



**Centro de Investigación y de Estudios Avanzados Del
Instituto Politécnico Nacional**

Unidad Irapuato

Departamento de Ingeniería Genética

**Vitamaíz: Caracterización Agronómica y Bioquímica de Líneas de
Maíz Convertidas a Azul**

Tesis que presenta

I.B.T. Edgar Adalberto Cubedo Ruiz

Para obtener el grado de

Maestría en Ciencias

En Especialidad de Biotecnología de Plantas

Director de Tesis

Dr. Axel Tiessen Favier

Irapuato, Guanajuato, México

Agosto del 2016

El presente trabajo fue realizado en el laboratorio de Metabólica y Fisiología Molecular bajo la dirección del Dr. Axel Tiessen Favier del departamento de Ingeniería Genética, perteneciente al CINVESTAV, Unidad Irapuato; con el asesoramiento de la Dra. Dora Linda Asunción Guzmán Ortiz y el Dr. Ruairidh Sawers.

Dedicatoria

A mi hermosa esposa **Bianca Celene** y a mis hijos **Alexander** y **Luna** por ser los pilares que sostienen mi vida y el motivo que me impulsa a ser mejor persona.

A mis padres **Adalberto** y **María de Jesús** por ser un apoyo incondicional. No importando la situación siempre están ahí para motivarme y darme los mejores consejos.

A mi querida suegra **Josefina** por apoyarnos siempre en cada paso que hemos decidido dar mi familia y yo.

Agradecimientos

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por la beca que me otorgaron para poder realizar mis estudios de Maestría.

Al **Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)** por el apoyo otorgado durante mis estudios de Maestría.

Al Dr. **Axel Tiessen** por aceptarme en su laboratorio y darme la oportunidad de aprender muchas cosas, no solamente científicas, sino también de la vida.

A mis asesores de tesis la **Dra. Doralinda Guzmán** y el **Dr. Ruairidh Sawers** por sus comentarios, aportaciones y apoyo durante el desarrollo de este proyecto de maestría.

Al **Dr. Andrés Estrada Luna** por los valiosos consejos académicos y técnicos, por ayudar siempre e inclusive robarle tiempo a sus actividades para que yo pudiera completar las mías satisfactoriamente.

Al Ing. **Benjamín Barrales** por todo el soporte que me otorgaste durante este proyecto y por la buena voluntad que siempre mostraste para con un servidor y mi familia.

Al **M.C Obed Ramírez** por ser parte fundamental durante este periodo de formación y por convertirte en un apoyo constante en mi aprendizaje de estadística.

A la **M.C Cristal López** por el apoyo brindado siempre, pero en especial por tu soporte durante la etapa final de mi estancia en Irapuato.

A todos los miembros del laboratorio de **Metabolómica y Fisiología Molecular (Shey, Irving, Cecy, Sharon, Adrian, Issi, Maye, Erandi y Martín)** por sus consejos, ayuda y permitirme formar parte de sus vidas durante estos dos años.

A mis amigos y compañeros **Juan José Pacheco, Guillermo Fuentes, Luis Peinado, Ramón Garza y Juan Manuel Ramírez**, que a pesar de todo y de la distancia fueron un gran apoyo durante este proceso.

A todos los amigos que conocí en Irapuato, **Viviana, Erasmo, Ismael, Orlando, Sergio, Coyol, Carlos, Aníbal, Julio, Mary, Omar, Arlet, Karina, Ahiko, Bello**, por convertirse en otra familia y por compartir conmigo y mi esposa aquellos momento inolvidables de mis hijos.

Índice General

| | |
|--|-------------|
| ÍNDICE GENERAL | V |
| ÍNDICE DE FIGURAS | IX |
| ÍNDICE DE TABLAS | XI |
| RESUMEN | XIII |
| ABSTRAC | XIV |
| | |
| INTRODUCCIÓN | 15 |
| | |
| 1.1 IMPORTANCIA DEL MAÍZ EN MÉXICO Y EL MUNDO | 15 |
| 1.2 ORIGEN Y DIVERSIDAD DEL MAÍZ | 16 |
| 1.3 LOS MAÍCES PIGMENTADOS | 16 |
| 1.4 LAS ANTOCIANINAS EN MAÍZ | 18 |
| 1.4.1 PROPIEDADES FUNCIONALES DE LAS ANTOCIANINAS | 18 |
| 1.4.2 ESTRUCTURA Y TIPOS DE ANTOCIANINAS PRESENTES EN EL GRANO DEL MAÍZ | 19 |
| 1.5 SÍNTESIS DE ANTOCIANINAS EN MAÍZ | 20 |
| 1.5.1 GENES ESTRUCTURALES DE LA PRODUCCIÓN DE ANTOCIANINAS EN EL MAÍZ | 21 |
| 1.5.1.1 Síntesis de chalconas | 22 |
| 1.5.1.2 Síntesis de Flavonoles | 22 |
| 1.5.1.3 Formación de antocianinas (glicosiladas) | 23 |
| 1.5.2 GENES REGULADORES DE LA PRODUCCIÓN DE ANTOCIANINAS EN EL MAÍZ | 23 |
| 1.5.3 GENÉTICA DE LA ACUMULACIÓN DE ANTOCIANINAS EN EL MAÍZ | 23 |
| 1.6 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL GRANO DE MAÍZ | 24 |
| 1.6.1 ANTECEDENTES DE CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DEL GRANO DE MAÍZ AZUL | 25 |
| 1.6.2 ANTECEDENTES DE ANÁLISIS QUÍMICOS DE GRANO DE MAÍZ AZUL | 26 |
| 1.7 MEJORAMIENTO GENÉTICO DE LOS MAÍCES CRIOLLOS AZULES | 28 |
| 1.7.1 MÉTODOS DE CONVERSIÓN GÉNICA | 30 |
| 1.7.2 HETEROSIS | 31 |
| 1.7.3 GRUPOS HETERÓTICOS | 32 |
| 1.8 PROYECTO VITAMAÍZ | 33 |
| | |
| 2. JUSTIFICACIÓN | 34 |
| | |
| 3 HIPÓTESIS | 36 |
| | |
| 3.1 PREGUNTAS EXPERIMENTALES | 36 |
| | |
| 4 OBJETIVOS | 37 |
| | |
| 4.1 OBJETIVO GENERAL | 37 |
| 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 37 |

5 MATERIALES Y MÉTODOS **38**

| | |
|--|-----------|
| 5.1 LOCALIZACIÓN DE LOS SITIOS DE ESTUDIO | 38 |
| 5.2 AVANCE ENDOGÁMICO DE LÍNEAS HOMOCIGOTAS Y GENERACIÓN DE HÍBRIDO SIMPLES. | 38 |
| 5.3 MATERIAL GENÉTICO ESTUDIADO | 38 |
| 5.4 CARACTERIZACIÓN AGRONÓMICA. | 42 |
| 5.4.1 DISEÑO DE PARCELAS EXPERIMENTALES Y MANEJO AGRONÓMICO. | 42 |
| 5.4.2 VARIABLES Y REGISTRO DE DATOS DE CAMPO | 42 |
| 5.4.3 SELECCIÓN DE HÍBRIDOS SOBRESALIENTES | 44 |
| 5.5 ESTIMACIÓN DE LA ACG Y ACE | 45 |
| 5.6 ESTIMACIÓN DE LA RELACIÓN ENTRE LA ACG DEL RENDIMIENTO DE GRANO Y LA ACG DE LOS COMPONENTES DEL RENDIMIENTO | 45 |
| 5.6 IDENTIFICACIÓN DEL GRUPO HETERÓTIMO POR MEDIO DEL MÉTODO HSGCA | 46 |
| 5.7 CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DEL GRANO | 46 |
| 5.7.1 PREPARACIÓN DE MUESTRAS DE GRANO PARA EL ANÁLISIS DE METABOLITOS | 48 |
| 5.7.2 DETERMINACIÓN DE METABOLITOS EN GRANO | 48 |
| 5.7.2.1 Determinación de azúcares solubles | 48 |
| 5.7.2.2 Extracción y determinación de almidón. | 50 |
| 5.7.2.3 Análisis de proteínas solubles totales | 51 |
| 5.7.2.4 Aminoácidos totales libres | 52 |
| 5.7.2.5 Antocianinas totales | 52 |
| 5.7.2.6 Fenoles libres y totales | 53 |
| 5.7.2.7 Capacidad antioxidante | 54 |
| 5.8 ANÁLISIS FÍSICO DEL GRANO | 55 |
| 5.8.1 PESO HECTOLÍTRICO | 55 |
| 5.8.2 DENSIDAD DEL GRANO | 55 |
| 5.8.3 PESO DE MIL GRANOS | 56 |
| 5.8.4 DUREZA DEL GRANO (METODOLOGÍA INDIRECTA MEDIANTE ÍNDICE DE FLOTACIÓN) | 56 |
| 5.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS | 57 |
| 5.9.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO: CARACTERIZACIÓN AGRONÓMICA | 57 |
| 5.9.1.1 Estadísticos de líneas Vitamaíz e híbridos seleccionados | 57 |
| 5.9.1.2 Estadísticos de híbridos simples Vitamaíz | 57 |
| 5.9.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO: CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA | 58 |

6 RESULTADOS **60**

| | |
|---|-----------|
| 6.1 CARACTERÍSTICAS MORFO-AGRONÓMICAS DE LÍNEAS ENDOGÁMICAS VITAMAÍZ | 60 |
| 6.1.1 RENDIMIENTO <i>PER-SE</i> Y FLORACIÓN DE LÍNEAS ENDOGÁMICAS | 60 |
| 6.1.2 CARACTERES DE LA PLANTA | 62 |
| 6.1.3 CARACTERES DE LA MAZORCA | 66 |
| 6.2 ANÁLISIS DE CRUZAS SIMPLE ENTRE LÍNEAS VITAMAÍZ | 70 |

| | |
|---|------------|
| 6.2.1 COMPORTAMIENTO DEL RENDIMIENTO DE GRANO Y SUS COMPONENTES DE LÍNEAS Y PROBADORES EN CRUZAMIENTOS SIMPLES | 70 |
| 6.2.2 APTITUD COMBINATORIA GENERAL DEL RENDIMIENTO DE GRANO Y SUS COMPONENTES | 75 |
| 6.2.3 RELACIÓN DEL EFECTO DE ACG ENTRE EL RENDIMIENTO DE GRANO Y SUS COMPONENTES | 78 |
| 6.2.4 APTITUD COMBINATORIA ESPECIFICA DEL RENDIMIENTO DE GRANO | 78 |
| 6.2.5 IDENTIFICACIÓN DE GRUPOS HETERÓTICOS POR MEDIO DE LOS EFECTOS COMBINADOS DE LA ACG Y ACE O HSGCA. | 82 |
| 6.2.6 SELECCIÓN DE HÍBRIDOS DE MAÍZ AZUL PROMISORIOS | 86 |
| 6.2.7 CARACTERIZACIÓN AGRONÓMICA DE LOS HÍBRIDOS VITAMAÍZ SELECCIONADOS | 87 |
| 6.2.7.1 Floración y características de la planta | 87 |
| 6.2.7.2 Variables del rendimiento y características de la mazorca | 90 |
| 6.3 CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE LÍNEAS HOMOCIGOTAS | 93 |
| 6.3.1. CUANTIFICACIÓN DE CARBOHIDRATOS | 93 |
| 6.3.2 CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS SOLUBLES Y AMINOÁCIDOS TOTALES LIBRES | 95 |
| 6.3.3 CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS NUTRACÉUTICOS. | 96 |
| 6.4 CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE HÍBRIDOS VITAMAÍZ. | 99 |
| 6.4.1 CARBOHIDRATOS | 99 |
| 6.4.2 PROTEÍNAS Y AMINOÁCIDOS | 102 |
| 6.4.3 COMPUESTOS FENÓLICOS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE | 103 |
| 6.5 CARACTERIZACIÓN DE LAS PROPIEDADES BIOFÍSICAS DE HÍBRIDOS VITAMAÍZ SELECCIONADOS | 106 |
| 6.5.1 PESO HECTOLÍTRICO | 106 |
| 6.5.2 PESO DE MIL GRANOS | 106 |
| 6.5.3 ÍNDICE DE FLOTACIÓN | 106 |
| 6.5.4 DENSIDAD DEL GRANO | 107 |
| 6.5.5 DESTINO INDUSTRIAL Y USOS FACTIBLES DE LOS HÍBRIDOS VITAMAÍZ | 109 |
| | |
| 7 DISCUSIÓN | 110 |
| <hr/> | |
| 7.1 CARACTERIZACIÓN AGRONÓMICA PER-SE DE LÍNEAS HOMOCIGOTAS VITAMAÍZ. | 110 |
| 7.2 EVALUACIÓN DEL ANÁLISIS GENÉTICO DE CRUZAS SIMPLES ENTRE LÍNEAS VITAMAÍZ: DISEÑO II DE CAROLINA DEL NORTE. | 112 |
| 7.3 APTITUD COMBINATORIA GENERAL | 112 |
| 7.4 APTITUD COMBINATORIA ESPECÍFICA Y ANÁLISIS GENÉTICO EN CRUZAMIENTOS SIMPLES | 113 |
| 7.5 GRUPOS HETERÓTICOS DE LAS LÍNEAS VITAMAÍZ | 114 |
| 7.6 DESEMPEÑO AGRONÓMICO DE HÍBRIDOS PROMISORIOS VITAMAÍZ | 115 |
| 7.7 CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE LÍNEAS E HÍBRIDOS VITAMAÍZ | 116 |
| 7.7.1 CARBOHIDRATOS SOLUBLES | 116 |
| 7.7.2 ALMIDÓN | 116 |
| 7.7.3 PROTEÍNAS SOLUBLES Y AMINOÁCIDOS TOTALES LIBRES | 117 |
| 7.7.4 ANTOCIANINAS | 118 |
| 7.7.5 FENOLES LIBRES Y TOTALES | 119 |

| | |
|---|------------|
| 7.7.6 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE | 119 |
| 7.8 PROPIEDADES BIOFÍSICAS DEL GRANO Y USOS POTENCIALES DE LOS HÍBRIDOS VITAMAÍZ | 120 |
| 8 CONCLUSIONES | 122 |
| 9 PERSPECTIVAS | 124 |
| 10 ANEXOS | 125 |
| 11 BIBLIOGRAFÍA | 136 |

Índice de Figuras

| | |
|---|-----|
| Figura 1. Datos de la producción emitida del grano de maíz de los 5 principales países productores (Promedio anual desde el 2009 al 2013) (FAO, 2015) _____ | 15 |
| Figura 2. Morfología del grano de maíz y estructuras principales que la conforman _____ | 18 |
| Figura 3. Estructura básica de los flavonoides. A y B son los anillos aromáticos unidos por el anillo de pirano C. Los números representan los carbonos de la molécula. Fuente: Martínez-Flórez, et al., 2002. _____ | 19 |
| Figura 4. Estructura química de las antocianidinas más comunes en el grano del maíz. Elaborado con base en Kong et al., (2003) y Salinas Moreno et al., (2013). _____ | 19 |
| Figura 5. Estructuras químicas de las antocianinas más abundantes en el grano de maíz de color azul. A) Cianidina-3-Glucosido; B) Cianidina-3-(6''-malonilglucosido). (Adoptado de Fossen et al., 2001). _____ | 28 |
| Figura 6. Mazorca y grano (a), y (b) polenta de la nueva variedad de maíz azul y la variedad amarilla tradicional. Fuente: Lago et al., 2014. _____ | 29 |
| Figura 7. Esquema del proceso de mejoramiento mediante conversión génica y selección recurrente para la obtención de líneas homocigotas de grano azul. El color de la elipse representa el color de la mazorca: Amarillo = Mazorca sin pigmento azul; Azul = Mazorca totalmente azul; Azul con blanco = mazorca azul con grano blanco y/o amarillo (segregantes) (Tomado de García, 2012). _____ | 31 |
| Figura 8. Procedimiento de cuarteo de granos de maíz para la obtención de muestras representativas. _____ | 48 |
| Figura 9. Sistema de enzimas acopladas para la determinación de glucosa, fructosa y sacarosa.. El proceso de cuantificación incluye tres reacciones principales: la invertasa digiere la molécula de sacarosa en glucosa y fructosa, las cuales son tomadas por la hexoquinasa (HK) para ser fosforiladas y formar glucosa-6-fosfato (G6P) y fructosa-6-fosfato (F6P), respectivamente. La fosfoglucoisomerasa (PGI) transforma la fructosa-6-fosfato (F6P) en glucosa-6-fosfato (G6P), y esta a su vez es transformada por la G6P deshidrogenasa (G6PDH) para reducir al NADP+ en NADPH. Por cada mol de hexosa se produce un mol de NADPH. _____ | 49 |
| Figura 10. Gráfico típico de la lectura de carbohidratos con el Software Gen 5. Los puntos muestran la absorbancia OD a 340 nm de las muestras a través del tiempo por segmentos de izquierda a derecha: A) Lectura de blanco, B) Actividad de la hexocinasa (Glucosa o almidón según la muestra), C) Fosfoglucoisomerasa (fructosa) y D) Invertasa (sacarosa). _____ | 51 |
| Figura 11. Determinación de la dureza del grano del maíz mediante el índice de flotación. _____ | 57 |
| Figura 12. Impacto de la ACG de los componentes del rendimiento sobre los efectos de ACG en la producción de grano. _____ | 78 |
| Figura 13. Efecto individual de la ACG y ACE de las líneas Vitamaíz con cada probador. a). ACG y ACE con VM311a; b). ACG y ACE con VM321a; c). ACG y ACE con VM451. _____ | 83 |
| Figura 14. Identificación de grupos heteróticos mediante el uso de los efectos de HSGCA obtenido de las cruza entre líneas Vitamaíz y los tres probadores _____ | 85 |
| Figura 15. Nivel de carbohidratos en el grano de 30 híbridos Vitamaíz (barras purpuras) y 9 genotipos usados como control (barras azules) (promedio \pm ee, n=4); la línea roja muestra la comparación con el control que registro el contenido más alto según el metabolito analizado y la línea amarilla con el híbrido comercial. ANOVA y prueba de Tukey-HSD $P \leq 0.05$. _____ | 101 |

Figura 16. Nivel de proteínas y aminoácidos en el grano de 30 híbridos Vitamaíz (Barras purpura) y 9 genotipos usados como control (Barras azules) (promedio \pm ee, n=4); la línea roja muestra la comparación con el control que registro el contenido más alto según el metabolito analizado y la línea amarilla con el híbrido comercial. ANOVA y prueba de Tukey-HSD $P \leq 0.05$. _____ 103

Figura 17. Nivel de compuestos nutracéuticos y capacidad antioxidante en el grano de 30 híbridos Vitamaíz (Barras purpura) y 9 genotipos usados como control (Barras azules) (promedio \pm ee, n=4); la línea roja muestra la comparación con el control que registro el contenido más alto según el metabolito analizado. ANOVA y prueba de Tukey-HSD $P \leq 0.05$. _____ 105

Figura 18. Características físicas del grano de 30 híbridos simples Vitamaíz (barras purpura) y 9 genotipos usados como control (barras azules) (promedio \pm ee, n=3); la línea roja representa el valor establecido por la norma NMX-FF034-2002 según la característica y la línea verde muestra el comparativo con el híbrido comercial. ANOVA, prueba de Tukey-HSD $P \leq 0.05$. _____ 108

Índice de Tablas

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Genes que participan en la biosíntesis de antocianinas en la planta de maíz. Elaborado con base en Petroni et al., (2014); Espinosa Trujillo, (2008) y Cone, (2007). | 21 |
| Tabla 2. Composición química aproximada de las partes principales del grano de maíz. | 25 |
| Tabla 3. Peso Hectolítrico e Índice de Flotación de tres razas de maíz estudiados para la industria de la nixtamalización (Salinas-Moreno, et al., 2003). | 25 |
| Tabla 4. Líneas Vitamaíz usadas como probadores en la generación de híbridos simples. | 38 |
| Tabla 5. Lista de Líneas homocigotas del proyecto Vitamaíz generadas en el ciclo 2013B y evaluadas en el 2014A. Todas las líneas fueron sembradas en un ensayo durante el verano de 2014 (siembra realizada en marzo y cosecha en Julio, en Vallarta Nayarit). | 39 |
| Tabla 6. Lista de híbridos simples Vitamaíz generados en el ciclo 2013B y evaluados en 2014. Todos los híbridos fueron sembrados simultáneamente a las líneas en ensayos adyacentes durante el verano de 2014. | 40 |
| Tabla 7. Variables experimentales y criterios de evaluación considerados en los ensayos de líneas e híbridos sembrados en Nayarit durante el ciclo 2014A. | 43 |
| Tabla 8. Híbridos del proyecto Vitamaíz seleccionados por rendimiento y características agronómicas. Estos materiales fueron obtenidos del ensayo VA14A-H que fue sembrado en Vallarta en el mes de marzo de 2014 y cosechado en Julio del mismo año. | 47 |
| Tabla 9. Lista de genotipos usados como control. | 47 |
| Tabla 10. Metabolitos cuantificados en el grano de los diversos genotipos estudiados. | 59 |
| Tabla 11. Rendimiento de grano y días de floración masculina y femenina de 52 líneas homocigotas del proyecto Vitamaíz evaluadas en el ciclo 2014A en el valle de Brucerías, estado de Nayarit. | 61 |
| Tabla 12. Promedios obtenidos de los caracteres de la planta de las líneas Vitamaíz. | 64 |
| Tabla 13. Promedios obtenidos de los caracteres de la mazorca en las líneas Vitamaíz | 68 |
| Tabla 14. Cuadrados medios del análisis de varianza y nivel de significancia estadística del rendimiento de grano y sus componentes, según el Diseño II de Carolina del Norte. | 70 |
| Tabla 15. Grupo de líneas Vitamaíz que fueron descartados para el análisis del comportamiento del rendimiento de grano y sus componentes, así como del análisis de ACG. | 71 |
| Tabla 16. Rendimiento de grano y sus componentes de las líneas hembra en promedio de cruza con tres probadores. | 72 |
| Tabla 17. Rendimiento de grano y sus componentes de los probadores en promedio de cruza con el total de líneas. | 73 |
| Tabla 18. Rendimiento de grano y sus componentes de 37 cruza sobresalientes. | 74 |
| Tabla 19. Valores estimados de Aptitud Combinatoria General (ACG) del rendimiento de grano y algunos de sus componentes de las líneas Vitamaíz. | 76 |
| Tabla 20. Valores estimados de ACG del rendimiento de grano y algunos de sus componentes de los tres probadores Vitamaíz. | 77 |
| Tabla 21. Rendimiento de grano y efectos de la Aptitud Combinatoria Específica (ACE) de todas las cruza realizadas entre líneas y probadores Vitamaíz. | 79 |
| Tabla 22. Cruza más sobresalientes en base a la Aptitud Combinatoria Específica (ACE). | 80 |
| Tabla 23. Estructura genética de las mejores cruza: (a) en base a los efectos más grandes de ACE y (b) en función de los mejores rendimientos de grano. | 81 |

| | |
|---|-----|
| Tabla 24. Estructura genética de las peores cruzas: (a) en base a los efectos más bajos de ACE y (b) en función de los peores rendimientos de grano. _____ | 82 |
| Tabla 25. Clasificación de líneas Vitamaíz en base a los grupos heteróticos “A”, “B” y “C”. _____ | 86 |
| Tabla 26. Mejores 30 híbridos seleccionados en base al índice de selección _____ | 87 |
| Tabla 27. Promedios de floración y características de la planta de los 30 híbridos Vitamaíz seleccionados. _____ | 89 |
| Tabla 28. Rendimiento y características de mazorca de los 30 híbridos Vitamaíz seleccionados. ____ | 92 |
| Tabla 29. Niveles de carbohidratos de líneas Vitamaíz y maíces control. _____ | 94 |
| Tabla 30. Niveles de proteínas, aminoácidos y compuestos nutraceuticos en líneas Vitamaíz y genotipos control. _____ | 97 |
| Tabla 31. Clasificación de híbridos Vitamaíz y maíces control en base a la dureza del grano. _____ | 107 |
| Tabla 32. Destino industrial ideal y/o uso potencial en base a características biofísicas del grano de híbridos Vitamaíz y los maíces control. _____ | 109 |

Resumen

En este estudio se caracterizaron agronómica, genética y bioquímicamente 52 líneas endogámicas azules derivadas del proyecto Vitamaíz del CINVESTAV-IPN Unidad Irapuato. Inicialmente, se llevaron a cabo dos experimentos de campo en Nayarit, México para conocer la diversidad genética entre los genotipos y para evaluar a través de los efectos de la aptitud combinatoria general y específica del (ACG y ACE), el desempeño de 153 cruzas derivadas de las líneas (hembras) con tres probadores (machos). Después de la caracterización agronómica se tomaron muestras de grano de cada línea y de las 30 mejores cruzas para determinar los niveles de azúcares solubles, almidón, proteínas, aminoácidos, fenoles libres, fenoles totales y antocianinas. Los niveles de los metabolitos cuantificados en las líneas e híbridos fueron comparados con los de diferentes maíces criollos y un híbrido comercial blanco. Finalmente, se evaluaron las propiedades biofísicas del grano de los híbridos seleccionados para determinar su posible uso en la industria de la nixtamalización. Se observó una amplia variabilidad genética entre las líneas endogámicas, la cual se vio reflejada en la expresión fenotípica de la planta, la mazorca y la productividad. La ACG resultó muy variable entre genotipos y sus efectos fueron significativos solamente en las líneas hembras. La ACE permitió identificar las líneas que mejor combinaron con los probadores utilizados como machos. También se observó que el rendimiento de grano de las mejores cruzas se debió a la combinación de los efectos genéticos aditivos (ACG) y no aditivos (ACE). El uso de probadores con diferente carga genética permitió separar en grupos heteróticos a las líneas Vitamaíz, utilizando como criterio la acción combinada de la ACG y ACE (HSGCA). De las 153 cruzas evaluadas se detectaron 30 híbridos promisorios que rindieron entre 5.6 y 9.0 t ha⁻¹. Estos rendimientos superan significativamente la productividad promedio en México de los maíces criollos azules, la cual oscila entre 2.5 y 3.5 t ha⁻¹. En cuanto a los niveles de los metabolitos en el grano se observó que las líneas e híbridos Vitamaíz mostraron más similitud con los maíces criollos que con el maíz blanco comercial. En contraste con esto, los niveles de los nutraceuticos cuantificados (antocianinas, fenoles libres y totales), tanto en las líneas como en los híbridos, fueron superiores a los maíces usados como control. Finalmente, el total de híbridos seleccionados mostraron características de grano requeridas para la industria de la nixtamalización y sus derivados. Estos resultados sugieren que la diversidad genética presente en las líneas de maíz azul Vitamaíz, contiene el potencial requerido para la generación de variedades híbridas que conjunten el alto valor nutraceutico con buenos rendimientos de grano y características agronómicas aceptables para zonas tropicales y subtropicales, así como las propiedades biofísicas del grano requeridas en la industria de la nixtamalización.

Abstrac

In this study we characterized the agronomic, genetic and biochemical performance of 52 blue endogamic genotypes derived from the Vitamaíz Project of CINVESTAV-IPN Unidad Irapuato. Initially, we established two field trails in Nayarit, México to know the genetic diversity among the genotypes and to evaluate the general and specific combining ability effects (GCA and SCA) in 153 crosses derived from the crosses among the lines (females) and three selected testers (males). After obtaining the agronomical data grain samples of each line and the best 30 crosses were taken to perform a biochemical analysis to determine the levels of soluble sugars, starch, proteins, aminoacids, free and total phenolic compounds, and total anthocyanins. Data from lines and hybrids were compared with several control genotypes including varies landraces and a white commercial hybrid. Finally, to know the potential use of the materials for the nixtamalization industry the biophysical properties of grains from selected hybrids were evaluated. We observed a broad genetic variability among inbred lines, which was reflected by the phenotypic expression of the plant and ear and the productivity. In general, the genotypes showed variable GCA, which resulted significant only in the lines used as females. The SCA allowed us to identify the best combinations among lines and testers. In addition to this, it was also noted that the grain yield of the best crosses was due to the combination of additive genetic effects (ACG) and no additives (ACE). The usage of testers with different genetic background separated the Vitamaiz lines in different heterotic groups, using the combined action of GCA and SCA (HSGCA). The 30 promising hybrids yielded between 5.6 and 9.0 t ha⁻¹, which was significantly higher than those obtained from Mexican Blue landraces that produced between 2.5 and 3.5 t ha⁻¹. In regarding to the levels of metabolites in the grain we observed that both lines and hybrids had similar concentrations to the landraces. However, the levels of nutraceuticals (anthocyanins, free and total phenols) were higher in the lines and hybrid than the corn used as control. Finally, the selected hybrids showed total grain characteristics required for nixtamalization industry and its by-products. The results suggest that the genetic diversity in the blue inbred Vitamaíz lines, have the potential to generate hybrid varieties with high nutraceutical value, good grain yields and acceptable agronomic characteristics for tropical and subtropical areas, as well as the biophysical grain properties required in the nixtamalization industry.

Introducción

1.1 Importancia del maíz en México y el mundo

El maíz (*Zea mays* L.) junto con otros cultivos ha formado parte del sustento de muchas civilizaciones. De los 194 países en el mundo, al menos 157 son productores de maíz (FAO, 2015), razón por la cual se ha convertido en el cereal de mayor importancia para la humanidad. Actualmente, con una producción 1000 millones de toneladas a nivel mundial, el maíz ha rebasado al arroz y al trigo con 277 y 302 millones de toneladas respectivamente (FAO, 2015). Las estadísticas mundiales señalan que desde el 2009 los principales productores de este cereal han sido los Estados Unidos de América, China, Brasil, Argentina y México (Figura 1) (FAO, 2015). Dentro de sus usos, el maíz sirve como materia prima para diversos productos destinados a la alimentación humana, pecuaria y acuícola. En adición a esto, en el sector industrial, el grano de maíz es usado para generar más de 3,000 productos (Utrilla Coello, 2007), entre ellos polímeros biodegradables y los biocombustibles, así como un sinnúmero de subproductos (Ortega Corona *et al.*, 2011)

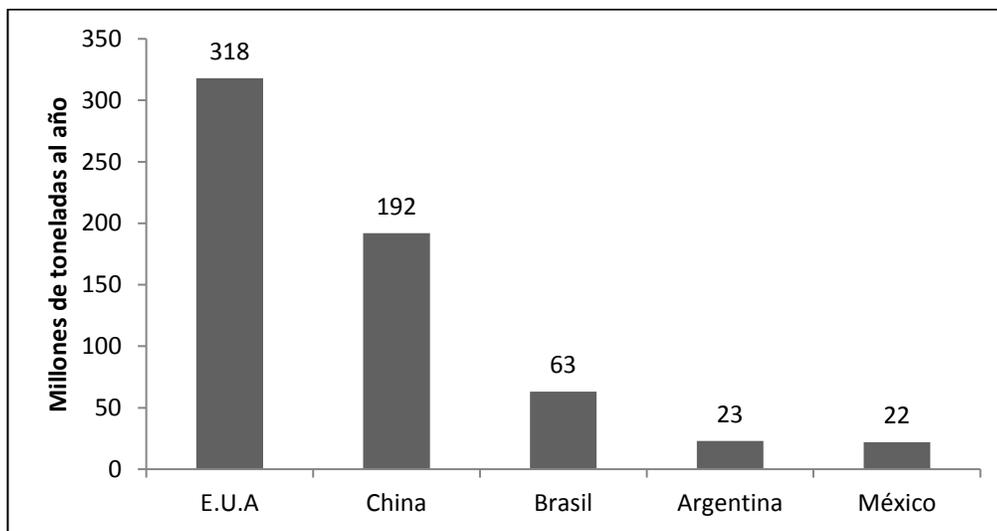


Figura 1. Datos de la producción emitida del grano de maíz de los 5 principales países productores (Promedio anual desde el 2009 al 2013) (FAO, 2015)

En México el maíz es el cultivo de mayor relevancia desde el punto de vista cultural, social y económico, ya que además de ser un patrimonio nacional y natural, indudablemente es la base de la alimentación y subsistencia del pueblo mexicano (Aragón Cuevas *et al.*, 2012). Existen diversas formas en las que el maíz es aprovechado, y en general, la amplia variedad de sus productos está asociada a los genotipos utilizados, así como a la adaptación que éstos tienen a las diversas regiones agrícolas de las que provienen (Mauricio Sánchez *et al.*, 2004). Se estima que el consumo de maíz en

México es principalmente en forma de tortilla y oscila entre los 300 y 400 gr diarios per cápita (Figueroa Cárdenas *et al.*, 2001). En Europa, Norteamérica y algunos países de Asia, el maíz no se usa para consumo humano, sino principalmente en forma de forraje, silo y alimento animal. Paradójicamente para un centro de origen como México, el nivel actual de producción nacional de maíz no es suficiente para abastecer el consumo interno (Ortega Corona *et al.*, 2011). Según la FIRA (FIRA, 2015), se requieren importar entre 7 y 10 millones de toneladas de maíz amarillo, el cual es utilizado principalmente en el sector pecuario e industrial.

Por el bajo costo y su aportación energética, basada principalmente en carbohidratos, el maíz es para muchos países de centro y Sudamérica una de las fuentes más importantes de nutrición junto con los frijoles y el chile (Grajales-García *et al.*, 2012). En otras partes del mundo, como en África, el maíz es la fuente principal de la alimentación humana, en especial para regiones marginadas en donde la mal nutrición es evidente. Convirtiéndose en tema de gran relevancia la generación de variedades de maíz biofortificadas y con actividad funcional que permitan mejorar la salud de los individuos que los consuman (Newell-McGloughlin, 2008).

1.2 Origen y diversidad del maíz

México es el lugar donde se originó y domesticó el maíz, así como el punto de distribución de esta planta hacia diversas partes del mundo (Ortega Corona *et al.*, 2011). La amplia generación de variantes en las características de la planta, mazorca y el grano del maíz se debió a un proceso de domesticación realizado por diversas etnias mesoamericanas (Johannessen *et al.*, 1970).

En México se han reportado 59 razas de maíz las cuales han sido agrupadas en base a caracteres morfológicos y genéticos dentro de siete grandes grupos raciales (Sanchez *et al.*, 2000). En cada grupo existe una amplia cantidad de variantes genéticas que están ligadas a las condiciones climáticas de producción y en gran medida, a la diversidad y usos del grano (Hernández & Esquivel, 2004). Una de las variantes más atractivas del maíz, es la pigmentación en el grano. A lo largo y ancho de México, se encuentra una amplia cantidad de genotipos de maíz con diversos colores, siendo los más característicos, los blancos, amarillos, rojos y azules (García Perea, 2013). Por otro lado, a nivel nacional se cuenta con una amplia diversidad de maíces, dentro de los cuales se encuentran los de uso especial, entre ellos el maíz dulce, pozolero, palomero y los pigmentados (Keleman *et al.*, 2013).

1.3 Los maíces pigmentados

Dentro de la gama de maíces de color, los azules son poseedores de un endospermo harinoso con niveles de proteínas y minerales superiores en comparación con el maíz blanco y amarillo (Betrán *et al.*, 1993). Por esta razón pueden ser aprovechados para realizar mejoramiento que involucre además

del rendimiento de grano, el valor nutricional (Jaradat & Goldstein, 2013). Los maíces pigmentados poseen compuestos como las antocianinas y los carotenos, considerados como nutraceuticos (Žilić *et al.*, 2012). A pesar de producirse en cantidades marginales, este tipo de vitaminas proporcionan valor agregado al grano, lo cual implica un precio de venta más alto por tonelada, generando así un mayor ingreso para los productores (García Casarrubias, 2012).

Las culturas indígenas mexicanas han reconocido el valor del maíz azul desde mucho tiempo atrás. Los aztecas utilizaban a los maíces de color con el culto a los dioses de la subsistencia, mientras que los mayas los relacionaron con los rumbos cósmicos, donde el maíz azul era el punto oeste (Arellano-Vázquez *et al.*, 2003). En la actualidad, el maíz azul que también agrupa los colores morado y negro, es producido principalmente por productores de subsistencia, quienes destinan la mayor parte de la producción al autoconsumo (Salinas-Moreno *et al.*, 2013). Siendo los productos derivados de la nixtamalización, como las tortillas, tlacoyos y gorditas, las principales formas en las que el maíz azul es consumido (Salinas-Moreno *et al.*, 2013).

Se sabe que los granos de maíz negros, azules, morados, rojos y rosados deben su coloración a las antocianinas, sustancias que representan uno de los principales grupos de pigmentos vegetales visibles al ojo humano. Las antocianinas además de ser colorantes naturales, poseen importantes actividades biológicas, por lo que son de interés para la industria alimenticia, farmacéutica y cosmética (Salinas-Moreno *et al.*, 2013). Los compuestos responsables de la coloración de los maíces amarillos y anaranjados, son los carotenos, sustancias de interés medico debido a que también poseen propiedades funcionales ligadas al mejoramiento de la vista en las personas (Suwarno *et al.*, 2014).

La acumulación de las antocianinas en el grano del maíz puede presentarse en el pericarpio, en la capa de la aleurona y en algunos casos en ambas estructuras al mismo tiempo (Figura 2) (Espinosa-Trujillo *et al.*, 2010). Los patrones de pigmentación forman parte de la variabilidad fenotípica y genética que existe en las razas mexicanas de maíz y que fue desarrollada a través del tiempo por los antiguos mesoamericanos, con fines alimenticios, ornamentales y ceremoniales (Johannessen, 1980). En la actualidad, a través de diversos estudios se ha determinado que dependiendo en cuál de las estructuras se da la acumulación del pigmento en el grano, será el posible uso de este tipo de maíces. Si la pigmentación se encuentra en la capa de la aleurona, el grano puede canalizarse al proceso de nixtamalización, para la elaboración de productos con la tonalidad azul-verdosa-grisácea, mientras que si se acumula en el pericarpio y la aleurona en altas concentraciones, este grano podría destinarse para la extracción de pigmentos (Salinas-Moreno *et al.*, 2013).

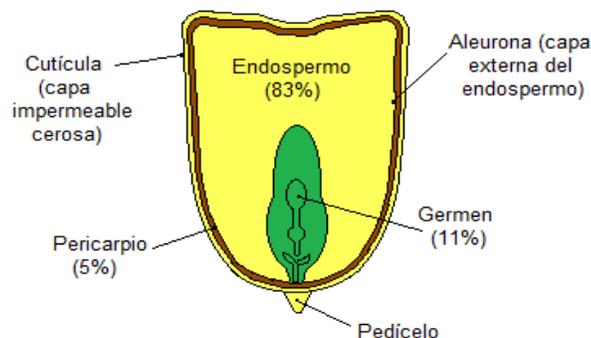


Figura 2. Morfología del grano de maíz y estructuras principales que la conforman

1.4 Las antocianinas en maíz

1.4.1 Propiedades funcionales de las antocianinas

Las antocianinas son compuestos químicos naturales pertenecientes al grupo de los flavonoides. Son los responsables de la coloración roja, púrpura y azul de la mayoría de los frutos, vegetales, flores y cereales. Las antocianinas juegan diversas funciones de importancia para las plantas, como la atracción y defensa contra insectos, incremento en la fertilidad del polen, protección contra luz UV-B, señalización en la ruta del etileno y modulación del transporte de auxinas en la base del pétalo de flores verdaderas (Falcone Ferreyra *et al.*, 2012; Kong *et al.*, 2003). En la actualidad el interés por estos colorantes se ha intensificado, debido a los beneficios en la salud humana relacionados con la prevención de diversos padecimientos crónicos como el cáncer, enfermedades cardiovasculares, envejecimiento celular, diabetes, cataratas e hipertensión (Jing, 2006).

Se ha comprobado el efecto anticancerígeno de extractos ricos en antocianinas provenientes del vino tinto (Kamei *et al.*, 1998). La fracción rica en antocianinas permitió la supresión de células derivadas del cáncer de colon y el cáncer gastrointestinal. La administración diaria de antocianinas proveniente del vino, también redujo significativamente los niveles de azúcares en la sangre de ratas. En otro trabajo se evaluó el efecto de 10,000 compuestos naturales sobre el cáncer de mama. Se comprobó que la Cianidina-3-Glucosido y la Peonidina-3-Glucosido, indujeron la apoptosis de células tipo HERE2 responsables de este tipo de cáncer (Liu *et al.*, 2013).

Se ha determinado que los maíces azules son superiores en minerales y flavonoides a los maíces blancos, por lo que se ha dicho que el maíz azul, nutricionalmente hablando, es mejor (Del Pozo-Insfran *et al.*, 2006). Por otra parte, los granos de maíz contienen una compleja mezcla de metabolitos, algunos con propiedades antimutagénicas (Pedreschi & Cisneros-Zevallos, 2007). Un extracto de maíz azul mostró dichas propiedades al inhibir la carcinogénesis de colon rectal en ratas macho (Hagiwara *et al.*, 2001). La inhibición se atribuyó a las antocianinas presentes en maíz azul, aunque no se descartó

la posibilidad de la acción de otros compuestos fenólicos y flavonoides en el extracto de maíz. La acción benéfica del maíz azul también se demostró por Toufektsian en el 2008, al observar que el consumo de harina de maíz azul en ratas, redujo el riesgo de infartos. Esta cardioprotección se asoció con el aumento de los niveles de glutatión del miocardio causado por las antocianinas (Toufektsian *et al.*, 2008).

1.4.2 Estructura y tipos de antocianinas presentes en el grano del maíz

La capacidad antioxidante de las antocianinas, se atribuye específicamente a la presencia de grupos hidroxilo y anillos aromáticos en la estructura química de estos compuestos (Ver figura 3). Las antocianinas de plantas están constituidas por una estructura básica de flavona que consta de dos anillos fenólicos (anillos A y B) unidos por un anillo de pirano heterocíclico (anillo C) (Salinas Moreno, *et al.*, 2013).

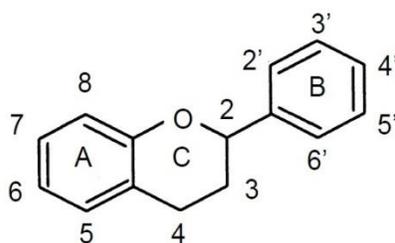
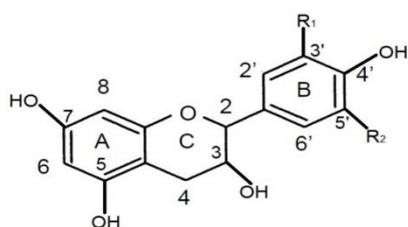


Figura 3. Estructura básica de los flavonoides. A y B son los anillos aromáticos unidos por el anillo de pirano C. Los números representan los carbonos de la molécula. Fuente: Martínez-Flórez, *et al.*, 2002.

Los flavonoides presentes en las plantas generalmente se encuentran de forma glicosilada, es decir unidos a uno o varios azúcares. A las moléculas con una unión, entre un flavonoide y una glucosa, se les denomina glicósidos, y cuando no hay moléculas de azúcares ligadas se les llama agliconas. En la naturaleza hay diversos tipos de agliconas, dentro de las cuales se encuentran las antocianidinas, que pueden variar dependiendo de la saturación y el tipo de sustituyentes en su anillo B (Rabassa *et al.*, 2012). Existen más de 19 antocianidinas presentes en las plantas de las cuales las más comunes son la cianidina (50%), pelargonidina (12%), peonidina (12%), delphinidina (12%), petudina (7%) y la malvidina (7%) (Figura 4) (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009).



| Antocianidina | Patrón de sustitución anillo B | |
|---------------|--------------------------------|----------------|
| | R ₁ | R ₂ |
| Cianidina | OH | H |
| Pelargonidina | H | H |
| Peonidina | OCH ₃ | H |
| Delfinidina | OH | OH |
| Petudina | OMe | OH |
| Malvidina | OMe | OMe |

Figura 4. Estructura química de las antocianidinas más comunes en el grano del maíz. Elaborado con base en Kong *et al.*, (2003) y Salinas Moreno *et al.*, (2013).

Cuando las antocianidinas se encuentran en su forma glicosilada, se convierten en antocianinas, las cuales se diferencian entre sí por diversos aspectos, como el número de grupos hidroxilo, la naturaleza y el número de azúcares unidas a la molécula, la posición de dicha unión y la naturaleza y número de ácidos alifáticos o aromáticos unidos a la azúcar en la molécula. Debido a las muchas variantes que se pueden presentar en la estructura de las antocianinas, se han reportado hasta 500 tipos diferentes, de los cuales, los provenientes de la cianidina, delfinidina y pelargonidina se encuentran con mayor frecuencia en la naturaleza (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009).

Los maíces de coloración azul, rosa, púrpura, roja y multicolor muestran una composición compleja en relación a los tipos de antocianinas presentes en el grano. Por ejemplo se encontraron de 17 a 28 tipos diferentes de estos compuestos en un grupo de maíces estudiados simultáneamente (Abdel-Aal *et al.*, 2006). Sin embargo, las antocianinas que se presentan principalmente en el maíz son la Cianidina-3-glucosido, Cianidina-3-malonil-glucósido, Peonidin-3-glucósido, Pelargonidina-3-glucósido y Cianidina-3-(3'', 6'' dimalonil)-glucósido (Dooner & Robbins, 1991). La proporción relativa de cada antocianina en granos del mismo color, puede modificarse por el efecto del genotipo y el ambiente (Jing *et al.*, 2007).

1.5 Síntesis de antocianinas en maíz

Los flavonoides son producto del metabolismo secundario de las plantas y constituyen una amplia gama de compuestos que se sintetizan por medio de una ruta ramificada. Durante su síntesis se producen distintas subclases de flavonoides, los cuales cumplen funciones específicas durante el desarrollo de la planta y el estado reproductivo (Lapčik, 2007). En diversas especies de plantas, los genes que codifican las enzimas de la ruta de la biosíntesis de flavonoides, se presentan de manera coordinada y tejido-específica (Du *et al.*, 2010). Los patrones de expresión mostrados entre las distintas especies de plantas, se presentan en relación con la variabilidad observada en los patrones de acumulación y las funciones biológicas de los flavonoides (Das *et al.*, 2012).

En el maíz existen dos rutas biosintéticas de flavonoides y en una de ellas se producen los compuestos 3-hidroxiflavonoides a los cuales pertenecen las antocianinas (Schijlen *et al.*, 2004). En las plantas del maíz maduras, las enzimas responsables de la biosíntesis de antocianinas pueden ser activadas en diversos tejidos donde son responsables de la pigmentación de hojas, tallos y anteras (Radicella *et al.*, 1992). Por otro lado, es posible tener pigmentación a causa de las antocianinas en cualquier tejido de la planta de maíz sin haber interferencia entre los *locis* responsables. Es decir la coloración que se manifiesta en la planta no interfiere con la del grano (Espinosa Trujillo, 2008).

1.5.1 Genes estructurales de la producción de antocianinas en el maíz

Los genes responsables de la acumulación de las antocianinas se clasifican en tres tipos de acuerdo a la función de sus productos moleculares: genes estructurales, factores reguladores y proteínas transportadoras (Tabla 1) (Cone, 2007). En maíz, los genes estructurales que codifican las enzimas que catalizan las reacciones de la ruta de las antocianinas son: *c2* (chalcona sintetasa), *chi* (chalcona isomerasa), *f3h* (flavanona 3-hidroxilasa), *a1* (dihidroflavonol-reductasa), *a2* (leucoantocianidina dioxigenasa o antocianina sintasa), *bz1* (UDP-glucosa flavonoide 3-O-glucosil transferasa) y *bz2* (glutation S-transferasa). Todos los genes mencionados anteriormente, en especial los alelos dominantes, son esenciales para la biosíntesis de antocianinas en cualquier parte de la planta (Piazza *et al.*, 2002).

El estudio de la ruta de biosíntesis de las antocianinas en plantas se ha dividido en tres fases dentro de las cuales intervienen cada uno de los genes estructurales: 1) síntesis de chalconas, 2) síntesis de flavonoles y 3) síntesis de antocianinas.

Tabla 1. Genes que participan en la biosíntesis de antocianinas en la planta de maíz. Elaborado con base en Petroni *et al.*, (2014); Espinosa Trujillo, (2008) y Cone, (2007).

| Gen | Nombre del gen | Alelos | Enzima | Tipo |
|--------------|-----------------------|---|--|------|
| <i>c2</i> | Colorlees-2 | C2,c2,C2-Idf,Whp | Chalcona sintetasa (CHS) | E |
| <i>Chi</i> | Chalcone isomerase-1 | Chi1,Chi2,Chi3,Po | Chalcona isomerasa (CHI) | E |
| <i>fht1</i> | Flavanone hydroxylase | Fht,fht | Flavanona 3-hidroxilasa (F3H) | E |
| <i>pr1</i> | Purple aleurone | P,p | Flavoide 3-hidroxilasa (F3'H) | E |
| <i>a1</i> | Anthocyanin-1 | A,a,A-b,a-B,A-d | Dihidroflavonol-reductasa (DFR) | E |
| <i>a2</i> | Anthocyanin-2 | A2,a2 | Leucoantocianidina dioxigenasa o antocianina sintasa (ANS) | E |
| <i>bz1</i> | Bronze-1 | Bz1,bz1 | UDP-glucosa flavonoide 3-O-glucosil transferasa (F3GT) | E |
| <i>bz2</i> | Bronze-2 | Bz2,bz1 | Glutation S-transferasa (GST) | T |
| <i>ZmMr4</i> | - | - | - | T |
| <i>c1</i> | Colored-1 | C1,c,Pl,C-I,C-S,c-p,c-n,c-m1,c-m2 | R2R3-MYB | R |
| <i>pl1</i> | Purple leaf-1 | P11-Blotched | R2R3-MYB | R |
| <i>r1</i> | Red | R-r,R-g,r-g,r-r,R-st,R-sc,R-mb, R-ni, Lc,Sn,S | bHIH-MYC | R |
| <i>b1</i> | Booster-1 | B-Perú, B-Bolivia | bHIH-MYC | R |
| <i>p1</i> | Pericaro color-1 | P1-wr,P1-ww,P1-vv | R2R3-MYB | R |
| <i>in1</i> | Intensifier | In,in | bHIH-MYC | R |
| <i>Pac1</i> | Pale aleurone-1 | Pac,pac | WD40 | R |

Tipo: Tipo de función del gen; E=estructural, T=transportador y R=Regulador.

1.5.1.1 Síntesis de chalconas

La ruta de las antocianinas, inicia con la biosíntesis de chalconas, catalizado por la chalcona sintetasa (CHS, EC 2.3.1.74). La CHS condensa tres unidades de acetato, derivadas de la Malonil CoA con una molécula de 4-Cumaril CoA mediante acciones descarboxilantes (Hatayama *et al.*, 2006; Schijlen *et al.*, 2004) liberando tres moléculas de CO₂. El tetracétido resultante es un compuesto intermediario y se cierra para formar 2',4',4',6'-tetrahidroxilchalcona, también conocida como chalcona naringenina (Springob *et al.*, 2003). La chalcona naringenina es el sustrato requerido para los siguientes pasos de la ruta biosintética.

1.5.1.2 Síntesis de Flavonoles

La **chalcono isomerasa (CHI, EC. 5.5.1.6)** cataliza una reacción intramolecular para cerrar el anillo C de la chalcona naringenina. Con esto se logra la isomerización de la chalcona para dar lugar a la naringenina. A partir de la naringenina la ruta biosintética se ramifica en tres direcciones, cada una encausada hacia la síntesis de un tipo de antocianina (Petersen *et al.*, 2010; Schijlen *et al.*, 2004). Esta ramificación ocurre por la participación de tres enzimas hidroxilasas, que usan la naringenina como sustrato como se describe a continuación:

La enzima flavonoide-3-hidroxilasa (F3H, EC. 1.14.11.9) cataliza la estero-hidroxilación de la (2S)-naringenina y del (2S)-eridictiol para la formación de (2R, 3R)-dihidrocaempferol y (2R, 3R)-dihidroquercetina, respectivamente, compuestos también llamados dihidroflavonoles. El dihidrocaempferol es precursor de las antocianinas tipo pelargonidina (Petersen *et al.*, 2010; Springob *et al.*, 2003).

La flavonoide-3'-hidroxilasa (F3'H, EC. 1.14.13.21) hidroxila el carbono 3' del anillo B de la naringenina y del dihidrocaempferol para producir eridictiol y dihidroquercetina, respectivamente, los cuales son los precursores de las antocianinas tipo cianidina (Hoshino *et al.*, 2003).

La enzima **flavonoide-3',5'-hidroxilasa (F3'5'H, EC. 1.14.13.88)** hidroxila el anillo B del dihidrocaempferol y de la dihidroquercetina en las posiciones 3'-5', dando lugar a la dihidromircetina, precursora de las antocianinas del tipo delphinidina. El dihidrocaempferol que no es hidroxilado por F3'H y F3'5'H, funciona como precursor de las antocianinas del tipo pelargonidina a través de la enzima dihidroflavonol 4-reductasa (Ben *et al.*, 2002; Springob *et al.*, 2003).

Por acción de las enzimas flavonoide hidroxilasas, se determinan los tres sustratos que darán origen a los tres tipos de antocianinas en la célula. Por medio de la enzima **dihidroflavonol-4-reductasa (DFR, EC. 1.1.1.219)** los dihidroflavonoles (dihidrocaempferol, dihidroquercetina y

dihidromiricetina) sufren una reducción estereo específica para dar lugar a las leucoantocianidinas: leucopelargonidina, leucocianidina y leucodelfinidina, respectivamente (Schijlen *et al.*, 2004).

1.5.1.3 Formación de antocianinas (glicosiladas)

Para la conversión de los tres tipos de leucoantocianidinas en antocianidinas se requieren de varias reacciones. La enzima antocianidina sintetasa (ANS, EC, 1.14.11.19) produce la oxigenación del carbono 3 de las 2R, 3S, 4S-cis-leucocianidinas (Nakajima *et al.*, 2006; Saito & Yamazaki, 2002; Shimada *et al.*, 2005)

La enzima **flavonoide-3-O-glucosiltransferasa (UF3GT, EC, 2.4.1.115)** agrega una glucosa derivada de la uridina difosfo glucosa (UDP-Glucosa) hacia el grupo hidroxilo del carbono 3 de las antocianidinas, produciéndose así las moléculas de antocianinas (Ben *et al.*, 2002; Schijlen *et al.*, 2004).

1.5.2 Genes reguladores de la producción de antocianinas en el maíz

Los genes estructurales son activados de manera coordinada a nivel transcripcional por medio de la acción de tres tipos de proteínas regulatorias, las MYB, MYC y una proteína llamada WD40. Las proteínas MYB son codificadas por los genes *colorless1 (c1)*, *purple plant1 (pl1)* y *pericarp color1 (p1)*; en el caso de las proteínas MYC, los genes responsables de su expresión son *booster1 (b1)* y *red plant color1 (r1)*; finalmente la proteína WD40 es expresada por el gen *pale aleurone color1 (pac1)* (Petroni *et al.*, 2014). La acción regulatoria de las tres clases de genes fue sugerida en un principio por medio de evidencias genéticas y bioquímicas, que posteriormente fueron confirmadas por medio de la clonación de los genes y estudiando directamente sus funciones regulatorias (Cone, 2007).

1.5.3 Genética de la acumulación de antocianinas en el maíz

La coloración del grano del maíz puede presentarse principalmente en dos estructuras, en el pericarpio y la capa de la aleurona. Los primeros estudios de tipo mendeliano realizados por Anderson y Emerson en 1923 indicaron que el color del pericarpio es un carácter dominante sobre el incoloro. Las combinaciones de los *loci* dan como resultado las siguientes coloraciones: PA=rojo, Pa=café, pA y pa=incoloro. Posteriormente, por medio de retrocruzas se descubrió que el *loci* P (*p1*) es indispensable para dar color del pericarpio y que es heredado al igual que en la planta, de forma independiente. Existen diversos alelos del gen P que son responsables de la coloración en tejidos diferentes al grano, y solo uno, el alelo *P-vv*, es el que ocasiona pigmentación en el pericarpio (Grotewold *et al.*, 1994).

Los genes R (*r1*) y C (*c1*) son indispensables y complementarios para la producción del color rojo en la aleurona. La expresión del gen Pr (*pr1*) también se requiere para la coloración purpura o azul en

el grano. Los diversos colores de la aleurona resultan de varias combinaciones genéticas y se pueden dar de la siguiente forma: Purpura o azul =PpRRCC, PpRrCC, PpRRCc y PpRrCc; indicando que al menos tres alelos deben estar en forma dominante para la producción de estos colores; Rojo=ppRRCC, ppRrCC, ppRRCc y ppRrCc; en este caso no debe estar el alelo dominante P pero si deben existir en forma dominante R y C. (Coulter, 2016).

En estudios posteriores se infirió que la capa de la aleurona tendrá pigmentación siempre y cuando se tengan las siguientes combinaciones de alelos: A1A1 A2A2 CC RR PP/pp BzBz/bzbz, donde los loci P y Bz pueden estar en condición homocigota dominante o recesiva (Rhoades, 1952). En un estudio más actual realizado por Dooner en 1983, se confirmó que la actividad de las enzimas chalcona sintetasa (CHS), la cual se expresa de forma temprana en la síntesis de antocianinas y la UDP-glucosa flavonoide 3-O-glucosil transferasa (UFGT) expresada más tarde dentro de la ruta, fueron dependientes de la presencia funcional de *c1* y *r1*. Con esto se confirmó que la síntesis de antocianinas en la aleurona requiere la expresión de los factores de transcripción *c1* y *r1*, y que además, todos los genes estructurales están regulados de forma coordinada.

1.6 Características físicas y composición química del grano de maíz

Las características físicas del grano dictan el uso final que se le dará al maíz (Agama-Acevedo *et al.*, 2011; Mauricio Sánchez *et al.*, 2004). Debido a que muchas de las propiedades físicas del grano de maíz se relacionan con el rendimiento y la calidad de sus productos, se vuelve imprescindible su caracterización para la industria (Rangel-Meza *et al.*, 2004). En México, llevar a cabo dicha caracterización es muy importante, ya que de esta forma es posible determinar la calidad y el uso dentro de los diferentes tipos de industria del maíz nixtamalizado del grano (Vázquez-Carrillo *et al.*, 2003).

Por otra parte, la composición química del grano establece su valor nutricional. Los principales componentes del grano de maíz son almidones, proteínas y lípidos, pero también contienen cantidades pequeñas de fibra cruda, azúcares, minerales y otras sustancias como carotenos y antocianinas, sustancias consideradas como fitoquímicos (Inglett, 1970).

Los niveles porcentuales de los compuestos químicos en el grano de maíz difieren considerablemente en sus diferentes estructuras (Tabla 2).

Tabla 2. Composición química aproximada de las partes principales del grano de maíz.

| Componente químico | Grano entero (%) | Pericarpio (%) | Endospermo (%) | Germen (%) |
|--------------------|------------------|----------------|----------------|------------|
| Proteínas | 9.6 | 3.7 | 8 | 18.4 |
| Grasa | 4.7 | 0.98 | 0.86 | 34.4 |
| Fibra cruda | 2.6 | 86.7 | 2.7 | 8.8 |
| Cenizas | 1.43 | 0.8 | 0.3 | 10.5 |
| Almidón | 72.4 | 7.3 | 87.6 | 8.3 |
| Azúcares | 1.94 | 0.34 | 0.62 | 10.8 |

La variabilidad presentada en la tabla anterior se debe a la expresión de las características genéticas del efecto del factor ambiental y puede influir en la distribución ponderal y en la composición química específica del endospermo, el pericarpio y el germen de los granos. Un aspecto importante del valor nutritivo, además de los factores genéticos y ambientales, también son los procedimientos para la elaboración de los alimentos a partir de un grano con determinadas propiedades físicas y químicas iniciales (Aragón Cuevas *et al.*, 2012).

1.6.1 Antecedentes de características físicas del grano de maíz azul

Los maíces deben reunir las características físicas necesarias en el grano para la elaboración de tortilla, como el Peso Hectolítrico (PH) y textura de grano duro. De acuerdo con la NMX-FF-034-2002-SCFI-1, (2002), los maíces aptos para la industria de productos nixtamalizados deben tener un Índice de Flotación (IF) máximo de 40% un PH mínimo de 74 kg/hl. En la gran cantidad de los estudios realizados, la mayoría de los maíces criollos azules poseen un PH dentro de lo establecido por la norma. Sin embargo, en relación su dureza muchos genotipos están fuera de la norma, de acuerdo con su IF (Serna Saldívar *et al.*, 2011).

En estudios realizados sobre las propiedades físicas de granos de maíz azul se ha dicho que su textura es más suave que la del maíz blanco (Del Pozo-Insfran *et al.*, 2006). Se ha reportado que en las razas de maíz los parámetros de PH e IF presentan en su mayoría valores de textura del grano que va de intermedia a suave. Tal es el caso de las razas Chalqueño y Azul de Chihuahua que mostraron valores característicos de maíces suaves, mientras la raza Bolita presentó una dureza de grano intermedio (Tabla 3) (Salinas-Moreno, *et al.*, 2003).

Tabla 3. Peso Hectolítrico e Índice de Flotación de tres razas de maíz estudiados para la industria de la nixtamalización (Salinas-Moreno, *et al.*, 2003).

| Raza de maíz | Lugar de procedencia | Peso Hectolítrico | Índice de Flotación |
|-------------------|----------------------|-------------------|---------------------|
| Chalqueño | Estado de México | 71.2 | 82.2 |
| Azul de chihuahua | Chihuahua | 75.2 | 80.3 |
| Bolita | Oaxaca | 74.9 | 57.1 |

En otros estudios realizados en maíces criollos originarios del estado de Oaxaca se encontró que por los valores de PH e IF en su mayoría podrían clasificarse con dureza de grano que van de intermedio a suave. Se concluyó que las razas Tuxpeño y Conejo fueron de textura intermedia, con rango de PH de 75 a 76 kg/hl e IF de 51 a 61%, mientras que la raza Zapalote chico resultó ser de grano suave con PH de 76 kg/hl e IF igual a 73% (Salinas Moreno *et al.*, 2013). También se han reportado maíces criollos con intervalos de textura dura hasta muy suaves, tal es el caso de la raza Olotillo (IF de 9 a 89), Tehua (IF de 14 a 80), Tuxpeño (IF de 7 a 86) y Zapalote grande (IF de 20 a 73) (Salinas *et al.*, 2012). Sin embargo, aun cuando se tengan maíces criollos azules con buenas propiedades de grano para la industria de la nixtamalización, las características agronómicas de estos son deficientes y el rendimiento de grano es muy inferior al de los maíces híbridos mejorados (Arellano Vázquez *et al.*, 2003).

1.6.2 Antecedentes de análisis químicos de grano de maíz azul

El maíz azul ofrece algunas características nutricionales interesantes, como una menor cantidad de almidón, un índice glucémico inferior al del maíz normal y una carga proteica superior al maíz blanco (Méndez-Montevalvo *et al.*, 2005). Adicionalmente, el maíz azul contiene una alta concentración de compuestos fenólicos, entre los cuales destacan las antocianinas y los ácidos fenólicos simples, sustancias responsables de la capacidad antioxidante y beneficios en la prevención de enfermedades degenerativas (Ramos-Escudero *et al.*, 2012)

En un estudio se mostró una preferencia hacia las tortillas de maíz azul debido a que tenían un sabor más dulce y mayor suavidad, comparados con las tortillas obtenidas de otros tipos de maíz (Cortés *et al.*, 2006). Esto se atribuyó a que los maíces azules analizados contenían un nivel mayor de azúcares solubles (2.1 a 4.5%), en comparación con los maíces blancos usualmente utilizados (1.3 a 2.6%) (Serna-Saldivar *et al.*, 2008). En otro estudio se evaluó la concentración de azúcares solubles en maíces que fueron convertidos a grano azul. En este caso los genotipos que fueron convertidos contenían niveles de azúcares solubles significativamente superiores a sus contrapartes de maíz blanco (Urias-Peraldí *et al.*, 2013).

Las proteínas son las macromoléculas más importantes desde el punto de vista nutricional. El maíz azul contiene albuminas, globulinas, glutelinas y prolaminas (Castañeda-Sanchez, 2011). De estas, las albuminas y globulinas, que son proteínas solubles, se encuentran en un rango de 3.81 a 4.41% en maíces de alta calidad proteica (Serna-Saldivar *et al.*, 2008). En un estudio realizado con maíces azules mejorados, reportaron un rango de proteínas solubles que varió de 2.1 a 4.1%. En relación a esto es conocido que tanto albuminas como globulinas contienen más aminoácidos esenciales comparados con las glutelinas y prolaminas (Urias-Peraldí *et al.*, 2013).

Los lípidos representan el 5% del maíz azul. Este valor no es muy diferente al de otros tipos de maíces analizados. La mayoría de estos lípidos son triglicéridos y se componen por los ácidos linoleico (50%), oleico (35%), palmítico (13%), esteárico (4%) y linoleico (3%). Además se considera que los lípidos de maíz azul son muy estables debido a sus altos niveles de antioxidantes naturales. Por lo tanto, el maíz azul es una excelente fuente de ácidos grasos y genera aceite de buena calidad (Castañeda-Sanchez, 2011).

En cuanto a los compuestos nutraceuticos asociados al maíz azul, no son necesariamente nutrientes, sino compuestos cuyo consumo ayuda a prevenir e incluso a tratar enfermedades crónico degenerativas (Newell-McGloughlin, 2008), como ya se ha mencionado anteriormente. Dentro del maíz azul unas de las sustancias consideradas como nutraceuticos son los compuestos fenolicos, los cuales se subdividen en tres principales categorías: simples, antocianinas y taninos condensados. Todos los maíces contienen ácidos fenolicos simples pero ningún tanino condensado y en el caso de los maíces de pigmentación azul, contienen cantidades significativamente mayores de fenolicos simples y por supuesto de antocianinas (Del Pozo-Insfran *et al.*, 2006; Lopez-Martinez *et al.*, 2009).

El ácido ferúlico es el compuesto fenólico simple presente en mayor cantidad en el maíz (Adom & Liu, 2014; De La Parra *et al.*, 2007) y se puede encontrar en forma ligada, libre o condensada (Acosta-Estrada *et al.*, 2014). El ácido ferúlico está regularmente ligado a la pared celular y aproximadamente el 75% está asociado a la capa de la aleurona del maíz (Sakakibara *et al.*, 2003). Se ha revelado que el contenido de ácido ferúlico es mayor en variedades de maíz azul comparado con genotipos amarillos y blancos (De La Parra *et al.*, 2007). A la vez, extractos de este tipo de compuestos fenolicos muestran un aumento considerable en la capacidad antioxidante de los maíces azules (Adom & Liu, 2014).

La Cianidina-3-Glucosido y la Cianidina-3-(6''-malonilglucosido) son las antocianinas con mayor abundancia en el maíz azul (Figura 5). Por otro lado, entre la diversidad de maíces criollos de color azul, el contenido de antocianinas puede variar enormemente. Ejemplo de esto es un estudio realizado en diversos maíces nativos azules, donde se detectaron niveles de antocianinas que iban desde 30 a los 180 mg/kg de muestra seca (Salinas Moreno *et al.*, 2013). En otro estudio el que se el que se involucraron 18 razas de maíz mexicano de pigmentación purpura, azul y negra, registraron niveles de antocianinas que oscilaron de 99.5 a 389 mg/kg (López-Martinez *et al.*, 2009). En cuanto a maíces azules mejorados, un grupo de líneas homocigotas, registraron contenidos de antocianinas de van des de los 15.4 hasta 696 mg/kg (Žilić *et al.*, 2012).

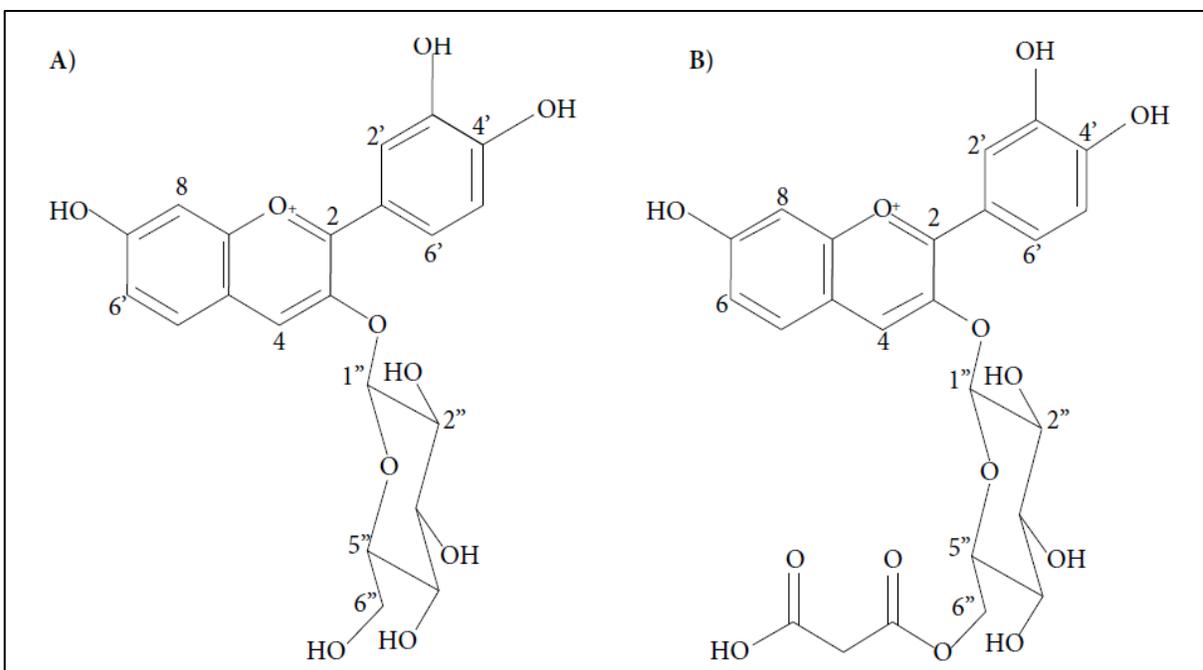


Figura 5. Estructuras químicas de las antocianinas más abundantes en el grano de maíz de color azul. A) Cianidina-3-Glucosido; B) Cianidina-3-(6''-malonilglucosido). (Adoptado de Fossen *et al.*, 2001).

1.7 Mejoramiento genético de los maíces criollos azules

En la Mesa Central se cultivan alrededor de 150,000 hectáreas de variedades criollas maíces de color, bajo condiciones de temporal (Antonio-Miguel *et al.*, 2004). En promedio el rendimiento de grano de las razas de maíz pigmentado oscila entre las 2 y las 3.5 t/ha⁻¹ (Espinosa Trujillo *et al.*, 2010), producción bastante pobre si se compara con la obtenida de los maíces híbridos mejorados. Los maíces criollos pigmentados presentan diversas deficiencias agronómicas como el acame y la alta susceptibilidad a enfermedades y plagas, además de no responder favorablemente a prácticas intensivas de producción, debido a su alto porte de planta y vigor vegetativo que no permite siembras a altas densidades (Betrán *et al.*, 1993).

La demanda de maíces pigmentados por los consumidores, en especial por el de color azul, ha ido incrementando gradualmente en los últimos años, debido al conocimiento de sus propiedades nutraceuticas. Los maíces azules también han alcanzado un alto valor agregado, lo que los hace poseer en ocasiones, hasta el doble del precio registrado por el maíz de grano blanco. Gracias a estas razones, en diversas partes del mundo como México, Estados Unidos y en algunos países de Europa y Asia, se ha incrementado el desarrollo de líneas élite e híbridos de maíz azul que combinen las cualidades del alto rendimiento de grano, junto con el alto valor nutraceutico.

En el caso específico de México, el mejoramiento del maíz azul no solamente debe estar enfocado a la alta productividad, y características agronómicas y nutraceuticas mejoradas. Sino también a la obtención de genotipos con propiedades requeridas por la industria de la nixtamalización, ya que la mayor parte del consumo de este cereal en el país, son derivados de esta industria.

Una de las alternativas que se ha seguido para la generación de variedades de maíz azul mejoradas, es conjuntando las características de los maíces criollos pigmentados con las de los maíces blancos y amarillos mejorados. Lo cual se ha hecho mediante la conversión de líneas elite de maíz blanco o amarillo a color azul, utilizando al maíz criollo como donador de los genes de pigmentación del grano. Ejemplo de esto es el desarrollo de una nueva variedad de maíz azul en Italia, creada específicamente para la preparación de polenta (Lago *et al.*, 2014). Por medio de retrocruzas y selección recurrente lograron fijar los genes de pigmentación en una línea de maíz amarillo mejorada (Figura 6). El producto final del trabajo realizado fue un maíz de grano azul con buenas características agronómicas y excelentes propiedades para la producción de polenta (Lago *et al.*, 2014).

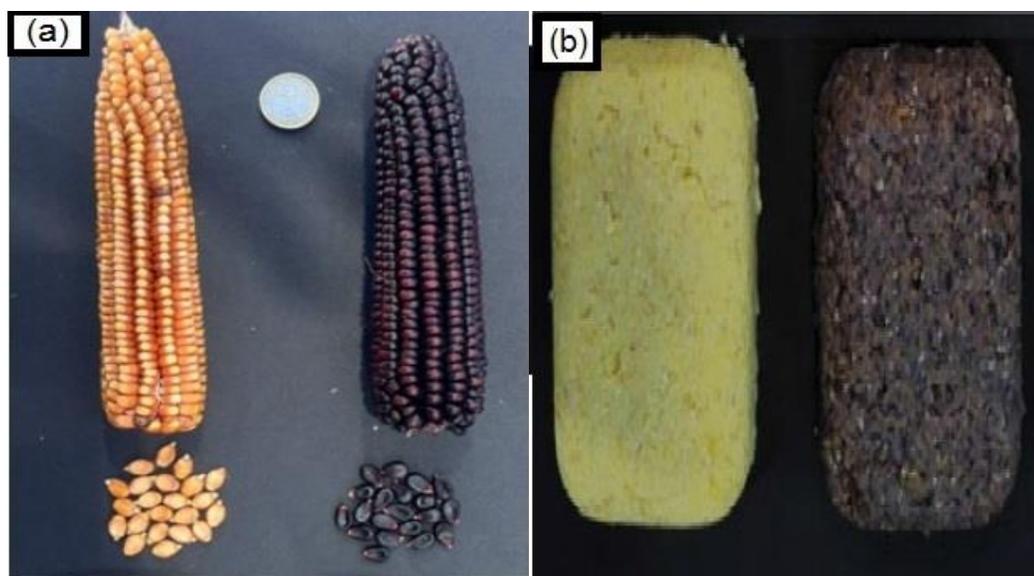


Figura 6. Mazorca y grano (a), y (b) polenta de la nueva variedad de maíz azul y la variedad amarilla tradicional. Fuente: Lago et al., 2014.

En otro trabajo realizado en Texas, E.U.A, desarrollaron seis híbridos experimentales de maíz azul a partir de líneas que fueron convertidas por medio de retrocruzas. Los nuevos híbridos mostraron alto potencial en el rendimiento y el grano resultante fue probado en la generación de tortillas y totopos. Aunque el color azul en los productos finales disminuyó, se determinó que es posible utilizar las nuevas variedades de maíz azul para la obtención de tortilla y productos derivados de la nixtamalización (Betrán *et al.*, 1993).

En México, 25 híbridos experimentales fueron desarrollados en el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias de Celaya, en el estado de Guanajuato. Dichos híbridos fueron generados mediante la incorporación del carácter azul en el grano, desde diferentes razas de maíz criollo azul, en germoplasma mejorado de maíz blanco subtropical. En el estudio se reporta que la productividad de los 25 híbridos experimentales oscilo entre las 5.6 y las 9.2 toneladas de grano por hectárea. Estos rendimientos son significativamente superiores comparados con el promedio obtenido en México por las variedades locales. Finalmente al evaluar las características físicas del grano y los híbridos experimentales mostraron ser viables para la industria de la masa y la tortilla (Urias-Peraldí *et al.*, 2013).

1.7.1 Métodos de conversión génica

La generación de nuevas variedades de maíz se da en tres pasos: primero se cruzan los genotipos considerados como los mejores parentales, posteriormente se recobra la progenie que conjuga lo mejor de los dos padres y finalmente se fijan las características por medio de autofecundaciones, para la generación de líneas homocigotas. En la práctica, el mejoramiento genético en maíz es un proceso largo y costoso, que requiere de paciencia, dedicación y experiencia en diversas áreas (genética, bioquímica, agronomía, etc). A continuación se presenta el proceso utilizado para la generación de variedades Vitamaíz, partiendo de dos parentales con características distintas, pero deseables en progenie final del proceso de mejoramiento.

El método de conversión genética es un proceso con el cual se transfiere algunas características de interés de un individuo Y a otro individuo X. A esta metodología también se le llama introgresión de alelos. Esto se logra por medio de retrocruzas recurrentes, lo cual se da cuando la generación F1 es cruzada repetidamente por varias generaciones con uno de los parentales (Moose & Mumm, 2008). Para ellos es importante que por medio de selección de semilla individual en cada generación segregante se vayan escogiendo las características de interés provenientes del parental Y (parental donador de alelos).

Las variedades mejoradas del proyecto Vitamaíz se han obtenido por medio de conversión génica. Los genotipos donadores de los alelos de pigmentación en el grano, fueron las variedades criollas Azul Xoxocotla y Azul Tepalcingo, mientras que los genotipos élite, fueron diversas líneas mejoradas del CIMMYT. Las variedades criollas fueron cruzadas con las líneas élite y las F1 resultantes fueron sembradas y cruzadas nuevamente con las variedades élite. De los genotipos derivados de la primer retrocruza, se seleccionaron las semillas de color azul más intenso provenientes de las mejores plantas. La semilla fue sembrada, se realizó una nueva retrocruza y se seleccionaron nuevamente las simillas más azules provenientes de las mejores plantas. Todo este proceso se repitió en 4-6 ocasiones para los

Para que sea útil la planta híbrida necesita exceder en cuanto a producción y productividad al mejor progenitor. Los efectos del vigor híbrido de las plantas se manifiestan en un mayor crecimiento vegetativo y reproductivo. El vigor híbrido se refleja en la altura de planta, tamaño de las hojas, el desarrollo de la raíz, el tamaño de mazorca o las inflorescencias, el número de granos y el tamaño de la semilla.

1.7.3 Grupos heteróticos

Los métodos de mejoramiento de maíz aprovechan las ventajas de la manifestación de la heterosis (Hallawer y Miranda, 1981). El establecimiento de patrones heteróticos entre variedades tiene implicaciones importantes para la selección de líneas como potencial para la generación de semilla híbrida. Por lo que una de las primeras decisiones que los mejoradores de maíz toman para formar sus cruzamientos, es el determinar el origen de las líneas. Si las aptitudes combinatorias de las líneas son conocidas, las cruas lógicas pueden ser producidas en el patrón heterótico de las líneas fuente (Hallawer y Miranda, 1981).

Un grupo heterótico es descrito como un conjunto de genotipos que manifiestan igual habilidad combinatoria y respuesta heterótica al ser cruzados con otro grupo de genotipos genéticamente distintos. Mientras que los patrones heteróticos hacen referencia a cruas específicas de dos grupos heteróticos distintos y que la combinarse generan híbridos de alto rendimiento (Scheffler, 2006). Por lo tanto, la clasificación o agrupamiento de líneas de maíz, y programación a partir de patrones heteróticos específicos, permite una mayor seguridad en la formación de híbridos sobresalientes (Barata & Carena, 2006). Debido a esto, cuando se está interesado en elegir un patrón heterótico para la formación de híbridos, lo más recomendable es hacerlo mediante la evaluación de los diferentes patrones ya desarrollados (De León *et al.*, 1999).

Existen diversos patrones heteróticos ya establecidos a nivel mundial, los cuales han sido utilizados para agrupar nuevas líneas endogámicas o germoplasma exótico. Tal es el caso del patrón heterótico, Reid x Lancaster, que se ha utilizado ampliamente en China y diversas partes del mundo para la generación de híbridos altamente productivos (Fan *et al.*, 2009; Ordás, 1991). Otro patrón heterótico que ha sido muy estudiado es el Dent x Flint. El cual ha permitido el agrupamiento heterótico de líneas endogámicas, y a partir de eso, la generación de híbridos altamente productivos en Norte América y Europa (Ordás, 1991).

El CIMMYT ha generado ~510 líneas endogámicas para regiones tropicales, subtropicales, y de valles altos con textura de grano dentado y cristalino llamadas CMLs (CIMMYT maize lines). Estas líneas han sido clasificadas en relación a su aptitud combinatoria y de heterosis dentro de los grupos A

y B (Vasal, et al., 1999). Algunas CMLs poseen una amplia base genética, lo que les permite combinar bien con diversos genotipos pertenecientes a un grupo heterótico distinto al cual estas pertenecen. Regularmente dichas líneas poseen una buena ACG y se utilizan como probadores de la habilidad combinatoria y para la clasificación en grupos heteróticos de germoplasma en diversos países de Latino América (González *et al.*, 2009; Malacarne & San Vicente G, 2003).

Entre las líneas élites utilizadas para la conversión genética del proyecto Vitamaíz se encuentran las CMLs 311 y 321, usadas como probadores de los grupos heteróticos A y B respectivamente. Los genotipos convertidos VM311 y VM321, versiones azules de las CMLs antes mencionadas, fueron utilizadas como probadores en la generación de híbridos simples del presente estudio.

1.8 Proyecto Vitamaíz

En el departamento de Ingeniería Genética de Cinvestav desde hace unos años se han estado desarrollando variedades de maíz mejoradas que conjugan las propiedades nutraceuticas de los maíces criollos azules con las características agronómicas y fenotípicas de variedades adaptadas a condiciones de cultivo intensivo, denominadas como variedades élite, provenientes del programa de mejoramiento CIMMYT. El proceso que se ha llevado a cabo para la obtención de las nuevas variedades de maíz azul ha sido mediante procedimientos tradicionales de mejoramiento. Para esto, se emplearon cruza entre variedades de maíz azul criollo, seleccionadas por su amplio uso en el mercado del estado de Morelos, así como su alto contenido de antocianinas en el grano con líneas de maíces blancos y amarillos del CIMMYT, seleccionadas por sus propiedades agronómicas y nutricionales.

Hasta el momento, las características que se han venido mejorando están: El color y la textura del grano para la industria de la nixtamalización, contenido de compuestos nutraceuticos como antocianinas y carotenos, calidad de proteína, menor porte de planta para siembra de alta densidad, resistencia a plagas y acumulación de aflatoxinas. Actualmente el proyecto Vitamaíz ha generado 52 líneas homocigotas de las cuales se han generado 30 híbridos prometedores en relación a sus características agronómicas y de rendimiento de grano.

Dentro de los beneficios perseguidos por el proyecto se encuentran, la generación de híbridos y OPVs que cumplan con los estándares agronómicos, alimentarios y legales, además de ofrecer al consumidor final múltiples beneficios a la salud. No descartando los beneficios que traerá a los productores la venta de grano con antocianinas para la industria alimentaria.

2. Justificación

México cuenta con una amplia diversidad genética de maíces nativos, la cual ha sido organizada dentro de 59 razas. En cada raza, existen muchas características que pueden ser utilizadas para la generación de nuevas variedades mejoradas. Algo que sin duda alguna impulsaría el desarrollo del sector agrícola e industrial. Por otro lado, los niveles producción de este cereal en México aumentarían, reduciéndose con esto los niveles de importación. En la actualidad una de las variantes con gran potencial de explotación son las variedades de maíz con pigmentación azul en el grano.

En los últimos años, los maíces de color azul han llamado fuertemente la atención en el medio científico debido a que poseen un alto contenido de antocianinas, las cuales son nutraceuticos con capacidad antioxidante y han sido relacionadas con la prevención de algunas enfermedades crónicas degenerativas como el cáncer de colon, enfermedades cardiovasculares, demencia senil, arterioesclerosis y la diabetes. En México se han realizado diversos estudios enfocados a la estimación de la capacidad antioxidante y de los niveles y tipos de antocianinas presentes en algunas razas de maíz azul. Desafortunadamente, debido a deficiencias agronómicas como el alto porcentaje de acame, la inadaptación a nuevos ambientes, la falta de sincronía floral y la susceptibilidad a plagas y enfermedades, la producción de grano de los maíces criollos azules es muy inferior comparada con los maíces comerciales mejorados. Por estos motivos los maíces de este tipo no son considerados en la producción intensiva, a pesar de que su precio en el mercado es hasta dos veces superior al del maíz blanco. Sin embargo, gracias a sus propiedades funcionales, la demanda de los maíces con antocianinas ha ido incrementando alrededor del mundo lo que ha ocasionado que el interés por la generación de líneas mejoradas para el desarrollo de híbridos pigmentados de alto rendimiento haya ido aumentando en los últimos años.

Aunque el principal objetivo del mejoramiento genético en maíz ha sido aumentar el rendimiento de grano, recientemente se ha acentuado el interés por generar variedades con un buen balance de compuestos químicos nutrimentales y nutraceuticos en el grano. Las diversas razas de maíz pigmentado pueden ser aprovechadas con el fin de obtener genotipos mejorados con alto valor nutraceutico y nutrimental. Así se atenderían las necesidades del sector agrícola, también se priorizaría las necesidades del consumidor final y de muchos que viven de la producción del maíz

En México, Centroamérica y muchas partes de Estados Unidos de América (E.U.A) el maíz es consumido principalmente de productos derivados de la industria de la nixtamalización. Esta industria impone ciertos parámetros de calidad en el grano con el objetivo de asegurar que su producto sea de buena calidad. Dentro de las características que exige se encuentran la dureza, que es medida indirectamente con el índice de flotación (IF) y el peso hectolítrico (PH). La norma mexicana NMX-

FF-034-2002-SCFI-1, (2002) que los maíces destinados al proceso de nixtamalización deben tener como mínimo un PH de 74 kg/hl y un porcentaje máximo de IF del 40%. Es decir, los granos con dichas características deben tener una textura dura. Los maíces criollos con pigmento azul, comúnmente son de textura harinosa, suaves y de bajo peso específico, lo que hace que sean inadecuados para la industria de la nixtamalización. A pesar de que el sabor y valor nutricional que proporcionan a productos como las tortillas y las botanas sean mejores comparados con los maíces híbridos blancos.

Capeland y McDonald (2001), mencionan que las semillas de variedades mejoradas son el medio para incrementar el rendimiento y calidad de las cosechas, al servir como puente entre el mejoramiento genético (la investigación) y el productor. En este sentido, tanto empresas semilleras privadas como instancias de gobierno deben ofrecer productos que estén más disponibles y accesibles a partir del desarrollo de atributos y servicios innovadores que no forman parte de la oferta actual.

En el CINVESTAV Irapuato, a través del proyecto llamado Vitamaíz se han generado líneas de maíz azul mediante la introgresión de alelos de maíces criollos en el fondo genético de líneas mejoradas del CIMMYT. El objetivo es producir híbridos y variedades de polinización abierta que cumplan con los estándares agronómicos y nutricionales demandados por los agricultores y la industria de la masa y la tortilla. El presente proyecto de maestría se centró en hacer una caracterización que nos permita conocer la versatilidad existente a nivel agronómico y bioquímico entre las líneas Vitamaíz. Pues de esto dependerá la obtención y el registro de variedades que estén por encima, o a la par de los maíces criollos e híbridos comerciales en relación al valor nutracéutico y de productividad. De esta manera, además de cumplir con los objetivos del proyecto Vitamaíz, se está haciendo una aportación al sistema de mejoramiento de maíz a nivel nacional, debido a que una de las prioridades del sector agrícola es precisamente aumentar la productividad de maíz mediante la adopción de nuevas tecnologías y la generación de nuevas semillas mejoradas.

3 Hipótesis

Dentro de las líneas de maíz azul generadas en el proyecto Vitamaíz, existe una amplia variabilidad genética que permitirá la generación de híbridos de buen rendimiento con características agronómicas superiores a las de los maíces criollos y con propiedades nutricionales superiores a los maíces blancos comerciales.

3.1 Preguntas experimentales

1. Considerando las características agronómicas, fisiológicas y de rendimiento de grano ¿Cuál es la variabilidad fenotípica *per-se* observada entre las líneas de maíz azul Vitamaíz?

2. En relación al vigor híbrido ¿Qué Aptitud Combinatoria General (ACG) y Específica (ACE) tienen las líneas Vitamaíz con respecto al rendimiento de grano y sus componentes?

3. En base a los efectos de ACG y ACE ¿Cuáles son los grupos heteróticos de las líneas Vitamaíz?

4. De los 153 híbridos simples (Línea x Probador) ¿Cuáles presentan las mejores características agronómicas bajo condiciones tropicales?

5. De los 30 híbridos simples seleccionados en base a rendimiento y características agronómicas ¿Cuáles poseen características del grano adecuadas para las diversas industrias alimenticias y de transformación de maíz?

6. ¿Las líneas azules derivadas del proyecto Vitamaíz poseen el mismo contenido de antocianinas y otros compuestos fenólicos en el grano entre sí? ¿Cómo se comportan los diferentes metabolitos en el grano?

7. ¿Son los niveles de metabolitos de interés como proteína, azúcares, aminoácidos y compuestos fenólicos (antocianinas, fenoles solubles y totales) de los genotipos Vitamaíz similares a los maíces criollos o a los maíces blancos comerciales? ¿Qué tan comparativo es el Vitamaíz comparado con los híbridos blancos?

4 Objetivos

4.1 Objetivo general

Caracterizar las variedades de maíz convertidas a grano azul en el proyecto Vitamaíz mediante un análisis agronómico y bioquímico.

4.2 Objetivos específicos

1. Caracterizar 52 líneas homocigotas Vitamaíz con relación a sus parámetros morfo-agronómicos y fisiológicos.
2. Generar 153 híbridos simples a través del esquema de cruzamiento línea por probador (x 3 machos). Incrementar semilla de líneas e híbridos
3. Evaluar las características agronómicas de los híbridos simples F1 por medio de un ensayo de rendimiento en el estado de Nayarit.
4. Estimar la aptitud combinatoria general (ACG) y específica (ACE) de las líneas Vitamaíz en relación al rendimiento de grano y sus componentes (longitud de mazorca, diámetro de mazorca, peso de mazorca, número de hileras en la mazorca y peso del grano).
5. Identificar en base a la respuesta de la ACE y ACG el patrón heterótico de cada una de las 52 líneas Vitamaíz.
6. Seleccionar los 30 híbridos con las mejores características agronómicas y de rendimiento.
7. Analizar y comparar los parámetros bioquímicos (metabolitos en grano) de las 52 líneas homocigotas y los 30 mejores híbridos con los de diversos maíces criollos pigmentados.
8. Analizar y comparar las propiedades biofísicas del grano de los 30 híbridos seleccionados con las de los maíces usados como controles (criollos y comerciales).

5 Materiales y Métodos

5.1 Localización de los sitios de estudio

La caracterización agronómica se condujo en el Campo Experimental la Esperanza, localizado en el valle de Bucerías en el estado de Nayarit, cerca de Puerto Vallarta (VA), a los 20°47'05.29" latitud norte y 105°14'33.61" longitud oeste a una altitud de 45 msnm. La zona pertenece al grupo climático cálido subhúmedo (Awo) con una precipitación media anual de 1293 mm. La localidad VA corresponde al mega ambiente de trópico y se distingue del mega ambiente subtropical (Guanajuato, Jalisco y Sinaloa) y de valles altos (Puebla, Hidalgo y Edo. Mex.)

La caracterización bioquímica del grano se realizó en el Laboratorio de Metabolómica y Fisiología Molecular del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, unidad Irapuato, ubicado en el Km 9.6 del libramiento norte en la carretera Irapuato-León.

5.2 Avance endogámico de líneas homocigotas y generación de híbrido simples.

Durante el ciclo Otoño-Invierno del año 2013 (VA13B) se sembró un vivero para el avance endogámico de 55 líneas homocigotas. El objetivo fue renovar y aumentar la semilla requerida para llevar a cabo el presente trabajo de tesis.

En el mismo ciclo se generaron 165 híbridos simples mediante cruces entre las 55 líneas utilizadas como hembras y tres machos. Los machos o probadores pertenecientes al programa de mejoramiento Vitamaíz fueron las líneas VM311a, VM321a y VM451, ya que sus fondos genéticos conforman los grupos heteróticos A y B del CIMMYT y pueden utilizarse para descifrar patrones heteróticos de nuevos genotipos (Tabla 4). En adición a esto, el genotipo VM451 se caracteriza por acumular antocianinas y carotenos en el grano.

Tabla 4. Líneas Vitamaíz usadas como probadores en la generación de híbridos simples.

| ID del Probador | Nombre del probador | Color de grano | Grupo heterótico | Contiene carotenos? |
|-----------------|---------------------|----------------|------------------|---------------------|
| P1 | VM311a | Azul | A | No |
| P2 | VM321a | Rosa/Purpura | B | No |
| P3 | VM451 | Café. | B | Sí |

5.3 Material genético estudiado

La caracterización agronómica realizada en este trabajo se condujo sobre las líneas e híbridos de los cuales se obtuvo semilla suficiente durante el ciclo 2013B. En total se estudiaron 52 líneas homocigotas y 153 híbridos simples, los cuales se enlistan en las tablas 5 y 6 respectivamente.

Tabla 5. Lista de Líneas homocigotas del proyecto Vitamaíz generadas en el ciclo 2013B y evaluadas en el 2014A. Todas las líneas fueron sembradas en un ensayo durante el verano de 2014 (siembra realizada en marzo y cosecha en Julio, en Vallarta Nayarit).

| ID_L | Nombre de línea | Origen | Color de grano |
|-------------|------------------------|---------------|-----------------------|
| L01 | VM264a | VA13B-L-01 | Azul |
| L02 | VM373 | VA13B-L-02 | Azul |
| L03 | VM311a | VA13B-L-03 | Azul |
| L04 | VM483a | VA13B-L-04 | Azul |
| L05 | VM343 | VA13B-L-05 | Azul |
| L06 | VM254a | VA13B-L-06 | Purpura |
| L07 | VM494a | VA13B-L-07 | Purpura |
| L08 | VM495 | VA13B-L-08 | Azul |
| L09 | VM349 | VA13B-L-09 | Negro |
| L10 | VM451 | VA13B-L-10 | Café |
| L11 | VM496 | VA13B-L-11 | Negro |
| L12 | MzDTPYF65 | VA13B-L-12 | Café |
| L13 | VM492a | VA13B-L-13 | Azul |
| L14 | MzATF112 | VA13B-L-14 | Azul |
| L15 | MzATF512 | VA13B-L-15 | Azul |
| L16 | MzATF521 | VA13B-L-16 | Azul |
| L17 | MzATF641 | VA13B-L-17 | Negro |
| L18 | MzATF1211 | VA13B-L-18 | Negro |
| L19 | MzATF1221 | VA13B-L-19 | Negro |
| L20 | MzATF1413 | VA13B-L-20 | Azul |
| L21 | MzDTPLPS111 | VA13B-L-21 | Azul |
| L22 | MzDTPLPS113 | VA13B-L-22 | Azul |
| L23 | MzDTPLPS222 | VA13B-L-23 | Azul |
| L24 | MzDTPLPS4111 | VA13B-L-24 | Azul |
| L25 | MzDTPLPS413 | VA13B-L-25 | Azul |
| L26 | MzDTPLPS831 | VA13B-L-26 | Azul |
| L27 | MzDTPYTL1212 | VA13B-L-27 | Azul |
| L28 | Mz491492 | VA13B-L-28 | Azul |
| L29 | MzLPSF86 | VA13B-L-29 | Azul |
| L30 | VMLPSF103 | VA13B-L-30 | Azul |
| L31 | VM254b | VA13B-L-31 | Azul |
| L32 | VM321a | VA13B-L-32 | Rosa/Purpura |
| L33 | VM492b | VA13B-L-33 | Azul |
| L34 | VM311b | VA13B-L-34 | Purpura |
| L35 | VM491 | VA13B-L-35 | Azul |
| L36 | VM494b | VA13B-L-36 | Azul |
| L37 | VM264b | VA13B-L-37 | Azul |
| L38 | VM264q | VA13B-L-38 | Gris obscuro |
| L39 | VM321b | VA13B-L-39 | Azul/Purpura |
| L40 | VM334 | VA13B-L-40 | Azul |
| L41 | VM366 | VA13B-L-41 | Gris obscuro |
| L42 | VM482 | VA13B-L-42 | Azul |
| L43 | VM483b | VA13B-L-43 | Azul |
| L44 | VM484 | VA13B-L-44 | Azul |
| L45 | VM490 | VA13B-L-45 | Azul |
| L46 | VM75 | VA13B-L-46 | Azul |
| L47 | VM27 | VA13B-L-47 | Negro |
| L48 | VM245 | VA13B-L-48 | Negro |
| L49 | VM282 | VA13B-L-49 | Purpura |
| L50 | VM305 | VA13B-L-50 | Rojo |

| | | | |
|------------|-------|------------|------|
| L51 | VM327 | VA13B-L-51 | Café |
| L52 | VM338 | VA13B-L-52 | Café |

ID_L: Número de identificación de la línea

Origen: Procedencia del genotipo, localidad y ciclo; VA= Vallarta; 13B= Ciclo Otoño-Invierno del año 2013.

La descripción del color de las líneas presentadas en la tabla anterior fue realizada de manera subjetiva por medio de la vista, observando fotografías tomadas a cada genotipo.

Tabla 6. Lista de híbridos simples Vitamaíz generados en el ciclo 2013B y evaluados en 2014. Todos los híbridos fueron sembrados simultáneamente a las líneas en ensayos adyacentes durante el verano de 2014.

| ID_H | Cruza o híbrido | Origen | ID_H | Cruza o híbrido | Origen |
|-------------|------------------------|---------------|-------------|------------------------|---------------|
| H001 | VM264axVM311 | VA13B-H-001 | H042 | MzATFW512x321 | VA13B-H-042 |
| H002 | VM264axVM321 | VA13B-H-002 | H043 | MzATFW512x451 | VA13B-H-043 |
| H003 | VM264axVM451 | VA13B-H-003 | H044 | MzATFW521x311 | VA13B-H-044 |
| H004 | VM373xVM311 | VA13B-H-004 | H045 | MzATFW521x321 | VA13B-H-045 |
| H005 | VM373xVM321 | VA13B-H-005 | H046 | MzATFW521x451 | VA13B-H-046 |
| H006 | VM373xVM451 | VA13B-H-006 | H047 | MzATFW641x311 | VA13B-H-047 |
| H007 | VM311axVM311 | VA13B-H-007 | H048 | MzATFW641x321 | VA13B-H-048 |
| H008 | VM311axVM321 | VA13B-H-008 | H049 | MzATFW641x451 | VA13B-H-049 |
| H009 | VM311axVM451 | VA13B-H-009 | H050 | MzATFW1211x311 | VA13B-H-050 |
| H010 | VM483axVM311 | VA13B-H-010 | H051 | MzATFW1211x321 | VA13B-H-051 |
| H011 | VM483axVM321 | VA13B-H-011 | H052 | MzATFW1211x451 | VA13B-H-052 |
| H012 | VM483axVM451 | VA13B-H-012 | H053 | MzATFW1221x311 | VA13B-H-053 |
| H013 | VM343xVM311 | VA13B-H-013 | H054 | MzATFW1221x321 | VA13B-H-054 |
| H014 | VM343xVM321 | VA13B-H-014 | H055 | MzATFW1221x451 | VA13B-H-055 |
| H015 | VM343xVM451 | VA13B-H-015 | H056 | MzATFW1413x311 | VA13B-H-056 |
| H016 | VM254axVM311 | VA13B-H-016 | H057 | MzATFW1413x321 | VA13B-H-057 |
| H017 | VM254axVM321 | VA13B-H-017 | H058 | MzATFW1413x451 | VA13B-H-058 |
| H018 | VM254axVM451 | VA13B-H-018 | H059 | MzDTP111x311 | VA13B-H-059 |
| H019 | VM494axVM311 | VA13B-H-019 | H060 | MzDTP111x321 | VA13B-H-060 |
| H020 | VM494axVM321 | VA13B-H-020 | H061 | MzDTP111x451 | VA13B-H-061 |
| H021 | VM494axVM451 | VA13B-H-021 | H062 | MzDTP113x311 | VA13B-H-062 |
| H022 | VM495xVM311 | VA13B-H-022 | H063 | MzDTP113x321 | VA13B-H-063 |
| H023 | VM495xVM321 | VA13B-H-023 | H064 | MzDTP222x311 | VA13B-H-064 |
| H024 | VM495xVM451 | VA13B-H-024 | H065 | MzDTP222x321 | VA13B-H-065 |
| H025 | VM349xVM311 | VA13B-H-025 | H066 | MzDTP222x451 | VA13B-H-066 |
| H026 | VM349xVM321 | VA13B-H-026 | H067 | MzDTP411x311 | VA13B-H-067 |
| H027 | VM451xVM311 | VA13B-H-027 | H068 | MzDTP411x321 | VA13B-H-068 |
| H028 | VM451xVM321 | VA13B-H-028 | H069 | MzDTP411x451 | VA13B-H-069 |
| H029 | VM451xVM451 | VA13B-H-029 | H070 | MzDTP413x311 | VA13B-H-070 |
| H030 | VM496xVM311 | VA13B-H-030 | H071 | MzDTP413x321 | VA13B-H-071 |
| H031 | VM496xVM321 | VA13B-H-031 | H072 | MzDTP413x451 | VA13B-H-072 |
| H032 | VM496xVM451 | VA13B-H-032 | H073 | MzDTP831x311 | VA13B-H-073 |
| H033 | VMDTPYF65x311 | VA13B-H-033 | H074 | MzDTP831x321 | VA13B-H-074 |
| H034 | VMDTPYF65x451 | VA13B-H-034 | H075 | MzDTP831x451 | VA13B-H-075 |
| H035 | VM492ax311 | VA13B-H-035 | H076 | MzDTPY1212x311 | VA13B-H-076 |
| H036 | VM492ax321 | VA13B-H-036 | H077 | MzDTPY1212x321 | VA13B-H-077 |
| H037 | VM492ax451 | VA13B-H-037 | H078 | MzDTPY1212x451 | VA13B-H-078 |
| H038 | MzATFW112x311 | VA13B-H-038 | H079 | Mz491492x311 | VA13B-H-079 |
| H039 | MzATFW112x321 | VA13B-H-039 | H080 | Mz491492x321 | VA13B-H-080 |
| H040 | MzATFW112x451 | VA13B-H-040 | H081 | Mz491492x451 | VA13B-H-081 |
| H041 | MzATFW512x311 | VA13B-H-041 | H082 | MzLPSF86x311 | VA13B-H-082 |

| ID_H | Cruza o híbrido | Origen | ID_H | Cruza o híbrido | Origen |
|-------------|------------------------|---------------|-------------|------------------------|---------------|
| H083 | MzLPSF86x321 | VA13B-H-083 | H120 | VM366x451 | VA13B-H-120 |
| H084 | MzLPSF86x451 | VA13B-H-084 | H121 | VM482x311 | VA13B-H-121 |
| H085 | VMLPSF103x311 | VA13B-H-085 | H122 | VM482x321 | VA13B-H-122 |
| H086 | VMLPSF103x321 | VA13B-H-086 | H123 | VM482x451 | VA13B-H-123 |
| H087 | VMLPSF103x451 | VA13B-H-087 | H124 | VM483bx311 | VA13B-H-124 |
| H088 | VM254bx311 | VA13B-H-088 | H125 | VM483bx321 | VA13B-H-125 |
| H089 | VM254bx321 | VA13B-H-089 | H126 | VM483bx451 | VA13B-H-126 |
| H090 | VM254bx451 | VA13B-H-090 | H127 | VM484x311 | VA13B-H-127 |
| H091 | VM321ax311 | VA13B-H-091 | H128 | VM484x321 | VA13B-H-128 |
| H092 | VM321ax321 | VA13B-H-092 | H129 | VM484x451 | VA13B-H-129 |
| H093 | VM321ax451 | VA13B-H-093 | H130 | VM490x311 | VA13B-H-130 |
| H094 | VM492bx311 | VA13B-H-094 | H131 | VM490x321 | VA13B-H-131 |
| H095 | VM492bx321 | VA13B-H-095 | H132 | VM490x451 | VA13B-H-132 |
| H096 | VM492bx451 | VA13B-H-096 | H133 | VM75x311 | VA13B-H-133 |
| H097 | VM311bx311 | VA13B-H-097 | H134 | VM75x321 | VA13B-H-134 |
| H098 | VM311bx321 | VA13B-H-098 | H135 | VM75x451 | VA13B-H-135 |
| H099 | VM311bx451 | VA13B-H-099 | H136 | VM27x311 | VA13B-H-136 |
| H100 | VM491x311 | VA13B-H-100 | H137 | VM27x321 | VA13B-H-137 |
| H101 | VM491x321 | VA13B-H-101 | H138 | VM27x451 | VA13B-H-138 |
| H102 | VM491x451 | VA13B-H-102 | H139 | Mz245x311 | VA13B-H-139 |
| H103 | VM494bx311 | VA13B-H-103 | H140 | Mz245x321 | VA13B-H-140 |
| H104 | VM494bx321 | VA13B-H-104 | H141 | Mz245x451 | VA13B-H-141 |
| H105 | VM494bx451 | VA13B-H-105 | H142 | VM282x311 | VA13B-H-142 |
| H106 | VM264bx311 | VA13B-H-106 | H143 | VM282x321 | VA13B-H-143 |
| H107 | VM264bx321 | VA13B-H-107 | H144 | VM282x451 | VA13B-H-144 |
| H108 | VM264bx451 | VA13B-H-108 | H145 | VM305x311 | VA13B-H-145 |
| H109 | VM264qx311 | VA13B-H-109 | H146 | VM305x321 | VA13B-H-146 |
| H110 | VM264qx321 | VA13B-H-110 | H147 | VM305x451 | VA13B-H-147 |
| H111 | VM264qx451 | VA13B-H-111 | H148 | VM327x311 | VA13B-H-148 |
| H112 | VM321bx311 | VA13B-H-112 | H149 | VM327x321 | VA13B-H-149 |
| H114 | VM321bx451 | VA13B-H-114 | H150 | VM327x451 | VA13B-H-150 |
| H115 | VM334x311 | VA13B-H-115 | H151 | VM338x311 | VA13B-H-151 |
| H116 | VM334x321 | VA13B-H-116 | H152 | VM338x321 | VA13B-H-152 |
| H117 | VM334x451 | VA13B-H-117 | H153 | VM338x451 | VA13B-H-153 |
| H118 | VM366x311 | VA13B-H-118 | | | |
| H119 | VM366x321 | VA13B-H-119 | | | |

ID_H: Número de identificación de la craza o híbrido

Cruza o híbrido: Nombre de la craza

Origen: Procedencia del genotipo, localidad y ciclo; VA= Vallarta; 13B= Ciclo Otoño-Invierno del año 2013.

5.4 Caracterización agronómica.

5.4.1 Diseño de parcelas experimentales y manejo agronómico.

La caracterización morfo-agronómica de las líneas homocigotas y la evaluación de las cruzas de prueba se llevaron a cabo en el ciclo primavera-verano del año 2014 (Ciclo 2014A), en el Rancho La Esperanza, estado de Nayarit. Las 52 líneas y los 153 híbridos en su generación filial 1 (F1) fueron sembrados en bloques separados usando un diseño semi-aleatorizado. Los híbridos se acomodaron por surco con su respectiva cruza de la misma hembra con el macho A, B, y C secuencialmente. Siendo surcos adjuntos se pudo comparar la heterosis de la hembra con cada uno de los tres machos. En el caso de las líneas se sembraron dos plots con ocho repeticiones de cada genotipo, mientras que de los híbridos se sembró un plot con ocho repeticiones. Cada replica o plot en el campo consistió de un surco o parcela de 4.0 m de largo y 0.75 m de ancho. Cada plot (unidad experimental) tuvo un área de 3 m² con 21 a 24 plantas, representando así una densidad de 70 a 80 mil plantas por hectárea.

El manejo agronómico se llevó a cabo de forma óptima según las especificaciones de la región (Valle de Banderas). El responsable de aplicar el paquete tecnológico para maíz fue el Ing. Cruz Robledo (dueño del Rancho La Esperanza). El suelo de las parcelas era franco-arenoso, con buen drenaje pero muy poca materia orgánica. El riego fue por goteo mediante cintilla de plástico que se colocó durante la siembra mecanizada. La semilla no fue pretratada con agroquímicos. Se realizó una primera fertilización a la siembra (~400 kg/ha de N y 200 kg/ha de P) y en etapa V8 se volvió a fertilizar con urea (400 kg/ha). Se utilizó herbicida para el control de malezas y también se aplicaron fumigaciones contra trips y gusano cogollero según se requirió. Las líneas fueron sujetas a autopolinización y los híbridos se dejaron a polinización abierta.

5.4.2 Variables y registro de datos de campo

Durante el desarrollo del cultivo en las diferentes etapas se tomaron diversas variables morfológicas, agronómicas y fisiológicas (Tabla 7).

Tabla 7. Variables experimentales y criterios de evaluación considerados en los ensayos de líneas e híbridos sembrados en Nayarit durante el ciclo 2014A.

| Variables | Ensayo | | Criterio de evaluación para el registro de variables |
|---------------------------|--------|----------|---|
| | Líneas | Híbridos | |
| Floración | | | |
| FM | * | * | Floración Masculina: diferencia de fecha entre el día de la siembra y el día en el que el 50% de las plantas se encontraba en antesis. |
| FF | * | * | Floración Femenina: días contado desde la siembra hasta el día en que el 50% de los jilotes le salieron los pelos (estigmas) |
| ASI | * | * | Intervalo de floración entre antesis y silk: se calculó <i>a posteriori</i> usando la fórmula: FF - FM |
| Vegetativos/planta | | | |
| ALP | * | * | Altura de Planta tomado desde la base del suelo hasta la base de la hoja bandera. Medida en cm sacando el promedio de 10 plantas por genotipo. |
| ALM | * | * | Altura de Mazorca promedio en cm tomada desde la base del suelo al nudo donde se inserta la mazorca principal medido (superior en 10 plantas por genotipo). |
| ALM/ALP | * | * | Relación entre la altura de la mazorca superior y altura de la planta. |
| HArM | * | * | Hojas Arriba de la Mazorca: promedio del número de hojas que están por encima de la mazorca principal de 10 plantas por genotipo. |
| HAbM | * | * | Hojas de bajo de la mazorca: promedio del número de hojas que están por abajo de la mazorca principal de 10 plantas por genotipo. |
| HT | * | * | Hojas totales: Promedio del número de hojas totales de 10 plantas por genotipo |
| Stay Green | * | * | Clasificación visual que considera el verdor de la planta con escala de porcentaje de hojas verdes versus hojas senescentes. |
| Asp P | * | * | Aspecto de Planta: calificación visual que considera el aspecto general de la planta con escala de 1 a 5, donde 1 es lo mejor y 5 es lo peor. |
| Mazorca | | | |
| LMz | * | * | Longitud de Mazorca en cm tomada desde la base al ápice, medida de 8 mazorcas por genotipo |
| DMz | * | * | Diámetro de Mazorca promedio medido en cm tomado de la parte central de 8 mazorcas por genotipo. |
| HMz | * | * | Número de Hileras de grano promedio contadas desde la parte media de 8 mazorcas por genotipo. |
| PMz | * | * | Peso de Mazorca promedio en gr de 8 mazorcas por genotipo. |
| Asp Maz | * | * | Calificación visual que considera el aspecto general de la mazorca con escala de 1 a 5, donde, 1 es lo mejor y 5 es lo peor. |
| Maz Pod | * | * | Porcentaje promedio de mazorcas que presentaban algún grado de pudrición por genotipo. |
| Maz Seg | * | * | Porcentaje promedio de mazorcas que presentaron granos blancos o amarillos. |
| Rendimiento | | | |
| RG | * | * | Rendimiento de Grano: Se calculó el rendimiento promedio de grano por hectárea (en kg por plot y después en t/ha), considerando una humedad del grano del 14%. |
| NMP | | * | Número de Mazorcas: se contó el número de mazorcas por plot (~24 plantas). |
| NPP | | * | Número de Plantas Maduras por Plot: Número de plantas por plot y después por hectárea. |

RM

*

*

Rendimiento de Mazorcas: Se calculó el rendimiento promedio de mazorcas maduras cosechadas (en kg por plot y después en t/ha)

5.4.3 Selección de híbridos sobresalientes

Se definió un índice de selección para identificar híbridos sobresalientes. Se utilizaron características primarias y secundarias ligadas al rendimiento de grano y de forraje con las cuales se pudo calificar el desempeño de las cruzas. Las variables utilizadas para este fin fueron: peso de mazorcas cosechadas, aspecto de mazorca, peso de grano seleccionado de cada cruz, número de mazorcas por planta, peso de mazorca individual, peso de jilote fresco y peso de planta fresca (en etapa R3). Las variables se normalizaron usando la fórmula $(x - \text{media general}) / \text{SD}$ y después de sumaron para formar el índice (ver el procedimiento más abajo). Los 30 híbridos que obtuvieron los mejores puntajes se consideraron como genotipos promisorios y se apartaron del resto para evaluar algunas propiedades físicas de interés industrial en el grano, así como el nivel de diferentes metabolitos.

El procedimiento para el índice de selección se describe a continuación:

1. Estandarización de las variables.

| Hibrido | Características | | | | | | |
|----------------|---------------------|-----------------|---------------|---------------------|------------------|----------------|----------------|
| | Grano y mazorca | | | | | Forraje | |
| | Peso total de campo | Aspecto mazorca | Peso de grano | Mazorcas por planta | Peso por mazorca | Peso de jilote | Peso de planta |
| MzDTP831xVM451 | 2727 | 2 | 14380 | 1 | 145 | 425 | 1250 |
| VM264qxVM321 | 1058 | 4 | 4560 | 0.6 | 85 | 200 | 678 |
| VM492xVM451 | 3301 | 1 | 19420 | 1 | 187 | 299 | 993 |
| VM305xVM321 | 1244 | 4 | 6180 | 0.7 | 85 | 189 | 553 |

} $\longrightarrow (x - \text{mean}) / \text{SD}$

2. Generación del índice de selección mediante la sumatoria de los datos estandarizados.

| Hibrido | Características | | | | | | | |
|----------------|---------------------|-----------------|---------------|---------------------|------------------|----------------|----------------|---------------------|
| | Grano y mazorca | | | | | Forraje | | Índice de selección |
| | Peso total de campo | Aspecto mazorca | Peso de grano | Mazorcas por planta | Peso por mazorca | Peso de jilote | Peso de planta | |
| MzDTP831xVM451 | 1.3 | 1.0 | 1.2 | 1.0 | 0.5 | 2.5 | 2.7 | 10.3 |
| VM264qxVM321 | -1.4 | -0.9 | -1.4 | -1.8 | -1.5 | -1.0 | -8.8 | -16.9 |
| VM492xVM451 | 2.3 | 2.0 | 2.6 | 1.1 | 1.9 | 0.6 | 1.1 | 11.5 |
| VM305xVM321 | -1.1 | -0.9 | -1.0 | -1.0 | -1.5 | -1.2 | -8.2 | -15.0 |

Sumatoria de datos estandarizados

Calificación por cruz

3. Finalmente, los genotipos se ordenaron del valor más alto al más bajo en relación al índice de selección y se apartaron aquellos obtuvieron los mejores puntajes.

| Híbrido | Características | | | | | | | |
|----------------|---------------------|-----------------|---------------|---------------------|------------------|----------------|----------------|---------------------|
| | Grano y mazorca | | | | | Forraje | | Índice de selección |
| | Peso total de campo | Aspecto mazorca | Peso de grano | Mazorcas por planta | Peso por mazorca | Peso de jilote | Peso de planta | |
| VM492xVM451 | 2.3 | 2.0 | 2.6 | 1.1 | 1.9 | 0.6 | 1.1 | 11.5 |
| MzDTP831xVM451 | 1.3 | 1.0 | 1.2 | 1.0 | 0.5 | 2.5 | 2.7 | 10.3 |
| VM305xVM321 | -1.1 | -0.9 | -1.0 | -1.0 | -1.5 | -1.2 | -8.2 | -15.0 |
| VM264qxVM321 | -1.4 | -0.9 | -1.4 | -1.8 | -1.5 | -1.0 | -8.8 | -16.9 |

5.5 Estimación de la ACG y ACE

La estimación de la habilidad combinatoria general (ACG) y la habilidad combinatoria específica (ACE) de las líneas hembras y probadores se hizo según la propuesta de Sprangue y Tatun, (1941) de la manera siguiente:

La ACG para las líneas hembras (g_i) se obtuvo mediante la diferencia entre el comportamiento promedio del rendimiento de la línea con los tres probadores (\bar{Y}_i), menos la media general del rendimiento en el ensayo (\bar{Y}), es decir:

$$ACG \text{ líneas} = g_i = \bar{Y}_i - \bar{Y}$$

Para la ACG de los probadores machos (g_j), se estimó con el rendimiento promedio de las ~50 cruzas con ese macho (\bar{Y}_j) menos la media general del rendimiento en el ensayo (\bar{Y}):

$$ACG \text{ probadores} = g_j = \bar{Y}_j - \bar{Y}$$

La ACE se estimó usando el rendimiento obtenido de una crusa específica (Y_{ij}) restándole los valores de la ACG de la hembra (g_i) y del macho (g_j), así como la media general (\bar{Y}):

$$ACE \text{ por crusa} = S_{ij} = Y_{ij} - g_i - g_j - \bar{Y}$$

5.6 Estimación de la relación entre la ACG del rendimiento de grano y la ACG de los componentes del rendimiento

La relación entre la ACG para el rendimiento de grano y la ACG de los componentes del rendimiento se estimó acorde a la metodología de Fan *et al.*, (2008). Primeramente se obtuvo el valor absoluto de los efectos de ACG de cada variable (MA_ACG). Posteriormente se estimó la relación relativa de la ACG entre el rendimiento de grano y sus componentes (RG_r , RMz_r , LMz_r , DMz_r , PMz_r , PMz_r y HMz_r) dividiendo el valor original de la ACG de cada variable sobre su respectiva MA_ACG (ACG/MA_ACG).

5.6 Identificación del grupo heterótimo por medio del método HSGCA

La asignación de las líneas Vitamaíz a un grupo heterótimo se realizó con la metodología HSGCA (siglas en inglés para Heterotic Group's Specific and General Combining Ability) (Fan *et al.*, 2009; Fan *et al.*, 2008).

El valor de la HSGCA de los genotipos estudiados se realizó de la siguiente forma:

$$\text{HSGCA} = Y_{ij} - Y_i \text{ lo que es igual a } \text{ACG} + \text{ACE}$$

Donde Y_{ij} es el valor promedio del rendimiento de grano de la cruce entre el i -ésimo probador y la j -ésima hembra y Y_i es el rendimiento promedio del probador con el total de las hembras.

Las líneas con efectos negativos de HSGCA con determinado probador, fueron asignadas al grupo heterótimo al cual pertenece dicho probador.

Las líneas que quedaron en más de un grupo heterótimo fueron asignadas para el grupo en el cual su valor de HSGCA haya sido menor (o valor negativo más grande), removiéndose de los otros grupos. Finalmente, si alguna línea obtuvo efectos positivos de HSGCA con los tres probadores, se consideró que es perteneciente a un grupo heterótimo distinto (grupo AB o C).

5.7 Caracterización bioquímica del grano

La caracterización bioquímica del grano se llevó a cabo sobre las 52 líneas homocigotas Vitamaíz y los 30 mejores híbridos seleccionados (Tabla 8). Los niveles de metabolitos en las líneas e híbridos fueron comparados con nueve genotipos de maíz usados como controles. Cinco de ellos eran accesiones de maíces criollos proporcionados por el Campo Experimental Norman E. Borlaug (CENEB) del Instituto Nacional de Investigaciones, Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), dos accesiones más colectadas en el mercado de Irapuato, Guanajuato, un maíz azul semimejorado y un híbrido comercial blanco (Tabla 9).

Tabla 8. Híbridos del proyecto Vitamaíz seleccionados por rendimiento y características agronómicas. Estos materiales fueron obtenidos del ensayo VA14A-H que fue sembrado en Vallarta en el mes de marzo de 2014 y cosechado en Julio del mismo año.

| ID_E | Cruza o híbrido | Origen |
|------|------------------|-------------|
| E01 | VM451xVM311 | VA14A-H-027 |
| E02 | VM496xVM311 | VA14A-H-030 |
| E03 | VM496xVM451 | VA14A-H-031 |
| E04 | VM492axVM451 | VA14A-H-037 |
| E05 | MzDTP222xVM311 | VA14A-H-064 |
| E06 | MzDTP222xVM321 | VA14A-H-065 |
| E07 | MzDTP222xVM451 | VA14A-H-066 |
| E08 | MzDTP411xVM311 | VA14A-H-067 |
| E09 | MzDTP411xVM321 | VA14A-H-068 |
| E10 | MzDTP413xVM451 | VA14A-H-072 |
| E11 | MzDTP831xVM321 | VA14A-H-074 |
| E12 | MzDTP831xVM451 | VA14A-H-075 |
| E13 | MzDTPY1212xVM451 | VA14A-H-078 |
| E14 | MzLPSF86xVM311 | VA14A-H-082 |
| E15 | MzLPSF86xVM321 | VA14A-H-083 |
| E16 | MzLPSF86xVM451 | VA14A-H-084 |
| E17 | VMLPSF103xVM451 | VA14A-H-087 |
| E18 | VM254xVM311 | VA14A-H-088 |
| E19 | VM254xVM321 | VA14A-H-089 |
| E20 | VM321axVM311 | VA14A-H-091 |
| E21 | VM492bxVM311 | VA14A-H-094 |
| E22 | VM492bxVM321 | VA14A-H-095 |
| E23 | VM492bxVM451 | VA14A-H-096 |
| E24 | VM311bxVM321 | VA14A-H-098 |
| E25 | VM311bxVM451 | VA14A-H-099 |
| E26 | VM490xVM311 | VA14A-H-130 |
| E27 | VM490xVM321 | VA14A-H-131 |
| E28 | VM327xVM321 | VA14A-H-149 |
| E29 | VM327xVM451 | VA14A-H-150 |
| E30 | VM338xVM311 | VA14A-H-151 |

ID_E: Número de identificación del híbrido seleccionado; **Cruza o híbrido:** Nombre de la craza; **Origen:** Procedencia del genotipo, localidad y ciclo; VA= Vallarta; 14A= Ciclo Primavera-Verano del año 2014.

Tabla 9. Lista de genotipos usados como control.

| ID_E | Raza | Nombre común | Genotipo | Origen | Año de colecta | Color de grano |
|------|-------------|-------------------|---------------|---------------------|----------------|----------------|
| E31 | | Azul semimejorado | Semimejorado | | 2014 | Azul |
| E32 | Ancho | Maíz pozolero | Criollo | Mercado de Irapuato | 2014 | Rojo |
| E33 | Ancho | Maíz pozolero | Criollo | Mercado de Irapuato | 2014 | Blanco |
| E34 | | Híbrido comercial | Maíz mejorado | Mercado de Irapuato | 2014 | Blanco |
| E35 | Tabloncillo | Maíz negro | Criollo | INIFAP-CENEB | 2006 | Azul |
| E36 | Elotero | Maíz negro | Criollo | INIFAP-CENEB | 2009 | Azul |
| E37 | Blando | Bofo pinto | Criollo | INIFAP-CENEB | 2004 | Moteado |
| E38 | Tabloncillo | Rojo serrano | Criollo | INIFAP-CENEB | 2006 | Rojo |
| E39 | Tabloncillo | Pinto amarillo | Criollo | INIFAP-CENEB | 2007 | Amarillo |

5.7.1 Preparación de muestras de grano para el análisis de metabolitos

Las mazorcas fueron cosechadas a mano y se pusieron en arpillas de plástico previamente identificadas. Se sometieron a un proceso de secado, hasta obtener una humedad de $< 14\%$ en el grano. Se fotografiaron y evaluaron por aspecto, color y se tomaron sus medidas (longitud y diámetro). Se determinó el peso total de mazorca por plot y se desgranaron mecánicamente. El grano fue pesado, limpiado y se trasladado en bolsas nuevas al CINVESTAV, Unidad Irapuato, donde se tomar submuestras para el análisis de metabolitos.

Para que el muestreo fuera representativo, primeramente se apartaron cuatro muestras de 300 g de diferentes plots, estas se homogenizaron en una bolsa y una por una fueron extendidas de forma circular en una superficie limpia. Las submuestras fueron cuarteadas en dos ocasiones para obtener una muestra representativa final (Figura 8). Por cada genotipo se analizaron cuatro muestras de 25 gramos.

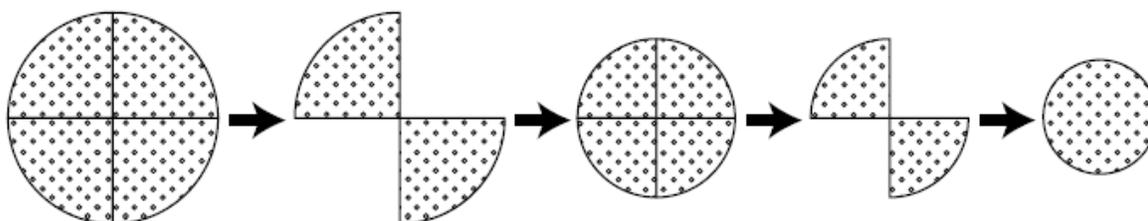


Figura 8. Procedimiento de cuarteo de granos de maíz para la obtención de muestras representativas.

Los granos seleccionados fueron triturados durante un min a 30 Hz en un molino Retch® 300MM con postas de acero y cartuchos de 20 ml de capacidad. La harina obtenida fue depositada en sobres de papel, se empacaron por grupos en una bolsa de plástico Zipploc y se almacenaron a 4°C hasta que fueron requeridas para el análisis de metabolitos.

5.7.2 Determinación de metabolitos en grano

5.7.2.1 Determinación de azúcares solubles

Se pesaron 20 mg harina en una placa Deepwell de 96 pozos y se agregaron 600 μl de alcohol etílico al 80% para la extracción de metabolitos. Se agitaron vigorosamente y se incubaron a 80°C durante 10 minutos con agitación a 800 rpm en un Thermoblock. Después, se centrifugaron por 10 min a 4000 rpm a temperatura ambiente en una centrífuga para placas Sorvall, modelo RT7 plus y recuperó el sobrenadante en una nueva placa Deepwell de 96 pozos. Se realizaron dos extracciones más con 600 μl de etanol al 80% y se mezclaron para finalmente obtener ~ 1800 μl de extracto por muestra. El sobrenadante y las pastillas remanentes fueron almacenadas a -20°C de dos a seis semanas hasta su análisis.

La cuantificación azúcares solubles se realizó por medio de un ensayo enzimático acoplado (Angeles-Núñez & Tiessen, 2010). En la figura 9 se describe el principio bioquímico de lo sucedido durante el análisis de azúcares.

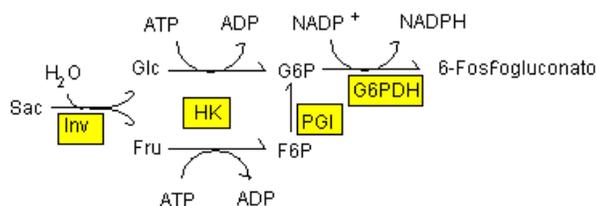


Figura 9. Sistema de enzimas acopladas para la determinación de glucosa, fructosa y sacarosa.. El proceso de cuantificación incluye tres reacciones principales: la invertasa digiere la molécula de sacarosa en glucosa y fructosa, las cuales son tomadas por la hexoquinasa (HK) para ser fosforiladas y formar glucosa-6-fosfato (G6P) y fructosa-6-fosfato (F6P), respectivamente. La fosfoglucoisomerasa (PGI) transforma la fructosa-6-fosfato (F6P) en glucosa-6-fosfato (G6P), y esta a su vez es transformada por la G6P deshidrogenasa (G6PDH) para reducir al NADP+ en NADPH. Por cada mol de hexosa se produce un mol de NADPH.

La reacción se llevó a cabo en una placa Sarstedt de 96 pozos, en la cual se vertieron 200 μ l de solución de reacción SugarAssay, que fue preparada a partir de la mezcla de los siguientes compuestos:

- 39.6 ml de HEPES 100 nM + MgCl₂ 3 mM con pH de 7
- 40 mg de adenosine -5'-trifosfato (ATP, Roche)
- 24 mg de Nicotin adenin dinucleótido fosfato (NADP 98% grado de
- 40 μ l de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH, de levadura grado VII, Roche)

A esta mezcla se agregaron 10 μ l del extracto etanólico de cada muestra y se agitó la placa durante un min a 800 rpm en un termomezclador. La microplaca se leyó con un espectrofotómetro marca Biotek© modelo Synergy II a una longitud de onda de 340 nm de 5 a 10 veces o hasta que la curva de lectura se estabilizó. De esta forma se obtuvo el valor del blanco (Figura 10A).

Una vez estabilizado el valor blanco, a cada micropozo, con la mezcla de 200 μ l de SugarAssay más los 10 μ l del extracto, se agregó 1 μ l de la enzima hexoquinasa (HK). La placa se agitó a 800 rpm durante un min y se re-introdujo en el lector. Cuando la curva de la reacción de glucosa se estabilizó (Figura 10B), la placa se extrajo nuevamente y se agregó 1 μ l de la enzima fosfoglucoisomerasa (PGI) para la cuantificación de fructosa (Figura 10C). Concluida la lectura de fructosa, se agregaron a cada muestra 2 μ l de la enzima invertasa (Inv) para determinar sacarosa (Figura 10D).

La concentración μ molar de las diferentes hexosas se calculó con el coeficiente molar de extinción de NADP para microplacas de 96 pozos ($17.7 \mu\text{mol}$) y los valores delta obtenidos de la densidad óptica (OD) a 340 nm, sustituyéndolos en la siguiente formula:

$$\text{HEXOSA} \left(\frac{\mu\text{mol}}{\text{gPF}} \right) = \frac{(\Delta\text{Abs (OD340)})}{17.7 \mu\text{mol}^{-1}} * \frac{\text{Vol total extracto} (\mu\text{L})}{\text{Vol. extracto} (\mu\text{L})} * \frac{\text{Factor de dilución}}{\text{Peso muestra (mgPF)}} * \frac{1000\text{mg}}{1\text{g}}$$

Para obtener la concentración molar de la sacarosa, el resultado se multiplica por un factor de 0.5, ya que la formación de 2 mol de DADPH es por cada mol del disacárido.

5.7.2.2 Extracción y determinación de almidón.

La determinación de almidón se realizó con el protocolo establecido por el laboratorio de metabolómica en el CINVESTAV, Unidad Irapuato (Angeles-Núñez & Tiessen, 2010). Las pastillas remanente de la extracción etanólica se lavaron en dos ocasiones con 1 ml de agua desionizada resuspendiéndose con agitación, se centrifugaron a 4000 rpm durante 10 min y se descartó el sobrenadante. La pastilla lavada se resuspendió en 500 μl de 10 mM de KOH y se incubó a 99°C durante una hora para desnaturalizar parcialmente el almidón. Después se sometieron a un proceso de calor húmedo en una autoclave a 121°C durante 30 min para asegurar una completa desnaturalización del almidón. Se enfriaron las muestras y se les adicionó 500 μl de 50 mM de Acetato a un pH de 5 y 200 μl de una mezcla de enzimas α -amilasa y amilogucosidasa (Anexo 1). La mezcla fue agitada vigorosamente para homogenizar y se incubó a 37°C durante 16 horas. Pasado el tiempo de incubación se centrifugó durante 10 min a 4,000 rpm, el sobrenadante se transfirió a una nueva placa Deepwell de 96 pozos y se almacenó a -20°C hasta su posterior análisis.

La concentración de molar del almidón se midió en base a la cantidad de glucosa liberada con la metodología del análisis para azúcares solubles con la enzima HK (Ver punto 5.7.2.1).

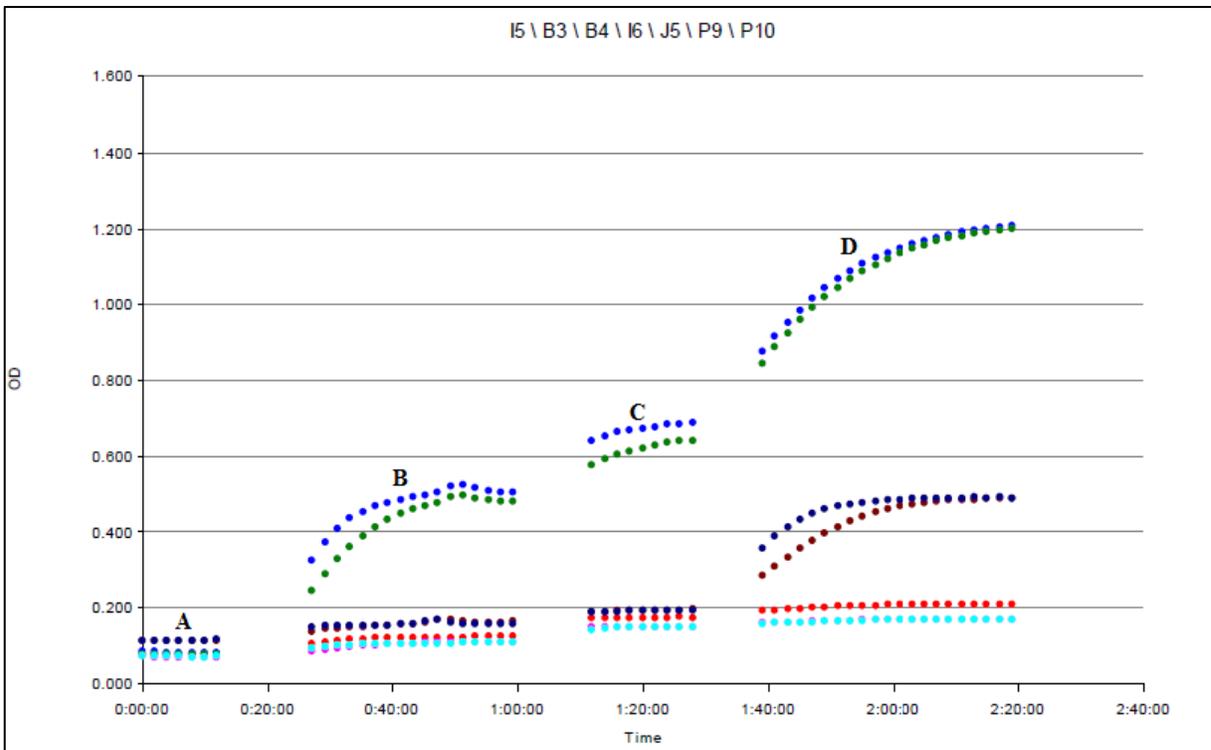


Figura 10. Gráfico típico de la lectura de carbohidratos con el Software Gen 5. Los puntos muestran la absorbancia OD a 340 nm de las muestras a través del tiempo por segmentos de izquierda a derecha: A) Lectura de blanco, B) Actividad de la hexocinasa (Glucosa o almidón según la muestra), C) Fosfoglucoisomerasa (fructosa) y D) Invertasa (sacarosa).

5.7.2.3 Análisis de proteínas solubles totales

Se pesaron 25 mg de harina de cada muestra en una placa “Deepwell” de 96 pozos y se agregó 750 μ l de 10 mM HEPES-KOH a pH de 7.8. Se agitó vigorosamente para homogenizar y se colocó a 750 rpm en un Thermoblock a temperatura ambiente por 10 min. Las muestras se centrifugaron a 4,000 rpm durante 10 min y se recuperó el sobrenadante en una nueva placa inmersa en hielo. Se realizó una segunda extracción y se juntaron los sobrenadantes.

La concentración de proteínas fue medida en el lector de microplacas a una OD de 595 nm usando el reactivo Blues-Comassie (Bradford, 1976), usando una curva de calibración a concentraciones de 0 a 0.6 mg/ml de BSA (Anexo 2). Esta curva permitió llevar a cabo una regresión lineal y obtener la ecuación que nos permitió hacer el cálculo de la concentración de proteínas a partir de las absorbancias obtenidas de cada muestra.

$$\text{Proteínas (mg/gPS)} = \frac{\text{Abs (OD592)-b}}{m} * \frac{\text{Vol. Extracto (ml)}}{\text{PS de muestra (mg)}} * 1000$$

Dónde:

b= intersección de la curva de calibración

m= pendiente de la ecuación de la recta

5.7.2.4 Aminoácidos totales libres

El análisis de aminoácidos totales libres se realizó con el método colorimétrico de la ninhidrina, midiendo la OD a 570 nm en una microplaca Sarstedt de 96 pozos (Harding & Warneford, 1916).

Se pesó 20 mg de harina en una placa “Deepwell” de 96 pozos, se agregó 1 ml etanol al 80% y se agitó en Thermoblock a 800 rpm por 15 min a temperatura ambiente. Se centrifugaron las muestras a 4000 rpm durante 15 min y se recuperó el sobrenadante.

En una placa Sarstedt de 96 pozos se colocaron 10 µl del extracto etanólico de cada muestra, 50 µl de etanol al 50%, y 50 µl de ácido ascórbico + ácido cítrico con pH de 5.2 y 100 µl de ninhidrina al 1% (P/V) diluida en etanol al 70% (Anexo 3). La placa se protegió de la luz con papel aluminio, se agitó 30 s (thermomixer 800 rpm) y se incubó a 80°C durante 30 min. Terminado el tiempo de incubación, las muestras se enfriaron en hielo durante 5 min, se agitaron 10 s (thermomixer 800 rpm) y se midió la OD a 570nm. En cada placa se incluyó una curva de calibración con 0 - 2 µmol/ml de leucina (Anexo 4). El factor de la curva (36.7 nmol/OD570) se obtuvo por regresión lineal y se calculó la concentración de aminoácidos en µmol/mgPS con la siguiente fórmula:

$$\text{Aminoácidos totales } (\mu\text{mol/mgPS}) = \frac{\text{Promedio (OD570)}}{36.7 (\text{nmol/OD570})} * \frac{\text{Vol. Total de muestra } (\mu\text{l})}{\text{Vol. Extracto } (\mu\text{l})} * \frac{\text{Factor de dilución}}{\text{PS de muestra (mg)}} * \frac{1 \mu\text{mol}}{1000 \text{ nmol}}$$

5.7.2.5 Antocianinas totales

Se pesaron 20 mg de harina de cada muestra en tubos eppendorf de 2 ml y se pusieron a secar con las tapas abiertas en un horno a 65°C durante 16 horas. Se agregaron 1.3 ml de Ácido Trifluoroacético al 1% (ATF) (Anexo 5) y se agitaron las muestras a 150 rpm durante 90 min a 4°C. Las muestras fueron centrifugadas por 10 min a 14,000 rpm en una centrifuga Eppendorff 5415R con rotor F-45-24-11 y se colectaron 650 µl de sobrenadante en una placa “Deepwell” de 96 pozos. Se agregó 1.3 ml de ATF al 1% al pellet para realizar una segunda extracción. Se combinaron los extractos y se almacenaron a -20°C hasta que fueron analizados.

Para el análisis de antocianinas (Galicia *et al.*, 2012) pasó 200 µl del extracto a una placa Sarstedt de 96 pozos y se realizó la lectura de OD 520 nm. Por cada placa analizada se incluyó una curva de

calibración con 0.0, 1.0, 3.0, 5.0, 10.0 y 15.0 µg/ml de cianidina clorada (Anexo 6). Por regresión lineal se calculó el resultado con la siguiente fórmula:

$$\text{Antocianinas totales } (\mu\text{g/gPS}) = \frac{\text{Abs (OD520)-b}}{m} * \frac{\text{Vol. Extracto (ml)}}{\text{PS de muestra (mg)}} * 1000$$

Dónde:

b= intersección de la curva de calibración

m= pendiente de la ecuación de la recta

5.7.2.6 Fenoles libres y totales

El método utilizado para realizar el análisis de fenoles libres y totales es conocido con el nombre de Folin-Ciocalteu (Galicia *et al.*, 2012). Este método se basa en la transferencia de electrones en un medio alcalino desde los compuestos fenólicos hacia los complejos de ácido fosfomolibdico/fosfotungénico presentes en el reactivo de Folin. Cuando ocurre esta reacción, la coloración de dicho reactivo vira de color amarillo a azul y posteriormente puede ser leído el contenido de fenoles de una muestra a una longitud de onda de 765 nm.

Extracción de Fenoles libres

Se pesaron 20 mg de harina por genotipo en tubos eppendorf de 1.5 ml y se agregaron 1.3 ml de metanol al 50%. Se mezclaron las muestras en un vórtex y luego se colocaron en un termomezclador para microtubos a 65°C por 30 min a 900 rpm. Las muestras se dejaron enfriar a temperatura ambiente y enseguida se centrifugaron a 14,000 rpm por 10 min. Se tomó el sobrenadante de cada tubo trasladándolo a una placa “Deepwell” de 96 pozos y se almacenó a -20°C hasta realizar el análisis.

Extracción de fenoles totales

Se pesó 20 mg de harina de cada muestra, se agregaron 1.3 ml ácido clorhídrico al 1.2 M preparado con metanol absoluto (Anexo 7) y se agitaron en con un Vortex. Se realizó la extracción durante 30 min, colocando los tubos en un termomezclador a 42°C por 30 min y a 1100 rpm. Las muestras se centrifugaron a 14,000 rpm por 10 min, se tomaron 500 µl del sobrenadante y se pasaron a otro tubo previamente identificado. Las muestras fueron evaporadas a sequedad por medio de vacío en un desecador, luego se resuspendieron con 1.3 ml de etanol al 50%, se trasladaron a una placa “Deepwell” de 96 pozos y se almacenaron a -20°C.

Reacción colorimétrica para el análisis de fenoles libres y totales

Tanto para el análisis de fenoles libres como fenoles totales se llevó acabo el mismo procedimiento. Se tomaron 50 µl de extracto y se transfirieron a una microplaca Sarstedt de 96 pozos. Se agregaron 40

µl del reactivo Folin-Ciocalteu al 25% (v/v) (Anexo 7) y se dejó reaccionar con la muestra por 6 min. Se agregaron 110 µl de Na₂CO₃ 400mM, la placa se cubrió con cinta adhesiva de aluminio y se agitó a 800 rpm en un termomezclador por 10 segundos. Posteriormente, se incubaron por 9 min a 42°C para que se desarrollara el color azul. Se retiraron las muestras de la incubadora y se dejaron enfriar a temperatura ambiente por 30 min protegiéndolas de la luz directa. Finalmente las muestras se leyó la OD a 765 nm en el lector de microplacas.

Los resultados se expresaron en microgramos por gramo de ácido gálico que se usó como estándar para realizar una curva de calibración con las siguientes concentraciones: 0.0, 10.0, 15.0, 20.0, 25.0 y 30.0 µg/ml (Anexo 8). A partir de esta curva se obtuvo la ecuación de la recta con la cual se estimaron los valores de concentración de fenoles libres y totales mediante las siguientes ecuaciones.

Fenoles libres:

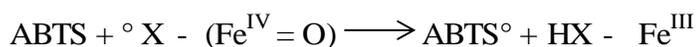
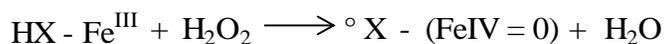
$$\text{Fenoles totales } (\mu\text{g/gPS}) = \frac{\text{Abs (OD765)-b}}{m} * \frac{\text{Vol. Extracto (ml)}}{\text{PS de muestra (mg)}} * 1000$$

Fenoles totales:

$$\text{Fenoles totales } (\mu\text{g/gPS}) = \frac{\text{Abs (OD765)-b}}{m} * \frac{\frac{\text{Vol. Extracto (ml)}}{\text{Vol. Evaporado (ml)}}}{\text{PS de muestra (mg)}} * 1000$$

5.7.2.7 Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante de los genotipos analizados se determinó con el protocolo propio del kit “Antioxidant Assy Kit” de Sigma®. Esta metodología funciona bajo el principio de la reacción de formación de un radical ferril-mioglobina a partir de metmioglobina y peróxido de hidrógeno, que oxida el ABST (2,2'-azino-bis-(3-etilbenziazolina-6-ácido sulfónico) para formar el catión radical ABST⁺, que es un cromoforo verde que absorbe luz a una longitud de onda de 405 nm.



En esta ecuación, XE – Fe^{III} representa la metmioglobina y ° X – (Fe^{IV} = O) a la ferrilmioglobina. Los compuestos que reprimen la formación de estos complejos son considerados como antioxidantes, lo que proporciona una correlación negativa entre capacidad antioxidante y coloración de la muestra.

Por otro lado se utiliza Trolox® como estándar, ya que es un análogo soluble en agua de la vitamina E con actividad antioxidante conocida.

Antes de realizar esta determinación en la harina de maíz, primero se hizo una extracción de los compuestos antioxidantes. Para esto, se pesaron 100 mg de harina de cada muestra y se les añadió 0.5 ml del Assay Buffer®, las muestras se agitaron vigorosamente y se dejaron reposar durante 10 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se centrifugaron a 13,000 rpm durante 15 min a 4°C. Se descartó la pastilla y el sobrenadante se utilizó para la determinación. Posteriormente se llevó a cabo la reacción a un volumen final de 163 µl de los cuales 10 µl correspondieron al extracto de la muestra o estándar, 150 µl a la solución de ABTS y 3 µl al peróxido de hidrógeno al 3%. Esta mezcla se realizó en una placa Sarstedt de 96 pozos, la cual fue incubada por 5 min a temperatura ambiente y se leyó a 405 nm en el lector de microplacas. Por cada placa analizada se incluyó una curva de calibración con 6 puntos a concentraciones de 0.00, 0.015, 0.045, 0.105, 0.21 y 0.42 nM de TROLOX®. Con los datos obtenidos de la curva, se realizó una regresión lineal y se obtuvo la ecuación de la recta, la cual fue utilizada para calcular la capacidad antioxidante de los genotipos analizados (Anexo 9).

5.8 Análisis físico del grano

El análisis de las características físicas del grano se realizó en los híbridos Vitamaíz seleccionados y en los genotipos utilizados como control.

5.8.1 Peso hectolítrico

Un kilogramo de semilla de cada genotipo fue tomado al azar, se eliminaron las impurezas (material extraño, granos dañados, piedras, etc.) por medio de cribas y la muestra fue homogenizada. El PH se determinó por medio de una balanza marca Seedburo Equipment Co. Chicago, con capacidad de un litro. La balanza fue calibrada y ajustada a cero haciendo la tara correspondiente con el recipiente donde se coloca el grano. La muestra limpia se colocó en el embudo de la parte superior de la balanza y se colocó un recipiente de 1 litro exactamente debajo de la salida del embudo. Se abrió la salida del embudo, se dejó caer libremente el maíz en el recipiente y usando una espátula o regla de madera se eliminó el exceso de grano, rasando en forma de zig-zag. Finalmente, se pesó el recipiente con el grano y el resultado se expresó en kg/hL. La medición se realizó por triplicado para cada muestra. (AACC, 1976).

5.8.2 Densidad del grano

En este análisis se requirió de etanol absoluto, una balanza analítica digital con sensibilidad de 0.001g y una probeta de 250 ml. El grano usado para la determinación se tomó al azar y por triplicado de cada genotipo.

Se tomó la probeta de 250 ml y fue pesada. Enseguida, la probeta fue llenada con grano limpio (libre de material extraño) hasta un nivel de 230 ml y se tomó el peso. La probeta con el grano fue llenada etanol absoluto hasta la marca de 250 ml y nuevamente se registró el peso. Finalmente se realizó el cálculo para estimar la densidad del grano mediante la siguientes formulas (Salinas-Moreno & Vázquez-Carrillo, 2006).

$$(1) \quad V_1 = \frac{P_3 - P_2}{D_e} \quad V_2 = 250 - V_1 \quad (2)$$

$$(3) \quad P_4 = P_2 - P_1 \quad D_g = \frac{P_4}{V_2} \quad (4)$$

Dónde:

P_4 = Peso del grano en la probeta

D_g = Densidad de grano

P_1 = Peso de la probeta vacía

P_2 = Peso de la probeta con grano

P_3 = Peso de la probeta, grano y etanol

D_e = densidad del etanol absoluto a 20°C (0.78612 g/ml)

250= Volumen de la probeta

V_1 = Volumen de etanol en la probeta que contiene el grano

V_2 = Volumen ocupado por el grano en la probeta

5.8.3 Peso de mil granos

La muestra de cada genotipo se seleccionó al azar y el peso se obtuvo usando una balanza analítica digital Mettler PE 3600, delta range sensible a 0.001 g. Para cada genotipo se realizaron tres repeticiones y al final se calculó el promedio de las tres. El resultado se expresó en gramos (Salinas-Moreno & Vázquez-Carrillo, 2006).

5.8.4 Dureza del grano (metodología indirecta mediante Índice de flotación)

Primeramente se preparó una solución de NaNO_3 a una densidad de 1.25 g/ml la cual se midió con un picnómetro y una balanza analítica. Esta solución solo se usó para la determinación de 20 muestras, después de las cuales se ajustó nuevamente su densidad. El procedimiento consistió en sumergir una muestra de 100 granos en 500 ml de la solución (Figura 11) y se agitaron con una varilla de vidrio. Después de transcurrido un min se realizó el conteo de los granos flotantes, cuya cantidad es equivalente al índice de flotación. Para esta determinación se realizaron tres repeticiones de cada genotipo (NMX-FF-034-2002-SCFI-1, 2002).



Figura 11. Determinación de la dureza del grano del maíz mediante el índice de flotación.

5.9 Análisis estadísticos

5.9.1 Análisis estadístico: caracterización agronómica

5.9.1.1 Estadísticos de líneas Vitamaíz e híbridos seleccionados

Para determinar si hubo diferencias de las características morfo-agronómicas entre las líneas homocigotas del proyecto Vitamaíz se realizaron análisis de varianza simples (ANOVA simple) sobre todas la variable en estudio. Esto debido a que sólo se evaluó el comportamiento del genotipo sin involucrar el efecto de algún tratamiento o de diferentes ambientes.

El Modelo estadístico utilizado en este caso fue el siguiente:

$$Y_{gk} = \mu + g_i + \epsilon_{gk}$$

Donde $g = 1, 2 \dots g$ (genotipos); $k = 1, 2 \dots r$ (repeticiones); Y_{gk} = observación de cualquier variable del genotipo en la k -ésima repetición; μ = media general de la observación, g = efecto del i -ésimo genotipo sobre las observaciones de las variables y ϵ_{gk} es el error experimental. Las medias del rendimiento de grano y de las características agronómicas fueron compradas por medio de la prueba de comparaciones múltiples Diferencia Significativa Honesta (HSD) o prueba de Tukey. Los resultados de los análisis realizados fueron reportados con la media \pm el error estándar.

5.9.1.2 Estadísticos de híbridos simples Vitamaíz

Análisis genético. En el caso de los híbridos simples se realizó un análisis genético del rendimiento de grano y algunos de sus componentes por medio del diseño II de Carolina del Norte con efectos fijos (Comstock & Robinson, 1948), cuyo modelo lineal es el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + M_i + H_j + MH_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Donde $i = 1, 2 \dots m$ (machos); $j = 1, 2 \dots h$ (hembras); $k = 1, 2 \dots r$ (repetición); Y_{ij} = observación de cualquier variable de las cruzas entre el i -ésimo macho y la j -ésima hembra en la k -ésima repetición; μ = media general de la observación; M_i y H_j = efecto sobre las observaciones de las variables del i -ésimo macho y la j -ésima hembra; MH_{ij} = Efecto de la interacción del i -ésimo macho con la j -ésima hembra y ϵ_{ijk} = error experimental.

Análisis de ACG y ACE. Los efectos de la ACG sobre el rendimiento de grano y sus componentes fueron evaluados mediante una prueba de t . Debido a que los valores de la ACG y ACE van numéricamente de $-X$ a $+X$, se utilizó el 0 como valor de referencia contra el cual se llevaron a cabo las comparaciones. De esta forma se determinó estadísticamente cuales líneas y cruzas específicas fueron significativamente superiores en relación a la ACG y ACE respectivamente (Wong Romero *et al.*, 2007). Debido a que diversas hipótesis fueron probadas simultáneamente en este análisis, el valor de p fue ajustada mediante el método FDR (por sus siglas en inglés, false discovery rate) para evitar cometer el error estadístico tipo I.

Análisis del comportamiento de rendimiento y sus componentes de líneas y probadores. Con el fin de determinar cuáles de las líneas y probadores fueron significativamente superiores en sus cruzas, se realizó una prueba de t de forma similar que en el análisis estadístico de la ACG y ACE. Solo que en este caso se utilizaron las medias generales del rendimiento y de cada uno de sus componentes en el ensayo como valores de referencia contra los cuales se llevaron a cabo las comparaciones correspondientes.

5.9.2 Análisis estadístico: Caracterización bioquímica

De los parámetros bioquímicos cuantificados a los diversos genotipos, en la tabla 10 se presentan las repeticiones biológicas y técnicas, así como las unidades en las que fueron expresados los resultados obtenidos.

Tabla 10. Metabolitos cuantificados en el grano de los diversos genotipos estudiados.

| Parámetro | Líneas | Híbridos | Controles | Replicas biológicas | Replicas técnicas | Unidades |
|------------------------|--------|----------|-----------|---------------------|-------------------|-----------------------------|
| Glucosa | ✓ | ✓ | ✓ | 4 | 3 | μmol/gPS |
| Fructosa | ✓ | ✓ | ✓ | 4 | 3 | μmol/gPS |
| Sacarosa | ✓ | ✓ | ✓ | 4 | 3 | μmol/gPS |
| Almidón | ✓ | ✓ | ✓ | 4 | 3 | μmol/gPS |
| Proteínas totales | ✓ | ✓ | ✓ | 4 | 3 | mg de BSA/gPS |
| Aminoácidos libres | ✓ | ✓ | ✓ | 4 | 2 | μmol de leucina/gPS |
| Antocianinas | ✓ | ✓ | ✓ | 4 | 3 | μg de cianidina clorada/gPS |
| Fenoles libres | ✓ | ✓ | ✓ | 4 | 3 | mg de ácido gálico/gPS |
| Fenoles totales | ✓ | ✓ | ✓ | 4 | 3 | μg/gPS |
| Capacidad antioxidante | - | ✓ | ✓ | 3 | - | mM de TROLOX |

✓ Indicativo de que se realizó el análisis

- Indicativo de que no se realizó el análisis

Los datos analizados fueron reportados con la media \pm el error estándar. Las diferencias del contenido de metabolitos en el grano entre los genotipos fueron determinadas por medio de la prueba de Tukey o HSD, después del análisis de varianza.

6 Resultados

6.1 Características morfo-agronómicas de líneas endogámicas VITAMAÍZ

Con el fin de conocer la variabilidad genética que existe entre las líneas Vitamaíz, se realizó un ensayo de campo (Nayarit) con ocho repeticiones donde se evaluaron diversos descriptores de la planta y la mazorca junto con otros parámetros fisiológicos. Los resultados del análisis de varianza indican que hubo diferencias altamente significativas (valor $p < 0.001$) entre genotipos en casi todas las variables evaluadas (Anexos 10).

6.1.1 Rendimiento *per-se* y floración de líneas endogámicas

En la tabla 11 se presentan los valores promedio para rendimiento de grano (RG) y mazorca (RM), la floración masculina (FM), floración femenina (FF) y el intervalo entre FF y FM (ASI) de las líneas Vitamaíz. En las pruebas de Tukey (HSD $\alpha = 0.05$) se formaron cuatro grupos estadísticamente diferentes para el rendimiento de grano y mazorca, tres grupos para la floración masculina y femenina y dos para el intervalo de floración o ASI (Anexos 11).

La producción de grano entre las 52 líneas Vitamaíz varió de 0.5 a 3.0 t ha⁻¹, siendo los genotipos L25 y L28 los que obtuvieron los promedios más altos, con 2.7 y 3.0 t ha⁻¹ respectivamente (Tabla 6-1). Los genotipos con menor producción fueron la L03 y L46 con 0.5 t ha⁻¹, seguidas de las líneas L48, L38 y L51 que rindieron 0.6, 0.6 y 0.7 t ha⁻¹ respectivamente (Tabla 11).

El rendimiento de mazorca osciló de 0.6 a 3.8 t ha⁻¹ (Tabla 11). Los genotipos L25 y L28 arrojaron los promedios más altos, mientras que las líneas L03 y L46 tuvieron los rendimientos de mazorca más bajos (Tabla 11).

La FM varió entre 53 y 69 días, mientras que la FF varió de 53 a 71 días entre los genotipos (Tabla 11). Las líneas más precoces fueron la L48, L16 y L12, mientras que la L05 fue la línea más tardía (Tabla 11). El promedio del intervalo ASI (diferencia entre la FM y FF) fue de 1.1 días (Tabla 11). Los genotipos con el mayor ASI fueron las líneas L27, L31 y L52 (Tabla 11). En contraparte las líneas L01, L02, L03, L08, L10, L35, L40, L41, L44 y L50 tuvieron un ASI de cero días (Tabla 11).

Tabla 11. Rendimiento de grano y días de floración masculina y femenina de 52 líneas homocigotas del proyecto Vitamaíz evaluadas en el ciclo 2014A en el valle de Brucerías, estado de Nayarit.

| Línea | | | RG | RM | FM | FF | ASI |
|-------|------------|--------------|-----------------------|-----------------------|--------|--------|--------|
| ID | Origen | Nombre | (t ha ⁻¹) | (t ha ⁻¹) | (Días) | (Días) | (Días) |
| L01 | VA13B-L-01 | VM264a | 1.2 | 1.5 | 62.0 | 62.0 | 0.0 |
| L02 | VA13B-L-02 | VM373 | 2.1 | 2.7 | 63.0 | 63.0 | 0.0 |
| L03 | VA13B-L-03 | VM311a | 0.5 | 0.6 | 61.0 | 61.0 | 0.0 |
| L04 | VA13B-L-04 | VM483a | 0.9 | 1.1 | 64.0 | 66.0 | 2.0 |
| L05 | VA13B-L-05 | VM343 | 1.1 | 1.4 | 69.0 | 71.0 | 2.0 |
| L06 | VA13B-L-06 | VM254a | 1.4 | 1.7 | 64.0 | 66.0 | 2.0 |
| L07 | VA13B-L-07 | VM494a | 1.3 | 1.7 | 61.0 | 61.5 | 0.5 |
| L08 | VA13B-L-08 | VM495 | 1.9 | 2.4 | 64.5 | 64.5 | 0.0 |
| L09 | VA13B-L-09 | VM349 | 0.8 | 1.0 | 55.0 | 56.0 | 1.0 |
| L10 | VA13B-L-10 | VM451 | 1.2 | 1.4 | 63.0 | 63.0 | 0.0 |
| L11 | VA13B-L-11 | VM496 | 2.1 | 2.6 | 63.0 | 64.0 | 1.0 |
| L12 | VA13B-L-12 | MzDTPYF65 | 1.5 | 1.9 | 53.0 | 54.0 | 1.0 |
| L13 | VA13B-L-13 | VM492a | 0.9 | 1.2 | 62.0 | 63.0 | 1.0 |
| L14 | VA13B-L-14 | MzATF112 | 1.2 | 1.5 | 58.5 | 59.5 | 1.0 |
| L15 | VA13B-L-15 | MzATF512 | 2.2 | 2.7 | 56.0 | 57.0 | 1.0 |
| L16 | VA13B-L-16 | MzATF521 | 1.9 | 2.3 | 53.0 | 53.0 | 1.0 |
| L17 | VA13B-L-17 | MzATF641 | 0.9 | 1.1 | 61.0 | 62.0 | 1.0 |
| L18 | VA13B-L-18 | MzATF1211 | 2.7 | 3.4 | 57.0 | 58.5 | 1.5 |
| L19 | VA13B-L-19 | MzATF1221 | 0.9 | 1.1 | 59.0 | 59.5 | 0.5 |
| L20 | VA13B-L-20 | MzATF1413 | 1.6 | 2.0 | 57.5 | 58.5 | 1.0 |
| L21 | VA13B-L-21 | MzDTPLPS111 | 1.8 | 2.3 | 58.0 | 59.0 | 1.0 |
| L22 | VA13B-L-22 | MzDTPLPS113 | 1.4 | 1.8 | 59.0 | 61.0 | 2.0 |
| L23 | VA13B-L-23 | MzDTPLPS222 | 1.3 | 1.7 | 59.5 | 60.5 | 1.0 |
| L24 | VA13B-L-24 | MzDTPLPS4111 | 1.2 | 1.5 | 57.0 | 58.0 | 1.0 |
| L25 | VA13B-L-25 | MzDTPLPS413 | 3.0 | 3.8 | 57.0 | 58.0 | 1.0 |
| L26 | VA13B-L-26 | MzDTPLPS831 | 0.8 | 1.0 | 56.0 | 57.0 | 1.0 |
| L27 | VA13B-L-27 | MzDTPYTL1212 | 1.6 | 2.1 | 56.0 | 58.0 | 3.0 |
| L28 | VA13B-L-28 | Mz491492 | 2.0 | 2.5 | 58.0 | 59.0 | 1.0 |
| L29 | VA13B-L-29 | MzLPSF86 | 1.6 | 2.0 | 55.5 | 57.0 | 1.5 |
| L30 | VA13B-L-30 | VMLPSF103 | 1.5 | 1.8 | 59.0 | 59.5 | 0.5 |
| L31 | VA13B-L-31 | VM254b | 0.8 | 1.1 | 64.0 | 67.0 | 3.0 |
| L32 | VA13B-L-32 | VM321a | 2.4 | 3.0 | 62.0 | 64.0 | 2.0 |
| L33 | VA13B-L-33 | VM492b | 1.7 | 2.1 | 60.5 | 62.5 | 2.0 |
| L34 | VA13B-L-34 | VM311b | 1.2 | 1.5 | 60.0 | 61.0 | 1.0 |
| L35 | VA13B-L-35 | VM491 | 1.4 | 1.8 | 65.0 | 65.0 | 0.0 |
| L36 | VA13B-L-36 | VM494b | 1.9 | 2.3 | 59.0 | 60.5 | 1.5 |
| L37 | VA13B-L-37 | VM264b | 1.0 | 1.2 | 62.5 | 63.0 | 0.5 |
| L38 | VA13B-L-38 | VM264q | 0.6 | 0.8 | 62.0 | 62.5 | 0.5 |
| L39 | VA13B-L-39 | VM321b | 1.7 | 2.1 | 59.0 | 61.0 | 2.0 |
| L40 | VA13B-L-40 | VM334 | 1.2 | 1.5 | 61.0 | 61.0 | 0.0 |
| L41 | VA13B-L-41 | VM366 | 1.9 | 2.3 | 61.0 | 61.0 | 0.0 |
| L42 | VA13B-L-42 | VM482 | 1.5 | 1.8 | 59.0 | 59.5 | 0.5 |
| L43 | VA13B-L-43 | VM483b | 1.2 | 1.6 | 62.8 | 62.5 | 0.5 |
| L44 | VA13B-L-44 | VM484 | 2.0 | 2.5 | 60.0 | 60.0 | 0.0 |

* La tabla 11 continúa en la siguiente página.

Continúa y concluye la tabla 11.

| Línea | | | RG | RM | FM | FF | ASI |
|-------------------|------------|--------|-----------------------|-----------------------|-------------|-------------|------------|
| ID | Origen | Nombre | (t ha ⁻¹) | (t/ha ⁻¹) | (Días) | (Días) | (Días) |
| L45 | VA13B-L-45 | VM490 | 1.2 | 1.5 | 64.0 | 65.0 | 1.0 |
| L46 | VA13B-L-46 | VM75 | 0.5 | 0.6 | 60.5 | 63.0 | 2.5 |
| L47 | VA13B-L-47 | VM27 | 1.1 | 1.4 | 59.0 | 60.0 | 1.0 |
| L48 | VA13B-L-48 | VM245 | 0.6 | 0.7 | 53.0 | 54.0 | 1.0 |
| L49 | VA13B-L-49 | VM282 | 1.7 | 2.1 | 59.5 | 60.5 | 1.0 |
| L50 | VA13B-L-50 | VM305 | 1.0 | 1.2 | 63.0 | 63.0 | 0.0 |
| L51 | VA13B-L-51 | VM327 | 0.7 | 0.9 | 60.0 | 62.0 | 2.0 |
| L52 | VA13B-L-52 | VM338 | 1.2 | 1.5 | 60.0 | 63.0 | 3.0 |
| Media | | | 1.4 | 1.8 | 60.0 | 61.0 | 1.1 |
| Min. | | | 0.5 | 0.6 | 53.0 | 53.0 | 0.0 |
| Max | | | 3.0 | 3.8 | 69.0 | 71.0 | 3.0 |
| HSD (0.05) | | | 0.7 | 0.9 | 6.2 | 6.4 | 2 |
| Genotipo | | | *** | *** | *** | *** | ** |

RG: Rendimiento de grano; **RM:** Rendimiento de Mazorca; **FM:** Floración masculina; **FF:** Floración femenina; **ASI:** Intervalo entre la floración masculina y masculina.

*, ** y *** significativo a una p valor menor de 0.05, 0.01 ó 0.001 respectivamente.

6.1.2 Caracteres de la planta

Las pruebas de Tukey (HSD $\alpha = 0.05$) para los caracteres de la planta arrojaron 6 grupos estadísticamente diferentes para la altura de planta, cinco para la altura de mazorca, cuatro para la relación de altura de mazorca y altura de planta, dos para el número de hojas totales y hojas arriba de la mazorca y tres para el número hojas debajo de la mazorca (Anexo 12). Entretanto del Stay Green se formaron nueve grupos y del aspecto de mazorca los grupos formados fueron cuatro (Anexo 12).

La altura de planta varió de 127.8 hasta 197.1 cm, con un promedio general de 163.1 cm (Tabla 12). La línea L14 mostró la mayor altura mientras que la línea L06 fue la de más baja altura (Tabla 12).

La altura de la mazorca fue de 84.4 cm en promedio, en donde la línea L14 tuvo la altura de mazorca más alta mientras que las líneas L10, L38 y L08 fueron las más bajas (Tabla 12). La diferencia entre el grupo de líneas con mayor y menor altura de la mazorca fue de 49.5 cm, evidenciando así la amplia variabilidad que existe entre los genotipos. La relación entre altura de mazorca y altura de planta varió entre un mínimo de 0.4 y máximo de 0.7. Las líneas Vitamaíz con el promedio más grande fueron la L35 (0.7), L20 (0.61) y L31 (0.6). En contraste las líneas L10 (0.38), L08 (0.39) y L38 (0.41) tuvieron los valores más bajos (Tabla 12).

El genotipo con más hojas por planta fue la línea L43 (13.3 hojas), mientras que la línea L12 tuvo la menor cantidad de hojas totales (9.7 hojas por planta) (Tabla 12). La variación del número de hojas

por arriba de la mazorca no fue tan grande entre genotipos (de 4.8 a 7.1 hojas), al igual que la cantidad de hojas localizadas por debajo de esta (de 4.2 a 7.2) (Tabla 12).

El *Stay Green* es una forma visual de evaluar la senectud de las plantas de maíz durante la maduración antes de la cosecha. Esto es importante porque entre más tiempo requiera una variedad de maíz para que sus hojas se empiecen a secar, es probable que tenga una mayor duración en la acumulación de materia seca en el grano. El valor promedio del Stay Green fue del 10%, con un rango que oscilo desde 0.0 hasta 49.4% (Tabla 12). Los genotipos con valores más altos de Stay Green fueron las líneas L02 (49.4%), L05 (39.9%) y L10 (35%) mientras que 17 líneas presentaron 0.0% de verdor en la planta al momento de la cosecha.

El aspecto de planta refleja de manera subjetiva si las plantas se ven de buen porte morfológicamente hablando o si han sido afectadas por enfermedades, plagas o factores abióticos. Las líneas Vitamaíz registraron buenos valores de apariencia, inferiores a 2.5 (Tabla 12). Las líneas L08 y L34 manifestaron la mejor calificación de esta variable, con un puntaje de 1, mientras que la L22 y L48 fueron las que obtuvieron el peor valor de aspecto de planta con 4 puntos (Tabla 12).

Tabla 12. Promedios obtenidos de los caracteres de la planta de las líneas Vitamaíz.

| Línea | | | ALP | ALM | | | | Hojas | StayGreen | Asp P |
|-------|------------|--------------|-------|-------|---------|------|------|---------|-----------|---------|
| ID | Origen | Nombre | (cm) | (cm) | ALM/ALP | HArM | HAbM | totales | (%) | (1 a 5) |
| L01 | VA13B-L-01 | VM264a | 146.4 | 74.3 | 0.51 | 5.9 | 5.2 | 11.1 | 30.4 | 2.5 |
| L02 | VA13B-L-02 | VM373 | 164.0 | 86.3 | 0.53 | 6.5 | 6.2 | 12.7 | 49.4 | 1.5 |
| L03 | VA13B-L-03 | VM311a | 169.1 | 83.7 | 0.50 | 5.1 | 4.7 | 9.8 | 9.9 | 2.5 |
| L04 | VA13B-L-04 | VM483a | 161.7 | 91.7 | 0.57 | 5.4 | 5.7 | 11.1 | 30.4 | 2.0 |
| L05 | VA13B-L-05 | VM343 | 151.4 | 87.1 | 0.58 | 6.1 | 6.3 | 12.4 | 40.0 | 2.0 |
| L06 | VA13B-L-06 | VM254a | 127.8 | 73.9 | 0.58 | 5.8 | 6.5 | 12.3 | 9.9 | 2.0 |
| L07 | VA13B-L-07 | VM494a | 163.7 | 76.7 | 0.47 | 6.2 | 4.7 | 10.9 | 4.8 | 3.0 |
| L08 | VA13B-L-08 | VM495 | 151.6 | 59.9 | 0.40 | 7.1 | 5.0 | 12.1 | 9.9 | 1.0 |
| L09 | VA13B-L-09 | VM349 | 143.6 | 71.1 | 0.50 | 5.7 | 4.7 | 10.4 | 0.0 | 3.0 |
| L10 | VA13B-L-10 | VM451 | 138.2 | 53.2 | 0.38 | 6.4 | 4.4 | 10.8 | 35.0 | 2.0 |
| L11 | VA13B-L-11 | VM496 | 153.1 | 75.6 | 0.49 | 6.4 | 4.7 | 11.1 | 9.9 | 1.5 |
| L12 | VA13B-L-12 | MzDTPYF65 | 148.9 | 75.5 | 0.51 | 5.5 | 4.2 | 9.7 | 0.0 | 3.0 |
| L13 | VA13B-L-13 | VM492a | 165.4 | 81.4 | 0.49 | 6.7 | 5.6 | 12.3 | 0.0 | 2.5 |
| L14 | VA13B-L-14 | MzATF112 | 197.1 | 107.7 | 0.55 | 6.5 | 6.5 | 13.0 | 9.9 | 2.0 |
| L15 | VA13B-L-15 | MzATF512 | 181.1 | 93.2 | 0.51 | 6.6 | 5.3 | 11.9 | 9.9 | 2.5 |
| L16 | VA13B-L-16 | MzATF521 | 176.9 | 89.5 | 0.50 | 5.6 | 5.3 | 10.9 | 9.9 | 2.5 |
| L17 | VA13B-L-17 | MzATF641 | 191.6 | 97.8 | 0.51 | 6.6 | 5.5 | 12.1 | 20.2 | 2.0 |
| L18 | VA13B-L-18 | MzATF1211 | 195.1 | 92.7 | 0.48 | 6.5 | 5.0 | 11.5 | 14.6 | 2.0 |
| L19 | VA13B-L-19 | MzATF1221 | 187.0 | 104.9 | 0.56 | 6.5 | 5.6 | 12.1 | 4.8 | 2.5 |
| L20 | VA13B-L-20 | MzATF1413 | 171.4 | 105.5 | 0.62 | 5.9 | 6.0 | 11.9 | 0.0 | 2.0 |
| L21 | VA13B-L-21 | MzDTPLPS111 | 166.2 | 87.9 | 0.53 | 5.9 | 5.2 | 11.1 | 4.8 | 2.0 |
| L22 | VA13B-L-22 | MzDTPLPS113 | 177.6 | 100.7 | 0.57 | 5.4 | 5.4 | 10.8 | 4.8 | 4.0 |
| L23 | VA13B-L-23 | MzDTPLPS222 | 172.5 | 87.5 | 0.51 | 6.0 | 5.8 | 11.8 | 4.8 | 3.5 |
| L24 | VA13B-L-24 | MzDTPLPS4111 | 175.5 | 89.7 | 0.51 | 6.8 | 5.2 | 12.0 | 9.9 | 2.5 |
| L25 | VA13B-L-25 | MzDTPLPS413 | 185.8 | 101.7 | 0.55 | 5.9 | 5.6 | 11.5 | 9.9 | 2.0 |
| L26 | VA13B-L-26 | MzDTPLPS831 | 180.7 | 102.3 | 0.57 | 5.9 | 6.2 | 12.1 | 9.9 | 2.5 |
| L27 | VA13B-L-27 | MzDTPYTL1212 | 182.9 | 90.4 | 0.49 | 6.5 | 6.0 | 12.5 | 4.8 | 2.0 |
| L28 | VA13B-L-28 | Mz491492 | 183.7 | 98.0 | 0.53 | 5.9 | 5.9 | 11.8 | 4.8 | 2.5 |
| L29 | VA13B-L-29 | MzLPSF86 | 163.9 | 78.8 | 0.48 | 6.3 | 5.0 | 11.3 | 4.8 | 2.0 |

* La tabla 12 continúa en la siguiente página.

Continúa y concluye la tabla 12.

| Línea | | | ALP | ALM | | | Hojas | StayGreen | | |
|-------------------|------------|-----------|--------------|--------------|-------------|------------|------------|-------------|-------------|------------|
| ID | Origen | Nombre | (cm) | (cm) | ALM/ALP | HArM | HAbM | totales | (%) | Asp P |
| L30 | VA13B-L-30 | VMLPSF103 | 147.3 | 81.3 | 0.55 | 5.4 | 6.2 | 11.6 | 0.0 | 3.0 |
| L31 | VA13B-L-31 | VM254b | 160.7 | 96.5 | 0.60 | 5.0 | 5.4 | 10.4 | 20.2 | 2.5 |
| L32 | VA13B-L-32 | VM321a | 160.9 | 81.0 | 0.50 | 6.1 | 5.1 | 11.2 | 0.0 | 2.5 |
| L33 | VA13B-L-33 | VM492b | 146.0 | 71.6 | 0.49 | 7.0 | 5.9 | 12.9 | 0.0 | 2.5 |
| L34 | VA13B-L-34 | VM311b | 138.8 | 75.0 | 0.54 | 5.8 | 4.6 | 10.4 | 20.2 | 1.0 |
| L35 | VA13B-L-35 | VM491 | 157.0 | 103.7 | 0.66 | 6.2 | 6.9 | 13.1 | 25.0 | 2.0 |
| L36 | VA13B-L-36 | VM494b | 162.5 | 91.1 | 0.56 | 4.9 | 5.8 | 10.7 | 30.4 | 2.0 |
| L37 | VA13B-L-37 | VM264b | 139.5 | 67.8 | 0.49 | 5.1 | 6.4 | 11.5 | 4.8 | 3.0 |
| L38 | VA13B-L-38 | VM264q | 137.4 | 56.7 | 0.41 | 5.8 | 6.0 | 11.8 | 4.8 | 3.0 |
| L39 | VA13B-L-39 | VM321b | 191.7 | 87.4 | 0.46 | 6.5 | 6.0 | 12.5 | 0.0 | 1.5 |
| L40 | VA13B-L-40 | VM334 | 182.0 | 97.3 | 0.53 | 4.8 | 6.8 | 11.6 | 4.8 | 2.5 |
| L41 | VA13B-L-41 | VM366 | 155.5 | 82.3 | 0.53 | 6.1 | 5.7 | 11.8 | 0.0 | 2.0 |
| L42 | VA13B-L-42 | VM482 | 154.5 | 72.7 | 0.47 | 5.4 | 5.3 | 10.7 | 0.0 | 2.8 |
| L43 | VA13B-L-43 | VM483b | 184.6 | 98.2 | 0.53 | 6.3 | 7.0 | 13.3 | 4.8 | 2.5 |
| L44 | VA13B-L-44 | VM484 | 155.0 | 81.3 | 0.52 | 5.7 | 5.9 | 11.6 | 0.0 | 2.0 |
| L45 | VA13B-L-45 | VM490 | 158.4 | 82.9 | 0.52 | 6.7 | 6.2 | 12.9 | 0.0 | 1.8 |
| L46 | VA13B-L-46 | VM75 | 143.8 | 71.1 | 0.49 | 5.9 | 5.3 | 11.2 | 0.0 | 2.5 |
| L47 | VA13B-L-47 | VM27 | 161.1 | 81.3 | 0.50 | 6.9 | 5.9 | 12.8 | 0.0 | 2.0 |
| L48 | VA13B-L-48 | VM245 | 159.4 | 77.8 | 0.49 | 5.0 | 5.0 | 10.0 | 0.0 | 4.0 |
| L49 | VA13B-L-49 | VM282 | 158.7 | 78.2 | 0.49 | 7.0 | 6.0 | 13.0 | 0.0 | 2.0 |
| L50 | VA13B-L-50 | VM305 | 158.4 | 86.9 | 0.55 | 6.0 | 7.2 | 13.2 | 30.4 | 1.8 |
| L51 | VA13B-L-51 | VM327 | 151.9 | 74.5 | 0.49 | 5.6 | 4.4 | 10.0 | 20.2 | 2.5 |
| L52 | VA13B-L-52 | VM338 | 145.6 | 76.0 | 0.52 | 6.6 | 5.0 | 11.6 | 0.0 | 1.5 |
| Media | | | 163.1 | 84.4 | 0.5 | 6.0 | 5.6 | 11.6 | 10.0 | 2.3 |
| Min. | | | 127.8 | 53.2 | 0.4 | 4.8 | 4.2 | 9.7 | 0.0 | 1.0 |
| Max | | | 197.1 | 107.7 | 0.7 | 7.1 | 7.2 | 13.3 | 49.4 | 4.0 |
| HSD (0.05) | | | 11.9 | 12.5 | 0.07 | 1.3 | 1.4 | 1.9 | 1.08 | 0.7 |
| Genotipo | | | *** | *** | *** | *** | *** | *** | *** | *** |

ALP: Altura de planta; ALM: Altura de mazorca; ALM/ALP: Relación altura de mazorca sobre altura de planta; HArM: Hojas arriba de la mazorca; HAbM: Hojas debajo de la mazorca; Asp P: Aspecto de planta

*, ** y *** significativo a una *p* valor menor de 0.05, 0.01 ó 0.001 respectivamente.

6.1.3 Caracteres de la mazorca

Los promedios obtenidos de las variables cuantificadas sobre caracteres de la mazorca se presentan en la tabla 13. A partir del análisis de comparación de medias se detectaron tres grupos estadísticamente diferentes para longitud, diámetro, peso y segregación en la mazorca, mientras que para el número de hileras, aspecto y porcentaje de pudrición, los grupos formados fueron dos (Anexo 13).

En promedio, la longitud de mazorca (LMz) de las líneas Vitamaíz fue de 12.5 cm, con un rango de 9.9 a 15.0 cm (Tabla 13). Las líneas con las mazorcas más largas fueron la L32, L45 y L27 con valores de ~15 cm (Tabla 13). Mientras que el genotipo L26 mostró la mazorca más corta, con 9.9 cm (Tabla 13). El peso promedio de mazorca entre líneas endogámicas fue de 70.8 g, con un rango de variación de 41.2 g hasta 107.7 g (Tabla 13). Las líneas L28 (107.5 g), L27 (106.4 g), L18 (105.1 g), L25 (104.4 g) y L02 (103.1 g) mostraron las mazorcas con mayor peso mientras que las líneas L13 (41.2 g), L05 (44.3 g), L50 (46.3 g), L51 (46.4 g) y L46 (46.9) mostraron valores estadísticamente inferiores (Tabla 13).

Los diámetros de mazorca (DMz) máximos se presentaron en las líneas L18 (~4.1cm), L02 y L27, mientras que los mínimos en las líneas L13 (2.9 cm), L06 (3.0 cm), L05 (3.20 cm) y L51 (3.28 cm). El diámetro de las mazorcas puede estar determinado por el número de hileras de grano que posee un genotipo de maíz. La media general del número de hileras por mazorca (HMz) fue de 13.3, con un rango que abarco de 10.5 a 15.1 (Tabla 13). Las líneas con mayor cantidad de hileras fueron la L15, L33 y la L47, todas ellas con un promedio individual de 15.1. En el lado opuesto se encontraron las líneas L05 y L13, con el promedio de hileras de mazorca más bajo, el cual fue de 10.5 y 10.7 respectivamente.

El aspecto de mazorca nos permite visualizar los efectos del ambiente, las plagas o enfermedades causadas por microorganismos. La calificación promedio de la apariencia de mazorca entre las líneas de maíz azul fue de 3.3 con un rango que varió de 2.1 a 4.9. Esto significa, en términos generales, que las mazorcas de las líneas, a comparación con las mazorcas de los híbridos (ver más adelante), no resultaron de buen aspecto en este ensayo de Nayarit (aspecto que fue de regular a malo) (Tabla 13). Los genotipos que presentaron las mejores calificaciones fueron las líneas L25 con 2.0 puntos, la L44 con 2.12 y la L20 con 2.15 puntos. Mientras tanto las líneas peor calificadas fueron la L13 (4.9), L03 (4.7) y L46 (4.4) (Tabla 13).

Uno de los defectos que se ven reflejados en el aspecto de mazorca es la pudrición que presenta. El porcentaje de mazorcas podridas entre genotipos mostró un intervalo que varió de 2.8 a 38.2% (Tabla

13). Sin embargo, 45 de las 52 líneas estudiadas no sobrepasaron el 20% de mazorcas podridas, siendo los genotipos estadísticamente más sobresalientes, las líneas L41 y L11 con solo el 2.8 y 5.2% de mazorcas podridas respectivamente (Tabla 13). Los genotipos con mayor pudrición de mazorca fueron las líneas L03 (38.2%) y L19 (26%).

El porcentaje de mazorcas segregantes entre las líneas Vitamaíz varió de 0.0 hasta el 60.9% (Tabla 13). De los 52 genotipos evaluados se detectaron 16 líneas sobresalientes al no registrar mazorcas con segregación de granos blancos o amarillos. En contraparte las líneas que registraron los porcentajes más altos de mazorcas segregantes fueron la L18 (58.0 %), L38 (60.9 %), L41 (48.8 %) y L48 (50.9 %) (Tabla 13).

Tabla 13. Promedios obtenidos de los caracteres de la mazorca en las líneas Vitamaíz

| ID | Línea | | LMz | DMz | HMz | PMz | Aap Mz | Mz Pod | Mz Seg |
|-----|------------|--------------|------|------|------|-------|---------|--------|--------|
| | Origen | Nombre | (cm) | (cm) | | (g) | (1 a 5) | (%) | (%) |
| L01 | VA13B-L-01 | VM264a | 12.2 | 4.0 | 14.0 | 73.2 | 4.2 | 7.3 | 15.9 |
| L02 | VA13B-L-02 | VM373 | 13.4 | 4.1 | 14.4 | 103.1 | 3.1 | 13.7 | 0.0 |
| L03 | VA13B-L-03 | VM311a | 12.6 | 3.7 | 13.2 | 62.2 | 4.8 | 38.2 | 0.0 |
| L04 | VA13B-L-04 | VM483a | 12.7 | 3.4 | 12.3 | 71.0 | 4.2 | 18.1 | 0.0 |
| L05 | VA13B-L-05 | VM343 | 10.2 | 3.2 | 10.5 | 44.3 | 3.5 | 8.2 | 0.0 |
| L06 | VA13B-L-06 | VM254a | 13.1 | 3.1 | 11.9 | 54.5 | 3.9 | 19.1 | 0.0 |
| L07 | VA13B-L-07 | VM494a | 11.3 | 3.7 | 13.5 | 61.2 | 4.2 | 19.9 | 0.6 |
| L08 | VA13B-L-08 | VM495 | 12.0 | 3.6 | 12.8 | 74.4 | 2.5 | 8.5 | 0.0 |
| L09 | VA13B-L-09 | VM349 | 11.1 | 3.6 | 15.0 | 54.9 | 3.5 | 18.6 | 0.0 |
| L10 | VA13B-L-10 | VM451 | 10.1 | 3.6 | 12.8 | 57.5 | 3.9 | 10.6 | 0.0 |
| L11 | VA13B-L-11 | VM496 | 13.9 | 3.4 | 13.3 | 81.9 | 2.8 | 5.2 | 0.0 |
| L12 | VA13B-L-12 | MzDTPYF65 | 10.2 | 3.5 | 12.8 | 54.4 | 4.3 | 13.0 | 38.2 |
| L13 | VA13B-L-13 | VM492a | 11.5 | 2.9 | 10.8 | 41.2 | 4.9 | 14.1 | 5.1 |
| L14 | VA13B-L-14 | MzATF112 | 11.8 | 3.7 | 14.4 | 72.7 | 3.6 | 8.4 | 37.9 |
| L15 | VA13B-L-15 | MzATF512 | 13.8 | 3.9 | 15.1 | 82.0 | 2.7 | 13.5 | 3.5 |
| L16 | VA13B-L-16 | MzATF521 | 12.0 | 3.9 | 13.6 | 85.2 | 3.2 | 13.6 | 8.3 |
| L17 | VA13B-L-17 | MzATF641 | 12.6 | 3.5 | 14.4 | 62.5 | 4.0 | 16.1 | 3.3 |
| L18 | VA13B-L-18 | MzATF1211 | 13.6 | 4.1 | 13.8 | 105.1 | 2.5 | 14.2 | 58.0 |
| L19 | VA13B-L-19 | MzATF1221 | 10.9 | 3.6 | 13.9 | 64.7 | 3.5 | 26.0 | 3.6 |
| L20 | VA13B-L-20 | MzATF1413 | 13.2 | 3.7 | 13.5 | 81.4 | 2.2 | 10.1 | 0.0 |
| L21 | VA13B-L-21 | MzDTPLPS111 | 13.4 | 3.6 | 13.5 | 81.4 | 2.4 | 10.4 | 20.1 |
| L22 | VA13B-L-22 | MzDTPLPS113 | 11.2 | 3.7 | 13.4 | 70.1 | 3.1 | 22.0 | 36.7 |
| L23 | VA13B-L-23 | MzDTPLPS222 | 12.2 | 3.5 | 13.5 | 69.3 | 3.4 | 16.0 | 19.3 |
| L24 | VA13B-L-24 | MzDTPLPS4111 | 14.0 | 3.8 | 13.4 | 82.5 | 3.5 | 23.9 | 9.3 |
| L25 | VA13B-L-25 | MzDTPLPS413 | 14.4 | 3.9 | 14.3 | 104.4 | 2.1 | 10.9 | 33.0 |
| L26 | VA13B-L-26 | MzDTPLPS831 | 9.9 | 3.9 | 13.0 | 60.8 | 3.3 | 23.1 | 0.7 |
| L27 | VA13B-L-27 | MzDTPYTL1212 | 15.0 | 4.0 | 12.9 | 106.4 | 2.6 | 13.6 | 1.3 |
| L28 | VA13B-L-28 | Mz491492 | 13.9 | 4.0 | 12.8 | 107.5 | 2.7 | 17.1 | 30.0 |
| L29 | VA13B-L-29 | MzLPSF86 | 12.9 | 3.7 | 14.0 | 82.0 | 2.6 | 12.7 | 1.5 |

* La tabla 13 continúa en la siguiente página.

Continúa y concluye la tabla 13

| Línea | | | LMz | DMz | | PMz | Asp Mz | Mz Pod | Mz Seg |
|-------------------|------------|-----------|-------------|-------------|-------------|--------------|------------|-------------|-------------|
| ID | Origen | Nombre | (cm) | (cm) | HMz | (g) | (1 a 5) | (%) | (%) |
| E30 | VA13B-L-30 | VMLPSF103 | 11.4 | 3.6 | 14.0 | 82.0 | 3.2 | 12.9 | 1.3 |
| E31 | VA13B-L-31 | VM254b | 12.7 | 3.3 | 11.3 | 58.4 | 3.8 | 16.6 | 2.0 |
| E32 | VA13B-L-32 | VM321a | 15.0 | 4.0 | 12.6 | 78.4 | 2.4 | 9.8 | 1.7 |
| E33 | VA13B-L-33 | VM492b | 12.3 | 3.9 | 15.1 | 73.3 | 2.8 | 11.3 | 3.0 |
| E34 | VA13B-L-34 | VM311b | 11.0 | 3.8 | 14.3 | 67.0 | 2.9 | 19.8 | 10.3 |
| E35 | VA13B-L-35 | VM491 | 13.8 | 3.6 | 13.7 | 70.9 | 3.5 | 10.2 | 0.0 |
| E36 | VA13B-L-36 | VM494b | 12.7 | 4.0 | 13.5 | 89.9 | 2.4 | 8.9 | 0.0 |
| E37 | VA13B-L-37 | VM264b | 12.2 | 3.4 | 12.4 | 51.0 | 4.1 | 8.3 | 0.0 |
| E38 | VA13B-L-38 | VM264q | 12.9 | 3.5 | 11.1 | 61.6 | 4.0 | 7.2 | 60.9 |
| E39 | VA13B-L-39 | VM321b | 14.7 | 3.9 | 13.4 | 78.6 | 3.8 | 11.7 | 42.1 |
| E40 | VA13B-L-40 | VM334 | 11.9 | 3.7 | 14.8 | 62.4 | 3.5 | 20.7 | 6.5 |
| E41 | VA13B-L-41 | VM366 | 11.7 | 3.8 | 11.8 | 74.3 | 2.6 | 1.8 | 48.8 |
| E42 | VA13B-L-42 | VM482 | 12.1 | 3.5 | 12.8 | 59.5 | 3.1 | 12.3 | 15.6 |
| E43 | VA13B-L-43 | VM483b | 14.4 | 3.7 | 12.1 | 68.6 | 4.3 | 17.4 | 23.6 |
| E44 | VA13B-L-44 | VM484 | 12.5 | 3.6 | 12.3 | 66.3 | 2.1 | 10.3 | 10.8 |
| E45 | VA13B-L-45 | VM490 | 15.0 | 3.4 | 13.1 | 76.3 | 3.0 | 11.6 | 0.0 |
| E46 | VA13B-L-46 | VM75 | 12.0 | 3.5 | 14.3 | 46.9 | 4.5 | 16.1 | 0.0 |
| E47 | VA13B-L-47 | VM27 | 14.0 | 3.5 | 15.1 | 75.9 | 2.8 | 8.2 | 1.8 |
| E48 | VA13B-L-48 | VM245 | 12.2 | 3.4 | 12.7 | 51.5 | 3.8 | 9.9 | 50.9 |
| E49 | VA13B-L-49 | VM282 | 12.6 | 3.6 | 12.8 | 67.2 | 3.1 | 10.8 | 0.0 |
| E50 | VA13B-L-50 | VM305 | 11.3 | 3.4 | 13.6 | 46.3 | 4.4 | 10.2 | 4.7 |
| E51 | VA13B-L-51 | VM327 | 10.7 | 3.3 | 14.1 | 46.4 | 4.1 | 12.0 | 0.7 |
| E52 | VA13B-L-52 | VM338 | 12.0 | 3.6 | 14.5 | 77.4 | 2.8 | 7.5 | 2.8 |
| Media | | | 12.5 | 3.6 | 13.3 | 70.8 | 3.3 | 14.6 | 11.8 |
| Min. | | | 9.9 | 2.9 | 10.5 | 41.2 | 2.1 | 2.9 | 0.0 |
| Max | | | 15.0 | 4.1 | 15.1 | 107.5 | 4.9 | 38.2 | 60.9 |
| HSD (0.05) | | | 2.5 | 0.43 | 2.4 | 27.5 | 1.0 | 18.3 | 18.2 |
| Genotipo | | | *** | *** | *** | *** | *** | *** | *** |

LMz: Longitud de mazorca; DMz: Diámetro de mazorca; HMz: Hileras de mazorca; PMz: Peso de mazorca; Asp Mz: Aspecto de mazorca; Mz Pod: Mazorcas podridas; Mz Seg: Mazorcas segregantes.

*, ** y *** significativo a una *p* valor menor de 0.05, 0.01 ó 0.001 respectivamente.

6.2 Análisis de cruzas simple entre líneas Vitamaíz

En un programa de mejoramiento de maíz, el potencial genético de un grupo de líneas endogámicas se evalúa a través de cruzamientos entre ellas (Aly, 2013). Aunque una línea no sea la mejor de manera *per-se*, interesa identificar aquellos genotipos que generan a los mejores híbridos. El análisis de patrones heteróticos ayuda a agilizar la obtención de nuevas cruzas superiores. En el presente trabajo se utilizó el diseño de apareamiento Línea x Probador con el fin de analizar la habilidad combinatoria general y específica entre las líneas Vitamaíz.

En la tabla 14 se presentan los cuadrados medios obtenidos del análisis de varianza y el nivel de significancia estadística del rendimiento de grano y sus componentes de los híbridos Vitamaíz, según el diseño II de Carolina del Norte. El ANOVA arrojó diferencias altamente significativas ($p < 0.001$) para hembras y la interacción macho por hembra en todas las características evaluadas (Tabla 14). El efecto generado por los machos se reflejó en los caracteres de la mazorca pero no fue significativo para el rendimiento final de grano y de mazorca por hectárea (Tabla 14).

Tabla 14. Cuadrados medios del análisis de varianza y nivel de significancia estadística del rendimiento de grano y sus componentes, según el Diseño II de Carolina del Norte.

| F de V | GL | RMz (t ha ⁻¹) | RG (t ha ⁻¹) | LMz (cm) | DMz (cm) | PMz (g) | HMz |
|-------------------|------|------------------------------|-----------------------------|-------------|-------------|------------|---------|
| Repetición | 7 | 103.2*** | 65.3*** | 3.4NS | 0.5** | 5517*** | 3.1NS |
| Machos | 51 | 3.3NS | 2.0NS | 39.2*** | 1.8*** | 22471*** | 28.9*** |
| Hembras | 2 | 46.5*** | 29.7*** | 15.7*** | 0.6*** | 10007*** | 10.7*** |
| MxH | 93 | 12.7*** | 8.2*** | 5.1*** | 0.3*** | 3129*** | 4.3*** |
| Error | 1015 | 4.1 | 2.6 | 2.5 | 0.2 | 1274 | 2.1 |
| Total | 1171 | | | | | | |
| Media | | 6.6 | 5.3 | 16.7 | 4.8 | 183.2 | 14.6 |
| Desv. Est. | | 2.7 | 2.1 | 1.8 | 0.3 | 43.2 | 1.6 |

GL: Grados de libertad; **RMz:** Rendimiento de mazorca; **RG:** Rendimiento de grano; **LMz:** Longitud de mazorca; **DMz:** Diámetro de mazorca; **PMz:** Peso de mazorca; **HMz:** hileras de mazorca.

NS: No significativo; *, ** y *** significativo a una p valor menor de 0.05, 0.01 ó 0.001.

6.2.1 Comportamiento del rendimiento de grano y sus componentes de líneas y probadores en cruzamientos simples

Previamente al análisis de aptitud combinatoria general (ACG) y específica (ACE) se evaluó el comportamiento del rendimiento de grano y algunos de sus componentes en las cruzas obtenidas de las líneas con los tres probadores. No obstante, algunas entradas fueron descartadas para estos análisis por diversas razones (Tabla 15).

Tabla 15. Grupo de líneas Vitamaíz que fueron descartados para el análisis del comportamiento del rendimiento de grano y sus componentes, así como del análisis de ACG.

| ID | Nombre | Observación |
|------------|---------------|---|
| L03 | VM311a | Se perdieron los datos de la mazorca de la cruza con el probador VM311a |
| L09 | VM349 | No se obtuvo cruza con el probador VM451 |
| L10 | VM451 | Se perdieron los datos de la mazorca de la cruza con el probador VM451 |
| L12 | MzDTPYF65 | No se obtuvo la cruza con el probador VM321a |
| L22 | MzDTP113 | No se obtuvo la cruza con el probador VM451 |
| L32 | VM321a | Se perdieron los datos de la mazorca de la cruza con el probador VM321a |
| L34 | VM311b | Se perdieron los datos de la mazorca de la cruza con el probador VM311a |
| L39 | VM321b | Se perdieron los datos de la mazorca de la cruza con el probador VM321a |
| L52 | VM338 | No se obtuvo la cruza con el probador VM321a |

Las medias del rendimiento de grano y sus componentes entre los cruzamientos de las líneas con los tres probadores se muestran en la tabla 16. La producción de grano varió significativamente de 3.8 a 7.8 t ha⁻¹, siendo las más sobresalientes aquellas que superaron 5.2 t ha⁻¹ (media general del ensayo de rendimiento). En total se identificaron 13 líneas Vitamaíz que generaron buenos cruzamientos con los tres probadores, destacándose las líneas L29, L30, L33 y L51 que obtuvieron híbridos con rendimientos promedio de 7.5, 7.0, 7.8, y 7.0 t ha⁻¹ respectivamente (Tabla 16).

El análisis de los componentes del rendimiento reveló que las mismas líneas que obtuvieron el mejor rendimiento de grano, también fueron superiores en la producción de mazorca (RMz) (Tabla 16). Esto significa que el rendimiento por unidad de área en el cultivo de maíz depende significativamente del número de mazorcas cosechadas por hectárea, y eso a su vez depende de la densidad de siembra y de plantas establecidas por hectárea. Sin embargo, los otros componentes como la longitud, diámetro, peso y el número de hileras por mazorca son importantes ya que ayudan a incrementar la productividad.

De las 13 líneas que obtuvieron los mejores rendimientos de grano en sus tres cruza, no todas fueron destacadas en cada componente (Tabla 16). En un primer grupo se consideraron a las líneas L23 (6.5 t ha⁻¹), L25 (6.6 t ha⁻¹) y L31 (6.9 t ha⁻¹), en las que el RMz por hectárea fue el que aportó de forma significativa a la alta productividad obtenida por estos genotipos (Tabla 16). En un segundo grupo se contemplaron las líneas en las que al menos en dos componentes se mostraron superiores. Este fue el caso de las líneas L11 (6.5 t ha⁻¹) y L13 (6.5 t ha⁻¹) en donde la LMz y el PMz fueron los componentes que más destacaron, mientras en las líneas L24 (6.7 t ha⁻¹), L26 (6.1 t ha⁻¹), L27 (5.9 t ha⁻¹), L29 (7.5 t ha⁻¹) y L30 (7.1 t ha⁻¹) lo fueron el DMz y PMz (Tabla 16).

En un tercer grupo se observaron líneas que en sus cruzamientos manifestaron superioridad en tres componentes. En este caso sobresalieron la línea L45 (6.7 t ha⁻¹), en la cual los componentes con mayor peso fueron la LMz, DMz y PMz, mientras que el DMz, HMz y PMz lo fueron para la línea L33 (7.8 t ha⁻¹) (Tabla 16). Finalmente la línea L51 (7.0 t ha⁻¹) manifestó un efecto positivo en todos los componentes (Tabla 16).

Tabla 16. Rendimiento de grano y sus componentes de las líneas hembra en promedio de cruzas con tres probadores.

| Líneas hembra | | RMz | RG | LMz | DMz | PMz | |
|---------------|--------------|-----------------------|-----------------------|-----------|----------|---------|----------|
| ID | Nombre | (t ha ⁻¹) | (t ha ⁻¹) | (cm) | (cm) | (g) | HMz |
| L01 | VM264a | 5.593 | 4.553 | 17.420** | 4.517 | 184.1 | 15.083 |
| L02 | VM373 | 4.932 | 3.945 | 15.958 | 4.725 | 177.8 | 15.083* |
| L04 | VM483a | 4.971 | 3.977 | 15.675 | 4.467 | 156.5 | 13.750 |
| L05 | VM343 | 5.734 | 4.588 | 15.942 | 4.650 | 176.7 | 13.583 |
| L06 | VM254a | 6.224 | 4.979 | 16.758 | 4.563 | 181.7 | 14.333 |
| L07 | VM494a | 6.274 | 5.019 | 16.521 | 4.879* | 190.6** | 14.750 |
| L08 | VM495 | 5.868 | 4.694 | 16.354 | 4.608 | 177.3 | 13.750 |
| L11 | VM496 | 8.151* | 6.520* | 17.438** | 4.633 | 199.9* | 14.583 |
| L13 | VM492a | 8.089** | 6.471** | 17.700*** | 4.577 | 199.5* | 13.458 |
| L14 | MzATF112 | 6.586 | 5.269 | 16.208 | 4.696 | 186.8 | 14.667 |
| L15 | MzATF512 | 7.156 | 5.725 | 16.917 | 4.858** | 200.0** | 15.666** |
| L16 | MzATF521 | 6.020 | 4.816 | 16.583 | 4.742* | 196.5* | 15.083 |
| L17 | MzATF641 | 4.781 | 3.824 | 17.508* | 4.571 | 196.1* | 14.014 |
| L18 | MzATF1211 | 5.659 | 4.527 | 17.000* | 4.588 | 184.0 | 14.583 |
| L19 | MzATF1221 | 6.875 | 5.500 | 16.300 | 4.741* | 177.7 | 15.488* |
| L20 | MzATF1413 | 6.346 | 5.077 | 16.750 | 4.463 | 171.3 | 14.500 |
| L21 | MzDTPLPS111 | 6.152 | 4.922 | 15.938 | 4.575 | 165.0 | 14.500 |
| L23 | MzDTPLPS222 | 8.107** | 6.486** | 16.479 | 4.563 | 177.4 | 14.333 |
| L24 | MzDTPLPS4111 | 8.428*** | 6.742** | 16.417 | 4.813* | 199.4* | 15.000 |
| L25 | MzDTPLPS413 | 8.190** | 6.552** | 15.704 | 4.704 | 178.1 | 13.917 |
| L26 | MzDTPLPS831 | 7.664* | 6.131* | 16.333 | 4.804* | 191.8* | 14.500 |
| L27 | MzDTPYTL1212 | 7.367* | 5.893* | 15.604 | 4.738* | 191.7* | 14.083 |
| L28 | Mz491492 | 6.644 | 5.315 | 15.313 | 4.933*** | 196.1** | 15.833** |
| L29 | MzLPSF86 | 9.396*** | 7.517*** | 16.188 | 4.883*** | 207.3** | 14.458 |
| L30 | VMLPSF103 | 8.825*** | 7.060*** | 15.917 | 4.762* | 196.4* | 14.750 |
| L31 | VM254b | 8.639*** | 6.911*** | 16.291 | 4.704 | 184.3 | 14.333 |
| L33 | VM492b | 9.724*** | 7.779*** | 16.604 | 4.904** | 218.6** | 15.750** |

* La tabla 16 continúa en la siguiente página.

Continúa y concluye la tabla 16

| Líneas hembra | | RMz | RG | LMz | DMz | PMz | |
|---------------------------------|--------|-----------------------|-----------------------|-------------|------------|--------------|-------------|
| ID | Nombre | (t ha ⁻¹) | (t ha ⁻¹) | (cm) | (cm) | (g) | HMz |
| L35 | VM491 | 6.244 | 4.995 | 17.146* | 4.646 | 185.3 | 15.666** |
| L36 | VM494b | 6.088 | 4.870 | 16.292 | 4.717 | 171.0 | 15.583** |
| L37 | VM264b | 5.094 | 4.075 | 16.542 | 4.404 | 148.8 | 13.667 |
| L38 | VM264q | 3.804 | 3.043 | 14.733 | 4.482 | 131.3 | 14.000 |
| L40 | VM334 | 5.356 | 4.285 | 16.208 | 4.545 | 170.4 | 14.792 |
| L41 | VM366 | 6.080 | 4.864 | 16.958 | 4.663 | 182.3 | 13.333 |
| L42 | VM482 | 5.327 | 4.262 | 16.437 | 4.629 | 163.5 | 14.000 |
| L43 | VM483b | 6.665 | 5.332 | 17.813*** | 4.804* | 191.8* | 14.292 |
| L44 | VM484 | 5.519 | 4.415 | 17.708*** | 4.542 | 178.8 | 14.167 |
| L45 | VM490 | 8.415** | 6.732** | 17.604** | 4.750* | 213.6** | 14.083 |
| L46 | VM75 | 5.678 | 4.542 | 15.208 | 4.721 | 157.4 | 14.833 |
| L47 | VM27 | 6.071 | 4.857 | 17.208* | 4.417 | 167.3 | 15.333* |
| L48 | VM245 | 5.082 | 4.065 | 15.146 | 4.604 | 143.4 | 15.333* |
| L49 | VM282 | 6.767 | 5.413 | 16.750 | 4.825** | 194.3** | 13.833 |
| L50 | VM305 | 4.202 | 3.361 | 15.725 | 4.558 | 152.0 | 14.167 |
| L51 | VM327 | 8.779*** | 7.023*** | 17.521* | 4.904*** | 220.2** | 15.750* |
| Media general del ensayo | | 6.5 | 5.2 | 16.5 | 4.7 | 182.8 | 14.6 |

RMz: Rendimiento de mazorca; **RG:** Rendimiento de grano; **LMz:** Longitud de mazorca; **DMz:** Diámetro de mazorca; **PMz:** Peso de mazorca; **HMz:** hileras de mazorca.

*, ** y *** valores superiores a la media y significativos a un *p* valor menor de 0.05, 0.01 ó 0.001 respectivamente.

En cuanto a los probadores, el comportamiento promedio que estos registraron en el rendimiento de grano y los componentes, se muestra en la tabla 17. Como se puede observar, ninguno de los probadores manifestó superioridad en relación al rendimiento de grano y mazorca, al igual que en los componentes de DMz e HMz. No obstante, el probador VM451 registró de forma significativa a las mazorcas más largas y más pesadas en sus combinaciones con el total de las líneas. Esto es indicativo de que con dicho probador se podría buscar el mejoramiento al respecto del longitud de mazorca, lo que conllevaría a un mayor número de granos por hileras, mayor peso de mazorca y probablemente mejores rendimiento de grano.

Tabla 17. Rendimiento de grano y sus componentes de los probadores en promedio de cruza con el total de líneas.

| ID | Probador Nombre | RMz (t ha ⁻¹) | RG (t ha ⁻¹) | LMz (cm) | DMz (cm) | PMz (g) | HMz |
|---------------------------------|--------------------|------------------------------|-----------------------------|-------------|-------------|--------------|-------------|
| P1 | VM311a | 6.5 | 5.2 | 16.4 | 4.8 | 180.1 | 14.7 |
| P2 | VM321a | 6.7 | 5.4 | 16.7 | 4.8 | 177.2 | 14.3 |
| P3 | VM451 | 6.7 | 5.3 | 17.0* | 4.7 | 191.1** | 14.9 |
| Media general del ensayo | | 6.5 | 5.2 | 16.5 | 4.7 | 182.8 | 14.6 |

RMz: Rendimiento de mazorca; **RG:** Rendimiento de grano; **LMz:** Longitud de mazorca; **DMz:** Diámetro de mazorca; **PMz:** Peso de mazorca; **HMz:** hileras de mazorca.

*, ** y *** valores superiores a la media del ensayo y significativos a un *p* valor menor de 0.05, 0.01 ó 0.001 respectivamente.

Al respecto de cruzas específicas, se detectó un grupo de 37 que fueron sobresalientes al rendir entre 6.2 y 8.9 t ha⁻¹ de grano y que correspondieron a las mejores en el RMz (Tabla 18). Las mejores cruzas fueron la L30 x P3 (8.5 t ha⁻¹), L51 x P3 (8.5 t ha⁻¹), L33 x P3 (8.8 t ha⁻¹) y L34 x P2 (8.9 t ha⁻¹). En cuanto a los componentes de rendimiento hubo mucha variabilidad. Para el LMz la diferencia mostrada fue de 15.0 (L31 x P1) a 19.1 cm (L51 x P3) y para el DMz de 4.5 (L23 x P1) a 5.3 cm (L34 x P2). Mientras que el PMz varió de 173.5 (L31 x P1) a 264.8 g (L51 x P3) y en el número de hileras por mazorca de 12.5 (L13 x P2) a 17.4 (L34 x P2) (Tabla 18).

Al igual que en el análisis anterior, no todos los componentes del rendimiento fueron significativamente superiores en las mejores cruzas. En las cruzas L33 x P3 y L51 x P3 todos los componentes del rendimiento fueron destacados, ya que estadísticamente fueron superiores a su respectiva media general en el ensayo (Tabla 18). En las cruzas L10 x P1 (7.3 t ha⁻¹), L11 x P2 (7.1 t ha⁻¹) y L34 x P2 (8.9 t ha⁻¹) los componentes DMz, PMz e HMz registraron valores significativamente superiores, mientras que en las cruzas L45 x P2 (7.4 t ha⁻¹) y L52 x P2 (6.4 t ha⁻¹) lo fueron el LMz, DMz y PMz (Tabla 18). Al respecto de las cruzas en las que dos de los componentes fueron relevantes se encuentran la L30 x P1 (6.4 t ha⁻¹), L33 x P2 (7.2 t ha⁻¹) y P29 x P3 (7.9 t ha⁻¹) en donde el DMz y PMz fueron estadísticamente superiores y el LMz y PMz lo fueron para las cruzas L11 x P1 (7.3 t ha⁻¹), L22 x P1 (6.5 t ha⁻¹), L13 x P3 (7.3 t ha⁻¹) y L44 x P3 (6.6 t ha⁻¹) (Tabla 18). Finalmente el total de cruzas en las que un solo componente mostró superioridad fueron nueve, donde en ocho de ellas lo fue PMz y en una el DMz.

Tabla 18. Rendimiento de grano y sus componentes de 37 cruzas sobresalientes.

| ID Cruza | Nombre de la cruza | RG (t ha ⁻¹) | RMz (t ha ⁻¹) | LMz (cm) | DMz (cm) | PMz (g) | HMz |
|----------|---------------------|--------------------------|---------------------------|----------|----------|----------|---------|
| L10 x P1 | VM451xVM311a | 7.289** | 9.111** | 16.875 | 5.175** | 240** | 16.000* |
| L11 x P1 | VM496xVM311a | 7.263** | 9.078** | 17.375* | 4.838 | 215.1* | 15.500 |
| L22 x P1 | MzDTPLPS113xVM311a | 6.501* | 8.126* | 17.563* | 4.613 | 208.3* | 14.500 |
| L23 x P1 | MzDTPLPS22xVM311a | 6.192* | 7.741* | 16.063 | 4.525 | 175.4 | 14.750 |
| L24 x P1 | MzDTPLPS4111xVM311a | 7.178** | 8.973** | 16.125 | 4.875 | 201.8* | 15.000 |
| L29 x P1 | MzLPSF86xVM311a | 7.271** | 9.088** | 15.688 | 4.900* | 200.5* | 14.250 |
| L30 x P1 | VMLPSF103xVM311a | 6.404* | 8.005* | 16.813 | 4.975* | 201.4* | 14.250 |
| L31 x P1 | VM254bxVM311a | 7.812** | 9.765** | 15.000 | 4.838 | 173.5 | 14.750 |
| L32 x P1 | VM321axVM311a | 7.328** | 9.160** | 17.250 | 5.000** | 197.6* | 16.250* |
| L33 x P1 | VM492bxVM311a | 7.372** | 9.214** | 16.000 | 4.675 | 194.3* | 15.000 |
| L45 x P1 | VM490xVM311a | 7.737** | 9.671** | 17.375* | 4.900** | 223.9** | 14.000 |
| L52 x P1 | VM338xVM311a | 6.443* | 8.054* | 19.000** | 5.088** | 252.1*** | 13.750 |
| L07 x P2 | VM494axVM321a | 6.617* | 8.271* | 16.188 | 5.000** | 197.5* | 14.500 |
| L11 x P2 | VM496xVM321a | 7.137** | 8.920** | 18.063** | 4.800* | 208.4** | 14.250 |
| L13 x P2 | VM492axVM321a | 7.283** | 9.104** | 16.875 | 4.675 | 195.1* | 12.500 |
| L19 x P2 | MzATF1221xVM321a | 6.238* | 7.797* | 17.188 | 4.950* | 191.6 | 15.500 |
| L24 x P2 | MzDTPLPS4111xVM321a | 6.965** | 8.707** | 16.438 | 4.613 | 178.6 | 13.500 |
| L26 x P2 | MzDTPLPS831xVM321a | 6.819** | 8.524** | 16.563 | 4.863 | 195.6 | 14.250 |
| L29 x P2 | MzLPSF86xVM321a | 7.395** | 9.243** | 15.813 | 4.788 | 193.25* | 13.875 |
| L30 x P2 | VMLPSF103xVM321a | 6.290* | 7.862* | 15.375 | 4.663 | 183.1 | 14.500 |

| | | | | | | | |
|-----------------|--------------------|---------|----------|----------|---------|----------|---------|
| L31 x P2 | VM254bxVM321a | 6.514* | 8.143* | 17.000 | 4.625 | 181.9 | 13.250 |
| L33 x P2 | VM492bxVM321a | 7.165** | 8.955** | 16.313 | 5.032** | 209.25** | 15.250 |
| L34 x P2 | VM311bxVM321a | 8.868** | 11.085** | 17.075 | 5.314** | 226.1** | 17.375* |
| L45 x P2 | VM490xVM321a | 6.463* | 8.079* | 16.813 | 4.725 | 194.1* | 14.750 |
| L51 x P2 | VM327xVM321a | 7.065** | 8.831** | 16.625 | 4.850 | 201.1* | 14.750 |
| L13 x P3 | VM492axVM451 | 6.534* | 8.169* | 18.788** | 4.543 | 224.6** | 13.125 |
| L14 x P3 | MzATF112xVM451 | 6.975* | 8.718** | 16.500 | 4.650 | 200.1* | 14.750 |
| L23 x P3 | MzDTPLPS22xVM451 | 7.413** | 9.266** | 16.938 | 4.575 | 182 | 13.500 |
| L25 x P3 | MzDTPLPS413xVM451 | 7.870** | 9.838** | 16.688 | 4.625 | 199.4* | 14.000 |
| L26 x P3 | MzDTPLPS831xVM451 | 7.273** | 9.091** | 16.500 | 4.700 | 199.1* | 14.000 |
| L27 x P3 | MzDTPYTL1212xVM451 | 7.144** | 8.930** | 16.500 | 4.775 | 228.8** | 14.250 |
| L29 x P3 | MzLPSF86xVM451 | 7.885** | 9.857** | 17.063 | 4.963** | 228.25** | 15.250 |
| L30 x P3 | VMLPSF103xVM451 | 8.487** | 10.608* | 15.563 | 4.650 | 204.6** | 15.500 |
| L31 x P3 | VM254bxVM451 | 6.408* | 8.010* | 16.875 | 4.650 | 197.4* | 15.000 |
| L33 x P3 | VM492bxVM451 | 8.802** | 11.003** | 17.500* | 5.000** | 252.4*** | 17.000* |
| L44 x P3 | VM484xVM451 | 6.580* | 8.225* | 18.063** | 4.663 | 213.1** | 14.500 |
| L51 x P3 | VM327xVM451 | 8.506** | 10.633** | 19.125** | 5.025** | 264.8*** | 17.000* |

RMz: Rendimiento de mazorca; **RG:** Rendimiento de grano; **LMz:** Longitud de mazorca; **DMz:** Diámetro de mazorca; **PMz:** Peso de mazorca; **HMz:** hileras de mazorca.

*, ** y *** valores superiores a la media del ensayo y significativos a un p valor menor de 0.05, 0.01 ó 0.001 respectivamente.

6.2.2 Aptitud Combinatoria General del rendimiento de grano y sus componentes

Los efectos de Aptitud Combinatoria general (ACG) del rendimiento de grano y sus componentes en las líneas Vitamaíz se presentan en la tabla 19. Como era de esperarse, las 13 líneas que generaron los mejores rendimientos de grano y mazorca con los tres probadores, fueron las que obtuvieron los efectos más altos y positivos de ACG en estas mismas variables (Tabla 19). De dichos genotipos, los más sobresalientes fueron las líneas L29 (2.341), L30 (1.884), L31 (1.735), L33 (2.603) y L51 (1.847). En cuanto a los componentes del rendimiento la línea que más destaque fue la L51, debido a que obtuvo valores positivos y estadísticamente significativos de ACG en cada componente analizado (Tabla 19). Seguido de ésta se encontró a la línea L33 que registró valores positivos de ACG en cada componente, pero en la LMz no manifestó ser estadísticamente superior (Tabla 19).

Desglosando el análisis de ACG por componentes de rendimiento en el resto de los mejores genotipos, se pueden observar diferencias al respecto de a cuantos y en cuales componentes produjeron efectos positivos en determinada línea endogámica. De esta forma tenemos que la LMz y el PMz manifestaron efectos significativos de ACG en las líneas L11, L13 y L45, mientras que en las líneas L24 y L29 fueron el DMz y el PMz (Tabla 19). En el caso de la línea L26 solamente el diámetro de mazorca obtuvo un valor favorable y significativo ACG (Tabla 19). Por su parte el genotipo L30, a pesar de poseer efectos positivos de ACG en tres de los componentes, solamente el PMz fue estadísticamente significativo (Tabla 19). Finalmente las líneas L23, L25, L27 y L31 no registraron afectos sobresalientes de ACG en ninguno de los componentes del rendimiento, lo cual indica que su

alta aptitud combinatoria general de la producción de grano se debió solamente al rendimiento de mazorca (Tabla 19).

Contrario a los resultados presentados anteriormente, se identificaron 12 genotipos que obtuvieron valores de ACG significativamente negativos para el RG (Tabla 19). Las líneas menos destacadas fueron la L02 (-1.231), L04 (-1.200), L17 (-1.352), L37 (-1.101), L38 (-2.134) y L50 (-1.815). Donde la L04, también fue significativamente inferior en todos los componentes del rendimiento. Después se encontraron las líneas L37, L38 y L50 con valores de ACG estadísticamente inferiores en tres de los componentes (Tabla 19).

Al revisar los componentes de rendimiento de forma individual sobre el resto de las líneas con los efectos más bajos de ACG para el RG, se encontró que los genotipos L02, L17 y L18 a pesar de obtener valores negativos de ACG en uno o varios de los componentes del rendimiento, estos no fueron significativos (Tabla 19). Por otra parte la línea L46 fue significativamente inferior en su habilidad combinatoria general del diámetro y longitud de mazorca, mientras que las líneas L40 y L44 lo fueron únicamente para el DMz y el PMz respectivamente (Tabla 19).

Tabla 19. Valores estimados de Aptitud Combinatoria General (ACG) del rendimiento de grano y algunos de sus componentes de las líneas Vitamaíz.

| Líneas hembra | | RG | RMz | LMz | DMz | PMz | |
|---------------|------------|-----------------------|-----------------------|----------|----------|-----------|----------|
| ID | Nombre | (t ha ⁻¹) | (t ha ⁻¹) | (cm) | (cm) | (g) | HMz |
| L01 | VM264a | -0.623 | -0.875 | 0.946** | -0.158* | 1.323 | 0.457 |
| L02 | VM373 | -1.231** | -1.537** | -0.517 | 0.050 | -5.052 | 0.457 |
| L04 | VM483a | -1.200*** | -1.498** | -0.800* | -0.208** | -26.260** | -0.876** |
| L05 | VM343 | -0.589 | -0.734 | -0.533* | -0.025 | -6.094 | -1.043** |
| L06 | VM254a | -0.197 | -0.244 | 0.283 | -0.146* | -1.094 | -0.293 |
| L07 | VM494a | -0.157 | -0.195 | 0.046 | 0.204** | 7.823 | 0.124 |
| L08 | VM495 | -0.482 | -0.601 | -0.121 | -0.067 | -5.469 | -0.876** |
| L11 | VM496 | 1.344* | 1.682* | 0.963** | -0.042 | 17.115* | -0.043 |
| L12 | MzDTPYF65 | 0.175 | 0.221 | -0.019 | -0.206** | -10.552 | -0.001 |
| L13 | VM492a | 1.294* | 1.620** | 1.224*** | -0.098 | 16.680* | -1.161** |
| L14 | MzATFW112 | 0.092 | 0.117 | -0.267 | 0.021 | 3.948 | 0.041 |
| L15 | MzATFW512 | 0.549 | 0.688 | 0.442 | 0.183** | 17.156* | 1.041** |
| L16 | MzATFW521 | -0.360 | -0.449 | 0.108 | 0.067 | 13.656* | 0.457 |
| L17 | MzATFW641 | -1.352** | -1.688** | 1.035** | -0.104 | 13.273 | -0.595 |
| L18 | MzATFW1211 | -0.649* | -0.809* | 0.525* | -0.088 | 1.198 | -0.043 |
| L19 | MzATFW1221 | 0.323 | 0.406 | -0.174 | 0.066 | -5.064 | 0.862* |
| L20 | MzATFW1413 | -0.100 | -0.123 | 0.275 | -0.210** | -11.552* | -0.126 |
| L21 | MzDTP111 | -0.255 | -0.316 | -0.538* | -0.100 | -17.802* | -0.126 |
| L23 | MzDTP222 | 1.310* | 1.639* | 0.004 | -0.113** | -5.427 | -0.293 |
| L24 | MzDTP411 | 1.566** | 1.960** | -0.058 | 0.138* | 16.573* | 0.374 |
| L25 | MzDTP413 | 1.376** | 1.721** | -0.771* | 0.063 | -4.719 | -0.709 |
| L26 | MzDTP831 | 0.955* | 1.195* | -0.142 | 0.129* | 8.990 | -0.126 |
| L27 | MzDTPY1212 | 0.717* | 0.898* | -0.871* | 0.063 | 8.865 | -0.543 |
| L28 | Mz491492 | 0.139 | 0.176 | -1.163* | 0.258** | 13.323* | 1.207** |
| L29 | MzLPSF86 | 2.341*** | 2.928*** | -0.288 | 0.208** | 24.531** | -0.168 |
| L30 | VMLPSF103 | 1.884*** | 2.357*** | -0.558* | 0.088 | 13.573* | 0.124 |

| | | | | | | | |
|------------|--------|-----------|-----------|-----------|----------|------------|----------|
| L31 | VM254b | 1.735*** | 2.171*** | -0.183 | 0.029 | 1.448 | -0.293 |
| L33 | VM492b | 2.603*** | 3.256*** | 0.129 | 0.229** | 35.823** | 1.124** |
| L35 | VM491 | -0.181 | -0.224 | 0.671* | -0.029 | 2.490 | 1.041** |
| L36 | VM494b | -0.306 | -0.381 | -0.183 | 0.042 | -11.844 | 0.957** |
| L37 | VM264b | -1.101** | -1.374** | 0.067 | -0.271** | -33.969** | -0.959** |
| L38 | VM264q | -2.134*** | -2.664*** | -1.747*** | -0.193** | -51.530*** | -0.576 |
| L40 | VM334 | -0.892** | -1.112** | -0.267 | -0.130* | -12.439 | 0.148 |
| L41 | VM366 | -0.312 | -0.388 | 0.483 | -0.013 | -0.469 | -1.293** |
| L42 | VM482 | -0.915** | -1.141** | -0.038 | -0.046 | -19.302* | -0.626 |
| L43 | VM483b | 0.156 | 0.197 | 1.338*** | 0.129* | 8.990 | -0.334 |
| L44 | VM484 | -0.761* | -0.949* | 1.233*** | -0.133* | -4.010 | -0.459 |
| L45 | VM490 | 1.556** | 1.946** | 1.129** | 0.075 | 30.823** | -0.543 |
| L46 | VM75 | -0.634* | -0.791* | -1.267** | 0.046 | -25.427** | 0.207 |
| L47 | VM27 | -0.320 | -0.397 | 0.733* | -0.258** | -15.510* | 0.707* |
| L48 | VM245 | -1.111** | -1.387** | -1.329** | -0.071 | -39.427*** | 0.707* |
| L49 | VM282 | 0.237 | 0.298 | 0.275 | 0.150* | 11.490 | -0.793* |
| L50 | VM305 | -1.815*** | -2.267*** | -0.752* | -0.117* | -30.820** | -0.447 |
| L51 | VM327 | 1.847*** | 2.310*** | 1.045** | 0.229** | 37.406** | 1.124** |

RMz: Rendimiento de mazorca; **RG:** Rendimiento de grano; **LMz:** Longitud de mazorca; **DMz:** Diámetro de mazorca; **PMz:** Peso de mazorca; **HMz:** hileras de mazorca.

*, ** y *** valores superiores o inferiores a 0 y significativos a un p valor menor de 0.05, 0.01 ó 0.001 respectivamente

Los valores de la ACG del rendimiento de grano y sus componentes estimados para cada probador se muestra en la tabla 20. Como se puede observar, ninguno de los genotipos mostró efectos de ACG significativos en el RG y RMz. En cuanto a los componentes del rendimiento, el probador P1 fue el único que registró un valor positivo y significativo de ACG en el DMz (0.051), sin embargo, fue significativamente inferior a los demás probadores en la LMz (-0.318). El probador P2 mostró valores positivos pero sin significancia estadística en el LMz (0.0319) y DMz (0.015), mientras que en el PMz (-5.585) e HMz (-0.300) fue el que registró los efectos más bajos de ACG en sus crusas. Finalmente el probador P3 fue el más destacado al obtener efectos positivos de ACG y estadísticamente significativos en relación al LMz (0.293), PMz (8.348) e HMz (0.238), aunque en el DMz fue el que obtuvo el valor más bajo.

Tabla 20. Valores estimados de ACG del rendimiento de grano y algunos de sus componentes de los tres proadores Vitamaíz.

| Probador | | RMz | RG | LMz | DMz | PMz | HMz |
|-----------|--------|-----------------------|-----------------------|----------|----------|----------|----------|
| ID | Nombre | (t ha ⁻¹) | (t ha ⁻¹) | (cm) | (cm) | (g) | |
| P1 | VM311a | -0.0115 | -0.089 | -0.318** | 0.051** | -2.752 | 0.058 |
| P2 | VM321a | 0.074 | 0.058 | 0.0319 | 0.015 | -5.585** | -0.300** |
| P3 | VM451 | 0.045 | 0.034 | 0.293** | -0.067** | 8.348*** | 0.238** |

RMz: Rendimiento de mazorca; **RG:** Rendimiento de grano; **LMz:** Longitud de mazorca; **DMz:** Diámetro de mazorca; **PMz:** Peso de mazorca; **HMz:** hileras de mazorca.

*, ** y *** valores superiores o inferiores a 0 y significativos a un p valor menor de 0.05, 0.01 ó 0.001 respectivamente.

6.2.3 Relación del efecto de ACG entre el rendimiento de grano y sus componentes

La figura 12 muestra la relación entre el efecto de la ACG del rendimiento de grano y los efectos de ACG de cada componente de rendimiento de las líneas Vitamaíz. El gráfico de barras muestra que la dirección del efecto de ACG del rendimiento de grano, fue determinada por el número de componentes que registraron efectos de ACG en la misma dirección (positiva o negativa).

Las líneas L24, L29, L30, L33 y L51 fueron los genotipos que presentaron una relación positiva de la ACG en la mayoría de los componentes de rendimiento con respecto al efecto positivo de la ACG del rendimiento de grano. Opuesto a estos resultados se encontraron las líneas L04, L37, L38, L48 y L50, que manifestaron una relación negativa de la ACG en todos los componentes, lo cual visiblemente influyó en la baja ACG de la productividad de grano en sus combinaciones híbridas.

Debido a la alta relación positiva entre la ACG mostrada en el rendimiento de grano y los diversos componentes del rendimiento analizados, las líneas L33 y L51 podrían ser destinadas directamente a la generación de nuevos híbridos en el programa de mejoramiento genético del proyecto Vitamaíz (Figura 12).

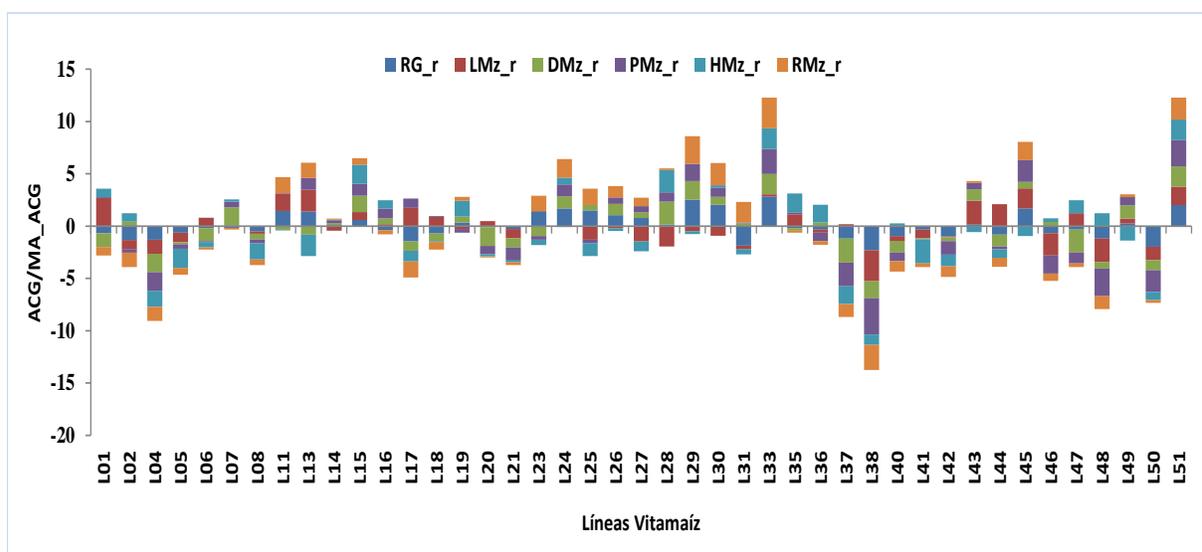


Figura 12. Impacto de la ACG de los componentes del rendimiento sobre los efectos de ACG en la producción de grano.

6.2.4 Aptitud Combinatoria Especifica del rendimiento de grano

En total 45 cruzas mostraron efectos positivos y significativos de Aptitud Combinatoria Especifica (ACE) (Tabla 21). De estos cruzamientos, 13 correspondieron a los realizados con el probador VM311a (P1), 16 a los obtenidos con el probador VM321a (P2) y 16 más a los realizados con el

probador VM451 (P3) (Tabla 21). En contraparte, 33 cruzas arrojaron valores negativos y estadísticamente inferiores de ACE. Nueve correspondieron a las cruzas efectuadas con el probador P1, 10 a las realizadas con el probador P2 y 14 que fueron hechas con el probador P3 (Tabla 21).

Del total de híbridos que obtuvieron valores positivos y significativos de ACE, se identificó un grupo superior constituido por 10 cruzas (Tabla 22). Con rendimientos de grano de 7.2, 7.3 y 5.9 t ha⁻¹ respectivamente, las líneas L10 (2.973), L32 (2.674) y L01 (1.536) registraron los mejores valores de ACE con el probador P1 (Tabla 22). En cuanto al probador P2, su mejor ACE fue obtenida con las líneas L34 (3.064) y L07 (1.561), con rendimientos de grano correspondientes 8.9 y 6.5 t ha⁻¹ (Tabla 22). Finalmente, el probador P3 generó los mejores efectos de ACE con cinco de las líneas Vitamaíz, las cuales fueron la L44 (2.093), L03 (1.901), L14 (1.635), L25 (1.512) y L51 (1.412) donde se obtuvieron rendimientos de 6.5, 5.6, 6.9, 7.8 y 8.5 t ha⁻¹ respectivamente (Tabla 22).

Puede verse que de los efectos más altos de ACE obtenidos, los únicos que entraron en el grupo de las cruzas con mayor producción de grano fueron las combinaciones L34 x P2, L25 x P3 y L51 x P3 (Tabla 22). Estos resultados indican que entre las cruzas con la mejor ACE y en aquellas más destacadas en cuanto a rendimiento, los efectos genéticos que están actuando son diferentes.

Tabla 21. Rendimiento de grano y efectos de la Aptitud Combinatoria Específica (ACE) de todas las cruzas realizadas entre líneas y probadores Vitamaíz.

| ID | Línea Nombre | Probador | | | | | |
|-----|-----------------|--------------------------|----------|-------------|----------|--------------------------|-----------|
| | | VM311a (P1) | | VM321a (P2) | | VM451 (P3) | |
| | | RG (t ha ⁻¹) | ACE | RG | ACE | RG (t ha ⁻¹) | ACE |
| L01 | VM264a | 5.989 | 1.536** | 5.193 | 0.607* | 2.478 | -2.146** |
| L02 | VM373 | 3.960 | 0.115 | 5.152 | 1.174* | 2.725 | -1.292** |
| L03 | VM311a | 0.398 | -3.056** | 4.739 | 1.15* | 5.526 | 1.901** |
| L04 | VM483a | 4.023 | 0.147 | 3.940 | -0.069 | 3.967 | -0.081 |
| L05 | VM343 | 4.625 | 0.138 | 3.184 | -1.437** | 5.954 | 1.295* |
| L06 | VM254a | 4.296 | -0.583 | 5.359 | 0.347 | 5.284 | 0.233 |
| L07 | VM494a | 4.191 | -0.727* | 6.617 | 1.570** | 4.249 | -0.841* |
| L08 | VM495 | 3.675 | -0.918* | 5.834 | 1.107* | 4.574 | -0.192 |
| L09 | VM349 | 3.853 | -0.008 | 4.070 | 0.076 | --- | NA |
| L10 | VM451 | 7.289 | 2.973** | 5.465 | 1.017* | 0.493 | -3.994*** |
| L11 | VM496 | 7.263 | 0.843* | 7.137 | 0.583* | 5.163 | -1.429** |
| L12 | MzDTPYF65 | 4.860 | -0.392 | --- | --- | 5.844 | 0.421 |
| L13 | VM492a | 5.595 | -0.776* | 7.283 | 0.779* | 6.534 | -0.008 |
| L14 | MzATFW112 | 4.765 | -0.403 | 4.066 | -1.235* | 6.975 | 1.635** |
| L15 | MzATFW512 | 5.331 | -0.294 | 6.140 | 0.383 | 5.704 | -0.092 |
| L16 | MzATFW521 | 4.673 | -0.043 | 5.710 | 0.862* | 4.065 | -0.822* |
| L17 | MzATFW641 | 3.369 | -0.355 | 5.178 | 1.321* | 2.926 | -0.969* |
| L18 | MzATFW1211 | 4.801 | 0.374 | 5.553 | 0.993* | 3.229 | -1.370** |
| L19 | MzATFW1221 | 4.877 | -0.522 | 6.238 | 0.706* | 5.385 | -0.186 |
| L20 | MzATFW1413 | 6.013 | 1.037* | 4.881 | -0.228 | 4.336 | -0.812* |
| L21 | MzDTP111 | 4.593 | -0.229 | 4.414 | -0.540 | 5.759 | 0.766* |
| L22 | MzDTP113 | 6.501 | 0.315 | 6.072 | -0.247 | --- | --- |
| L23 | MzDTP222 | 6.192 | -0.193 | 5.852 | -0.667* | 7.413 | 0.856* |
| L24 | MzDTP411 | 7.178 | 0.536* | 6.965 | 0.190 | 6.084 | -0.730* |
| L25 | MzDTP413 | 6.095 | -0.091 | 5.690 | -0.629* | 7.870 | 1.513** |
| L26 | MzDTP831 | 4.302 | -1.728** | 6.818 | 0.655* | 7.272 | 1.070* |

| | | | | | | | |
|-----|------------|--------|-----------|-------|-----------|-------|----------|
| L27 | MzDTPY1212 | 6.000 | 0.207 | 4.536 | -1.390** | 7.145 | 1.180* |
| L28 | Mz491492 | 5.475 | 0.260 | 5.841 | 0.494 | 4.630 | -0.756* |
| L29 | MzLPSF86 | 7.271 | -0.146 | 7.395 | -0.155 | 7.885 | 0.297 |
| L30 | VMLPSF103 | 6.404 | -0.556 | 6.290 | -0.803* | 8.487 | 1.355* |
| L31 | VM254b | 7.812 | 1.001* | 6.514 | -0.430 | 6.408 | -0.574 |
| L32 | VM321a | 7.328 | 2.674** | 1.121 | -3.666*** | 5.815 | 0.989* |
| L33 | VM492b | 7.371 | -0.307 | 7.165 | -0.647 | 8.802 | 0.952* |
| L34 | VM311b | 2.460 | -5.352*** | 8.868 | 3.065** | 5.985 | 0.143 |
| L35 | VM491 | 4.955 | 0.061 | 5.136 | 0.108 | 4.895 | -0.172 |
| L36 | VM494b | 4.969 | 0.199 | 4.376 | -0.527 | 5.266 | 0.325 |
| L37 | VM264b | 4.264 | 0.290 | 5.133 | 1.025* | 2.828 | -1.318** |
| L38 | VM264q | 3.266 | 0.323 | 2.822 | -0.254 | 3.041 | -0.073 |
| L39 | VM321b | 2.066 | -2.588*** | 1.590 | -3.119*** | 4.932 | 0.106 |
| L40 | VM334 | 5.009 | 0.825* | 3.685 | -0.632 | 4.161 | -0.196 |
| L41 | VM366 | 4.458 | -0.305 | 5.577 | 0.680* | 4.557 | -0.378 |
| L42 | VM482 | 3.845 | -0.316 | 4.479 | 0.185 | 4.461 | 0.128 |
| L43 | VM483b | 5.792 | 0.560* | 5.167 | -0.198 | 5.038 | -0.365 |
| L44 | VM484 | 3.474 | -0.841* | 3.192 | -1.256* | 6.580 | 2.093** |
| L45 | VM490 | 7.736 | 1.105* | 6.463 | -0.302 | 5.997 | -0.807* |
| L46 | VM75 | 5.200 | 0.758* | 4.245 | -0.330 | 4.182 | -0.432 |
| L47 | VM27 | 5.006 | 0.250 | 4.069 | -0.821* | 5.496 | 0.569* |
| L48 | VM245 | 3.916 | -0.049 | 3.381 | -0.717** | 4.900 | 0.763* |
| L49 | VM282 | 6.092 | 0.779* | 5.478 | 0.032 | 4.670 | -0.815* |
| L50 | VM305 | 2.703 | -0.558 | 3.318 | -0.077 | 4.064 | 0.632* |
| L51 | VM327 | 5.498 | -1.425** | 7.065 | 0.009 | 8.506 | 1.412* |
| L52 | VM338 | 6.443* | 0.573* | --- | --- | 5.498 | -0.544 |

RG: Rendimiento de grano;*, ** y *** valores superiores o inferiores a 0 y significativos a un p valor menor de 0.05, 0.01 ó 0.001 respectivamente. **Cuadros color rojo:** Efectos positivos y significativos de ACE. **Cuadros color verde:** Efectos negativos y significativos de ACE.

Tabla 22. Cruzas más sobresalientes en base a la Aptitud Combinatoria Específica (ACE).

| Cruza | Nombre de la craza | ACE | RG (t ha ⁻¹) | Ranking (ACE) | Ranking (RG) |
|----------|--------------------|-------|-----------------------------|------------------|-----------------|
| L34 x P2 | VM311b x VM321a | 3.064 | 8.860 | 1 | 1 |
| L10 x P1 | CM451 x VM311a | 2.973 | 7.289 | 2 | 13 |
| L32 x P1 | CM321a x VM311a | 2.674 | 7.328 | 3 | 12 |
| L44 x P3 | VM484 x VM451 | 2.093 | 6.580 | 4 | 27 |
| L03 x P3 | VM311a x VM451 | 1.901 | 5.526 | 5 | 62 |
| L14 x P3 | MzATFW112 x VM451 | 1.635 | 6.975 | 6 | 23 |
| L07 x P2 | VM494a x VM321a | 1.565 | 6.617 | 7 | 26 |
| L01 x P1 | VM264a x VM311a | 1.536 | 5.989 | 8 | 46 |
| L25 x P3 | MzDTP413 x VM451 | 1.512 | 7.870 | 9 | 6 |
| L51 x P3 | VM327 x VM451 | 1.412 | 8.509 | 10 | 3 |

Se realizó un análisis con el fin de determinar cuál es el efecto genético que está influyendo principalmente en la productividad de las cruzas más sobresalientes, en relación a la ACE y al RG (Tabla 23). En las cruzas con los mejores valores de ACE, los efectos no aditivos fueron más importantes para la mayoría de los cruzamientos (celdas color verde; Tabla 23a), mientras que en las cruzas L34 x P2, L25 x P3 y L51 x P3, aparentemente tanto efectos aditivos como no aditivos jugaron un papel importante (Celdas color amarillo; Tabla 23a). En cuanto a las cruzas rankeadas como las mejores en función del rendimiento, además de las cruzas L34 x P2, L25 x P3 y L51 x P3, en cinco

casos más, ambos efectos genéticos fueron importantes para el desempeño productivo (Celdas color amarillo; Tabla 23b). Mientras tanto, en dos cruzas los efectos aditivos fueron los de mayor trascendencia (Celdas color rojo; Tabla 233b).

Tabla 23. Estructura genética de las mejores cruzas: (a) en base a los efectos más grandes de ACE y (b) en función de los mejores rendimientos de grano.

| a. Efectos genéticos de las 10 mejores cruzas en base a la ACE | | | | | | | |
|--|-----------------------------|--------|--------|-----------------------|----------------------|------------------|-----------------|
| Cruza | RG (t ha ⁻¹) | gi | gj | gi + gj (Aditivos) | ACE (no aditivos) | Ranking (ACE) | Ranking (RG) |
| L34 x P2 | 8.860 | 0.595 | 0.032 | 0.627 | 3.064 | 1 | 1 |
| L10 x P1 | 7.289 | -0.761 | -0.010 | -0.775 | 2.973 | 2 | 13 |
| L32 x P1 | 7.328 | -0.422 | 0.010 | -0.422 | 2.674 | 3 | 12 |
| L44 x P3 | 6.580 | -0.761 | 0.071 | -0.689 | 2.093 | 4 | 27 |
| L03 x P3 | 5.526 | -1.622 | 0.071 | -1.550 | 1.901 | 5 | 62 |
| L14 x P3 | 6.975 | 0.092 | 0.071 | 0.163 | 1.635 | 6 | 23 |
| L07 x P2 | 6.617 | -0.157 | 0.032 | -0.124 | 1.565 | 7 | 26 |
| L01 x P1 | 5.989 | -0.623 | -0.100 | -0.173 | 1.536 | 8 | 46 |
| L25 x P3 | 7.870 | 1.376 | 0.071 | 1.447 | 1.512 | 9 | 6 |
| b. Efectos genéticos de las 10 mejores cruzas en base a rendimiento de grano | | | | | | | |
| Cruza | RG (t ha ⁻¹) | gi | gj | gi + gj (Aditivos) | ACE (No aditivos) | Ranking (ACE) | Ranking (RG) |
| L34 x P2 | 8.868 | 0.595 | 0.032 | 0.627 | 3.065 | 1 | 1 |
| L33 x P3 | 8.802 | 2.603 | 0.071 | 2.674 | 0.952 | 26 | 2 |
| L51 x P3 | 8.506 | 1.847 | 0.071 | 1.918 | 1.412 | 10 | 3 |
| L30 x P3 | 8.486 | 1.884 | 0.071 | 1.955 | 1.355 | 11 | 4 |
| L29 x P3 | 7.885 | 2.341 | 0.071 | 2.412 | 0.297 | 54 | 5 |
| L25 x P3 | 7.870 | 1.376 | 0.071 | 1.447 | 1.513 | 9 | 6 |
| L31 x P1 | 7.812 | 1.735 | -0.100 | 1.635 | 1.001 | 23 | 7 |
| L45 x P1 | 7.736 | 1.556 | -0.100 | 1.456 | 1.105 | 17 | 8 |
| L23 x P3 | 7.413 | 1.310 | 0.071 | 1.381 | 0.856 | 28 | 9 |
| L29 x P2 | 7.394 | 2.341 | 0.032 | 2.373 | -0.146 | 84 | 10 |

RG: Rendimiento de grano; **gi:** ACG de la hembra o línea; **gj:** ACG del macho o probador.

Al realizar el análisis de efectos genético sobre las cruzas que manifestaron los peores valores de ACE, se identificaron ocho cruzas que registraron efectos negativos tanto aditivos como no aditivos (Celdas color amarillo; Tabla 24a), mientras que en dos cruzas de este mismo grupo, se manifestaron efectos aditivos bajos y no aditivos con valores negativos (Celdas color verde; Tabla 24a). Por otra parte, en las cruzas con los peores rendimientos de grano, todas obtuvieron valores negativos en ambos efectos genéticos, lo cual manifiesta el bajo potencial de estas combinaciones en específico.

Tabla 24. Estructura genética de las peores cruzas: (a) en base a los efectos más bajos de ACE y (b) en función de los peores rendimientos de grano.

| a. Efectos genéticos de las 10 peores cruzas en base a la ACE | | | | | | | |
|---|-----------------------------|--------|--------|-----------------------|----------------------|------------------|-----------------|
| Cruza | RG (t ha ⁻¹) | gi | gj | gi + gj (Aditivos) | ACE (no aditivos) | Ranking (ACE) | Ranking (RG) |
| L44 x P2 | 3.228 | -1.984 | 0.032 | -1.952 | -1.256 | 137 | 138 |
| L02 x P3 | 2.725 | -2.452 | 0.071 | -2.178 | -1.292 | 138 | 144 |
| L37 x P3 | 2.828 | -2.348 | 0.071 | -2.276 | -1.318 | 139 | 142 |
| L18 x P2 | 3.229 | -1.948 | 0.071 | -1.876 | -1.370 | 140 | 137 |
| L27 x P2 | 4.536 | -0.641 | 0.032 | -0.609 | -1.390 | 141 | 103 |
| L51 x P1 | 5.498 | 0.321 | -0.100 | 0.221 | -1.424 | 142 | 64 |
| L11 x P3 | 5.163 | -0.014 | 0.071 | 0.057 | -1.429 | 143 | 78 |
| L05 x P2 | 3.184 | -1.993 | 0.032 | -1.961 | -1.436 | 144 | 139 |
| L26 x P1 | 4.302 | -0.874 | -0.100 | -0.974 | -1.728 | 145 | 110 |

| b. Efectos genéticos de las 10 peores cruzas en base a rendimiento de grano | | | | | | | |
|---|-----------------------------|--------|--------|-----------------------|----------------------|------------------|-----------------|
| Cruza | RG (t ha ⁻¹) | gi | gj | gi + gj (Aditivos) | ACE (No aditivos) | Ranking (ACE) | Ranking (RG) |
| L18 x P3 | 3.228 | -1.948 | 0.071 | -1.876 | -1.370 | 140 | 137 |
| L44 x P2 | 3.192 | -1.984 | 0.032 | -1.952 | -1.257 | 137 | 138 |
| L05 x P2 | 3.183 | -1.993 | 0.071 | -1.961 | -1.437 | 144 | 139 |
| L38 x P3 | 3.041 | -2.135 | 0.071 | -2.063 | -0.073 | 80 | 140 |
| L17 x P3 | 2.926 | -2.250 | 0.071 | -2.178 | -0.969 | 134 | 141 |
| P37 x P3 | 2.828 | -2.348 | 0.071 | -2.276 | -1.318 | 139 | 142 |
| L38 x P2 | 2.821 | -2.355 | 0.032 | -2.283 | -0.254 | 95 | 143 |
| L02 x P3 | 2.724 | -2.452 | 0.071 | -2.380 | -1.292 | 138 | 144 |
| L50 x P1 | 2.702 | -2.474 | -0.100 | -2.574 | -0.558 | 114 | 145 |
| L01 x P3 | 2.477 | -2.694 | 0.071 | -2.622 | -2.146 | 146 | 146 |

6.2.5 Identificación de grupos heteróticos por medio de los efectos combinados de la ACG y ACE o HSGCA.

El promedio de los efectos de la ACG y ACE de las cruzas entre las diversas líneas Vitamaíz con los tres probadores se muestran en las figuras 13a, 13b y 13c. Estas tres figuras muestran de forma clara, que cuando una línea fue cruzada con diferente probador, no solamente los efectos de ACE variaron en cada híbrido, sino que de igual forma lo hicieron los efectos de ACG. Se puede observar que el efecto acumulado de la ACG y ACE permite visualizar de mejor forma que líneas combinaron de mejor forma con los probadores de diferente grupo heterótico utilizados. Un reflejo claro de esto se presenta en aquellas líneas que manifestaron una ACE baja o negativa, a pesar de registrar rendimientos de grano promedios o superiores. Resultados de este tipo en ocasiones dejan fuera combinaciones sobresalientes que debieron su buena hibridación a los efectos de ACG con determinado probador, tal como se presentó en las cruzas L24 x VM451, L29 x VM311a, L29 x VM321a, L31 x VM321a, L31 x VM451, L33 x VM311a y L33 x VM321a (Flechas rojas, Figura 13a, b y c). Otro punto a destacar es que la alta ACG de algunas de las líneas Vitamaíz (Flechas azules, figura 13a, b y c), probablemente se deba que poseen una carga genética distinta a la de los tres probadores, razón por la cual tuvieron la capacidad de combinar bien con todos estos.

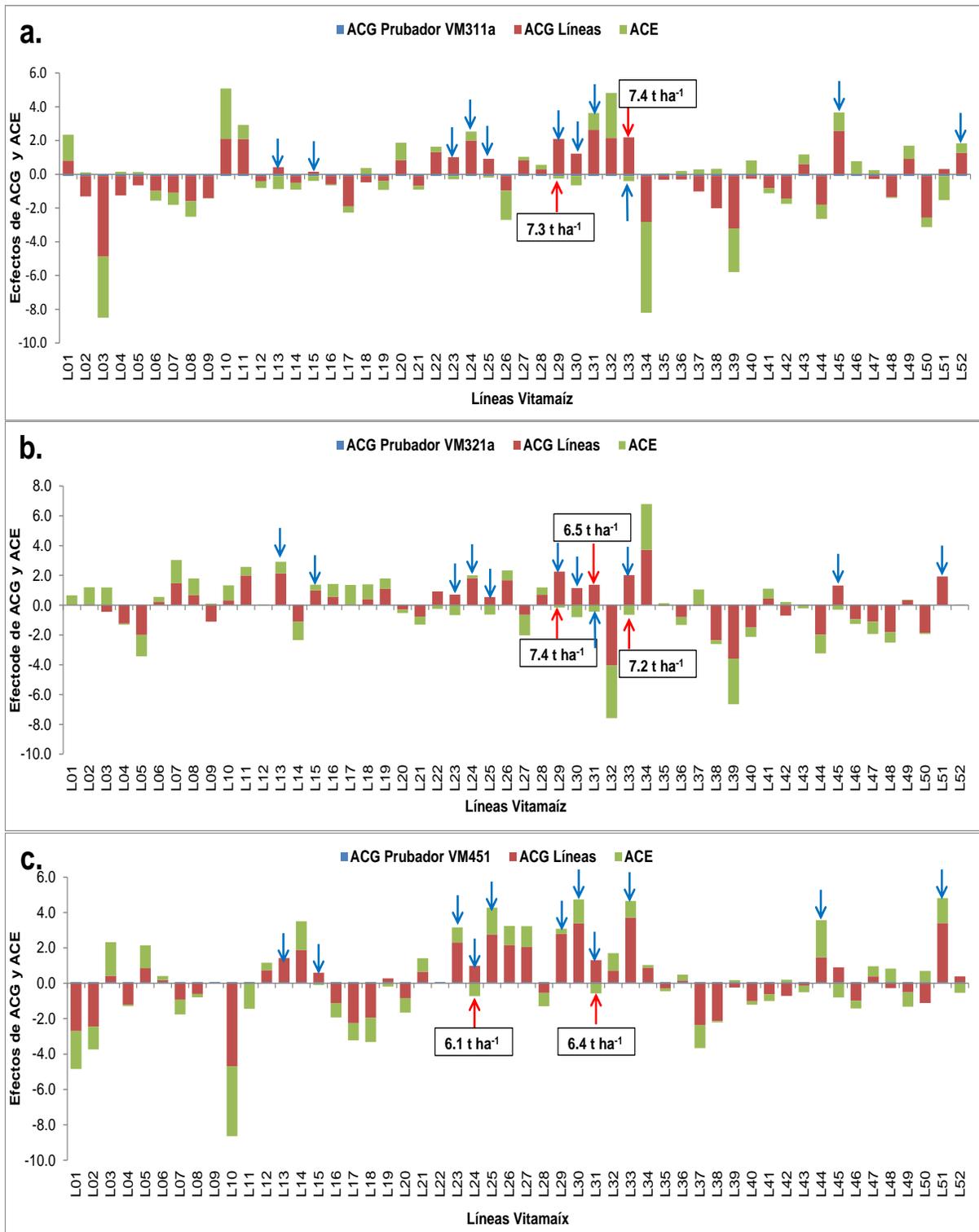


Figura 13. Efecto individual de la ACG y ACE de las líneas Vitamaíz con cada probador. a). ACG y ACE con VM311a; b). ACG y ACE con VM321a; c). ACG y ACE con VM451.

Los resultados de la suma entre los efectos de la ACG y ACE (HSGCA) de las líneas Vitamaíz con los tres probadores se muestran en la figura 14a, 14b y 14c. Como se puede apreciar, el número de líneas que mostraron efectos negativos y positivos de HSGSA con cada probador fue variable.

De las 52 líneas estudiadas, aquellas que manifestaron los efectos negativos más pronunciados de HSGCA con el probador VM311a, pasaron a formar parte del grupo heterótico “A” (Flechas azules, figura 14a). En este caso el total de líneas agrupadas fueron 9 (Tabla 25), dentro de las cuales figuraron las líneas L34 (VM311b), L42 (VM482) y L50 (VM305) al poseer los efectos más bajos de HSGCA. Las líneas Vitamaíz que registraron los efectos más bajos de HSGCA con el probador VM321a fueron 11 (Flechas purpura, figura 14b) y se incluyeron dentro del grupo heterótico “B” (Tabla 25). De dichos genotipos los que más destacaron por poseer los valores más bajos de HSGCA con el probador VM321a fueron las líneas L05 (VM343), L38 (VM264q) y L39 (VM321b).

Al respecto del probador VM451, éste registró los efectos de HSGCS negativos y más pronunciados con un total de 16 líneas (Flechas verdes, figura 14c), las cuales pasaron a formar parte del grupo heterótico “C” (Tabla 25). De los 16 genotipos incluidos en este grupo los que más sobresalieron por obtener los valores más bajos de HCGSA fueron las líneas L01 (VM264a), L02 (VM373), L17 (MzATFW641) y L37 (VM264b). Finalmente, 13 líneas no fueron anexadas a ninguno de los grupos heteróticos (Flechas rojas, figura 14a, b y c), esto debido a que registraron valores de HSGCA positivos con los tres probadores (Tabla 25). Cabe mencionar que en este último grupo se encontraron principalmente líneas que generaron cruzamientos de altos rendimientos con todos los probadores y que además, tanto los efectos aditivos ($g_i + g_j$) como no aditivos (ACE) fueron los responsables de su alta productividad.

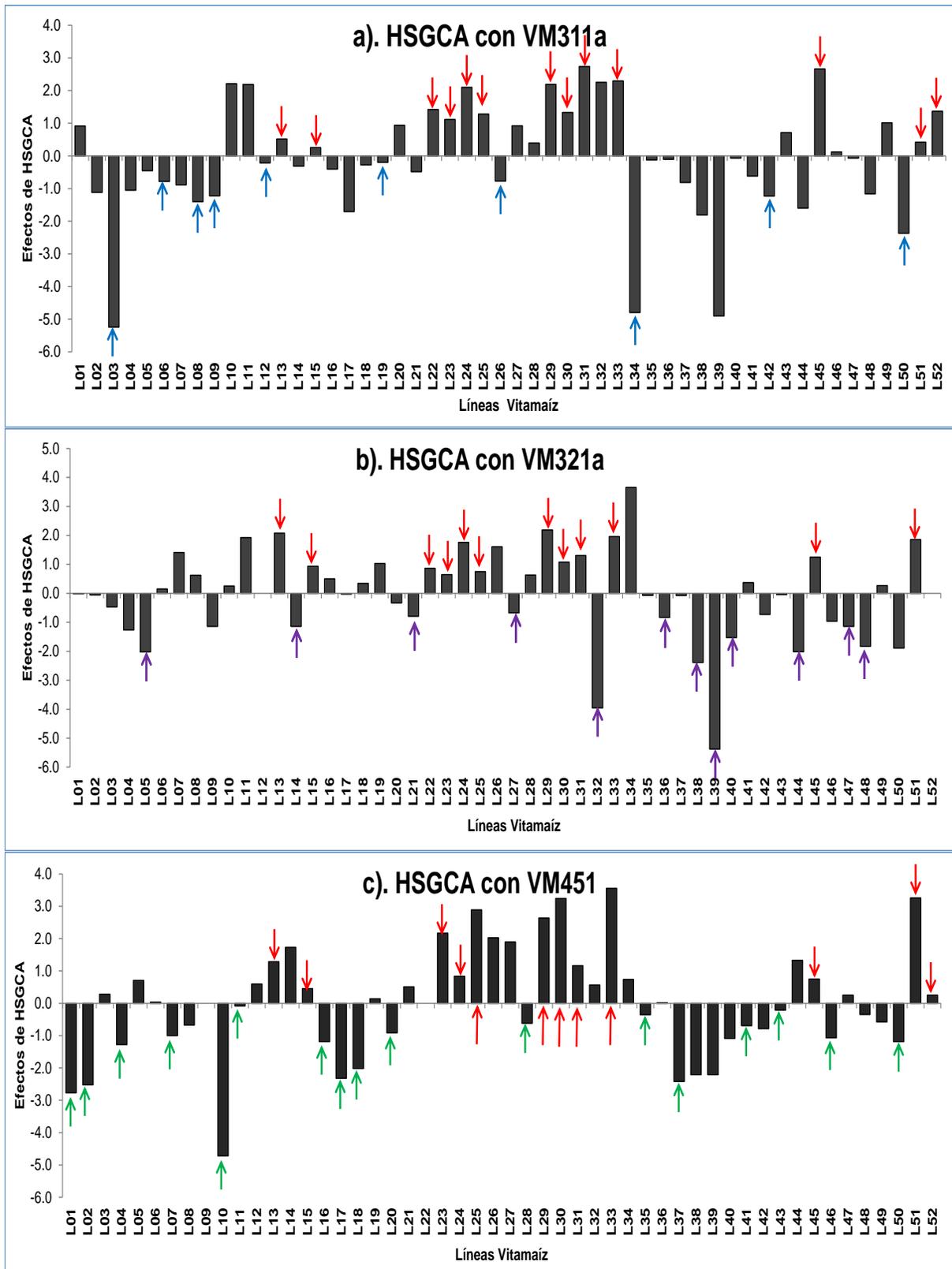


Figura 14. Identificación de grupos heteróticos mediante el uso de los efectos de HSGCA obtenido de las cruces entre líneas Vitamaiz y los tres probadores

Tabla 25. Clasificación de líneas Vitamaíz en base a los grupos heteróticos “A”, “B” y “C”.

| VM311a Grupo heterótico “A” | VM321a Grupo heterótico “B” | VM451 Grupo heterótico “C” | Grupo heterótico indefinido |
|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| VM254a (L06) | VM343 (L05) | VM264a (L01) | VM492a (L13) |
| VM349 (L09) | MzATFW112 (L14) | VM373 (L02) | MzATFW512 (L15) |
| VM495 (L08) | MzDTP111 (L21) | VM483a (L04) | MzDTP113 (L22) |
| MzDTPYF65 (L12) | MzDTPY1212 (L27) | VM494a (L07) | MzDTP222 (L23) |
| MzATFW1221 (L19) | VM494b (L36) | VM496 (L11) | MzDTP411 (L24) |
| MzDTP831 (L26) | VM264q (L38) | MzATFW521 (L16) | MzDTP413 (L25) |
| VM311b (L34) | VM321b (L39) | MzATFW641 (L17) | MzLPSF86 (L29) |
| VM482 (L42) | VM334 (L40) | MzATFW1211 (L18) | VMLPSF103 (L30) |
| VM305 (L50) | VM484 (L44) | MzATFW1413 (L20) | VM254b (L31) |
| | VM27 (L47) | Mz491492 (L28) | VM492b (L33) |
| | VM245 (L48) | VM491 (L35) | VM490 (L45) |
| | | VM264b (L37) | VM327 (L51) |
| | | VM366 (L41) | VM338 (L52) |
| | | VM483b (L43) | |
| | | VM75 (L46) | |
| | | VM282 (L49) | |

6.2.6 Selección de híbridos de maíz azul promisorios

Con el propósito de hacer una mejor selección de los híbridos más sobresalientes, se realizó un índice de selección (IS) en base a diversos caracteres de la planta y del rendimiento de grano. Se seleccionaron 30 cruzas con buena productividad de grano, que además ostentaron características agronómicas deseadas (Tabla 26). Se puede ver que los valores o calificaciones del IS obtenidas de las cruzas seleccionadas variaron de 5.06 hasta 11.5 (Tabla 26). Los híbridos con los mejores puntajes fueron el E12 (10.3), E23 (11.5), E12 (10.2) y E30 (11.5), mientras que de estos mismos, los genotipos con las calificaciones más bajas fueron el E04 (5.5), E05 (5.1), E14 (5.4) y E27 (5.4) (Tabla 26). Al revisar el IS por carácter, se puede apreciar que solo los híbridos E01 (PPIt), E17 (PJil y PPIt), E24 (PG), E27 (PJil y PPIt) y E30 (MzPP) presentaron valores negativos en uno o dos de los caracteres evaluados, lo que asegura las buenas características de la mayoría de los genotipos seleccionados (Tabla 26).

Contrario a lo sucedido con los híbridos seleccionados, 71 de los que fueron descartados obtuvieron valores negativos en su IS, mientras que 52 más registraron valores entre 0.01 y 4.83. Los genotipos con el índice de selección más bajos fueron principalmente autocruzas derivadas de entre los machos utilizados (IS de -10.4 a -17.5). Seguidos de estos se encontraron los híbridos E204 y E263 con un IS de -8.8 y -8.2 respectivamente. En estos casos, la mayoría de los híbridos registraron valores negativos en el total o la mayor parte de los caracteres utilizados para llevar a cabo esta discriminación.

Tabla 26. Mejores 30 híbridos seleccionados en base al índice de selección

| Híbrido | | Valor estandarizado de caracteres | | | | | | | IS | Ranking | |
|---------|----------------|-----------------------------------|-----|------|------|-----|------|------|------|---------|----|
| ID | Nombre | PC | AMz | PG | MzPP | PMz | PJil | PPlt | | IS | RG |
| E01 | VM451xVM311 | 1.3 | 1.0 | 1.5 | 0.4 | 2.2 | 0.5 | -0.1 | 6.7 | 21 | 13 |
| E02 | VM496xVM311 | 1.3 | 2.0 | 0.4 | 0.2 | 1.5 | 0.9 | 0.4 | 6.7 | 22 | 16 |
| E03 | VM496xVM451 | 1.2 | 2.0 | 2.3 | 0.6 | 1.3 | 0.7 | 0.3 | 8.5 | 8 | 20 |
| E04 | VM492axVM451 | 0.9 | 2.0 | 0.1 | 0.4 | 1.2 | 0.6 | 0.4 | 5.5 | 28 | 24 |
| E05 | MzDTP222xVM311 | 0.6 | 1.0 | 0.4 | 0.7 | 0.2 | 1.0 | 1.1 | 5.1 | 30 | 28 |
| E06 | MzDTP222xVM321 | 0.4 | 1.0 | 0.7 | 1.1 | 0.4 | 1.5 | 1.1 | 6.3 | 23 | 30 |
| E07 | MzDTP222xVM451 | 1.4 | 2.0 | 1.6 | 1.0 | 1.0 | 0.8 | 0.8 | 8.5 | 7 | 9 |
| E08 | MzDTP411xVM311 | 1.3 | 2.0 | 1.4 | 1.1 | 1.4 | 0.6 | 0.6 | 8.3 | 10 | 17 |
| E09 | MzDTP411xVM321 | 1.1 | 1.0 | 0.9 | 1.1 | 0.7 | 1.6 | 1.6 | 8.0 | 13 | 22 |
| E10 | MzDTP413xVM451 | 1.7 | 0.1 | 1.5 | 0.8 | 1.1 | 1.6 | 1.8 | 8.7 | 5 | 6 |
| E11 | MzDTP831xVM321 | 1.0 | 0.1 | 1.2 | 0.6 | 0.7 | 1.8 | 1.6 | 7.0 | 18 | 23 |
| E12 | MzDTP831xVM451 | 1.3 | 1.0 | 1.2 | 1.0 | 0.5 | 2.5 | 2.7 | 10.3 | 3 | 14 |
| E13 | MzDTPY1212xVM1 | 1.2 | 0.1 | 1.0 | 1.1 | 1.5 | 1.5 | 1.8 | 8.1 | 12 | 19 |
| E14 | MzLPSF86xVM311 | 1.3 | 0.1 | 0.8 | 0.7 | 0.8 | 0.9 | 1.0 | 5.6 | 27 | 15 |
| E15 | MzLPSF86xVM321 | 1.4 | 0.1 | 1.3 | 1.8 | 1.1 | 1.6 | 1.2 | 8.4 | 9 | 10 |
| E16 | MzLPSF86xVM451 | 1.7 | 0.1 | 1.2 | 1.7 | 1.0 | 0.6 | 1.0 | 7.4 | 16 | 5 |
| E17 | VMLPSF103xVM41 | 2.1 | 1.0 | 2.5 | 1.0 | 1.0 | -0.4 | -0.1 | 7.0 | 17 | 4 |
| E18 | VM254xVM311 | 1.7 | 1.0 | 1.3 | 1.1 | 0.9 | 0.9 | 1.1 | 8.0 | 14 | 7 |
| E19 | VM254xVM321 | 0.8 | 1.0 | 1.2 | 0.9 | 0.8 | 0.4 | 0.6 | 5.7 | 26 | 25 |
| E20 | VM321axVM311 | 1.4 | 1.0 | 1.5 | 0.1 | 0.9 | 0.7 | 0.7 | 6.1 | 24 | 12 |
| E21 | VM492bxVM311 | 1.4 | 1.0 | 2.0 | 0.7 | 0.5 | 0.6 | 0.9 | 6.9 | 20 | 11 |
| E22 | VM492bxVM321 | 1.2 | 1.0 | 1.5 | 0.9 | 0.7 | 0.6 | 1.0 | 6.9 | 19 | 18 |
| E23 | VM492bxVM451 | 2.3 | 2.0 | 2.6 | 1.1 | 1.9 | 0.6 | 1.1 | 11.5 | 1 | 2 |
| E24 | VM311bxVM321 | 2.3 | 1.0 | -0.7 | 0.1 | 2.0 | 1.7 | 2.0 | 8.5 | 6 | 1 |
| E25 | VM311bxVM451 | 0.5 | 0.1 | 0.5 | 0.7 | 0.4 | 3.2 | 2.8 | 8.2 | 11 | 29 |
| E26 | VM490xVM311 | 1.6 | 1.0 | 2.3 | 0.9 | 1.1 | 0.5 | 0.2 | 7.7 | 15 | 8 |
| E27 | VM490xVM321 | 0.8 | 2.0 | 1.4 | 0.8 | 1.1 | -0.2 | -0.4 | 5.4 | 29 | 26 |
| E28 | VM327xVM321 | 1.2 | 1.0 | 0.9 | 0.7 | 1.1 | 0.7 | 0.5 | 6.1 | 25 | 21 |
| E29 | VM327xVM451 | 2.1 | 2.0 | 0.9 | 0.2 | 2.0 | 1.2 | 1.8 | 10.2 | 4 | 3 |
| E30 | VM338xVM311 | 0.8 | 1.0 | 1.1 | -0.4 | 2.7 | 3.1 | 3.3 | 11.5 | 2 | 27 |

PC: Peso total de campo; **AMz:** Aspecto de mazorca; **PG:** Peso de grano; **MzPP:** Mazorcas por planta; **PMz:** Peso de Mazorca; **PJil:** Peso de jilote; **PPlt:** Peso de planta; **IS** Índice de selección; **RG:** Rendimiento de grano.

6.2.7 Caracterización agronómica de los híbridos Vitamaíz seleccionados

Los híbridos seleccionados fueron sometidos a un análisis estadístico con el fin de conocer sus diferencias en relación al rendimiento, diversas características agronómicas y de la mazorca. El ANOVA realizado arrojó diferencias significativas para casi todas las variables evaluadas, excepto para rendimiento de grano y de mazorca (Anexo 14).

6.2.7.1 Floración y características de la planta

En la tabla 27 se encuentran los promedios de floración y de diversos caracteres de la planta de los 30 híbridos seleccionados.

El promedio general de la floración femenina (FF) y masculina (FM) fue de 56 días (Tabla 27). Los híbridos más precoces fueron el E01 y el E15 al registrar en ambos casos 53 días para la FM y 52 para

la FF (Tabla 27). Contrarió a estos genotipos se encontraron los híbridos E01 y E03, que alcanzaron el 50% de antesis a los 59 días, mientras que la FF se logró hasta los 61 días (Tabla 27). El intervalo entre la floración masculina y femenina (ASI) fue de 0.6 días promedio (Tabla 27). Los genotipos con mayor ASI fueron los híbridos E22 y E25 con tres días. Cinco híbridos obtuvieron un ASI de cero días (E09, E10, E17, E21 y E24), seis de -1.0 días (E02, E05, E11, E13, E15 y E20) y uno de -2.0 días (E19), es decir, en estos últimos surgió en primer lugar la flor femenina (Tabla 27). Por otra parte y hablando en términos generales, los híbridos seleccionados obtuvieron un menor ASI en promedio y a la vez fueron más precoces en ambas floraciones (FM de 53 a 59 días; FF de 52 a 61 días) que las líneas endogámicas (FM de 53 a 69 días; FF de 53 a 71 días) (Tabla 11).

La altura de planta (ALP) y mazorca (ALM) entre genotipos oscilo de 180 a 243 y de 93 a 136 cm respectivamente (Tabla 27). El genotipo con mayor ALP fue el híbrido E09, mientras que el E03 fue el más bajo. En la altura de mazorca, el híbrido E20 obtuvo el promedio más elevado y el E29 el más bajo (Tabla 27). La relación entre altura de planta y mazorca (ALM/ALP) fue de 0.52 en promedio. El genotipo con la relación más alta fue el híbrido E19 (0.57) y el de más baja fue el E01 (0.47) (Tabla 27). Finalmente, el promedio de la ALP y ALM en los híbridos seleccionados superó al de las líneas endogámicas que presentaron rangos en dichos caracteres de 127.8 a 197.1 cm y de 53.2 a 125 cm respectivamente (Tabla 12).

Con respecto a las variables relacionadas con la apariencia de la planta, el StayGreen fue de 12.8% en promedio y el aspecto de planta (Asp P) de 2.2 puntos (Tabla 27). Los híbridos que manifestaron mayor proporción de planta verde fueron el E25 y E30, ambos con el 50%. En el sentido opuesto se encontró un grupo de 15 híbridos con el 0% de planta verde al momento de la cosecha (Tabla 27). Los genotipos con las mejores calificaciones de aspecto de planta fueron el E01, E04 y E25, al registrar un puntaje de 1.0 (Tabla 27). Entre tanto, los híbridos E05, E06, E14 y E15 obtuvieron las calificaciones menos favorables con 3.0 puntos cada uno (Tabla 27). En comparación con las líneas endogámicas (Tabla 12) los resultados de la apariencia planta entre genotipos fueron muy similares al de los híbridos.

Tabla 27. Promedios de floración y características de la planta de los 30 híbridos Vitamaíz seleccionados.

| ID | Nombre del híbrido | FM (Días) | FF (Días) | ASI (Días) | ALP (cm) | ALM (cm) | ALM/ALP | StayGreen (%) | AspP (1 a5) |
|-------------------|--------------------|--------------|--------------|---------------|-------------|-------------|-------------|------------------|----------------|
| E01 | VM451xVM311a | 59 | 61 | 2.0 | 209 | 101 | 0.47 | 40.0 | 1.0 |
| E02 | VM496xVM311a | 57 | 56 | -1.0 | 209 | 108 | 0.5 | 0.0 | 2.0 |
| E03 | VM496xVM451 | 59 | 61 | 2.0 | 180 | 95 | 0.54 | 5.0 | 2.0 |
| E04 | VM492axVM451 | 59 | 60 | 1.0 | 187 | 96 | 0.5 | 40.0 | 1.0 |
| E05 | MzDTP222xVM311 | 55 | 54 | -1.0 | 232 | 120 | 0.53 | 0.0 | 3.0 |
| E06 | MzDTP222xVM321 | 56 | 57 | 1.0 | 220 | 118 | 0.55 | 5.0 | 3.0 |
| E07 | MzDTP222xVM451 | 55 | 56 | 1.0 | 236 | 117 | 0.49 | 30.0 | 2.0 |
| E08 | MzDTP411xVM311 | 54 | 55 | 1.0 | 226 | 119 | 0.53 | 0.0 | 2.5 |
| E09 | MzDTP411xVM321 | 55 | 55 | 0.0 | 243 | 128 | 0.5 | 0.0 | 2.5 |
| E10 | MzDTP413xVM451 | 56 | 56 | 0.0 | 232 | 128 | 0.56 | 30.0 | 2.0 |
| E11 | MzDTP831xVM321 | 53 | 52 | -1.0 | 232 | 128 | 0.56 | 0.0 | 2.5 |
| E12 | MzDTP831xVM451 | 53 | 55 | 2.0 | 230 | 124 | 0.54 | 25.0 | 2.0 |
| E13 | MzDTPY1212xVM1 | 57 | 56 | -1.0 | 206 | 106 | 0.51 | 25.0 | 2.0 |
| E14 | MzLPSF86xVM311 | 54 | 55 | 1.0 | 216 | 117 | 0.54 | 0.0 | 3.0 |
| E15 | MzLPSF86xVM321 | 53 | 52 | -1.0 | 184 | 94 | 0.52 | 0.0 | 3.0 |
| E16 | MzLPSF86xVM451 | 56 | 57 | 1.0 | 195 | 104 | 0.54 | 10.0 | 2.0 |
| E17 | VMLPSF103xVM41 | 54 | 54 | 0.0 | 201 | 99 | 0.5 | 40.0 | 2.5 |
| E18 | VM254xVM311 | 56 | 58 | 2.0 | 207 | 105 | 0.51 | 0.0 | 2.5 |
| E19 | VM254xVM321 | 59 | 57 | -2.0 | 224 | 111 | 0.49 | 0.0 | 2.5 |
| E20 | VM321axVM311 | 59 | 58 | -1.0 | 240 | 136 | 0.57 | 0.0 | 2.5 |
| E21 | VM492bxVM311 | 55 | 55 | 0.0 | 216 | 113 | 0.52 | 0.0 | 2.5 |
| E22 | VM492bxVM321 | 54 | 57 | 3.0 | 209 | 104 | 0.49 | 0.0 | 2.5 |
| E23 | VM492bxVM451 | 55 | 56 | 1.0 | 207 | 98 | 0.49 | 0.0 | 2.0 |
| E24 | VM311bxVM321 | 55 | 55 | 0.0 | 223 | 127 | 0.56 | 0.0 | 2.0 |
| E25 | VM311bxVM451 | 57 | 60 | 3.0 | 212 | 113 | 0.54 | 50.0 | 1.0 |
| E26 | VM490xVM311 | 56 | 57 | 1.0 | 195 | 99 | 0.51 | 15.0 | 2.0 |
| E27 | VM490xVM321 | 58 | 60 | 2.0 | 197 | 99 | 0.49 | 0.0 | 2.5 |
| E28 | VM327xVM321 | 55 | 56 | 1.0 | 226 | 122 | 0.54 | 20.0 | 1.5 |
| E29 | VM327xVM451 | 55 | 56 | 1.0 | 183 | 93 | 0.49 | 50.0 | 1.5 |
| E30 | VM338xVM311 | 55 | 56 | 1.0 | 205 | 111 | 0.54 | 0.0 | 2.5 |
| Media | | 56 | 56 | 0.6 | 213 | 111 | 0.52 | 12.8 | 2.2 |
| Min. | | 53 | 52 | -2.0 | 180 | 93 | 0.47 | 0.0 | 1.0 |
| Max. | | 59 | 61 | 3.0 | 243 | 136 | 0.57 | 50.0 | 3.0 |
| HSD (0.05) | | 1 | 1 | 1 | 33.2 | 28.2 | 0.05 | | 0.3 |
| Genotipo | | *** | *** | *** | *** | *** | ** | *** | *** |

FM: Floración masculina; **FF:** Floración femenina; **ASI:** Sincronía floral; **ALP:** Altura de planta; **ALM:** Altura de mazorca; **ALM/ALP:** Relación de la altura de mazorca y altura de planta; **Asp P:** Aspecto de planta

*, ** y *** significativo a una p valor menor de 0.05, 0.01 o 0.001 respectivamente.

6.2.7.2 Variables del rendimiento y características de la mazorca

Las variables del rendimiento y las características de la mazorca de los híbridos considerados como promisorios se presentan en la tabla 28.

A pesar de que en el rendimiento de grano (RG) y de mazorca (RM) no se registraron diferencias significativas, estos variaron de 5.8 a 8.9 t ha⁻¹ y de 7.3 a 11.1 t ha⁻¹ respectivamente (Tabla 28). El híbrido que registro el rendimiento más alto de grano y mazorca fue el E24, seguido del E23 (RG: 8.8 t ha⁻¹ y RM: 11.0 t ha⁻¹), el E17 y el E29 (ambos con RG: 8.5 t ha⁻¹ y RM: 10.6 t ha⁻¹). El cruzamiento que generó la producción más baja de grano y mazorca fue del híbrido E06 (Tabla 28). Con respecto a las líneas endogámicas (RG: 3.0 t ha⁻¹ y RM: 3.8 t ha⁻¹) (Tabla 11), el promedio de producción de grano y mazorca de los híbridos selectos fue muy superior (RG: 7.3 t ha⁻¹ y RM: 9.1 t ha⁻¹).

Debido a que el rendimiento de grano en el cultivo de maíz está determinado por el número de mazorcas y al mismo tiempo por la densidad de siembra, se evaluaron estas variables en los 30 híbridos seleccionados.

En cuanto al número de mazorcas por plot (NMP), el promedio general fue de 17, siendo el híbrido E17 (20) el que más mazorcas produjo, mientras que el E30 (11.5) produjo la menor cantidad (Tabla 28). El número de planta por plot (NPP) oscilo de 15 a 22. Los genotipos con el mayor número de plantas fueron el E20 y el E21, ambos con 22.0. Caso contrario a estos, fue el híbrido E30 (15.0) con la menor cantidad de plantas por plot (Tabla 28).

En los híbridos seleccionados también se analizaron los diversos caracteres de la mazorca considerados como componentes del rendimiento de grano. En estos casos, la longitud de mazorca (LMz) vario de 15.0 a 19.1 cm y el diámetro (DMz) de 4.1 a 5.3 cm. Entretanto el número de hileras por mazorca (HMz) fue de 13.1 a 17.4, mientras que el peso de mazorca estuvo en un rango de 173.5 a 264.8 g (Tabla 28). El genotipo E29 obtuvo los promedios de LMz (19.1 cm) y PMz (264.8 g) más altos, no así el híbrido E18 que registró los promedios más bajos en estas dos variables (LMz: 15.0 cm y PMz: 173.5 g) (Tabla 28). El DMz (5.3 cm) y las HMz (17.4) presentaron sus promedios más altos en el híbrido E24, caso contrario fue el híbrido E04 con los valores más bajos en ambos caracteres (DMz: 4.5 e HMz: 13.1) (Tabla 28).

La apariencia de la mazorca es muy importante al momento de generar un híbrido, ya que esta característica está ligada a la sanidad del fruto. En los híbridos Vitamaíz seleccionados, el aspecto de mazorca (Asp Mz) obtuvo una puntuación promedio de 1.8, lo que significa que su apariencia fue buena (Tabla 28). Los genotipos con la mejor calificación fueron los híbridos E02, E03, E07, E08,

E23, E26 y E29 todos con 1.0 puntos (Tabla 28), mientras que los híbridos menos destacados fueron el E13, E14 y E27, al obtener una calificación de 3.0 puntos cada uno.

Entre los mejores híbridos, la pudrición de mazorca (Mz Pod) varió de 8.8 a 18.7%, siendo los genotipos más destacados el E25 (2.9 %), E29 (5.8%) y E30 (5.2%) al registrar los porcentajes más bajos de pudrición (Tabla 28). En el caso contrario, los híbridos E01 (17.8%), E14 (17.7%), E17 (17.5%) y E20 (18.7%) fueron los genotipos que originaron una mayor proporción de mazorcas podridas (Tabla 28).

Al comparar las características de las mazorcas entre los híbridos seleccionados (Tabla 28) y las líneas endogámicas (Tabla 13), de forma general se puede apreciar que los híbridos fueron superiores a las líneas, ya que manifestaron en promedio dimensiones y pesos más grandes, además de que el aspecto de mazorca mejoró con los cruzamientos y el porcentaje de mazorcas podridas fue menor.

Tabla 28. Rendimiento y características de mazorca de los 30 híbridos Vitamaíz seleccionados.

| ID | Nombre del híbrido | RG (t ha ⁻¹) | RM (t ha ⁻¹) | NMP | NPP | LMz (cm) | DMz (cm) | HMz | PMz (gr) | Mz Pod (%) | Mz Seg (%) | Asp Mz |
|-------------------|--------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|---------------|---------------|------------|
| E01 | VM451xVM311a | 7.3 | 9.1 | 14.1 | 16.4 | 16.9 | 5.2 | 16.0 | 240.0 | 17.8 | 0.0 | 2.0 |
| E02 | VM496xVM311a | 7.3 | 9.1 | 15.6 | 18.6 | 17.4 | 4.8 | 15.5 | 215.1 | 6.5 | 0.0 | 1.0 |
| E03 | VM496xVM451 | 7.1 | 8.9 | 15.9 | 18.0 | 18.1 | 4.8 | 14.3 | 208.4 | 6.7 | 27.1 | 1.0 |
| E04 | VM492axVM451 | 6.5 | 8.2 | 14.8 | 17.3 | 18.8 | 4.5 | 13.1 | 224.6 | 7.8 | 0.0 | 1.0 |
| E05 | MzDTP222xVM311 | 6.2 | 7.7 | 17.3 | 19.1 | 16.1 | 4.5 | 14.8 | 175.4 | 14.5 | 2.0 | 2.0 |
| E06 | MzDTP222xVM321 | 5.8 | 7.3 | 15.4 | 16.3 | 16.4 | 4.6 | 14.8 | 175.0 | 6.5 | 11.6 | 1.5 |
| E07 | MzDTP222xVM451 | 7.4 | 9.3 | 17.5 | 18.8 | 16.9 | 4.6 | 13.5 | 181.8 | 8.6 | 17.2 | 1.0 |
| E08 | MzDTP411xVM311 | 7.2 | 9.0 | 15.8 | 16.6 | 16.1 | 4.9 | 15.0 | 201.8 | 8.1 | 31.6 | 1.0 |
| E09 | MzDTP411xVM321 | 7.0 | 8.7 | 17.3 | 18.4 | 16.4 | 4.6 | 13.5 | 178.6 | 10.0 | 33.5 | 1.5 |
| E10 | MzDTP413xVM451 | 7.9 | 9.8 | 18.1 | 19.9 | 16.7 | 4.6 | 14.0 | 199.4 | 13.1 | 21.2 | 2.5 |
| E11 | MzDTP831xVM321 | 6.8 | 8.5 | 17.1 | 19.3 | 16.6 | 4.9 | 14.3 | 195.6 | 13.3 | 24.0 | 2.5 |
| E12 | MzDTP831xVM451 | 7.3 | 9.1 | 18.8 | 20.1 | 16.5 | 4.7 | 14.0 | 199.1 | 16.6 | 2.2 | 2.0 |
| E13 | MzDTPY1212xVM1 | 7.2 | 8.9 | 15.5 | 16.5 | 16.5 | 4.8 | 14.3 | 228.8 | 16.2 | 0.0 | 3.0 |
| E14 | MzLPSF86xVM311 | 7.3 | 9.1 | 17.9 | 20.0 | 15.7 | 4.9 | 14.3 | 200.5 | 17.7 | 15.9 | 3.0 |
| E15 | MzLPSF86xVM321 | 7.4 | 9.3 | 17.3 | 16.8 | 15.8 | 4.8 | 13.9 | 193.3 | 14.1 | 34.9 | 2.5 |
| E16 | MzLPSF86xVM451 | 7.9 | 9.9 | 18.5 | 18.1 | 17.1 | 5.0 | 15.3 | 228.3 | 14.4 | 0.0 | 2.5 |
| E17 | VMLPSF103xVM41 | 8.5 | 10.6 | 20.0 | 21.5 | 15.6 | 4.7 | 15.5 | 204.6 | 10.8 | 11.5 | 1.5 |
| E18 | VM254xVM311 | 7.8 | 9.8 | 18.8 | 19.9 | 15.0 | 4.8 | 14.8 | 173.5 | 17.5 | 5.5 | 2.0 |
| E19 | VM254xVM321 | 6.5 | 8.2 | 15.9 | 17.3 | 17.0 | 4.6 | 13.3 | 181.9 | 15.0 | 11.5 | 1.5 |
| E20 | VM321axVM311 | 7.3 | 9.2 | 17.8 | 21.6 | 17.3 | 5.0 | 16.3 | 197.6 | 18.7 | 7.0 | 1.5 |
| E21 | VM492bxVM311 | 7.4 | 9.2 | 19.3 | 21.5 | 16.0 | 4.7 | 15.0 | 194.3 | 12.5 | 6.9 | 1.5 |
| E22 | VM492bxVM321 | 7.2 | 9.0 | 17.8 | 19.4 | 16.3 | 5.0 | 15.3 | 209.3 | 12.2 | 23.5 | 1.5 |
| E23 | VM492bxVM451 | 8.8 | 11.0 | 17.6 | 18.6 | 17.5 | 5.0 | 17.0 | 252.4 | 9.7 | 0.0 | 1.0 |
| E24 | VM311bxVM321 | 8.9 | 11.1 | 17.5 | 21.3 | 17.1 | 5.3 | 17.4 | 226.1 | 8.9 | 24.0 | 1.5 |
| E25 | VM311bxVM451 | 6.0 | 7.5 | 16.0 | 17.8 | 17.1 | 4.7 | 15.0 | 206.8 | 2.9 | 17.6 | 2.5 |
| E26 | VM490xVM311 | 7.7 | 9.7 | 17.8 | 19.4 | 17.4 | 4.9 | 14.0 | 223.9 | 11.7 | 0.0 | 1.0 |
| E27 | VM490xVM321 | 6.4 | 8.1 | 15.0 | 16.6 | 16.8 | 4.7 | 14.8 | 194.1 | 7.2 | 3.4 | 3.0 |
| E28 | VM327xVM321 | 7.1 | 8.8 | 16.4 | 18.4 | 16.6 | 4.9 | 14.8 | 201.1 | 14.0 | 17.8 | 2.0 |
| E29 | VM327xVM451 | 8.5 | 10.6 | 17.0 | 20.3 | 19.1 | 5.0 | 17.0 | 264.8 | 5.8 | 27.2 | 1.0 |
| E30 | VM338xVM311 | 6.4 | 8.1 | 11.5 | 15.1 | 19.0 | 5.1 | 13.8 | 252.1 | 5.2 | 15.3 | 1.5 |
| Media | | 7.3 | 9.1 | 16.8 | 18.6 | 16.9 | 4.8 | 14.8 | 207.6 | 11.5 | 13.1 | 1.8 |
| Min. | | 5.8 | 7.3 | 11.5 | 15.1 | 15.0 | 4.5 | 13.1 | 173.5 | 2.9 | 0.0 | 1.0 |
| Max. | | 8.9 | 11.1 | 20.0 | 21.6 | 19.1 | 5.3 | 17.4 | 264.8 | 18.7 | 34.9 | 3.0 |
| HSD (0.05) | | 3.9 | 4.8 | 6.3 | 5.5 | 2.7 | 0.5 | 2.9 | 65 | 8.8 | 15.3 | 0.3 |
| Genotipo | | NS | NS | *** | *** | *** | *** | *** | *** | ** | *** | *** |

RG: Rendimiento de grano; **RM:** Rendimiento de mazorca; **NMP:** número de mazorcas por plot; **NPP:** Número de plantas por plot; **LMz:** Largo de mazorca; **DMz:** Diámetro de mazorca; **HMz:** Hileras de mazorca;

*, ** y *** significativo a una p valor menor de 0.05, 0.01 o 0.001 respectivamente.

6.3 Caracterización bioquímica de líneas homocigotas

6.3.1. Cuantificación de carbohidratos

Se realizó la determinación de carbohidratos no estructurales (glucosa, fructosa y sacarosa) y estructurales (Almidón) en las líneas endogámicas Vitamaíz y se compararon con los maíces usados como control. Los resultados de estos análisis se presentan en la tabla 29, la cual esta seccionada en: a). Líneas Vitamaíz y b). Maíces control. No obstante, el análisis estadístico fue realizado en conjunto.

Los niveles de glucosa para las líneas Vitamaíz variaron de 3.6 a 69.1 $\mu\text{mol/gPS}$ y de 6.7 a 12.5 $\mu\text{mol/gPS}$ en los controles (Tabla 29). Los genotipos más sobresalientes en relación a esta hexosa fue la línea L11 (69.1 $\mu\text{mol/gPS}$), seguida de la línea L10 (59.4 $\mu\text{mol/gPS}$). Contrario a estos genotipos se encontraron las líneas L16 (3.6 $\mu\text{mol/gPS}$) y L08 (4.6 $\mu\text{mol/gPS}$) al contener los niveles más bajos del metabolito en cuestión (Tabla 29). Al comparar las líneas de maíz azul Vitamaíz con el control que registró el nivel más alto de glucosa (E31= azul semimejortado), los genotipos L11 y L10, junto con el L44 (23.8 $\mu\text{mol/gPS}$) fueron estadísticamente superiores (Tabla 29). Con respecto al híbrido comercial blanco (E34), que registró una concentración de glucosa de 6.8 $\mu\text{mol/gPS}$, nueve genotipos fueron significativamente superiores y un grupo de 19 líneas más, manifestaron también una ligera superioridad.

En promedio, los contenidos de fructosa fueron muy similares entre las líneas Vitamaíz (5.3 $\mu\text{mol/gPS}$) y los controles (5.7 $\mu\text{mol/gPS}$) (Tabla 29). En relación a este metabolito los genotipos con los mayores niveles fueron la línea L10 (33.2 $\mu\text{mol/gPS}$) y la L11 (33.1 $\mu\text{mol/gPS}$), mientras que el genotipo que estadísticamente mostró el nivel más bajo, fue la línea L39 (2.6 $\mu\text{mol/gPS}$) (Tabla 29). Al respecto del control con el nivel más alto de fructosa (E32 con 8.8 $\mu\text{mol/gPS}$), solo las líneas L10 y L11 fueron estadísticamente superiores (Tabla 29). En cuanto al híbrido comercial blanco (3.8 $\mu\text{mol/gPSn}$) un grupo de 19 líneas Vitamaíz fue ligeramente superior a este y solamente dos (L10 y L11) lo fueron de forma significativa (Tabla 29).

Las líneas Vitamaíz mostraron un contenido promedio de sacarosa de 65.2 $\mu\text{mol/gPS}$, con un rango que oscilo de 11.8 $\mu\text{mol/gPS}$ hasta los 101 $\mu\text{mol/gPS}$, mientras que en los controles lo niveles variaron de 45.1 a 68.1 $\mu\text{mol/gPS}$ con un promedio de 60.6 $\mu\text{mol/gPS}$ (Tabla 29). Entre las líneas Vitamaíz se identificaron a los genotipos más sobresalientes en cuanto a la acumulación del disacárido: L36 (101 $\mu\text{mol/gPS}$), L45 (99.3 $\mu\text{mol/gPS}$), L34 (98 $\mu\text{mol/gPS}$), L39 (97.8 $\mu\text{mol/gPS}$), L41 (95.2 $\mu\text{mol/gPS}$) y L44 (94.7 $\mu\text{mol/gPS}$) (Tabla 29). Pero de igual manera a los que tuvieron menos concentración: L10 (11.8 $\mu\text{mol/gPS}$) y L11 (11.9 $\mu\text{mol/gPS}$) (Tabla 29). Un grupo de 12 líneas Vitamaíz fueron significativamente superiores tanto al control con la mayor concentración de sacarosa (E35 con 68.1

$\mu\text{mol/gPS}$) como al híbrido comercial (E34 con $67.8 \mu\text{mol/gPS}$), mientras que otro grupo, constituido por 29 líneas Vitamaíz fueron estadísticamente similares a estos dos controles (Tabla 29).

En análisis realizado para la cuantificación de almidón mostraron una amplia variación entre las líneas Vitamaíz al registrar valores que oscilaron desde $1850 \mu\text{mol/gPS}$ hasta $3617 \mu\text{mol/gPS}$. En cuanto a los controles, el almidón fue de 2587 a $3205 \mu\text{mol/gPS}$ (Tabla 29). Los materiales que más sobresalieron fueron las líneas L39 ($3617 \mu\text{mol/gPS}$) y L13 ($3606 \mu\text{mol/gPS}$), seguidas de la L14 ($3521 \mu\text{mol/gPS}$) y L11 ($3518 \mu\text{mol/gPS}$) (Tabla 29). Contrariamente a estos genotipos se encontró la línea L18 ($1850 \mu\text{mol/gPS}$), la cual fue estadísticamente inferior al resto de los genotipos. El híbrido comercial (E34 con $3205 \mu\text{mol/gPS}$) fue el genotipo control con el mayor nivel de almidón (Tabla 29). En comparación a este, además de las líneas L39 y L13, un grupo de cinco líneas Vitamaíz (L04, L07, L08, L12 y L16) fueron ligeramente superiores.

Tabla 29. Niveles de carbohidratos de líneas Vitamaíz y maíces control.

| a). Líneas Vitamaíz | | | | | |
|---------------------|------------|------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| Línea | | Metabolitos | | | |
| ID | Nombre | Glucosa ($\mu\text{mol/gPS}$) | Fructosa ($\mu\text{mol/gPS}$) | Sacarosa ($\mu\text{mol/gPS}$) | Almidón ($\mu\text{mol/gPS}$) |
| L01 | VM264a | 10.7 ± 0.3 | 6.4 ± 0.2 | 57.8 ± 1.5 | 2487 ± 187 |
| L02 | VM373 | 9.7 ± 0.5 | 5.5 ± 0.3 | 55.5 ± 0.5 | 3021 ± 71 |
| L03 | VM311a | 6.6 ± 0.4 | 4.8 ± 0.5 | 55.3 ± 1.2 | 2854 ± 144 |
| L04 | VM483a | 9.3 ± 0.4 | 4.1 ± 0.3 | 60.2 ± 4.3 | 3410 ± 221 |
| L05 | VM343 | 8.8 ± 0.4 | 4.5 ± 0.5 | 65.3 ± 1.1 | 3140 ± 98 |
| L06 | VM254a | 7.5 ± 0.5 | 6.9 ± 0.5 | 63.7 ± 0.5 | 3135 ± 95 |
| L07 | VM494a | 9.4 ± 1.2 | 4.7 ± 0.2 | 62.1 ± 1.7 | 3270 ± 40 |
| L08 | VM495 | 4.6 ± 0.4 | 3.2 ± 0.2 | 56.4 ± 2.2 | 3462 ± 54 |
| L09 | VM349 | 7.7 ± 0.3 | 4.2 ± 0.5 | 61.1 ± 1.1 | 3617 ± 71 |
| L10 | VM451 | 59.4 ± 4.0 | 33.2 ± 2.1 | 11.9 ± 1.5 | 3086 ± 78 |
| L11 | VM496 | 69.1 ± 9.0 | 33.1 ± 5.3 | 13.2 ± 1.7 | 3518 ± 88 |
| L12 | MzDTPYF65 | 8.2 ± 0.3 | 6.9 ± 0.4 | 56.2 ± 1.7 | 3491 ± 58 |
| L13 | VM492a | 4.8 ± 0.2 | 4.4 ± 0.3 | 53.5 ± 2.5 | 3607 ± 131 |
| L14 | MzATFW112 | 5.9 ± 0.4 | 5.3 ± 0.5 | 63.4 ± 3.4 | 3521 ± 118 |
| L15 | MzATFW512 | 4.9 ± 0.1 | 4.5 ± 0.3 | 53.1 ± 3.3 | 3485 ± 69 |
| L16 | MzATFW521 | 3.6 ± 0.4 | 3.9 ± 0.6 | 54.5 ± 2.1 | 3385 ± 177 |
| L17 | MzATFW641 | 6.1 ± 0.1 | 5.2 ± 0.3 | 54.8 ± 3.4 | 2891 ± 111 |
| L18 | MzATFW1211 | 7.5 ± 0.6 | 4.3 ± 0.2 | 52.1 ± 2.1 | 2967 ± 122 |
| L19 | MzATFW1221 | 6.8 ± 0.2 | 4.8 ± 0.4 | 54.7 ± 2.0 | 3005 ± 89 |
| L20 | MzATFW1413 | 7.0 ± 0.6 | 3.0 ± 0.2 | 62.4 ± 1.0 | 3057 ± 88 |
| L21 | MzDTP111 | 5.9 ± 0.3 | 3.5 ± 0.3 | 54.3 ± 3.3 | 3009 ± 73 |
| L22 | MzDTP113 | 4.7 ± 0.1 | 2.9 ± 0.2 | 74.8 ± 1.2 | 2976 ± 35 |
| L23 | MzDTP222 | 5.7 ± 0.4 | 3.2 ± 0.2 | 59.8 ± 5.6 | 2952 ± 96 |
| L24 | MzDTP411 | 6.1 ± 0.3 | 4.4 ± 0.9 | 55.0 ± 1.7 | 3086 ± 76 |
| L25 | MzDTP413 | 14.3 ± 1.3 | 6.0 ± 0.6 | 57.9 ± 5.1 | 2729 ± 43 |
| L26 | MzDTP831 | 13.1 ± 1.4 | 4.9 ± 0.4 | 58.9 ± 0.4 | 2763 ± 118 |
| L27 | MzDTPY1212 | 16.2 ± 0.9 | 6.6 ± 0.8 | 65.2 ± 2.0 | 2342 ± 155 |
| L28 | Mz491492 | 12.4 ± 1.3 | 4.6 ± 0.2 | 59.5 ± 2.0 | 2294 ± 76 |
| L29 | MzLPSF86 | 15.8 ± 0.1 | 4.8 ± 0.5 | 61.5 ± 1.1 | 2364 ± 74 |
| L30 | VMLPSF103 | 13.5 ± 0.5 | 3.8 ± 0.4 | 49.4 ± 1.9 | 2347 ± 75 |
| L31 | VM254b | 11.8 ± 1.5 | 3.7 ± 0.4 | 64.2 ± 1.9 | 2331 ± 80 |
| L32 | VM321a | 10.6 ± 1.0 | 3.2 ± 0.4 | 53.4 ± 0.5 | 2212 ± 174 |
| L33 | VM492b | 17.2 ± 0.6 | 5.0 ± 0.1 | 78.2 ± 1.8 | 3009 ± 317 |
| L34 | VM311b | 10.0 ± 1.5 | 3.4 ± 0.2 | 98.0 ± 3.6 | 2850 ± 171 |

| | | | | | |
|---------------------------|-------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| L35 | VM491 | 6.8 ± 0.6 | 4.0 ± 0.3 | 84.3 ± 1.5 | 2478 ± 143 |
| L36 | VM494b | 13.9 ± 1.3 | 4.2 ± 0.3 | 100.9 ± 3.6 | 2577 ± 285 |
| L37 | VM264b | 10.0 ± 1.5 | 3.4 ± 0.1 | 88.1 ± 2.7 | 2499 ± 294 |
| L38 | VM264q | 10.5 ± 0.8 | 4.4 ± 0.2 | 91.4 ± 1.6 | 2277 ± 149 |
| L39 | VM321b | 17.4 ± 0.4 | 2.6 ± 0.1 | 97.8 ± 6.1 | 2584 ± 204 |
| L40 | VM334 | 9.8 ± 1.0 | 3.0 ± 0.2 | 90.9 ± 1.8 | 2901 ± 336 |
| L41 | VM366 | 16.5 ± 0.8 | 4.7 ± 0.3 | 95.2 ± 0.7 | 2437 ± 111 |
| L42 | VM482 | 13.4 ± 1.6 | 4.4 ± 0.3 | 87.0 ± 2.4 | 2307 ± 78 |
| L43 | VM483b | 12.0 ± 2.7 | 2.9 ± 0.3 | 82.1 ± 3.8 | 2305 ± 44 |
| L44 | VM484 | 23.8 ± 2.0 | 3.8 ± 0.5 | 94.7 ± 1.5 | 2370 ± 103 |
| L45 | VM490 | 14.7 ± 2.3 | 6.9 ± 1.0 | 99.3 ± 3.8 | 1850 ± 162 |
| L46 | VM75 | 15.3 ± 1.6 | 3.1 ± 0.3 | 73.5 ± 3.7 | 2405 ± 51 |
| L47 | VM27 | 12.3 ± 0.7 | 3.5 ± 0.4 | 76.6 ± 2.3 | 2289 ± 156 |
| L48 | VM245 | 9.0 ± 0.3 | 3.3 ± 0.2 | 45.4 ± 1.9 | 2440 ± 62 |
| L49 | VM282 | 9.9 ± 1.1 | 4.0 ± 0.3 | 52.4 ± 2.0 | 2327 ± 79 |
| L50 | VM305 | 10.0 ± 0.7 | 4.2 ± 0.9 | 48.5 ± 0.5 | 2521 ± 187 |
| L51 | VM327 | 10.3 ± 0.3 | 4.0 ± 0.5 | 58.1 ± 5.1 | 2553 ± 236 |
| L52 | VM338 | 7.9 ± 0.1 | 3.5 ± 0.5 | 65.8 ± 1.8 | 2421 ± 148 |
| Media | | 12.3 | 5.4 | 65.2 | 2793 |
| Min. | | 3.6 | 2.6 | 11.9 | 1850 |
| Max. | | 69.1 | 33.2 | 100.9 | 3617 |
| b). Maíces control | | | | | |
| Controles | | Metabolitos | | | |
| ID | Nombre | Glucosa (µmol/gPS) | Fructosa (µmol/gPS) | Sacarosa (µmol/gPS) | Almidón (µmol/gPS) |
| E31 | Azul semimejorado | 12.5 ± 1.1 | 7.5 ± 0.2 | 50.6 ± 2.3 | 2592 ± 174 |
| E32 | Maíz pozolero | 11.8 ± 0.2 | 8.8 ± 0.5 | 45.1 ± 1.1 | 2623 ± 89 |
| E33 | Maíz pozolero | 10.6 ± 0.3 | 7.9 ± 0.3 | 58.7 ± 4.1 | 3082 ± 70 |
| E34 | Híbrido comercial | 6.8 ± 0.4 | 3.8 ± 0.2 | 67.7 ± 3.6 | 3205 ± 116 |
| E35 | Maíz negro | 8.8 ± 0.6 | 6.9 ± 0.2 | 68.1 ± 2.5 | 3172 ± 96 |
| E36 | Maíz negro | 7.6 ± 0.4 | 3.5 ± 0.1 | 64.9 ± 2.2 | 2962 ± 105 |
| E37 | Bofo pinto | 6.7 ± 0.3 | 3.8 ± 0.1 | 61.6 ± 0.4 | 3175 ± 79 |
| E38 | Rojo serrano | 6.8 ± 0.3 | 4.5 ± 0.2 | 66.8 ± 2.8 | 3004 ± 124 |
| E39 | Pinto amarillo | 10.3 ± 0.7 | 4.2 ± 0.2 | 62.2 ± 0.8 | 2587 ± 94 |
| Media | | 9.1 | 5.7 | 60.6 | 2934 |
| Min. | | 6.7 | 3.5 | 45.1 | 2587 |
| Max. | | 12.5 | 8.8 | 68.1 | 3205 |
| Estadísticos | | | | | |
| HSD (0.05) | | 7.1 | 4.3 | 13.6 | 771 |
| Genotipo | | *** | *** | *** | *** |

Nivel de carbohidratos en el grano de 52 líneas Vitamaíz y 9 genotipos usados como control (promedio ± ee, n=4); genotipo resaltado en amarillo muestra al control que registró el contenido más alto según el metabolito analizado y el resaltado en color verde al híbrido comercial blanco. ANOVA y prueba de Tukey-HSD $P \leq 0.05$.

6.3.2 Cuantificación de proteínas solubles y aminoácidos totales libres

El contenido de proteínas solubles vario significativamente ($p < 0.001$) de 11.6 a 21.9 mg/kgPS en la líneas Vitamaíz y de 12.3 a 21.7 mg/kgPS en los genotipos control (Tabla 30). Los niveles más elevados de este metabolito se presentaron en la línea L34 (21.9 mg/kgPS) y el maíz bofo pinto (E37 con 21.7 mg/kgPS) (Tabla 30). En relación a este último genotipo (maíz control con la concentración más alta de proteínas), sus niveles aunque superiores, no fueron estadísticamente diferentes a los registrados por las líneas L14 (20.3 mg/kgPS), L38 (20.1 mg/kgPS), L40 (20.0 mg/kgPS), L18 (19.5 mg/kgPS), L36 (19.1 mg/kgPS) y L39 (19.1 mg/kgPS) (Tabla 30). Estos últimos genotipos, mostraron

ser ligeramente superior al híbrido comercial blanco (E34 con 18.7 mg/kgPS), mientras que la L34 fue de forma significativa. Finalmente, los genotipos con los niveles más bajos de proteínas fueron la línea L09 (11.6 mg/kgPS) y criollo rojo pozolero (E32 con 12.3 mg/kgPS) (Tabla 30)

Contrastando los grupos de genotipos analizados, el nivel promedio de aminoácidos libres en la línea Vitamaíz (9.3 $\mu\text{mol/gPS}$) fue inferior al de los controles (12.5 $\mu\text{mol/gPS}$) (Tabla 29). Los genotipos control E37 (21.6 $\mu\text{mol/gPS}$) y E36 (19.2 $\mu\text{mol/gPS}$) registraron las concentraciones más altas de estos metabolitos y contrario a estos se encontraron las líneas L31 (4.6 $\mu\text{mol/gPS}$) y L37 (5.0 $\mu\text{mol/gPS}$) que fueron significativamente inferiores en sus niveles de aminoácidos al resto de los genotipos (Tabla 30). En comparación con el mejor control (E37) todas las líneas Vitamaíz fueron significativamente inferiores en el contenido de aminoácidos. Sin embargo, contrastadas con el híbrido comercial blanco (E34 con 6.9 $\mu\text{mol/gPS}$), un grupo de 41 líneas Vitamaíz fueron superiores, de las cuales 24 los fueron de forma significativa (Tabla 30).

6.3.3 Cuantificación de compuestos nutraceuticos.

Con el fin de conocer que tan variable son los niveles de nutraceuticos en el grano de líneas Vitamaíz y que tan comparables son con algunos maíces criollos pigmentados, se realizó un análisis de antocianinas, fenoles libres y totales. Los resultados de estos análisis se encuentran desglosados en la tabla 30.

Los niveles de antocianinas entre las líneas Vitamaíz variaron de 131.2 a 891.6 mg de cianidina clorada/kgPS, mientras que en los controles con pigmentación de tipo antociana (E31, E32, E35, E36, E37 y E38) fue de 67.0 a 273.6 mg/kgPS (Tabla 30). En cuanto al genotipo control de color amarillo (E39), este promedió una concentración de 15.6 mg/kgPS de antocianinas totales y los genotipos blancos (E33 y E34) no tuvieron antocianinas (Tabla 30). Los genotipos con los niveles más altos de este metabolito fueron las líneas L18, L17 y L09, las cuales alcanzaron concentraciones 891.6, 834.2 y 806.1 mg/kgPS respectivamente (Tabla 30). Estas líneas se caracterizaron por presentar una coloración azul muy intenso o negra. Al realizar el comparativo de los niveles de antocianinas con el control que registró los niveles más altos (E31 con 273.6 mg/kgPS), 15 líneas fueron superiores de forma no significativa. Mientras que un grupo de 19 líneas, donde los niveles de antocianinas oscilaron de 401.3 a 891.6 mg/kgPS fueron significativamente superiores a E31 (Tabla 30).

La concentración de fenoles libres (FL) varió de 963.8 a 2670 mg de ácido gálico/kgPS entre genotipos. En relación a estos metabolitos los niveles más altos se encontraron entre las líneas Vitamaíz, donde la L09 (2670 mg/kgPS) y L25 (2644 mg/kgPS) fueron estadísticamente superiores a todos los genotipos (Tabla 30). Lo contrario a estos resultados se presentó en los maíces control, donde

los genotipos blancos E33 (1051 mg/kgPS) y E34 (967.8 mg/kgPS) presentaron los niveles más bajos de FL (Tabla 30). El maíz azul semimejorado (E31 con 1561 mg/kgPS) fue el genotipo control con la mayor concentración de estos metabolitos. Al compararlo con las líneas Vitamaíz, el maíz semimejorado se vio superado significativamente por un grupo de 15 genotipos en donde la concentración de FL varió de 2025 a 2670 mg/kgPS, mientras que otro grupo de 19 líneas lo superaron de forma no significativa, con niveles que fueron de 1661 a 2002 mg/kgPS (Tabla 30).

El contenido de fenoles totales (FT) en las líneas Vitamaíz fue de 3171 a 6523 mg de ácido gálico/kgPS y en los genotipos control fueron de 2168 a 3356 mg/kgPS (Tabla 30). Los materiales que más sobresalieron a razón de estos metabolitos se encontraron dentro de las líneas Vitamaíz. Estos genotipos fueron las líneas L18 (6523 mg/kgPS) y L17 (6160 mg/kgPS), estadísticamente superiores a todos los genotipos (Tabla 30). En los controles, el maíz azul semimejorado (E31 con 3356 mg de ácido gálico/kgPS) fue el que mayor concentración de fenoles totales registró. En comparación a este, 47 líneas Vitamaíz fueron superiores y de estas, 27 lo fueron significativamente y 20 de forma no significativa (Tabla 30). Los genotipos que menos destacaron en el contenido de estos metabolitos fueron los controles E36 y E39, al alcanzar 2342 y 2168 mg/kgPS de FT respectivamente (Tabla 30).

Tabla 30. Niveles de proteínas, aminoácidos y compuestos nutraceuticos en líneas Vitamaíz y genotipos control.

| a). Líneas Vitamaíz | | | | | | |
|---------------------|------------|--------------------|------------------------|------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Línea | | Metabolitos | | | | |
| ID | Nombre | Proteínas (mg/gPS) | Aminoácidos (μmol/gPS) | Antocianinas (mg/kgPS) | Fenoles libres (mg/kgPS) | Fenoles totales (mg/kgPS) |
| L01 | VM264a | 18.8 ± 0.4 | 11.2 ± 0.7 | 319.7 ± 24.0 | 1722 ± 14.9 | 5246 ± 140.3 |
| L02 | VM373 | 18.4 ± 0.4 | 12.5 ± 0.7 | 249.5 ± 26.5 | 1506 ± 44.9 | 3920 ± 124.8 |
| L03 | VM311a | 15.9 ± 0.2 | 5.0 ± 0.4 | 208.1 ± 11.5 | 1202 ± 20.1 | 3400 ± 131.5 |
| L04 | VM483a | 18.5 ± 0.3 | 6.1 ± 0.3 | 278.7 ± 52.5 | 2025 ± 144.7 | 4996 ± 196.2 |
| L05 | VM343 | 14.2 ± 0.3 | 10.2 ± 0.3 | 618.5 ± 0.9 | 1833 ± 85.4 | 5791 ± 102.2 |
| L06 | VM254a | 16.6 ± 0.4 | 9.2 ± 0.6 | 232.9 ± 0.9 | 1676 ± 52.3 | 3993 ± 74.7 |
| L07 | VM494a | 17.2 ± 0.5 | 5.9 ± 0.5 | 293.8 ± 94.4 | 1742 ± 67.5 | 4703 ± 43.1 |
| L08 | VM495 | 17.3 ± 0.3 | 11.1 ± 0.6 | 493.8 ± 19.0 | 1535 ± 50.6 | 5323 ± 97.5 |
| L09 | VM349 | 11.6 ± 0.4 | 8.9 ± 0.5 | 806.1 ± 54.9 | 2671 ± 159.5 | 5401 ± 61.4 |
| L10 | VM451 | 15.3 ± 0.4 | 13.6 ± 0.3 | 164.3 ± 7.9 | 1720 ± 43.8 | 4350 ± 122.4 |
| L11 | VM496 | 16.6 ± 0.7 | 9.1 ± 0.4 | 558.0 ± 21.0 | 2091 ± 46.2 | 5095 ± 210.6 |
| L12 | MzDTPYF65 | 14.4 ± 0.3 | 11.2 ± 0.3 | 620.1 ± 24.7 | 2406 ± 37.0 | 4951 ± 158.2 |
| L13 | VM492a | 17.1 ± 0.4 | 14.6 ± 0.6 | 244.4 ± 2.0 | 1449 ± 11.4 | 4269 ± 245.0 |
| L14 | MzATFW112 | 20.2 ± 0.4 | 13.0 ± 0.08 | 514.4 ± 48.8 | 1838 ± 10.3 | 4458 ± 10.9 |
| L15 | MzATFW512 | 14.8 ± 0.4 | 11.2 ± 0.9 | 248.9 ± 4.1 | 1613 ± 51.1 | 3949 ± 253.1 |
| L16 | MzATFW521 | 16.1 ± 1.0 | 6.0 ± 0.7 | 268.8 ± 30.7 | 1620 ± 50.9 | 3762 ± 120.0 |
| L17 | MzATFW641 | 17.8 ± 0.9 | 10.4 ± 0.8 | 834.2 ± 6.8 | 1834 ± 30.5 | 6160 ± 125.7 |
| L18 | MzATFW1211 | 19.5 ± 0.8 | 9.6 ± 0.4 | 891.6 ± 1.4 | 1890 ± 101.2 | 6524 ± 364.9 |
| L19 | MzATFW1221 | 17.1 ± 1.5 | 8.0 ± 0.6 | 641.2 ± 17.8 | 2114 ± 82.9 | 5317 ± 259.7 |
| L20 | MzATFW1413 | 17.8 ± 1.3 | 10.6 ± 0.3 | 254.2 ± 20.1 | 1531 ± 2.9 | 4028 ± 144.7 |
| L21 | MzDTP111 | 18.2 ± 0.3 | 5.1 ± 0.2 | 285.7 ± 29.6 | 1388 ± 37.9 | 3262 ± 107.7 |
| L22 | MzDTP113 | 15.8 ± 0.4 | 11.0 ± 0.5 | 379.9 ± 9.0 | 2274 ± 134.5 | 5153 ± 249.6 |
| L23 | MzDTP222 | 14.7 ± 0.5 | 8.4 ± 0.2 | 386.2 ± 34.7 | 1986 ± 35.3 | 4474 ± 136.5 |
| L24 | MzDTP411 | 15.4 ± 0.5 | 11.6 ± 0.3 | 442.6 ± 97.1 | 1389 ± 7.3 | 5029 ± 191.1 |

| | | | | | | |
|---------------------------|-------------------|---------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| L25 | MzDTP413 | 15.3 ± 0.5 | 10.4 ± 0.3 | 502.3 ± 32.6 | 2644 ± 26.0 | 5120 ± 205.6 |
| L26 | MzDTP831 | 15.4 ± 0.3 | 10.5 ± 0.4 | 303.7 ± 41.8 | 2140 ± 25.9 | 4945 ± 149.5 |
| L27 | MzDTPY1212 | 17.4 ± 0.4 | 8.1 ± 0.8 | 261.7 ± 14.7 | 1264 ± 50.3 | 4169 ± 106.0 |
| L28 | Mz491492 | 16.2 ± 0.4 | 10.3 ± 0.8 | 382.0 ± 0.02 | 1575 ± 60.5 | 3585 ± 124.4 |
| L29 | MzLPSF86 | 14.6 ± 0.3 | 5.8 ± 0.5 | 371.3 ± 78.4 | 1673 ± 167.1 | 4222 ± 207.4 |
| L30 | VMLPSF103 | 15.2 ± 0.4 | 7.3 ± 0.5 | 379.7 ± 1.2 | 1767 ± 47.8 | 4154 ± 103.3 |
| L31 | VM254b | 17.5 ± 0.6 | 4.5 ± 0.3 | 472.6 ± 14.6 | 1859 ± 67.4 | 4412 ± 15.1 |
| L32 | VM321a | 17.1 ± 0.1 | 5.9 ± 0.3 | 131.2 ± 10.1 | 1102 ± 104.7 | 3926 ± 124.0 |
| L33 | VM492b | 16.6 ± 0.4 | 8.4 ± 0.3 | 247.6 ± 2.2 | 1530 ± 110.8 | 3709 ± 81.9 |
| L34 | VM311b | 21.9 ± 1.0 | 11.4 ± 0.4 | 167.6 ± 7.4 | 1535 ± 54.1 | 4341 ± 93.3 |
| L35 | VM491 | 20.9 ± 0.9 | 5.8 ± 1.0 | 432.7 ± 17.9 | 2043 ± 92.9 | 3541 ± 63.6 |
| L36 | VM494b | 19.1 ± 0.2 | 9.0 ± 0.8 | 253.7 ± 40.8 | 1759 ± 14.9 | 4897 ± 147.7 |
| L37 | VM264b | 18.1 ± 0.5 | 5.0 ± 0.3 | 288.4 ± 59.9 | 1532 ± 154.1 | 4546 ± 151.4 |
| L38 | VM264q | 20.1 ± 0.4 | 10.1 ± 0.4 | 331.9 ± 18.9 | 2100 ± 107.1 | 4366 ± 178.0 |
| L39 | VM321b | 19.1 ± 0.4 | 8.7 ± 0.6 | 156.6 ± 24.8 | 1170 ± 24.7 | 3171 ± 174.9 |
| L40 | VM334 | 20.0 ± 0.4 | 7.6 ± 1.0 | 244.6 ± 12.9 | 1695 ± 71.7 | 3308 ± 33.5 |
| L41 | VM366 | 18.1 ± 0.3 | 8.9 ± 0.4 | 520.2 ± 13.4 | 2175 ± 65.7 | 4484 ± 50.4 |
| L42 | VM482 | 18.0 ± 0.6 | 12.2 ± 0.5 | 332.1 ± 20.4 | 1874 ± 119.2 | 4151 ± 117.6 |
| L43 | VM483b | 17.2 ± 0.3 | 6.3 ± 0.5 | 198.5 ± 43.1 | 1263 ± 103.0 | 3227 ± 218.1 |
| L44 | VM484 | 17.3 ± 0.4 | 12.5 ± 0.3 | 182.5 ± 12.3 | 1521 ± 109.9 | 4124 ± 185.1 |
| L45 | VM490 | 16.6 ± 1.2 | 10.5 ± 0.8 | 405.6 ± 21.7 | 2159 ± 115.8 | 4502 ± 20.1.5 |
| L46 | VM75 | 15.7 ± 0.4 | 7.7 ± 0.3 | 263.8 ± 21.5 | 1670 ± 93.2 | 4192 ± 153.6 |
| L47 | VM27 | 15.9 ± 0.5 | 8.7 ± 0.7 | 549.2 ± 6.5 | 2315 ± 87.5 | 4286 ± 148.4 |
| L48 | VM245 | 15.0 ± 0.6 | 7.3 ± 0.7 | 586.3 ± 6.3 | 2037 ± 91.9 | 4963 ± 345.7 |
| L49 | VM282 | 18.6 ± 0.2 | 13.7 ± 0.5 | 304.1 ± 8.9 | 1661 ± 146.8 | 4011 ± 227.1 |
| L50 | VM305 | 15.7 ± 0.5 | 10.4 ± 0.6 | 401.4 ± 40.3 | 1917 ± 80.8 | 3647 ± 76.8 |
| L51 | VM327 | 15.4 ± 0.3 | 12.4 ± 0.2 | 451.7 ± 5.8 | 2525 ± 29.8 | 5792 ± 107.3 |
| L52 | VM338 | 17.7 ± 0.7 | 8.6 ± 0.6 | 290.7 ± 46.8 | 2003 ± 96.1 | 3541 ± 81.9 |
| Media | | 16.9 | 9.3 | 377.9 | 1799 | 4440 |
| Min. | | 11.6 | 4.5 | 131.2 | 1102 | 3171 |
| Max. | | 21.9 | 14.6 | 891.6 | 2671 | 6524 |
| b). Maíces control | | | | | | |
| Controles | | Metabolitos | | | | |
| ID | Nombre | Proteínas (mg/gPS) | Aminoácidos (µmol/gPS) | Antocianinas (mg/kgPS) | Fenoles libres (mg/kgPS) | Fenoles totales (mg/kgPS) |
| E31 | Azul semimejorado | 16.8 ± 0.8 | 7.6 ± 0.3 | 273.6 ± 10.0 | 1561 ± 27.5 | 3356 ± 114 |
| E32 | Maíz pozolero | 12.3 ± 0.5 | 10.3 ± 0.4 | 161.9 ± 4.3 | 1308 ± 20.0 | 3058 ± 150 |
| E33 | Maíz pozolero | 14.3 ± 1.1 | 7.1 ± 0.5 | 0.0 ± 1.1 | 1052 ± 11.8 | 2377 ± 117 |
| E34 | Híbrido comercial | 18.7 ± 0.4 | 6.9 ± 0.3 | 0.0 ± 2.8 | 964 ± 42.5 | 2558 ± 93 |
| E35 | Maíz negro | 19.2 ± 0.4 | 18.2 ± 0.4 | 224.1 ± 4.2 | 1369 ± 100.5 | 2585 ± 215 |
| E36 | Maíz negro | 17.4 ± 0.7 | 19.2 ± 0.5 | 214.9 ± 6.1 | 1384 ± 25.7 | 2343 ± 93 |
| E37 | Bofo pinto | 21.7 ± 0.4 | 21.6 ± 1.0 | 93.1 ± 7.2 | 1299 ± 52.6 | 2771 ± 90 |
| E38 | Rojo serrano | 18.2 ± 1.5 | 14.9 ± 1.8 | 67.0 ± 6.9 | 1132 ± 20.2 | 3178 ± 297 |
| E39 | Pinto amarillo | 20.1 ± 0.4 | 6.4 ± 0.5 | 15.6 ± 3.6 | 1161 ± 57.6 | 2169 ± 58 |
| Media | | 17.6 | 12.5 | 116.7 | 1248 | 2710 |
| Min. | | 12.3 | 6.4 | 0.0 | 964 | 2169 |
| Max. | | 21.7 | 21.6 | 273.6 | 1561 | 3356 |
| Estadísticos | | | | | | |
| HSD (0.05) | | 3.1 | 3.1 | 115.1 | 464.1 | 951.1 |
| Genotipo | | *** | *** | *** | *** | *** |

Niveles de proteínas, aminoácidos y compuestos nutraceuticos en el grano de 52 líneas Vitamaíz y 9 genotipos usados como control (promedio ± ee, n=4); genotipo resaltado en amarillo muestra al control que registro el contenido más alto según el metabolito analizado y el resultado en color verde, al híbrido comercial blanco. ANOVA y prueba de Tukey-HSD P≤0.05.

6.4 Caracterización bioquímica de híbridos Vitamaíz.

El grano que es destinado al consumo alimenticio en México siempre es la F2 derivada del cultivo de la semilla híbrida. Debido a esto, es de suma importancia cuantificar y comparar los niveles de metabolitos en el grano de los híbridos seleccionados con maíces criollos pigmentados y comerciales, ya que de esta forma se obtendrá una panorámica del valor nutricional y nutracéutico que se ofrecerá al consumidor final.

6.4.1 Carbohidratos

El contenido de glucosa fue variable de forma significativa ($p < 0.001$) entre los híbridos Vitamaíz y los controles. En la figura 15a se puede observar que los niveles de glucosa entre los híbridos Vitamaíz variaron de 4.7 a 17.5 $\mu\text{mol/gPS}$, mientras que para los controles oscilaron de 6.7 a 12.5 $\mu\text{mol/gPS}$. Aunque en promedio los controles tuvieron una mayor proporción de glucosa (9.1 $\mu\text{mol/gPS}$), cinco de los híbridos Vitamaíz (E01, E02, E03, E25 y E29) fueron superiores al control que registró el mayor contenido de esta hexosa (E31 con 12.5 $\mu\text{mol/gPS}$). En contraparte, los genotipos con los promedios más bajos de glucosa fueron los híbridos azules E14 (5.0 $\mu\text{mol/gPS}$) y E20 (4.8 $\mu\text{mol/gPS}$). Sin embargo, estos no fueron estadísticamente diferentes a los genotipos E34 (Híbrido comercial con 6.8 $\mu\text{mol/gPS}$), E37 (6.7 $\mu\text{mol/gPS}$) y E38 (6.8 $\mu\text{mol/gPS}$), controles que registraron las concentraciones más bajas de este metabolito.

Los niveles de fructosa entre los genotipos analizados variaron significativamente ($p < 0.001$) de 2.2 a 9.3 $\mu\text{mol/gPS}$ (Figura 15b). Basados en los promedios generales (Híbridos Vitamaíz & Controles), el contenido de fructosa de los híbridos Vitamaíz (4.3 $\mu\text{mol/gPS}$) fue ligeramente inferior al grupo constituido por los controles (5.7 $\mu\text{mol/gPS}$). A pesar de esto, el genotipo con el contenido más alto de este azúcar fue el híbrido E01 con 9.3 $\mu\text{mol/gPS}$. Este híbrido fue precedido por sus similares E25 (7.7 $\mu\text{mol/gPS}$), E02 (7.5 $\mu\text{mol/gPS}$), y E03 (7.3 $\mu\text{mol/gPS}$) que estadísticamente mostraron ser similares a los maíces azul semi-mejorado (E31), rojo pozolero (E32), blanco pozolero (E33) y negro tabloncillo (E35), genotipos control con los contenidos más altos de fructosa. En comparación con el híbrido comercial (E34), que registró un contenido promedio de 3.8 $\mu\text{mol/gPS}$ de fructosa, 12 de los híbridos Vitamaíz fueron superiores. Finalmente, los genotipos con los niveles más bajos de fructosa fueron los híbridos E15 (2.2 $\mu\text{mol/gPS}$) y E24 (2.3 $\mu\text{mol/gPS}$).

La variación entre genotipos al respecto de la concentración de sacarosa fue estadísticamente significativa ($p < 0.001$). Con un promedio general de 67.8 $\mu\text{mol/gPS}$, en esta ocasión los híbridos Vitamaíz superaron ligeramente al grupo de controles (Figura 15c). Como se puede observar en la figura 15c, 12 híbridos Vitamaíz estuvieron por encima del híbrido comercial blanco (E34) y del maíz

criollo negro tabloncillo (E35), controles que registraron la mayor concentración de sacarosa. Los híbridos E10 (84.6 $\mu\text{mol/gPS}$) y E13 (82.3 $\mu\text{mol/gPS}$) fueron los genotipos que más destacaron a razón de este disacárido, mientras que el híbrido E28 (40.1 $\mu\text{mol/gPS}$) y el control E32 (40.1 $\mu\text{mol/gPS}$) manifestaron los niveles más pobres.

Las determinaciones de los niveles de almidón entre los genotipos estudiados fluctuaron de manera significativa entre 2587 y 3870 $\mu\text{mol/gPS}$ (Figura 15d). Al igual que en la sacarosa, el promedio general de almidón entre los híbridos Vitamaíz (3252 $\mu\text{mol/gPS}$) fue levemente más alto que el de los controles (2933 $\mu\text{mol/gPS}$). Por otra parte, basados en el control con la mayor concentración de almidón (E34), el 50% de los híbridos mostraron ser superiores a este. Finalmente, el genotipo con la mayor concentración de este polisacárido fue el híbrido E03 (VM496xVM451) (3870 $\mu\text{mol/gPS}$), mientras que aquel con la concentración más baja fue el control amarillo tabloncillo (E39) (2587 $\mu\text{mol/gPS}$).

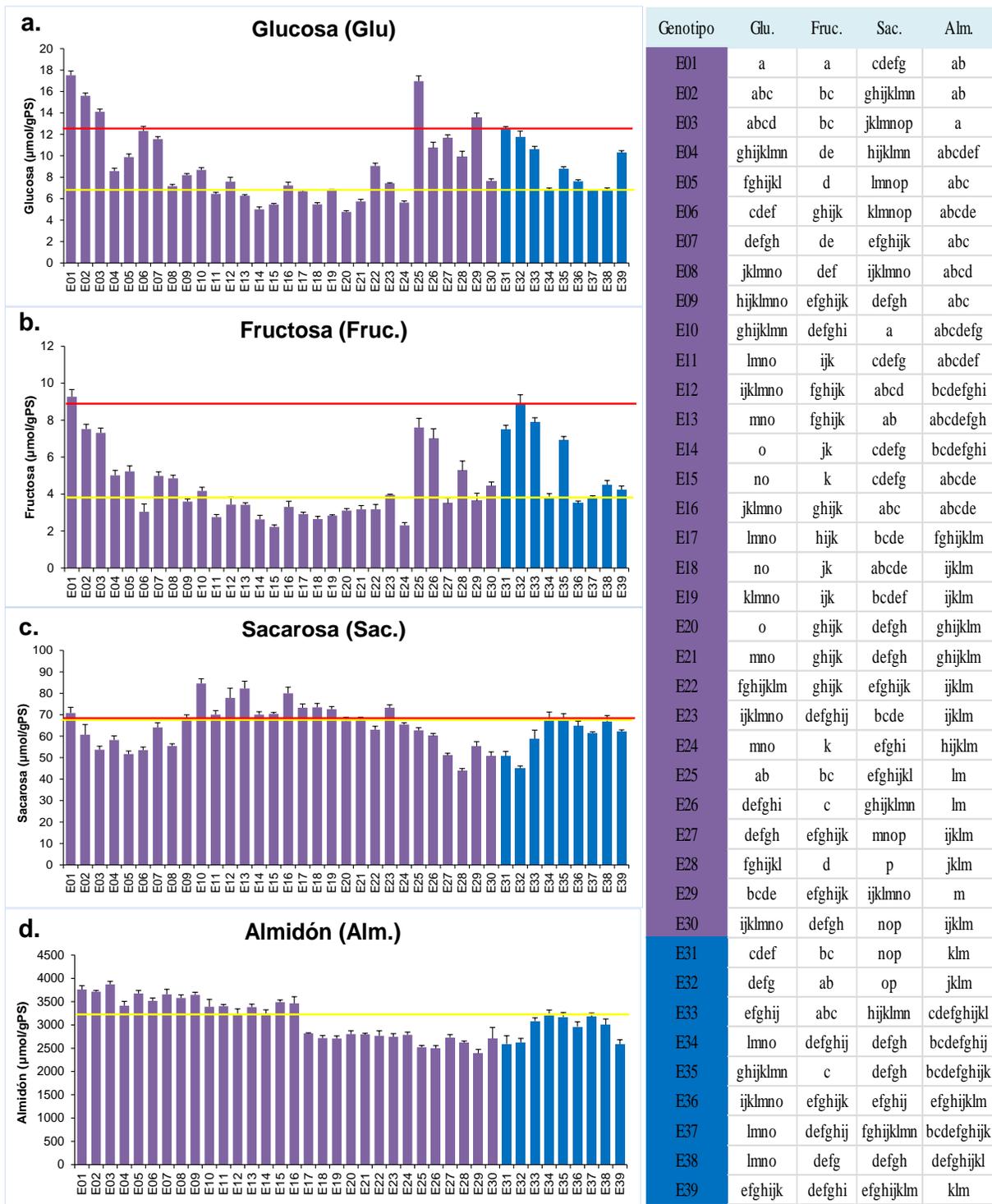


Figura 15. Nivel de carbohidratos en el grano de 30 híbridos Vitamaíz (barras purpuras) y 9 genotipos usados como control (barras azules) (promedio \pm ee, n=4); la línea roja muestra la comparación con el control que registro el contenido más alto según el metabolito analizado y la línea amarilla con el híbrido comercial. ANOVA y prueba de Tukey-HSD $P < 0.05$.

6.4.2 Proteínas y aminoácidos

El contenido de proteínas solubles vario de forma significativa entre los genotipos estudiados ($p < 0.001$). Los niveles de este metabolito fueron de 14.3 a 22.2 mg/kgPS en los híbridos Vitamaíz, mientras que en los controles fueron de 12.6 a 21.6 mg/kgPS (figura 16a). Al realizar el análisis comparativo entre las medias de cada genotipo, se identificó al híbrido E07 (22.2 mg/kgPS) como el genotipo con el mayor contenido de proteínas solubles. Entretanto el maíz criollo rojo pozolero (E32) fue el genotipo con el nivel más bajo de este tipo de proteínas (12.6 mg/kgPS). En relación al control con el mayor nivel de este metabolito (E37 con 21.6 mg/kgPS), el único híbrido que se mostró superior, aunque no de forma significativa, fue el E07. Finalmente, siete de los híbridos Vitamaíz (E01, E03, E05, E07, E09, E12 y E14) fueron ligeramente superiores al híbrido comercial blanco (E34), que registró 18.7 mg/kgPS de proteínas solubles.

En la figura 16b se muestran los niveles de aminoácidos libres contenidos en los diferentes genotipos analizados. Como se puede observar, los maíces control E36 (19.2 μmol de leucina/gPS) y E37 (21.6 μmol /gPS) fueron los genotipos con niveles más altos de aminoácidos. Sin embargo, el híbrido Vitamaíz E30 (18.4 μmol /gPS), alcanzo niveles de aminoácidos libres estadísticamente similares a dicho genotipos. En comparación con el híbrido comercial blanco (E34) que registró una concentración de 6.9 μmol /gPS de aminoácidos, 17 híbridos de maíz azul fueron estadísticamente superiores a este, mientras que solamente cuatro (E04, E20, E25 y E26) se quedaron ligeramente por debajo. Finalmente, los genotipos con los niveles más bajos de estos metabolitos fueron los híbridos E04 (4.9 μmol /gPS), E25 (3.9 μmol /gPS) y E26 (2.6 μmol /gPS).

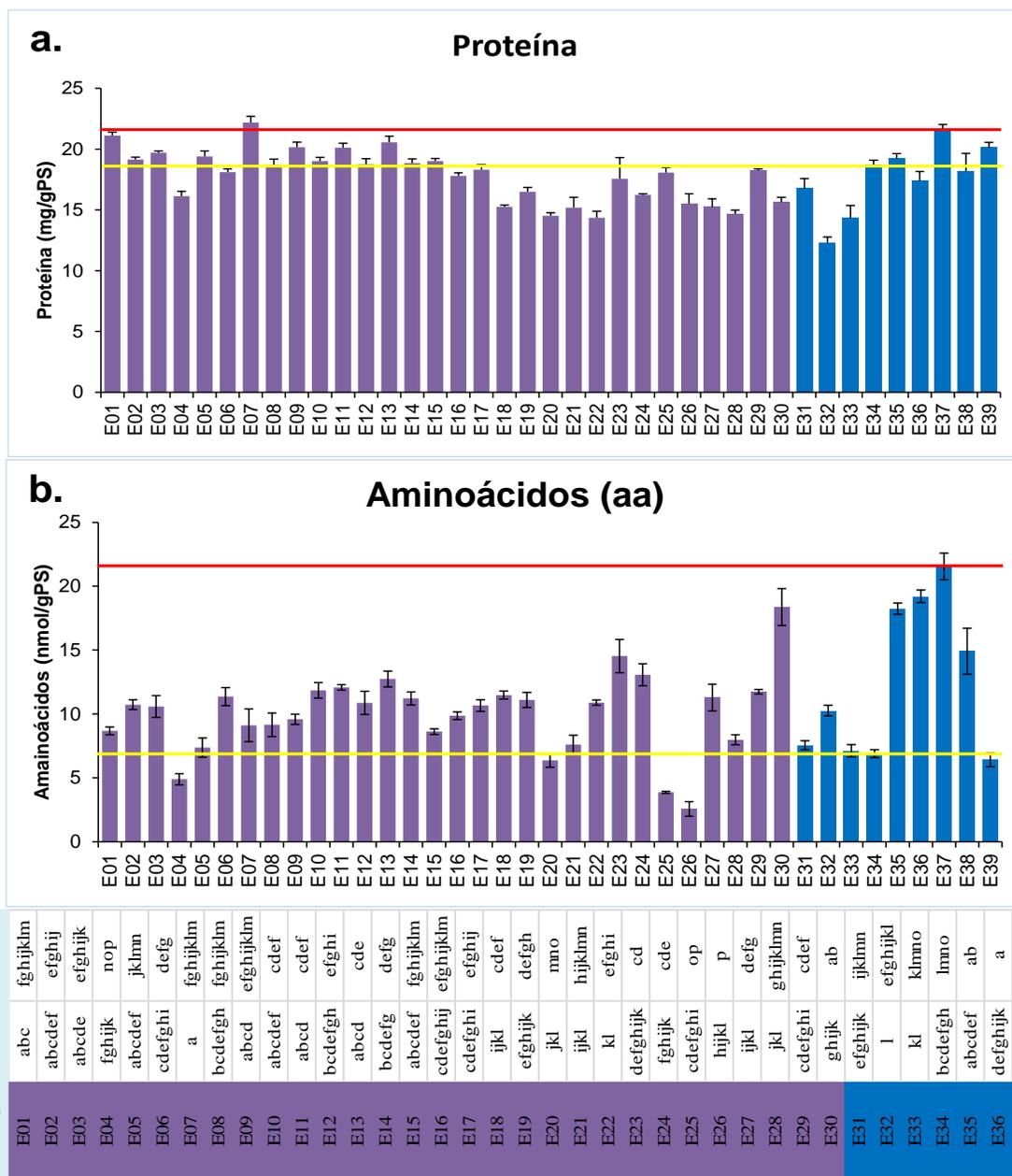


Figura 16. Nivel de proteínas y aminoácidos en el grano de 30 híbridos Vitamaíz (Barras purpura) y 9 genotipos usados como control (Barras azules) (promedio \pm ee, n=4); la línea roja muestra la comparación con el control que registro el contenido más alto según el metabolito analizado y la línea amarilla con el híbrido comercial. ANOVA y prueba de Tukey-HSD $P \leq 0.05$.

6.4.3 Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante

En primer lugar y basados en la pigmentación del grano, los genotipos de color azul Vitamaíz (E01 a E30) y los presentes entre los genotipos control (E31, E35 y E36), fueron en su mayoría superiores en los niveles de antocianinas a los genotipos rojos (E32 y E38) y pintos (E37 y E39) (Figura 17 a).

Como se observa en la figura 17a, el contenido de antocianinas entre los híbridos Vitamaíz y los controles pigmentados varió de forma significativa ($p < 0.001$) entre 15.6 y 339.3 mg de cianidina clorada/kgPS. Al comparar el promedio de los grupos de maíces analizados, los híbridos Vitamaíz, con una concentración de 227.1 mg/kgPS de antocianinas, resultaron superiores a los controles que alcanzaron un nivel de 165.5 mg/kgPS. En relación a los maíces pigmentados, la concentración más elevada de este metabolito se encontró en el híbrido Vitamaíz E26 (339.3 mg/kgPS), mientras que el genotipo control E39 fue el que presentó el nivel más bajo (15.7 mg/kgPS). Por otra parte, además del híbrido E26, los híbridos E19 (285.5 mg/kgPS), E28 (293.0 mg/kgPS) y E29 (321.0 mg/kgPS) superaron al control que más antocianinas registró en este análisis (E31 con 273.6 mg/kgPS).

En la figura 17b se muestran los niveles de fenoles libres (FL) presentes en los genotipos estudiados. Se puede observar que al igual que en las antocianinas la mayoría de los genotipos de grano azul (incluyendo controles e híbridos Vitamaíz) registraron niveles superiores de estos metabolitos comparados con los genotipos rojos, pintos y blancos (Figura 17b).

La variación de FL entre los híbridos Vitamaíz fue de 1252 a 1820 mg de ácido gálico/kgPS, mientras que en los controles los niveles fluctuaron de 963 a 1561 mg/kgPS. Como se muestra en la figura 17b, un grupo de 9 híbridos Vitamaíz superaron al maíz azul semimejorado (E31), genotipo control con la mayor concentración de FL. Dentro de dicho grupo, los híbridos E05 (1800 mg/kgPS) y E07 (1820 mg/kgPS) fueron los más sobresalientes en relación a estos metabolitos. Mientras que en el lado opuesto, los controles blancos E33 (1052 mg/kgPS) y E34 (963 mg/kgPS) fueron los menos destacados, al registrar los niveles más bajos de FL.

El rango de fenoles totales (FT) entre los 39 genotipos analizados fue de 2169 a 3794 mg de ácido gálico/kgPS (Figura 17c). Al analizar los resultados en base a los grupos, se observa que en promedio los híbridos Vitamaíz (3103 mg/kgPS) superaron ligeramente a los controles (2710 mg/kgPS). En relación a estos metabolitos, el híbrido E06 fue el genotipo más sobresaliente al alcanzar una concentración de 3794 mg/kgPS, mientras que el maíz pinto amarillo (E39) fue el genotipo que menor nivel de FT registró con 2169 mg/kgPS. Al igual que en las antocianinas y los FL, dentro de los controles, el maíz azul semimejorado (E31) fue el que más FT tuvo al registrar una concentración de 3356 mg/kgPS. Sin embargo, al comparar este genotipo con los híbridos Vitamaíz este se vio superado por los genotipos E01 (3509 mg/kgPS), E06 (3694 mg/kgPS), E07 (3578 mg/kgPS), E11 (3523 mg/kgPS), E14 (3580 mg/kgPS), E18 (3516 mg/kgPS) y E29 (3591 mg/kgPS).

La capacidad antioxidante de los híbridos Vitamaíz fue comparada únicamente con el híbrido comercial blanco (E34) y el maíz criollo pinto amarillo (E39) (Figura 17d). Al realizar el análisis de

varianza se detectaron diferencias altamente significativas entre genotipos ($p < 0.001$). Como se muestra en el gráfico 17d, todos los híbridos Vitamaíz superaron a los controles al respecto de esta propiedad nutraceutica, siendo las cruza E13 y E14 las que más destacaron, al registrar los valores más altos de capacidad antioxidante. Por otra parte, en conjunto los híbridos Vitamaíz alcanzaron una capacidad antioxidante 2.2 veces superior al de los maíces control. Estos resultados ponen de manifiesto que los híbridos Vitamaíz permitirían el aumento en las propiedades nutraceuticas en la amplia variedad de productos nixtamalizados, que es su mayoría son elaborados con maíz blanco.



Figura 17. Nivel de compuestos nutraceuticos y capacidad antioxidante en el grano de 30 híbridos Vitamaíz (Barras purpura) y 9 genotipos usados como control (Barras azules) (promedio \pm ee, n=4); la línea roja muestra la comparación con el control que registro el contenido más alto según el metabolito analizado. ANOVA y prueba de Tukey-HSD $P \leq 0.05$.

6.5 Caracterización de las propiedades biofísicas de híbridos Vitamaíz seleccionados

En los híbridos Vitamaíz se analizaron una serie de variables que son de vital importancia principalmente en la industria de la nixtamalización. Dichas variables son el peso hectolítrico (PH), densidad de grano (DG), peso de mil granos (PMG) e índice de flotación (IF). Estas variables, con excepción de la DG, son reguladas por la norma mexicana NMX-FF-034/1-SCFI-2002. Los resultados de estos análisis fueron contrastados con los obtenidos de los diversos controles y los valores especificados por norma, con el fin de clasificar a los nuevos híbridos de maíz azul en base a su posible uso industrial.

6.5.1 Peso hectolítrico

Al realizar el análisis de varianza se detectaron diferencias altamente significativas entre genotipos ($p < 0.001$) en cuanto a su peso hectolítrico (PH). Se identificaron grupos estadísticamente diferentes (HSD $\alpha = 0.05$), dentro de los cuales el híbrido E17 (81.0 kg hL⁻¹) fue el genotipo que mayor PH registró, mientras que los dos maíces pozoleros E32 (65.8) y E33 (65.9) fueron inferiores a todo genotipos (Figura 18a). La norma NMX-FF-034/1-SCFI-2002 especifica que los maíces destinados a la industria de la masa y la tortilla deben poseer como mínimo un peso de 74 kg hL⁻¹ (líneas roja, figura 18a). Basados en este dato los híbridos Vitamaíz (E01 a E30) junto con el híbrido comercial blanco (E34) fueron todos superiores, ya que el rango del PH que registraron varió de 75.4 a 81.0 kg hL⁻¹. En contraparte, todos los maíces criollos junto con el azul semimejorado se quedaron por debajo de lo especificado en la norma (Figura 18a).

6.5.2 Peso de mil granos

En promedio el peso de mil granos (PMG) entre los híbridos Vitamaíz osciló de los 250 a los 393 g, mientras que en los controles la variación fue de 314 a 726 g (Figura 18b). Al realizar el ANOVA correspondiente, se detectaron diferencias muy significativas ($p < 0.001$) entre genotipos. A partir del análisis de comparación de medias se determinó que el genotipos con el menor PMG fue el híbrido E05, mientras que el maíz criollo blanco pozolero (E33) fue estadísticamente superior a todos los genotipos (Figura 18b). Por otro lado, seis híbridos Vitamaíz (E01, E04, E12, E13 y E23), junto con siete de los genotipos controles (E32, E33, E34, E35, E36, E37 y E39) presentaron valores promedio similares a 370 g en el PMG (línea roja, figura 18b), por lo que se considera que cumplen con lo establecido por la norma NMX-FF-034/2-SCFI-2002 que especifica los parámetros requeridos para la molienda en seco y húmedo del grano de maíz.

6.5.3 Índice de flotación

El análisis de varianza realizado en los genotipos estudiados, arrojó diferencias muy significativas ($p < 0.001$) para el índice de flotación (IF). Como se puede apreciar en la figura 18c, con excepción del

híbrido comercial blanco (E34) y el maíz criollo elotero de Sinaloa (E36), el resto de los genotipos control tuvieron un IF superior al de todos los híbridos Vitamaíz. Al realizar la comparación de medias entre genotipos (Prueba de Tukey, HSD $\alpha = 0.05$) se identificaron a los maíces rojo pozolero (E32) y blanco pozolero (E33), como los genotipos con el IF más alto, al registrar más del 99% de granos flotantes, mientras que los híbridos Vitamaíz E01 (5.6%), E07 (4.3%), E17 (4.3%) y E01 (4.0%) obtuvieron los IF más bajos (Figura 18c).

La norma mexicana NMX-FF-034/1-SCFI-2002, específica que los maíces destinados al proceso de nixtamalización deben tener un IF máximo del 40 % (Línea roja, figura 18c). Basados en este dato se puede deducir que 27 de los híbridos Vitamaíz, junto con los controles E34 (híbrido comercial) y E36 (elotero de Sinaloa) cumplen con lo establecido por la norma. Con estos datos se realizó la clasificación de los genotipos evaluados, en muy duros, duros, intermedios, suaves y muy suaves (Tabla 31)

Tabla 31. Clasificación de híbridos Vitamaíz y maíces control en base a la dureza del grano.

| Dureza del grano | Granos flotantes (IF) (NMX-FF-034) | Genotipos |
|--------------------|------------------------------------|--|
| Muy duros | 0-12 | E01, E02, E03, E04, E05, E07, E08, E16, E17 y E26 |
| Duros | 13-37 | E06, E09, E10, E11, E12, E13, E14, E15, E18, E19, E20, E21, E22, E23, E25, E27, E29, E34 y E36 |
| Intermedios | 38-62 | E24, E28 y E30 |
| Suaves | 63-87 | E31, E35, E38 y E39 |
| Muy suaves | 88-100 | E32, E33 y 37 |

6.5.4 Densidad del grano

El análisis de varianza realizado sobre la densidad del grano (DG), mostró diferencias altamente significativas entre genotipos ($p < 0.001$). Los grupos formados por medio de la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) mostraron que los genotipos con mayor DG fueron los híbridos Vitamaíz (E01 a E30) junto con el híbrido comercial (E34) y el elotero de Sinaloa (E36) (Figura 18d). Entretanto los maíces criollos (E32, E33, E35, E36, E37, E38 y E39) y el maíz azul semimejorado (E31) mostraron menor densidad (Figura 18d). De los genotipos analizados, el híbrido E19 fue el que registró una mayor DG con 1.29 g/cm³, mientras que los dos maíces pozoleros E32 y E33 fueron los genotipos con los valores más bajos de esta variable, al registrar 1.09 y 1.12 g/cm³ (Figura 18d).



Figura 18. Características físicas del grano de 30 híbridos simples Vitamaíz (barras purpura) y 9 genotipos usados como control (barras azules) (promedio \pm ee, n=3); la línea roja representa el valor establecido por la norma NMX-FF034-2002 según la característica y la línea verde muestra el comparativo con el híbrido comercial. ANOVA, prueba de Tukey-HSD $P \leq 0.05$.

6.5.5 Destino industrial y usos factibles de los híbridos Vitamaíz

En la tabla 32 se clasifican los genotipos en función de su posible destino industrial y sus usos potenciales. Esta clasificación se realizó en función de la dureza del grano, ya que es el parámetro más utilizado en México para dicho fin.

Tabla 32. Destino industrial ideal y/o uso potencial en base a características biofísicas del grano de híbridos Vitamaíz y los maíces control.

| Genotipo | | Parámetros biofísicos | | | | Dureza | Usos potenciales (*) e ideal (✓) | | | | |
|----------|----------------------|-----------------------|------------|-------------------------|--------|------------|----------------------------------|----|---|----|-----------|
| ID | Genotipo | PMG (g) | PH (kg/hL) | DG (g/cm ³) | IF (%) | | HN | MT | B | HM | Obt. Alm. |
| E01 | VM451xVM311 | 365 | 1.3 | 77.2 | 4.0 | Muy duros | ✓ | | ✓ | * | |
| E17 | VMLPSF103xVM451 | 343 | 1.3 | 79.0 | 4.3 | | ✓ | | ✓ | | |
| E07 | MzDTP222xVM451 | 314 | 1.3 | 81.0 | 4.3 | | ✓ | | ✓ | | |
| E03 | VM496xVM451 | 328 | 1.3 | 79.3 | 5.7 | | ✓ | | ✓ | | |
| E04 | VM492xVM451 | 363 | 1.3 | 79.2 | 7.0 | | ✓ | | ✓ | * | |
| E05 | MzDTP222xVM311 | 250 | 1.3 | 79.9 | 7.3 | | ✓ | | ✓ | | |
| E16 | MzLPSF86xVM451 | 357 | 1.3 | 80.0 | 8.3 | | ✓ | | ✓ | | |
| E08 | MzDTP411xVM311 | 329 | 1.3 | 78.5 | 11.0 | | ✓ | | ✓ | | |
| E02 | VM496xVM311 | 320 | 1.3 | 78.3 | 11.0 | | ✓ | | ✓ | | |
| E26 | VM490xVM311 | 311 | 1.3 | 79.7 | 11.3 | | ✓ | | ✓ | | |
| E06 | MzDTP222xVM321 | 263 | 1.3 | 77.6 | 13.0 | Duros | ✓ | * | * | | |
| E10 | MzDTP413xVM451 | 321 | 1.3 | 79.0 | 13.7 | | ✓ | * | * | | |
| E13 | MzDTPY1212xVM451 | 393 | 1.3 | 79.3 | 15.3 | | ✓ | * | * | ✓ | |
| E19 | VM254xVM321 | 312 | 1.3 | 78.5 | 16.3 | | ✓ | * | * | | |
| E15 | MzLPSF86xVM321 | 308 | 1.3 | 77.9 | 18.3 | | ✓ | * | * | | |
| E29 | VM327xVM451 | 359 | 1.3 | 79.9 | 18.7 | | ✓ | * | * | | |
| E27 | VM490xVM321 | 278 | 1.3 | 78.0 | 19.3 | | ✓ | * | * | | |
| E09 | MzDTP411xVM321 | 304 | 1.3 | 78.1 | 19.7 | | ✓ | * | * | | |
| E14 | MzLPSF86xVM311 | 332 | 1.3 | 77.4 | 20.7 | | ✓ | * | * | | |
| E36 | Elotero de Sinaloa | 499 | 1.2 | 68.0 | 20.7 | | ✓ | * | * | | |
| E12 | MzDTP831xVM451 | 373 | 1.3 | 79.1 | 21.0 | | ✓ | * | * | ✓ | |
| E23 | VM492xVM451 | 366 | 1.3 | 80.4 | 21.7 | | ✓ | * | * | * | |
| E34 | Hibrido comercial | 500 | 1.3 | 78.5 | 23.3 | | ✓ | * | * | | |
| E21 | VM492xVM311 | 289 | 1.3 | 78.1 | 29.0 | | ✓ | * | * | | |
| E20 | VM321xVM311 | 287 | 1.3 | 78.1 | 29.3 | | ✓ | * | * | | |
| E18 | VM254xVM311 | 282 | 1.3 | 77.1 | 30.3 | | ✓ | * | * | | |
| E25 | VM311xVM451 | 335 | 1.3 | 78.5 | 31.3 | | ✓ | * | * | | |
| E11 | MzDTP831xVM321 | 287 | 1.3 | 77.0 | 33.3 | | ✓ | * | * | | |
| E22 | VM492xVM321 | 291 | 1.3 | 76.7 | 37.7 | | ✓ | * | * | | |
| E30 | VM338xVM311 | 309 | 1.3 | 75.4 | 39.3 | | Interm. | | ✓ | | |
| E24 | VM311xVM321 | 295 | 1.3 | 75.9 | 42.7 | | | ✓ | | | |
| E28 | VM327xVM321 | 297 | 1.2 | 76.5 | 54.7 | | | ✓ | | | |
| E35 | Tabloncillo negro | 466 | 1.2 | 71.0 | 67.7 | | | | ✓ | | ✓ |
| E38 | tabloncillo rojo | 314 | 1.2 | 71.4 | 72.0 | Suaves | | ✓ | | ✓ | |
| E39 | Tabloncillo amarillo | 409 | 1.2 | 71.2 | 79.3 | | | ✓ | | | ✓ |
| E31 | Azil semimejorado | 334 | 1.2 | 73.1 | 84.7 | | | ✓ | | | ✓ |
| E37 | Bofito pinto | 564 | 1.1 | 67.2 | 92.7 | Muy suaves | | | | ✓ | |
| E33 | Pozolero blanco | 726 | 1.2 | 65.9 | 99.3 | | | | | | ✓ |
| E32 | Pozolero rojo | 534 | 1.1 | 65.8 | 100.0 | | | | | | ✓ |

PMG: Peso de mil granos; **DG:** Densidad de grano; **PH:** Peso hectolítrico; **IF:** Índice de flotación; **HN:** Harinas nixtamalizadas; **MT:** Masa y tortilla; **B:** Botanas; **HM:** Hojuelas de maíz; **Obt. Alm:** Obtención de almidón.

7 Discusión

7.1 Caracterización agronómica *per-se* de líneas homocigotas Vitamaíz.

Dentro de los programas de mejoramiento genético de maíz donde se desarrollan líneas endogámicas, se requiere que éstas sean altamente homogéneas, homocigotas y que se reproduzcan para que tengan utilidad como parentales en la generación de híbridos. La obtención y selección de estas líneas se realiza en base a una diversidad de caracteres que impactarán el comportamiento del híbrido (Silva Díaz *et al.*, 2009). Tales características incluyen: potencial de rendimiento en combinaciones híbridas, floración masculina y femenina, madurez, resistencia al acame, calidad de grano y mazorca, resistencia a plagas y enfermedades, altura de planta y mazorca, entre otras (Bejarano *et al.*, 2000). Las líneas homocigotas que darán origen a los híbridos, deben ser caracterizadas y descritas, puesto que la acertada elección de los progenitores, representa el éxito del producto final (Galovich *et al.*, 2006).

Dentro del ambiente en el que se realizaron los experimentos del presente trabajo de tesis se logró detectar una amplia diversidad genética entre las líneas Vitamaíz, la cual se vio reflejada en todos los caracteres evaluados de manera *per-se* (Tablas 11 a la 13). La amplia variabilidad encontrada se debe a que en el proceso de mejoramiento del proyecto Vitamaíz se utilizó un grupo diverso de variedades élite establecidos como fondo genético de las nuevas líneas azules (García Casarrubias, 2012). De las líneas élite que se utilizaron se encuentran genotipos tropicales, subtropicales, de tierras bajas y tierras altas. Los resultados obtenidos son satisfactorios para el programa Vitamaíz, ya que contar con una amplia diversidad de germoplasma y el conocimiento de sus características es de vital importancia para la obtención de híbridos sobresalientes, la generación de nuevas líneas endogámicas y la determinación patrones heteróticos (Hernández *et al.*, 2010; Xia *et al.*, 2005).

En promedio, las líneas Vitamaíz registraron una baja productividad de grano (0.3 a 3.0 t ha⁻¹; Tabla 11). Sin embargo, hubo líneas que sobresalieron al respecto de esta variable (L02, L11, L15, L18, L25 y L32). La baja productividad pudo deberse a las condiciones de estrés por calor que sufrieron las líneas durante su desarrollo, ya que previamente a este trabajo habían sido sembradas solamente durante el ciclo otoño-invierno. Estos resultados son similares a los obtenidos en líneas de maíz en proceso de adaptación a altas temperaturas (Ortega Corona *et al.*, 1996) y tolerancia al estrés hídrico (Adebayo *et al.*, 2014). Por otra parte, las líneas con un amplio grado de endogámica, como en el caso de las líneas Vitamaíz, regularmente registran rendimientos de grano bajos, menor altura de planta y mazorcas más pequeñas, debido a que han llevado un proceso extenso de selección en el cual se ha ido perdiendo la heterosis (Sierra Macias, 2002).

En lo que se refiere a la floración, las líneas Vitamaíz presentaron un intervalo de días que varió de 53 a 69 para la FM y de 53 a 71 en la FF (Tabla 11). Estos resultados corresponden a genotipos adaptados a zonas tropicales según el Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS, 2013). La sincronía entre la FM y la FF (ASI) de las líneas de maíz azul Vitamaíz fue buena, puesto que en la mayoría de los genotipos el ASI entre ambas floraciones fue de un solo día, con un mínimo de cero y un máximo de 3 días (Tabla 11). Esto es muy importante en dos sentidos; en primera, para el buen mantenimiento *per-se* de líneas endogámicas, ya que se reduce la probabilidad de contaminación garantizando la pureza genética; y en segunda, la heredabilidad de este carácter es benéfico para la generación de híbridos con buen rendimiento, ya que se ha correlacionado una mejor productividad de grano con un intervalo menor entre floraciones (Bolaños & Edmeades, 1990).

Es bien sabido que la estructura (Altura de planta y Mazorca) y el aspecto de la planta (Reflejo de senectud y enfermedades) son muy importantes en la selección de los mejores genotipos. Las líneas Vitamaíz registraron una altura de planta que vario de 128 a 197 cm y una altura de mazorca entre 53 y 107 cm, mientras que la relación de altura de planta y mazorca fue de 0.5 en promedio. Los resultados de estas variables indican que las líneas Vitamaíz son de porte bajo según los descriptores establecidos por el SNICS, (2013). Para regiones tropicales los mejores genotipos deben poseer una altura de planta y mazorca baja, debido a que esto está relacionado con una mayor resistencia al acame, además de que se facilita la cosecha mecanizada en híbridos generados con líneas de maíz con porte bajo (Abadassi, 2015). Un menor porte de planta también implica el aumento en la siembra a mayor densidad, lo que es de gran importancia para la generación de híbridos (Sierra Macias, 2002). Finalmente, el aspecto de planta en la mayoría de las líneas Vitamaíz obtuvo valores inferiores a 2.5 (Tabla 12). Esto indica que son genotipos con buen aspecto lo que a su vez refleja una buena sanidad de planta. Lo anterior sugiere que las líneas Vitamaíz se adaptan perfectamente a las condiciones del trópico húmedo en las cuales fueron evaluadas (Sierra Macias, 2002).

De acuerdo con el SNICS, (2013) las dimensiones, peso y número de hileras de las mazorcas provenientes de las líneas Vitamaíz corresponden a la categoría de mazorcas pequeñas (Tabla 13). Estos resultados eran de esperarse puesto que son mazorca provenientes de genotipos homocigotos que han sido sometidos a una serie de autopolinizaciones consecutivas, con lo cual se ha ido perdiendo el vigor híbrido que poseían (Poehlman & Allen Sleper, 2005). Estos resultados indican que en el proceso de búsqueda de endogamia se ha ido progresando con cada autofecundación, logrando mantener características deseadas como mayor pigmentación en el grano y menos segregación de granos blancos o amarillos en los genotipos (Tabla 13). El aspecto de mazorca de las líneas Vitamaíz fue de regular a malo (calificación de 2 a 4.9). Este comportamiento pudo deberse a las altas temperaturas a las que

estuvieron expuestos los genotipos durante el verano, además las condiciones climáticas no fueron favorables, puesto que hubo mucha humedad causada por las lluvias poco antes de la cosecha. Estos dos factores combinados provocaron el aumento de insectos y microorganismos que afectaron el fruto.

7.2 Evaluación del análisis genético de cruzas simples entre líneas Vitamaíz: diseño II de Carolina del Norte.

Las diferencias observadas entre las líneas hembra en sus cruzamientos con respecto al rendimiento de grano y los componentes del rendimiento, es debida a que poseen diferente carga genética (Tabla 14). Esta diversidad genotípica permitió una alta divergencia en cuanto a la habilidad combinatoria de las líneas Vitamaíz con los diferentes machos (probadores). En la interacción Macho x Hembra (M x H), las diferencias encontradas indican que hubo cruzamientos buenos y malos de las hembras con alguno de los machos en específico. El reflejo de esto último se observó en las diferencias de ACE que se obtuvieron en el total de cruzas realizadas. La ausencia de diferencias significativas de los machos en el rendimiento de grano y mazorca, son debidas a una ACG baja pero una alta ACE, lo cual es deseado ya que permite generar cruzamientos específicos sobresalientes y al mismo tiempo identificar patrones heteróticos. Resultados similares a los obtenidos en la presente investigación han sido reportados previamente en diversos estudios en los cuales el objetivo perseguido es estimar la habilidad combinatoria general y específica de nuevo germoplasma introducido a un programa de mejoramiento genético (Fan *et al.*, 2008; Guerrero-Guerrero *et al.*, 2011; Vergara-Avila *et al.*, 2005; Wong Romero *et al.*, 2007).

7.3 Aptitud Combinatoria General

Se sabe que algunas líneas endogámicas tienen capacidad para combinarse con múltiples líneas diferentes y producir progenie híbrida de alto rendimiento (Fan *et al.*, 2008). Este fue el caso de 13 líneas Vitamaíz (hembras) que generaron rendimientos de grano significativamente superiores en sus combinaciones con los tres probadores (machos) (Tabla 16). Este comportamiento se atribuye a que las líneas involucradas obtuvieron los efectos más altos de ACG (Tabla 19), tal y como se ha reportado en otros estudios, donde se ha evaluado la ACG en cruzamientos de prueba (Fan *et al.*, 2008; Guerrero-Guerrero *et al.*, 2011; Vergara-Avila *et al.*, 2005; Wong Romero *et al.*, 2007). Basados en los resultados obtenidos, se puede concluir que en dichas líneas hay una mayor presencia del tipo de acción genética de aditiva en sus cruzamientos. Es decir, que ninguno de los genotipos resulto dominante en la hibridación, ya que en estos casos los genotipos involucrados contribuyeron en igual medida en la productividad del grano.

Las líneas endogámicas de una alta ACG son fácilmente identificados utilizando probadores con baja ACG (Lobato-Ortiz *et al.*, 2010), tal como ocurrió en el presente trabajo, puesto que los machos

utilizados como probadores no manifestaron efectos significativamente altos en su ACG. La utilidad de una línea endogámica está determinada por su contribución genética a la progenie híbrida cuando se cruza con otra línea endogámica. En aquellas líneas en las que la ACG es alta, se considera su uso en la formación de híbridos y sintéticos altamente productivos (Sierra Macias, 2002). Debido a esto último, podemos decir que las 13 líneas Vitamaíz con los efectos más grandes de ACG, tienen un alto potencial para la obtención de variedades híbridas o sintéticas de maíz azul altamente productivos.

Se ha visto que algunas características relacionadas principalmente con la mazorca (LMz, DMz, HMz, etc.) son componentes que pueden afectar positiva o negativamente el rendimiento de grano en una combinación híbrida (Fan *et al.*, 2008). Con base en esto, se estimaron los efectos de la ACG en algunos componentes del rendimiento, con el fin de determinar su relación con la ACG del rendimiento de grano. Los resultados obtenidos mostraron que los efectos de la ACG del rendimiento de grano está determinada por el número de componentes del rendimiento con efectos de ACG similares (Figura 12). Esto significa que si alguna línea posee una alta ACG en el rendimiento de grano, probablemente tendrá una mayor cantidad de componentes con ACG altas, mientras que si los efectos de ACG del rendimiento de grano son bajos o negativos los efectos de la habilidad combinatoria general de los componentes serán afines. Resultados similares a estos han sido presentados previamente por Aly, (2013) y Fan *et al.*, (2008). Las líneas L33 (VM492b) y L51 (VM327) poseen efectos positivos y significativos de ACG sobre la productividad de grano y en todos los componentes del rendimiento (Tabla 19 y Figura 12). Mientras tanto, en las líneas L04 (VM483a) y L38 (VM264q) los efectos de ACG en todas las variables del rendimiento evaluadas fueron negativos. Estos resultados confirmaron que los componentes del rendimiento estuvieron relacionados con el rendimiento de grano en las cruza entre las líneas Vitamaíz (Aly, 2013). Finalmente debido al comportamiento en la habilidad combinatoria general de las líneas L33 y L51, se pueden considerar dentro del programa de mejoramiento Viatamaíz para su uso directo en la generación de nuevos híbridos de maíz azul altamente productivos (Fan *et al.*, 2008; Wong Romero *et al.*, 2007).

7.4 Aptitud Combinatoria Específica y análisis genético en cruzamientos simples

La ACE permite la identificación de cruza específicas altamente productivas, donde los efectos genéticos que dictan el buen comportamiento de cruza específicas son de tipo no aditivo (Hallauer *et al.*, 1988). De los 153 híbridos generados y evaluados en el presente trabajo, 45 manifestaron efectos positivos y significativos de ACE con los diferentes probadores (Tabla 21), de los cuales 10 fueron los más destacados (Tabla 22). Sin embargo, se pudo apreciar que estos últimos no correspondieron en su totalidad a los que registraron los rendimientos más altos de grano (Tabla 22). Estos resultados se deben a la alta ACG causada por las líneas (hembras) y a la buena ACE obtenida por la interacción

entre machos y hembras (cruzas M x H). Esto se vio reflejado en los valores de los cuadrados medios arrojados por el ANOVA a través del diseño II de Carolina de Norte, los cuales fueron altos y significativos para hembras y la interacción M x H (Tabla 14).

Por medio de un análisis genético se confirmó lo anterior descrito, al detectarse que en los cruzamientos con una ACE más alta, los efectos no aditivos fueron los causantes del desempeño productivo que manifestaron (Tabla 23), mientras que en los híbridos con los mejores rendimientos, en su mayoría fue la combinación de efectos aditivos y no aditivos (Tabla 23). Estos resultados indican que la conjunción de la ACG y ACE de las líneas Vitamaíz está jugando un papel muy importante en el desempeño híbrido. Resultados similares han sido reportados previamente en líneas tropicales (Pswarayi & Vivek, 2008) y de tierras bajas (Tamirat *et al.*, 2014) provenientes del CIMMYT, donde la ACG (efectos aditivos) y la ACE (efectos no aditivos), simultáneamente dictaron el comportamiento de desempeño productivo y otras características agronómicas de interés, a través de cruzamientos de prueba.

Estos resultados son positivos y de gran relevancia para el proyecto Vitamaíz, ya el éxito de un programa de mejoramiento genético con énfasis en el desarrollo de líneas endocriadas para la formación de híbridos, dependerá del conocimiento del tipo de acción génica que poseen los materiales con los que se cuenta (De León *et al.*, 1999). Por otra parte, se ha reportado que el mejoramiento por hibridación tendrá mayor éxito si las líneas que se cruzan poseen efectos positivos y altos de ACE y ACG simultáneamente (Reyes López *et al.*, 2004).

7.5 Grupos heteróticos de las líneas Vitamaíz

La ACE y el rendimiento de grano han sido ampliamente utilizadas para la clasificación de grupos heteróticos en maíz. Sin embargo, según el modelo de Griffing, (1956), el promedio del rendimiento de una cruce consiste de los efectos de la ACG y ACE. Al analizar los resultados obtenidos de los efectos de la ACG y ACE de las líneas Vitamaíz (hembras), se observó como ambos efectos se manifestaron de forma diferente con los tres probadores (machos), permitiendo visualizar que líneas combinaron mejor o peor con los probadores (Figura 13). Estos resultados sugieren que los efectos de la habilidad combinatoria general de las líneas Vitamaíz obtenidos con cada probador, deben ser considerados en la clasificación de grupos heteróticos.

Se ha reportado que utilizar el efecto acumulado de la ACG y ACE (HSGCA) ha permitido clasificar nuevas líneas endogámicas en grupos heteróticos por medio de probadores con patrón heterótico conocido (Akinwale *et al.*, 2014; Badu-Apraku *et al.*, 2015; Fan *et al.*, 2009). Esto ocurrió de igual forma en el presente trabajo. Gracias a los efectos de HSGCS 36 líneas Vitamaíz fueron

clasificadas en tres grupos heteróticos distintos (A, B y C). Sin embargo, 16 líneas no pudieron ser agrupadas, esto debido a que poseen un efecto de ACG muy alto que probablemente es ocasionado gracias a que contienen una carga genética distinta a la de los probadores que se utilizaron. (Figura 14a, b y c y tabla 25) (Fan *et al.*, 2008)

7.6 Desempeño agronómico de híbridos promisorios Vitamaíz

En términos generales, la heterosis generada de los cruzamientos entre las nuevas líneas de maíz azul Vitamaíz fue muy variable y al mismo tiempo positiva. El vigor híbrido se vio claramente reflejado en las 30 cruzas seleccionadas, ya que manifestaron mejores características agronómicas, superando por mucho a los rendimientos de grano, así como a los diversos componentes del rendimiento ligados a la mazorca de las líneas endogámicas. Estos resultados eran de esperarse ya que las características de líneas con patrones heteróticos distinto mejoran cuando son cruzadas (Amiruzzaman *et al.*, 2011).

Basados en los parámetros establecidos por el SNICS, dentro de los 30 híbridos Vitamaíz, la ALP (180 a 243 cm) y ALM (93 a 136 cm) correspondieron a variedades con porte que va de mediano a alto (Tabla 27); en cuanto a la floración, la cual varió de 53 a 59 días para FM y de 52 a 61 días para FF (Tabla 27), resultaron ser genotipos precoces para las regiones tropicales cuando se siembran en el ciclo primavera-verano (Coutiño-Estrada *et al.*, 2014); finalmente las medidas de las mazorcas son medianas ya que su longitud fue de 15.1 a 19.1 cm y el diámetro varió de 4.5 a 5.3 cm (Tabla 28). Según estos resultados, variedades que poseen características de este tipo, principalmente del porte de planta y la floración, son ideales para siembras tempranas o tardías en condiciones de riego para regiones tropicales (Coutiño-Estrada *et al.*, 2014; Pswarayi & Vivek, 2008). Características similares a las expresadas por los híbridos Vitamaíz han sido reportadas previamente en cruzamientos de prueba para la obtención de híbridos simples (Tamirat *et al.*, 2014; Wong Romero *et al.*, 2007).

El rendimiento de grano de los híbridos azules Vitamaíz seleccionados varió de 5.3 a 8.9 t ha⁻¹ (Tabla 28). Estos valores doblan y en algunos casos triplican el rendimiento de grano obtenido por las variedades criollas de maíz azul mexicanos, que ha sido estimado entre 2.5 y 3.0 t ha⁻¹ (Antonio-Miguel *et al.*, 2004; Espinosa Trujillo *et al.*, 2010). Comparados con variedades híbridas de grano blanco y amarillo destinados a regiones tropicales (Coutiño-Estrada *et al.*, 2014) (7.0 t ha⁻¹) y subtropicales (Amiruzzaman *et al.*, 2011) (9.0 t ha⁻¹), el desempeño productivo de los híbridos azules Vitamaíz fueron muy similares a estos.

En relación al mejoramiento genético del maíz azul en México, se tienen reportes de variedades híbridas derivadas del pre mejoramiento para regiones altas en las cuales el rendimiento de grano varió

de 4.5 a 8.7 t ha⁻¹ (De la O Olan *et al.*, 2011). Para regiones subtropicales recientemente se reportaron 25 híbridos de maíz azul que generaron rendimientos entre 5.5 y 9.1 t ha⁻¹ (Urias-Peraldí *et al.*, 2013). Contrastados con estos resultados las variedades híbridas Vitamaíz seleccionadas, resultaron ser muy similares, sin embargo, estos han sido desarrollados para regiones tropicales y son los primeros maíces que conjuntan la acumulación de antocianinas y carotenos en el grano de forma simultánea (García Casarrubias, 2012). Este último dato es muy importante, ya que existen relaciones funcionales entre antocianinas y carotenos, debido a que son grupos de moléculas que cumplen una función de pigmentación con capacidad antioxidante (Suwarno *et al.*, 2014; Žilić *et al.*, 2012).

7.7 Caracterización bioquímica de líneas e híbridos Vitamaíz

7.7.1 Carbohidratos solubles

En los genotipos analizados en el presente estudio, la mayoría registró proporciones más elevadas de sacarosa en comparación con la glucosa y la fructosa (Tabla 29 y Figura 15). Por otra parte, los niveles de glucosa fueron hasta dos veces superiores comparados con los de la fructosa. Esta tendencia es normal en genotipos de maíz que no son de grano dulce, ya que al ser la semilla el vertedero metabólico más importante del maíz, con el paso del tiempo los carbohidratos no estructurales van disminuyendo en el grano para formar parte del almidón (Glawischnig *et al.*, 2002).

Por otra parte los carbohidratos solubles son de interés en el grano de maíz debido a su aporte calórico y el sabor que le proporcionan a los productos derivados de este cereal. En el caso de las variedades Vitamaíz, tanto líneas como híbridos mostraron mucha variación en relación a estos metabolitos. Aun así una buena proporción de los genotipos azules mejorados, superaron al híbrido comercial blanco, y los más sobresalientes empataron e inclusive llegaron a sobrepasar al genotipo control pigmentado con los niveles más altos de azúcares solubles. Resultados similares a estos fueron publicados recientemente en diversos híbridos de maíz azul que superaron en 1.0 o casi 3.0% los niveles de azúcares solubles de maíces blancos (Urias-Peraldí *et al.*, 2013). Mientras tanto, en estudios anteriores han mostrado la preferencia por tortillas provenientes del maíz azul debido a que tienen un sabor más dulce y suave en comparación con las tortillas realizadas con maíz blanco (Cortés *et al.*, 2006; Serna-Saldivar *et al.*, 2008). Estos resultados indican que se ha obtenido éxito en la conversión de los genotipos blancos y amarillos a azules, debido a que se está consiguiendo uno de los principales objetivos del proyecto Vitamaíz, que es no afectar de manera negativa el valor nutricional del grano.

7.7.2 Almidón

El almidón es el compuesto individual que representa en mayor proporción la composición del grano de maíz, es por esto que es fundamental conocer su concentración dentro de las variedades

Vitamaíz y compararla con genotipos criollos y comerciales. Los híbridos Vitamaíz registraron el promedio más alto de almidón y en comparación con los otros grupos de genotipos, la diferencia fue más amplia con respecto a las líneas endogámicas que con los maíces control. Se han mostrado estudios en los que típicamente las variedades de maíz azul criollo presentan menor nivel que las variedades no pigmentadas (Hernandez-Uribe *et al.*, 2010). En el presente trabajo dicha tendencia en los resultados no estuvo presente, ya que el híbrido comercial blanco con una concentración de almidón de 3205 $\mu\text{mol/gPS}$ fue muy similar a los niveles obtenidos por los maíces tabloncillos pigmentados y el elotero de Sinaloa. Sin embargo, un grupo de híbridos Vitamaíz los superó aunque no de forma significativa. Estos datos junto con la apariencia cristalina del grano indican que se ha cumplido el objetivo de desarrollar genotipos de maíz azul cristalino que actualmente no son ofertados para la industria de la nixtamalización.

7.7.3 Proteínas solubles y aminoácidos totales libres

Sin duda alguna, las moléculas de mayor importancia nutricional hablando son las proteínas (Castañeda-Sanchez, 2011). Se ha reportado que las proteínas solubles, como la albumina y la globulina se encuentran en un rango de 3.8 a 4.4% en maíces de alta calidad proteica (Serna-Saldivar *et al.*, 2008). Por otra parte, esta fracción proteica, también se caracteriza por contener una mayor proporción de aminoácidos esenciales (Castañeda-Sanchez, 2011). La cuantificación realizada en el presente estudio reveló una mayor proporción de este tipo de proteínas entre los híbridos Vitamaíz, mientras que las líneas endogámicas registraron en promedio el nivel más bajo. En comparación con los controles, los híbridos fueron más similares a los criollos pigmentados aunque no hubo genotipos atípicos que mostraran una amplia superioridad con respecto al híbrido comercial blanco.

En promedio los niveles de aminoácidos solubles totales fueron similares entre líneas e híbridos Vitamaíz con tendencias inferiores entre las líneas. Al compararlos con los maíces control, los genotipos criollos tabloncillos y el elotero de Sinaloa, que poseen pigmentación azul y roja, fueron superiores a la mayoría de las líneas e híbridos Vitamaíz. Sin embargo la mayor parte de las variedades mejoradas del programa Vitamaíz fueron muy superiores a los maíces blancos y de color amarillo. Estos resultados sugieren que las variedades convertidas han mantenido niveles de aminoácidos mejores a las de los maíces blancos, pero más próximas hacia los maíces criollos pigmentados, de los cuales se ha reportado previamente que son nutricionalmente superiores a las variedades comerciales (Del Pozo-Insfran *et al.*, 2006).

7.7.4 Antocianinas

La variación más grande en relación al contenido de antocianinas se presentó en las líneas Vitamaíz (131.1 a 891.6 mg/kgPS) (Tabla 30). Estas tremendas diferencias pueden deberse a un efecto del fondo genético, que de alguna manera se encuentra promoviendo de forma diferente la acción de los genes reguladores de la biosíntesis de antocianinas en las líneas Vitamaíz. Se estima que los genotipos de maíz con niveles promedio entre 6.3 y 400 mg/kgPS de antocianinas, pertenecen al grupo de maíces con concentraciones bajas, los que van de 500 a 1500 mg/kgPS al grupo con niveles intermedios y los de que varían entre 3000 y 10000 mg/kgPS a aquellos de niveles altos (Escalante-Aburto et al., 2013). Basados en estos datos podemos decir que las líneas Vitamaíz contienen niveles de antocianinas que van de bajos a medios. Estos resultados concuerdan con los presentados por Žilić *et al.*, (2012) quienes reportaron un grupo de líneas de maíz azul con niveles de antocianinas que oscilaron entre 139.1 y 696.1 mg/kgPS. En comparación con los maíces control de pigmentación antociana, la mayoría de las líneas mostraron concentraciones de antocianinas superiores, lo cual pone de manifiesto que dentro del programa Vitamaíz existe un amplio potencial para generar híbridos con altos niveles de antocianinas, que igualen o superen a los maíces criollos pigmentados.

Se esperaba que las cruzas seleccionadas como promisorias hubiesen manifestado un efecto heterótico superior en la acumulación de antocianinas, tal y como ocurrió con el rendimiento de grano. Sin embargo no fue así. Este comportamiento se ha manifestado previamente en cruzamientos entre maíces criollos con otras variedades azules, observándose que en la progenie hay una disminución de los niveles de antocianinas con respecto al mejor parental (Salinas Moreno *et al.*, 2010). Estos resultados indican que el rendimiento no está ligado a la acumulación de metabolitos en el grano, por lo que podría facilitar el desarrollo de híbridos que conjuguen las dos características más deseadas para el proyecto Vitamaíz, el buen rendimiento de grano con altos niveles de antocianinas (Suwarno *et al.*, 2014).

Aunque el efecto heterótico de la acumulación de antocianinas no se haya manifestado sobre los híbridos Vitamaíz seleccionados, en promedio estos fueron superiores a los controles con pigmentación azul y roja. Los niveles del metabolito en cuestión variaron de 159 a 339.3 mg/kgPS en los híbridos y fueron comparables con los resultados reportados por De La Parra *et al.*, (2007) y Mora-Rochin *et al.*, (2010) que analizaron diversos genotipos de maíz azul en los cuales encontraron concentraciones de antocianinas entre 196 y 369 mg/kgPS. Sin embargo, nuestros resultados difirieron de los obtenidos de diversos híbridos desarrollados para regiones subtropicales que acumularon entre 273.9 y 782.8 mg/kgPS de antocianinas (Urias-Peraldí *et al.*, 2013).

7.7.5 Fenoles libres y totales

El contenido total de fenoles está compuesto de los fenoles libres y los fenoles ligados, y son uno de los principales contribuyentes de la capacidad antioxidante de los cereales (Urias-Lugo et al., 2014). Los niveles de fenoles totales variaron de 3171 a 6524 mg/kgPS en las líneas endogámicas Vitamaíz y fueron significativamente superiores a la cantidad de fenoles totales presentes tanto en híbridos como en maíces control. Estos resultados son similares a los presentados en diversas líneas de maíz azul donde las concentraciones de estos metabolitos variaron de 4494 a 7352 mg/kgPS (Žilić et al., 2012).

A pesar de no poseer los niveles de fenoles totales similares al de las líneas endogámicas, los híbridos Vitamaíz, con una concentración promedio de 3103 mg/kgPS, fueron ligeramente superiores a los maíces control con pigmentación en el grano y muy superiores al híbrido comercial blanco. Los híbridos generados para regiones subtropicales, reportados por Urias-Peraldí et al., (2013), muestran similitud en sus niveles de fenoles totales con los obtenidos en los híbridos Vitamaíz.

Estos son resultados de relevancia, ya que la variación de compuestos fenólicos distintos a las antocianinas, podría permitir la conjugación de genotipos que incluyan ambas características y aumentar de esa forma el poder antioxidante en el grano.

Los resultados obtenidos de los fenoles libres variaron de 1102 a 2671 mg/kgPS para las líneas endogámicas, de 1252 a 1820 mg/kgPS para los híbridos Vitamaíz y de 964 a 1561 mg/kgPS para los genotipos control. Acorde a estos resultados, los niveles de este tipo de fenoles representaron 40% de los fenoles totales en las líneas e híbridos y el 50% en los controles. Se ha reportado que las concentraciones de fenoles libres en diferentes maíces pigmentados es máximo del 35% (Adom & Liu, 2014; Urias-Lugo et al., 2014). Sin embargo, los resultados del presente trabajo son concordantes con los reportados de la caracterización de 18 razas de maíz criollo mexicanos, las cuales registraron porcentajes de fenoles libres que variaron entre el 40 y el 50% (Lopez-Martinez et al., 2009). Por otra parte, se sabe que el contenido de ácidos fenólicos en maíz incrementa cuando se encuentra en condiciones de estrés ambiental (Santiago & Malvar, 2010), tal y como ocurrió con los genotipos Vitamaíz que fueron cultivados en una región de altas temperaturas.

7.7.6 Capacidad antioxidante

La mayor parte de la producción de tortilla y harinas nixtamalizadas es realizada principalmente con maíces híbridos de grano blanco. Por esta razón la capacidad antioxidante solamente se evaluó entre los híbridos Vitamaíz, el maíz blanco comercial (E34) y un maíz criollo amarillo (E39). Los resultados obtenidos muestran claramente que los híbridos Vitamaíz tuvieron una mayor actividad antioxidante, la cual fue de hasta dos veces superior con respecto al híbrido comercial. Este

comportamiento es debido a la presencia de antocianinas y a las altas concentraciones de ácidos fenólicos en el grano azul (Urias-Lugo *et al.*, 2014). Este comportamiento ha sido ampliamente reportado por diversos investigadores donde han comparado el potencial antioxidante del maíz azul contra los maíces blancos tradicionales (Lopez-Martinez *et al.*, 2009; Žilić *et al.*, 2012).

7.8 Propiedades biofísicas del grano y usos potenciales de los híbridos Vitamaíz

Dentro de la industria de la nixtamalicería en México, existen dos rubros principales, la manufactura de harinas nixtamalizadas y la obtención de masa y tortilla (Salinas-Moreno & Aguilar-Modesto, 2010). En la primera se contemplan principalmente maíces duros y muy duros (IF no mayor al 40%) con peso hectolítrico mayor a 74 kg/hL (NMX-FF-034-2002-SCFI-1, 2002). La mayoría de los híbridos Vitamaíz cumplieron con dichas características y fueron muy similares al del maíz blanco comercial que se utilizó como control en los análisis realizados (Figuras 18a y 18c). Los maíces de este tipo son considerados para la fabricación de harinas nixtamalizadas, debido a que pueden resistir el manejo mecánico al cual son sometidos durante el proceso. También mantienen una humedad entre el 36 y el 42% cuando el grano está nixtamalizado, condición que se logra cuando el maíz es de endospermo duro y retiene bajos porcentajes de pericarpio durante la nixtamalización (Salinas-Moreno & Vazquez- Carrillo, 2003). Por otra parte, y gracias a su dureza, los genotipos Vitamaíz también son ideales para la producción de frituras y botanas, debido a que absorben menor cantidad de aceite que los maíces suaves durante su preparación (Aragón Cuevas *et al.*, 2012; Sahai *et al.*, 2000).

En cuanto a los otros parámetros evaluados, se determinó que los genotipos Vitamaíz poseen un peso de mil semillas correspondiente al de granos medianos (Figura 18b) (Salinas Moreno *et al.*, 2012) y su densidad es considerada como alta (Figura 18d) (Aragón Cuevas *et al.*, 2012). Basados en estos datos y en relación a la norma (NMX-FF-034-2003-SCFI-2, 2003), que establece los parámetros para maíces destinados a la molienda en seco y húmedo, los híbridos Vitamaíz, en especial los de mayor dureza también pueden ser empleados para la producción de hojuelas de maíz, ya que este tipo de industria requiere de genotipos con endospermos córneos de una densidad mayor a 1.2 g/cm³ y con un peso hectolítrico no menor a 76 kg/hL (Agama-Acevedo *et al.*, 2011; Sahai *et al.*, 2000).

Estos resultados junto con la apariencia cristalina del grano indican que cumplió uno de los objetivos del proyecto Vitamaíz que era desarrollar genotipos de maíz azules de grano cristalino que actualmente no se consumen (García Casarrubias, 2012).

En cuanto a los genotipos criollos y al maíz azul semimejorado, se determinó que son maíces de endospermo que va desde suaves (E31, E35, E38 y E39) (IF de 63 a 87%) hasta muy suaves (E32, E33 y E37) (IF de 88 a 100%), además de poseer un PH menor a 74 kg/hL. Basados en estos resultados se

concluye que este tipo de genotipos no tienen la calidad requerida para la obtención de harinas nixtamalizadas ni sus derivados, como las frituras y botanas. No obstante se ha reportado que los maíces suaves son más aceptados por la industria de la masa y la tortilla debido a que el tiempo de cocción que requieren durante la nixtamalización es corto, lo que ayuda a minimizar costos de energía. Por otra parte se ha dicho ampliamente que los maíces suaves producen tortillas de mayor elasticidad y mejor textura. Sin embargo, en un estudio realizado por Salinas-Moreno & Aguilar-Modesto (2010), concluyeron que estos dos parámetros en realidad no se ven afectados por la dureza del grano. Lo que nos lleva a sugerir el uso directo de los híbridos Vitamaíz con textura dura e intermedia para la industria de la masa y la tortilla, con la ventaja de que tendrá un mayor aporte nutracéutico para los consumidores.

Los maíces criollos y el azul semimejorado, también mostraron los pesos de mil semillas más altos y una densidad más baja comparados con los híbridos Vitamaíz. Esto era de esperarse ya que son genotipos de grano grande con endospermo del tipo harinoso. Debido a las propiedades en el grano de este tipo de genotipos, la norma NMX-FF-034-2003-SCFI-2, (2003) específica que pueden ser utilizados para la obtención de almidón y en el caso específico de los pozoleros, también son contemplados para la fabricación de atoles (Aragón Cuevas *et al.*, 2012; Mauricio Sánchez *et al.*, 2004).

8 Conclusiones

La caracterización agronómica y bioquímica de los diversos genotipos de maíz reveló que la diversidad genética presente en las 52 líneas endogámicas Vitamaíz permite la generación de diferentes cruzas y combinaciones híbridas F1s y F2s (variedades híbridas) que conjuntan buenos rendimientos de grano (~8 ton/ha) y buenas características agronómicas, así como un alto valor nutracéutico y con las propiedades físicas requeridas para la industria de la nixtamalización.

En cuanto a los diversos experimentos y parámetros evaluados se hacen las siguientes conclusiones particulares:

1) La amplia variabilidad genética presente dentro de las líneas endogámicas Vitamaíz proviene de los padres recurrentes utilizados del CIMMYT (líneas CML elite de diferentes grupos heteróticos). Esta diversidad se vio reflejada en la expresión fenotípica de los caracteres morfo agronómicos y fisiológicos evaluados tanto en líneas como en híbridos.

2) El porte, aspecto de planta y sanidad foliar manifestado por la mayoría de los genotipos indican su buena adaptación a regiones tropicales y subtropicales (no son tan susceptibles a plagas como los maíces templados de USA y Europa).

3) El análisis con el diseño II de Carolina del Norte permite concluir: a) Que la amplia variación del rendimiento de grano y de los componentes del rendimiento fueron causados principalmente por la influencia de las líneas hembras (ACG de las hembras) y la interacción específica entre ciertos machos y hembras derivada de los cruzamientos (ACE de las cruzas). b) Que los 3 probadores fueron muy similares en su efecto total de heterosis (ACG de los machos), ya que no hubo ninguno macho que fuera significativamente mejor que otro para el rendimiento de grano.

4) En total, 13 líneas Vitamaíz (L11, L13, L23, L24, L25, L26, L27, L29, L30, L31, L33, L45 y L51) manifestaron los efectos más altos de ACG para el rendimiento de grano y mazorca. Dentro de estos genotipos, las líneas L33 y L51 también se destacaron en todos los componentes del rendimiento. Por lo tanto sugerimos el uso de estas líneas para la formación de variedades sintéticas y otros híbridos modificados. También se sugiere usar las dos líneas seleccionadas como machos probadores para generar nuevas cruzas híbridas dentro del programa de mejoramiento Vitamaíz.

5) Se encontró relación entre la ACG del rendimiento de grano y la ACG de los componentes del rendimiento. Esto significa que la productividad de las líneas estuvo influenciada por los caracteres primarios y secundarios del rendimiento (número de mazorcas, tamaño de mazorca, tamaño de grano, etc).

6) Los efectos de ACE permitieron identificar que líneas combinaron de mejor forma con cada uno de los tres probadores. Sin embargo, los efectos más altos de ACE no representaron precisamente a las cruzas con los mejores rendimientos de grano. Es por ello que la selección por ACG y ACE combinada es más importante que la selección solo por ACE.

7) Tanto efectos aditivos (ACG) como no aditivos (ACE) fueron determinantes para los altos rendimientos de grano de las mejores cruzas.

8) El uso combinado de la ACG y ACE (HSGCA) permitió la separación en tres grupos heteróticos de 36 líneas endogámicas. Trece líneas no pudieron ser clasificadas debido a la alta ACG que manifestaron con los tres probadores.

9) El índice de selección aplicado nos permitió identificar 30 híbridos sobresalientes. Dichos híbridos manifestaron buenas características de planta y mazorca, buena sincronía floral, resistencia al acame y una excelente adaptación a las condiciones climáticas en las que fueron evaluadas.

10) El presente estudio es el primero en reportar híbridos de maíz azul con carotenos para regiones tropicales que superan los rendimientos de grano de los maíces criollos azules y al mismo tiempo compiten con sus contrapartes de maíz blanco y amarillo.

11) Los niveles de azúcares solubles en las variedades Vitamaíz en su mayoría mostraron superioridad al maíz blanco comercial, pero con mayor similitud hacia los maíces criollos.

12) Los niveles de proteínas y aminoácidos mostraron mayor similitud con los presentes en los maíces controles pigmentados utilizados en este trabajo.

13) Las líneas Vitamaíz mostraron gran variación genética en los niveles de antocianinas, fenoles libres y fenoles totales.

14) No parece haber un efecto heterótico para la acumulación de antocianinas en el grano. Las líneas y los híbridos tuvieron niveles similares de antocianinas. Se registraron niveles de este metabolito similares a los maíces criollos utilizados como control y a los de diversas accesiones de maíz nativo previamente reportadas.

15) Los altos niveles de fenoles libres y totales, conjugados con las antocianinas, además de la acumulación de carotenoides en algunas variedades Vitamaíz aseguran un efecto fotoquímico (poder nutracéutico) superior al de los maíces blancos utilizados comúnmente en la producción de tortillas.

16) Los granos de Vitamaíz son de tipo cristalino, dentado con alto peso específico, y se distinguen de los criollos que tienen grano harinoso con bajo peso específico. En general, los 30 híbridos Vitamaíz seleccionados mostraron propiedades biofísicas apropiadas para la industria de la tortilla y otros productos derivados de la nixtamalización como harinas nixtamalizadas, frituras y botanas.

9 Perspectivas

- 1) Aumentar semilla de los 30 parentales que generaron las mejores cruzas para la obtención de semilla híbrida F1 nueva y evaluar su desempeño en diferentes zonas agroecológicas de México.
- 2) Realizar nuevas cruzas entre líneas que se clasificaron en diferente y en el mismo grupo heterótico, para entender mejor el fenómeno de heterosis. Combinar eso con una caracterización a nivel genómico y transcriptómico de cada una de las líneas e híbridos Vitamaíz.
- 3) Realizar cruzas recíprocas entre las mejores líneas para evaluar efectos maternos o paternos. Determinar la contribución del genoma del cloroplasto, de la mitocondria y del núcleo para la heterosis. Evaluar parámetros de rendimiento, pero también fenotipos metabólicos. Estudiar si la acumulación de antocianinas también depende de genes extra-nucleares. Estudiar el efecto del fondo genético para la acumulación de antocianinas (cantidad o perfil de antocianinas). Buscando con esto obtener híbridos superiores en la acumulación de antocianinas y buena productividad de grano.
- 4) Realizar un estudio a fondo para la evaluación de los efectos de ACG y ACE enfocado a la acumulación de nutrientes y compuestos nutraceuticos en el grano.
- 5) Se cuenta con SNPs obtenidos de las líneas endogámicas que fueron obtenidas por medio de secuenciación (GBS). Desafortunadamente, el tiempo no alcanzó para que pudieran ser analizadas en el presente trabajo de maestría. Se sugiere realizar un estudio sobre dichos SNPs para determinar a nivel molecular las diferencias existentes entre los genotipos y ver si coinciden con las de los grupos heteróticos establecidos por medio de la ACG y ACE. También se sugiere realizar un análisis de la pérdida de diversidad sobre caracteres de interés en el proyecto. Esto podría permitir, por ejemplo, conocer el grado de homocigosidad conseguido hasta el momento en las líneas NILs.
- 6) Realizar una evaluación sobre de los efectos positivos que tienen en la salud las variedades Vitamaíz crecidas ya sea en Nayarit o en el Bajío. Se sugiere realizar ensayos sobre algún organismo modelo (insectos o ratones), o sobre diversas células de cáncer.
- 7) Los datos obtenidos sobre las líneas endogámicas Vitamaíz pueden servir para generar fichas tecnológicas, un requisito para el registro de nuevas variedades de maíz ante el SNICS.

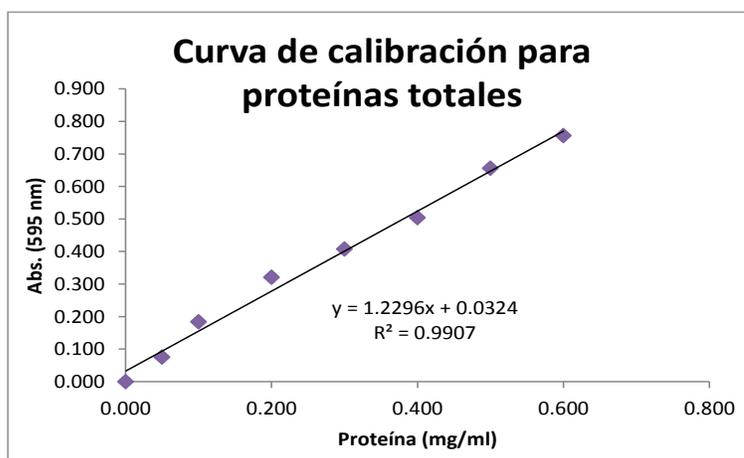
10 Anexos

Anexo 1. Preparación de mezcla degradación almidón.

| | 5 muestras | 25 muestras | 50 muestras | 100 muestras | 200 muestras |
|--|------------|-------------|-------------|--------------|--------------|
| Amilo glucosidasa (Fluka) | 1.7 mg | 8.5 | 17 | 34 | 68 |
| α-amilasa (Sigma) | 2 mg | 10 | 20 | 40 | 80 |
| α-amilasa (Fluka) | 2 mg | 10 | 20 | 40 | 80 |
| Buffer Acetatos (sin dil) | 1 ml | 5 | 10 | 20 | 40 |
| Buffer Acetatos (dil 2:5) | 3.5 ml | 17.5 | 35 | 70 | 140 |

Anexo 2. Curva estándar para la cuantificación de proteínas totales, usando albumina como estándar (BSA).

| BSA (mg/ml) | Abs. (595 nm) |
|-------------|---------------|
| 0 | 0.000 |
| 0.05 | 0.075 |
| 0.1 | 0.184 |
| 0.2 | 0.321 |
| 0.3 | 0.408 |
| 0.4 | 0.504 |
| 0.5 | 0.656 |
| 0.6 | 0.756 |



Anexo 3. Preparación de reactivos para la cuantificación de aminoácidos totales libres

| 1) Ácido cítrico (1M, pH=5.2) + Ácido ascórbico (0.2 %) | | | | |
|---|--------|--------|--------|--------|
| V total (ml) | p/10ml | 40 | 100 | 500 |
| Ácido Cítrico (g) | 2.1014 | 8.4056 | 21.014 | 105.07 |
| Ácido Ascórbico | 20 | 80 | 200 | 1000 |

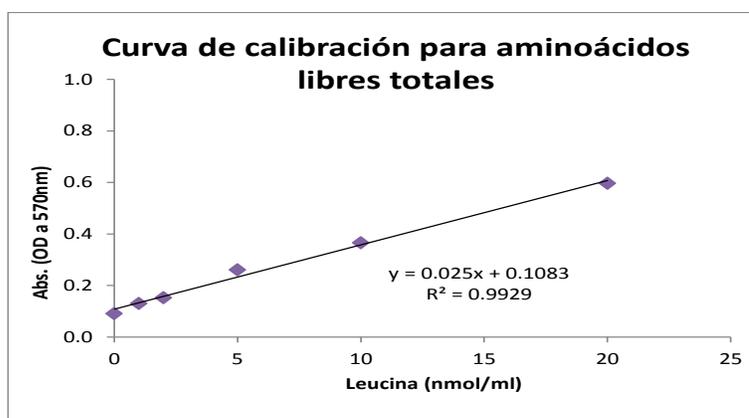
Se ajusta el pH a 5.2 con NaOH al 10 mM en un baño de hielo para bajar la temperatura.

| 2) Ninhidrina 1% en EtOH 70 % | | | | |
|-------------------------------|----|-----|-----|------|
| Ninhidrina (mg) | 50 | 100 | 500 | 1000 |
| Etanol al 70% (ml) | 5 | 10 | 50 | 100 |

| 3) Etanol 50 % | | | | |
|-----------------|-------|-------|--------|--------|
| | 20 ml | 40 ml | 100 ml | 200 ml |
| Etanol 96° (ml) | 10.4 | 20.8 | 52 | 104 |
| Agua (ml) | 9.6 | 19.2 | 48 | 96 |
| 4) Etanol 70 % | | | | |
| | 20 ml | 40 ml | 100 ml | 200 ml |
| Etanol 96° (ml) | 14.3 | 28.5 | 71.25 | 142.5 |
| Agua (ml) | 5.8 | 11.5 | 28.75 | 57.5 |

Anexo 4. Curva estándar para la cuantificación de Aminoácidos totales libres, usando leucina como estándar.

| Leucina (nmol/ml) | Abs. (570 nm) |
|-------------------|---------------|
| 0.0 | 0.091 |
| 2.0 | 0.13 |
| 5.0 | 0.153 |
| 10.0 | 0.261 |
| 15.0 | 0.366 |
| 20.0 | 0.597 |

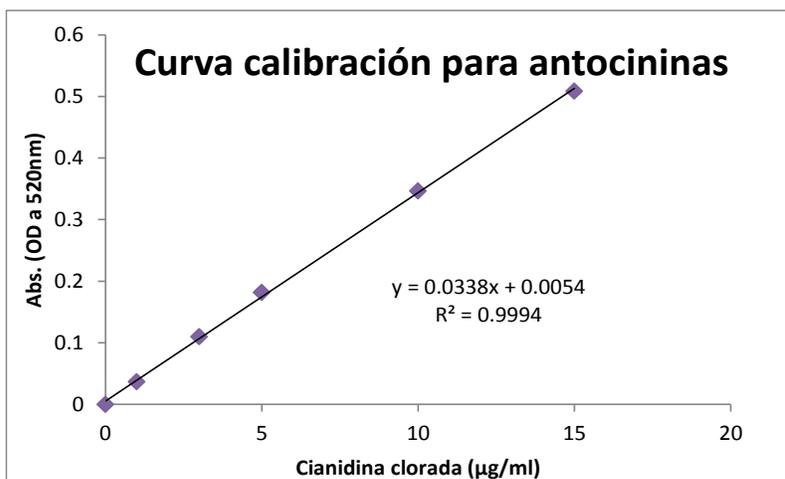


Anexo 5. Preparación del ácido trifluoroacético al 1% para la extracción de antocianinas.

| Reactivo o mezcla | Reactivos específicos | Preparación |
|---|-----------------------|--|
| Metanol al 80% | Metanol (VWR) | Mezclar 80 ml de metanol y 20 ml de agua desionizada |
| Ácido trifluoroacético (TFA) al 1% en metanol al 80% con pH 1.4 | TFA (Sigma-Aldrich) | Mezclar 1 ml de TFA con 90 ml de metanol al 80% en un matraz volumétrico de 100 ml. Ajustar el pH a 1.4 con HCl. |

Anexo 6. Curva de calibración para la cuantificación de antocianinas totales, usando cianidina clorada como estándar.

| Cianidina clorada (µg/ml) | Abs. (595 nm) |
|---------------------------|---------------|
| 0.0 | 0.000 |
| 1.0 | 0.036 |
| 3.0 | 0.110 |
| 5.0 | 0.182 |
| 10.0 | 0.347 |
| 15.0 | 0.509 |

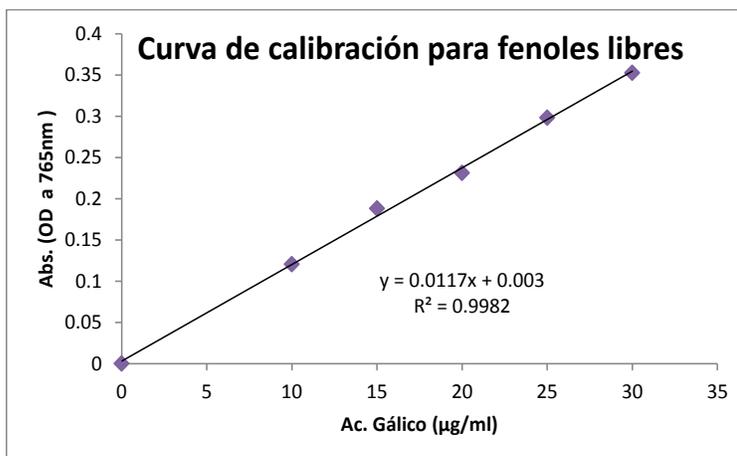


Anexo 7. Reactivos requeridos para la determinación de fenoles libres y totales.

| Reactivo o mezcla | Reactivos específicos | Preparación | Recomendaciones |
|--|---------------------------------|---|--|
| Metanol al 50% | Metanol (VWR) | Mezclar 250 ml de agua desionizada y 250 ml de metanol | Mantener a 4°C |
| CHI 1.2 M en metanol absoluto | Ácido clorhídrico (Faga Lab) | 10 ml de HCl en matraz volumétrico de 100 ml y aforar con metanol absoluto | Mantener a 4°C |
| Reactivo Folin Ciocalteu 25% | Folin Ciocalteu (Sigma-Aldrich) | Mezclar 2.5 ml del F-C 2N y 7.5 ml de agua desionizada y agitar en vortex | Preparar al instante protegiéndolo de la luz y dejarlo en hielo. |
| Na ₂ CO ₃ 400 mM | Carbonato de sodio (Faga-Lab) | Disolver 4.25 g de Na ₂ CO ₃ (99.9%) en 100 ml de agua desionizada. | Que este bien disuelto y prepararlo cada semana |
| Solución concentrada de ácido gálico | Ácido gálico (Sigma-Aldrich) | Disolver 10 mg de ácido gálico en 100 ml de metanol al 50% | Protegerlo de la luz y mantenerlo a 4°C. |

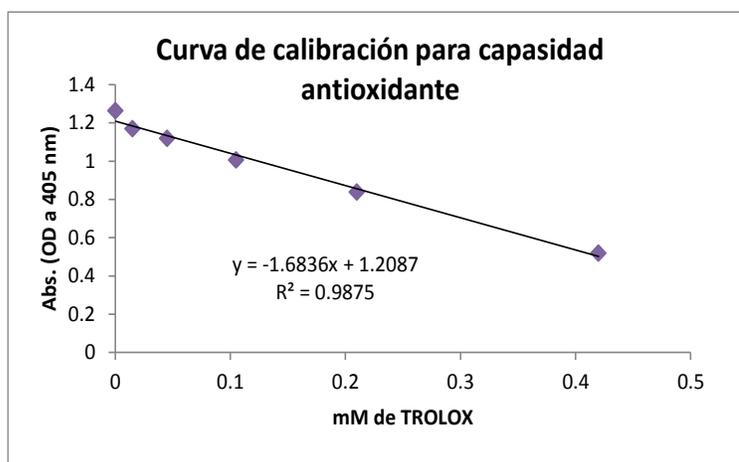
Anexo 8. Curva de calibración para la cuantificación de fenoles libres y totales, usando ácido gálico como estándar.

| Ácido gálico (µg/ml) | Abs. (595 nm) |
|----------------------|---------------|
| 0.0 | 0 |
| 10.0 | 0.121 |
| 15.0 | 0.188 |
| 20.0 | 0.231 |
| 25.0 | 0.298 |
| 30.0 | 0.353 |



Anexo 9. Curva de calibración para la evaluación de capacidad antioxidante, usando TROLOX como estándar.

| mM de TROLOX | Abs. (405 nm) |
|--------------|---------------|
| 0.0 | 1.263 |
| 0.015 | 1.169 |
| 0.045 | 1.118 |
| 0.105 | 1.005 |
| 0.210 | 0.838 |
| 0.420 | 0.518 |



Anexo 10. Resultados de los análisis de varianza (ANOVA) realizados sobre las características agronómicas de las líneas Vitamaíz.

| Parámetro | F de V | G de L | Suma de cuadrados | Cuadrados medios | Valor F | Pr(>F) | Significancia |
|---------------------------|----------|--------|-------------------|------------------|---------|----------|---------------|
| Floración | | | | | | | |
| FM | Genotipo | 51 | 1106.1 | 21.6 | 11.6 | 2.2e-16 | *** |
| FF | | | 1107.9 | 21.7 | 10.1 | 1.16e-13 | *** |
| ASI | | | 64.3 | 1.2 | 2.1 | 0.006 | ** |
| Rendimiento | | | | | | | |
| RG | Genotipo | 51 | 236.3 | 4.6 | 18.7 | 2.2e-16 | *** |
| RM | | | 369.2 | 7.2 | 18.7 | 2.2e-16 | *** |
| Vegetativos/Planta | | | | | | | |
| ALP | Genotipo | 51 | 279228 | 5475 | 67.3 | 2.2e-16 | *** |
| ALM | | | 156774 | 3074 | 34.4 | 2.2e-16 | *** |
| ALM/ALP | | | 2.4 | 0.04 | 17.2 | 2.2e-16 | *** |

| | | | | | | | |
|----------------|----------|----|--------|-------|------|-----------|-----|
| HArM | Genotipo | 51 | 165.2 | 3.2 | 6.5 | 2.2e-16 | *** |
| HAbM | | | 242.4 | 4.7 | 8.1 | 2.2e-16 | *** |
| HT | | | 414.4 | 8.1 | 7.6 | 2.2e-16 | *** |
| StayGreen | | | 114645 | 2247 | 4181 | 2.2e-16 | *** |
| Asp P. | | | 30.0 | 0.6 | 25.1 | 2.2e-16 | *** |
| Mazorca | | | | | | | |
| LMz | Genotipo | 51 | 1373 | 26.9 | 10.1 | 2.2e-16 | *** |
| DMz | | | 49.0 | 0.9 | 12.1 | 2.2e-16 | *** |
| HMz | | | 899.3 | 17.6 | 7.2 | 2.2e-16 | *** |
| PMz | | | 206235 | 4043 | 12.3 | 2.2e-16 | *** |
| Asp. Maz | | | 419.3 | 8.2 | 19.8 | 2.2e-16 | *** |
| Maz. Pod | | | 26869 | 526.8 | 3.4 | 1.542e-13 | *** |
| Maz. Seg. | | | 219469 | 4303 | 29.3 | 2.2e-16 | *** |

Anexo 11. Agrupación resultante de la prueba de Tukey (HSD $\alpha = 0.05$) realizada a los datos de rendimiento y floración de las Líneas Vitamaíz.

| Línea | | | Grupos | | | | |
|-------|------------|--------------|-------------|-------------|---------|----------|------|
| ID | Origen | Nombre | RG | RM | FM | FF | ASI |
| L01 | VA13B-L-01 | VM264a | hijklmnop | hijklmnop | bcdef | bcdefgh | d |
| L02 | VA13B-L-02 | VM373 | bcde | bcde | abcde | bcdefg | d |
| L03 | VA13B-L-03 | VM311a | q | q | bcdefg | bcdefgh | d |
| L04 | VA13B-L-04 | VM483a | lmnopq | lmnopq | abcd | abc | abc |
| L05 | VA13B-L-05 | VM343 | jklmnopq | jklmnopq | a | a | abc |
| L06 | VA13B-L-06 | VM254a | ghijklmno | ghijklmno | abcd | abc | abc |
| L07 | VA13B-L-07 | VM494a | ghijklmno | ghijklmno | bcdefg | bcdefgh | cd |
| L08 | VA13B-L-08 | VM495 | cdefgh | cdefgh | abc | bcde | d |
| L09 | VA13B-L-09 | VM349 | nopq | nopq | ghi | hi | bcd |
| L10 | VA13B-L-10 | VM451 | ijklmnopq | ijklmnopq | abcde | bcdefg | d |
| L11 | VA13B-L-11 | VM496 | bcdef | bcdef | abcde | bcdef | bcd |
| L12 | VA13B-L-12 | MzDTPYF65 | defghijklmn | defghijklmn | hi | i | bcd |
| L13 | VA13B-L-13 | VM492a | lmnopq | lmnopq | bcdef | bcdefg | bcd |
| L14 | VA13B-L-14 | MzATF112 | hijklmnopq | ijklmnopq | cdefghi | defghi | bcd |
| L15 | VA13B-L-15 | MzATF512 | bcd | bcd | fghi | ghi | bcd |
| L16 | VA13B-L-16 | MzATF521 | cdefghi | cdefghi | i | i | bcd |
| L17 | VA13B-L-17 | MzATF641 | mnopq | mnopq | bcdefg | bcdefgh | bcd |
| L18 | VA13B-L-18 | MzATF1211 | ab | ab | efghi | efghi | abcd |
| L19 | VA13B-L-19 | MzATF1221 | lmnopq | lmnopq | bcdefgh | defghi | cd |
| L20 | VA13B-L-20 | MzATF1413 | defghijkl | defghijkl | efghi | efghi | bcd |
| L21 | VA13B-L-21 | MzDTPLPS111 | cdefghi | cdefghi | defghi | defghi | bcd |
| L22 | VA13B-L-22 | MzDTPLPS113 | efghijklmno | efghijklmno | bcdefgh | bcdefghi | abc |
| L23 | VA13B-L-23 | MzDTPLPS222 | ghijklmno | ghijklmno | bcdefgh | cdefghi | bcd |
| L24 | VA13B-L-24 | MzDTPLPS4111 | ijklmnopq | ijklmnopq | efghi | fghi | bcd |
| L25 | VA13B-L-25 | MzDTPLPS413 | a | a | efghi | fghi | bcd |
| L26 | VA13B-L-26 | MzDTPLPS831 | nopq | nopq | fghi | ghi | bcd |
| L27 | VA13B-L-27 | MzDTPYTL1212 | defghijk | defghijk | ghi | efghi | a |
| L28 | VA13B-L-28 | Mz491492 | cdefg | cdefg | defghi | defghi | bcd |
| L29 | VA13B-L-29 | MzLPSF86 | defghijklm | defghijklm | ghi | ghi | abcd |
| L30 | VA13B-L-30 | VMLPSF103 | defghijklmn | defghijklmn | bcdefgh | defghi | cd |
| L31 | VA13B-L-31 | VM254b | mnopq | mnopq | abcd | ab | a |
| L32 | VA13B-L-32 | VM321a | abc | abc | bcdef | bcdef | abc |

| | | | | | | | |
|------------|------------|--------|------------|------------|---------|----------|------|
| L33 | VA13B-L-33 | VM492b | defghijk | defghijk | bcdefg | bcdefgh | abc |
| L34 | VA13B-L-34 | VM311b | hijklmnopq | hijklmnopq | bcdefgh | bcdefghi | bcd |
| L35 | VA13B-L-35 | VM491 | fghijklmno | fghijklmno | ab | abcd | d |
| L36 | VA13B-L-36 | VM494b | cdefghi | cdefghi | bcdefgh | cdefghi | abcd |
| L37 | VA13B-L-37 | VM264b | klmnopq | klmnopq | bcde | bcdefg | cd |
| L38 | VA13B-L-38 | VM264q | opq | opq | bcdef | bcdefgh | cd |
| L39 | VA13B-L-39 | VM321b | cdefghijk | cdefghijk | bcdefgh | bcdefghi | abc |
| L40 | VA13B-L-40 | VM334 | ijklmnopq | ijklmnopq | bcdefg | bcdefghi | d |
| L41 | VA13B-L-41 | VM366 | cdefghi | cdefghi | bcdefg | bcdefghi | d |
| L42 | VA13B-L-42 | VM482 | efghijklmn | efghijklmn | bcdefgh | defghi | cd |
| L43 | VA13B-L-43 | VM483b | hijklmno | hijklmno | bcdef | bcdefgh | cd |
| L44 | VA13B-L-44 | VM484 | cdefg | cdefg | bcdefgh | cdefghi | d |
| L45 | VA13B-L-45 | VM490 | hijklmnop | hijklmnop | abcd | abcd | bcd |
| L46 | VA13B-L-46 | VM75 | pq | pq | bcdefg | bcdefg | ab |
| L47 | VA13B-L-47 | VM27 | jklmnopq | jklmnopq | bcdefgh | cdefghi | bcd |
| L48 | VA13B-L-48 | VM245 | opq | opq | hi | i | bcd |
| L49 | VA13B-L-49 | VM282 | cdefghij | cdefghij | bcdefgh | cdefghi | bcd |
| L50 | VA13B-L-50 | VM305 | jklmnopq | jklmnopq | abcde | bcdefg | d |
| L51 | VA13B-L-51 | VM327 | opq | opq | bcdefgh | bcdefgh | abc |
| L52 | VA13B-L-52 | VM338 | ijklmnopq | ijklmnopq | bcdefgh | bcdefgh | a |

RG: Rendimiento de grano; **RM:** Rendimiento de Mazorca; **FM:** Floración masculina; **FF:** Floración femenina; **ASI:** Intervalo entre la floración masculina y masculina.

Genotipos con la misma letra indican igualdad estadística en sus valores promedios de acuerdo a la prueba de Tukey (HSD $\alpha = 0.05$).

Anexo 12. Agrupación resultante de la prueba de Tukey (HSD $\alpha = 0.05$) realizada a los datos de las características de la planta de las líneas Vitamaíz.

| Línea | | | Grupos | | | | | | | |
|-------|------------|--------------|---------|----------|---------|--------------|----------|--------------|-----------|-------|
| ID | Origen | Nombre | ALP | ALM | ALM/ALP | HArM | HAbM | HT | StayGreen | Asp P |
| L01 | VA13B-L-01 | VM264a | pqrs | lmno | fghij | abcdefghijkl | efghij | defghij | d | cd |
| L02 | VA13B-L-02 | VM373 | hijklmn | fghijkl | defghi | abcdefg | abcdefg | abcde | a | ef |
| L03 | VA13B-L-03 | VM311a | hijk | ghijklm | ghij | ghij | hij | ij | h | cd |
| L04 | VA13B-L-04 | VM483a | ijklmno | defgh | bcdef | fghij | bcdefghi | defghij | d | de |
| L05 | VA13B-L-05 | VM343 | opq | fghijk | bcde | abcdefghijkl | abcdefg | abcdef | b | de |
| L06 | VA13B-L-06 | VM254a | t | mno | bcd | bcdefghij | abcde | abcdef | h | de |
| L07 | VA13B-L-07 | VM494a | hijklmn | klmno | ijk | abcdefgh | hij | efghij | i | bc |
| L08 | VA13B-L-08 | VM495 | opq | pqr | lm | a | ghij | abcdefg | h | f |
| L09 | VA13B-L-09 | VM349 | qrs | nop | ghij | cdefghij | hij | ghij | j | bc |
| L10 | VA13B-L-10 | VM451 | rst | r | m | abcdefg | ij | fghij | c | de |
| L11 | VA13B-L-11 | VM496 | nopq | klmno | ghij | abcdefg | hij | defghij | h | ef |
| L12 | VA13B-L-12 | MzDTPYF65 | pqr | klmno | fghij | efghij | j | j | j | bc |
| L13 | VA13B-L-13 | VM492a | hijklm | ghijklmn | ghij | abcde | cdefghi | abcdef | j | cd |
| L14 | VA13B-L-14 | MzATF112 | a | a | cdefgh | abcdefg | abcde | abc | h | de |
| L15 | VA13B-L-15 | MzATF512 | cdefg | bcdefg | defghij | abcdef | efghij | abcdefg | h | cd |
| L16 | VA13B-L-16 | MzATF521 | efgh | fghi | fghij | defghij | efghij | efghij | h | cd |
| L17 | VA13B-L-17 | MzATF641 | abcd | abcdef | efghij | abcdef | defghij | abcdefg | f | de |
| L18 | VA13B-L-18 | MzATF1211 | ab | cdefgh | ijk | abcdefg | ghij | abcdefghijkl | g | de |
| L19 | VA13B-L-19 | MzATF1221 | abcde | ab | bcdefg | abcdefg | cdefghi | abcdefg | i | cd |
| L20 | VA13B-L-20 | MzATF1413 | ghij | a | ab | abcdefghijkl | bcdefgh | abcdefg | j | de |
| L21 | VA13B-L-21 | MzDTPLPS111 | hijkl | fghij | defghi | abcdefghijkl | efghij | defghij | i | de |
| L22 | VA13B-L-22 | MzDTPLPS113 | defgh | abcdef | bcdefg | fghij | defghij | fghij | i | a |
| L23 | VA13B-L-23 | MzDTPLPS222 | ghi | fghijk | efghij | abcdefghijkl | bcdefgh | abcdefgh | i | ab |
| L24 | VA13B-L-24 | MzDTPLPS4111 | fgh | efghi | efghij | abcd | efghij | abcdefg | h | cd |
| L25 | VA13B-L-25 | MzDTPLPS413 | abcdef | abcde | cdefgh | abcdefghijkl | cdefghi | abcdefghijkl | h | de |
| L26 | VA13B-L-26 | MzDTPLPS831 | cdefg | abcd | bcdef | abcdefghijkl | abcdefg | abcdefg | h | cd |
| L27 | VA13B-L-27 | MzDTPYTL1212 | cdefg | defghi | ghij | abcdefg | bcdefgh | abcdef | i | de |
| L28 | VA13B-L-28 | Mz491492 | cdef | abcdef | defghi | abcdefghijkl | bcdefgh | abcdefgh | i | cd |
| L29 | VA13B-L-29 | MzLPSF86 | hijklmn | ijklmno | hijk | abcdefg | ghij | bcdefghij | i | de |

* El anexo 12 continúa en la página siguiente

Continúa y concluye el anexo 12.

| Línea | | | Grupos | | | | | | | |
|-------|------------|-----------|----------|----------|---------|------------|----------|------------|-----------|-------|
| ID | Origen | Nombre | ALP | ALM | ALM/ALP | HArM | HAbM | HT | StayGreen | Asp P |
| L30 | VA13B-L-30 | VMLPSF103 | pqrs | ghijklmn | cdefg | fghij | abcdefg | abcdefghi | j | bc |
| L31 | VA13B-L-31 | VM254b | ijklmno | abcdef | abc | hij | efghij | ghij | f | cd |
| L32 | VA13B-L-32 | VM321a | ijklmno | hijklmn | fghij | abcdefghi | fghij | cdefghij | j | cd |
| L33 | VA13B-L-33 | VM492b | pqrs | nop | ghij | ab | abcdefgh | abcd | j | cd |
| L34 | VA13B-L-34 | VM311b | rst | klmno | cdefghi | bcdefghij | hij | ghij | f | f |
| L35 | VA13B-L-35 | VM491 | lmnop | abc | a | abcdefgh | abc | ab | e | de |
| L36 | VA13B-L-36 | VM494b | ijklmno | defgh | bcdefg | ij | bcdefgh | fghij | d | de |
| L37 | VA13B-L-37 | VM264b | rs | opq | ghijk | ghij | abcdef | abcdefghij | i | bc |
| L38 | VA13B-L-38 | VM264q | st | qr | klm | bcdefghij | abcdefgh | abcdefgh | i | bc |
| L39 | VA13B-L-39 | VM321b | abc | fghijk | jkl | abcdefg | abcdefgh | abcdef | j | ef |
| L40 | VA13B-L-40 | VM334 | cdefg | abcdef | cdefghi | j | abcd | abcdefghi | i | cd |
| L41 | VA13B-L-41 | VM366 | lmnop | ghijklmn | defghi | abcdefghi | bcdefghi | abcdefgh | j | de |
| L42 | VA13B-L-42 | VM482 | mnopq | mno | ijk | fghij | efghij | fghij | j | c |
| L43 | VA13B-L-43 | VM483b | bcdef | abcdef | defghi | abcdefg | ab | a | i | cd |
| L44 | VA13B-L-44 | VM484 | lmnopq | ghijklmn | defghi | cdefghij | abcdefgh | abcdefghi | j | de |
| L45 | VA13B-L-45 | VM490 | klmnop | ghijklmn | defghi | abcde | abcdefg | abcd | j | e |
| L46 | VA13B-L-46 | VM75 | qrs | nop | ghij | abcdefghij | efghij | cdefghij | j | cd |
| L47 | VA13B-L-47 | VM27 | ijklmno | ghijklmn | fghij | abc | abcdefgh | abcd | j | de |
| L48 | VA13B-L-48 | VM245 | ijklmnop | ijklmno | ghijk | hij | ghij | ghij | j | a |
| L49 | VA13B-L-49 | VM282 | klmnop | ijklmno | ghij | ab | abcdefgh | abc | j | de |
| L50 | VA13B-L-50 | VM305 | klmnop | fghijk | cdefg | abcdefghij | a | a | d | e |
| L51 | VA13B-L-51 | VM327 | opq | lmno | ghij | defghij | ij | hij | f | cd |
| L52 | VA13B-L-52 | VM338 | pqrs | ijklmno | defghij | abcdefg | ghij | abcdefghij | j | ef |

ALP: Altura de planta; **ALM:** Altura de mazorca; **ALM/ALP:** Relación altura de mazorca sobre altura de planta; **HArM:** Hojas arriba de la mazorca; **HAbM:** Hojas debajo de la mazorca; **HT:** Hojas totales; **Asp P:** Aspecto de planta

Genotipos con la misma letra indican igualdad estadística en sus valores promedios de acuerdo a la prueba de Tukey (HSD $\alpha = 0.05$).

Anexo 13. Agrupación resultante de la prueba de Tukey (HSD $\alpha = 0.05$) realizada a los datos de las características de la mazorca de las líneas Vitamaíz.

| Línea | | | Grupos | | | | | | |
|-------|------------|--------------|-------------|-------------|--------|---------|--------|--------|--------|
| ID | Origen | Nombre | LMz | DMz | HMz | PMz | Aap Mz | Mz Pod | Mz Seg |
| L01 | VA13B-L-01 | VM264a | defghijklm | abcd | abcd | defgh | cd | cd | efghi |
| L02 | VA13B-L-02 | VM373 | abcdefgh | a | abc | abc | ef | bcd | i |
| L03 | VA13B-L-03 | VM311a | bcdefghijkl | bcdefghij | abcdef | efghij | cd | a | i |
| L04 | VA13B-L-04 | VM483a | abcdefghijk | ijkl | cdefg | defgh | de | bcd | i |
| L05 | VA13B-L-05 | VM343 | lm | klm | g | ij | de | bcd | i |
| L06 | VA13B-L-06 | VM254a | abcdefghij | lm | cdefg | ghij | de | bcd | i |
| L07 | VA13B-L-07 | VM494a | hijklm | bcdefghijk | abcde | efghij | bc | bcd | i |
| L08 | VA13B-L-08 | VM495 | efghijklm | defghijk | bcdefg | defgh | f | bcd | i |
| L09 | VA13B-L-09 | VM349 | ijklm | efghijk | a | ghij | bc | bcd | i |
| L10 | VA13B-L-10 | VM451 | lm | efghijk | bcdefg | fghij | de | bcd | i |
| L11 | VA13B-L-11 | VM496 | abcdef | ijkl | abcdef | abcdef | ef | d | i |
| L12 | VA13B-L-12 | MzDTPYF65 | lm | ghijkl | bcdefg | ghij | bc | bcd | cd |
| L13 | VA13B-L-13 | VM492a | ghijklm | m | fg | j | cd | bcd | ghi |
| L14 | VA13B-L-14 | MzATF112 | efghijklm | abcdefghi | abc | defgh | de | bcd | cd |
| L15 | VA13B-L-15 | MzATF512 | abcdefg | abcdef | a | abcdef | cd | bcd | ghi |
| L16 | VA13B-L-16 | MzATF521 | efghijklm | abcdefgh | abcd | abcde | cd | bcd | fghi |
| L17 | VA13B-L-17 | MzATF641 | bcdefghijk | hijkl | abc | efghij | de | bcd | ghi |
| L18 | VA13B-L-18 | MzATF1211 | abcdefgh | a | abcd | ab | de | bcd | ab |
| L19 | VA13B-L-19 | MzATF1221 | jklm | cdefghijk | abcd | defghij | cd | ab | ghi |
| L20 | VA13B-L-20 | MzATF1413 | abcdefghij | bcdefghijk | abcde | bcdef | de | bcd | i |
| L21 | VA13B-L-21 | MzDTPLPS111 | abcdefghi | bcdefghijk | abcde | bcdef | de | bcd | def |
| L22 | VA13B-L-22 | MzDTPLPS113 | hijklm | abcdefghijk | abcdef | defghij | a | abcd | cde |
| L23 | VA13B-L-23 | MzDTPLPS222 | defghijklm | fghijkl | abcde | defghij | ab | bcd | efg |
| L24 | VA13B-L-24 | MzDTPLPS4111 | abcdef | abcdefghi | abcdef | abcdef | cd | abc | fghi |
| L25 | VA13B-L-25 | MzDTPLPS413 | abcd | abcde | abc | ab | de | bcd | cde |
| L26 | VA13B-L-26 | MzDTPLPS831 | m | abcdefgh | abcdef | efghij | cd | abc | hi |
| L27 | VA13B-L-27 | MzDTPYTL1212 | ab | ab | abcdef | ab | de | bcd | hi |
| L28 | VA13B-L-28 | Mz491492 | abcdef | abc | bcdefg | a | cd | bcd | cde |
| L29 | VA13B-L-29 | MzLPSF86 | abcdefghijk | abcdefghi | abcd | abcdef | de | bcd | hi |

* El anexo 12 continúa en la siguiente página

Continúa y concluye anexo 13.

| Línea | | | Grupos | | | | | | |
|-------|------------|-----------|------------|------------|--------|---------|--------|--------|--------|
| ID | Origen | Nombre | LMz | DMz | HMz | PMz | Asp Mz | Mz Pod | Mz Seg |
| E30 | VA13B-L-30 | VMLPSF103 | hijklm | bcdefghijk | abcd | abcdef | bc | bcd | hi |
| E31 | VA13B-L-31 | VM254b | bcdefghijk | jklm | efg | fghij | cd | bcd | hi |
| E32 | VA13B-L-32 | VM321a | a | abcd | bcdefg | cdefg | cd | bcd | hi |
| E33 | VA13B-L-33 | VM492b | defghijkl | bcdefgh | a | defgh | cd | bcd | ghi |
| E34 | VA13B-L-34 | VM311b | ijklm | bcdefghi | abcd | defghij | f | abcd | fghi |
| E35 | VA13B-L-35 | VM491 | abcdefg | bcdefghijk | abcd | defghi | de | bcd | i |
| E36 | VA13B-L-36 | VM494b | bcdefghijk | abc | abcde | abcd | de | bcd | i |
| E37 | VA13B-L-37 | VM264b | defghijklm | ijkl | cdefg | hij | bc | bcd | i |
| E38 | VA13B-L-38 | VM264q | bcdefghijk | efghijkl | efg | efghij | bc | bcd | a |
| E39 | VA13B-L-39 | VM321b | abc | bcdefg | abcdef | cdefg | ef | bcd | bc |
| E40 | VA13B-L-40 | VM334 | efghijklm | bcdefghijk | ab | efghij | cd | abc | fghi |
| E41 | VA13B-L-41 | VM366 | fghijklm | bcdefghi | defg | defgh | de | d | abc |
| E42 | VA13B-L-42 | VM482 | defghijklm | fghijkl | bcdefg | efghij | c | bcd | efghi |
| E43 | VA13B-L-43 | VM483b | abcd | bcdefghijk | cdefg | defghij | cd | bcd | efgh |
| E44 | VA13B-L-44 | VM484 | cdefghijkl | defghijk | cdefg | defghij | de | bcd | fghi |
| E45 | VA13B-L-45 | VM490 | ab | ijklm | abcdef | defgh | e | bcd | i |
| E46 | VA13B-L-46 | VM75 | defghijklm | hijkl | abc | hij | cd | bcd | i |
| E47 | VA13B-L-47 | VM27 | abcde | ghijkl | a | defgh | de | bcd | hi |
| E48 | VA13B-L-48 | VM245 | defghijklm | ijklm | bcdefg | ghij | a | bcd | abc |
| E49 | VA13B-L-49 | VM282 | cdefghijkl | cdefghijk | bcdefg | defghij | de | bcd | i |
| E50 | VA13B-L-50 | VM305 | hijklm | ijkl | abcde | hij | e | bcd | ghi |
| E51 | VA13B-L-51 | VM327 | klm | klm | abcd | hij | cd | bcd | hi |
| E52 | VA13B-L-52 | VM338 | efghijklm | bcdefghijk | abc | cdefgh | ef | bcd | ghi |

LMz: Longitud de mazorca; **DMz:** Diámetro de mazorca; **HMz:** Hileras de mazorca; **PMz:** Peso de mazorca; **Asp Mz:** Aspecto de mazorca; **Mz Pod:** Mazorcas podridas; **Mz Seg:** Mazorcas segregantes

Genotipos con la misma letra indican igualdad estadística en sus valores promedios de acuerdo a la prueba de Tukey (HSD $\alpha = 0.05$).

Anexo 14. Resultados del análisis de varianza (ANOVA) realizados sobre las características agronómicas de los 30 híbridos seleccionados Vitamaíz.

| Parámetro | F de V | G de L | Suma de cuadrados | Cuadrados medios | Valor F | Pr(>F) | Significancia |
|----------------------------|----------|--------|-------------------|------------------|---------|-----------|---------------|
| Floración | | | | | | | |
| FM | Genotipo | 29 | 202.5 | 6.9 | 279.3 | 2.2e-16 | *** |
| FF | | | 302.7 | 10.4 | 2087 | 2.2e-16 | *** |
| ASI | | | 93.6 | 3.2 | 74.5 | 2.2e-16 | *** |
| Rendimiento Grano | | | | | | | |
| RG | Genotipo | 29 | 129.4 | 4.4 | 1.1 | 0.3468 | NS |
| RM | | | 200.9 | 6.9 | 1.1 | 0.3536 | NS |
| NMP | | | 689.2 | 23.7 | 2.1 | 0.0009 | *** |
| NPP | | | 696.3 | 24.0 | 2.9 | 3.998e-06 | *** |
| Vegetativos/Planta | | | | | | | |
| ALP | Genotipo | 29 | 89247 | 3077 | 7.9 | 2.2e-16 | *** |
| ALM | | | 43093 | 1485 | 5.3 | 1.753e-14 | *** |
| ALM/ALP | | | 0.20987 | 0.007 | 1.8 | 0.006 | ** |
| StayGreen | | | 17368 | 598.9 | 119782 | 2.2e-16 | *** |
| Asp P | | | 18.5 | 0.6 | 127.5 | 2.2e-16 | *** |
| Acame | | | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 1 | NS |
| Rendimiento Forraje | | | | | | | |
| Peso Tallo | Genotipo | 29 | 1858039 | 64070 | 3.9 | 9.53e-10 | *** |
| Peso Hojas | | | 193999 | 6689 | 2.5 | 4.504e-05 | *** |
| Peso Jilote | | | 1286021 | 44346 | 3.0 | 1.454e-06 | *** |
| Peso Planta Total | | | 7532149 | 259729 | 3.4 | 6.039e-08 | *** |
| Mazorca | | | | | | | |
| LMz | Genotipo | 29 | 189.17 | 6.5 | 3.3 | 3.582e-07 | *** |
| DMz | | | 8.4 | 0.3 | 4.0 | 2.469e-09 | *** |
| HMz | | | 252.7 | 8.7 | 3.8 | 1.152e-08 | *** |
| PMz | | | 119214 | 4110 | 3.7 | 2.577e-08 | *** |
| Asp. Maz | | | 25.7 | 0.887 | 177.5 | 2.2e-16 | *** |
| Mz. Pod. | | | 4244 | 146.4 | 2.1 | 0.0021 | ** |
| Mz. Seg. | | | 29519 | 1017 | 16.2 | 2.2e-16 | *** |

11 Bibliografía

- AACC. (1976). *Approved methods of the AACC*. St. Paul Minnesota.
- Abadassi, J. (2015). Maize Agronomic Traits Needed in Tropical Zone. *International Journal of Science, Environment*, 4(2), 371–392. <http://doi.org/10.2135/cropsci2007.06.0326>
- Abdel-Aal, E.-S. M., Young, C., & Rabalski, I. (2006). Anthocyanin Composition in Black , Blue , Pink , Purple , and Red Cereal Grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 4696–4704.
- Acosta-Estrada, B. A., Gutiérrez-Urbe, J. A., & Serna-Saldívar, S. O. (2014). Bound phenolics in foods, a review. *Food Chemistry*, 152, 46–55. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.093>
- Adebayo, M. A., Menkir, A., Blay, E., Gracen, V., & Dan-quaha, E. Y. (2014). Performance-based grouping of adapted and exotic drought- tolerant maize (*Zea mays* L) inbred lines under stressed and non- stressed conditions. *Open Acces*, 59, 115–123.
- Adom, K. K., & Liu, R. H. (2014). Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 3(3), 1713–1718.
- Agama-Acevedo, E., Salinas-Moreno, Y., Pacheco-Vargas, G., & Bello-Pérez, L. A. (2011). Características físicas y químicas de dos razas de maíz azul: morfología del almidón. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 2(3), 317–329. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=263119714002>
- Akinwale, R. O., Badu-Apraku, B., Fakorede, M. A. B., & Vroh-Bi, I. (2014). Heterotic grouping of tropical early-maturing maize inbred lines based on combining ability in *Striga*-infested and *Striga*-free environments and the use of SSR markers for genotyping. *Field Crops Research*, 156, 48–62. <http://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.10.015>
- Aly, R. S. H. (2013). Relationship between Combining Ability of Grain Yield and Yield Components for Some Newly Yellow Maize Inbred Lines Via Line X Tester Analysis. *Alexandria Journal of Agricultural Research*, 58(2), 115–124.
- Amiruzzaman, M., Islam, M. A., Pixley, K. V., & Rohman, M. M. (2011). Heterosis and Combining Ability of CIMMYT's Tropical × Subtropical Quality Protein Maize Germplasm. *International Journal of Sustainable Agriculture*, 3(3), 76–81. <http://doi.org/10.2135/cropsci1992.0011183X003200060036x>
- Angeles-Núñez, J. G., & Tiessen, A. (2010). Arabidopsis sucrose synthase 2 and 3 modulate metabolic homeostasis and direct carbon towards starch synthesis in developing seeds. *Planta*, 232(3), 701–718. <http://doi.org/10.1007/s00425-010-1207-9>
- Antonio-Miguel, M., Arellano-Vázquez, L., De los Sandos-García, G., Miranda-Colín, S., & Mejía-Contreras, J. A. (2004). MAIZE LANDRACES OF CHALQUEÑO RACE BLUE KERNEL. AGRONOMIC TRAITS AND SEED QUALITY. *Fitotecnia*, 27(1), 9–15. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61027102>
- Aragón Cuevas, F., Figueroa Cárdena, J. de D., Flores Zarate, M., Gaytán Martínez, M., & Véles Medina, J. J. (2012). *Calidad industrial de maíces nativos de la sierra sur de Oaxaca* (1st ed.). Oaxaca, México.

- Arellano Vázquez, J. L., Tut Couoh, C., María Ramírez, A., Salinas Moreno, Y., & Taboada Gaytán, O. R. (2003). Maíz azul de los valles altos de México. I. Rendimiento de grano y caracteres agronómicos. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 26(2), 101–107.
- Badu-Apraku, B., Fakorede, M. A. B., Gedil, M., Talabi, A. O., Annor, B., Oyekunle, M., Aderounmu, M. (2015). Heterotic responses among crosses of IITA and CIMMYT early white maize inbred lines under multiple stress environments. *Euphytica*, 206(1), 245–262. <http://doi.org/10.1007/s10681-015-1506-0>
- Barata, C., & Carena, M. J. (2006). Classification of North Dakota maize inbred lines into heterotic groups based on molecular and testcross data. *Euphytica*, 151(3), 339–349. <http://doi.org/10.1007/s10681-006-9155-y>
- Bejarano, A., Segovia, V., & Marin, C. (2000). Evaluación de cruzamientos simples de maíz provenientes de líneas con tres niveles diferentes de endocria. *Agronomía Tropicana*, 50(3), 461–476.
- Ben, M. H., Zuker, A., Weiss, D., & Vainstein, A. (2002). Molecular control of floral pigmentation: Anthocyanins. In *Breeding for Ornamentals: Classical and Molecular Approaches* (pp. 253–270). The Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Betrán, F. J., Bockhol, A. J., & Rooney, L. W. (1993). Edited by. In A. R. Hallauer (Ed.), *Speciality Corns* (2nd ed., pp. 298–306). Boca Raton, FL: CRC Press. [http://doi.org/10.1016/S0376-7361\(09\)70204-3](http://doi.org/10.1016/S0376-7361(09)70204-3)
- Bolaños, J., & Edmeades, G. O. (1990). La importancia del intervalo de la floración en el mejoramiento para la resistencia a sequía en maíz tropical. *Agronomía Mesoamericana*, 1, 45–50.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248–254.
- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M. de L., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., & Galán-Vidal, C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113(4), 859–871. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.001>
- Castañeda-Sanchez, A. (2011). Propiedades nutricionales y antioxidantes del maíz azul (*Zea mays* L.). *Temas Slectos de Ingeniería de Alimentos*, 5(2), 75–83.
- Comstock, R. E., & Robinson, H. F. (1948). The Components of Genetic Variance in Populations of Biparental Progenies and Their Use in Estimating the Average Degree of Dominance. *International Biometric Society*, 4(4), 254–266.
- Cone, K. C. (2007). Anthocyanin synthesis in maize aleurone tissue. In A. Olsen (Ed.), *Plant cell monographs* (pp. 121–139). Berlin: Springer. <http://doi.org/10.1007/7089>
- Cortés, G. A., Salinas, M. Y., Martín-Martínez, E. S., & Martínez-Bustos, F. (2006). Stability of anthocyanins of blue maize (*Zea mays* L.) after nixtamalization of separated pericarp-germ tip cap and endosperm fractions. *Journal of Cereal Science*, 43(1), 57–62. <http://doi.org/10.1016/j.jcs.2005.05.003>
- Coulter, M. C. (2016). Inheritance of aleurone color in maize. *Chicago Journals*, 69(5), 407–425.
- Coutiño-Estrada, B., Gómez-Montiel, N. O., Vázquez-Carrillo, G., & Vidal-Martínez, V. A. (2014). “V-560”, nueva variedad precoz de maíz para regiones tropicales. *Revista Fitotecnia Mexicana*,

37(2), 187–188.

- Das, P. K., Shin, D. H., Choi, S. B., Yoo, S. D., Choi, G., & Park, Y. II. (2012). Cytokinins enhance sugar-induced anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis*. *Molecules and Cells*, *34*(1), 93–101. <http://doi.org/10.1007/s10059-012-0114-2>
- De la O Olan, M., Hernández Casillas, J. M., & Esquivel Esquivel, G. (2011). Utilización de poblaciones nativas de maíz en el premejoramiento. In R. E. Preciado-Ortiz & S. Montes Hernández (Eds.), *Amplitud, mejoramiento, usos y riesgos de la diversidad genética de maíz en México* (pp. 43–57). Chapingo, Estado de México: Sociedade mexicana de fitogenética A.C.
- De La Parra, C., Serna Saldivar, S. O., & Liu, R. H. (2007). Effect of processing on the phytochemical profiles and antioxidant activity of corn for production of masa, tortillas, and tortilla chips. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*(10), 4177–4183. <http://doi.org/10.1021/jf063487p>
- De León, H., Ramírez, E., Martínez, G., Oyervides, A., & De la Rosa, A. (1999). Evaluación de diversos patrones heteróticos en la formación de híbridos de maíz para el bajío mexicano. *Agronomía Mesoamericana*, *10*(1), 31–35.
- Del Pozo-Insfran, D., Brenes, C. H., Serna Saldivar, S. O., & Talcott, S. T. (2006). Polyphenolic and antioxidant content of white and blue corn (*Zea mays* L.) products. *Food Research International*, *39*(6), 696–703. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.01.014>
- Dooner, H. K., & Robbins, T. P. (1991). Genetic and developmental control of anthocyanin biosynthesis. *Annual Rev Genetic*, *25*, 173–199.
- Du, H., Huang, Y., & Tang, Y. (2010). Genetic and metabolic engineering of isoflavonoid biosynthesis. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *86*(5), 1293–1312. <http://doi.org/10.1007/s00253-010-2512-8>
- Escalante-Aburto, A., Ramirez-Wong, B., Torres-Chavez, P. I., Barron-Hoyos, J. M., Figueroa-Cardenas, J. D., & Lopez-Cervantes, J. (2013). Nixtamalización y su efecto en el contenido de antocianinas de maíces pigmentados, una revisión. *Revista Fitotecnia Mexicana*, *36*(4), 429–437. Retrieved from <Go to ISI>://WOS:000328922700009
- Espinosa Trujillo, E. (2008). *Algunos aspectos genéticos y bioquímicos de las antocianinas en poblaciones criollas de maíz de granos pigmentados* (Tesis doctoral). Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Edo. de México, México.
- Espinosa Trujillo, E., Mendoza Castillo, M. del C., Castillo González, F., Ortiz Cereceres, J., & Delgado Alvarado, A. (2010). Aptitud combinatoria de antocianinas y de características agronómicas en poblaciones nativas de maíz pigmentado. *Revista Fitotecnia Mexicana*, *33*(1), 11–19.
- Falcone Ferreyra, M. L., Casas, M. I., Questa, J. I., Herrera, A. L., Deblasio, S., Wang, J., ... Casati, P. (2012). Evolution and expression of tandem duplicated maize flavonol synthase genes. *Frontiers in Plant Science*, *3*, 1–26. <http://doi.org/10.3389/fpls.2012.00101>
- Fan, X. M., Chen, H. M., Tan, J., Xu, C. X., Zhang, Y. D., Luo, L. M., ... Kang, M. S. (2008). Combining abilities for yield and yield components in maize. *Maydica*, *53*(1), 39–46.
- Fan, X. M., Chen, H. M., Tan, J., Xu, C. X., Zhang, Y. M., Huang, Y. X., & Kang, M. S. (2008). A new maize heterotic pattern between temperate and tropical germplasms. *Agronomy Journal*,

100(4), 917–923. <http://doi.org/10.2134/agronj2007.0298>

Fan, X. M., Zhang, Y. M., Yao, W. H., Chen, H. M., Tan, J., Xu, C. X., ... Kang, M. S. (2009). Classifying maize inbred lines into heterotic groups using a factorial mating design. *Agronomy Journal*, 101(1), 106–112. <http://doi.org/10.2134/agronj2008.0217>

FAO. (2015). AMIS market database. Retrieved October 10, 2015, from <http://statistics.amis-outlook.org/data/index.html>

Figuroa Cárdenas, J. de D., Acero Godínez, M. G., Vasco Méndez, N. L., Lozano Guzmán, A., Flores Acosta, L. M., & González-Hernández, J. (2001). Fortificación y evaluación de tortillas de nixtamal. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 51(3), 293–302. Retrieved from http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222001000300013&lng=es&nrm=iso&tlng=es

FIRA. (2015). Panorama Agroalimentario: Maíz. México: FIRA.

Fossen, T., Slimestad, R., & Andersen, O. M. (2001). Anthocyanins from maize (*Zea mays*) and reed canarygrass (*Phalaris arundinacea*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(5), 2318–2321. <http://doi.org/10.1021/jf001399d>

Galicia, L., Miranda, A., Gutiérrez, M. G., Custodio, O., Rosales, A., Ruíz, N., ... Palacios, N. (2012). *Laboratorio de calidad nutricional de maíz y análisis de tejido vegetal: Protocolos de laboratorio 2012*. México, D.F: CIMMYT.

Galovich, V., Drinic Mladenovic, S., Navalusic, J., & Marija, Z. (2006). Characterization methods and fingerprinting of agronomically important crop species. *Genetika*, 38(2), 83–96.

García Casarrubias, A. (2012). *Comparación bioquímica entre líneas de maíz convertidas a azul y su parental recurrente: Proyecto Vitamaíz* (Tesis de maestría). CINVESTAV-IPN, Irapuato, Guanajuato, México.

García Perea, M. A. (2013). *Diversidad, potencial agronómico y de calidad en maíces pigmentados de valles altos de México* (Tesis doctoral). Colegio de postgraduados, Montecillo, Texcoco, Edo. de México, México.

Glawischnig, E., Gierl, A., Tomas, A., Bacher, A., & Eisenreich, W. (2002). Starch biosynthesis and intermediary metabolism in maize kernels. Quantitative analysis of metabolite flux by nuclear magnetic resonance. *Plant Physiology*, 130(4), 1717–1727. <http://doi.org/10.1104/pp.006726>

González, L., Hernández, A., & Alezones, J. (2009). CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LÍNEAS TROPICALES DE MAÍZ (*Zea mays* L.) Y SU RELACIÓN CON LOS PATRONES HETERÓTICOS. *Bioagro*, 21(3), 165–172.

Grajales-García, E. M., Osorio-Díaz, P., Goñi, I., Hervert-Hernández, D., Guzmán-Maldonado, S. H., & Bello-Pérez, L. A. (2012). Chemical composition, starch digestibility and antioxidant capacity of tortilla made with a blend of quality protein maize and black bean. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(1), 286–301. <http://doi.org/10.3390/ijms13010286>

Griffing, B. (1956). Concept of General and Specific Combining Ability in Relation to Diallel Crossing Systems. *Australian Journal of Biological Sciences*, 9(4), 463–493. <http://doi.org/doi:10.1071/B19560463>

Grotewold, E., Drummond, B. J., Bowen, B., & Peterson, T. (1994). The Myb homologous P gene

- controls phlobaphene pigmentation in maize floral organs by directly activating a flavonoid biosynthesis gene subset. *Cell*, 76, 543–553.
- Guerrero-Guerrero, C., Espinoza-Banda, A., Palomo-Gil, A., Gutiérrez-Del Río, E., Zermeño-González, H., & González Castillo, M. P. (2011). Aptitud Combinatoria Del Rendimiento y Sus Componentes En Dos Grupos De Líneas De Maíz. *Agronomía Mesoamericana*, 22(2), 257–267.
- Hagiwara, A., Miyashita, K., Nakanishi, T., Sano, M., Tamano, S., Kadota, T., ... Shirai, T. (2001). Pronounced inhibition by a natural anthocyanin, purple corn color, of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)-associated colorectal carcinogenesis in male F344 rats pretreated with 1,2-dimethylhydrazine. *Cancer Letters*, 171(1), 17–25. [http://doi.org/10.1016/S0304-3835\(01\)00510-9](http://doi.org/10.1016/S0304-3835(01)00510-9)
- Hallauer, A. R., Carena, M. J., & Miranda Filho, J. B. (1988). *Quantative genetics in maize breeding* (2nd ed.). Ames: Iowa state University. <http://doi.org/10.1007/978-1-4419-0766-0>
- Harding, V. J., & Warneford, F. H. S. (1916). The ninhydrin reaction with amino-acid and ammonium salts. *Journal of Biological Chemistry*, 25(2), 319–335.
- Hatayama, M. E. O., Yonekura-S, K., Tanaka, Y., Nishino, T., & Nakayama, T. (2006). Biochemical characterization and mutational studies of a chalcone synthase from yellow snapdragon (*Antirrhinum majus*) flower. *Plant Biotechnology*, 23, 373–378.
- Hernández Casillas, J. M., & Esquivel Esquivel, G. (2004). Rendimiento de grano y características agronómicas en germoplasma de maíz de valles altos de México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 27(Núm. Especiasl 1), 27–31.
- Hernández, A., San Vicente, F., & Figueroa-Ruiz, R. (2010). Evaluación y caracterización de líneas parentales de híbridos de maíz (*Zea mays* L) en tres ambientes de Venezuela. *Interciencia*, 35(4), 290–298.
- Hernandez-Uribe, J. P., Ramos-López, G., Yee-Madeira, H., & Bello-Pérez, L. A. (2010). Physiochemical, rheological and structural characteristics of starch in maize tortillas. *Plant Foods for Human Nutrition*, 65, 152–157.
- Hoshino, A., Morita, Y., Choi, J. D., Saito, N., Toki, K., Tanaka, Y., & Iida, S. (2003). Spontaneous Mutations of the Flavonoid 3'-hydroxylase Gene Conferring Reddish Flowers in the Three Morning Glory Species. *Plant and Cell Physiology*, 44(10), 990–1001. <http://doi.org/10.1093/pcp/pcg143>
- Inglett, G. E. (1970). Corn: Culture, Processing, Products. In *Major Feed and Food Crops in Agriculture and Food Series* (pp. 264–266). Company, The AVI Publishing.
- Jaradat, A. A., & Goldstein, W. (2013). Diversity of maize kernels from a breeding program for protein quality: I. physical, biochemical, nutrient, and color traits. *Crop Science*, 53(3), 956–976. <http://doi.org/10.2135/cropsci2012.07.0437>
- Jing, P. (2006). *Purple Corn Anthocyanins: Chemical Structure, Chemoprotective Activity and Structure / Function Relationships* (PH. D). *Purple corn anthocuanins: Chemical Structure, Chemoprotective Activity and Structure/Function Relationship*. The Ohio State University, Ohio, EUA.
- Jing, P., Noriega, V., Schwartz, S. J., & Giusti, M. M. (2007). Effects of Growing Conditions on Purple Corncob (*Zea mays* L.) Anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55,

8625–8629.

- Johannessen, C. L. (1980). Domestication process of maize continues in Guatemala. *Economic Botany*, 36(1), 84–99.
- Johannessen, C. L., Willson, M. R., & Davenport, W. A. (1970). The domestication of maize: process or event? *Geographical Review*, 60(3), 393–413.
- Kamei, H., Hashimoto, Y., Koide, T., Kojima, T., & Hasegawa, M. (1998). Anti-tumor effect of methanol extracts from red and white wines. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, 13(6), 447–452.
- Keleman, A., Hellin, J., & Flores, D. (2013). Diverse Varieties and Diverse Markets: Scale-related Maize “Profitability Crossover” in the Central Mexican Highlands. *Human Ecology*, 41(5), 683–705. <http://doi.org/10.1007/s10745-013-9566-z>
- Kong, J. M., Chia, L. S., Goh, N. K., Chia, T. F., & Brouillard, R. (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64(5), 923–933. [http://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00438-2](http://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00438-2)
- Lago, C., Cassani, E., Zanzi, C., Landoni, M., Trovato, R., & Pilu, R. (2014). Development and study of a maize cultivar rich in anthocyanins: Coloured polenta, a new functional food. *Plant Breeding*, 133(2), 210–217. <http://doi.org/10.1111/pbr.12153>
- Lapčík, O. (2007). Isoflavonoids in non-leguminous taxa: A rarity or a rule? *Phytochemistry*, 68(22-24), 2909–2916. <http://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.08.006>
- Liu, W., Xu, J., Wu, S., Liu, Y., Yu, X., Chen, J., ... Li, X. (2013). Selective anti-proliferation of HER2-positive breast cancer cells by anthocyanins identified by high-throughput screening. *PLoS ONE*, 8(12), 1–7. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0081586>
- Lobato-Ortiz, R., Molina-Galán, J. D., López-Reynoso, Mejía-Contreras, J. A., & Reyes-López, D. (2010). Criterios para elegir el mejor probador de la aptitud combinatoria general para rendimiento de grano de líneas autofecundadas de maíz. *Agrociencia*, 44, 17–30. Retrieved from <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-77953712092&partnerID=40&md5=24e227a06a1c3dc4f50f9988a5cc5733>
- Lopez-Martinez, L. X., Oliart-Ros, R. M., Valerio-Alfaro, G., Lee, C. H., Parkin, K. L., & Garcia, H. S. (2009). Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *LWT - Food Science and Technology*, 42(6), 1187–1192. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.10.010>
- Malacarne, M. F., & San Vicente G, F. M. (2003). PATRONES HETERÓTICOS DE LÍNEAS TROPICALES BLANCAS DE MAÍZ. *Agronomía Tropical*, 53(4), 32–40. Retrieved from http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X2003000400004&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M., & Tuñón, M. J. (2002). Los flavonoides: Propiedades y acciones antioxidantes. *Nutricion Hospitalaria*, 17(6), 271–278. http://doi.org/10.3305/nutr_hosp.v17in06.3338
- Mauricio Sánchez, R. A., Figueroa Cardenas, J., Taba, S., Reys Vega, M., Rincón Sánchez, F., & Mendoza Galván, A. (2004). Caracterización de accesiones de maíz por calidad de granop y tortilla. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 27(3), 213–222.

- Méndez-Montevalvo, G., Solorza-Feria, J., Velazquez del Valle, M., Gámez-Montiel, N., Paredes-López, O., & Bello-Pérez, L. A. (2005). Composición química y caracterización calorimétrica de híbridos y variedades de maíz cultivadas en México. *Agrociencia*, 39(3), 267–274.
- Moose, S. P., & Mumm, R. H. (2008). Molecular plant breeding as the foundation for 21st century crop improvement. *Plant Physiology*, 147(3), 969–977. <http://doi.org/10.1104/pp.108.118232>
- Mora-Rochin, S., Gutiérrez-Urbe, J. A., Serna-Saldivar, S. O., Sánchez-Peña, P., Reyes-Moreno, C., & Milán-Carrillo, J. (2010). Phenolic content and antioxidant activity of tortillas produced from pigmented maize processed by conventional nixtamalization or extrusion cooking. *Journal of Cereal Science*, 52(3), 502–508. <http://doi.org/10.1016/j.jcs.2010.08.010>
- Nakajima, J. I., Sato, Y., Hoshino, T., Yamazaki, M., & Saito, K. (2006). Mechanistic study on the oxidation of anthocyanidin synthase by quantum mechanical calculation. *Journal of Biological Chemistry*, 281(30), 21387–21398. <http://doi.org/10.1074/jbc.M600303200>
- Newell-McGloughlin, M. (2008). Nutritionally Improved Agricultural Crops. *Plant Physiology*, 147(3), 939–953. <http://doi.org/10.1104/pp.108.121947>
- NMX-FF-034-2002-SCFI-1. (2002). Norma mexicana NMX-FF-034-2002-SCFI-PARTE-1. Productos alimenticios no industrializados para el consumo humano de cereales. Maíz blanco para el proceso alcalino para tortilla de maíz y productos de maíz nixtamalizado-especificaciones y métodos de prueba. México: Dirección general de normas.
- NMX-FF-034-2003-SCFI-2. (2003). Norma mexicana NMX-FF-034-2003-SCFI-PARTE-2. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano de cereales. Maíz amarillo para la elaboración de almidones y derivados. Especificaciones y métodos de prueba. México: Dirección general de normas.
- Ordás, A. (1991). Heterosis in Crosses between American and Spanish Populations of Maize. *Crop Science*, 31(4), 931. <http://doi.org/10.2135/cropsci1991.0011183X003100040018x>
- Ortega Corona, A., Guerrero Herrera, M. de J., Cota Agramont, O., & Preciado Ortiz, R. ernesto. (2011). Situación actual de los maíces nativos y sus parientes silvestres en México. In R. E. Preciado Ortiz & S. Montes Hernández (Eds.), *Amplitud, mejoramiento, usos y riesgos de la diversidad genética de maíz en México* (pp. 15–41). Chapingo, Estado de México: Sociedade mexicana de fitogenética A.C.
- Ortega Corona, A., Valenzuela Vaqlenzuela, J. M., & Cota Agramont, O. (1996). Selección de Líneas de Maíz Tolerantes al Calor y la Sequía para Híbridos Adaptados al Verano Árido y Caliente de los Valles Irrigados del Noroeste de México. In G. O. Edmeades, M. Bänziger, H. R. Mickelson, & C. B. Peña-Valivia (Eds.), *Developing drpught-and low N-tolerant maize* (pp. 426–432). El Batán, México: UNDP World development.
- Pedreschi, R., & Cisneros-Zevallos, L. (2007). Phenolic profiles of Andean purple corn (*Zea mays* L.). *Food Chemistry*, 100(3), 956–963. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.004>
- Petersen, M., Hans, J., & Matern, U. (2010). Biosynthesis of Phenylpropanoids and Related Compounds. *Annual Plant Review*, 40, 182–257. <http://doi.org/10.1002/9781444320503.ch4>
- Petroni, K., Pilu, R., & Tonelli, C. (2014). Anthocyanins in corn: a wealth of genes for human health. *Planta*, 240(5), 901–911. <http://doi.org/10.1007/s00425-014-2131-1>
- Piazza, P., Procissi, A., Jenkins, G. I., & Tonelli, C. (2002). Members of the c1/pl1 regulatory gene

- family mediate the response of maize aleurone and mesocotyl to different light qualities and cytokinins. *Plant Physiology*, 128(3), 1077–1086. <http://doi.org/10.1104/pp.010799>
- Poehlman, J. M., & Allen Sleper, D. (2005). *Mejoramiento genético de las cosechas* (2nd ed.). México: Limusa Wiley.
- Pswarayi, A., & Vivek, B. S. (2008). Combining ability amongst CIMMYT's early maturing maize (*Zea mays* L.) germplasm under stress and non-stress conditions and identification of testers. *Euphytica*, 162(3), 353–362. <http://doi.org/10.1007/s10681-007-9525-0>
- Rabassa, M., Trespalacios, M. del P., Urpi-Sarda, M., Tulipan, S., Zamora-Ros, R., García-Aloy, M., & Andrés-Lacueva, C. (2012). Polifenoles como antioxidantes. In *Antioxidantes en alimentos y salud* (pp. 155–199). Juárez, Chihuahua, México: CLAVE editorial.
- Radicella, J. P., Brown, D., Tolar, L. A., & Chandler, V. L. (1992). Allelic diversity of the maize B regulatory gene: Different leader and promoter sequences of two B alleles determine distinct tissue specificities of anthocyanin production. *Genes and Development*, 6(11), 2152–2164. <http://doi.org/DOI 10.1101/gad.6.11.2152>
- Ramos-Escudero, F., Muñoz, A. M., Alvarado-Ortíz, C., Alvarado, Á., & Yáñez, J. A. (2012). Purple corn (*Zea mays* L.) phenolic compounds profile and its assessment as an agent against oxidative stress in isolated mouse organs. *Journal of Medicinal Food*, 15(2), 206–15. <http://doi.org/10.1089/jmf.2010.0342>
- Rangel-Meza, E., Muñoz Orozco, A., Vazquez-Carrillo, G., Cuevas-Sanchez, J., Merino-Castillo, J., & Miranda-Colín, S. (2004). Nixtamalización, elaboración y calidad de tortilla de maíces de ecatlán, Puebla, México. *Agrociencia*, 38(1), 53–61.
- Reyes López, D., Molina galán, J. D., Oropeza Rosas, M. A., & Moreno Pérez, E. (2004). Cruzas dialélicas entre líneas autofecundadas de maíz derivadas de raza tuxpeño. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 27(1), 49–56.
- Rhoades, M. M. (1952). The effect of the bronze locus on anthocyanin formation in maize. *American Naturalist*, 86, 105–108.
- Sahai, D., Surjewan, I., Buendía, M. O., Rowe, M., & Jackson, D. S. (2000). Dry matter loss during nixtamalization of a white corn hybrid. *Cereal Chem*, 77(2), 254–258.
- Saito, K., & Yamazaki, M. (2002). Biochemistry and molecular biology of the late-stage of biosynthesis of anthocyanin: Lessons from *Perilla frutescens* as a model plant. *New Phytologist*, 155(1), 9–23. <http://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2002.00440.x>
- Sakakibara, H., Honda, Y., Nakagawa, S., Ashida, H., & Kanazawa, K. (2003). Simultaneous Determination of All Polyphenols in Vegetables, Fruits, and Teas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 571–581.
- Salinas Moreno, Y., Aragón Cuevas, F., Ybarra Mondaca, C., Aguilier Villarreal, J., Altunar López, B., & Sosa Montes, E. (2013). Caracterización física y composición química de razas de maíz de grano azul/morado de las regiones tropicales y subtropicales de Oaxaca. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(1), 23–31. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61025678001>
- Salinas Moreno, Y., Cruz Chávez, F. J., Díaz Ortiz, S. A., & Castillo González, F. (2012). Granos de maíces pigmentados de Chiapas, características físicas, contenido de antocianinas y valor nutracéutico. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 35(1), 33–41.

- Salinas Moreno, Y., García Salinas, C., Coutiño Estrada, B., & Vidal Martínez, V. A. (2013). Variabilidad en contenido y tipos de antocianinas en granos de color azul/morado de poblaciones mexicanas de maíz. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(SUPL.3-A), 285–294.
- Salinas Moreno, Y., Soria Ruíz, J., & Espinosa Trujillo, E. (2010). *Aprovechamiento y distribución de maíz azul en el Estado de México*. Inifap. Texcoco, Edo. de México: INIFAP.
- Salinas-Moreno, Y., & Aguilar-Modesto, L. (2010). Efecto de la dureza del grano de maíz (*Zea Mays* L.) sobre el rendimiento y calidad de tortilla. *Ingeniería Agrícola Y Biosistemas*, 2(1), 5–11. <http://doi.org/10.5154/r.inagbi.2010.08.009>
- Salinas-Moreno, Y., Martínez-Bustos, F., Soto-Hernández, M., Ortega-Paczka, R., & Arellano-Vázquez, J. L. (2003). Efecto de la nixtamalización sobre las antocianinas del grano de maíces pigmentados. *Agrocencia*, 37(6), 617–628.
- Salinas-Moreno, Y., & Vazquez-Carrillo, G. (2003). Calidad del maíz para las industrias molinero-tortillera y de harinas nixtamalizadas. In *60 años de investigación al servicio de México* (pp. 61–65). Chapingo, Estado de México: INIFAP.
- Salinas-Moreno, Y., & Vázquez-Carrillo, G. (2006). *Metodologías de análisis de la calidad nixtamalera-tortillera en maíz*. Texcoco, Edo. de México: INIFAP.
- Sanchez, J. J., Stuber, C. W., & Goodman, M. M. Sanchez, G. J. J. (2000). Isozymatic and Morphological Diversity in the Races of Maize of Mexico. *Economic Botany*, 54(1931), 43–59. <http://doi.org/10.1007/BF02866599>
- Santiago, R., & Malvar, R. A. (2010). Role of dehydrodiferulates in maize resistance to pests and diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(2), 691–703. <http://doi.org/10.3390/ijms11020691>
- Scheffler, T. E. (2006). *Evaluation of seven stiff-stalk and five non-stiff-stalk corn populations , hybrids , and SI ' s* (Doctor of Philosophy). Iowa State University, Ames, Iowa, EUA.
- Schijlen, E. G. W. M., Ric De Vos, C. H., Van Tunen, A. J., & Bovy, A. G. (2004). Modification of flavonoid biosynthesis in crop plants. *Phytochemistry*, 65(19), 2631–2648. <http://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.07.028>
- Serna Saldívar, S. O., García Lara, S., & Gutiérrez Uribe, J. A. (2011). Perfil fitoquímico y propiedades nutraceuticas de maíces pigmentados y sus tortillas. In R. ernesto Preciado Ortiz & S. Montes Hernández (Eds.), *Amplitud, mejoramiento, usos y riesgos de la diversidad genética de maíz an México* (pp. 75–95). Chapingo, Estado de México: Sociedade mexicana de fitogenética A.C.
- Serna-Saldivar, S. O., Amaya Guerra, C. A., Herrera Macias, P., Melesio Cuellar, J. L., Preciado Ortiz, R. E., Terron Ibarra, A. D., & Vazquez Carrillo, G. (2008). Evaluation of the lime-cooking and tortilla making properties of quality protein maize hybrids grown in Mexico. *Plant Foods for Human Nutrition*, 63(3), 119–125. <http://doi.org/10.1007/s11130-008-0080-1>
- Shimada, S., Inoue, Y. T., & Sakuta, M. (2005). Anthocyanidin synthase in non-anthocyanin-producing Caryophyllales species. *Plant Journal*, 44(6), 950–959. <http://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2005.02574.x>
- Sierra Macias, M. (2002). *Uso de probadores en la selección de líneas para formar híbridos de maíz* (Tesis doctoral). Universidad de Colima, Tecomán, Colima, México.

- Silva Díaz, W. R., Alfaro Jiménez, Y. J., & Jiménez Aponte, R. J. (2009). Evaluación de las características morfológicas y agronómicas de cinco líneas de maíz amarillo en diferentes fechas de siembra. *Revista Científica UDO Agrícola*, 9(4), 743–755.
- SNICS. (2013). Guía técnica para la descripción varietal: Maíz. Tlanepantla, estado de México: SNICS-SAGARPA.
- Sprangue, G. F., & Tatun, L. A. (1941). General versus specific combining ability in single crosses of corn. *J. Amer. Soc. Agron.*, 34, 923–932.
- Springob, K., Nakajima, J., & Saito, K. (2003). Recent advances in the biosynthesis and accumulation of anthocyanin. *Natural Product Report*, 20, 288–303.
- Suwarno, W. B., Pixley, K. V., Palacios-Rojas, N., Kaeppler, S. M., & Babu, R. (2014). Formation of heterotic groups and understanding genetic effects in a provitamin a biofortified maize breeding program. *Crop Science*, 54(1), 14–24. <http://doi.org/10.2135/cropsci2013.02.0096>
- Tamirat, T., Alamerew, S., Wegary, D., & Menamo, T. (2014). Test Cross Mean Performance and Combining Ability Study of Elite Lowland Maize (*Zea mays* L.) Inbred Lines at Melkassa, Ethiopia. *Advances in Crop Science and Technology*, 02(04), 1–9. <http://doi.org/10.4172/2329-8863.1000140>
- Toufektsian, M.-C., de Lorgeril, M., Nagy, N., Salen, P., Donati, M. B., Giordano, L., ... Martin, C. (2008). Chronic dietary intake of plant-derived anthocyanins protects the rat heart against ischemia-reperfusion injury. *The Journal of Nutrition*, 138(4), 747–752.
- Urias-Lugo, D. A., Heredia, J. B., Serna-Saldívar, S. O., Muy-Rangel, M. D., & Valdez-Torres, J. B. (2014). Total phenolics , total anthocyanins and antioxidant capacity of native and elite blue maize hybrids (*Zea mays* L .). *Journal of Food*. <http://doi.org/10.1080/19476337.2014.980324>
- Urias-Peraldí, M., Gutiérrez-Urbe, J. A., Preciado-Ortiz, R. E., Cruz-Morales, A. S., Serna-Saldívar, S. O., & García-Lara, S. (2013). Nutraceutical profiles of improved blue maize (*Zea mays*) hybrids for subtropical regions. *Field Crops Research*, 141, 69–76. <http://doi.org/10.1016/j.fcr.2012.11.008>
- Utrilla Coello, R. G. (2007). *Caracterización físicoquímica, morfológica y bioquímica de los gránulos de almidón del maíz azul* (Tesis de maestría). Instituto Politécnico Nacional, Yautepec, Morelos, México.
- Vázquez-Carrillo, M. G., Guzmán-Báez, L., Andrés-García, J. L., Márquez-Sánchez, F., & Castillo-Merino, J. (2003). Calidad de grano y tortillas de maíces criollos y sus retrocruzas. *Revista Fitotecnica Mexicana*, 26(4), 231–238.
- Vergara-Avila, N., Rodríguez-Herrera, S. A., & Córdova-Orellano, H. S. (2005). APTITUD COMBINATORIA GENERAL Y ESPECÍFICA DE LÍNEAS DE MAÍZ (*Z ea mays*) TROPICAL Y SUBTROPICAL 1. *Agronomía Mesoamericana*, 16(2), 137–143.
- Wong Romero, R., Gutiérrez del Rio, E., Palomi Gila, A., Rodríguez Herrera, S., Córdova Orellana, H., Espinoza Banda, A., & Lozano Garcia, J. J. (2007). Aptitud combinatoria de componentes del rendimiento en líneas de maíz para grano en la comarca lagunera. *Revista Fitotecnica Mexicana*, 30(2), 181–189.
- Xia, X. C., Reif, J. C., Melchinger, a. E., Frisch, M., Hoisington, D. a., & Warburton, M. L. (2005). Genetic Diversity among CIMMYT Maize Inbred Lines Investigated with SSR Markers. *Crop*

Science, 44, 2230–2237. <http://doi.org/10.2135/cropsci2005.0246>

Žilić, S., Serpen, A., Akillioğlu, G., Gökmen, V., & Vančetović, J. (2012). Phenolic compounds, carotenoids, anthocyanins, and antioxidant capacity of colored maize (*Zea mays* L.) kernels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 1224–1231. <http://doi.org/10.1021/jf204367z>