Mendoza-Castillo, M. del C., Delgado Alvarado, A., Castillo-González, F., Kato-Yamakake, T. A., & Cruz Izquierdo, S. (2017). Antocianinas totales y parámetros de color en líneas de maíz morado. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 40, 471-485.
- Mendoza-Mendoza, C. G., Castillo-González, F., Sánchez-Ramírez, F. J., Delgado-Alvarado, A., & Pecina-Martínez, A. (2019).** Agronomic performance and grain yield of Mexican purple corn populations from Ixtenco, Tlaxcala. *Maydica*, 64(3), 1-9.
- Paulsmeyer, M., Chatham, L., Becker, T., West, M., West, L., & Juvik, J. (2017). Survey of anthocyanin composition and concentration in diverse maize germplasms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(21), 4341-4350. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b00771>
- Ramírez-Díaz, J. L., Chuela-Bonaparte, M., Vidal-Martínez, V. A., Vallejo-Delgado, H. L., Ramírez-Zamora, R., Peña-Ramos, A., Ortega-Corona, A., Córdova-Orellana, H., Morfín-Valencia, A., Gómez-Montiel, N. O., Caballero-Hernández, F., Ramírez-Márquez, M., Vázquez-Carrillo, M. G., Ruíz-Corral, A., Ron-Parra, J., Sánchez González, J. J., & Soltero-Díaz, L. (2010). H-377. *Híbrido de maíz de grano blanco para riego y buen temporal para la zona centro occidente de México* (Folleto Técnico No. 3). Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.
- Ramírez-Díaz, J. L., Ledesma-Miramontes, A., Vidal-Martínez, V. A., Gómez-Montiel, N. O., Ruiz-Corral, J. A., Velázquez-Cardelas, G. A., Ron-Parra, J., Salinas-Moreno, Y., & Nájera-Calvo, L. A. (2015). Selección de maíces nativos como donadores de características agronómicas útiles en híbridos comerciales. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 38, 119-131.
- Ramírez-Díaz, J. L., Salinas-Moreno, Y., Alemán-de la Torre, I., Esquivel-Esquivel, G., & Vidal-Martínez, V. A. (2017). Formación de un patrón heterótico de maíz para producción de pigmentos en olote y el pericarpio del grano. *Acta Fitogenética* 4 (1), 19.
- Ramírez-Díaz, J. L., Salinas-Moreno, Y., Alemán-de la Torre, I., Bautista-Ramírez, E., & Esquivel-Esquivel, G. (2019). Aptitud combinatoria en líneas de maíz pigmentado. *Acta Fitogenética*, 6(1), 30.
- Ramírez-Díaz, J. L., Salinas-Moreno, Y., Ledesma-Miramontes, A., & Alemán-de la Torre, I. (2022). Formación de un patrón heterótico de maíz morado: Generación de la población B-49N. *Acta Fitogenética*, 8, 54.
- Rebolloza, H. H., Cervantes, Y. F., Broa, E., Bahena, G., & Olvera, A. (2020). Fenotipo y selección de líneas S1 segregantes de maíz tolerantes a estrés hídrico. *Biotecnia*, 22(3), 20-28. <http://biotecnia.unison.mx>

- Ron-Parra, J., Morales-Rivera, M. M., Jiménez-López, J., Jiménez-Cordero, Á. A., De la Cruz-Larios, L., & Sánchez-González, J. J. (2016). Maternal genetic inheritance of red pericarp in the grain of maize. *Maydica Electronic Publication*, 61, 1-5. <http://core.ac.uk/download/pdf/230662999.pdf>
- Salinas, M., Y., Sanchez, G. S., Rubio, D. H., & Ramos, N. L. (2005). Characterization of anthocyanin extracts from maize kernels. *Journal of Chromatographic Science*, 43, 483-487.
- Salinas, M., Y., & Vázquez C., G. (2006). *Metodologías de análisis de la calidad nixtamalera-tortillera en maíz* (Folleto Técnico No. 23). Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.
- Salinas M., Y., G. Esquivel E., J. L. Ramírez D. & I. Alemán de la T. 2016. *Selección y evaluación de poblaciones nativas de maíz con potencial para la extracción de pigmentos*. Folleto Técnico Núm. 7. Campo Experimental Centro-Altos de Jalisco. Tepatitlán de Morelos, Jalisco. México. 44p.
- Salinas-Moreno, Y., Esquivel-Esquivel, G., Ramírez-Díaz, J. L., Alemán-de la Torre, I., Bautista-Ramírez, E., & Santillán-Fernández, A. (2021). Selección de germoplasma de maíz morado (*Zea mays* L.) con potencial para extracción de pigmentos. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 44, 309-321. <https://doi.org/10.35196/rfm.2021.3.309>
- Sheoran, S., Kaur, Y., Kumar, S., Shukla, S., Rakshit, S., & Kumar, R. (2022). Recent advances for drought stress tolerance in maize (*Zea mays* L.): Present status and future prospects. *Frontiers in Plant Science*, 13, Article 872566. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.872566>
- Statistical Analysis System. (2009). SAS/STAT® 9.2 User's guide (2<sup>nd</sup> ed.). SAS Institute Inc. <https://bit.ly/3XkrzFE>
- Urias-Lugo, D. A., Heredia, J. B., Valdez-Torres, J. B., Muy-Rangel, M. D., Serna-Saldivar, S. O., & García-Lara, S. (2015). Physical properties and chemical characterization of macro-and micronutrients of elite blue maize hybrids (*Zea mays* L.). *Cereal Research Communications*, 43(2), 295-306. <https://doi.org/10.1556/crc.2014.0044>
- Xu, D., Mei, X., Yu, T., Yuan, W., Gu, D., Liu, X., & Cai, Y. (2015). Further mapping and epistasis analysis of two quantitative trait loci of kernel and cob anthocyanin contents in maize. *Crop Science*, 56, 12-18. <https://doi.org/10.2135/cropsci2015.04.0201>.