



Universidad Autónoma de Sinaloa
Facultad de Ciencias Químico-Biológicas

Programa de Posgrado Integral en Biotecnología
Maestría en Ciencias con Orientación en
Biotecnología Agroalimentaria

**Evaluación del genotipo y características de
calidad del grano de cruzas experimentales
doble haploides de maíz con alto contenido
de aceite y proteína desarrolladas por INIFAP**

TESIS

Que presenta

LBG. Carmen Itzel Nava Moreno

Como requisito para obtener el grado de
**Maestra en Ciencias con Orientación
en Biotecnología Agroalimentaria**

Directores

Dr. José Ángel López Valenzuela

Dr. Eduardo Sandoval Castro



Dirección General de Bibliotecas
Ciudad Universitaria
Av. de las Américas y Blvd. Universitarios
C. P. 80010 Culiacán, Sinaloa, México.
Tel. (667) 713 78 32 y 712 50 57
dgbuas@uas.edu.mx

UAS-Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional Buelna

Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial
Compartir Igual, 4.0 Internacional



El presente trabajo se realizó en los Laboratorios de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa, y de Genómica Funcional del CIIDIR-IPN, Unidad Sinaloa, bajo la dirección del Dr. José Ángel López Valenzuela y el Dr. Eduardo Sandoval Castro. Contó con la asesoría de la Dra. Karen Virginia Pineda Hidalgo, la Dra. Jeanett Chávez Ontiveros y el MC. Luis Alberto Peinado Fuentes. La LBG Carmen Itzel Nava Moreno recibió beca de estudios del Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT).

AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Autónoma de Sinaloa** y a la **Facultad de Ciencias Químico-Biológicas** por haberme permitido realizar mis estudios de maestría a través del Programa de Posgrado Integral en Biotecnología de la FCQB.

Al **Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnología (CONAHCYT)**, por la beca otorgada, que fue fundamental para la realización de este proyecto.

Al **Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR)** por el apoyo institucional y los recursos proporcionados durante mi formación. Su colaboración fue clave para el desarrollo de esta investigación.

Al **Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)**, **Campo Experimental Valle del Fuerte**, por las facilidades brindadas durante la propagación de los materiales de estudio, lo que fue esencial para el avance de este proyecto.

A mis directores de tesis, **Dr. José Ángel López Valenzuela** y **Dr. Eduardo Sandoval Castro**, quiero expresar mi más sincero agradecimiento por su confianza, apoyo y orientación. Su experiencia y dedicación fueron fundamentales en el desarrollo de esta investigación, y su guía fue indispensable para llevar a cabo este trabajo con rigor y profesionalismo.

Agradezco también a los miembros del comité de tesis: **Dra Karen Virginia Pineda Hidalgo**, quien, con su generosidad y sabiduría, se convirtió en una figura materna dentro del laboratorio, brindándome su apoyo y orientación incondicional; **Dra Jeanett Chávez Ontiveros**, por su constante preocupación, consejos valiosos y afecto; y al **M.C. Luis Alberto Peinado Fuentes**, por su asesoría y facilitación de materiales a través de INIFAP.

A mis compañeras del Laboratorio de Genómica Funcional, **Alejandra Acosta**, **Mireya Higuera** y **Priscila Gaytán**, por su apoyo y por recibirme de manera tan cálida. En poco tiempo, se convirtieron en amigas muy queridas.

A mis compañeros del Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas, **Jenifer Soto**, **Alicia Navarro**, **Dayan Ríos**, **Edwin Salomón**, les agradezco por su colaboración, por compartir sus conocimientos y por su compañía a lo largo de

este proceso académico. El intercambio de ideas con ellos han sido una fuente constante de motivación y enriquecimiento personal.

A mi familia, les expreso mi más profundo agradecimiento, especialmente a mis padres, **Betty, Lulú y Baldo**, por su apoyo incondicional en cada una de mis metas. Ustedes son lo más importante en mi vida y espero hacerlos sentir orgullosos. Su amor y sacrificio son el reflejo de los esfuerzos que me han permitido alcanzar este logro.

A mis hermanos **Pavel, Alois, Klein, Jaret e Idania**, así como mis cuñadas **Tere, Ana y Zule**, les agradezco por su apoyo constante, por los ánimos y por estar presentes en mi vida. Su apoyo, de manera directa o indirecta, ha sido fundamental para que pudiera culminar esta meta.

A mis sobrinos, **Iker, Emiliano, Sofia, Ithan, Natalia y Matías**, por ser una fuente constante de inspiración. Espero poder ser un ejemplo para ustedes, para que siempre recuerden que pueden lograr todas las metas que se propongan.

Finalmente, a mi novio **Saúl**, le agradezco profundamente por su amor incondicional, por su interminable paciencia y por ser siempre mi principal fuente de fortaleza. Sus palabras de aliento y su apoyo han sido esenciales para sobrellevar los momentos difíciles y para seguir adelante en cada etapa de este proceso.

ÍNDICE GENERAL

| | Pág. |
|---|------|
| ÍNDICE DE FIGURAS | iv |
| ÍNDICE DE CUADROS | v |
| I. RESUMEN..... | 1 |
| ABSTRACT | 2 |
| II. INTRODUCCIÓN..... | 3 |
| III. REVISIÓN DE LA LITERATURA..... | 5 |
| A. GENERALIDADES DEL MAÍZ | 5 |
| 1. Origen y taxonomía..... | 5 |
| 2. Características botánicas..... | 5 |
| 3. Estadísticas de producción | 8 |
| B. ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN DEL GRANO DE MAÍZ..... | 8 |
| C. MAÍZ CON ALTO CONTENIDO DE ACEITE (ACA) | 19 |
| 1. Tecnología doble haploide (DH) como herramienta para el desarrollo de maíces ACA..... | 22 |
| 2. Desarrollo de maíces ACA asistido por marcadores moleculares | 25 |
| IV. JUSTIFICACIÓN | 35 |
| V. HIPÓTESIS | 36 |
| VI. OBJETIVOS | 37 |
| A. OBJETIVO GENERAL | 37 |
| B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 37 |
| VII. MATERIALES Y MÉTODOS | 38 |
| A. MATERIALES | 38 |
| B. MÉTODOS..... | 38 |
| 1. Extracción de ADN..... | 38 |
| 2. Cuantificación de ADN | 41 |
| 3. HRM (High Resolution Melting)..... | 42 |
| 4. Características físicas del grano y rendimiento..... | 42 |
| a. Dimensiones de grano..... | 42 |
| b. Peso de 100 granos | 44 |
| c. Peso hectolítrico..... | 44 |

| | | |
|-------|---|----|
| d. | Rendimiento | 44 |
| 5. | Humedad | 44 |
| 6. | Grasa cruda | 45 |
| 7. | Proteína cruda | 45 |
| 8. | Determinación de lisina..... | 46 |
| 9. | Determinación de triptófano..... | 46 |
| 10. | Obtención de extracto metanólico | 47 |
| 11. | Fenólicos totales..... | 47 |
| 12. | Flavonoides totales..... | 48 |
| 13. | Actividad antioxidante..... | 48 |
| a. | ABTS | 48 |
| b. | DPPH | 49 |
| 14. | Carotenoides totales..... | 49 |
| a. | Extracción de la muestra | 49 |
| b. | Determinación de carotenoides totales | 50 |
| 15. | Análisis estadístico | 51 |
| VIII. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 52 |
| A. | GENOTIPO DE SNP ASOCIADOS CON EL CONTENIDO DE ACEITE Y PROTEÍNA EN LÍNEAS DH Y CRUZAS EXPERIMENTALES DE MAÍZ ACA..... | 52 |
| B. | PROPIEDADES FÍSICAS DEL GRANO Y RENDIMIENTO DE LAS CRUZAS EXPERIMENTALES DE MAÍZ ACA | 58 |
| 1. | Características físicas del grano | 58 |
| 2. | Rendimiento..... | 62 |
| C. | CARACTERIZACIÓN DE LOS PRINCIPALES COMPONENTES QUÍMICOS DE LAS CRUZAS EXPERIMENTALES DE MAÍZ ACA | 63 |
| 1. | Contenido de aceite | 63 |
| 2. | Contenido de proteína..... | 65 |
| 3. | Contenido de lisina..... | 69 |
| 4. | Contenido de triptófano..... | 72 |
| 5. | Contenido de fenólicos totales | 74 |
| 6. | Contenido de flavonoides totales | 77 |
| 7. | Contenido de carotenoides totales..... | 79 |

| | | |
|-----|---|-----|
| D. | EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS METANÓLICOS DE MAÍCES ACA..... | 81 |
| 1. | ABTS..... | 81 |
| 2. | DPPH..... | 86 |
| IX. | CONCLUSIONES..... | 88 |
| X. | BIBLIOGRAFÍA..... | 89 |
| XI. | ABREVIATURAS..... | 102 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| Figura | Descripción | Pág. |
|---------------|---|-------------|
| 1 | La planta de maíz y sus partes principales | 7 |
| 2 | Principales partes del grano de maíz | 11 |
| 3 | Ejemplo de inducción de haploides y de tipos de grano derivados de una cruce de inducción típica | 23 |
| 4 | Diagrama del principio del análisis HRM | 29 |
| 5 | Curva de HRM | 30 |
| 6 | Curvas de fusión de marcadores SNP asociados con el contenido de aceite en líneas y cruces de maíz ACA | 53 |
| 7 | Curvas de fusión de marcador SNP 5586538 asociado con el contenido de proteína en líneas y cruces de maíz ACA | 57 |
| 8 | Contenido de aceite de las cruces experimentales de maíz ACA | 64 |
| 9 | Contenido de proteína de las cruces experimentales de maíz ACA | 66 |
| 10 | Correlación entre el contenido de aceite y proteína de las cruces experimentales | 68 |
| 11 | Contenido de fenólicos totales de las cruces experimentales de maíz ACA | 75 |
| 12 | Contenido de flavonoides totales de las cruces experimentales de maíz ACA | 78 |

ÍNDICE DE CUADROS

| Cuadro | Descripción | Pág. |
|--------|---|------|
| 1 | Producción mundial de maíz en 2022 | 9 |
| 2 | Producción de maíz en México en 2022 | 10 |
| 3 | Principales componentes químicos de las partes del grano de maíz | 13 |
| 4 | Contenido de proteína y aminoácidos de un maíz normal y un maíz con alto contenido de aceite (ACA) | 15 |
| 5 | Composición de principales ácidos grasos en maíz normal y ACA | 16 |
| 6 | Genes candidatos para aceite y proteína | 33 |
| 7 | Alelos favorables para cada uno de los SNP asociados con el contenido de aceite y proteína | 34 |
| 8 | Líneas DH con ACA utilizadas como parentales de cruzas experimentales | 39 |
| 9 | Cruzas experimentales de maíces ACA desarrolladas por INIFAP | 40 |
| 10 | Secuencia y ubicación de primers para SNP asociados con el contenido de aceite y proteína utilizados en PCR en tiempo real asociado a HRM | 43 |
| 11 | Genotipo de marcadores SNP asociados con el contenido de aceite y proteína identificados por HRM en líneas de maíz ACA | 55 |
| 12 | Genotipo de marcadores SNP asociados con el contenido de aceite y proteína identificados por HRM en cruzas de maíz ACA | 56 |
| 13 | Dimensiones de los granos de las cruzas de maíz ACA | 59 |
| 14 | Características de calidad del grano de cruzas de maíz ACA | 61 |
| 15 | Contenido de lisina y triptófano de las cruzas experimentales de maíz ACA | 70 |
| 16 | Contenido de carotenoides en las cruzas experimentales de maíz ACA | 80 |
| 17 | Actividad antioxidante <i>in vitro</i> de cruzas experimentales de maíz ACA amarillo | 83 |

| | | |
|----|---|----|
| 18 | Actividad antioxidante <i>in vitro</i> de cruza experimentales de maíz ACA blancos | 84 |
|----|---|----|

I. RESUMEN

El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los cereales más importantes por su diversidad de usos en la alimentación y en la industria. Esto ha demandado el desarrollo de maíces especializados para satisfacer necesidades de los sectores alimentarios e industrial. El Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) ha implementado la tecnología de dobles haploides (DH) para desarrollar híbridos de maíz con alto contenido de aceite (ACA, > 6%) y proteína. Sin embargo, este proceso puede ser más eficiente si es asistido por marcadores moleculares asociados a dichas características. El objetivo de este proyecto fue caracterizar molecularmente cruza experimentales de maíz ACA desarrolladas por INIFAP y evaluar características de calidad del grano. Se utilizaron 21 cruza (11 blancas y 10 amarillas), así como un híbrido comercial blanco y uno amarillo como testigos. Se obtuvo el ADN de las líneas ACA progenitoras y de la generación filial 1 (F1), el cual se utilizó para determinar el genotipo de 4 marcadores SNP (polimorfismo de un solo nucleótido), 3 asociados con el contenido de aceite y 1 con proteína. Las F1 se plantaron en campo y a los granos F2 se les evaluaron algunas características físicas y químicas (contenido de proteínas, aceite y fitoquímicos). También se evaluó *in vitro* la actividad antioxidante por ABTS y DPPH. El análisis con los marcadores SNP mostró que la mayoría de las cruza experimentales de maíz ACA presentaron alelos favorables para el contenido de aceite y proteína. Todas cumplieron con el mínimo de peso hectolítrico (74 kg/hL) establecido para la elaboración de tortillas y productos nixtamalizados. El contenido de aceite varió entre 6 y 9%, mientras que el rango de proteína entre 7.7 y 11.4% en maíces blancos y entre 8 y 12% en amarillos. El contenido de lisina fue de 0.08 a 0.37 mg/100 g de harina en maíces blancos y de 0.05 a 0.26 mg/100 g en maíces amarillos, mientras que el triptófano varió de 0.037 a 0.053 mg/100 g y de 0.027 a 0.066 mg/100 g, respectivamente. Comparado con los testigos comerciales, las cruza ACA registraron contenidos significativamente más altos de fenólicos (417-573 mg EAG/100 g en maíz amarillo y 411-570 mg EAG/100 g en maíz blanco), flavonoides (117-164 mg EC/100 g en maíz amarillo y 105-152 mg EC/100 g en maíz blanco) y carotenoides (14-22 µg/g en maíz amarillo y 1.31-3.58 µg/g en maíz blanco). Los maíces ACA también presentaron mayor actividad antioxidante que los testigos comerciales, con valores de inhibición del radical ABTS de 35.16-61.74% en maíz amarillo y 33.83-47.67% en maíz blanco, mientras que para DPPH se obtuvieron valores de 47.12-58.13% y 52.62-60.33%, respectivamente. Estos resultados demuestran una mejora en el valor nutricional y nutracéutico de las cruza experimentales de maíz ACA desarrolladas por INIFAP, sugiriendo su uso para impulsar el desarrollo de híbridos comerciales competitivos y potencialmente beneficiosos para la salud de los consumidores.

Palabras clave: *Maíz ACA, doble haploide, compuestos bioactivos, actividad antioxidante.*

ABSTRACT

Corn (*Zea mays* L.) is one of the most important cereals due to its diversity of uses in food and industry. This has required the development of specialty corns to meet the needs of the food and industry sectors. The National Institute of Forestry, Agriculture and Livestock Research (INIFAP) has implemented double haploid (DH) technology to develop corn hybrids with high oil content (HOC, >6%) and protein. However, this process can be more efficient if molecular markers associated with these characteristics are used in the selection. The objective of this study was to characterize at the molecular level some experimental crosses of HOC developed by INIFAP and to evaluate grain quality characteristics. Twenty-one experimental crosses were used (11 white and 10 yellow); commercial white and yellow hybrids were used as reference. DNA was obtained from parental HOC lines and the filial generation 1 (F1) and used to determine the genotype of 4 SNP markers (single nucleotide polymorphism), 3 associated with oil content and 1 with protein content. The F1s were planted in the field and the F2 grains were evaluated for some physical and chemical characteristics (protein, oil and phytochemical content). Also, *in vitro* antioxidant activity was evaluated by ABTS and DPPH. The analysis with SNP markers showed that most of the experimental HOC crosses had favorable alleles for oil and protein content. All of them met the minimum hectoliter weight (74 kg/hL) established to produce tortillas and nixtamalized products. The oil content of the crosses varied from 6 to 9%, while the protein content varied between 7.7 and 11.4% in white corn and 8 to 12% in yellow corn. The lysine content ranged from 0.08 to 0.37 mg/100 g of flour in white corn and from 0.05 to 0.26 mg/100 g in yellow corn, while tryptophan varied from 0.037 to 0.053 mg/100 g and from 0.027 to 0.066 mg/100 g, respectively. Compared to commercial corn, HOC crosses recorded significantly higher contents of phenolics (417-573 mg EAG/100 g in yellow corn and 411-570 mg EAG/100 g in white corn), flavonoids (117.1-164 mg EC/100 g in yellow corn and 105-152 in white corn), carotenoids (14-22 µg/g in yellow corn and 1.31-3.58 µg/g in white corn). HOC also showed higher antioxidant activity than commercial corn, with ABTS radical inhibition values of 35.16-61.74% in yellow corn and 33.83-47.67% in white corn, while DPPH showed values of 47.12-58.13% and 52.62-60.33%, respectively. These results demonstrate an improved nutritional and nutraceutical value of the experimental HOC crosses developed by INIFAP, suggesting their use to promote the development of competitive commercial hybrids that are potentially beneficial to consumer health.

Keywords: *HOC, double haploid, bioactive compounds, antioxidant activity.*

II. INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es una planta originaria de América que se ha propagado por todo el mundo gracias a los seres humanos y a su capacidad de adaptación a diferentes condiciones agroecológicas. Este cereal ha jugado un papel fundamental en la nutrición desde hace más de 7,000 años, ya que era parte esencial en la alimentación y en las creencias religiosas de las civilizaciones Maya y Azteca (Rivas, 2021). Actualmente, el maíz es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial debido a sus diversos usos en la alimentación humana y animal, así como en la industria (Hossain y col, 2016). Esto ha demandado el desarrollo de maíces especializados, por lo que el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) ha adquirido líneas dobles haploides (DH), de poblaciones propias, generadas mediante el Centro Internacional de Maíz y Trigo (CIMMYT), para desarrollar maíces con alto contenido de aceite (ACA, 6-8%), la cual, representa una característica deseable que ayuda a cumplir con los requerimientos de la alimentación humana y animal (Ortega-Corona y col, 2015).

El incremento en el contenido de aceite de los maíces ACA se correlaciona con un aumento en el tamaño del germen, el cual, va acompañado de un incremento en el contenido de las proteínas presentes en esta estructura. Esto disminuye la proporción de las proteínas mayoritarias del endospermo (zeínas) que son deficientes en lisina y triptófano, por lo tanto puede mejorar la calidad proteínica del grano (Alameldin y col, 2017).

El desarrollo de maíces ACA mediante selección recurrente ha evidenciado un efecto genético significativo, en el aumento de la acumulación de aceite en el grano,

en diferentes ambientes, por ello, resulta relevante identificar marcadores moleculares asociados, que permitan un mejoramiento genético más eficiente, logrando generar híbridos de maíz en un tiempo menor respecto a los métodos tradicionales. En lo que respecta al programa de mejoramiento genético del INIFAP, Ríos-Sandoval (2017) realizó la genotipificación mediante la tecnología DartSeq de 120 genotipos pertenecientes a las regiones del Bajío y el Noroeste de México, identificando un total de 35,770 polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) que permitieron establecer la diversidad y estructura genética de los materiales estudiados. En el mismo sentido, Gaytán-Pinzón y col (2022) evaluaron la diversidad genética y la estructura poblacional de 310 líneas DH ACA, encontrando 19,078 SNP y valores relativamente altos de contenidos de información polimórfica (0.346-0.353) y heterocigosidad (0.194-0.284). La variabilidad genética registrada entre las líneas analizadas tiene un gran potencial para aportar alelos específicos benéficos a los programas de mejoramiento utilizados en la generación de híbridos de maíz ACA.

Por otro lado, Valenzuela-Apodaca y col (2022) analizaron la diversidad genética de 49 líneas DH de maíz ACA e identificaron 43 SNPs asociados con el contenido de aceite y 2 con el de proteínas. Los autores validaron la presencia de los SNPs y se definieron como alelos favorables aquellos que estaban presentes en líneas con contenido de aceite mayor al 6% y contenido de proteína mayor al 10%. Por lo tanto, estos SNPs se pueden utilizar para determinar el genotipo de cruas experimentales, que actualmente están siendo desarrolladas por INIFAP, y evaluar sus principales características físicas y químicas, con el fin de seleccionar los materiales más competitivos.

III. REVISIÓN DE LA LITERATURA

A. GENERALIDADES DEL MAÍZ

1. Origen y taxonomía

El maíz (*Zea mays* L.) es originario de América y fue domesticado en Mesoamérica, de donde se extendió al resto del mundo después de la conquista. Su éxito como cultivo se debe a su gran capacidad para adaptarse a una amplia variedad de condiciones agroecológicas (FAO, 1993; Hossain y col, 2016).

Este cereal desempeñó un papel fundamental en la nutrición, las creencias religiosas y las festividades de las civilizaciones Maya y Azteca, por lo que era considerado un elemento esencial en ambas culturas. México alberga un total de 64 razas de maíz, de las cuales 59 son consideradas nativas y han sido cultivadas por las poblaciones autóctonas desde mucho antes del descubrimiento de América (FAO, 1993).

Desde el punto de vista taxonómico, el maíz forma parte de la división angiospermae, clase monocotyledoneae, orden poales, familia poaceae, género *Zea* y especie *mays*. Es una planta gramínea única en su género que se cultiva extensamente. Sus parientes silvestres incluyen al teosinte y el arrocillo. Originalmente se clasificaron los géneros *Zea* y *Euchlaena* por separado; sin embargo, investigaciones de botánica, genética y citología sugieren que ambos pertenecen al género *Zea* (Acosta, 2009).

2. Características botánicas

El maíz es una planta anual y miembro del grupo de las monocotiledóneas que puede alcanzar una altura de 1 a 5 metros. Se distingue por su sistema radicular fibroso

y su tallo erguido, con pocos macollos y sin ramificaciones. Sus hojas son lanceoladas y acuminadas, que nacen de los nodos alternamente a lo largo del tallo (Figura 1) (Sánchez-Ortega y Pérez-Urria Carril, 2014).

Es una planta monoica, es decir, presenta flores masculinas y femeninas bien diferenciadas en la misma planta. La inflorescencia masculina (panícula o espiga) consiste en un eje central o raquis con ramas laterales, donde se desarrollan las anteras, que contienen los granos de polen. Por su parte, las inflorescencias femeninas (mazorca) se encuentran en las yemas axilares de las hojas, son espigas cilíndricas que consisten en un raquis central donde se insertan las espiguillas por pares. Cada espiguilla tiene dos flores postiladas: una fértil y una abortiva, dispuestas en hileras paralelas. Cada mazorca puede contener de 400 a 1000 granos dispuestos en promedio 8 a 24 hileras por mazorca. Los estilos largos que sobresalen del raquis, comúnmente conocidos como pelos de elote, tienen propiedades estigmáticas donde germina el polen. En la mazorca cada grano es un fruto independiente, llamado cariósido, que está insertado en el raquis cilíndrico u olote (Kato-Yamakake y col, 2009).

La reproducción se realiza de manera alógama, lo que implica que la fecundación requiere que el polen provenga de una flor diferente a la que contiene el óvulo. Por lo tanto, las flores de un solo sexo, la distancia entre las flores femeninas y masculinas y la acción del viento favorecen la polinización cruzada, dando como resultado una progenie híbrida o de dos padres diferentes (Kato-Yamakake y col, 2009).

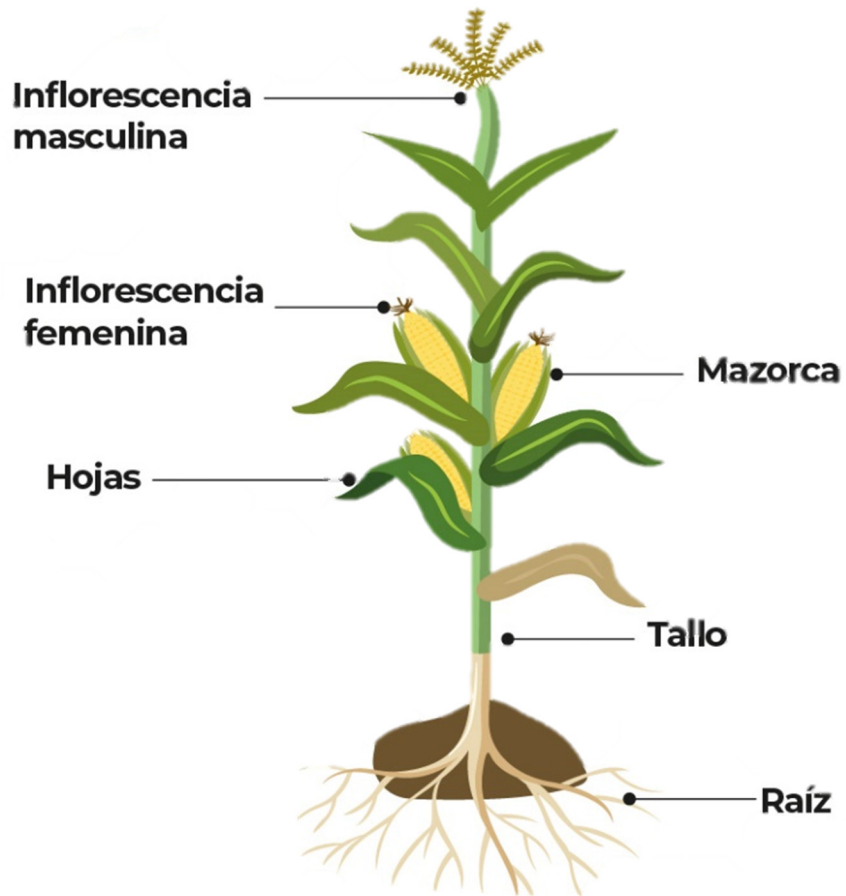


Figura 1. La planta de maíz y sus partes principales (Saquimux-Canastuj, 2011).

3. Estadísticas de producción

El maíz es el cereal de mayor importancia a nivel mundial en términos de producción, seguido por el arroz y el trigo, que ocupan el segundo y tercer lugar, respectivamente. En el año 2022, la producción global de maíz alcanzó un volumen de 1,163,497,383 toneladas (Cuadro 1). Estados Unidos se destacó como el principal productor mundial, con una cosecha de 348,750,930 toneladas de grano (FAOSTAT, 2024). Por su parte, México ocupó el sexto lugar en la producción global, con un total de 26,625,693.83 toneladas (Cuadro 2).

A nivel nacional, el estado de Sinaloa lidera la producción de maíz con 5,309,195 toneladas, seguido por Jalisco con 3,984,289 toneladas y Michoacán con 2,093,142 toneladas. En términos de demanda y el equilibrio entre producción e importación, México enfrentó una demanda de 44 millones de toneladas de maíz en 2022. Sin embargo, la producción nacional alcanzó sólo 26 millones de toneladas, lo que resultó en la necesidad de importar 18 millones de toneladas para cubrir la demanda interna (SADER-SIAP, 2024).

B. ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN DEL GRANO DE MAÍZ

El grano de maíz es una cariósida formada por 4 estructuras principales: pericarpio o cáscara, germen o embrión, endospermo y piloriza (Figura 2). El pericarpio es la cubierta protectora del grano, dura y fibrosa; el endospermo proporciona los nutrientes necesarios para germinar la semilla hasta el momento en que se convierta en un organismo autótrofo; el germen es la estructura a partir de la cual se desarrolla la nueva planta; y la piloriza es una estructura cónica de tejido inerte cuya función es

Cuadro 1. Producción mundial de maíz en 2022

| País | Producción (Ton) |
|---------------------------|-----------------------------|
| Estados Unidos de América | 348,750,930 |
| China | 277,203,000 |
| Brasil | 109,420,717 |
| Argentina | 59,037,179 |
| India | 33,729,540 |
| México | 26,625,693 |
| Ucrania | 26,186,930 |
| Indonesia | 23,564,000 |
| Sudáfrica | 16,137,000 |
| Rusia | 15,862,434 |
| Otros | 226,979,959 |
| Total | 1,163,497,383 |

FAOSTAT (2024)

Cuadro 2. Producción de maíz en México en 2022

| Estado | Producción (Ton) |
|---------------|-----------------------------|
| Sinaloa | 5,309,195 |
| Jalisco | 3,984,289 |
| Michoacán | 2,093,142 |
| Guanajuato | 1,898,925 |
| México | 1,779,468 |
| Chihuahua | 1,731,211 |
| Guerrero | 1,490,519 |
| Chiapas | 1,379,252 |
| Veracruz | 1,353,531 |
| Oaxaca | 770,847 |
| Otros | 4,835,315 |
| Total | 26,625,693 |

SADER-SIAP (2024)

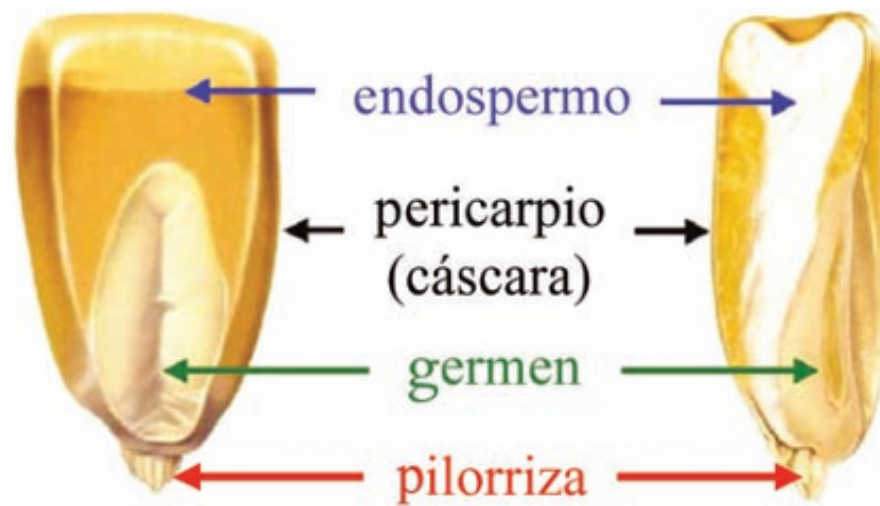


Figura 2. Principales partes del grano de maíz (Benítez-Cardoza y Pfeiffer-Perea, 2006).

unir al grano y el carozo u olote, está compuesta principalmente de celulosa y hemicelulosa, además de otros carbohidratos complejos (Benítez-Cardoza y Pfeiffer-Perea, 2006). La calidad nutricional y la integridad de los granos de maíz pueden estar influenciadas por factores como el medio ambiente, genética, procesamiento del grano, entre otros.

Los principales componentes son almidón, proteínas y aceite (Cuadro 3). El primero se encuentra principalmente en el endospermo, mientras que las proteínas y aceites son más abundantes en el germen (Urango, 2018). El almidón, formado principalmente por amilopectina y amilosa, es el componente principal del grano, representando el 72% de su composición. Los azúcares simples, como la glucosa, sacarosa y fructosa, se encuentran en cantidades que varían del 1 al 3%, siendo la sacarosa el más abundante entre ellos. Por otro lado, la fibra cruda constituye aproximadamente el 7% del total del grano (Benítez-Cardoza y Pfeiffer-Perea, 2006).

Las proteínas representan entre el 8 y 11% del peso del grano de maíz y suelen clasificarse en función de su solubilidad en agua (albúminas), soluciones salinas (globulinas), alcohol (prolaminas o zeínas) y soluciones alcalinas (glutelinas). Las zeínas se encuentran fundamentalmente en el endospermo y son las más abundantes, llegando a ocupar del 50 al 60% de la proteína total. Debido a que esta fracción mayoritaria es deficiente en los aminoácidos esenciales lisina y triptófano, la calidad proteínica del maíz normal es baja. Las proteínas del grano de maíz contienen aproximadamente 0.3-0.4% de lisina y un 0.08-0.15% de triptófano (Larkins, 2019). En maíces especializados como los de alto contenido de aceite el contenido de estos

Cuadro 3. Principales componentes químicos de las partes del grano de maíz

| Componente (%) | Grano | Endospermo | Germen | Pericarpio | Pedicelo |
|-----------------------|--------------|-------------------|---------------|-------------------|-----------------|
| Almidón | 71.5 | 86.4 | 8.2 | 7.3 | 5.3 |
| Proteínas | 10.3 | 9.4 | 18.8 | 3.7 | 9.1 |
| Aceites | 4.8 | 0.8 | 34.5 | 1.0 | 3.8 |
| Azúcares | 2.0 | 0.6 | 10.8 | 0.3 | 1.6 |
| Cenizas | 1.4 | 0.3 | 10.1 | 0.8 | 1.6 |

FAO (1993)

aminoácidos suele incrementarse como consecuencia del aumento en el contenido de proteína (Cuadro 4).

Con respecto al aceite, el grano de maíz tiene de 3 a 6% y del total, el 84% se encuentra en el germen (Barrera-Arellano y col, 2019). El aceite de maíz suele tener un ligero color amarillo con un olor suave y característico, tiene un bajo nivel de ácidos grasos saturados (11% ácido palmítico, 2% ácido esteárico), un alto nivel de ácidos grasos poliinsaturados (61.9% ácido linoleico y 0.7% de ácido linolénico) y en menor proporción ácidos grasos monoinsaturados (24.2% oleico) (Cuadro 5) (Sánchez-Ortega y Pérez-Urria Carril, 2014).

El maíz contiene compuestos bioactivos que tienen un impacto significativo en la salud. Entre estos compuestos se incluyen micronutrientes vitales, como vitaminas y minerales, que son cruciales para funciones corporales fundamentales. Las vitaminas, por ejemplo, actúan como cofactores en el metabolismo y ayudan a proteger contra el estrés oxidativo. Los minerales como hierro, zinc y selenio son esenciales para la producción de hemoglobina y la síntesis de ATP. Además, el maíz es rico en compuestos nutracéuticos, como carotenoides, fitoesteroles y polifenoles, que poseen propiedades antioxidantes y pueden contribuir a la prevención de enfermedades crónicas. Sin embargo, el maíz a menudo presenta deficiencias en ciertos nutrientes esenciales, como la vitamina B12 y la vitamina C, y su contenido mineral puede disminuir durante el procesamiento. Para mejorar su perfil nutricional y abordar estas deficiencias, se emplea la biofortificación mediante técnicas como la fertilización, la selección genética y la ingeniería transgénica (Acosta-Estrada y col, 2019; Loy y Lundy, 2019).

Cuadro 4. Contenido de proteína y aminoácidos de un maíz normal y un maíz con alto contenido de aceite (ACA)

| Característica | Maíz Normal | Maíz ACA |
|-----------------------------|--------------------|-----------------|
| Contenido de proteína (%) | 9.27 | 11.26 |
| Contenido de aminoácido (%) | | |
| Ácido aspártico | 0.63 | 0.73 |
| Treonina | 0.31 | 0.37 |
| Serina | 0.36 | 0.43 |
| Ácido glutámico | 1.72 | 2.04 |
| Glicina | 0.36 | 0.44 |
| Alanina | 0.74 | 1.00 |
| Valina | 0.44 | 0.82 |
| Isoleucina | 0.35 | 0.38 |
| Leucina | 1.21 | 1.20 |
| Tirosina | 0.41 | 0.29 |
| Fenilalanina | 0.51 | 0.49 |
| Lisina | 0.31 | 0.36 |
| Histidina | 0.31 | 0.41 |
| Arginina | 0.45 | 0.54 |
| Prolina | 0.98 | 1.16 |
| Cisteína | 0.26 | 0.29 |
| Metionina | 0.16 | 0.16 |
| Triptófano | 0.069 | 0.078 |

Adaptado de Song y col (2003)

Cuadro 5. Composición de principales ácidos grasos en maíz normal y ACA

| Ácido graso (%) | Maíz normal¹ | Maíz ACA INIFAP² | Maíz ACA³ |
|------------------------|--------------------------------|------------------------------------|-----------------------------|
| Palmítico | 11.0 | 11.7 | 14.8 |
| Estearico | 2.0 | 2.6 | - |
| Oleico | 24.1 | 41.5 | 35.2 |
| Linoleico | 61.9 | 44.0 | 48.2 |
| Linolénico | 0.7 | - | 1.1 |
| Otros | <1 | <1 | <1 |

Lambert (2000)¹, Ortíz-Islas y col (2019)², Katral y col (2024)³

Los carotenoides son pigmentos que aportan color amarillo a los granos de maíz y se dividen en carotenos y xantofilas. Los carotenos, que no contienen oxígeno, y las xantofilas, que si lo contienen, están presentes en bajas concentraciones en el maíz blanco (0.4 µg/g) y en mayores cantidades en el maíz amarillo (22.3-26.4 µg/g), especialmente carotenos como luteína, zeaxantina y β-caroteno (Pillay y col, 2014). La principal función nutracéutica de los carotenoides en humanos es la protección molecular antioxidante, especialmente por su capacidad de inactivar el oxígeno singlete e interactuar con los radicales libres. El β-caroteno, en particular, es relevante por sus propiedades antioxidantes, que pueden prevenir problemas de salud como la ceguera y enfermedades cardiovasculares. La luteína y la zeaxantina también desempeñan un papel en la protección contra la degeneración macular y la radiación ultravioleta. La estructura insaturada de los carotenoides los hace susceptibles a la degradación por calor, luz y pH ácido, lo que puede afectar su contenido en productos procesados (Meléndez-Martínez y col, 2004). En el maíz, se encuentran principalmente en el endospermo córneo (74-86%), seguido del endospermo harinoso (9-23%), el germen (2-4%) y el pericarpio (1%) (García-Lara y col, 2019; Loy y Lundy, 2019). El grano de maíz contiene 2 vitaminas liposolubles que le otorgan el color amarillo, naranja o rojo: la vitamina E y la provitamina A (β-caroteno). Desde el punto de vista nutricional, el β-caroteno es el metabolito más importante del maíz, ya que se convierte en vitamina A (retinol) en el cuerpo. Este también puede regenerar la actividad de la vitamina E, que se encuentra en el germen, y otros antioxidantes oxidados. La vitamina A es crucial para la nutrición y la salud humana, previniendo la ceguera parcial y completa, la xeroftalmia, el cáncer y las enfermedades cardiovasculares y fortalece el sistema inmunológico. Se ha registrado un contenido

de 97 g de vitamina E por cada 100 g y 0.49 mg de provitamina por cada 100 g de maíz amarillo (Sánchez-Ortega y Pérez-Urria Carril, 2014; Acosta-Estrada y col, 2019).

Los fenólicos son metabolitos secundarios predominantes en el maíz y se clasifican en tres categorías: fenólicos simples, flavonoides y taninos. Los fenólicos simples se derivan de ácidos benzoicos o cinámicos y están predominantemente asociados con las paredes celulares del pericarpio y la aleurona en formas insolubles, mientras que en el germen se encuentran en formas solubles. Entre estos se destacan los ácidos: cafeico, cumárico, hidroxibenzoico, protocatecuico, siríngico, vainílico, sinápico, gálico y ferúlico. El ácido ferúlico es el compuesto fenólico principal, representando alrededor del 70% del total de ácidos fenólicos y presentando propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y quimiopreventivas, lo que convierte al maíz en un cereal con una actividad antioxidante notable, tres veces mayor que la de trigo, avena y arroz, además, los compuestos fenólicos en el maíz contribuyen a la prevención del daño celular al eliminar radicales libres (McGhie y Walton, 2007; Acosta-Estrada y col, 2019). En cuanto a los flavonoides, se forman a partir de las unidades de cinámico y malonil-CoA, dividiéndose en varias subcategorías: flavanoles, que incluyen la catequina y la epicatequina; flavanonas, pequeñas cantidades en maíz; flavonas, como la apigenina y la luteolina; y antiocianinas, responsables de los colores rojos, morados y azules en el maíz, destacando la cianidina y peonidina (Salinas-Moreno y col, 2007; Acosta-Estrada y col, 2019).

C. MAÍZ CON ALTO CONTENIDO DE ACEITE (ACA)

El aumento en la demanda de consumo y usos industriales del maíz ha motivado el desarrollo de materiales especializados para satisfacer dichas necesidades. El maíz ACA es especialmente valioso por su alto contenido energético, ya que los lípidos tienen 2.25 veces más energía acumulada que el almidón y la proteína (Li y col, 2023). Por lo tanto, comprender el comportamiento genético de los rasgos relacionados con el tamaño y peso del germen es fundamental para el mejoramiento del contenido de aceite del grano, ya que el incremento de este componente en los maíces ACA se debe a un aumento en el tamaño del germen (Katrál y col, 2023). Este cambio va acompañado de un incremento en el contenido de las proteínas mayoritarias del germen como las albúminas y glutelinas, lo cual disminuye la proporción de zeínas y puede mejorar la calidad proteínica del grano. Se estima que el contenido de lisina aumenta de 0.31% a 0.36% en maíces ACA (Cuadro 4), además de que conforme incrementa el contenido de aceite también aumenta el contenido de compuestos con actividad nutracéutica como carotenoides, compuestos fenólicos, vitamina E y fitoesteroles (Alameldin y col, 2017).

El estudio más clásico de mejoramiento de maíz con alto contenido de aceite y proteína fue realizado por C.G. Hopkins en la Universidad de Illinois en 1896, en el cual se incrementó el contenido de aceite de 4.5% a 22%, pero se encontró una correlación negativa entre los niveles de aceite y el rendimiento del grano. Sin embargo, gracias a la biotecnología y al mejoramiento de las técnicas se han reportado maíces híbridos ACA con un contenido de aceite de 6 a 9% y rendimientos similares a sus testigos (Barrera-Arellano y col, 2019).

Ortega-Corona y col (2015) investigaron la respuesta cíclica de selección recurrente, un procedimiento para aumentar gradualmente la frecuencia de los alelos favorables para rasgos primarios, en este caso, para contenido de aceite y rendimiento del grano. Los autores reportaron 4 poblaciones de maíz con un contenido final de aceite de entre 6.7 y 8.1% sin reducir el rendimiento del grano. Preciado-Ortiz y col (2013) tuvieron resultados similares, reportando que no hubo correlación negativa entre el rendimiento del grano y el incremento en contenido de aceite en poblaciones mejoradas de maíz amarillo y blanco, donde se alcanzó un incremento en un rango de 33-60%.

Algunas aplicaciones de este tipo de maíz se han orientado hacia la formulación de alimentos con mayor contenido energético, sin necesidad de utilizar aceites suplementarios, lo que a su vez reduce el costo de la alimentación. Benitez y col (1999) realizaron dos experimentos para comparar el rendimiento de dietas en pollos en engorda al sustituir el maíz convencional por maíz ACA. En el primer experimento, se utilizó maíz control con un 6.75% de aceite, mientras que en el segundo se empleó maíz ACA con 8.81% de aceite. En el experimento 1, los resultados fueron comparables a los obtenidos con el maíz convencional. No se observaron diferencias significativas en el peso corporal, consumo de alimento, conversión alimenticia ni en el porcentaje de mortalidad. Por su parte, el experimento 2 mostró que los pollos alimentados con maíz ACA tuvieron pesos y valores de conversión alimenticia significativamente mayores en comparación con aquellos alimentados con maíz convencional. En general, los resultados sugieren que el uso de maíz ACA puede

mejorar el rendimiento de los pollos en engorda si el alimento se formula para aprovechar el contenido energético superior de este maíz.

de Olivei y col (2011) evaluaron el uso de maíz ACA frente al maíz convencional en dietas para cerdos en crecimiento y engorde, analizando la digestibilidad total, digestibilidad ileal y el rendimiento. Los resultados mostraron que el maíz ACA ofrece una mayor digestibilidad de la energía total del grano en comparación con otras variedades de maíz, lo que puede ser beneficioso para la formulación de dietas de alta energía destinadas a cerdos. Los coeficientes de digestibilidad de los aminoácidos fueron similares a los reportados en la literatura tanto para el maíz común como para el maíz ACA. Además, la inclusión del maíz ACA no afectó el rendimiento. Los hallazgos sugieren que el maíz ACA puede ser una alternativa viable al maíz común en la dieta de cerdos, sin comprometer el rendimiento o la calidad.

Espinosa y col (2021) realizaron dos experimentos para evaluar si el coeficiente de digestibilidad ileal estandarizada (CSID) de los aminoácidos (AA), las concentraciones de energía digestible (DE) y metabolizable (ME), y el coeficiente de digestibilidad total estandarizada del tracto (CSTTD) del fósforo son mayores en el maíz ACA en comparación con en el maíz convencional. En el experimento 1, 9 cerdos fueron alimentados con tres dietas (una libre de nitrógeno y 2 con maíz convencional o ACA como única fuente de proteína cruda y AA) en un diseño de cuadro latino 3x3. Los resultados mostraron que la CSID de proteína cruda y la mayoría de los AA fue mayor en los maíces ACA, lo que resultó en mayores concentraciones de AA digestibles ileales estandarizados. En el experimento 2, 64 cerdos fueron alojados en jaulas metabólicas y asignados a un diseño factorial 2x4 con 2 fuentes de maíz

(convencional o ACA) y cuatro niveles de fitasa microbiana (0, 500, 1000, 2000 unidades de fitasa/kg). Los resultados indicaron que el maíz ACA tuvo mayores concentraciones de DE y ME debido a su alta digestibilidad de energía bruta. Además, la adición de fitasa aumentó la CSTTD de fósforo en ambas fuentes de maíz, siendo mayor en el maíz ACA. En conclusión, el maíz ACA presentó un mayor valor nutricional que el maíz convencional, con mayores concentraciones de AA, DE, ME y CSTTD de fósforo.

1. Tecnología doble haploide (DH) como herramienta para el desarrollo de maíces ACA

Uno de los métodos más utilizados recientemente para el desarrollo de maíz ACA es la tecnología doble haploide (DH), la cual posibilita la reducción del tiempo para obtener líneas 100% homocigotas y la acumulación de alelos favorables relacionados con la característica de interés (Ren y col, 2017; Ortíz-Islas y col, 2019). Para obtener líneas endogámicas con un 99% de homocigosidad se requieren de 6 a 8 generaciones (3-4 años), pero al utilizar la tecnología DH se obtienen líneas ~95% homocigotas en solo un año (Preciado-Ortiz y col, 2013; Gaytán-Pinzón y col, 2022). Para generar líneas DH, se requiere la inducción de haploidía a través de cruzas con líneas inductoras de haploidía, seguida por una duplicación de cromosomas mediante colchicina y siembra en campo para auto-polinización de las plantas. La estrategia de inducción de haploides incluye marcadores morfológicos, donde el marcador fenotípico R1-nj (R1-navajo) es el más común porque permite identificar las semillas desde antes de la siembra. Esta morfología es conocida como el fenotipo del núcleo navajo y puede producir 3 fenotipos diferentes que pueden observarse en la Figura 3.

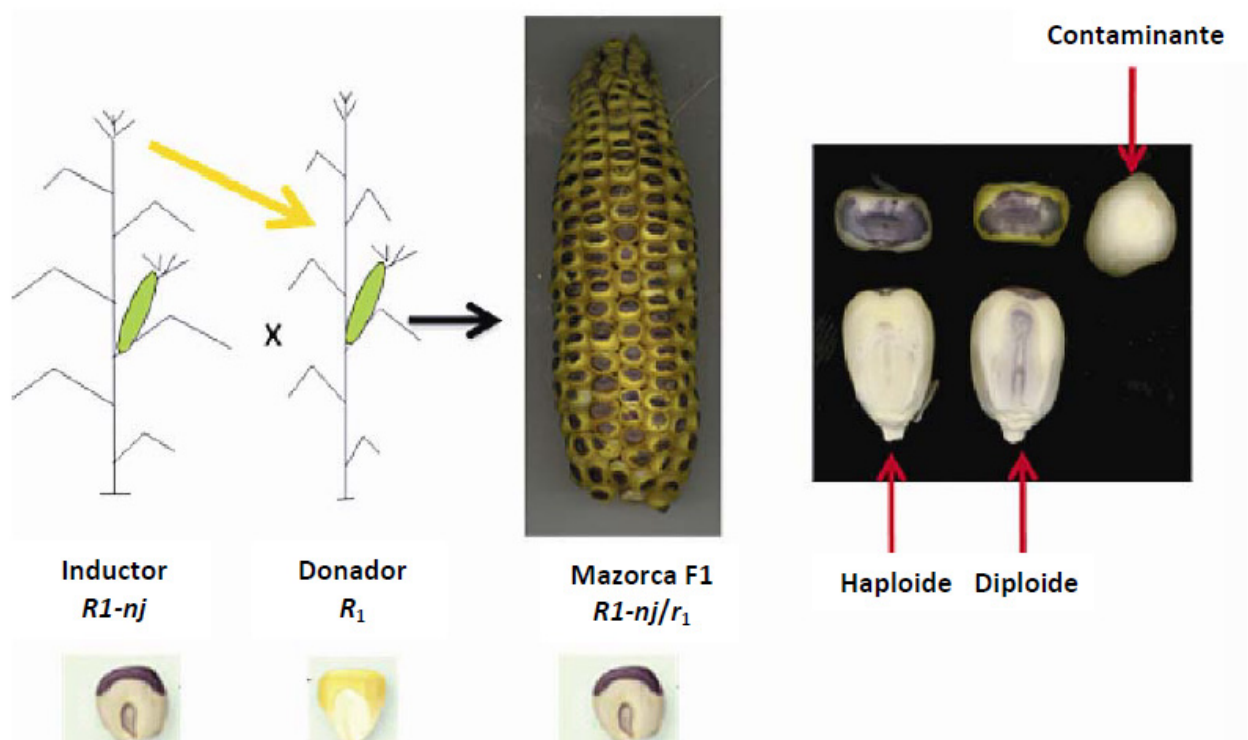


Figura 3. Ejemplo de inducción de haploides y de tipos de granos derivados de una cruce de inducción típica (Prasanna y col, 2013).

Una vez identificados los haploides, se duplica el número de cromosomas para restaurar el genoma $2n$ de la planta. Se utiliza la duplicación inducida químicamente, utilizando inhibidores mitóticos como colchicina y otros agentes antimicrotubulares (Maqbool y col, 2020).

Con el objetivo de satisfacer la demanda industrial y ofrecer alternativas en la producción de alimentos con alto valor agregado, el programa de mejoramiento genético de maíz del Instituto Nacional de Investigadores Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) ha adquirido líneas de maíz DH blanco y amarillo con ACA, las cuales se obtuvieron de una Población Blanca del Noroeste (PBN), una Población Blanca del Bajío (PBB), una Población Amarilla del Noroeste (PAN) y una Población Amarilla del Bajío (PAB). Estas poblaciones se mejoraron mediante un esquema de selección recurrente de medios hermanos, desde el 2004 hasta 2013. Ortíz-Islas y col (2019) reportaron el contenido de aceite en 46 híbridos obtenidos de la cruce de líneas DH ACA amarillos y blancos, y se correlacionó positivamente con el tamaño del germen y varió en rangos de 6-9% y 5-8%, respectivamente; los ácidos grasos más abundantes fueron oleico (36-51%) y linoleico (35-52%). Actualmente, INIFAP ha liberado nuevos híbridos de maíz con alto contenido de aceite y proteínas, como el H-388 O, híbrido de maíz trilineal de grano blanco oleoso para el subtrópico de México (Preciado-Ortiz y col, 2019c) y el H-327 AO, híbrido trilineal de maíz oleoso de grano amarillo para regiones subtropicales de México (Preciado-Ortiz y col, 2019a). Vázquez-Carrillo y col (2018) reportaron que estos híbridos cumplieron con la calidad de la masa para tortilla y produjeron tortillas más suaves que los híbridos normales después del almacenamiento.

2. Desarrollo de maíces ACA asistido por marcadores moleculares

El desarrollo de maíces ACA mediante selección recurrente y su estabilidad en diferentes ambientes demostró la heredabilidad de esta característica cuantitativa y la contribución de genes específicos, por lo que resulta muy relevante identificar marcadores moleculares asociados que puedan utilizarse para asistir en el mejoramiento de maíces ACA y obtener materiales en forma más eficiente (Hossain y col, 2023).

Los marcadores moleculares son secuencias de ADN que se pueden detectar fácilmente y son heredables, siendo más informativos los de naturaleza codominante, es decir, los que detectan las dos variantes alélicas en un individuo diploide, tales como los microsatélites o repetidos de secuencia simple (SSR) y los polimorfismos de nucleótidos simple (SNP), siendo los últimos los más utilizados en los últimos años (Hasan y col, 2021).

Los SNPs son variantes genéticas muy comunes y estables que afectan un solo nucleótido en el ADN, lo que los convierte en herramientas altamente informativas y útiles en la investigación genética. Su alta frecuencia y simplicidad en el análisis facilitan el mapeo de genes asociados con características fenotípicas, permitiendo una comprensión más precisa de la variabilidad genética. Además, los SNPs son fundamentales en el desarrollo de pruebas genéticas, debido a su capacidad para identificar variantes genéticas específicas relacionadas con rasgos complejos y respuesta a tratamientos (Gibbs y col, 2003; Antontseva y col, 2023).

Diferentes estudios en maíz han investigado las bases genéticas de características relacionadas con el aceite mediante el uso de marcadores moleculares,

destacando en un primer momento el uso de microsatélites para el mapeo de loci de caracteres cuantitativos (QTL) asociados con el contenido de aceite, almidón y proteína en maíz ACA. Los QTL identificados en estos estudios se ubicaron en regiones cromosómicas similares o compartieron marcadores moleculares con genes que regulan el metabolismo de estos componentes, como *oilc2* y *accA*, así como *stc5* y *ae1*. La acetil-CoA carboxilasa, que participa en la síntesis de ácidos grasos, es codificada por el gen *accA*, mientras que *ae1* es un gen mutante que afecta la enzima desramificadora del almidón II b (Zhang y col, 2008; Wang y col, 2010; Yang y col, 2013). Recientemente las investigaciones se han enfocado en el uso de SNPs para encontrar asociaciones con dichas características y genes candidatos responsables de su variación en líneas no relacionadas (Zheng y col, 2021) o poblaciones biparentales (Fang y col, 2021).

La tecnología DH y los marcadores moleculares están revolucionando los programas de mejoramiento genético de maíz y, combinados con el genotipado, pueden producir grandes ahorros en tiempo y recursos económicos al identificar regiones del genoma relacionadas con genes de calidad nutricional (Prasanna y col, 2013). Recientemente, Zhang y col (2023) analizaron QTLs asociados con el contenido de aceite en cuatro poblaciones de maíz DH, destacando seis que explicaron la mayor variación fenotípica. Los autores ubicaron 17 genes involucrados en el metabolismo de ácidos grasos dentro de los intervalos de los QTL identificados.

Polimorfismos en un solo nucleótido se obtienen mediante técnicas de secuenciación masiva, a través de diversas tecnologías de genotipificación como GBS, RADSeq, entre otras. GBS es una herramienta ideal para la búsqueda de marcadores

moleculares distribuidos a lo largo del genoma (Elshire y col 2011). Una vez identificados los SNPs mediante GBS, estos se pueden monitorear en diferentes genotipos sin necesidad de secuenciar de nuevo su genoma, a través de tecnologías de genotipado por PCR como las siguientes:

- a. PCR alelo-específica. Esta técnica de PCR utiliza dos primers, cada uno específico para un alelo determinado y un primer común. Para cada individuo analizado se realizan dos PCR simultáneas donde se utilizan por separado cada uno de los primers alelo-específicos. Los productos amplificados se separan por electroforesis y se determinan las variantes dependiendo de la presencia o ausencia de las bandas correspondientes a cada reacción (Villegas-Castagnasso y col, 2015).
- b. PCR en tiempo real con sondas TaqMan alelo específicas. Esta técnica requiere diseñar una sonda TaqMan específica para cada alelo y aprovecha la actividad exonucleasa 5' de la Taq polimerasa que elimina los nucleótidos desde el extremo 5' de una sonda unida a un fragmento de ADN a medida que avanza la polimerización desde un primer, generando de esta manera una señal fluorescente. La emisión de fluorescencia sólo ocurre si la sonda hibrida de manera específica para uno de los alelos (Villegas-Castagnasso y col, 2015).
- c. Análisis de curva de fusión de alta resolución (HRM). Permite caracterizar la variación genética de amplicones de ADN obtenidos por PCR en tiempo real a través de la disociación de la doble cadena al aumentar la temperatura. Se utiliza un fluoróforo que se intercala en el ADN para determinar la cantidad de ADN de doble cadena en cada ciclo y las curvas de fusión de alta resolución

permiten distinguir la composición de contenido GC en la secuencia del amplicón, incluyendo un SNP, por lo que es capaz de identificar alelos y amplicones con un contenido de GC idéntico (Figuras 4 y 5) (Vossen y col, 2009; Schiwek y col, 2020).

Aunque todas las técnicas mencionadas anteriormente pueden detectar SNPs, el HRM no requiere de primers ni sondas específicas para alelos, ya que se basa en las variaciones en la curva de fusión de las variantes amplificadas. Si bien el uso de las sondas TaqMan alelo-específicas provee una alta precisión y sensibilidad, HRM también ha demostrado tener una alta resolución y sensibilidad para detectar SNPs a un costo mucho menor (Vossen y col, 2009).

En los últimos años, la tecnología HRM ha sido utilizada en investigaciones dirigidas al mejoramiento de maíz. Un ejemplo es el estudio de Abakemal y col (2012) quienes compararon la eficacia de los marcadores de ADN polimórficos amplificados al azar (RAPD) y repeticiones de secuencias simples (SSR) en combinación con el análisis de fusión de alta resolución (HRM) para detectar la variabilidad genética en líneas endogámicas de maíz de calidad proteica (QPM). Los resultados mostraron patrones de fusión similares entre las líneas para ambos sistemas de marcadores. Además, las medidas de distancia genética y los resultados de la electroforesis en gel coincidieron con los datos de HRM. El análisis HRM demostró ser eficaz para detectar variaciones genéticas y puede permitir la exclusión de la electroforesis en gel en etapas tempranas de cribado, ahorrando tiempo y recursos.

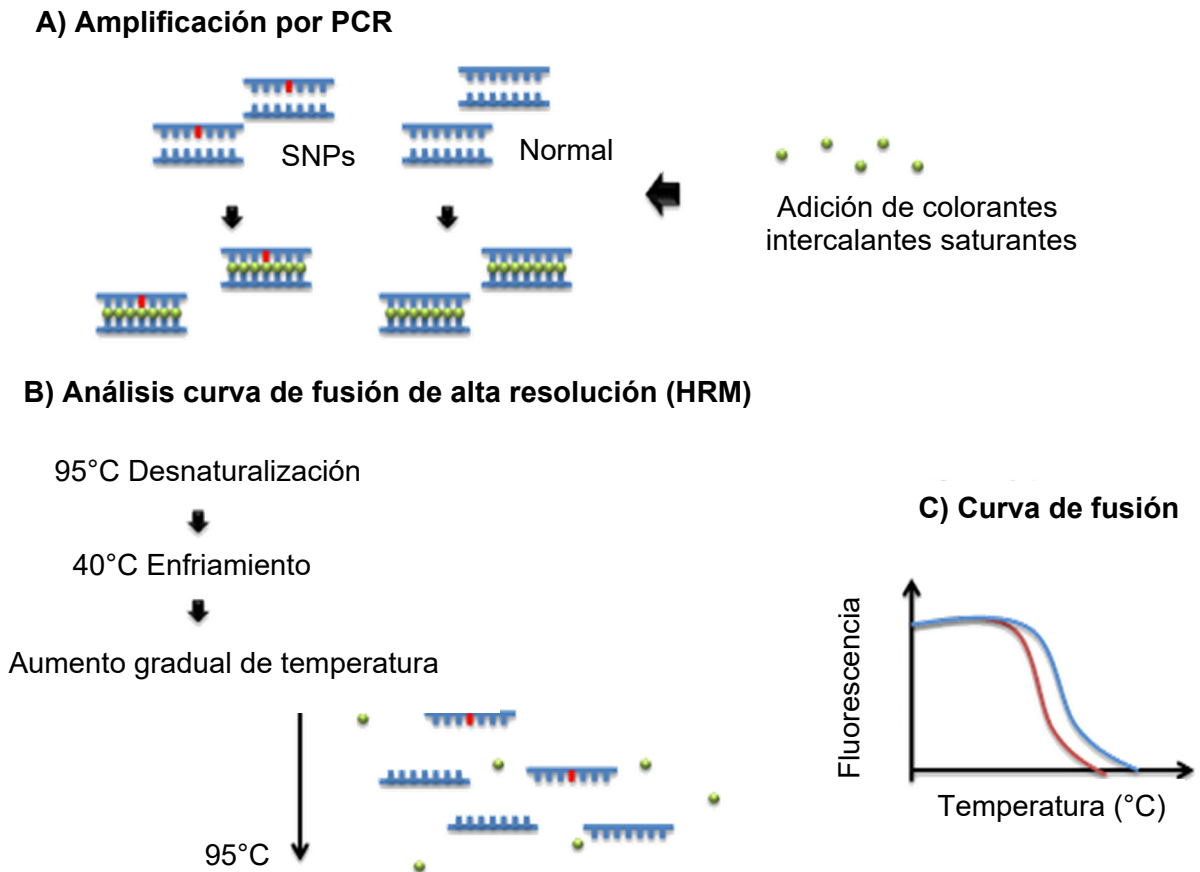


Figura 4. Diagrama del principio del análisis HRM. A) El ADN de interés se amplifica mediante PCR. A su vez se van agregando agentes intercalantes. B) El análisis de fusión de alta resolución se realiza justo después de la amplificación por PCR. Comienza con la desnaturalización del ADN a 95°C y el enfriamiento hasta 40°C, seguido de un aumento gradual de la temperatura desde alrededor de 65°C hasta 95°C. Los amplicones se separan cuando se alcanza la temperatura de fusión y, por lo tanto, los colorantes intercalados se liberan y las señales fluorescentes disminuyen. C) Los cambios de señal se detectan tras la excitación del láser durante el análisis y la curva de fusión se registra en consecuencia. Adaptado de Kim y col (2023).

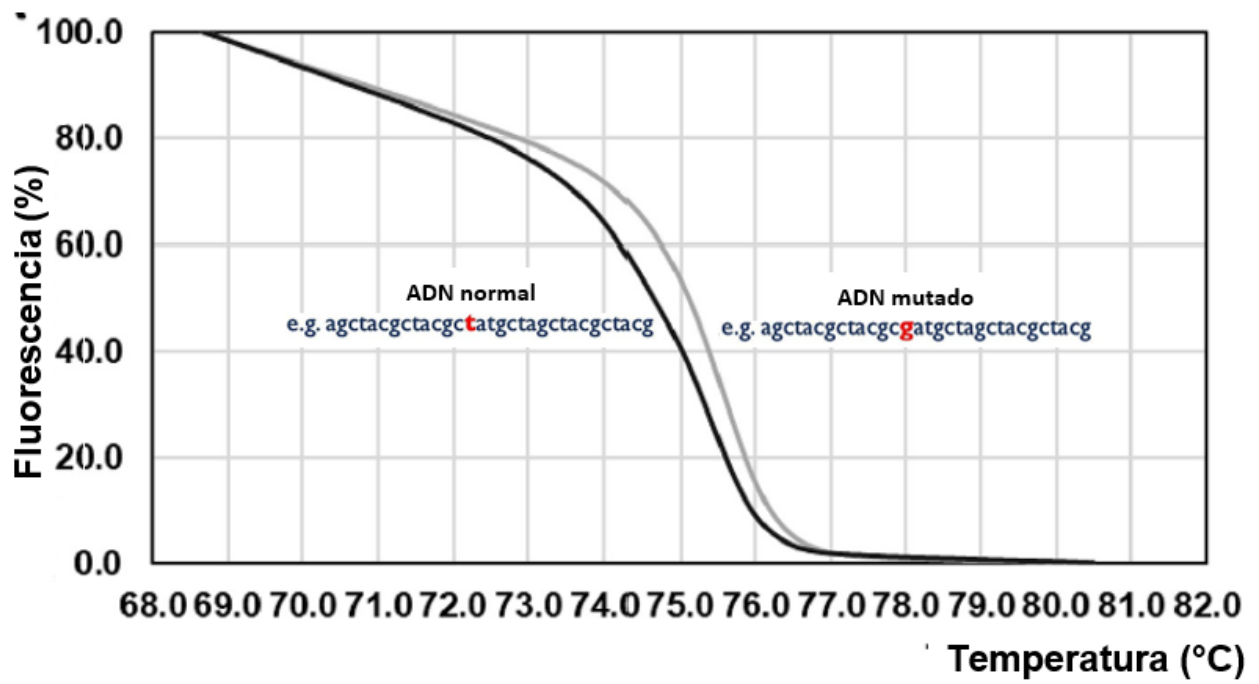


Figura 5. Curva de HRM. Adaptado de Miyoshi y col (2022)

Por su parte, Naidoo y col (2013) desarrollaron un marcador molecular basado en un SNP para identificar el gen *lpa1-1* en la etapa vegetativa temprana, con la finalidad de usarlo para reducir el contenido de ácido fítico (LPA) y mejorar la absorción de nutrientes. Los autores diferenciaron los genotipos homocigoto dominante, no dominante y heterocigoto mediante perfiles de fusión de alta resolución (HRM) y gráficos de diferencia normalizados. El análisis de HRM resultó ser mucho más económico y permitió confirmar el contenido reducido de fitato en una línea parental. Este avance facilitará un mejoramiento más eficiente y rápido del maíz para la característica de bajo contenido de ácido fítico (LPA).

En lo que respecta al programa de mejoramiento genético del INIFAP, el uso de marcadores moleculares en líneas doble haploide de maíz permite calcular índices de diversidad y estructura genética para identificar las líneas más contrastantes y combinaciones prometedoras para la generación de cruzas y explotación de la heterosis, con una alta variabilidad genética, sin probar todas las combinaciones de las líneas parentales, ahorrando tiempo y recursos económicos (Peinado Fuentes y col, 2021). Ríos-Sandoval (2017) realizó la genotipificación por GBS de 120 genotipos pertenecientes a las regiones del Bajío y el Noroeste de México, identificando un total de 35,770 SNPs que permitieron establecer la diversidad y estructura genética de los materiales estudiados. En el mismo sentido, Gaytán-Pinzón y col (2022) evaluaron la diversidad y estructura genética poblacional en 310 líneas DH derivadas de las cuatro poblaciones de mejoramiento de INIFAP: PBN, PBB, PAN y PAB. Ellos encontraron 19,078 marcadores de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) y los valores de contenido de información polimórfica fueron de 0.346, 0.352, 0.353 y 0.353; así como

heterocigosidad de 0.221, 0.194, 0.284 y 0.177 para PAB, PAN, PBN y PBB, respectivamente. Concluyeron que la amplia variabilidad genética entre las líneas analizadas tiene un gran potencial para aportar alelos específicos benéficos para los programas de mejoramiento utilizados en la generación de híbridos de maíz ACA. Valenzuela-Apodaca y col (2022) analizaron la diversidad genética de 49 líneas DH con alto contenido de aceite (5 PAB, 7 PAN, 3 PBB y 34 PBN) e identificaron 43 SNPs asociados con el contenido de aceite y 2 con el de proteínas, destacando los SNPs 5589069 (A/G, Adenina/Guanina), 100156460 (C/T, Citosina/Timina) y 2412207 (G/T, Guanina/Timina) que estuvieron presentes en el 70.9, 35.4 y 22.5 % de las líneas con ACA y el SNP 5586538 que estuvo presente en el 14.63 % de las líneas con alto contenido de proteína (Cuadro 6). Mediante el análisis de HRM los autores validaron la presencia de los SNP asociados con el contenido de aceite o proteína y se definieron como alelos favorables a aquellos que estaban presentes en líneas con un contenido de aceite > 6% y proteína > 10% (Cuadro 7). No obstante, es fundamental confirmar estos SNPs en los genotipos y las características físicas y químicas para establecer una relación entre las características evaluadas y la variabilidad observada en las cruzas experimentales.

Cuadro 6. Genes candidatos para aceite y proteína

| Gen ID Aceite (SNP ID) | Cromosoma | Descripción | Función |
|-----------------------------------|------------------|---|--|
| Zm00001d021040 (5589069) | 7 | Proteína de exportación de ácidos grasos 1, cloroplastos | Transporta los ácidos grasos de los plastidios e incrementa la producción de lípidos |
| Zm00001d012063 (100156460) | 8 | Proteínas de transferencia de lípidos (LTP) | Proteínas transportadoras de lípidos (LTP) mejoran la transferencia bidireccional entre membranas y permiten la unión de las cadenas de acilos |
| Zm00001d045304 (2412207) | 9 | Proteína de la familia de las aciltransferasas tipo HXXXD | Codifica para proteínas aciltransferasas involucradas en la síntesis de distintos ácidos grasos |

| Gen ID proteína (SNP ID) | Cromosoma | Descripción | Función |
|-------------------------------------|------------------|--------------------------------|--|
| Zm00001d021815 (5586538) | 7 | Factor de inicio de elongación | EF-1 α es una proteína rica en lisina que permite la unión de los aminoacil-tRNAs a los ribosomas |

Valenzuela-Apodaca y col (2022)

Cuadro 7. Alelos favorables para cada uno de los SNP asociados con el contenido de aceite y proteína

| ID SNP | Rasgo | SNP | Alelo favorable |
|---------------|--------------|------------|------------------------|
| 5589069 | Aceite | G>A | <u>G</u> /A |
| 100156460 | Aceite | C>T | <u>C</u> /T |
| 2412207 | Aceite | G>T | <u>G</u> /T |
| 5586538 | Proteína | A>G | <u>A</u> /G |

Las letras subrayadas indican el alelo favorable establecido en cada SNP.
Valenzuela-Apodaca y col (2022)

IV. JUSTIFICACIÓN

La agricultura del noroeste de México es muy relevante en el contexto nacional por sus aportaciones al volumen y valor de la producción, donde el estado de Sinaloa es líder en la producción de maíz. Sin embargo, aún existe una deficiencia en el desarrollo de híbridos de maíz competitivos y a bajo costo, por ello el INIFAP ha incursionado en el uso de líneas doble haploide a partir de poblaciones mejoradas y la implementación de herramientas genómicas en su programa mejoramiento genético de maíz con el fin de generar materiales competitivos y con valor agregado. El valor agregado de las cruzas experimentales de maíz del INIFAP, es su alto contenido de aceite (ACA) y proteína, lo cual, tiene como consecuencia un incremento en la calidad nutricional de estos materiales. Por lo tanto, es necesario analizar el genotipo de marcadores SNP para contenido de aceite y proteína, con el fin de verificar la composición química de las cruzas, así como sus características físicas y la estimación del rendimiento de grano.

V. HIPÓTESIS

Las cruzas experimentales de maíz ACA desarrolladas por INIFAP poseen características genéticas y de calidad del grano que permiten una buena selección para el desarrollo de híbridos comerciales competitivos.

VI. OBJETIVOS

A. OBJETIVO GENERAL

Caracterizar molecularmente cruzas experimentales de maíz con alto contenido de aceite y proteína desarrolladas por INIFAP y evaluar sus características de calidad del grano.

B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar el genotipo de líneas DH y cruzas experimentales mediante el uso de marcadores SNP asociados con el contenido de aceite y proteína.
2. Evaluar las características físicas del grano y rendimiento de las cruzas experimentales de maíz cultivadas bajo un esquema de polinización libre.
3. Determinar el contenido de los principales componentes químicos de las cruzas experimentales.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. MATERIALES

Un total de 26 líneas DH (13 de maíz amarillo y 13 de maíz blanco) y 21 cruzas experimentales de maíz ACA, así como los híbridos comerciales Hipopótamo (Asgrow) y Sunrice (Genetiks), se cultivaron en el Campo Experimental Valle del Fuerte del INIFAP en el ciclo Otoño-Invierno 2022-2023 (Cuadros 8 y 9). Se utilizaron las condiciones indicadas en la guía para cultivo de maíz del INIFAP (INIFAP, 2017).

Para el análisis del genotipo, se germinaron los granos de las líneas parentales y de la generación filial 1 (F1) de las cruzas experimentales para obtener ADN de tejido vegetativo. Los granos maduros de las cruzas experimentales e híbridos comerciales se utilizaron para evaluar el rendimiento y las características físicas. Posteriormente se procesaron con un molino de bolas MM400 (Retsch, Haan, Alemania) para obtener harinas que fueron utilizadas para los análisis de composición química.

B. MÉTODOS

1. Extracción de ADN

El ADN se extrajo de tejido foliar de plántulas de maíz de cada uno de los materiales enlistados en los Cuadros 8 y 9 utilizando un protocolo estándar de CTAB (Stewart y Via, 1993). En un tubo de 1.5 mL se homogeneizaron alrededor de 2 cm de hoja en presencia de 800 μ L de CTAB/PVP y 2 μ L de β -mercaptoetanol con ayuda de un pistilo de plástico. La mezcla se dejó incubar 1 h en baño maría a 65 °C con agitación y luego se centrifugó a 13,000 g por 10 min (Labnet, modelo PRISM™ R, Nueva Jersey, USA).

Cuadro 8. Líneas DH con ACA utilizadas como parentales de cruzas experimentales

| Maíz amarillo | Maíz blanco |
|----------------------|--------------------|
| CML451xCML486 | PBN32 |
| CML451xCML481 | PBN27 |
| PAN133 | PBN84 |
| PAN139 | PBN58 |
| PAN141 | PBN85 |
| PAN142 | PBN118 |
| PAN155A | PBN11a |
| PAB218 | PBB183 |
| PAB236 | PBB187 |
| PAB219 | SPBN678 |
| PAB209 | SPBN619 |
| SPAN212 | SPBB269 |
| SPAB15 | SPBB330 |

Cuadro 9. Cruzas experimentales de maíces ACA desarrolladas por INIFAP

| Maíz Amarillo | Maíz Blanco |
|-----------------------|--------------------|
| CML451/CML486xPAN133 | PBB183xPBN85 |
| CML451/CML486xPAB219 | PBB85xPBB183 |
| CML451/CML481xPAN139 | PBN11axPBB183 |
| CML451/CML481xPAB218 | PBB187xPBN32 |
| CML451/CML481xPAN141 | PBN32xPBB187 |
| CML451/CML481xPAN155A | PBN32xPBN118 |
| PAN139xPAB218 | PBN118xPBN32 |
| PAN142xPAB236 | PBN27xPBN32 |
| PAN142xPAB209 | PBN84xPBN58 |
| SPAB15xSPAN212 | SPBN619xSPBB330 |
| | SPBN678xSPBB269 |

Se pasó el sobrenadante a un tubo de 2 mL, se añadieron 650 μ L de cloroformo-alcohol isoamílico (24:1) y la mezcla se agitó en vórtex durante 2 min. Se centrifugó de nuevo a 13,000 g por 10 min y la fase acuosa se pasó a un tubo nuevo de 2 mL. Los lavados con cloroformo se repitieron 3 veces más. Posteriormente, se transfirieron aproximadamente 400-450 μ L del sobrenadante a un tubo de 1.5 mL y se añadió el equivalente al 70% del volumen de alcohol isopropílico, se mezcló por inversión 4-5 veces y se dejó precipitar a -20 °C toda la noche. La pastilla de ácidos nucleicos se recuperó centrifugando a 13,000 g por 15 min y descartando el sobrenadante. La pastilla obtenida, se lavó con 500 μ L de etanol al 70%, se centrifugó a 13,000 g por 15 min, se descartó el etanol y la pastilla se secó a temperatura ambiente. Finalmente, se resuspendió en 50 μ L de agua.

2. Cuantificación de ADN

La cuantificación se realizó utilizando un espectrofotómetro UV-Visible BioMate 3S (Thermo Scientific, Madison, USA), registrando la absorbancia a 260 nm del ADN en agua. Una densidad óptica de 1 corresponde a 50 μ g/mL de ADN de doble cadena. Para evaluar la pureza, se calculó el cociente de absorbancias 260/280 nm. Se considera que un valor entre 1.8 y 2.0 indica una pureza óptima, ya que un resultado inferior sugiere contaminación por proteínas y fenoles, mientras que uno mayor podría indicar la presencia de ARN. La integridad del ADN se valoró mediante electroforesis en gel de agarosa al 0.8% (p/v), seguido de una tinción con bromuro de etidio para la visualización de las bandas con luz UV en un sistema fotodocumentador XRS (Bio-Rad, USA).

3. HRM (High Resolution Melting)

A partir de marcadores SNP identificados previamente para el contenido de aceite y proteína (Valenzuela-Apodaca y col, 2022), se utilizó la técnica de HRM que consiste en la amplificación en tiempo real de una secuencia de ADN para identificar la presencia o ausencia del polimorfismo en cada una de las líneas DH y cruza F1 analizadas. Se utilizaron primers específicos para amplificar cada una de las variantes de marcadores previamente asociados con aceite y proteína (Cuadro 10).

El ensayo de HRM se llevó a cabo utilizando un sistema de PCR en tiempo real (QuantStudio™ 7 Flex) con un volumen de mezcla total de 10 μ L (5 μ L de MeltDoctor™ HRM Máster Mix, 0.5 μ L de ADN (20 ng/ μ L), 0.5 μ L de cada primer (5 μ M) y 3.5 μ L de agua desionizada). Las condiciones de amplificación fueron un ciclo a 95°C por 10min; seguido de 35 ciclos de 95°C por 15 s, 59 °C por 60 s, seguidos de fusión de 60 °C a 95 °C con un incremento de 0.025 °C por segundo (Valenzuela-Apodaca y col, 2022).

4. Características físicas del grano y rendimiento

Las cruza experimentales se evaluaron junto con testigos comerciales, en parcelas de 4 surcos de 50 m de longitud espaciados 0.8 m, con 2 repeticiones en bloques al azar y una densidad de 7 a 8 plantas/m, atendiendo las recomendaciones de manejo agronómico de la agenda técnica para maíz (INIFAP, 2017). Las variables físicas evaluadas incluyeron las dimensiones de los granos, el peso de 100 granos y peso hectolítrico, siguiendo la metodología descrita por la AACC (2000).

a. Dimensiones de grano

Se utilizó un micrómetro digital modelo 3109-25A (INSIZE, Suzhou New District, China) para medir la longitud, anchura y grosor de 25 granos seleccionados al azar.

Cuadro 10. Secuencia y ubicación de primers para SNP asociados con el contenido de aceite y proteína utilizados en PCR en tiempo real asociado a HRM

| SNP ID | Cromosoma | Posición | Primers | Tm (F/R) | %GC (F/R) |
|-----------------|-----------|-----------|--|----------|-----------|
| Aceite | | | | | |
| 5589069 | 7 | 141044791 | F gtctgcattcacgcacattg R cccttcttatgttcttctcttg | 59 | 50/43.5 |
| 100156460 | 8 | 167539498 | F actcaatgtcgaacgctacg R agcgctagatttgagtgagag | 59 | 50/50 |
| 2412207 | 9 | 18542642 | F agggttcaagggttcatcg R acagcagctcctgaatttc | 59 | 50/50 |
| Proteína | | | | | |
| 5586538 | 7 | 163521488 | F catacgttcacgcatgtgac R cgacaagaagtcgattgagg | 59 | 50/50 |

F: directo; R: reverso

Valenzuela-Apodaca y col (2022)

b. Peso de 100 granos

Se determinó seleccionando 100 granos al azar y registrando su peso en tres pruebas independientes en una balanza granataria (Sartorius, Acculab, AX224).

c. Peso hectolítrico

Se llenó un recipiente de volumen conocido con granos y se pesó en una balanza analítica (Sartorius, Acculab, ALC-2100.1). El peso hectolítrico se obtuvo dividiendo el peso de los granos entre el volumen del recipiente, ajustado a 1 L. Se llevaron a cabo 10 repeticiones.

d. Rendimiento

Se evaluó en campo considerando variables como: la superficie de cada parcela, porcentaje de materia seca del grano ajustado a 14% de humedad y un factor de corrección para su extrapolación a la superficie de una hectárea. Para ajustar la humedad al 14%, se tomó en cuenta la humedad presente como el peso de la cosecha, utilizando los factores de corrección descritos por INIFAP (2017), según las fórmulas que se detallan a continuación.

$$\text{Rendimiento por hectárea (t)} = \frac{(\text{Peso ajustado (t)})(10,000 \text{ m}^2)}{\text{Área de la parcela (m}^2)} 0.001$$

$$\text{Ajuste de humedad a 14\% (t)} = \frac{(100 - \% \text{humedad})(\text{Peso de cosecha(t)})}{86}$$

5. Humedad

Se determinó la humedad de acuerdo al método oficial 925.09B de la AOAC (1999). Se midió la pérdida de humedad de la muestra (3 g de harina) después de someterse a calentamiento durante 12 h a 70 °C y 2 h a 130 °C en estufa con circulación de aire forzado modelo DX402C (Yamato Scientific, Japón).

6. Grasa cruda

Se determinó de acuerdo al método 920.39C de la AOAC (1999). Las extracciones se realizaron en muestras de 1 g de harina envueltas en papel filtro. Se utilizaron matraces bola de fondo plano (a peso constante) con cornetas de recirculación conectadas a condensadores; las muestras se colocaron dentro de la corneta. Los matraces se rellenaron con 300 mL de éter de petróleo y se mantuvieron sobre placas de calentamiento a 105 ± 5 °C para permitir la ebullición del éter de petróleo y su consecuente recirculación sobre la muestra durante 4 h. Posteriormente, el solvente usado en la recirculación se recuperó y evaporó en estufa durante toda la noche a 80 °C. El matraz se pasó a un desecador durante 30 min y posteriormente se pesó para calcular el porcentaje de aceite de las muestras por diferencia de peso.

7. Proteína cruda

Se determinó por micro Kjeldahl de acuerdo al método oficial 960.52 de la AOAC (1999) para nitrógeno total. Se pesaron 0.2 g de harina y se digirieron con 5 mL de H₂SO₄ concentrado y mezcla reactiva de selenio (Merck Co., Alemania) a 200 °C hasta cambiar su coloración de negro a azul cristalino. Posteriormente, al material digerido se le añadieron 5 mL de agua desionizada. En la destilación, la muestra digerida se neutralizó con una solución de hidróxido de sodio al 40%; el producto destilado se recolectó en una solución de ácido bórico al 4% y fenolftaleína como indicador. La titulación se llevó a cabo con una solución valorada de HCl 0.1 N. La proteína cruda se calculó a partir del contenido de nitrógeno total utilizando un factor de 6.25.

8. Determinación de lisina

El contenido de lisina se determinó utilizando el ensayo colorimétrico con ácido trinitrobenzenosulfónico (TNBS) descrito por Felker y col (1978) con las modificaciones de Singh y col (2000). Se mezclaron 10 mg de harina con 1.5 mL de amortiguador de extracción (50 mM de $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7\text{-HCl}$, pH 9.4) por 1 h en un agitador varimix (Thermolyne, Dubuque, IA, EUA) a 80 rpm y temperatura ambiente. Después de centrifugó a 10,000 g por 8 min (Eppendorf, 22331 Hamburg, Alemania), el sobrenadante se diluyó 5 veces con amortiguador de extracción y se colocaron 200 μL por triplicado en una microplaca, seguido de la adición de 20 μL de TNBS (5 mg/mL) e incubación a temperatura ambiente por 1 h. Se leyó la absorbancia de las muestras a 415 nm en un lector de ELISA 680 (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA). Para la calibración, se preparó una curva estándar con concentraciones conocidas de lisina-HCl (Sigma-Aldrich, St Louis, EU) en las siguientes concentraciones: 10, 20, 40, 60 y 80 $\mu\text{g/mL}$.

9. Determinación de triptófano

Se utilizó el método del ácido glioxílico descrito por Nurit y col (2009). Se pesaron 20 mg de harina de maíz y se hidrolizaron con 1 mL de solución degradadora (papaína 0.1% (p/v), bromelaína 0.02%(p/v), PVPP 0.5%(p/v), 50 mL de acetato de sodio 0.1 M y 0.1%(v/v) de EDTA 0.5 M), se homogenizó la muestra y se incubó a 65 °C durante toda la noche en un Termomixer (Eppendorf, 5350 Hamburg, Alemania). Se recuperó el sobrenadante por centrifugación a 20,000 g por 5 min. (Eppendorf, 22331 Hamburg, Alemania). Se tomaron 50 μL del sobrenadante recuperado y se mezclaron con 150 μL del reactivo colorimétrico [(ácido glioxílico 0.1M, cloruro férrico 1.8 mM en 20 mL de ácido sulfúrico 7 N) + 20 mL de ácido sulfúrico 30 N]. La reacción generó un compuesto

colorido debido a la unión de una molécula de ácido glioxílico con dos moléculas de triptófano. La absorbancia se midió a 560 nm utilizando un lector de ELISA 680 (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA). Para la calibración, se preparó una curva estándar con concentraciones conocidas de triptófano (Sigma-Aldrich, St Louis, EUA) de 0, 10, 20, 30, y 40 mg/mL.

10. Obtención de extracto metanólico

Se mezclaron 0.05 g harina con 2 mL de metanol puro, la mezcla se agitó a 250 rpm durante 30 min y posteriormente se sonicó por 30 min. La mezcla se digirió con 1 mL de HCl 2 N a 90 °C durante 30 min, se dejó enfriar a -20 °C por 1 h, posteriormente se centrifugó a 15 000 g por 20 min a 4 °C (Labnet, modelo PRISM™ R, Nueva Jersey, USA) y se recuperó el sobrenadante. Los extractos se secaron en estufa (Eppendorf, modelo 5804 R, Germany) a 40 °C y se almacenaron a -20 °C hasta su análisis. Los extractos se reconstituyeron con 0.5 mL de metanol puro.

11. Fenólicos totales

Los fenólicos totales se determinaron por el método de Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965) adaptado para microplaca. El extracto metanólico o el estándar (0.02 mL) se mezcló con 0.180 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu, la solución se dejó reposar por 3 min a oscuridad y temperatura ambiente. Enseguida se agregaron 0.05 mL de solución saturada de Na₂CO₃ al 7% (p/v), se incubó a temperatura ambiente por 90 min en oscuridad y después se midió la absorbancia a 750 nm en un lector de microplacas Multiskan Sky (Thermo Fisher, Massachusetts, EUA). La cuantificación se realizó usando una curva de calibración de ácido gálico (0-500 µg/mL), utilizando agua

en lugar del extracto metanólico como control negativo. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/ 100 g de muestra en base seca (b.s).

12. Flavonoides totales

Para flavonoides totales se utilizó el método descrito por Heimler y col (2005). En una microplaca de 96 pocillos se agregaron 0.02 mL del extracto metanólico con 0.1 mL de agua y 0.006 mL de NaNO₂ al 5% (p/v); la microplaca se dejó reposar en oscuridad durante 6 min y se agregaron 0.012 mL de AlCl₃ al 10% (p/v). Después de 5 min de reposo en oscuridad se añadieron 0.06 mL de NaOH 1 M, seguido de 0.022 mL de agua. Se incubó a temperatura ambiente por 30 min en oscuridad y se midió la absorbancia a 510 nm en un lector de microplacas Multiskan Sky (Thermo Fisher). Para la cuantificación se utilizó una curva de calibración de catequina (0-700 µg/mL de catequina), utilizando agua en lugar del extracto metanólico como control negativo. Los valores se expresaron en mg equivalentes de catequina (EC) / 100 g de muestra b.s.

13. Actividad antioxidante

a. ABTS

La determinación de la capacidad antioxidante se llevó a cabo mediante la metodología descrita por Re y col (1999) con algunas adecuaciones para microplaca. El radical ABTS^{•+} se generó mezclando 5 mL de una disolución de ABTS (7mM en agua desionizada) y 5 mL de persulfato de potasio (2.45 mM). La mezcla se mantuvo en oscuridad y en reposo durante 16 h a temperatura ambiente. La disolución del ABTS^{•+} fue diluida con PBS (pH 7.4, 10 mM) hasta obtener un valor de absorbancia de 1.4 ± 0.1 a 734 nm. Para el ensayo se mezclaron 292.5 µL de la disolución de ABTS^{•+} con 7.5 µL de muestra. La microplaca se incubó durante 10 min en oscuridad y a

temperatura ambiente para posteriormente tomar lectura de la absorbancia a 734 nm usando un lector de microplacas 680 (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA). Los resultados fueron comparados con una curva estándar de Trolox y se expresaron como equivalentes de Trolox ($\mu\text{mol ET/ 100 g b.s.}$). El porcentaje de inhibición se obtuvo con la siguiente fórmula:

$$\frac{(Abs\ blanco - Abs\ muestra)}{Abs\ blanco} \times 100$$

b. DPPH

La evaluación se realizó de acuerdo al método propuesto por Brand-Williams y col (1995) con algunas modificaciones. El ensayo se realizó en microplaca en la cual se mezclaron 280 μL del radical DPPH (150 mg en metanol 80%) y 20 μL de muestra. Como blanco se utilizó una mezcla de 20 μL de metanol y 280 μL del radical. La microplaca se dejó reposar por 30 min a 37 °C en oscuridad y posteriormente se tomó lectura de la absorbancia a 540 nm usando un lector de microplacas 680 (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA). Los resultados se compararon con una curva estándar de Trolox y se expresaron como $\mu\text{mol ET/ 100 g b.s.}$ El porcentaje de inhibición se obtuvo con la fórmula:

$$\frac{(Abs\ blanco - Abs\ muestra)}{Abs\ blanco} \times 100$$

14. Carotenoides totales

a. Extracción de la muestra

La extracción y cuantificación de carotenoides totales se llevó a cabo mediante el método espectrofotométrico descrito por Kurilich y Juvik (1999) con algunas

modificaciones. Las extracciones se realizaron en oscuridad para minimizar la degradación de los carotenoides. Se utilizaron 0.6 g de harina y se le agregaron 6 mL de etanol puro con 0.1% de hidroxitolueno butilado (BHT) y la mezcla se incubó durante 5 min en baño María a 85 °C. Posteriormente, se le agregaron 0.5 mL de KOH al 80% y se calentó de nuevo en baño María por 10 min para su saponificación, a los 5 min de incubación se mezcló en un vortex durante 20 s. Inmediatamente después de la saponificación la mezcla se enfrió en un baño de hielo y luego se le agregaron 3 mL de agua destilada fría seguido de 3 mL de hexano, se mezcló en vortex y las muestras se centrifugaron a 1,200 g por 5 min (Eppendorf, modelo 5804 R, Alemania). La capa superior de hexano se transfirió a otro tubo y la capa inferior se extrajo 3 veces más con hexano. El hexano de los sobrenadantes combinados se evaporó con nitrógeno y los extractos se reconstituyeron con 10 mL de acetona y se sonicaron por 2 min para su solubilización.

b. Determinación de carotenoides totales

La concentración total de carotenoides se determinó según lo reportado por Singh (2010). Se tomaron alícuotas de la muestra en una cubeta de cuarzo y se midió la absorbancia a 450 nm en un espectrofotómetro UV-Visible BioMate 3S (Thermo Scientific, Madison, USA). El valor de la absorbancia de cada muestra se utilizó para determinar la concentración total de carotenoides con ayuda de la siguiente ecuación:

$$CT \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{g}} \right) = \frac{\text{Abs}}{\varepsilon} * PM * 1000 * 10}{W}$$

Donde:

ε = Coeficiente de extinción molar (130056 L/mol cm)

PM = peso molecular (557.7 g/mol)

W = Peso de la muestra (g)

La luteína, la zeaxantina y el betacaroteno son los carotenoides predominantes en el maíz. Se empleo un valor promedio para ϵ y PM.

15. Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa Statgraphics Plus 5.1 (Di Rienzo y col, 2001). Las variables de mediciones físicas y de composición química fueron evaluadas mediante un ANOVA de un solo factor (genotipo de maíz). Las comparaciones entre las medias de los genotipos se llevaron a cabo utilizando la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 95%, mientras que las diferencias entre los promedios de los materiales blancos y amarillos se analizaron mediante la prueba T-Student ($p \leq 0.05$).

VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. GENOTIPO DE SNP ASOCIADOS CON EL CONTENIDO DE ACEITE Y PROTEÍNA EN LÍNEAS DH Y CRUZAS EXPERIMENTALES DE MAÍZ ACA

A partir de la información reportada por Valenzuela-Apodaca y col (2022) se determinó mediante HRM el genotipo de 4 SNP en 26 líneas DH parentales y 21 cruzas ACA para identificar la presencia de alelos favorables asociados con el contenido de aceite y proteína, lo cual se logra registrando cambios en la temperatura de fusión aproximada para cada variante del SNP. En las Figuras 6 y 7 se muestran los perfiles de HRM de cada uno de los SNP analizados.

En el caso de los marcadores asociados con el contenido de aceite, las curvas de fusión del SNP 100156460 (C/T) muestran el mismo patrón en las líneas DH (Fig. 6A) y las cruzas experimentales (Fig. 6B), un cambio en la temperatura de fusión a aproximadamente 80 °C correspondiente al nucleótido C presente en ambos cromosomas, es decir, en condición homocigótica en todos los materiales. Cabe señalar que este comportamiento era de esperarse en las cruzas debido a que todas las líneas parentales contribuyen la variante alélica con C. En el SNP 2412207 (G/T) (Figuras 6C y 6D) se observa un cambio en la temperatura de fusión a los 82 °C, indicando un genotipo homocigoto para el alelo favorable (G/G), pero también se observó otro cambio a 77.5 °C, el cual de acuerdo con Valenzuela-Apodaca y col (2022) corresponde a un genotipo heterocigoto (G/T). El SNP 5589069 presentó un cambio a los 78°C, correspondiente al genotipo homocigoto con alelo favorable (G/G), y otro patrón de curva a los 77-80 °C, cercano a lo reportado para el genotipo heterocigoto (Figs. 6E y 6F).

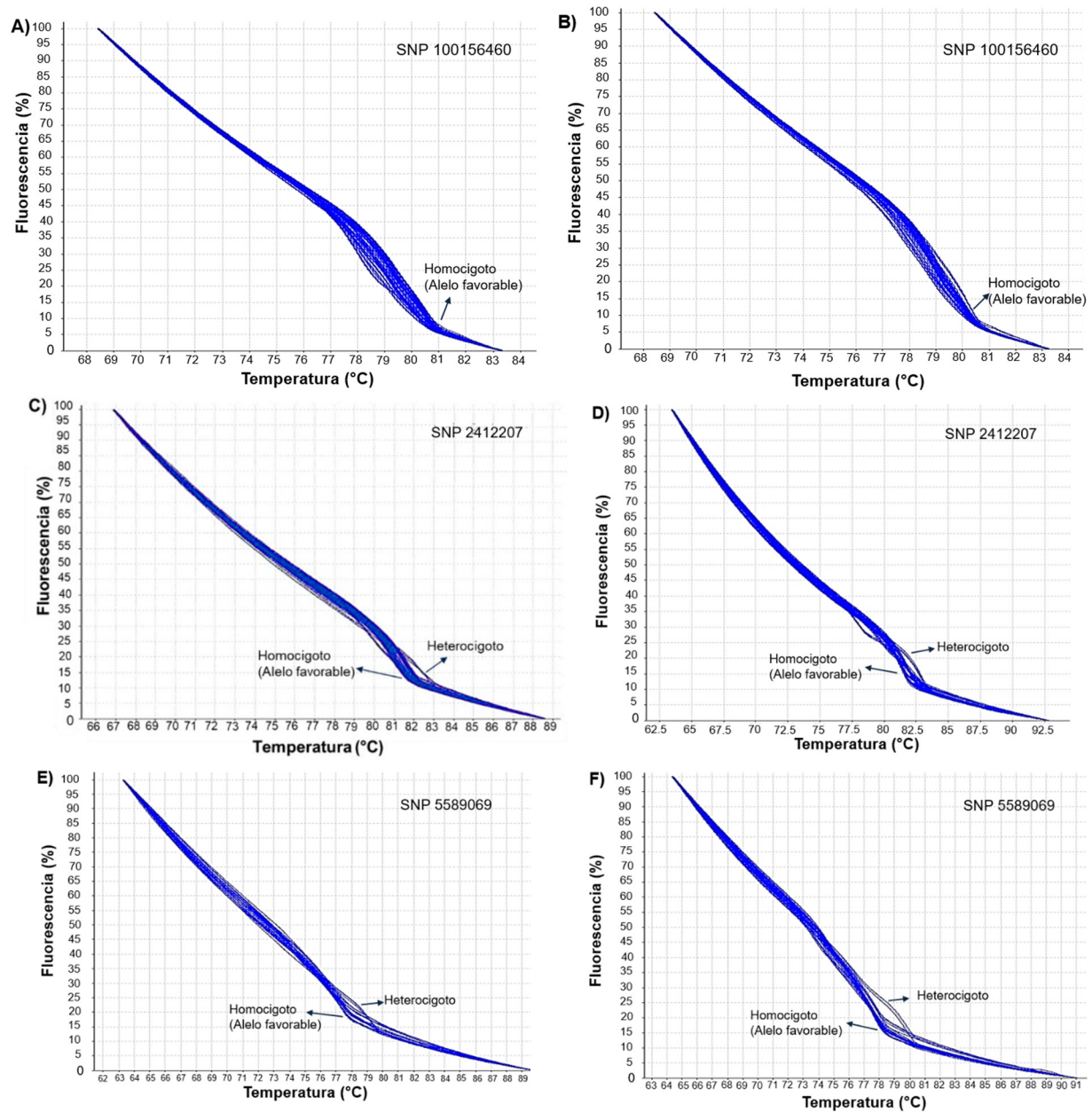


Figura 6. Curvas de fusión de marcadores SNP asociados con el contenido de aceite en líneas y cruzas de maíz ACA. A) Líneas parentales SNP 100156460, B) Cruzas ACA SNP 100156460, C) Líneas parentales SNP 2412207, D) Cruzas ACA SNP 2412207, E) Líneas parentales SNP 5589069 y F) Cruzas ACA SNP 5589069. Los alelos obtenidos para cada SNP se muestran en los cuadros 9 y 10.

La presencia del genotipo homocigoto con el alelo favorable en los SNP relacionados con el contenido de aceite se observó de la siguiente manera: el alelo favorable (G/G) del SNP 2412207 se encontró en el 88% de las líneas y en 95% de las cruzas, el alelo favorable (G/G) del SNP 5589069 estuvo presente en el 84% de las líneas y en el 95% de las cruzas, mientras que el alelo favorable (C/C) del SNP 100156460 se identificó en el 100% de las líneas y cruzas (Cuadros 11 y 12). Los genes donde se encuentran estos SNPs codifican principalmente para proteínas de exportación de ácidos grasos, proteínas transportadoras de lípidos y acil transferasas (Cuadro 6), por lo que la combinación de alelos en estos maíces puede favorecer la síntesis de ácidos grasos y un mayor contenido de aceite.

En relación con el SNP 5586538 (A/G) asociado al contenido de proteína (Figura 7), el cual se encuentra en el gen que codifica para el factor de elongación EF-1 α (Cuadro 6), mostró un cambio de temperatura a los 76.5 °C, lo que indica un genotipo homocigoto con el alelo favorable (A/A). También se observó otro cambio a 77.5°C, que de acuerdo con Valenzuela-Apodaca y col (2022) corresponde a un genotipo homocigoto del alelo no favorable (G/G). El genotipo homocigoto con el alelo favorable (A/A) del SNP 5586538 asociado a proteína se registró en el 96% de las líneas y en el 85% de las cruzas. Para este SNP, la crusa de maíz blanco PBN32xPBN118 debió ser heterocigota (A/G) y no homocigótica (A/A) como se registró en el análisis (Cuadro 12), sugiriendo una posible contaminación con un parental de genotipo A/A y no G/G como el de PBN118 durante la preparación de la crusa. Por otro lado, las cruzas PBN32xPBB187, SPBN619xSPBB330 y SPBN678xSPBB269 presentaron una condición homocigota (G/G) que no corresponde con los alelos de ninguna de las

Cuadro 11. Genotipo de marcadores SNP asociados con el contenido de aceite y proteína identificados por HRM en líneas de maíz ACA

| Línea de maíz | SNPs Aceite | | | SNP Proteína |
|--|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | 100156460 | 2412207 | 5589069 | 5586538 |
| | (<u>C</u> /T) | (<u>G</u> /T) | (<u>G</u> /A) | (<u>A</u> /G) |
| CML451/486 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| CML451/481 | C/C | G/T | G/G | A/A |
| PAN133 | C/C | G/G | G/A | A/A |
| PAB219 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| PBB183 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| PBN85 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| PAN139 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| PAB218 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| PAN141 | C/C | G/T | G/G | A/A |
| PAN155A | C/C | G/G | G/A | A/A |
| PAN142 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| PAB236 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| PAB209 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| PBB187 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| SPAB15 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| SPAN212 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| PBN11a | C/C | G/G | G/G | A/A |
| SPBN678 | C/C | G/G | G/A | A/A |
| SPBB269 | C/C | G/T | G/G | A/A |
| PBN32 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| PBN118 | C/C | G/G | G/G | G/G |
| PBN27 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| PBN84 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| PBN58 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| SPBN619 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| SPBB330 | C/C | G/G | G/A | A/A |
| Porcentaje de líneas con genotipo homocigoto para el alelo favorable | 100% | 88.4% | 84.6% | 96.1% |

Cuadro 12. Genotipo de marcadores SNP asociados con el contenido de aceite y proteína identificados por HRM en cruzas de maíz ACA

| Cruza Experimental | SNPs Aceite | | | SNP Proteína |
|---|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | 100156460 | 2412207 | 5589069 | 5586538 |
| | (<u>C</u> /T) | (<u>G</u> /T) | (<u>G</u> /A) | (<u>A</u> /G) |
| CML451/486xPAN133 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| CML451/486xPAB219 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| CML451/481xPAN139 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| CML451/481xPAB218 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| CML451/481xPAN141 | C/C | G/T | G/G | A/A |
| CML451/481xPAN155A | C/C | G/G | G/G | A/A |
| PAN139xPAB218 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| PAN142xPAB236 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| PAN142xPAB209 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| SPAB15xSPAN212 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| PBB183xPBN85 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| PBN85xPBB183 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| PBN11axPBB183 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| PBB187xPBN32 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| PBN32xPBB187 | C/C | G/G | G/G | G/G |
| PBN32xPBN118 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| PBN118xPBN32 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| PBN27xPBN32 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| PBN84xPBN58 | C/C | G/G | G/G | A/A |
| SPBN619xSPBB330 | C/C | G/G | G/G | G/G |
| SPBN678xSPBB269 | C/C | G/G | G/G | G/G |
| Porcentaje de cruzas con el alelo favorable de ambos parentales | 100% | 95.2% | 95.2% | 85.7% |

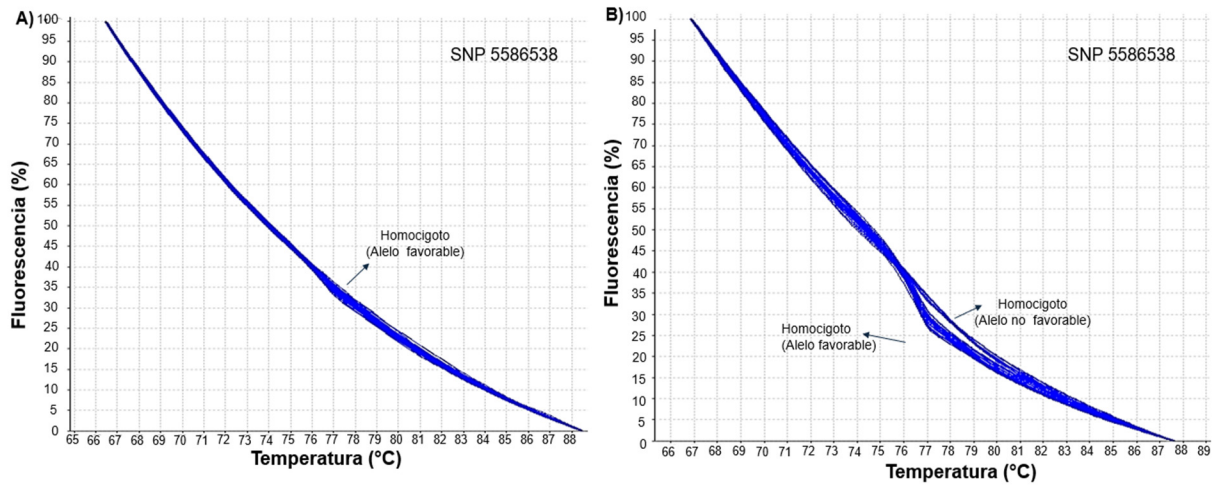


Figura 7. Curvas de fusión del marcador SNP 5586538 asociado con el contenido de proteína en líneas y cruzas de maíz ACA. A) Líneas parentales SNP 5586538 y B) Cruzas ACA SNP 5586538. Los alelos para cada SNP se muestran en los cuadros 9 y 10.

líneas parentales, lo que sugiere algún error en campo durante el establecimiento de las cruzas o bien durante el etiquetado.

Los resultados obtenidos en el presente estudio indican que la mayoría de las cruzas experimentales de maíz ACA analizadas poseen combinaciones favorables de variantes alélicas de genes relacionados con la síntesis de aceite y proteína que permiten desarrollar híbridos comerciales competitivos. Los resultados del desempeño agronómico de estas cruzas se indican en el siguiente apartado.

B. PROPIEDADES FÍSICAS DEL GRANO Y RENDIMIENTO DE LAS CRUZAS EXPERIMENTALES DE MAÍZ ACA

1. Características físicas del grano

Las propiedades físicas del grano de maíz son muy importantes por su relación con aspectos de producción y rendimiento. Entre ellas están el tamaño de grano, peso de 100 granos y peso hectolítrico. En el cuadro 13 se muestran las dimensiones de los maíces amarillos y blancos, se puede observar que el ancho promedio fue de 7.34 mm para los materiales blancos y 7.50 mm para los amarillos, mientras que el grosor promedio fue de 3.89 mm y 3.75 mm, respectivamente. Sin embargo, se observó una diferencia significativa en la longitud del grano, con una media de 11.41 mm para el maíz blanco en comparación con 9.49 mm para el amarillo. Estos resultados sugieren que, aunque no hubo variación significativa en el ancho ni en el grosor, los granos blancos tienden a ser más largos, y, por lo tanto, ligeramente más grandes que los amarillos. Por su parte, los testigos comerciales tuvieron granos más grandes, ya que las tres variables medidas mostraron valores significativamente superiores en comparación con las cruzas.

Cuadro 13. Dimensiones de los granos de las cruzas de maíz ACA

| Genotipo | Dimensiones (mm) | | |
|----------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|
| | Largo | Ancho | Grosor |
| Maíz amarillo | | | |
| Sunrice | 12.12 ± 0.73 ^a | 8.65 ± 0.53 ^b | 5.21 ± 0.67 ^a |
| CML451/486xPAN133 | 9.26 ± 0.90 ^{def} | 7.18 ± 0.48 ^c | 3.27 ± 0.39 ^{de} |
| CML451/486xPAB219 | 8.83 ± 0.76 ^f | 7.05 ± 0.59 ^c | 3.43 ± 0.51 ^d |
| CML451/481xPAN139 | 9.77 ± 0.57 ^{cde} | 8.27 ± 0.54 ^b | 4.72 ± 0.53 ^b |
| CML451/481xPAB218 | 7.53 ± 0.52 ^g | 6.41 ± 0.57 ^d | 2.95 ± 0.46 ^{ef} |
| CML451/481xPAN141 | 9.81 ± 0.87 ^{cd} | 6.82 ± 0.69 ^{cd} | 3.06 ± 0.65 ^{def} |
| CML451/481xPAN155A | 10.61 ± 0.72 ^b | 9.21 ± 0.56 ^a | 4.63 ± 0.62 ^b |
| PAN139xPAB218 | 12.07 ± 0.25 ^a | 8.72 ± 0.36 ^{ab} | 4.51 ± 0.46 ^{bc} |
| PAN142xPAB236 | 10.15 ± 0.61 ^{bc} | 7.21 ± 0.72 ^c | 4.10 ± 0.59 ^c |
| PAN142xPAB209 | 9.18 ± 0.57 ^{ef} | 5.46 ± 0.47 ^e | 2.76 ± 0.44 ^f |
| SPAB15xSPAN212 | 10.67 ± 0.28 ^b | 8.70 ± 0.41 ^b | 4.06 ± 0.36 ^c |
| Promedio | 9.79^B | 7.50^A | 3.75^A |
| Maíz blanco | | | |
| Hipopótamo | 12.78 ± 0.54 ^a | 9.43 ± 0.49 ^a | 4.80 ± 0.28 ^{ab} |
| PBB183xPBN85 | 10.81 ± 0.79 ^d | 6.21 ± 0.66 ^f | 3.07 ± 0.40 ^{ef} |
| PBN85xPBB183 | 10.88 ± 0.60 ^d | 6.40 ± 0.46 ^f | 2.88 ± 0.34 ^f |
| PBN11axPBB183 | 13.16 ± 0.48 ^a | 7.50 ± 0.48 ^{de} | 3.98 ± 0.55 ^d |
| PBB187xPBN32 | 12.09 ± 0.61 ^b | 7.53 ± 0.59 ^{de} | 4.51 ± 0.40 ^{bc} |
| PBN32xPBB187 | 11.89 ± 0.84 ^b | 8.28 ± 0.58 ^c | 4.90 ± 0.51 ^a |
| PBN32xPBN118 | 10.19 ± 0.58 ^e | 6.09 ± 0.60 ^f | 2.42 ± 0.30 ^g |
| PBN118xPBN32 | 12.87 ± 0.37 ^a | 7.64 ± 0.59 ^{de} | 4.3 ± 0.18 ^{cd} |
| PBN27xPBN32 | 11.74 ± 0.29 ^b | 7.15 ± 0.39 ^e | 4.38 ± 0.21 ^c |
| PBN84xPBN58 | 11.56 ± 0.36 ^{bc} | 7.92 ± 0.48 ^{cd} | 4.35 ± 0.27 ^c |
| SPBN619xSPBB330 | 11.10 ± 0.40 ^{cd} | 8.83 ± 0.57 ^b | 4.77 ± 0.41 ^{ab} |
| SPBN678xSPBB269 | 9.26 ± 0.90 ^f | 7.18 ± 0.48 ^e | 3.27 ± 0.39 ^e |
| Promedio | 11.41^A | 7.34^A | 3.89^A |

Sunrice e Hipopótamo son híbridos comerciales utilizados como testigos. Los resultados se reportan como la media ± desviación estándar. Letras minúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $p \leq 0.05$). Letras mayúsculas diferentes entre los promedios de los maíces blancos y amarillos indican diferencia significativa (t -student).

El peso de 100 granos se considera una medida indirecta del tamaño promedio del grano. Para esta característica se observó que los granos de maíz blanco tuvieron un peso promedio significativamente mayor que los de maíz amarillo (Cuadro 14), confirmando su mayor tamaño. Por su parte, los testigos comerciales presentaron un peso mayor que las cruzas experimentales, lo que indica un tamaño de grano superior. Según Salinas-Moreno y col (2010) este parámetro se utiliza para clasificar los granos en pequeños (< 33 g), medianos (33-38 g) y grandes (> 38 g). Todas las cruzas evaluadas tienen en promedio un peso de cien granos < 33 g, clasificándose como granos pequeños. En contraste, los testigos se clasificaron como granos grandes. Esta diferencia puede resultar beneficiosa, ya que las industrias prefieren granos de tamaño pequeño-mediano porque les permite una mejor optimización en tiempos de cocción y grado de hidratación durante la nixtamalización (Vázquez-Carrillo y col, 2023).

Los resultados de peso de 100 granos obtenidos están dentro del rango reportado por Vázquez-Carrillo y col (2018) en tres híbridos de maíz ACA (dos blancos y uno amarillo) y dos testigos comerciales. Los autores registraron un peso promedio de 30.44 g en maíz blanco y 32.47 g en maíz amarillo, mientras que los testigos registraron valores de 35.23 g y 38.68 g, respectivamente. Otros estudios reportaron un rango de 29.39 a 31.59 g para maíces ACA blancos y de 31.49 a 32.47 g para maíces amarillos, valores inferiores a los registrados por los testigos comerciales, 38.68 g en maíz blanco y 35.25 g en maíz amarillo (Preciado-Ortiz y col, 2019a; Preciado-Ortiz y col, 2019b; Preciado-Ortiz y col, 2019c; Preciado-Ortiz y col, 2019d). Estos resultados también están dentro del rango de valores obtenidos en el presente estudio (Cuadro 14).

Cuadro 14. Características de calidad del grano de cruzas de maíz ACA

| Genotipo | Peso de 100 granos (g) | Peso hectolítrico (kg/hL) | Rendimiento estimado (ton/ha) |
|----------------------|-------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|
| Maíz amarillo | | | |
| Sunrice | 38.18 ± 1.39 ^a | 77.41 ± 0.35 ^g | 4.9 |
| CML451/486xPAN133 | 29.42 ± 0.52 ^{bc} | 84.28 ± 0.22 ^a | 5.89 |
| CML451/486xPAB219 | 30.55 ± 1.19 ^b | 82.63 ± 0.30 ^b | 7.66 |
| CML451/481xPAN139 | 29.24 ± 0.82 ^{bc} | 80.81 ± 0.27 ^{de} | 5.93 |
| CML451/481xPAB218 | 28.30 ± 0.58 ^{bc} | 80.75 ± 0.38 ^{de} | 6.7 |
| CML451/481xPAN141 | 28.73 ± 0.81 ^{bc} | 80.91 ± 0.59 ^{de} | 4.83 |
| CML451/481xPAN155A | 30.32 ± 0.27 ^b | 82.93 ± 0.29 ^b | 5.56 |
| PAN139xPAB218 | 36.80 ± 0.10 ^a | 79.97 ± 0.73 ^f | 4.28 |
| PAN142xPAB236 | 23.19 ± 0.62 ^d | 81.28 ± 0.73 ^{cd} | 6.39 |
| PAN142xPAB209 | 22.98 ± 0.13 ^d | 81.62 ± 0.25 ^c | 8.09 |
| SPAB15xSPAN212 | 27.43 ± 1.03 ^c | 80.39 ± 0.61 ^{ef} | 5.68 |
| Promedio | 28.70^B | 81.56^A | 6.10^B |
| Maíz blanco | | | |
| Hipopótamo | 40.64 ± 1.37 ^a | 77.86 ± 0.53 ^f | 8.83 |
| PBB183xPBN85 | 30.19 ± 0.61 ^{cde} | 77.38 ± 0.22 ^f | - |
| PBN85xPBB183 | 31.27 ± 0.85 ^{cd} | 77.43 ± 0.27 ^f | 9.21 |
| PBN11axPBB183 | 34.67 ± 0.61 ^b | 79.50 ± 0.57 ^{de} | 12.84 |
| PBB187xPBN32 | 31.22 ± 0.30 ^{cd} | 79.20 ± 0.24 ^e | 9.31 |
| PBN32xPBB187 | 32.61 ± 0.17 ^{bc} | 80.09 ± 0.22 ^{cd} | 9.96 |
| PBN32xPBN118 | 29.28 ± 0.35 ^{de} | 80.49 ± 0.21 ^c | 9.18 |
| PBN118xPBN32 | 31.97 ± 0.40 ^c | 81.26 ± 0.69 ^b | 9.99 |
| PBN27xPBN32 | 30.17 ± 1.50 ^{cde} | 83.65 ± 0.81 ^a | 7.75 |
| PBN84xPBN58 | 28.43 ± 0.25 ^e | 83.42 ± 0.51 ^a | 8.34 |
| SPBN619xSPBB330 | 34.43 ± 1.40 ^b | 80.79 ± 0.63 ^{bc} | 10.16 |
| SPBN678xSPBB269 | 29.26 ± 0.53 ^{de} | 79.55 ± 0.39 ^{de} | - |
| Promedio | 31.23^A | 80.25^B | 9.64^A |

Sunrice e Hipopótamo son híbridos comerciales utilizados como testigos. Los resultados se reportan como la media ± desviación estándar. Letras minúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $p \leq 0.05$). Letras mayúsculas diferentes entre los promedios de los maíces blancos y amarillos indican diferencia significativa (t -student).

El peso hectolítrico es un estimador de la densidad y la dureza del grano, especialmente relevante para maíces destinados a procesos de nixtamalización. La norma NMX-FF-034/1-SCFI-2002 establece un valor mínimo de 74 kg/hL para estos procesos (Normas, 2002). Los datos obtenidos demuestran que todos los materiales cumplieron con la norma, por lo que son aptos para el procesamiento en industrias (Cuadro 14). Además, el peso hectolítrico de las cruzas en general fue superior al de los testigos comerciales, lo cual corresponde con el menor tamaño del grano en los maíces ACA.

Estos resultados se encuentran dentro de lo reportado por Vázquez-Carrillo y col (2018), quienes reportaron pesos promedio de 77.77 kg/hL para el maíz blanco ACA y 77.68 kg/hL en maíz amarillo ACA, ambos cumpliendo con el valor mínimo establecido por la norma. Vázquez-Carrillo y col (2020) obtuvieron resultados muy similares en otros maíces ACA, con valores que oscilaron entre 77 y 79 kg/hL.

2. Rendimiento

En términos de rendimiento, los materiales blancos mostraron un desempeño significativamente superior con un promedio de 9.64 ton/ha, en comparación con los materiales amarillos que alcanzaron un rendimiento promedio de 6.10 ton/ha (Cuadro 14). En ambos casos superaron los rendimientos obtenidos por los testigos comerciales con 8.83 ton/ha en maíz blanco y 4.9 ton/ha en maíz amarillo.

En estudios previos se reportaron rendimientos de 12.86 y 12.07 ton/ha en dos híbridos de maíz ACA blancos, valores que superaron el rendimiento del testigo comercial que obtuvo 10.05 ton/ha (Preciado-Ortiz y col, 2019c; Preciado-Ortiz y col, 2019d).

C. CARACTERIZACIÓN DE LOS PRINCIPALES COMPONENTES QUÍMICOS DE LAS CRUZAS EXPERIMENTALES DE MAÍZ ACA

1. Contenido de aceite

Se determinó el contenido de aceite en 11 cruzas de maíz ACA de grano blanco y 10 cruzas de maíz amarillo, así como un híbrido comercial blanco y uno amarillo como testigos (Figura 8). Las cruzas de maíz blanco presentaron valores entre 6.01% y 9.11%, con un promedio de 7.61%. En las cruzas de maíz amarillo se observaron contenidos de aceite similares con rango entre 6.10% y 9.01%, alcanzando un promedio de 7.29%. Por su parte, los híbridos comerciales blanco y amarillo presentaron contenidos de aceite de 4.68% y 4.74%, respectivamente, valores significativamente menores que los de las cruzas de maíz ACA (Figura 8). Todas las cruzas cumplieron con el criterio establecido para maíces ACA al presentar un porcentaje de aceite mayor al 6% (Barrera-Arellano y col, 2019).

Las cruzas de maíces blancos PBN27xPBN32, PBN84xPBN58 y SPBN619xSPBB330, así como las cruzas amarillas PAN142xPAB236, SPAB15xSPAN212, PAN139xPAB218 y PAN142xPAB209 fueron las más sobresalientes ya que casi duplican el contenido de aceite de los testigos comerciales, representando una buena alternativa como híbridos ACA.

Los porcentajes de aceite encontrados son un poco mayores a los reportados por Gaytán-Pinzón (2017), quien analizó cruzas simples de maíz ACA y encontró un contenido promedio de 6.15% en maíz blanco y 6.5% en maíz amarillo, mientras que en testigos comerciales encontró un contenido de 3.84% en maíz blanco y 3.18% en maíz amarillo.

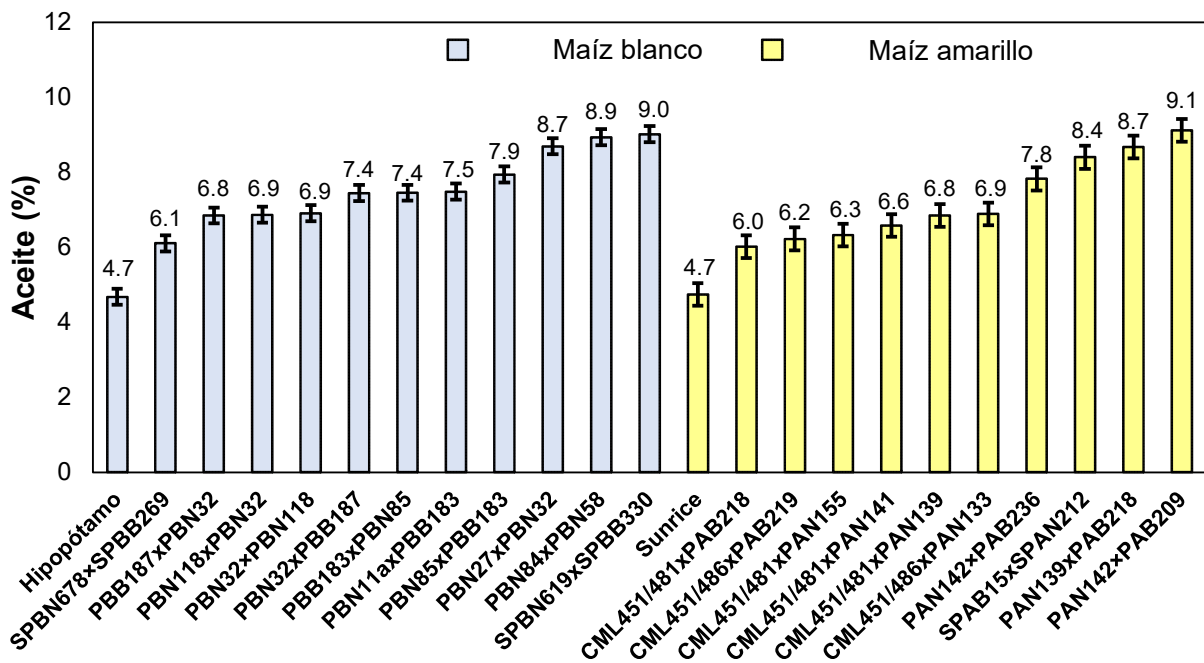


Figura 8. Contenido de aceite de las cruces experimentales de maíz ACA. Las barras indican diferencia significativa entre los maíces del mismo color (Tukey, $p \leq 0.05$) y los valores de las medias son diferentes cuando las barras no se traslapan.

En un estudio posterior, Gaytán-Pinzón y col (2022) analizaron el contenido de aceite en cruzas experimentales obtenidas de líneas DH con ACA, encontrando valores de 5.24% a 8.03% para cruzas de maíz amarillo y de 5.66% a 8.04% para las de maíz blanco. En el caso de maíces comerciales tuvieron un contenido de 3.89% y 3.19% en maíz blanco y amarillo, respectivamente. En el mismo sentido, Valenzuela-Apodaca y col (2022) cuantificaron el contenido de aceite de líneas DH para maíz blanco y amarillo, reportando valores entre 3.96% y 8.26% para líneas de maíz ACA blancas y de 5.44% a 7.50% para líneas de maíz amarillas.

De acuerdo con la genotipificación realizada en las cruzas usadas en el presente estudio, la mayoría poseen alelos favorables para los tres SNP analizados (Cuadro 12), y todas tienen al menos un alelo favorable para cada marcador. Debido a que todas las cruzas cumplen con el requisito de tener un contenido de aceite mayor al 6% (Figura 8), se puede sugerir que los genes asociados con estos SNP tienen una contribución significativa a esta característica.

2. Contenido de proteína

En el caso de proteína, las cruzas de maíz ACA blancos presentaron un contenido promedio de 9.50%, con un rango que varió entre 7.70% y 11.41%. Por su parte, los maíces amarillos tuvieron un promedio de 9.03%, con valores que oscilaron entre 8% y 12.03%. Los materiales testigo exhibieron contenidos de 8.09% y 8.36%, respectivamente (Figura 9). Varias de las cruzas, sobre todo las blancas, presentaron contenidos de proteína superiores a los testigos comerciales, destacando SPBN619xSPBB330 y PBN84xPBN58 en las cruzas blancas, así como PAN139xPAB218 y SPAB15xSPAN212 de las cruzas amarillas.

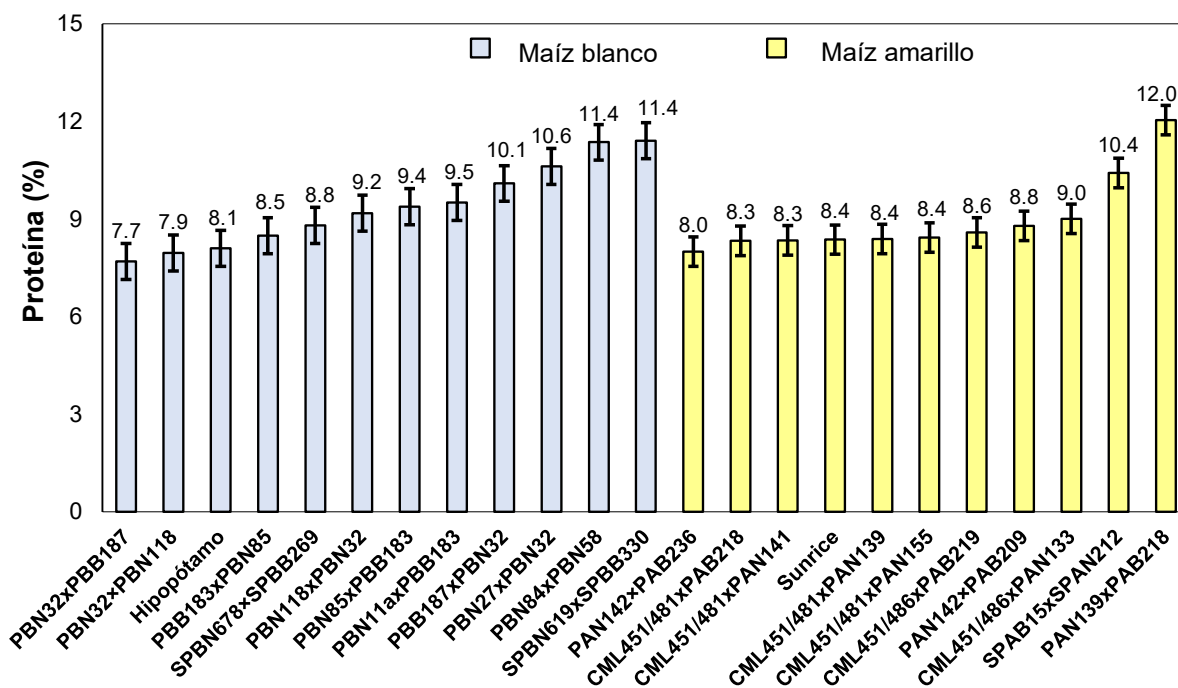


Figura 9. Contenido de proteína de las cruces experimentales de maíz ACA. La barras indican diferencia significativa entre los maíces del mismo color (Tukey, $p \leq 0.05$) y los valores de las medias son diferentes cuando las barras no se traslapan.

Los granos de maíz comercial contienen entre 8.5 y 10.5% de proteína (Silva y col, 2005), mientras que en maíces ACA, Vázquez-Carrillo y col (2014) reportaron contenidos de proteína entre 11% y 13% en maíz blanco, y de 12% a 13% en maíz amarillo. Estas tendencias no siempre son tan claras, ya que en otro estudio Vázquez-Carrillo y col (2018) obtuvieron contenidos de proteína entre 8.9% y 10.4%, mientras que los testigos tuvieron valores de 9.1% a 9.5%. Por otro lado, Ortíz-Islas y col (2019) reportaron un contenido de 10.5% a 15.6% en maíz blanco y de 11.0% a 16.5% en líneas DH de maíz amarillo ACA. También, Valenzuela-Apodaca y col (2022) reportaron un contenido de 8.4% a 15.6% en líneas DH de maíz ACA. En general, los resultados del presente estudio caen dentro de los rangos reportados.

La mayoría de las cruzas exhiben el alelo favorable para proteína (Cuadro 12), aunque no todas las que mostraron dichos alelos tuvieron contenidos de proteína mayores al 10% (Figura 9). Esta variabilidad podría atribuirse a la complejidad del proceso de síntesis de proteínas, el cual parece estar influenciado por varios factores posiblemente regulados por múltiples loci genéticos (Deng y col, 2017). Es importante destacar que el análisis genético se realizó únicamente en un SNP, por lo tanto, se requiere ampliar el análisis a un mayor número de estos marcadores para tener una mejor perspectiva de la asociación investigada.

El contenido de proteína de las cruzas mostró una correlación positiva con el contenido de aceite (Figura 10) ($r = 0.63$, $p = 0.001$), y una tendencia en el mismo sentido con la longitud de los granos ($r = 0.307$, $p = 0.01$). Estas asociaciones sugieren que el aumento de estas características puede atribuirse al incremento en el tamaño del grano, especialmente del germen, que es conocido por contener la mayor cantidad

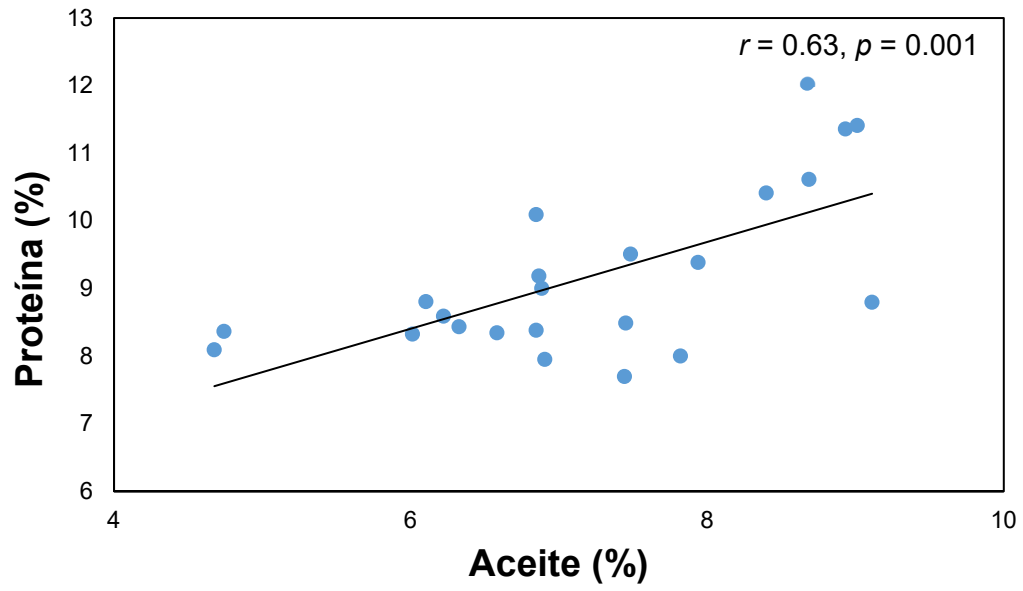


Figura 10. Correlación entre el contenido de aceite y proteína de las cruza experimentales

de estos componentes. En este sentido, Okporie y Oselebe (2007) reportan una correlación positiva entre el incremento en el contenido de aceite y el de proteína. En un estudio posterior, Okporie y col (2013) relacionaron este incremento con una disminución en el peso del endospermo y un incremento en el peso del pericarpio y el germen.

Valenzuela-Apodaca y col (2022) mencionan que, aunque el programa de mejoramiento de INIFAP está enfocado en incrementar el contenido de aceite, la acumulación de proteína en el grano también muestra resultados positivos. Estos hallazgos coinciden con lo reportado por Angulo-Reyes (2024), quien señala que los granos de maíz ACA contienen aproximadamente el doble de aceite en comparación con el maíz convencional y presentan de 3.8% a 28.5% más de proteína debido a la morfología del maíz ACA, que posee un germen de mayor tamaño. Además, se observó una correlación inversa altamente significativa entre el contenido de almidón y el de proteína ($r = -0.901$, $p < 0.001$), lo que indica que la mayor proporción de germen está asociada a una menor proporción de endospermo. Esto se refleja en la menor cantidad de almidón, principal componente del endospermo, en los maíces estudiados.

3. Contenido de lisina

El contenido de lisina en las cruzas experimentales varió entre 0.08 y 0.37 mg /100 mg harina en maíz blanco, con un promedio de 0.163 mg/100 mg. En el maíz amarillo, el contenido de lisina osciló entre 0.05 y 0.26 mg /100 mg harina con un promedio de 0.136 mg/100 mg. Los testigos mostraron contenidos de 0.07 y 0.09 mg /100 mg harina, respectivamente (Cuadro 15). El valor promedio de lisina en maíces

Cuadro 15. Contenido de lisina y triptófano de las cruzas experimentales de maíz ACA

| Genotipo | Lisina (mg/100mg harina b.s.) | Lisina (mg/100mg proteína b.s.) | Triptófano (mg/100mg harina b.s.) | Triptófano (mg/100mg proteína b.s.) |
|----------------------|--|--|--|--|
| Maíz amarillo | | | | |
| Sunrise | 0.09 ± 0.0 ^{fg} | 1.02 ± 0.03 ^{ef} | 0.022 ± 0.003 ^f | 0.26 ± 0.04 ^e |
| CML451/486xPAN133 | 0.10 ± 0.0 ^f | 1.10 ± 0.01 ^e | 0.031 ± 0.002 ^{def} | 0.34 ± 0.03 ^{de} |
| CML451/486xPAB219 | 0.13 ± 0.0 ^{de} | 1.5 ± 0.03 ^{cd} | 0.027 ± 0.005 ^{ef} | 0.31 ± 0.06 ^e |
| CML451/481xPAN139 | 0.07 ± 0.0 ^g | 0.88 ± 0.02 ^f | 0.039 ± 0.003 ^{cde} | 0.46 ± 0.03 ^{bcd} |
| CML451/481xPAB218 | 0.13 ± 0.0 ^d | 1.62 ± 0.0 ^c | 0.042 ± 0.005 ^{bcd} | 0.51 ± 0.07 ^{bc} |
| CML451/481xPAN141 | 0.12 ± 0.0 ^e | 1.39 ± 0.0 ^d | 0.039 ± 0.005 ^{cde} | 0.46 ± 0.06 ^{bcd} |
| CML451/481xPAN155 | 0.05 ± 0.0 ^h | 0.62 ± 0.01 ^g | 0.027 ± 0.005 ^{ef} | 0.32 ± 0.06 ^{de} |
| PAN139xPAB218 | 0.16 ± 0.0 ^c | 1.32 ± 0.03 ^d | 0.066 ± 0.008 ^a | 0.55 ± 0.07 ^{ab} |
| PAN142xPAB236 | 0.22 ± 0.0 ^b | 2.70 ± 0.03 ^b | 0.055 ± 0.003 ^{ab} | 0.68 ± 0.04 ^a |
| PAN142xPAB209 | 0.26 ± 0.02 ^a | 2.92 ± 0.21 ^a | 0.045 ± 0.003 ^{bc} | 0.51 ± 0.03 ^{bc} |
| SPAB15xSPAN212 | 0.12 ± 0.0 ^e | 1.12 ± 0.0 ^e | 0.039 ± 0.005 ^{cde} | 0.38 ± 0.04 ^{cde} |
| Promedio | 0.136^A | 1.517^A | 0.041^A | 0.45^A |
| Maíz blanco | | | | |
| Hipopótamo | 0.07 ± 0.0 ⁱ | 0.86 ± 0.06 ^g | 0.037 ± 0.003 ^b | 0.45 ± 0.04 ^{bcd} |
| PBB183xPBN85 | 0.10 ± 0.01 ^{fgh} | 1.22 ± 0.14 ^{ef} | 0.037 ± 0.005 ^b | 0.44 ± 0.06 ^{cd} |
| PBN85xPBB183 | 0.13 ± 0.02 ^{ef} | 1.37 ± 0.19 ^{de} | 0.039 ± 0.003 ^b | 0.41 ± 0.04 ^{cd} |
| PBN11axPBB183 | 0.11 ± 0.0 ^{efg} | 1.19 ± 0.04 ^{ef} | 0.040 ± 0.007 ^{ab} | 0.42 ± 0.07 ^{cd} |
| PBB187xPBN32 | 0.10 ± 0.0 ^{fgh} | 1.0 ± 0.01 ^{fg} | 0.044 ± 0.002 ^{ab} | 0.44 ± 0.02 ^{cd} |
| PBN32xPBB187 | 0.08 ± 0.0 ^{hi} | 1.0 ± 0.03 ^{fg} | 0.045 ± 0.001 ^{ab} | 0.58 ± 0.02 ^{ab} |
| PBN32xPBN118 | 0.10 ± 0.0 ^{ghi} | 1.22 ± 0.02 ^{ef} | 0.040 ± 0.002 ^{ab} | 0.51 ± 0.02 ^{abc} |
| PBN118xPBN32 | 0.26 ± 0.02 ^b | 2.81 ± 0.25 ^b | 0.039 ± 0.001 ^b | 0.42 ± 0.01 ^{cd} |
| PBN27xPBN32 | 0.22 ± 0.01 ^c | 2.07 ± 0.11 ^c | 0.040 ± 0.005 ^{ab} | 0.38 ± 0.05 ^{cd} |
| PBN84xPBN58 | 0.18 ± 0.0 ^d | 1.55 ± 0.01 ^d | 0.039 ± 0.006 ^b | 0.34 ± 0.05 ^d |
| SPBN619xSPBB330 | 0.37 ± 0.0 ^a | 3.28 ± 0.04 ^a | 0.047 ± 0.005 ^{ab} | 0.41 ± 0.04 ^{cd} |
| SPBN678xSPBB269 | 0.14 ± 0.01 ^e | 1.59 ± 0.06 ^d | 0.053 ± 0.007 ^a | 0.60 ± 0.08 ^a |
| Promedio | 0.163^A | 1.664^A | 0.042^A | 0.45^A |

Sunrice e Hipopótamo son híbridos comerciales utilizados como testigos. Los resultados se reportan como la media ± desviación estándar. Letras minúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $p \leq 0.05$). Letras mayúsculas diferentes entre los promedios de los maíces blancos y amarillos indican diferencia significativa (t -student).

blancos fue 1.5 veces más alto que el del testigo, mientras que en maíces amarillos el contenido promedio de lisina fue 2.3 más alto que el del híbrido comercial. Este incremento en el contenido total de lisina en maíces ACA puede atribuirse principalmente al aumento en el contenido de proteínas, como consecuencia del aumento en el germen, donde se encuentran albúminas y glutelinas que tienen un mayor contenido de lisina comparado con las zeínas del endospermo que son deficientes en este aminoácido.

El contenido de lisina expresado como porcentaje de proteína mostró valores entre 1 y 3.28 mg/100 mg proteína en maíces blancos, con un promedio de 1.66 mg/100 mg. En maíces amarillos, el rango fue de 0.62 a 2.92 mg /100 mg proteína con un promedio de 1.52. Los testigos arrojaron valores de 0.86 y 1.02 mg /100 mg proteína, respectivamente. En general el promedio de lisina observado en los maíces ACA blancos y amarillos fue 1.95 y 1.47 veces más alto que sus testigos, respectivamente.

Vázquez-Carrillo y col (2014) encontraron niveles de lisina promedio de 3.37 mg/100 mg de proteína en maíces blancos y amarillos ACA. Por su parte, Ortíz-Islas y col (2019) evaluaron la composición de aminoácidos de dos híbridos ACA blancos y dos amarillos, encontrando concentraciones de 2.52 y 3.17 mg/100 mg proteína en maíces blancos, así como 2.68 y 2.77 mg/100 mg de proteína en maíces amarillos. Los autores destacaron que estos contenidos fueron muy similares a los encontrados en el maíz común. Esto se puede deber a que el contenido de proteína en los maíces normales es menor y al dividir el contenido de lisina da casi el mismo porcentaje que el obtenido en el maíz ACA.

Los resultados obtenidos por estos autores en maíces ACA son superiores a los obtenidos en el presente estudio, lo cual podría deberse principalmente al genotipo y a las diferencias en el método utilizado para estimar el contenido de lisina. Sin embargo, los resultados permitieron determinar la variabilidad de las cruzas en este aminoácido y contrastarla con la de los testigos comerciales.

El contenido de lisina expresado en mg/100mg harina b.s. presentó una correlación positiva con el de proteína ($r = 0.469$, $p=0.001$). Además, se observó que los maíces blancos presentaron una mayor variabilidad en el contenido de lisina en comparación con los amarillos (Cuadro 15). Las cruzas más destacadas fueron SPBN619xSPBB330 y PBN118xPBN32 en maíz blanco, PAN142xPAB236 y PAN142xPAB209 en maíz amarillo.

4. Contenido de triptófano

El contenido de triptófano en las cruzas experimentales varió entre 0.037 y 0.053 mg /100 mg de harina en maíz blanco, con un promedio de 0.042 mg/100 mg (Cuadro 15). En el maíz amarillo, el contenido osciló entre 0.027 y 0.066 mg /100 mg de harina con un promedio de 0.041 mg/100 mg. Los maíces testigos mostraron contenidos de 0.037 y 0.022 mg /100 mg, respectivamente. En los maíces ACA blancos se observó un contenido de triptófano ligeramente mayor con respecto al testigo comercial, mientras que en los maíces amarillos en promedio mostraron casi el doble de contenido de triptófano con respecto al testigo. Como se indicó en el caso de lisina, el incremento de triptófano en maíces ACA está asociado a un incremento en las fracciones de proteína del germen que si contienen este aminoácido y a una posible

disminución de las zeínas en el endospermo, las cuales son muy deficientes en este aminoácido.

Al evaluar el contenido de triptófano como porcentaje de proteína, se registraron rangos de 0.41 a 0.60 mg /100 mg proteína en maíz blanco y de 0.31 a 0.68 mg /100 mg proteína en maíz amarillo, con un promedio de 0.45 mg /100 mg proteína en ambos casos. Por su parte, los testigos presentaron valores de 0.45 y 0.26 mg /100 mg proteína, respectivamente. De manera general no hubo diferencias entre el contenido de triptófano observado en los maíces ACA blancos y su testigo, mientras que el promedio de triptófano de los maíces ACA amarillos fue 1.8 veces más alto que el testigo.

Los resultados obtenidos en el presente estudio son cercanos a los reportados por Vázquez-Carrillo y col (2014), quienes registraron niveles promedio de triptófano de 0.65 mg/100 mg de proteína en maíz ACA blanco y de 0.69 mg/100 mg de proteína en maíz ACA amarillo. Por su parte, Ortiz-Islas y col (2019) reportaron concentraciones de triptófano en maíz ACA que variaron entre 0.53 y 0.79 mg /100 mg proteína en maíz blanco, y de 0.72 a 0.78 mg/100 mg de proteína en maíz amarillo. Al igual que lo encontrado para el caso de lisina, los investigadores observaron resultados similares en el contenido de triptófano en porcentaje de proteína con respecto a los maíces comunes. Como se indicó en el caso de lisina, los maíces normales a pesar de tener un menor contenido total del aminoácido, al dividir este valor entre un menor contenido de proteína se obtiene un porcentaje similar al encontrado en un maíz ACA.

Los resultados indicaron una correlación positiva entre el contenido de proteína y triptófano ($r = 0.321$, $p=0.007$), así como entre el contenido de lisina y triptófano ($r =$

0.366, $p=0.002$). Las cruzas de maíz blanco SPBN678xSPBB269, y las amarillas PAN139xPAB218 y PAN142xPAB236 destacaron por tener los valores más altos. Se observó una tendencia comparable a la del contenido de lisina, de tal manera que dentro de los maíces amarillos las cruzas PAN139xPAB218 y PAN142xPAB236 presentaron valores altos de ambos aminoácidos. En el caso de los maíces blancos se puede destacar la crusa SPBN619xSPBB330 por su alto contenido de lisina y moderado contenido de triptófano, seguido de las cruzas PBN118xPBN32 y PBN27xPBN32 que mostraron un balance razonable de estos aminoácidos.

5. Contenido de fenólicos totales

El contenido de fenólicos totales en los materiales analizados varió entre 411.3 y 569.9 mg EAG/100 g en maíz blanco, con un promedio de 487.47 mg EAG/100g, y entre 416.9 y 573.2 mg EAG/100 g en maíz amarillo, con un promedio de 477.61 mg EAG/100g (Figura 11). El contenido de fenólicos en algunas de las cruzas es casi el doble del observado en los maíces comerciales (249.9-299.9 mg EAG/100 g). Entre los materiales analizados, la crusa de maíz blanco PBN84xPBN58 fue la más sobresaliente con un contenido de fenólicos 2.3 veces mayor con respecto al testigo blanco. Un resultado similar se observó al comparar la crusa de maíz amarillo PAN139xPAB218 con su testigo (Figura 11).

Existe muy poca información sobre el contenido de compuestos fenólicos en maíces ACA, ya que la mayoría de las investigaciones se han centrado en el contenido de aceite y proteína. Sin embargo, en otro tipo de maíces se han reportado una gran diversidad de trabajos.

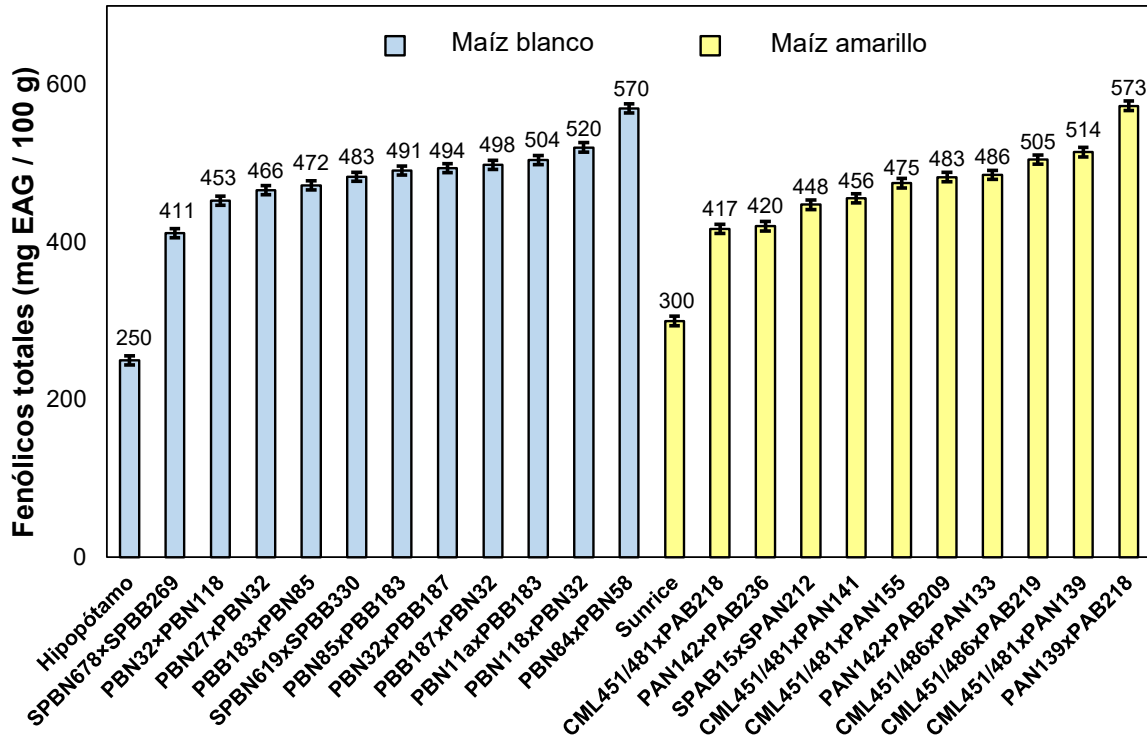


Figura 11. Contenido de fenólicos totales de las cruzas experimentales de maíz ACA. Las barras indican la diferencia significativa entre los maíces del mismo color (Tukey, $p \leq 0.05$) y los valores de las medias son diferentes cuando las barras no se traslapan.

Columba de la Parra (2006) analizó maíces con textura intermedio-intermedio duro proporcionados por un programa de fitomejoramiento de la Universidad de Texas A&M, reportando 260.7 mg EAG/100 g y 285.8 mg EAG/100 g en maíz blanco y amarillo, respectivamente. Gaxiola-Cuevas y col (2017) encontraron un contenido de 233.1 mg EAG/100 g en maíz blanco, mientras que Horvat y col (2020) reportaron un contenido de 221.3 mg EAG/100 g en híbridos comerciales de maíz amarillo. Por su parte, Babić y col (2020) observaron niveles de 259.01 mg EAG/100 g en maíz blanco y 271.77 mg EAG/100 g en maíz amarillo. Estos resultados corresponden con los contenidos de fenólicos totales observados en el presente estudio para los maíces comerciales y da soporte a los valores obtenidos en las cruzas de maíz ACA. De igual manera se observa un mayor contenido de fenólicos totales en los maíces amarillos.

Maíces con germen de mayor tamaño presentan un aumento en el contenido de compuestos fenólicos (Alameldin y col, 2017), lo cual se atribuye a que los fenólicos libres se encuentran predominantemente en el germen (Cabrera-Soto y col, 2009), mientras que los ligados están más asociados a las paredes celulares del pericarpio. Conocer el contenido de los compuestos fenólicos tanto en su forma libre como ligada es fundamental, ya que ambas formas pueden presentar propiedades funcionales distintas que impactan la salud humana. La fracción ligada a la fibra dietética parece ser liberada en el intestino por acción de las enzimas bacterianas, lo que desencadena efectos biológicos relevantes. Por otro lado, la fracción libre se mantiene soluble en los medios digestivos del intestino delgado, lo que sugiere que podría tener un potencial efecto antioxidante (Huaman-Alvino, 2017).

El notable incremento en el contenido de fenólicos, reconocidos por sus beneficios para la salud, sugiere la necesidad de enfocar futuros estudios en el estudio de estos compuestos en los maíces ACA.

6. Contenido de flavonoides totales

El contenido de flavonoides en las cruzas experimentales osciló entre 105.3 y 152.2 mg EC/100 g en maíz blanco con un promedio de 132.4 mg EC/100 g, mientras que en maíces amarillos varió de 117.1 a 163.8 mg EC/100 g con un promedio de 142.45 mg EC/100 g (Figura 12). Entre los materiales evaluados, los más destacados fueron PBN11axPBB183 y PBB183xPBN85 en maíz blanco, así como PAN142xPAB209 y PAN139xPAB218 en maíz amarillo, que mostraron los niveles más altos de flavonoides, casi el doble en comparación con los testigos comerciales.

Babić y col (2020) reportaron en híbridos comerciales contenidos de flavonoides de 24.22 mg EC/100 g en maíz blanco y 26.35 mg EC/100 g en maíz amarillo, mientras que Rodríguez-Salinas y col (2020) reportaron contenidos de 24 mg EC/100 g en maíz blanco y 59.25 mg EC/100 g en maíz amarillo comunes. Estos valores son inferiores a los observados en el presente estudio para los híbridos comerciales, lo que podría atribuirse al genotipo o a diferencias en la metodología utilizada, a pesar de que en ambos casos se tiene una hidrólisis alcalina con NaOH 4M seguida de extracciones con acetato de etilo y éter dietílico.

Los resultados del contenido de flavonoides en los materiales estudiados siguen un patrón similar al observado en los fenólicos totales, evidenciando un aumento de casi el doble en las cruzas ACA con respecto a los testigos comerciales.

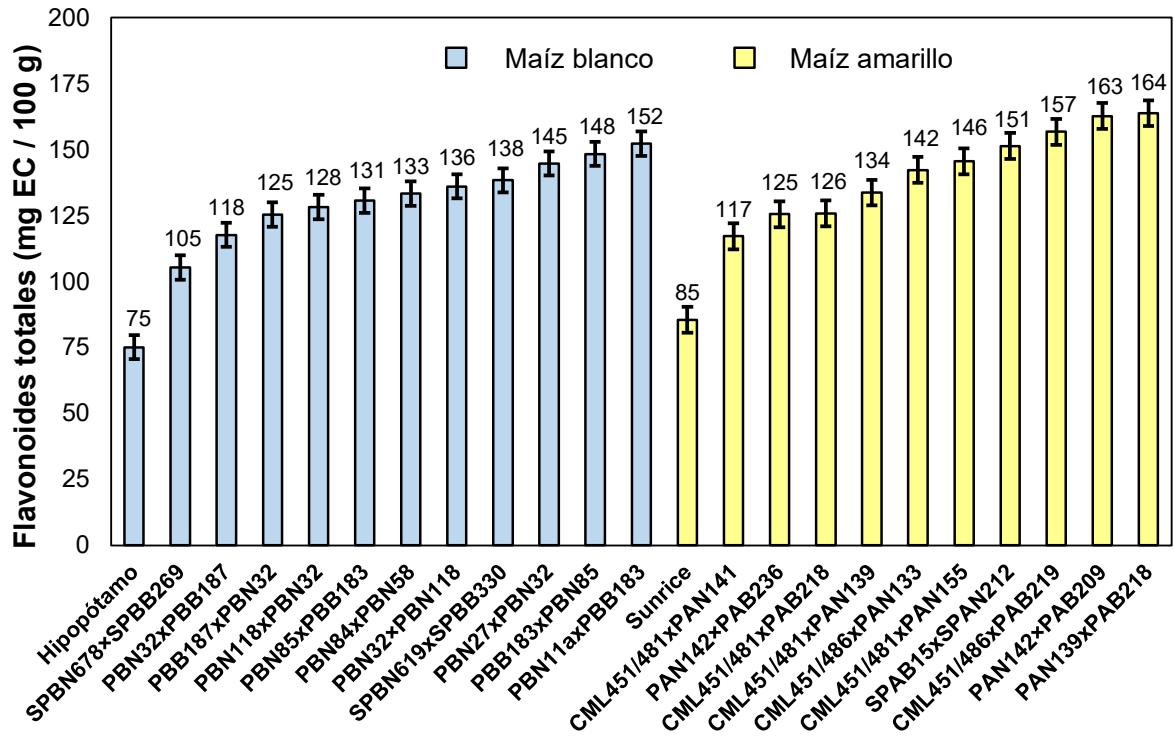


Figura 12. Contenido de flavonoides totales de las cruza experimentales de maíz ACA. Las barras indican la diferencia significativa entre los maíces del mismo color (Tukey, $p \leq 0.05$) y los valores de las medias son diferentes cuando las barras no se traslapan.

Además, se observó una correlación positiva entre el contenido de fenólicos totales y flavonoides ($r=0.767$, $p=0.001$). Estos resultados destacan las diferencias en el contenido de estos compuestos en los maíces ACA, y sugieren el potencial de este tipo de maíces para ofrecer beneficios a la salud de los consumidores.

7. Contenido de carotenoides totales

El contenido de carotenoides varió entre 1.31 a 3.58 $\mu\text{g/g}$ en maíz blanco, con un promedio de 2.36 $\mu\text{g/g}$, y de 14.2 a 21.65 $\mu\text{g/g}$ en maíz amarillo, con un promedio de 17.25 $\mu\text{g/g}$ (Cuadro 16). Por su parte, el testigo amarillo tuvo un contenido de 12.71 $\mu\text{g/g}$, mientras que el testigo blanco no alcanzó niveles detectables. Dentro de los materiales amarillos, las cruzas CML451/481xPAB218 y CML451/486xPAB219 se destacaron mostrando un contenido aproximadamente 70% más alto que el observado en el testigo comercial. Cabe destacar que el contenido de carotenoides en maíces blancos suele ser bajo o inexistente (Pillay y col, 2014), tal y como se registró en el testigo comercial blanco. Sin embargo, el contenido observado en las cruzas blancas sugiere la posibilidad de una pequeña contaminación de los maíces amarillos debido a que se cultivaron en un esquema de polinización libre.

Hernandez-Vázquez (2018) analizó maíces amarillos nativos y encontró que el 76% de los genotipos evaluados presentaron un contenido de carotenoides totales entre 3 y 8 $\mu\text{g/g}$, mientras que el resto superó los 10 $\mu\text{g/g}$. Pillay y col (2014) reportaron valores de 23.9 $\mu\text{g/g}$ en maíz amarillo y 0.4 $\mu\text{g/g}$ en maíz blanco, mientras que García-Flores y col (2015) observaron niveles de 9.50 $\mu\text{g/g}$ en maíz amarillo.

Cuadro 16. Contenido de carotenoides en las cruzas experimentales de maíz ACA

| Genotipo | Carotenoides ($\mu\text{g/g}$) |
|----------------------|--|
| Maíz amarillo | |
| Sunrice | 12.71 \pm 0.09 ^f |
| CML451/486xPAN133 | 14.21 \pm 0.24 ^e |
| CML451/486xPAB219 | 21.65 \pm 0.12 ^a |
| CML451/481xPAN139 | 19.22 \pm 0.69 ^b |
| CML451/481xPAB218 | 21.42 \pm 0.03 ^a |
| CML451/481xPAN141 | 14.71 \pm 0.01 ^{de} |
| CML451/481xPAN155A | 17.06 \pm 1.11 ^c |
| PAN139xPAB218 | 14.93 \pm 0.21 ^{de} |
| PAN142xPAB236 | 15.51 \pm 0.15 ^d |
| PAN142xPAB209 | 14.70 \pm 0.20 ^{de} |
| SPAB15xSPAN212 | 19.13 \pm 0.40 ^b |
| Promedio | 17.25^A |
| Maíz blanco | |
| Hipopótamo | ND |
| PBB183xPBN85 | 2.82 \pm 0.13 ^{bc} |
| PBN85xPBB183 | 3.58 \pm 0.07 ^a |
| PBN11axPBB183 | 2.93 \pm 0.30 ^b |
| PBB187xPBN32 | 1.93 \pm 0.08 ^d |
| PBN32xPBB187 | 2.09 \pm 0.11 ^d |
| PBN32xPBN118 | 2.01 \pm 0.10 ^d |
| PBN118xPBN32 | 1.31 \pm 0.22 ^e |
| PBN27xPBN32 | 2.09 \pm 0.08 ^d |
| PBN84xPBN58 | 2.58 \pm 0.02 ^c |
| SPBN619xSPBB330 | 2.75 \pm 0.22 ^{bc} |
| SPBN678xSPBB269 | 1.86 \pm 0.17 ^d |
| Promedio | 2.36^B |

Sunrice e Hipopótamo son híbridos comerciales utilizados como testigos. Los resultados se reportan como la media \pm desviación estándar. Letras minúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $p \leq 0.05$). Letras mayúsculas diferentes entre los promedios de los maíces blancos y amarillos indican diferencia significativa (t -student). ND: No detectado.

Por otro lado, García-Lara y col (2023) indicaron que durante la selección recurrente en el maíz subtropical ACA aumentó la proporción del germen (9-12%) en el grano, lo cual tuvo un efecto directo en el contenido de aceite y elevó los niveles de carotenoides, tocoferoles y fitoesteroles. Los carotenoides mejoraron especialmente en las poblaciones amarillas, con aumentos de carotenoides totales, provitamina A, β -carotenos y β -criptoxantina.

La mayoría de los estudios se han centrado en los maíces amarillos, ya que los carotenoides responsables de la coloración distintiva de estos maíces suelen estar presentes en mayores cantidades. Los carotenoides son antioxidantes efectivos en el organismo humano, ya que desempeñan un papel crucial en el sistema de defensa antioxidante, neutralizando radicales peroxilo y oxígeno molecular singlete. De este modo, ayudan a prevenir el daño a moléculas esenciales como el ADN, proteínas, carbohidratos y lípidos. Además, se ha demostrado que están relacionados con la prevención de enfermedades cardiovasculares, cáncer de próstata o del tracto gastrointestinal (Fuentes-Cardenas, 2022). La variabilidad en el contenido de carotenoides entre las diferentes cruza de maíz subraya su importancia nutricional y potenciales beneficios para la salud.

D. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS METANÓLICOS DE MAÍCES ACA

1. ABTS

Los compuestos antioxidantes presentes en el extracto metanólico participan donando uno o dos electrones para reducir el radical catión $ABTS^{\cdot+}$. La generación de radicales libres está estrechamente relacionada con la oxidación en los sistemas

biológicos y la actividad antioxidante se relaciona con la habilidad de atrapar radicales libres (Halliwell y Gutteridge, 2015).

En cuanto a la actividad antioxidante medida por el método ABTS, los maíces amarillos presentaron porcentajes de inhibición de 35.16 a 51.74%, con un promedio de 40.58% (Cuadro 17). Por su parte, los maíces blancos mostraron porcentajes de inhibición del 33.83 al 47.67%, con un promedio de 39.03% (Cuadro 18). En promedio, la actividad de los maíces ACA fue casi dos veces mayor con respecto a la observada en los híbridos comerciales, una tendencia similar a la observada para compuestos fenólicos (Figura 11) y flavonoides (Figura 12). Con respecto a la actividad antioxidante expresada como equivalentes de trolox, los valores en maíz blanco variaron de 510.65 a 707.27 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$, con un promedio de 581.11 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$. En maíz amarillo, los valores oscilaron entre 530.60 y 760.49 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$, con un promedio de 600.33 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$.

Las cruzas experimentales mostraron una actividad antioxidante significativamente superior a la de los testigos comerciales, siendo ligeramente mayor en las cruzas amarillas frente a las blancas, aunque no se encontraron diferencias significativas entre ellas. El ligero incremento en la actividad antioxidante de los maíces amarillos puede atribuirse a su mayor contenido de flavonoides totales, conocidos por sus propiedades antioxidantes. Entre los materiales analizados, la cruz amarilla PAN139xPAB218 y la cruz blanca SPBN619XSPBB330 destacaron por su alta actividad antioxidante.

Cuadro 17. Actividad antioxidante *in vitro* de cruzas experimentales de maíz ACA amarillo

| Genotipo | ABTS | DPPH |
|----------------------|---|---|
| | % inhibición (μ moles ET/100 g) | |
| Maíz amarillo | | |
| Sunrice | 21.23 \pm 8.80 ^g (263.92 \pm 8.80) | 44.01 \pm 0.46 ^f (390.15 \pm 0.46) |
| CML451/486xPAN133 | 36.66 \pm 2.24 ^f (543.82 \pm 2.24) | 58.13 \pm 7.66 ^{ab} (513.58 \pm 7.66) |
| CML451/486xPAB219 | 47.67 \pm 16.14 ^b (695.60 \pm 16.14) | 54.05 \pm 6.85 ^{cd} (464.2 \pm 6.85) |
| CML451/481xPAN139 | 44.48 \pm 4.58 ^c (645.85 \pm 4.58) | 56.18 \pm 8.14 ^{abc} (492.68 \pm 8.14) |
| CML451/481xPAB218 | 39.97 \pm 18.88 ^{de} (592.05 \pm 18.88) | 56.77 \pm 7.86 ^{abc} (495.38 \pm 7.86) |
| CML451/481xPAN141 | 37.42 \pm 13.06 ^{ef} (556.49 \pm 13.06) | 57.18 \pm 13.07 ^{ab} (500.52 \pm 13.07) |
| CML451/481xPAN155 | 40.78 \pm 16.69 ^d (606.50 \pm 16.69) | 55.02 \pm 7.13 ^{bcd} (482.28 \pm 7.13) |
| PAN139xPAB218 | 51.74 \pm 0.75 ^a (760.49 \pm 0.75) | 47.12 \pm 23.56 ^e (424.99 \pm 23.56) |
| PAN142xPAB236 | 36.14 \pm 9.82 ^f (537.53 \pm 9.82) | 57.86 \pm 0.30 ^{ab} (508.44 \pm 0.30) |
| PAN142xPAB209 | 35.16 \pm 18.15 ^f (530.60 \pm 18.15) | 52.39 \pm 12.19 ^d (458.40 \pm 12.19) |
| SPAB15xSPAN212 | 35.81 \pm 14.54 ^f (534.36 \pm 14.54) | 55.54 \pm 10.87 ^a (519.57 \pm 10.87) |
| Promedio | 40.58 (600.33) | 55.18 (486.03) |

Sunrice es un híbrido comercial utilizado como testigo. Los resultados se reportan como la media de los valores \pm desviación estándar. Letras minúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $p \leq 0.05$).

Cuadro 18. Actividad antioxidante *in vitro* de cruzas experimentales de maíz ACA blancos

| Genotipo | ABTS | DPPH |
|--------------------|---|---|
| | % inhibición (μ moles ET/100 g) | |
| Maíz blanco | | |
| Hipopótamo | 20.67 \pm 15.79 ^h (254.03 \pm 15.79) | 43.86 \pm 2.63 ^f (382.30 \pm 2.63) |
| PBB183xPBN85 | 35.44 \pm 11.44 ^{fg} (527.08 \pm 11.44) | 59.69 \pm 15.08 ^{ab} (528.44 \pm 15.08) |
| PBN85xPBB183 | 39.99 \pm 15.36 ^{cd} (600.45 \pm 15.36) | 57.26 \pm 2.88 ^{bc} (510.71 \pm 2.88) |
| PBN11axPBB183 | 37.86 \pm 16.37 ^{de} (567.23 \pm 16.37) | 54.92 \pm 9.33 ^{cd} (503.01 \pm 9.33) |
| PBB187xPBN32 | 36.90 \pm 2.73 ^{ef} (542.89 \pm 2.73) | 55.60 \pm 3.98 ^{cde} (490.47 \pm 3.98) |
| PBN32xPBB187 | 34.05 \pm 6.22 ^g (501.89 \pm 6.22) | 58.33 \pm 1.31 ^{bc} (510.69 \pm 1.31) |
| PBN32xPBN118 | 37.53 \pm 2.40 ^e (564.26 \pm 2.40) | 54.92 \pm 2.84 ^{de} (484.86 \pm 2.84) |
| PBN118xPBN32 | 42.74 \pm 11.75 ^c (628.46 \pm 11.75) | 55.05 \pm 0.25 ^{cde} (494.24 \pm 0.25) |
| PBN27xPBN32 | 38.53 \pm 12.50 ^{de} (574.95 \pm 12.50) | 54.13 \pm 9.53 ^{cde} (489.83 \pm 9.53) |
| PBN84xPBN58 | 44.75 \pm 12.74 ^b (667.06 \pm 12.74) | 53.92 \pm 5.96 ^{cde} (491.15 \pm 5.96) |
| SPBN619xSPBB330 | 47.67 \pm 15.93 ^a (707.27 \pm 15.93) | 52.62 \pm 11.20 ^e (480.05 \pm 11.20) |
| SPBN678xSPBB269 | 33.83 \pm 6.51 ^{fg} (510.65 \pm 6.51) | 60.33 \pm 0.22 ^a (536.39 \pm 0.22) |
| Promedio | 39.03 (581.11) | 56.07 (501.8) |

Hipopótamo es un híbrido comercial utilizado como testigo. Los resultados se reportan como la media de los valores \pm desviación estándar. Letras minúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $p \leq 0.05$).

Estudios previos en maíces comunes han reportado tendencias similares en sus resultados. Lopez-Martinez y col (2009) reportaron porcentajes de inhibición de 34% en maíz amarillo y de 26% en maíz blanco. Por otro lado, Hwan-Hee y col (2021) reportaron una actividad por ABTS de 351 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ en maíz blanco y 355 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ en maíz amarillo, mientras que Reyna-Martinez (2022) obtuvieron valores de 268.26 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ en maíz blanco y 299.40 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ en maíz amarillo, resultados similares a los obtenidos en el presente estudio para los maíces comerciales.

Mex-Alvarez y col (2013) reportaron que las variedades con mayor contenido de compuestos fenólicos presentan una mayor actividad antioxidante, evidenciando una relación entre los polifenoles y la capacidad antioxidante. Sin embargo, también es importante considerar otros compuestos antioxidantes, como los carotenos, que son terpenos responsables del color en las variedades amarillas de maíz, particularmente en forma de luteína y zeaxantina. Sin embargo, el extracto y métodos de actividad antioxidante utilizados en el presente estudio no permiten registrar de forma apropiada el posible efecto antioxidante de carotenoides.

La mayor actividad antioxidante observada en los maíces ACA podría atribuirse al elevado contenido de fenólicos totales y flavonoides totales, ya que se observó una alta correlación positiva entre la actividad antioxidante por ABTS y el contenido de estos compuestos ($r = 0.749-0.877$, $p=0.001$). Esto corresponde con lo observado por Vazquez-Olivo (2016), quien reportó una alta correlación ($r = 0.871$, $p < 0.01$) entre el contenido de fenólicos totales y la actividad antioxidante por ABTS.

Uno de los compuestos fenólicos más abundantes en el grano de maíz es el ácido ferúlico y sus derivados, el cual se ha demostrado que posee una alta actividad antioxidante por ABTS (100.01 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$) (Bauer y col, 2013) y podría estar contribuyendo de manera importante a esta actividad (Srinivasan y col, 2007). Sin embargo, se requiere realizar un perfil de compuestos fenólicos y evaluar este compuesto a la concentración presente en el extracto para establecer esta asociación.

2. DPPH

En el método DPPH se observaron porcentajes de inhibición de 47.12 a 58.13% en maíz amarillo con un promedio de 55.18% (Cuadro 17) y de 52.62 a 60.33% en maíz blanco, con un promedio de 56.07% (Cuadro 18). Expresada como μmol equivalentes de trolox, la actividad de los maíces blancos varió de 480.05 a 536.39 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$, con un promedio de 501.8 $\mu\text{mol ET}/100\text{g}$. En los maíces amarillos, los contenidos oscilaron entre 424.99 y 513.58 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$, con un promedio de 486.03 $\mu\text{mol ET}/100\text{g}$. Los testigos comerciales tuvieron contenidos de 382.30 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ y 390.15 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$, respectivamente, valores significativamente menores que los de las cruzas de maíz ACA

El método DPPH presentó valores de actividad antioxidante en equivalente de Trolox más bajos en comparación con el método ABTS, comportamiento que ha sido reportado por otros autores (Hwan-Hee y col, 2021; Vargas-León y col, 2022; Feregrino-Pérez y col, 2024). Esto se debe posiblemente a que el radical ABTS puede ser inhibido por una mayor diversidad de compuestos presentes en el extracto o bien simplemente debido a las diferencias del comportamiento del radical y los mecanismos antioxidantes (Wołosiak y col, 2021). Entre los materiales analizados, varias cruzas

presentaron valores de actividad antioxidante mayores a 500 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$, como es el caso de CML451/486xPAN133 y SPAB15xSPAN212, mientras que dentro de las cruza blancas destacan SPBN678xSPBB269 y PBB183xPBN85. El valor de actividad antioxidante de estos materiales fue 30-40% más alto con respecto a los testigos comerciales. Estos resultados son comparables con lo reportado por Lopez-Martinez y col (2009), quienes observaron porcentajes de inhibición del 45% en maíces amarillos y 30% en maíces blancos. Asimismo, López-Martínez y García-Galindo (2010) indicaron porcentajes de inhibición del 35% en maíz blanco y 40% en maíz amarillo. Por otro lado, Feregrino-Pérez y col (2024) observaron porcentajes de inhibición del 33.99% en maíz amarillo y 35.29% en maíz blanco.

Los valores de actividad antioxidante por DPPH en los maíces evaluados presentaron una correlación positiva moderada con el contenido de fenólicos totales ($r = 0.463$, $p=0.001$) y flavonoides ($r = 0.344$, $p=0.004$), sugiriendo que al menos parte de dicha actividad se debe a la acción de estos compuestos que se ha reportado son buenos antioxidantes.

IX. CONCLUSIONES

- La mayoría de las cruzas experimentales de maíz ACA desarrolladas por INIFAP poseen combinaciones favorables de variantes alélicas de genes relacionados con la síntesis de aceite y proteína
- Todas las cruzas cumplen con la densidad mínima del grano establecida en la Norma Oficial Mexicana (NMX-FF-034/1-2022) para productos de maíz y poseen un rendimiento competitivo.
- El incremento en el contenido de aceite y proteína en los maíces ACA se asoció con una mayor acumulación de compuestos bioactivos como fenólicos y flavonoides que se ha demostrado son potentes antioxidantes.
- La actividad antioxidante por ABTS mostró una alta correlación con el contenido de fenólicos y flavonoides totales, lo que sugiere que estos compuestos son los principales responsables de dicha actividad en el extracto metanólico de los maíces evaluados.
- Los resultados demuestran una mejora en el valor nutricional y nutracéutico de las cruzas experimentales de maíz ACA desarrolladas por INIFAP, lo que sugiere que su introducción como alimento podría contribuir a mejorar la salud de los consumidores.

X. BIBLIOGRAFÍA

- AACC. 2000. Approved methods of the American Association of Cereal Chemists. 9th ed. American Association of Cereal Chemists, St Paul, MN.
- Abakemal D, Watson G, Hussein S, John D y Afriyie T. 2012. Comparison of two PCR-based DNA markers with high resolution melt analysis for the detection of genetic variability in selected quality protein maize inbred lines. *African Journal of Agricultural Research* 7(42):5692-5700. <https://doi.org/10.5897/AJAR12.1254>
- Acosta-Estrada BA, Gutiérrez-Urbe JA y Serna-Saldivar SO. 2019. Minor constituents and phytochemicals of the kernel. En: Corn. ACC International. p. 369-403.
- Acosta R. 2009. El cultivo del maíz, su origen y clasificación. El maíz en Cuba. *Cultivos Tropicales* 30(2):113-120.
- Alameldin H, Izadi-Darbandi A, Smith SA, Balan V, Jones AD, Ebru Orhun G y Sticklen M. 2017. Metabolic engineering to increase the corn seed storage lipid quantity and change its compositional quality. *Crop Science* 57(4):1854-1864. <https://doi.org/10.2135/cropsci2016.06.0513>
- Angulo-Reyes J. 2024. Caracterización del Perfil de Aminoácidos y Fracciones Proteicas de Maíces con Alto Contenido de Aceite. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México. 97 p.
- Antontseva E, Degtyareva A, Korbolina E, Damarov I y Merkulova T. 2023. Human-genome single nucleotide polymorphisms affecting transcription factor binding and their role in pathogenesis. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding* 27(6):662. <https://doi.org/10.18699/VJGB-23-77>
- AOAC. 1999. Official methods of analysis of AOAC international. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- Babić V, Kravić N, Vančetović J, Delić N y Žilić S. 2020. Differences in nutritive and bioactive compounds content between hybrid and open-pollinated maize varieties. *Food & Feed Research* 47(1):1-12. <https://doi.org/10.5937/ffr2001001b>
- Barrera-Arellano D, Badan-Ribeiro AP y Serna-Saldivar SO. 2019. Corn Oil: Composition, Processing, and Utilization. En: Corn (Third Edition). Serna-Saldivar SO (Ed). AACC International Press, Oxford. p. 593-613.

- Bauer JL, Harbaum-Piayda B, Stöckmann H y Schwarz K. 2013. Antioxidant activities of corn fiber and wheat bran and derived extracts. *Food Science and Technology* 50(1):132-138. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.06.012>
- Benítez-Cardoza C y Pfeiffer-Perea H. 2006. El maíz: origen, composición química y morfología. *Materiales Avanzados* 7:15-20.
- Benitez J, Gernat A, Murillo J y Araba M. 1999. The use of high oil corn in broiler diets. *Poultry Science* 78(6):861-865.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME y Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology* 28(1):25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Cabrera-Soto ML, Salinas-Moreno Y, Velázquez-Cardelas GA y Espinosa-Trujillo E. 2009. Contenido de fenoles solubles e insolubles en las estructuras del grano de maíz y su relación con propiedades físicas. *Agrociencia* 43(8):827-839.
- Columba de la Parra S. 2006. Efecto de la nixtamalización de cinco tipos de maíces coloreados sobre el perfil fitoquímico, capacidad antioxidante y absorción de Carotenoides en Células Caco 2. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey. Monterrey, Nuevo León.
- de Olivei GC, Moreira I, Pozzobon de Souza AL, Murakami AE, Poveda-Parra AR, de Oliveira-Carvalho PL y Borile MD. 2011. Corns with different nutritional profiles on growing and finishing pigs feeding (30 to 90 kg). *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 24(7):982-992. <https://doi.org/10.5713/ajas.2011.90587>
- Deng M, Li D, Luo J, Xiao Y, Liu H, Pan Q, Zhang X, Jin M, Zhao M y Yan J. 2017. The genetic architecture of amino acids dissection by association and linkage analysis in maize. *Plant Biotechnology Journal* 15(10):1250-1263. <https://doi.org/10.1111/pbi.12712>
- Di Rienzo J, Balzarini M, Casanoves F, Gonzalez L, Tablada M y Robledo C. 2001. InfoStat: software estadístico. *Córdoba: Universidad Nacional de Córdoba*.
- Elshire RJ, Glaubitz JC, Sun Q, Poland JA, Kawamoto K, Buckler ES y Mitchell SE. 2011. A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PloS One* 6(5):e19379. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019379>

- Espinosa C, Fanelli N y Stein H. 2021. Digestibility of amino acids and concentration of metabolizable energy are greater in high-oil corn than in conventional corn when fed to growing pigs. *Animal Feed Science and Technology* 280:115040. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.115040>
- Fang H, Fu X, Ge H, Zhang A, Shan T, Wang Y, Li P y Wang B. 2021. Genetic basis of maize kernel oil-related traits revealed by high-density SNP markers in a recombinant inbred line population. *BMC Plant Biology* 21(1):344. <https://doi.org/10.1186/s12870-021-03089-0>
- FAO. 1993. El maíz en la nutrición humana. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma. 172 p.
- FAOSTAT. 2024. Food and Agriculture Organization Statistical Database. Disponible en <http://faostat.fao.org>. Consultado el.
- Felker P, Labanauskas C y Waines G. 1978. A colorimetric screening assay for lysine in wheat using Trinitrobenzenesulfonic Acid 1. *Crop Science* 18(3):489-490.
- Feregrino-Pérez AA, Mercado-Luna A, Murillo-Cárdenas CA, González-Santos R, Chávez-Servín JL, Vargas-Madriz AF y Luna-Sánchez E. 2024. Polyphenolic compounds and antioxidant capacity in native maize of the Sierra Gorda of Querétaro. *Agronomy Journal* 14(1):142. <https://doi.org/10.3390/agronomy14010142>
- Fuentes-Cardenas IS. 2022. Valorización de la biodiversidad del maíz cabanita (*Zea mays* L.) de la Región Arequipa a través del análisis de su contenido y perfil de compuestos bioactivos (polifenoles y carotenoides) relevantes a la salud. Universidad Católica de Santa María.
- García-Flores M, Sawers R, Ruiz-Aguilar G, Délano-Frier J y Tiessen A. 2015. Carotenoid content of hybrid corn grown in greenhouse. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 3(2):1-9.
- García-Lara S, Chuck-Hernandez C y Serna-Saldivar SO. 2019. Development and structure of the corn kernel. En: *Corn: Chemistry and Technology*. 3a ed. Serna-Saldivar SO (Ed). Woodhead Publishing and AACC International Press, Duxford, U.K. p. 147-163.

- García-Lara S, Rodríguez-Treviño A, Ortiz-Islas S, Preciado-Ortiz RE y Serna-Saldívar SO. 2023. Increase of tocopherols, phytosterols, and carotenoids in high-oil subtropical maize after recurrent selection. *Cereal Chemistry* 100(6):1379-1389. <https://doi.org/10.1002/cche.10720>
- Gaxiola-Cuevas N, Mora-Rochín S, Cuevas-Rodríguez EO, León-López L, Reyes-Moreno C, Montoya-Rodríguez A y Milán-Carrillo J. 2017. Phenolic Acids Profiles and Cellular Antioxidant Activity in Tortillas Produced from Mexican Maize Landrace Processed by Nixtamalization and Lime Extrusion Cooking. *Plant Foods for Human Nutrition* 72(3):314-320. <https://doi.org/10.1007/s11130-017-0624-3>
- Gaytán-Pinzón GP. 2017. Caracterización de aceite de líneas doble haploide de maíz (*Zea mays*) blanco y amarillo. Tesis de Maestría, Instituto Politécnico Nacional. Guasave, Sinaloa, México. 98 p.
- Gaytán-Pinzón GP, Sandoval-Castro E, Peinado-Fuentes LA, Valenzuela-Apodaca JP, Cruz-Mendivil A y Calderón-Vázquez CL. 2022. Genetic diversity of subtropical double-haploid maize lines selected for high oil content. *Agronomy Journal* 114(5):2715-2727. <https://doi.org/10.1002/agj2.21153>
- Gibbs RA, Belmont JW, Hardenbol P, Willis TD, Yu FL, Yang H, Ch'ang L-Y, Huang W, Liu B y Shen Y. 2003. The international HapMap project. *Nature* 426(6968):789–796. <https://doi.org/10.1038/nature02168>
- Halliwel B y Gutteridge JM. 2015. Free radicals in biology and medicine. 5th ed. Oxford University Press, New York, USA.
- Hasan N, Choudhary S, Naaz N, Sharma N y Laskar RA. 2021. Recent advancements in molecular marker-assisted selection and applications in plant breeding programmes. *Journal of Genetic Engineering Biotechnology Advances* 19(1):128. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00231-1>
- Heimler D, Vignolini P, Dini MG y Romani A. 2005. Rapid tests to assess the antioxidant activity of *Phaseolus vulgaris* L. dry beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(8):3053-3056. <https://doi.org/10.1021/jf049001r>
- Hernandez-Vázquez B. 2018. Valoración agromorfológica, de rendimiento de grano y carotenoides en maíces amarillos nativos de México. Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas. Texcoco, Edo. México.

- Horvat D, Šimić G, Drezner G, Lalić A, Ledenčan T, Tucak M, Plavšić H, Andrić L y Zdunić Z. 2020. Phenolic acid profiles and antioxidant activity of major cereal crops. *Antioxidants* 9(6):527. <https://doi.org/10.3390/antiox9060527>
- Hossain F, Muthusamy V, Bhat JS, Jha SK, Zunjare R, Das A, Sarika K y Kumar R. 2016. Maize. En: *Broadening the Genetic Base of Grain Cereals*. Singh M y Kumar S (Eds). Springer India, New Delhi. p. 67-88.
- Hossain F, Zunjare RU, Muthusamy V, Kumar A, Madhavan J, Ikkurti G, Katral A, Talukder ZA, Chhabra R y Chand G. 2023. Genetic improvement of specialty corn for nutritional quality traits. En: *Maize Improvement: Current Advances in Yield, Quality, and Stress Tolerance under Changing Climatic Scenarios*. Springer. p. 235-257.
- Huaman-Alvino CK. 2017. Caracterización de los compuestos fenólicos del germoplasma de maíz (*Zea mays* L.) nativo de la Región Arequipa, Perú. Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Hwan-Hee B, Gibum Y, Young-Sam G, Jun-Young H, Yuchan C, Jae-Han S, Seonghyu S, Tae-Wook J y Sungwoo L. 2021. Measuring antioxidant activity in yellow corn (*Zea mays* L.) inbreds from three different geographic regions. *Applied Biological Chemistry* 64(56):1-8. <https://doi.org/10.1186/s13765-021-00629-y>
- INIFAP. 2017. Agenda Técnica Agrícola de Sinaloa. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Ciudad de México. 216 p.
- Kato-Yamakake TÁ, Mapes-Sánchez C, Mera-Ovando LM, Serratos-Hernández JA y Bye-Boettler RA. 2009. Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. 1a ed. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 116 p.
- Katral A, Hossain F, Gopinath I, Chand G, Mehta BK, Kamboj MC, Zunjare RU, Yadava DK y Muthusamy V. 2023. Genetic dissection of embryo size and weight related traits for enhancement of kernel oil in maize. *Plant Physiology and Biochemistry* 197:107668. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.107668>
- Katral A, Hossain F, Zunjare RU, Ragi S, Kasana RK, Duo H, Gopinath I, Mehta BK, Guleria SK y Thimmegowda V. 2024. Maize genotypes with favourable *dgat1-2* and *fatb* alleles possess stable high kernel oil and better fatty acid health and

- nutritive indices. *International Journal of Biological Macromolecules* 278:134848. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.134848>
- Kim N, Kwon J-S, Kang W-H y Yeom S-I. 2023. High-Resolution Melting (HRM) Genotyping. En: *Plant Genotyping: Methods and Protocols*. Springer. p. 337-349.
- Kurilich AC y Juvik JA. 1999. Quantification of Carotenoid and Tocopherol Antioxidants in *Zea mays*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47(5):1948-1955. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf981029d>
- Lambert RJ. 2000. High-oil corn hybrids. En: *Specialty corns*. Hallauer AR (Ed). CRC Press. p. 143-166.
- Larkins BA. 2019. Proteins of the Kernel. En: *Corn: Chemistry and Technology*. Serna-Saldivar SO (Ed). Woodhead Publishing and AACC International Press, Duxford, U.K. p. 319-336.
- Li H, Fernie AR y Yang X. 2023. Using systems metabolic engineering strategies for high-oil maize breeding. *Current Opinion in Biotechnology* 79:102847. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2022.102847>
- Lopez-Martinez LX, Oliart-Ros RM, Valerio-Alfaro G, Chen-Hsien L, Parkin KL y Garcia HS. 2009. Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *LWT-Food Science and Technology* 42(6):1187-1192. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.10.010>
- López-Martínez X y García-Galindo S. 2010. Actividad antioxidante de extractos metanólicos y acuosos de distintas variedades de maíz mexicano. *Nova scientia* 2(3):51-65. <http://dx.doi.org/10.21640/ns.v2i3.221>
- Loy D y Lundy E. 2019. Nutritional properties and feeding value of corn and its coproducts. En: *Corn*. Elsevier. p. 633-659.
- Maqbool MA, Beshir A y Khokhar ES. 2020. Doubled haploids in maize: Development, deployment, and challenges. *Crop Science* 60(6):2815-2840. <https://doi.org/10.1002/csc2.20261>
- McGhie TK y Walton MC. 2007. The bioavailability and absorption of anthocyanins: towards a better understanding. *Molecular Nutrition & Food Research* 51(6):702-713. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200700092>

- Meléndez-Martínez AJ, Vicario IM y Heredia FJ. 2004. Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 54(2):209-215.
- Mex-Alvarez R, Bolívar-Fernández N, Garma-Quen P, Tut-Heredia J y Romero-Guil K. 2013. Actividad antioxidante de cinco variedades de maíz, cultivadas en Campeche, México. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 12(6):558-571.
- Miyoshi H, Ichinohe R y Koshikawa T. 2022. High-resolution melting analysis after nested PCR for the detection of SARS-CoV-2 spike protein G339D and D796Y variations. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 606:128-134. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2022.03.083>
- Naidoo R, Watson G, Tongoona P, Derera J y Laing M. 2013. Development of a single nucleotide polymorphism (SNP) marker for detection of the low phytic acid (lpa1-1) gene used during maize breeding. *African Journal of Biotechnology* 12(9):892-900. <https://doi.org/10.1071/CP22238>
- Normas SdE-DGd. 2002. NMX-FF-034/1-SCFI-2002. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano-Cereales-Parte I: Maíz blanco para proceso alcalino para tortillas de maíz y productos de maíz nixtamalizado-Especificaciones y métodos de prueba. Secretaría de Economía, Dirección General de Normas México.
- Nurit E, Tiessen A, Pixley K y Palacios Rojas N. 2009. Reliable and Inexpensive Colorimetric Method for Determining Protein-Bound Tryptophan in Maize Kernels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57:7233-7238. <https://doi.org/10.1021/jf901315x>
- Okporie E, Chukwu S y Onyishi G. 2013. Phenotypic recurrent selection for increase yield and chemical constituents of maize (*Zea mays* L.). *World Applied Sciences Journal* 21(7):994-999.
- Okporie E y Oselebe H. 2007. Correlation of protein and oil contents with five agronomic characters of maize (*Zea mays* L.) after three cycles of reciprocal recurrent selection. *World Journal of Agricultural Sciences* 3(5):639-641.

- Ortega-Corona A, Picón-Rico R, Preciado-Ortiz RE, Terrón-Ibarra AD, Guerrero-Herrera MdJ, García-Lara S y Serna-Saldivar S. 2015. Selection response for oil content and agronomic performance in four subtropical maize populations. *Maydica* 60(3):M30.
- Ortiz-Islas S, García-Lara S, Preciado-Ortiz RE y Serna-Saldivar SO. 2019. Fatty acid composition and proximate analysis of improved high-oil corn double haploid hybrids adapted to subtropical areas. 96(2):182-192. <https://doi.org/10.1002/cche.10109>
- Peinado Fuentes LA, Calderón Vázquez CL, Preciado Ortiz RE y Ríos Sandoval CA. 2021. Distancia genética para la generación de cruas avanzadas de maíz en el norte de Sinaloa. XXIV Congreso Internacional en Ciencias Agrícolas. Mexicali, Baja California, México. p. 326-332.
- Pillay K, Siwela M, Derera J y Veldman FJ. 2014. Provitamin A carotenoids in biofortified maize and their retention during processing and preparation of South African maize foods. *Journal of Food Science and Technology* 51:634-644. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0559-x>
- Prasanna B, Chaikam V y Mahuku G. 2013. Tecnología de dobles haploides en el mejoramiento de maíz: teoría y práctica. CIMMYT, Edo. México. 1-52 p.
- Preciado-Ortiz RE, García-Lara S, Ortiz-Islas S, Ortega-Corona A y Serna-Saldivar SO. 2013. Response of recurrent selection on yield, kernel oil content and fatty acid composition of subtropical maize populations. *Field Crops Research* 142:27-35. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2012.11.019>
- Preciado-Ortiz RE, Terrón-Ibarra AD, Vázquez-Carrillo MG y Gómez-Montiel NO. 2019a. H 327 AO, Híbrido trilineal de maíz oleoso de grano amarillo para regiones subtropicales de México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 42(3):313-315. <https://doi.org/10.35196/rfm.2019.3.313>
- Preciado-Ortiz RE, Terrón-Ibarra AD, Vázquez-Carrillo MG y Gómez-Montiel NO. 2019b. H 387 A, Híbrido trilineal de maíz de grano amarillo adaptado a regiones subtropicales de México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 42(1):67-69.
- Preciado-Ortiz RE, Terrón-Ibarra AD, Vázquez-Carrillo MG, Gómez-Montiel NO, Briones-Reyes D y Peña-Ramos A. 2019c. H-388 O, Híbrido de maíz trilineal de

- grano blanco oleoso para el subtrópico de México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 42(3):309-311. <https://doi.org/10.35196/rfm.2019.3.309>
- Preciado-Ortiz RE, Terrón-Ibarra AD, Vázquez-Carrillo MG, Gómez-Montiel NO, Briones-Reyes D y Peña-Ramos A. 2019d. H-389 O, Híbrido trilineal de maíz de grano blanco oleoso adaptado a regiones subtropicales de México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 42(2):183-185.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M y Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26(9):1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Ren J, Wu P, Trampe B, Tian X, Lübberstedt T y Chen S. 2017. Novel technologies in doubled haploid line development. *Plant Biotechnology Journal* 15(11):1361-1370. <https://doi.org/10.1111/pbi.12805>
- Reyna-Martinez P. 2022. Caracterización física, química, nutracéutica y propiedades tecnofuncionales de tres variedades de maíz (*Zea mays*) criollo pigmentado (blanco, amarillo y negro). Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro, México.
- Ríos-Sandoval CA. 2017. Caracterización genética de líneas dobles haploides de maíz para el desarrollo de híbridos con potencial agronómico en Sinaloa. Tesis de Maestría, Instituto Politécnico Nacional. Guasave, Sinaloa, México. 80 p.
- Rivas R. 2021. El maíz, fuente de cultura mesoamericana. *Revista de Museología Kóot* 11(12):44-53. <https://doi.org/10.5377/koot.v0i11.10737>
- Rodriguez-Salinas PA, Zavala-García F, Urias-Orona V, Muy-Rangel D, Basilio-Heredia J y Nino-Medina G. 2020. Chromatic, nutritional and nutraceutical properties of pigmented native maize (*Zea mays* L.) genotypes from the northeast of Mexico. *Arabian Journal for Science and Engineering* 45:95-112.
- SADER-SIAP. 2024. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Disponible en <https://www.gob.mx/siap>. Consultado el.
- Salinas-Moreno Y, Gómez-Montiel NO, Cervantes-Martínez JE, Sierra-Macías M, Palafox-Caballero A, Betanzos-Mendoza E y Coutiño-Estrada B. 2010. Calidad

- nixtamalera y tortillera en maíces del trópico húmedo y sub-húmedo de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 1(4):509-523.
- Salinas-Moreno Y, López-Reynoso JdJ, González-Flores GB y Vázquez-Carrillo G. 2007. Compuestos fenólicos del grano de maíz y su relación con el oscurecimiento de masa y tortilla. *Agrociencia* 41(3):295-305.
- Sánchez-Ortega I y Pérez-Urria Carril E. 2014. Maíz I (*Zea mays*). *REDUCA Biología* 15:pp. 151-171.
- Saquimux-Canastuj FI. 2011. Selección masal en el cultivo de maíz para pequeños agricultores. Manual técnico agrícola. 1a. Edición ed. Quetzaltenango, Guatemala: Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas.
- Schiwek S, Beule L, Vinas M, Pfordt A, von Tiedemann A y Karlovsky P. 2020. High-Resolution Melting (HRM) Curve Assay for the Identification of Eight Fusarium Species Causing Ear Rot in Maize. *Pathogens* 9(4):270. <https://doi.org/10.3390/pathogens904027>
- Silva PRFd, Strieder ML, Coser RPdS, Rambo L, Sangoi L, Argenta G, Forsthofer EL y Silva AAd. 2005. Grain yield and kernel crude protein content increases of maize hybrids with late nitrogen side-dressing. *Scientia Agricola* 62:487-492. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162005000500014>
- Singh J, Sharp P y Skerritt J. 2000. A new candidate protein for high lysine content in wheat grain. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81:216-226. [https://doi.org/10.1002/1097-0010\(20010115\)81:2<216::AID-JSFA794>3.0.CO;2-X](https://doi.org/10.1002/1097-0010(20010115)81:2<216::AID-JSFA794>3.0.CO;2-X)
- Singh NK. 2010. Spectrophotometric and TLC based characterization of kernel carotenoids in short duration maize. *Maydica* 55:95-100.
- Singleton VL y Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology Viticulture* 16(3):144-158.
- Song GL, Li DF, Piao XS, Chi F y Wang JT. 2003. Comparisons of amino acid availability by different methods and metabolizable energy determination of a Chinese variety of high oil corn. *Poultry Science* 82(6):1017-1023. <https://doi.org/10.1093/ps/82.6.1017>

- Srinivasan M, Sudheer AR y Menon VP. 2007. Ferulic acid: therapeutic potential through its antioxidant property. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition* 40(2):92-100. <https://doi.org/10.3164/jcbrn.40.92>
- Stewart CN y Via LE. 1993. A rapid CTAB DNA isolation technique useful for RAPD fingerprinting and other PCR applications. *BioTechniques* 14 (5):748-749.
- Urango LA. 2018. Componentes del maíz en la nutrición humana. *Fondo Editorial Biogénesis*:185-209.
- Valenzuela-Apodaca J, Cruz-Mendivil A, Gaytán GP, Rodríguez-González H, Peinado-Fuentes L, Sandoval-Castro E y Calderón-Vázquez C. 2022. Identification of SNP Markers Associated to Protein and Oil Content in Doubled Haploid Maize Lines Derived from Subtropical Breeding Populations. *Tropical Plant Biology* 15:1-13. <https://doi.org/10.1007/s12042-022-09326-6>
- Vargas-León EA, Gómez-Aldapa CA, Aguayo-Rojas J, Vargas-Torres A, Hernández-Uribe JP, Palma-Rodríguez HM y Navarro-Cortez RO. 2022. Phytochemical content and antioxidant activity of extruded products made from yellow corn supplemented with apple pomace powder. *Food Science and Technology* 42:e91221. <https://doi.org/10.1590/fst.91221>
- Vázquez-Carrillo G, Preciado-Ortiz RE, Santiago-Ramos D, Palacios-Rojas N, Terrón-Ibarra A y Hernández-Calette A. 2018. Yield stability and grain and tortilla quality of new maize hybrids with added value for the subtropics of Mexico. *Revista Fitotecnia Mexicana* 41(4A):509-518.
- Vázquez-Carrillo MG, Martínez-Gutiérrez A, Zamudio-González B, Espinosa-Calderón A, Tadeo-Robledo M y Turrent-Fernández A. 2020. Estabilidad de rendimiento y características fisicoquímicas de grano de híbridos de maíz en Valles Altos de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 11(8):1803-1814.
- Vázquez-Carrillo MG, Preciado-Ortiz R, Guzmán-Maldonado H y Palacios-Rojas N. 2023. Maíces de especialidad para el subtrópico de México. 1a ed. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Ciudad de México, México. 99 p.
- Vázquez-Carrillo MG, Santiago-Ramos D, Salinas-Moreno Y, Lopez-Cruz J, Ybarra-Moncada MC y Ortega-Corona A. 2014. Oil content in maize (*Zea mays* L.)

- Genotypes and its relationship with quality and texture of tortilla. *Agrociencia* 48:159-172.
- Vazquez-Olivo G. 2016. Cuantificación y caracterización de compuestos fenólicos en la planta de maíz (*Zea mays* L.). Tesis de Maestría, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Culiacán, Sinaloa, México. 1-59 p.
- Villegas-Castagnasso EE, Francisco EI, Crespi JA, Diaz S, Corbi Botto CM y Ripoli MV. 2015. Métodos de genotipificación. En: Genética forense no-humana. Peral García P, Giovambattista G y Ripoli MV (Eds). Editorial de la Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina. p. 54-101.
- Vossen RHAM, Aten E, Roos A y den Dunnen JT. 2009. High-Resolution Melting Analysis (HRMA)—More than just sequence variant screening. *Human Genome Variation Society* 30(6):860-866. <https://doi.org/10.1002/humu.21019>
- Wang YZ, Li JZ, Li YL, Wei MG, Li XH y Fu JF. 2010. QTL detection for grain oil and starch content and their associations in two connected F2:3 populations in high-oil maize. *Euphytica* 174(2):239-252. <https://doi.org/10.1007/s10681-010-0123-1>
- Wołosiak R, Drużyńska B, Derewiaka D, Piecyk M, Majewska E, Ciecierska M, Worobiej E y Pakosz P. 2021. Verification of the conditions for determination of antioxidant activity by ABTS and DPPH assays—A practical approach. *Molecules* 27(1):50. <https://doi.org/10.3390/molecules27010050>
- Yang G, Dong Y, Li Y, Wang Q, Shi Q y Zhou Q. 2013. Verification of QTL for grain starch content and its genetic correlation with oil content using two connected RIL populations in high-oil maize. *PloS One* 8(1):e53770. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053770>
- Zhang J, Lu XQ, Song XF, Yan JB, Song TM, Dai JR, Rocheford T y Li JS. 2008. Mapping quantitative trait loci for oil, starch, and protein concentrations in grain with high-oil maize by SSR markers. *Euphytica* 162(3):335-344. <https://doi.org/10.1007/s10681-007-9500-9>
- Zhang X, Wang M, Guan H, Wen H, Zhang C, Dai C, Wang J, Pan B, Li J y Liao H. 2023. Genetic dissection of QTLs for oil content in four maize DH populations. *Frontiers in Plant Science* 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1174985>

Zheng Y, Yuan F, Huang Y, Zhao Y, Jia X, Zhu L y Guo J. 2021. Genome-wide association studies of grain quality traits in maize. *Scientific Reports* 11(1):9797. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89276-3>

XI. ABREVIATURAS

| | |
|-------------------|---|
| A | Alanina |
| ABTS | Ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) |
| ACA | Alto contenido de aceite |
| ADN | Ácido desoxirribonucleico |
| AlCl ₃ | Cloruro de aluminio |
| ANOVA | Análisis de varianza |
| AOAC | Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (del inglés, Association of Official Analytical Chemists) |
| b.s. | Base seca |
| C | Citosina |
| CIMMYT | Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo |
| CONAHCYT | Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías |
| CTAB | Bromuro de hexadeciltrimetilamonio (del inglés, Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) |
| DH | Doble haploide |
| DPPH | 2,2-difenil-1-picrilhidracilo |
| EAG | Equivalentes de ácido gálico |
| EC | Equivalentes de catequina |
| ET | Equivalentes de trolox |
| F1 | Primera generación filial |
| FAO | Organización para la Agricultura y la Alimentación (del inglés, Food and Agriculture Organization of the United Nations) |
| FAOSTAT | Organización para la Alimentación y la Agricultura de las Naciones Unidas (del inglés, Food and Agriculture Organization of the United Nations) |
| G | Guanina |
| g | Gramo |
| HCl | Ácido clorhídrico |
| HRM | Análisis de Fusión de Alta Resolución (del inglés, High Resolution Melting) |

| | |
|---------------------------------|--|
| INIFAP | Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias |
| Kg/hL | Kilogramos por hectolitro |
| KOH | Hidróxido de potasio |
| M | Molar |
| mg | Miligramo |
| mL | Mililitro |
| N | Normal |
| Na ₂ CO ₃ | Carbonato de sodio |
| NaNO ₂ | Nitrito de sodio |
| NaOH | Hidróxido de sodio |
| nm | Nanómetros |
| PBS | Buffer Fosfato Salino (del inglés, Phosphate buffered saline) |
| PCR | Reacción en cadena de la polimerasa (del inglés, polymerase chain reaction) |
| rpm | Revoluciones por minuto |
| SADER | Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural |
| SIAP | Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera |
| SNP | Polimorfismos de un solo nucleótido (del inglés, Single Nucleotide Polymorphism) |
| T | Timina |
| TNBS | Ácido Trinitrobencenosulfónico |
| µg/µl | Microgramo |
| µL | Microlitro |
| µM | Micromolar |