



USAC
TRICENTENARIA
Universidad de San Carlos de Guatemala

DC Dirección General
de Investigación
Universidad de San Carlos de Guatemala

Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Programa Universitario de Investigación en Alimentación y Nutrición –PRUNIAN–

Análisis de variabilidad genética en materiales de maíz (*Zea mays* L.) para tolerancia a sequía, utilizando marcadores moleculares miARN

4.8.63.0.69

Partida Presupuestaria del proyecto

**Facultad de Agronomía –FAUSAC–
Unidad Avaladora**

**PhD Carlos Alfonso Orozco Castillo
Coordinador del Proyecto**

Guatemala, 27 de febrero de 2025



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Contraportada

Autoridades de la Dirección General de Investigación

Dra. Alice Burgos Paniagua

Directora General de Investigación

MARN Ing. Agr. Julio Rufino Salazar

Coordinador General de Programas

Inga. Liuba Cabrera Santos

Coordinadora del Programa Universitario de Investigación

Autores

PhD Carlos Alfonso Orozco Castillo, 9322

Ing. Agr. Cristián Alexander Méndez López, 20180599

Ing. Agr. Mak Mílan Cruz Sic, 950101

Aux. Pablo Andres Leal Nájera, 20240822

Aux. María Alejandra García Echeverría, 20241211

Aux. Sheila Yesenia Estrada Jiménez, 20240864

Colaboradores

Prof. PhD. Katarína Ražná

PhD. Ľubomír Harenčár

PhD. Matúš Kučka

Inga. Simona Čerteková

Ing. Agr. Giancarlo Torres

El contenido de este informe de investigación es responsabilidad exclusiva de sus autores. Esta investigación fue cofinanciada con recursos del Fondo de Investigación de la Digi de la Universidad de San Carlos de Guatemala a través de la partida presupuestaria número: 4.8.63.0.69 en el Programa Universitario de Investigación PRUNIAN.

Los autores son responsables del contenido, de las condiciones éticas y legales de la investigación desarrollada.

Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Índice

Resumen.....	1
Abstract	2
1. Introducción	3
2. Contexto de la investigación	4
2.1. Delimitación en tiempo y espacio.....	4
2.1.1. Delimitación en tiempo	4
2.1.2. Delimitación espacial	4
2.2. Población meta beneficiada.....	5
3. Revisión de literatura.....	6
3.1. Maíz (<i>Zea mays</i> L.)	6
3.1.1. Importancia económica	6
3.1.2. Importancia sociocultural	7
3.1.3. Efecto de la sequía en la República de Guatemala.....	7
3.1.4. Distribución geográfica del Corredor Seco Guatemalteco	8
3.1.5. Pre-mejoramiento y recursos genéticos	8
3.1.6. Base molecular y genética del maíz.....	8
3.1.7. Micro-ARN (miARN)	9
3.1.8. Biomarcadores moleculares basados en miARN	9
3.1.9. Resistencia genética del maíz a los efectos de la sequía	10
3.1.10. Familias de miARN de interés fitogenético	10
3.2. Estado del Arte	11
3.2.1. Interacción genética, molecular y fisiológica durante la tolerancia a la sequía en el maíz (<i>Zea mays</i>).....	11
3.2.2. Uso de Micro-ARN como Biomarcador molecular en <i>Avena sativa</i> L.	12
3.2.3. Resistencia a sequía en maíz mediada por miARN.....	13
4. Planteamiento del problema	13
5. Objetivos.....	15
5.1. Objetivo general.....	15
5.2. Objetivos específicos.....	15
6. Hipótesis.....	15
7. Método.....	16



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

7.1.	Tipo de investigación.	16
7.2.	Enfoque y alcance de la investigación.	16
7.3.	Diseño de la investigación.	16
7.3.1.	Diseño de campo	16
7.3.2.	Diseño de laboratorio	16
7.4.	Población, muestra y muestreo.	17
7.5.	Técnicas.....	17
7.6.	Resumen de las variables o unidades de análisis	21
7.7.	Procesamiento y análisis de la información.	22
8.	Aspectos éticos y legales	23
9.	Resultados y discusión	23
9.1.	Resultados de campo	23
9.2.	Resultados moleculares	30
9.3.	Discusión de resultados	46
9.3.1.	Fase de campo	46
9.3.2.	Fase de laboratorio	50
10.	Propiedad intelectual	56
11.	Beneficiarios directos e indirectos	56
12.	Contribución al desarrollo de iniciativas	57
13.	Estrategia de divulgación y difusión de los resultados.	57
14.	Contribución a las Prioridades Nacionales de Desarrollo (PND).....	58
15.	Vinculación	58
16.	Conclusiones	59
17.	Recomendaciones.....	59
	Referencias.....	60
	Apéndice.....	65



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Mapa de 90 accesiones de maíz estudiadas por departamento.....	24
Figura 2	Mapa de 90 accesiones de maíz estudiadas por municipio.....	25
Figura 3	Accesiones número 1 a 18 expuestas a todos los marcadores moleculares miARN.....	30
Figura 4	Accesiones número 19 a 36 expuestas a todos los marcadores moleculares miARN...	31
Figura 5	Accesiones número 37 a 54 expuestas a todos los marcadores moleculares miARN....	31
Figura 6	Accesiones número 55 a 72 expuestas a todos los marcadores moleculares miARN....	32
Figura 7	Accesiones número 73 a 90 expuestas a todos los marcadores moleculares miARN....	32
Figura 8	Dendrograma general de las 90 accesiones expuestas a cinco marcadores miARN.....	33
Figura 9	Dendrograma general colapsado a 0.476 avg. BRL que muestra los nodos.....	34
Figura 10	Gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR827 F/R para 13 accesiones.....	35
Figura 11	Dendrograma de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR827 F/R para 13 accesiones.	35
Figura 12	Matriz de similitud calculada con el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR827 F/R para 13 accesiones.	36
Figura 13	Matriz de distancia basada en el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR827 F/R para 13 accesiones.	36
Figura 14	Gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR399 F/R para 13 accesiones.....	37
Figura 15	Dendrograma de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR399 F/R para 13 accesiones.....	37
Figura 16	Matriz de similitud calculada con el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR399 F/R para 13 accesiones.....	38
Figura 17	Matriz de distancia basada en el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR399 F/R para 13 accesiones.....	38
Figura 18	Gel corrido con el marcador molecular miARN TAE/HVU-miR156 F para 13 accesiones.....	39
Figura 19	Dendrograma de gel corrido con el marcador molecular miARN TAE/HVU-miR156 F para 13 accesiones.....	39
Figura 20	Matriz de similitud calculada con el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR156 F/R para 13 accesiones.....	40
Figura 21	Matriz de distancia basada en el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR156 F/R para 13 accesiones.....	40



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Figura 22	Gel corrido con el marcador molecular miARN TAE/HVU-miR408 F para 13 accesiones.....	41
Figura 23	Dendrograma de gel corrido con el marcador molecular miARN TAE/HVU-408 F para 13 accesiones.....	41
Figura 24	Matriz de similitud calculada con el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR408 F/R para 13 accesiones.....	42
Figura 25	Matriz de distancia basada en el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR408 F/R para 13 accesiones.....	42
Figura 26	Gel corrido con el marcador molecular miARN TAE/HVU-miR398 F para 13 accesiones.....	43
Figura 27	Dendrograma de gel corrido con el marcador molecular miARN TAE/HVU-miR398 F para 13 accesiones.....	43
Figura 28	Matriz de similitud calculada con el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR398 F/R para 13 accesiones.....	44
Figura 29	Matriz de distancia basada en el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR398 F/R para 13 accesiones.....	44
Figura 30	Dendrograma general para 13 accesiones pre seleccionadas expuestas a los cinco marcadores moleculares de forma individual.....	45
Figura 31	Matriz de similitud calculada con el coeficiente de Jaccard de dendrograma general para 13 accesiones pre seleccionadas.....	45
Figura 32	Matriz de distancia basada en el coeficiente de Jaccard de dendrograma general para 13 accesiones pre seleccionadas.....	46

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 0	Objetivos, variable, instrumentos y unidad de medida o cualificación utilizada en la investigación.....	21
Tabla 1	Datos de pasaporte de las accesiones seleccionadas preliminarmente en el ensayo de incremento de semilla en San José, La Máquina.....	23
Tabla 2	Datos de días a Floración femenina y Floración Masculina de 20 accesiones.....	26
Tabla 3	Peso de 100 granos.....	27
Tabla 4	Altura de planta y de mazorca en centímetros de 20 accesiones seleccionadas.....	28
Tabla 5	Número Total de hojas de 20 accesiones seleccionadas preliminarmente.....	28
Tabla 6	Capacidad de Permanecer Verde post cosecha.....	29
Tabla 7	Beneficiarios directos e indirectos de la investigación.....	56
Tabla 8	Estrategia de divulgación y difusión de los resultados.....	57



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1	Gráfica de la relación del índice ASI y el peso de 100 granos.....	27
Gráfica 2	Gráfica de la relación de variables: Altura de planta, Altura de mazorca y Número de hojas.....	29



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Resumen

El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los granos básicos de gran importancia mundial, y en Guatemala constituye el pilar de la seguridad nutricional y alimentaria de sus habitantes (Martínez, 2022). La producción nacional no cubre la demanda interna, razón por la cual este cereal debe ser importado. La sequía es un factor de gran importancia para esta problemática, principalmente en la zona geográfica denominada “Corredor Seco”, la cual tiene impactos económicos en Guatemala (Fuentes López, 2002) (ICTA, 2019) (Morales, 2018).

El objetivo general de esta investigación fue analizar la variabilidad genética molecular de 90 accesiones de maíz para tolerancia a sequía; estos materiales fueron colectados en la región del Corredor Seco de Guatemala. Se realizó un ensayo de perfiles genéticos, con cinco marcadores moleculares miARN, de donde se derivaron seis nodos y cuatro accesiones individuales del dendrograma total. Lo anterior mostró variabilidad genética, en donde destacaron 13 accesiones representativas de los nodos colapsados y las cuatro accesiones independientes. Posteriormente, se prosiguió con el estudio individual de cada marcador molecular miARN con las 13 accesiones preseleccionadas, lo cual permitió observar, posibles, marcadores asociados con tolerancia a sequía. La asociación de los datos resultantes del estudio molecular y de la evaluación de campo, mostraron similitud en la pre selección de líneas asociadas, preliminarmente, con tolerancia a sequía. Particularmente, las líneas 7, 12, 14, 28 y 46.

Palabras clave

1. MicroARN.	2. Sequía.	3. Tolerancia Genética.	4. Accesiones.	5. Variabilidad.
--------------	------------	-------------------------	----------------	------------------



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Abstract

Maize (*Zea mays* L.) is one of the staple grains of great global importance, and in Guatemala, it constitutes the pillar of the nutritional and food security of its inhabitants (Martinez, 2022). The national production does not cover the internal demand, which is why this cereal must be imported. Drought is a significant factor in this issue, especially in the geographical area known as the "Dry Corridor," which has economic impacts on Guatemala (Fuentes López, 2002) (ICTA, 2019) (Morales, 2018).

The general objective of this research was to analyze the molecular genetic variability of 90 maize accessions for drought tolerance; these materials were collected in the Dry Corridor region of Guatemala. A genetic profiling assay was conducted with five miRNA molecular markers, from which six nodes and four individual accessions of the total dendrogram were derived. This showed genetic variability, highlighting 13 representative accessions from the collapsed nodes and the four independent accessions. Subsequently, the individual study of each miRNA molecular marker with the 13 preselected accessions was carried out, which allowed for the observation of possible markers associated with drought tolerance. The association of the resulting data from the molecular study and the field evaluation showed similarity in the preliminary selection of lines associated with drought tolerance, particularly lines 7, 12, 14, 28, and 46.

Keywords: microRNA, Drought, Genetic Tolerance, Accessions.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

1. Introducción

El maíz (*Zea mays* L.), es un cultivo de suma importancia, y constituyen el pilar principal de la dieta de la mayor parte de la población guatemalteca, la cual se estima en 16.35 millones de habitantes (INE, 2020). A pesar de la importancia dentro de su alimentación, se ha reducido considerablemente el área de cultivo de maíz, esto debido a la expansión territorial de las ciudades, cultivos extensivos como la caña de azúcar, banano y palma africana; además, el surgimiento de nuevas plagas y enfermedades, el impacto de factores climáticos que causan sequías, por escasez de lluvias, causada por la ausencia de lluvia invernal o más conocido como el fenómeno de El Niño, siendo esta el primordial agente causal de las condiciones de sequía en el país (OXFAM América et al., 2015).

Debido a la problemática anterior, el Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA) y PNUD, colectaron materiales nativos en el corredor seco del país y otras regiones (ICTA, 2019). Para identificar tolerancia a sequía, es necesario conocer la variabilidad genética de estos cultivares, lo que es posible mediante miARN, gracias a la evidencia generada por los estudios efectuados por Aravind (2017), Miskevish (2019) y Ražná (2021), quienes utilizaron marcadores basados en miARN que tienen participación en la respuesta al estrés hídrico, y estos tienen capacidad acumulativa para la creación de material genético con tolerancia perdurable y, también, son heredables siguiendo los estándares de herencia (Leyes de Mendel).

Los miARN son una sola clase de ARN endógeno que no codifican, además de prevalecer en los genomas de muchos organismos; debido a la alta conservación que se tienen en las secuencias de miARN y pre- miARN, dan la oportunidad del desarrollo de un tipo de marcador molecular (Fu et al., 2013).

Por consiguiente, mediante el análisis de variabilidad genética molecular, es posible la identificación de materiales genéticos con rasgos deseables a la resistencia a condiciones de sequía, los cuales podrían utilizarse dentro del área del “Corredor Seco”; ampliando la base génica de líneas nativas y creando líneas especializadas para el país.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

2. Contexto de la investigación

2.1. Delimitación en tiempo y espacio

2.1.1. Delimitación en tiempo

El proyecto de investigación se desarrolló durante los 13 meses, comprendidos desde febrero 2024 a febrero 2025, un total de 13 meses, por la prórroga solicitada. Este proyecto consto por tres fases: campo, laboratorio y gabinete.

2.1.2. Delimitación espacial

Fase de campo: este proceso se realizó en la Estación Experimental ICTA, San José La Máquina, Suchitepéquez, Guatemala. Se realizó mediante un ensayo de bloques al azar donde se dispuso 90 accesiones de maíz, procedentes de diversos puntos a lo largo de la extensión territorial denominada “Corredor Seco Guatemalteco”. En este ensayo se tomaron en cuenta valores fenotípicos generales, preliminares, para el estudio de estas accesiones contra el estrés hídrico. Además, dicho ensayo también cumplió como ensayo de incremento de semilla, con la finalidad de obtener más semillas y continuar con investigaciones subyacentes.

Fase de laboratorio: los procesos moleculares se realizaron en dos instancias, una parte se ejecutó en el Laboratorio de Genética Molecular y Cultivo de Células y Tejidos, 3er Nivel UVIGER, Ciudad Universitaria, Zona 12, Guatemala; en estas instalaciones se realizaron procesos preliminares a la ejecución total de la metodología, además de la implementación de dicho laboratorio; así como el análisis de los resultados de laboratorio. Por otro lado, se concluyeron los procesos moleculares en AGROBIOTECH, laboratorio de biotecnología de la Universidad Eslovaca de Agricultura en Nitra, Eslovaquia; en estas instalaciones se realizaron los tres procesos cruciales dentro de la investigación. Se realizó el aislamiento de ADN mediante la extracción por el método con dodecilsulfato sódico (SDS), para la obtención de material genético con un nivel alto de pureza y de integridad. Posteriormente, se realizó la amplificación de las muestras mediante el método “*Touchdown*”, utilizando un termociclador PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa), obteniendo muestras con los cebadores miARN amplificados dentro de la cadena de ADN. Seguidamente, se realizó el



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

proceso de electroforesis, mediante geles de agarosa, y la base científica del campo magnético y la carga negativa que poseen los ácidos nucleicos; los geles corridos fueron analizados mediante softwares estadísticos específicos.

Fase de gabinete: esta última fase de la investigación se realizó en el Área Administrativa y de Bioestadística del Laboratorio de Genética Molecular y Cultivo de Células y Tejidos, ubicado en el edificio UVIGER, 3er nivel, Ciudad Universitaria Z. 12, Guatemala.

2.2. Población meta beneficiada

Esta investigación beneficia, indirectamente, a la población guatemalteca y a la humanidad en general. Este estudio permite conocer más afondo el valioso germoplasma nativo que posee Guatemala y como este puede ser utilizado como herramienta fitogenética contra la problemática mundial del cambio climático y la constante exponencial del incremento de las sequías y la escasez del agua; mediante el uso de biotecnologías de vanguardia, como lo son los miARN como biomarcadores moleculares. De esta manera, y mediante la continuidad de estas investigaciones, se puede llegar a beneficiar directamente, mediante el desarrollo de una variedad, a la población guatemalteca que habita el Corredor Seco del país, donde predomina la pobreza, la migración y la desigualdad.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

3. Revisión de literatura

3.1. Maíz (*Zea mays* L.)

El maíz (*Zea mays* L.) es una gramínea originaria de la región Mesoamericana, la cual posee una gran importancia a nivel mundial y regional (Yang et al., 2023). Este grano fue la base en la que se establecieron dos de las civilizaciones más importantes en América y el mundo, los Mayas y los Aztecas; mismos que, mediante selección genética, llevaron al Teocintle (*Zea perennis* (Hict.) Reeves & Mangelsd.) hasta lo que hoy conocemos como maíz moderno (CIMMYT, 2023). A continuación, se presenta la taxonomía del maíz:

REINO *Plantae*

SUBDIVISIÓN *Magnoliophyta*

ORDEN *Poales*

FAMILIA *Poaceae*

TRIBU *Andropogoneae*

GÉNERO *Zea*

ESPECIE *Zea mays* L.

Nota. Adaptado de “Clasificación taxonomica del cultivo de maíz”, por Awata et al., 2019, Understanding tropical maize (*Zea mays* L.): The major monocot in modernization and sustainability of agriculture in sub-Saharan Africa. International Journal of Advance Agricultural Reasearch.

3.1.1. Importancia económica

Guatemala ocupa el puesto 49 a nivel mundial, de producción de maíz, con una cantidad de 1,870,000 toneladas, para el año 2020 (McCormick, 2020). Para el año de 2018 este grano ocupaba la mayor superficie de área potencial agrícola, se sembraron, aproximadamente 1,074,058 hectáreas de maíz en el territorio nacional y se reportó un rendimiento de 33.96 quintales/mz (ICTA, 2019). Actualmente la producción de maíz en el territorio no cubre la demanda nacional, esto genera la necesidad de importar dicho grano de otros países, para cubrir la demanda interna; esto se debe a muchos factores, de los cuales se destaca la sequía, donde la humedad del suelo se ve limitada e interrumpe el ciclo correcto del cultivo. Esto se



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

observa en la zona geográfica denominada “Corredor Seco”, la cual abarca los departamentos de Zacapa, Quiché, Baja Verapaz, Chiquimula, El Progreso, Jutiapa, Jalapa y Huehuetenango (ICTA, 2019). La sequía provoca pérdidas en el cultivo que abarcan del 80% al 90% e incluso, la totalidad del cultivo; para el año 2018 se registraron pérdidas de más de 80 millones de Quetzales, tan solo en el departamento de Chiquimula, a causa de la sequía (ICTA, 2019) (Morales, 2018).

3.1.2. Importancia sociocultural

En la República de Guatemala, el maíz se considera un cultivo marginal y su producción es concretada, principalmente, por la importancia social que posee este grano, más allá de la importancia económica; actualmente el maíz se posiciona como el corazón de la cultura moderna, donde la industrialización del mismo, el capitalismo y la globalización ayudan a la expansión de este cultivo (ICTA, 2019) (Mueller, 2011). Para las sociedades de los países mesoamericanos, el maíz se posiciona en el ladrillo fundamental de la sociedad, pues mantiene un contexto social muy parecido al que poseía en la antigüedad, además, este contexto social está siendo transportado a lugares diversos que no son su lugar de origen (Mueller, 2011). El imaginario colectivo de Guatemala posee muy arraigado el consumo de este grano, el cual se encuentra en las mesas de la mayoría de guatemaltecos, de distintas maneras, las cuales suplen las necesidades de los mismos (ICTA, 2019)

3.1.3. Efecto de la sequía en la República de Guatemala

El fenómeno de la sequía en el territorio de Guatemala, posee consecuencias negativas en la agricultura, específicamente en las regiones donde las precipitaciones son estacionales; es inminente la disminución gradual de las precipitaciones invernales y veraniegas en, toda, Centro América, gracias a las influencias antropogénicas en el sistema climático global (Anchukaitis et al., 2015). Vargas *et al.* (2018) mediante un estudio de riesgo climático, determinaron que los efectos negativos de este fenómeno, se concentraron en la agricultura, lo que genera un aumento del precio de los productos agropecuarios y, a su vez, un aumento de las importaciones de productos alimenticios; lo que provoca un riesgo, altamente, considerable a la seguridad alimentaria del país.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

3.1.4. Distribución geográfica del Corredor Seco Guatemalteco

Se estima que, alrededor de ochenta y ocho municipios de doce departamentos de la República, principalmente en el “Corredor Seco”, se vieron afectados por este fenómeno climático, y en estos territorios la alimentación de sus habitantes está basada en maíz y frijol, cultivos que se estima que tuvieron pérdidas del 75% del cultivo (SIINSAN, 2015). El corredor seco es una zona geográfica la cual posee una variabilidad climática extrema; una zona que se ve afectada por diversos eventos climáticos extremos e intensos, pero los que más daño han causado es la alteración de los niveles de precipitación, pues esto ha generado una modificación de los periodos de los cultivos, y una variación de temperatura drástica, que genera la proliferación de enfermedades y plagas en los cultivares de la zona (García Marroquín, 2018). Este comprende cuarenta y seis municipios en ocho departamentos (Jalapa, Jutiapa, Chiquimula, Zacapa, El Progreso, Guatemala, Baja Verapaz y Quiché) (García Marroquín, 2018).

3.1.5. Pre-mejoramiento y recursos genéticos

El pre-mejoramiento es una estrategia de mejora genética a base de la búsqueda y selección de recursos genéticos deseables en especies silvestres y variedades no mejoradas, generalmente, conservadas en bancos de germoplasma (Pritsch, 2001). Este proceso es fundamental para la selección adecuada de germoplasma para el uso en programas de mejora genética; esto reduce la incidencia de enfermedades abióticas y bióticas y, a su vez, promover la diversidad genética (Ali et al, 2022).

3.1.6. Base molecular y genética del maíz

El maíz posee un genoma con, alrededor de, 2.3 gigabases de ADN y, aproximadamente, 32,000 genes, de los cuales un 85% comprenden elementos transponibles y repetitivos (McClintock, Yamakake & Blumenschein, 1981). El maíz es una gramínea diploide, que posee 20 cromosomas en su genoma; tiene cromosomas grandes y complejos, lo que permite la creación de mapas genéticos detallados para su estudio; estos se obtienen a base de análisis sistemáticos y aplicaciones densas de marcadores (Paliwal, Granados, Lafitte, Violic &



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Marathée, 2001). A nivel de estudio molecular, el maíz es considerado una especie ideal, pues posee una reducción en el desequilibrio de ligamiento rápida y tiene potencial grande para la realización de estudios en el genoma (Liu et al., 2014).

3.1.7. Micro-ARN (miARN)

El miARN es parte de la familia del ARN que no codifica, se tiene la información que tiene un papel importante dentro de la modulación de las expresiones genéticas para el ajuste del metabolismo de las plantas al momento de generar resistencia ante el estrés abiótico (Aravind et al., 2017) (Wani et al., 2020). El miARN posee un mecanismo de regulación donde implica el cambio en la autoconcentración, dirigiéndose a la cantidad de ARNm, y realizando modificaciones de la expresión del ARNm, por medio de complejos miARN-proteína; estos cambian la expresión final de las proteínas después de la exposición al estrés (Aravind et al., 2017). En los organismos vegetales, los genes de Micro-ARN codifican las transcripciones largas de miARN primario (pri-miARN) con estructuras secundarias de bucle imperfecto, las cuales son transcritas por la ARN polimerasa II (Aravind et al., 2017). La implicación del miARN dentro de diferentes formas de estrés abiótico fue demostrada en la especie *Arabidopsis spp*, sin embargo, la participación de los miARN totales, bajo condiciones de sequía, y el análisis de la expresión sistémica de los mecanismos relacionados, aún se encuentra en proceso de investigación y se necesita una exploración mayor (Aravind et al., 2017) (Wani et al., 2020).

3.1.8. Biomarcadores moleculares basados en miARN

Fu et al (2013) fueron los primeros en publicar los marcadores basados en miARN como un nuevo sistema marcador, esto gracias a la conservación genómica de las secuencias de miARN y la región de tallo-bucle de los precursores de miARN (pre-miARN). Desde ese momento este sistema de marcadores ha sido utilizado en aplicaciones de genotipado de diversas especies de gramíneas, el estudio y análisis de las estructuras de los genes miARN reveló que estas secuencias repetitivas son parte de ellos, lo que llevó a la creación de marcadores microsatélites basados en miARN enfocados a *Medicago truncatula* y *Oriza sativa*; y gracias al origen de estas secuencias de estos marcadores se pueden considerar



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

funcionales a nivel de ADN (Ražná et al., 2019). Estos poseen una alta reproductibilidad y polimorfismo, supuesta funcionalidad y transferibilidad entre especies; el nivel de polimorfismo se puede comparar con el de marcadores SSR (Ražná et al., 2019).

3.1.9. Resistencia genética del maíz a los efectos de la sequía

Liu *et al.* (2019) identificaron, en dos líneas puras de maíz con tolerancia a la sequía, un total de 52 y 53 miARN con sensibilidad a la sequía, ubicados en raíces y hojas; particularmente, en diversos módulos diana de miARN-ARNm. Por otro lado, un estudio demostró que el gen miARN *ZmLRT* actúa como regulador en el número de raíces laterales y, a su vez, la tolerancia a la sequía, por lo que este gen es un objetivo para el mejoramiento del maíz en función de la resistencia a la sequía (Zhang et al., 2022). Esto nos indica que existen diversos genes que pueden estar involucrados en la resistencia a la sequía, y la heredabilidad de la misma, dando la posibilidad de una acumulación de los mismos mediante selección recurrente.

3.1.10. Familias de miARN de interés fitogenético

Existen diversas familias de microARN que poseen mecanismos fisiológicos involucrados en la tolerancia genética a estrés hídrico en las plantas; dentro de la investigación realizada se analizaron cinco familias, donde cada una posee cualidades beneficiosas al fitomejoramiento. A continuación, se ejemplifica cada una de ellas.

La familia miR827 actúa de manera diferenciada al resto de miARN antiguos, esta se dirige a dos tipos de genes relacionados con el Transportador de Fosfato 5 (PHT5) y el Adaptador de Limitación de Nitrógeno (NLA), sin embargo, la preferencia del objetivo es desconocida; el desplazamiento preferente al sistema transportador de fosfato, en el caso de la mayoría de angiospermas (Lin et al., 2017). Con un papel similar, la familia miR399 son conservadores, poseen mecanismos de señalización de la deficiencia de Fósforo y están involucrados en la regulación de genes asociados al transporte de fosfatos (Pant et al., 2007). El Fósforo (P) es un elemento esencial en el desarrollo de las plantas, posee injerencia clave en el metabolismo energético, mediante el adenosín trifosfato (ATP), y en el desarrollo del sistema radicular;



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

las plantas poseen el mecanismo de Respuesta de la Inanición de Fosfato (PSR), gestionando la deficiencia de este durante el periodo de sequía (Kandhol et al., 2024).

La familia miR156 es una de las familias con más conservación y que se encuentra altamente involucrada en diversos procesos fenológicos de las plantas; esta posee metodologías de regulación de la transcripción del gen SPL (*Squamosa promoter binding-like*) donde involucra roles en la fase reproductiva, regulando el tiempo de floración y promoviendo la maduración de los frutos; además, tiene injerencia en la tasa de iniciación de las hojas (Feyissa, 2020).

La familia miR408 es altamente conservada y posee una antigüedad considerable, este está involucrado en diversos mecanismos de regulación en el desarrollo fenológico durante el estrés hídrico; posee diversas vías de regulación de fotosíntesis mediante proteínas de cobre azul (Cu) y de potenciación de la actividad antioxidante (Gao et al., 2022).

El miR398 interviene en diversas metodologías de regulación del desarrollo en respuesta al estrés abiótico; este se encuentra ligado a la respuesta del estrés oxidativo mediante la regulación de genes codificantes del superóxido dismutasas (CSD1 y CSD2); además, posee injerencia en la regulación ante el estrés por metales pesados, estrés ultravioleta, alta intensidad lumínica y por contaminantes ambientales (Li et al., 2022).

3.2. Estado del Arte

3.2.1. Interacción genética, molecular y fisiológica durante la tolerancia a la sequía en el maíz (*Zea mays*)

En la investigación realizada por Peer *et al.* (2024) enfatizan en la importancia del maíz a nivel mundial y el desafío que enfrenta ante la problemática del estrés hídrico, provocado por el cambio climático, generando alteraciones en aspectos morfológicos, bioquímicos y fisiológicos en el maíz; comprender los mecanismos contra dicha problemática, es esencial para garantizar la seguridad alimentaria mundial; la creación de variedades tolerantes y el uso de aplicaciones genómicas y moleculares son medidas necesarias para mitigar las consecuencias de dicha problemática. La tolerancia genética a sequía en el maíz, posee una naturaleza compleja, la cual comprende el uso de redes genéticas intrincadas; el mapeo



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

cuantitativo de loci que puedan poseer relación con rasgos y las asociaciones genómicas proporcionan la identificación de genes vinculados a dicha tolerancia, que generan cambios morfológicos y de rendimiento (Peer et al., 2024). Los factores de transcripción ZmHsf28, ZmNAC20 y ZmNF-YA1, cumplen un papel crucial en la respuesta a este estrés abiótico mediante la señalización hormonal, la regulación de la apertura y cierre estomático y la expresión génica; genes como ZmSAG39, ZmRAFS y ZmBSK1 se han identificado como cruciales al momento de aumentar dicha tolerancia por medio de diversos mecanismos (Peer et al., 2024).

3.2.2. Uso de Micro-ARN como Biomarcador molecular en *Avena sativa* L.

La investigación realizada en *Avena sativa* L., donde se utilizaron seis biomarcadores moleculares de miARN (miR156, miR398, miR399, miR408, miR827 y miR858), los cuales fueron adecuados mediante la selección en función de su participación dentro de la familia *Poaceae*, para esto se utilizó como herramienta principal la base de datos llamada “miRbase” con la finalidad de explorar y buscar secuencias de miARN; para la detección genómica de 15 genotipos originarios de seis países, los cuales son Australia, Austria, Canadá, Alemania, Eslovaquia y Suecia (Australia-AUT-2, Austria-AUS-1, Alemania-DEU-3, Canadá-CAN-2, Suecia-SWE-2 y Eslovaquia-SVK-5), se analizaron los granos de diversas variedades de *Avena sativa* L., las cuales son Vaclav, Vendelin, Valentin, Vit, Viliam, Flamingsregent, Flamingsgarand, Arne, Fuchs, Arne, Magne, Calibre, Lord, Cascade, Marloo y Senator; todas las muestras estudiadas fueron obtenidas del Banco de Genes de Especies de Semillas de la República Eslovaca (NPPC VÚRV) en Piešťany (Ražná et al., 2021). Se amplificaron un total de 849 loci, que se encontraban basados en miARN, esto representa un promedio de 57 fragmentos por genotipo; se observó que la amplificación balanceada depende del origen del genotipo (Ražná et al., 2021). Se encontró una variación de 46 (Flamingsregent, DEU) a 67 (Senator, AUT) en el rango de fragmentos amplificados, mientras que la representación individual de los tipos de loci fue específica del marcador (Ražná et al., 2021). Gracias a la alta funcionalidad de los biomarcadores que son basados en miARN, la aplicación de los



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

mismos es óptima para la caracterización del valor agregado de los recursos fitogenéticos (Ražná et al., 2021).

3.2.3. Resistencia a sequía en maíz mediada por miARN

La investigación realizada por Miskevish, F. (2019) en la Universidad Nacional de Loja, Ecuador, indica que la ruta miR394 interactúa en los mecanismos de respuesta al estrés hídrico producido por la sequía; para esto se trabajó con las líneas mutantes, con los genes reguladores post-transcripcionalmente por miR394, ZmLCR1 y ZmLCR2, los que serían ortólogos al gen LCR, el cual es regulado por miR394 en Arabidopsis; posteriormente se generaron líneas dobles a cruce dirigido, *zmlcr1*, *zmlcr2*, *zmlcr1/zmlcr2* e individuos de maíz salvaje de línea endocriada T43 (WT); las cuales se colocaron a prueba de 25 días de estrés hídrico determinaron el porcentaje de individuos sobrevivientes. Al final de los veinticinco días, de estrés hídrico, se determinó que el 100% de los individuos *zmlcr1* y *zmlcr1/zmlcr2* reanudaron su crecimiento después del periodo de sequía, mientras que el 33.33% de los individuos WT y el 25% de los individuos *zmlcr2*, lograron seguir su etapa fenológica (Miskevish, F., 2019). Posteriormente, un 70% de los individuos *zmlcr1* mostró avances después de un día de riego constante; la recuperación en los individuos *zmlcr1/zmlcr2* fue parecida pero más lenta; los individuos *zmlcr2* tuvieron menor porcentaje de recuperación, recuperándose, únicamente, el 25% de los individuos al día uno de riego; finalmente, los individuos WT tuvieron una recuperación lenta, teniendo solo el 16.67% recuperados al día uno de riego (Miskevish, F., 2019).

4. Planteamiento del problema

La sequía es un factor abiótico que ha cobrado gran importancia por su prevaleciente afección en el crecimiento, desarrollo y rendimiento en plantas; principalmente en las regiones con insuficiente recurso hídrico, siendo más propensas a sequía (Ceccarelli & Grando, 1996) (Rosegrant & Cline, 2003). Según Fuentes (2002) y Morales (2018) la disminución del rendimiento de follaje y grano tienen variaciones que oscilan el 80 y 90 %, llegando, incluso, al 100 %, en función de la limitación de humedad ocurre en las dos fases más críticas, siendo a los siete días previos y quince días posteriores a la floración afectando directamente al



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

rendimiento por planta. Poniendo en riesgo la salud alimentaria, especialmente de agricultores de subsistencia de Guatemala y del resto de países donde esta enfermedad tiene importancia económica (ICTA, 2019).

La creación de materiales con resistencia genética a la sequía es la estrategia por excelencia para sustentar la producción de granos alimenticios en la época actual de cambio climático, (Aravind et al., 2017) principalmente en el Corredor Seco, el cual abarca el 9% del territorio nacional, con una tasa de pobreza que supera el promedio nacional (García Marroquín, 2018). La tolerancia a sequía es un rasgo fisiológico, morfológico y genéticamente complejo, sin embargo, se necesitar comprender la base molecular subyacente para la resistencia a sequía (Shikha et al, 2017).

Los estudios de Aravind *et al.* (2017) indican que se han identificado a trece familias de miARN se encuentra asociada al fenómeno de la sequía, que tienen sesenta y cinco miembros y regulan cuarenta y dos ARNm diana. Fueron sometidos a caracterización funcional y estructural. Llegaron a identificar los miARN reguladores putativos que conducían a los ARNm relacionados con la sequía, en variedades endogámicas de maíz subtropical que poseen contraste bajo el estrés por sequía.

Investigar la variabilidad genética en 90 accesiones de maíz nos permite conocer, a profundidad, las diferencias genéticas que poseen cada uno de los especímenes estudiados y como estos rasgos pueden estar relacionados con la tolerancia genética al estrés hídrico provocado por sequía; y a su vez, continuar con el estudio de estos materiales promisorios hasta llegar a la creación de un híbrido que pueda ser pieza clave para la sustentabilidad de la población guatemalteca que habita el Corredor Seco y disminuir la brecha socioeconómica para contribuir al desarrollo sostenible.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

5. Objetivos

5.1. Objetivo General

Analizar la variabilidad genética de materiales colectado en la región del corredor seco de Guatemala.

5.2. Objetivos Específicos

5.2.1. Identificar la variabilidad genética, a nivel molecular, utilizando materiales de maíz colectado en Guatemala.

5.2.2. Identificar de manera preliminar la existencia de marcadores basados en miARN que pudiesen estar asociados a tolerancia genética a sequía, en materiales de maíz colectados en Guatemala.

5.2.3. Evaluar en campo el comportamiento de materiales de maíz bajo condiciones del municipio de San José “La Máquina” Suchitepéquez, Guatemala.

6. Hipótesis

Las poblaciones nativas de maíz colectadas en Guatemala, presentan amplia variabilidad genética molecular y posible tolerancia a sequía bajo condiciones del corredor seco de Guatemala.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

7. Método

7.1. Tipo de investigación.

La investigación es de tipo experimental, pues se investigó y obtuvo conocimiento relevante sobre la diversidad genética de 90 accesiones de maíz, recolectadas a lo largo del Corredor Seco Guatemalteco, con la finalidad de conocer si poseen rasgos genéticos, posiblemente, favorables mediante el análisis con biomarcadores moleculares basados en miARN; para la pre selección de futuras accesiones que puedan seguir siendo estudiadas hasta culminar con un híbrido nacional enfocado en los pequeños productores agrícolas, donde la agricultura es de subsistencia y la pobreza es una constante.

7.2. Enfoque y alcance de la investigación.

La investigación es de enfoque cuantitativo para calcular la variabilidad genética molecular, basados en marcadores miARN. La investigación tuvo cinco alcances, iniciando descriptivamente, luego asociativamente, o correlacional, luego un enfoque predictivo y, por último, un enfoque explicativo.

7.3. Diseño de la investigación.

7.3.1. Diseño de campo

El incremento de los 90 materiales nativos de maíz se estableció en 3 bloques separados por fecha de siembra, los bloques I y II constan dos fajas que contienen de 35 parcelas experimentales cada faja. Las parcelas experimentales denominadas así a cada surco con 20 plantas por accesión, el último bloque III, contiene una única faja de 20 accesiones y dos testigos. El ensayo se estableció con distanciamiento de 0.4 m entre plantas y 0.8 m entre surcos, también se consideró 1 m de calle entre las fajas. Las plantas fueron identificadas para la toma de datos morfológicos de importancia para este estudio.

7.3.2. Diseño de laboratorio

Para el estudio molecular de la variabilidad genética el diseño es cuantitativo y no experimental, pues no se tomaron variables; y este fue de manera transversal, siendo un estudio en un momento específico donde se recolectaron la información de las 90 accesiones



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

de maíz y analizar su variabilidad. Este diseño conto de cuatro fases: Aislamiento de ADN, Amplificación de ADN, Electroforesis y Análisis estadístico.

7.4. Población, muestra y muestreo.

Para la investigación se tomó una población de 90 accesiones de maíz, las cuales 90 son representativas de la región del Corredor Seco Guatemalteco pues fueron recolectadas mediante una colaboración entre el Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA) y el Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD) a lo largo de dicha zona del país; y 2 son híbridos comerciales que fungieron como testigos.

A nivel de campo se utilizó la recomendación del CIMMYT para el tamaño de la muestra adecuado de caracterización de 20 plantas por accesión, de las 90 accesiones a caracterizar. El ensayo se dividió en 3 bloques por fecha de siembra, los bloque I y II constaron de 35 “parcelas experimentales” denominadas así a cada surco que incluye las 20 plantas por accesión, el último bloque III, tuvo 20 accesiones y dos testigos.

Se trabajó con la totalidad de las accesiones disponibles, anteriormente especificadas, siendo esta la muestra estudiada para el ensayo de campo y de laboratorio.

La selección de un número alto de muestras, permite que los resultados sean detallados y precisos sobre la variabilidad y el gran valor genético que estas poseen.

7.5. Técnicas

7.5.1. Técnicas de campo

7.5.1.1. Época de siembra

El ensayo de multiplicación de semilla se estableció en la temporada seca para evaluar la respuesta a déficit hídrico en los 90 materiales de maíz colectados en el corredor seco de Guatemala. La siembra se realizó el 1 de marzo de 2024.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

7.5.1.2. Variables de estudio

Altura de Planta

Según Fuentes (2008), en su descriptor para maíz, especifica que esta característica debe ser observada por cada planta y se mide de la base del suelo hasta donde inicia la espiga. Esta lectura se realizó posterior a la floración masculina, en el rango de 60 días a 110 días durante la fase vegetativa. En este momento la planta de maíz deja de crecer. La lectura de la altura de la planta se realizó a las 20 plantas de cada surco.

Altura de Mazorca

La altura de mazorca se midió desde la base del suelo hasta donde está la base de la mazorca. Este dato es muy importante determinarlo porque contribuye a que los agricultores conozcan la posición de la mazorca. En muchos casos ésta se encuentra más arriba de la mitad de la altura de la planta y provoca que los vientos puedan afectar su comportamiento y provocar acame de raíz ó tallo.

7.5.1.3. Libros de campo

La recolección de datos del descriptor se llevó sobre libros de campo identificados por bloque, parcela y número de planta. El libro de campo permitirá la homogenización de información. Se tomaron datos vegetativos de forma semanal, utilizando los días martes, miércoles y jueves.

7.5.1.4. Matriz básica de datos

Una vez recolectada la información de la caracterización, se construyó una matriz básica de datos (MBD), la cual consistió en un arreglo en forma de cuadrícula con tantas filas como accesiones existentes (n) y una columna para cada variable (p). Pla (1986), define a la matriz $n \times p$ como un conjunto de n accesiones en un espacio definido por las p variables, donde las observaciones serán puntos que representan a accesiones en el espacio.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

7.5.2. Técnicas de Laboratorio

Para el estudio molecular se dividió en tres fases, donde cada una posee técnicas específicas para obtener los resultados necesarios. A continuación, se describe cada una de las técnicas utilizadas.

7.5.2.1. Aislamiento de ADN a partir de muestras vegetales

Para el proceso de extracción y aislamiento del material genético se llevó a cabo mediante el método basado en SDS (Dodecil Sulfato Sódico) utilizando el protocolo de Vivekananda *et al.* (2018), el cual consiste en utilizar hojas de 15 días de edad del maíz germinado a nivel *in vitro* y se selecciona un área aproximada de 0.5 cm²; posteriormente se macera criogénicamente el material vegetal mediante nitrógeno líquido hasta conseguir un polvo fino verdoso, el cual se deposita en un micro tubo de 1.5 ml. Posterior se agrega 400 µL de la solución tampón de extracción (50 mM Tris-HCl, 25 mM EDTA, 1% SDS, 300 mM NaCl) y se agita durante 1 min, posteriormente se coloca en incubadora durante 10 min a 65° C; luego se agrega 400 µL de la solución C.H.I.P. (Cloroformo, Alcohol isoamílico y Fenol Tris-Saturado 24:1:25) se agita y se centrifuga por 1 min a 15,000 RPM, 0° C (Vivekananda *et al.*, 2018). Posterior se extrajo 200 µL del sobrenadante y se trasladan a un micro tubo nuevo, donde se agrega 1 ml de la solución IPA pre enfriada (Alcohol isopropílico, 3 M NaOAC, 4:3) y se agita durante 5 segundos y se centrifuga por 1 min a 15,000 RPM, 0° C, se desecha el líquido y se procede a secar el micro tubo durante 10 min; por último, se agrega 50 µL de la solución tampón TE (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA pH 8) y se agita (Vivekananda *et al.*, 2018).

Se debe de cuantificar la cantidad de ácidos nucleicos (ng/ µL) que posee nuestra muestra, mediante un espectrofotómetro; posteriormente se realiza la dilución seriada (1:16) de la muestra hasta llegar a un valor homogéneo que permita los procesos subyacentes.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

7.5.2.2. Amplificación de ADN mediante PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa)

Las muestras de ADN se prepararon con los marcadores moleculares basados en miARN, además de la polimerasa, nucleótidos trifosfatos (dNTP) y el tampón 10X, aforando un total de 10 μ L con agua libre de nucleasa.

Para la amplificación de las muestras se utilizó el método Touchdown PCR descrito por Green y Sambrook (2018) el cual consiste en un método donde se reduce el cebado fuera del objetivo y aumenta la especificidad de la reacción. Para el protocolo específico para los biomarcadores basados en miARN se ajustó a 11 etapas mediante un termociclador PCR convencional; iniciando por la desnaturalización a 94°C durante cinco minutos; 5 ciclos de 30 segundos a 94°C, 45 segundos a 64°C (la temperatura de recocido se disminuirá con 1°C/ciclo), y 60 s a 72°C; 30 ciclos de 30 s a 94°C, 45 s a 60°C y 60 s a 72°C; una extensión a 72°C por cinco minutos y finalizando con una repetición infinita a 10° C.

Las muestras ya amplificadas se preparan para el siguiente proceso, agregando el tinte a utilizar, que permitirá observar las bandas en la electroforesis.

7.5.2.3. Electroforesis y revelación de geles corridos

Se realizaron geles de agarosa al 3% (3gr agarosa, 100 mL TBE) y se les colocó una regla de 15 pocitos, con la finalidad de observar mejor las bandas a revelar; se dispuso la regla de peso molecular establecido en el primer pocito, seguido de 13 muestras a evaluar y un negativo al final. Se aplicó el campo magnético en la cámara de electroforesis a 90 V, durante 1 hora y 15 minutos.

Posterior al proceso de electroforesis, se trasladaron los geles a una cámara reveladora de geles UV, donde se visualizaron las bandas de cada muestra y se procedió a la toma de fotografías de los geles para analizarlos posteriormente mediante el software de uso libre “GeneTools”.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

7.6. Resumen de las variables o unidades de análisis

Anote en la Tabla los objetivos específicos, describa los instrumentos que utilizó y como midió o calificó las variables o unidades de análisis.

Tabla 0. Objetivos, variable, instrumentos y unidad de medida o cualificación utilizada en la investigación.

Objetivo específico	Variable	Instrumentos	Unidad de medida o cualificación
Identificar la variabilidad genética, a nivel molecular, utilizando materiales de maíz colectado en Guatemala.	Variabilidad Genética	<ol style="list-style-type: none"> 1. Termociclador PCR 2. Cámara de electroforesis 3. Cámara de flujo laminar 4. Centrifugadora 5. Computadora 6. Incubadora 7. Cámara reveladora de geles 	<ul style="list-style-type: none"> • Peso molecular • Bandas observadas
Identificar de manera preliminar la existencia de marcadores basados en miARN que pudiesen estar asociados a tolerancia genética a sequía, en materiales de maíz colectados en Guatemala.	Variabilidad Genética	<ol style="list-style-type: none"> 1. Termociclador PCR 2. Cámara de electroforesis 3. Cámara de flujo laminar 4. Centrifugadora 5. Computadora 6. Incubadora 7. Cámara reveladora de geles 	<ul style="list-style-type: none"> • Peso molecular • Bandas observadas



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

<p>Evaluar en campo el comportamiento de materiales de maíz bajo condiciones del municipio de San José La Máquina, Suchitepéquez, Guatemala.</p>	<p>Datos preliminares de campo</p> <p>Semillas incrementadas</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Estatal. 2. Balanza. 3. Libreta y libro de campo. 4. Descriptores. 	<ul style="list-style-type: none"> • Altura de planta • Altura de mazorca • Peso de 100 gr • Número total de hojas • Capacidad de permanecer verde post cosecha
--	--	--	--

7.7. Procesamiento y análisis de la información.

Los geles se analizaron mediante el software de uso libre “GelAnalyzer” donde se establecieron los pesos moleculares conocidos de la regla y se comparó con las bandas generadas para establecer el peso específico de cada una; al mismo tiempo se coloca una línea base a 0, lo que permite la suposición de los pesos de las bandas. Posteriormente, se trasladaron los datos de cada accesión, con sus bandas y pesos moleculares, a Excel, donde se generó una matriz binaria de todas las accesiones, por medio de Tablas dinámicas; para continuar con el análisis del índice de Jaccard y la creación del código de dendrograma, todo esto mediante la página web “DendroUPGMA”. Finalmente se crearon los dendrogramas en base al código mediante la página web “iTOL” donde se colapsaron y contrastaron.

Seguidamente al colapso del dendrograma general, se prosiguió nuevamente con la metodología de laboratorio hasta obtener nuevos geles con las accesiones seleccionadas y repetir el análisis estadístico.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Los dendrogramas permiten visualizar la relación genética entre las accesiones e identificar la diversidad genética de la estructura de las poblaciones. Esta herramienta permite validar los resultados moleculares al contrastarlos con los de campo.

8. Aspectos éticos y legales

Este numeral no aplica para la investigación realizada, pues no se trabajó con seres humanos o animales, y no se realizó con el eje temático de arqueología u otro patrimonio cultural.

9. Resultados y discusión

9.1. Resultados de campo

Al inicio de la investigación, la cantidad de semilla disponible era limitada, por lo que se estableció un ensayo de incremento de semilla en la Estación Experimental del ICTA CEPSUR, ubicada en San José La Máquina. Este ensayo permitió explorar el comportamiento agronómico de 90 accesiones, lo que facilitó una selección preliminar de líneas con potencial para estudios más detallados en futuras investigaciones. En primera instancia, se presentan los datos de pasaporte (Tabla 1) y el mapa de referencia (Figura 1), que muestran el origen de cada accesión a nivel de municipio y departamento.

Tabla 1

Datos de pasaporte de las accesiones seleccionadas preliminarmente en el ensayo de incremento de semilla en San José, La Máquina.

Accesión	Pasaporte	Departamento	Municipio	msn
1	ICTA-ZM-576-2021	El Progreso	Sanarate	1242
7	ICTA-ZM-497-2021	Jutiapa	Quezada	963
8	ICTA-ZM-601-2021	El Progreso	San Antonio La Paz	963
9	ICTA-ZM-569-2021	Quiche	Ixcán	1216
11	ICTA-ZM-767-2021	Zacapa	Río Hondo	684
12	ICTA-ZM-765-2021	Zacapa	Gualán	216
13	ICTA-ZM-533-2021	Jutiapa	Asunción Mita	500
14	ICTA-ZM-592-2021	Jutiapa	Pasaco	212
22	ICTA-ZM-574-2021	El Progreso	Sanarate	1051
24	ICTA-ZM-575-2021	El Progreso	Sanarate	1242

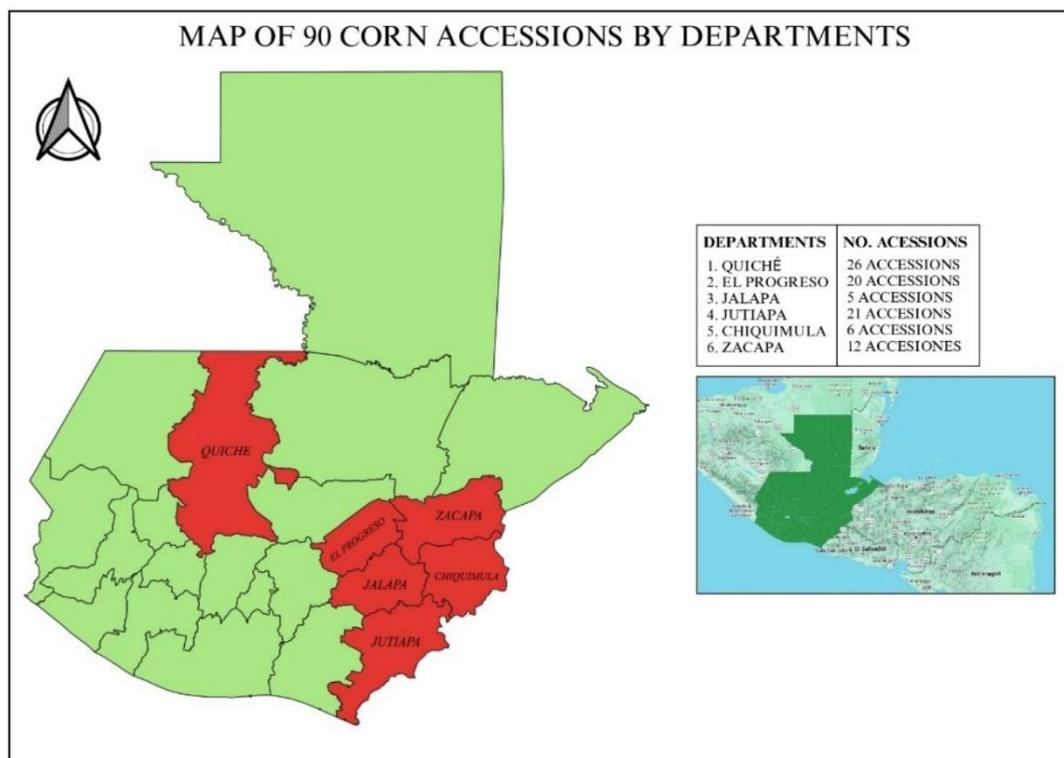
Informe final de Proyecto de Investigación 2024

28	ICTA-ZM-763-2021	Zacapa	Gualán	570
31	ICTA-ZM-556-2021	El Progreso	San Agustín Acasaguastlán	759
33	ICTA-ZM-555-2021	El Progreso	San Agustín Acasaguastlán	735
35	ICTA-ZM-696-2021	Jalapa	Jalapa	1355
37	ICTA-ZM-563-2021	El Progreso	San Agustín Acasaguastlán	872
46	ICTA-ZM-605-2021	El Progreso	San Antonio La Paz	1220
49	ICTA-ZM-758-2021	Zacapa	Teculután	565
50	ICTA-ZM-757-2021	Zacapa	Teculután	565
56	ICTA-ZM-602-2021	El Progreso	San Antonio La Paz	1216
57	ICTA-ZM-703-2021	Quiché	San Andrés Sajcabajá	1365
81	ICTA-ZM-855-2021	Quiché	El Cunen	2020
87	ICTA-ZM-921-2021	El Progreso	Morazán	1089

Nota. A. García (2024). Datos de pasaporte de las accesiones seleccionadas preliminarmente en el ensayo de incremento de semilla en San José, La Máquina. [Tabla]. *Excel*.

Figura 1

Mapa de 90 accesiones de maíz estudiadas por departamento.

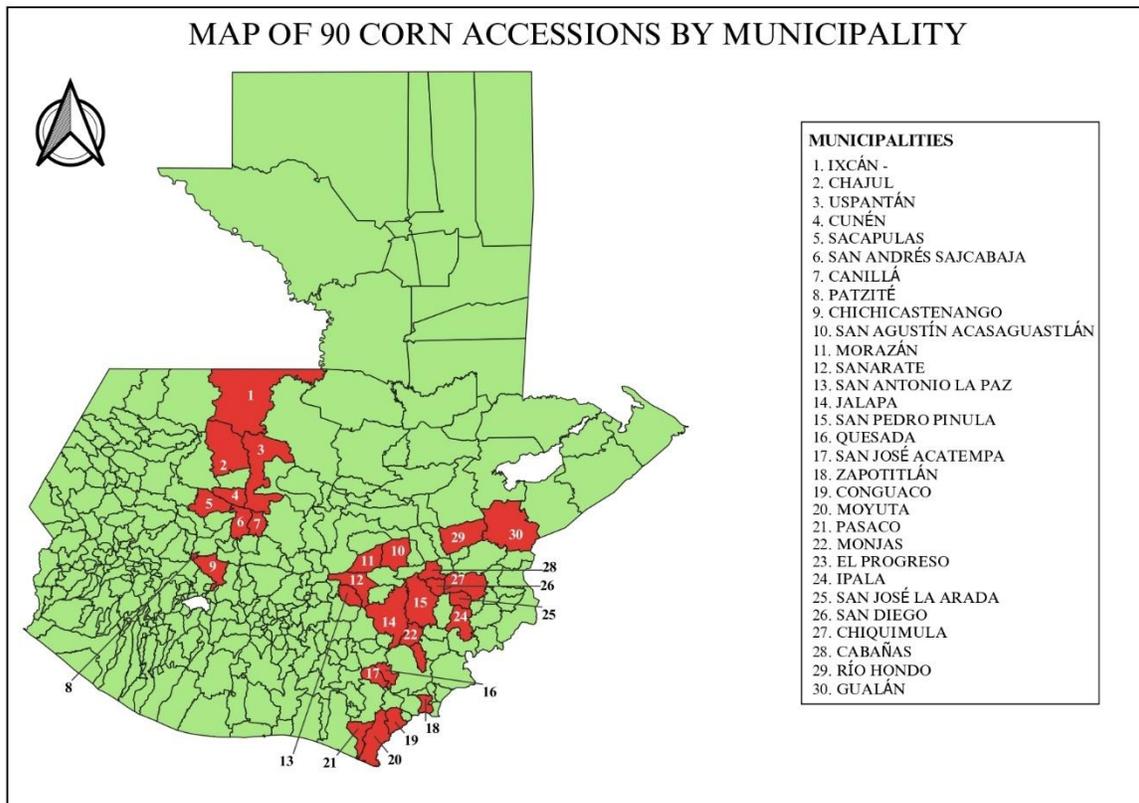


Nota. P. Leal (2024). Mapa de 90 accesiones de maíz por departamento [Imagen]. *Qgis*.

Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Figura 2

Mapa de 90 accesiones de maíz estudiadas por municipio.



Nota. P. Leal (2024). Mapa de 90 accesiones de maíz por municipio [Imagen]. *Qgis*.

Las Tablas 2, 3, 4, 5 y 6 presentan las accesiones junto con los datos de campo recopilados para las variables consideradas importantes en la selección preliminar. La selección estuvo basada en el comportamiento agronómico de los materiales de maíz. Estas variables incluyen floración femenina, floración masculina, altura de planta, altura de mazorca, número total de hojas, peso de 100 granos y la capacidad de mantenerse verde después de la cosecha. En la Gráfica 1 se observa la relación del índice ASI y el peso de 100 granos. La Gráfica 2 muestra la relación de variables: Altura de planta, Altura de mazorca y Número de hojas. La tabla 6 muestra la capacidad de Permanecer Verde post cosecha para cada accesión.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Tabla 2

Datos de días a Floración femenina y Floración Masculina de 20 accesiones.

Accesión	Pasaporte	Índice de Sincronía Floral ASI	Días a Floración Masculina	Días de Floración Femenina
1	ICTA-ZM-576-2021	3	50	53
7	ICTA-ZM-497-2021	2	57	59
8	ICTA-ZM-601-2021	4	45	49
9	ICTA-ZM-569-2021	8	49	57
11	ICTA-ZM-767-2021	4	49	53
12	ICTA-ZM-765-2021	4	49	53
13	ICTA-ZM-533-2021	4	51	55
14	ICTA-ZM-592-2021	3	58	61
22	ICTA-ZM-574-2021	2	44	46
24	ICTA-ZM-575-2021	3	46	49
28	ICTA-ZM-763-2021	2	50	52
31	ICTA-ZM-556-2021	3	45	48
33	ICTA-ZM-555-2021	3	58	61
35	ICTA-ZM-696-2021	3	50	53
37	ICTA-ZM-563-2021	1	52	53
46	ICTA-ZM-605-2021	3	58	61
49	ICTA-ZM-758-2021	3	60	63
50	ICTA-ZM-757-2021	2	57	59
56	ICTA-ZM-602-2021	3	44	47
57	ICTA-ZM-703-2021	-2	46	44
81	ICTA-ZM-855-2021	7	49	56
87	ICTA-ZM-921-2021	3	45	48

Nota. A. García (2024). Datos de días a Floración femenina y Floración Masculina de 20 accesiones. [Tabla]. *Excel*.

Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Tabla 3

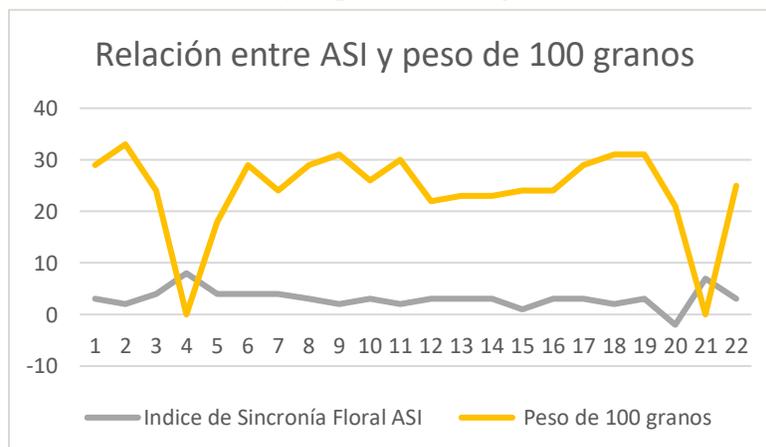
Peso de 100 granos.

Accesión	Pasaporte	Peso de 100 g
1	ICTA-ZM-576-2021	29
7	ICTA-ZM-497-2021	33
8	ICTA-ZM-601-2021	24
9	ICTA-ZM-569-2021	0
11	ICTA-ZM-767-2021	18
12	ICTA-ZM-765-2021	29
13	ICTA-ZM-533-2021	24
14	ICTA-ZM-592-2021	29
22	ICTA-ZM-574-2021	31
24	ICTA-ZM-575-2021	26
28	ICTA-ZM-763-2021	30
31	ICTA-ZM-556-2021	22
33	ICTA-ZM-555-2021	23
35	ICTA-ZM-696-2021	23
37	ICTA-ZM-563-2021	24
46	ICTA-ZM-605-2021	24
49	ICTA-ZM-758-2021	29
50	ICTA-ZM-757-2021	31
56	ICTA-ZM-602-2021	31
57	ICTA-ZM-703-2021	21
81	ICTA-ZM-855-2021	0
87	ICTA-ZM-921-2021	25

Nota. A. García (2024). Peso de 100 granos. [Tabla]. *Excel.*

Gráfica 1

Gráfica de la relación del índice ASI y el peso de 100 granos.



Nota. A. García (2024). Gráfica de la relación del índice ASI y el peso de 100 granos [Gráfica]. *Excel.*

Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Tabla 4

Altura de planta y de mazorca en centímetros de 20 accesiones seleccionadas

Accesión	Pasaporte	Altura de planta (cm)	Altura de mazorca (cm)
1	ICTA-ZM-576-2021	234	156
7	ICTA-ZM-497-2021	265	165
8	ICTA-ZM-601-2021	213	136
9	ICTA-ZM-569-2021	86	16
11	ICTA-ZM-767-2021	87	8
12	ICTA-ZM-765-2021	281	178
13	ICTA-ZM-533-2021	252	166
14	ICTA-ZM-592-2021	228	122
22	ICTA-ZM-574-2021	235	130
24	ICTA-ZM-575-2021	217	118
28	ICTA-ZM-763-2021	241	156
31	ICTA-ZM-556-2021	192	118
33	ICTA-ZM-555-2021	234	137
35	ICTA-ZM-696-2021	312	184
37	ICTA-ZM-563-2021	220	128
46	ICTA-ZM-605-2021	276	170
49	ICTA-ZM-758-2021	231	125
50	ICTA-ZM-757-2021	183	91
56	ICTA-ZM-602-2021	208	145
57	ICTA-ZM-703-2021	202	121
81	ICTA-ZM-855-2021	208	134
87	ICTA-ZM-921-2021	216	132

Nota. A. García (2024). Altura de planta y de mazorca en centímetros de 20 accesiones seleccionadas. [Tabla]. *Excel*.

Tabla 5

Número Total de hojas de 20 accesiones seleccionadas preliminarmente.

Accesión	Pasaporte	Número total de hojas
1	ICTA-ZM-576-2021	17
7	ICTA-ZM-497-2021	18
8	ICTA-ZM-601-2021	21
9	ICTA-ZM-569-2021	19
11	ICTA-ZM-767-2021	19
12	ICTA-ZM-765-2021	15
13	ICTA-ZM-533-2021	18
14	ICTA-ZM-592-2021	27
22	ICTA-ZM-574-2021	19
24	ICTA-ZM-575-2021	19
28	ICTA-ZM-763-2021	29
31	ICTA-ZM-556-2021	17

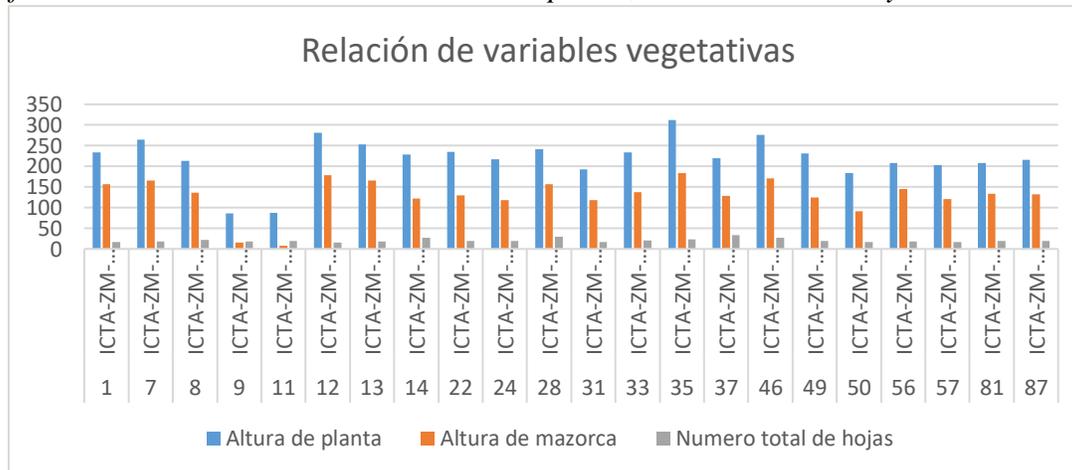
Informe final de Proyecto de Investigación 2024

33	ICTA-ZM-555-2021	20
35	ICTA-ZM-696-2021	23
37	ICTA-ZM-563-2021	33
46	ICTA-ZM-605-2021	27
49	ICTA-ZM-758-2021	19
50	ICTA-ZM-757-2021	17
56	ICTA-ZM-602-2021	18
57	ICTA-ZM-703-2021	17
81	ICTA-ZM-855-2021	19
87	ICTA-ZM-921-2021	19

Nota. A. García (2024). Número Total de hojas de 20 accesiones seleccionadas preliminarmente. [Tabla]. *Excel.*

Gráfica 2

Gráfica de la relación de variables: Altura de planta, Altura de mazorca y Número de hojas.



Nota. A. García (2024). Gráfica de la relación de variables: Altura de planta, Altura de mazorca y Número de hojas. [Gráfica]. *Excel.*

Tabla 6

Capacidad de Permanecer Verde post cosecha

Accesión	Pasaporte	CPV post cosecha
1	ICTA-ZM-576-2021	5
7	ICTA-ZM-497-2021	7
8	ICTA-ZM-601-2021	5
9	ICTA-ZM-569-2021	3
11	ICTA-ZM-767-2021	5
12	ICTA-ZM-765-2021	7
13	ICTA-ZM-533-2021	5
14	ICTA-ZM-592-2021	7
22	ICTA-ZM-574-2021	7

Informe final de Proyecto de Investigación 2024

24	ICTA-ZM-575-2021	7
28	ICTA-ZM-763-2021	7
31	ICTA-ZM-556-2021	5
33	ICTA-ZM-555-2021	5
35	ICTA-ZM-696-2021	5
37	ICTA-ZM-563-2021	5
46	ICTA-ZM-605-2021	7
49	ICTA-ZM-758-2021	5
50	ICTA-ZM-757-2021	7
56	ICTA-ZM-602-2021	7
57	ICTA-ZM-703-2021	5
81	ICTA-ZM-855-2021	3
87	ICTA-ZM-921-2021	7

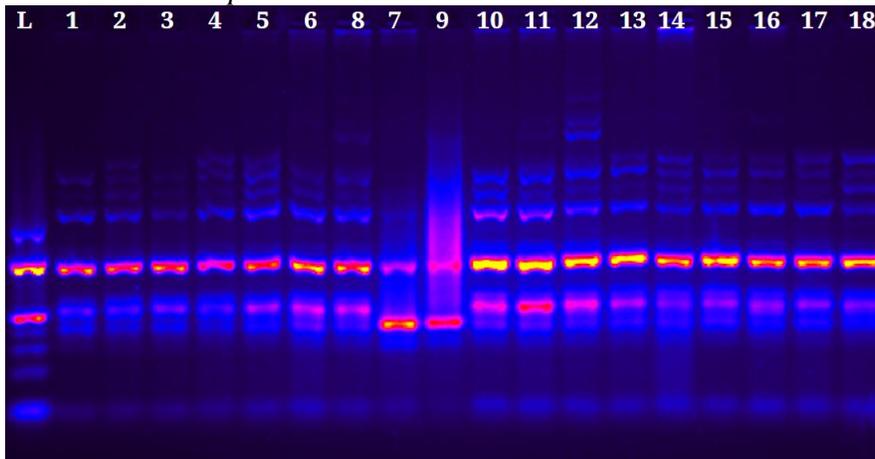
Nota. A. García (2024). Capacidad de Permanecer Verde post cosecha. [Tabla]. *Excel*.

9.2. Resultados moleculares

Se realizaron geles corridos del ADN de las 90 accesiones de maíz estudiadas las cuales, en este primer paso, se expusieron a los seis biomarcadores moleculares miARN estudiados en forma homogenizada para cada muestra, esto con la finalidad de observar la variabilidad total de las muestras para, posteriormente, estudiarlas individualmente con cada marcador molecular miARN; los cuales fueron: Hvu-miR827 F/R, Hvu-miR399 F/R, Tae/Hvu-miR156_F, Tae/Hvu-miR408_F y Tae-miR398_F.

Figura 3

Accesiones número 1 a 18 expuestas a todos los marcadores moleculares miARN.

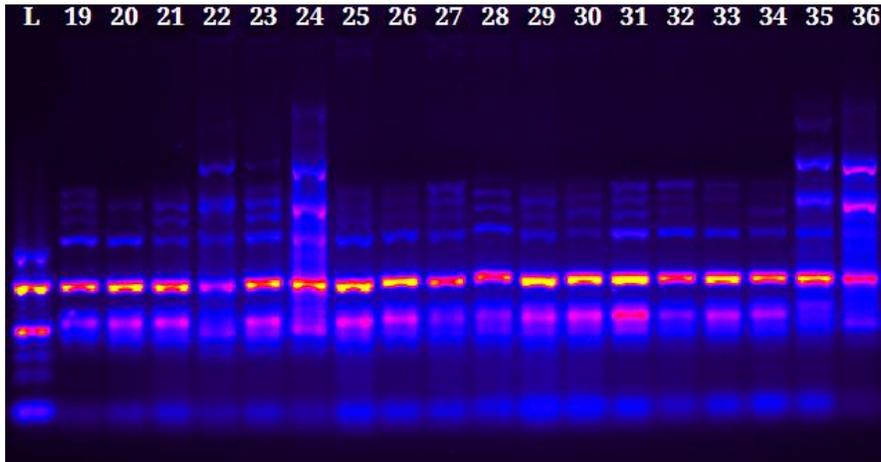


Nota. P. Leal A. García & C. Orozco (2024). Gel corrido con accesiones 1-18 expuestas a marcadores moleculares miARN [Imagen]. *GeneTools*.

Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Figura 4

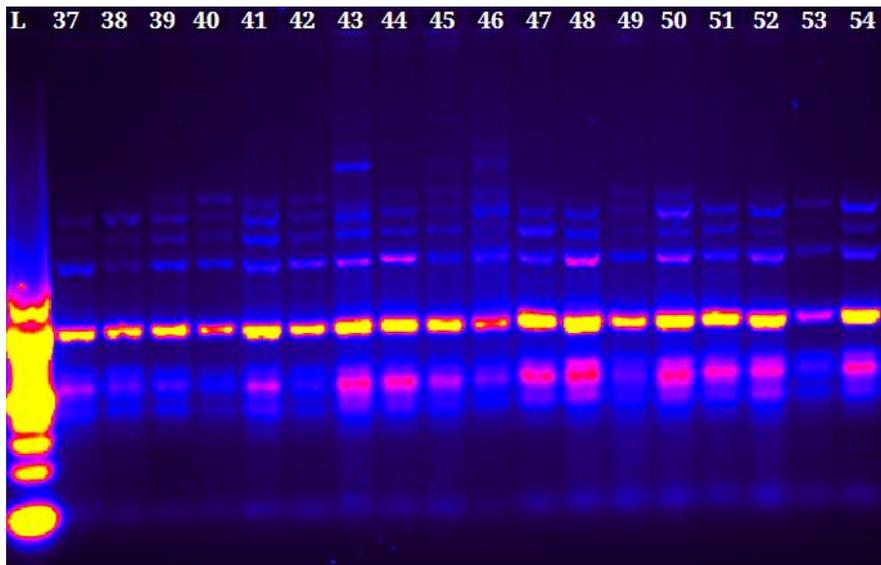
Accesiones número 19 a 36 expuestas a todos los marcadores moleculares miARN.



Nota. P. Leal A. García & C. Orozco (2024). Gel corrido con accesiones 19 - 36 expuestas a marcadores moleculares miARN [Imagen]. *GeneTools*.

Figura 5

Accesiones número 37 a 54 expuestas a todos los marcadores moleculares miARN.

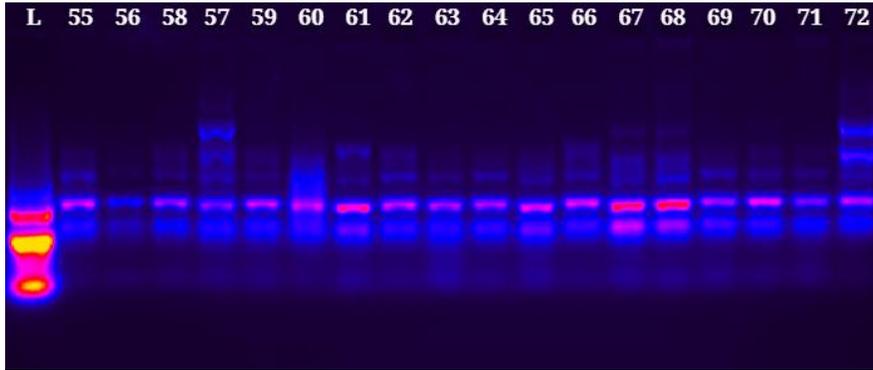


Nota. P. Leal A. García & C. Orozco (2024). Gel corrido con accesiones 37 - 54 expuestas a marcadores moleculares miARN [Imagen]. *GeneTools*.

Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Figura 6

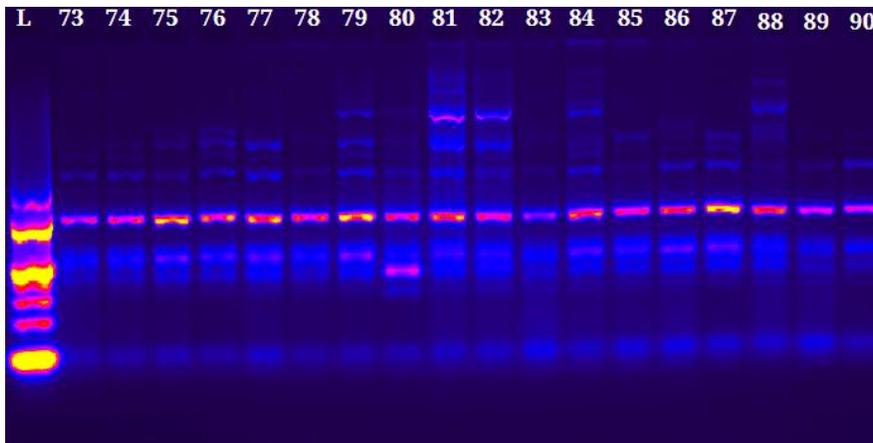
Accesiones número 55 a 72 expuestas a todos los marcadores moleculares miARN.



Nota. P. Leal A. García & C. Orozco (2024). Gel corrido con accesiones 55 - 72 expuestas a marcadores moleculares miARN [Imagen]. *GeneTools*.

Figura 7

Accesiones número 73 a 90 expuestas a todos los marcadores moleculares miARN.



Nota. P. Leal A. García & C. Orozco (2024). Gel corrido con accesiones 73 - 90 expuestas a marcadores moleculares miARN [Imagen]. *GeneTools*.

Posterior al análisis específico de cada uno de los geles para la obtención de los pesos moleculares, se realizó el dendrograma general de las 90 accesiones de maíz, el cual permite observar las relaciones genéticas existentes y la variabilidad genética encontrada. A continuación, se presenta dicho dendrograma.

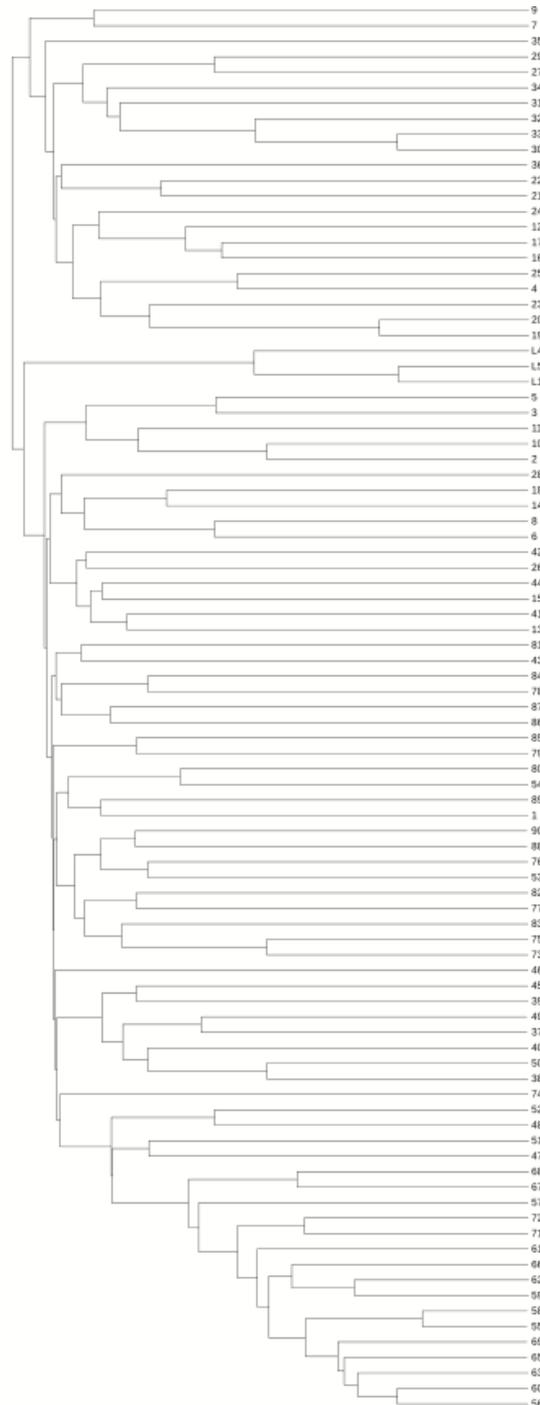


Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Figura 8

Dendrograma general de las 90 accesiones expuestas a cinco marcadores miARN.

Tree scale: 0.1

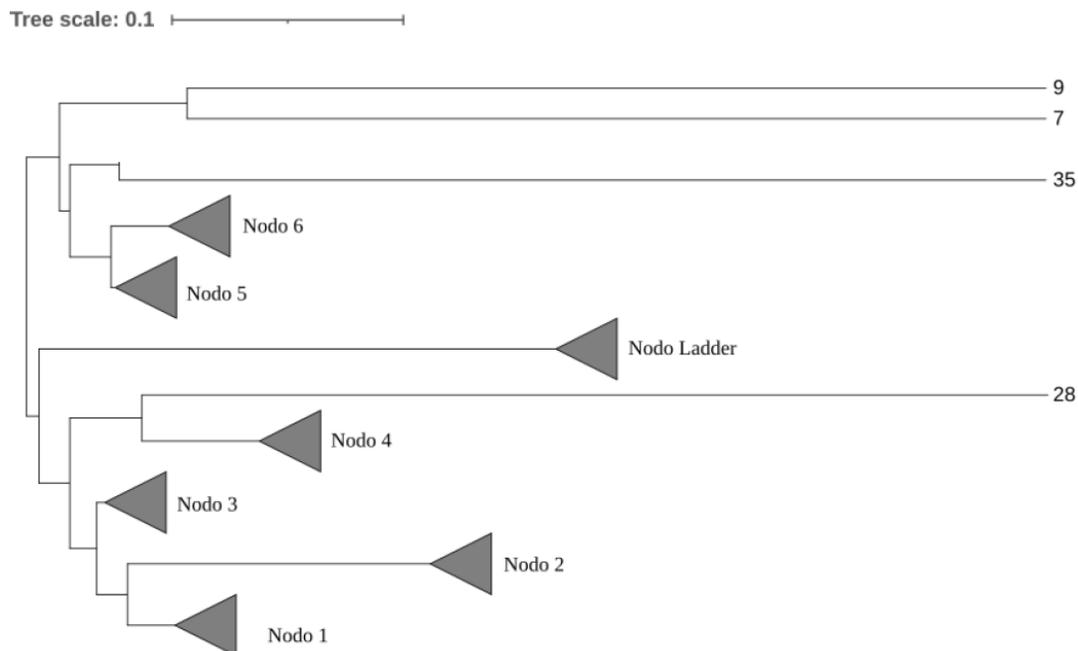


Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Nota. P. Leal (2024). Dendrograma general de las 90 accesiones [Imagen]. *iTOL*. Al obtener el dendrograma total se colapsó para facilitar los siguientes estudios genéticos, el método utilizado fue el de enlace promedio *UPGMA* donde se colapsaron a 0.476 avg. BRL, lo cual produjo un total de 6 nodos colapsados, 5 accesiones independientes y el nodo de las reglas (*Ladder*).

Figura 9

Dendrograma general colapsado a 0.476 avg. BRL que muestra los nodos.



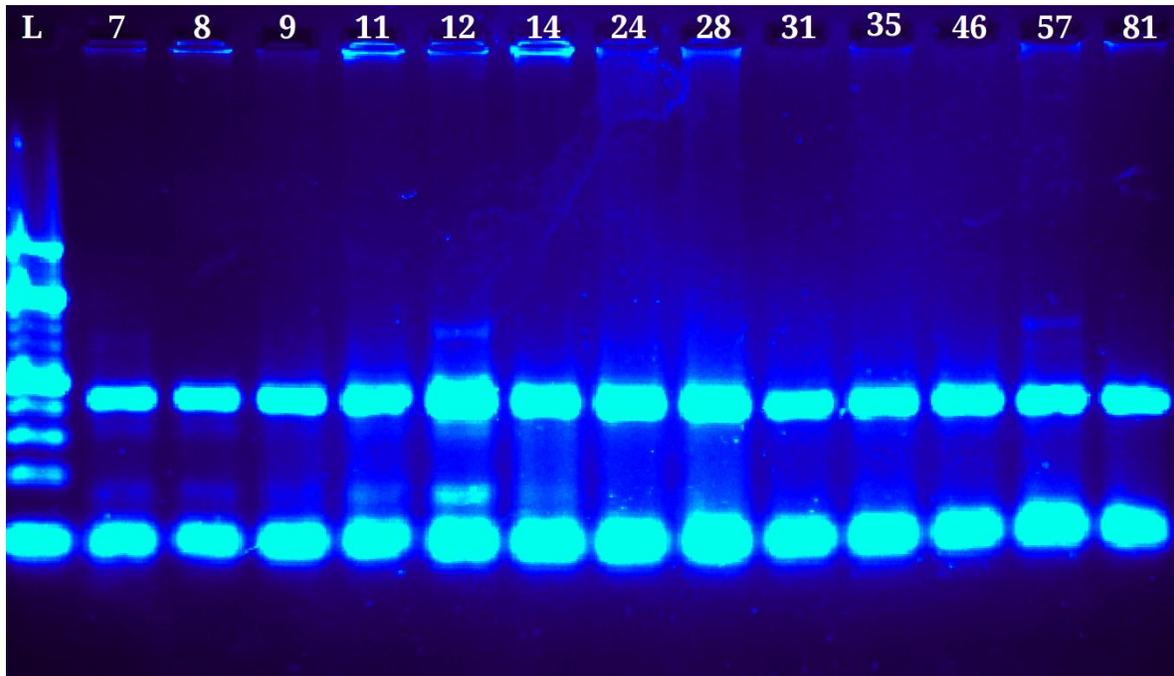
Nota. P. Leal (2024). Dendrograma colapsado [Imagen]. *iTOL*.

Luego de realizar el colapso de los nodos, se seleccionaron nueve accesiones de los nodos (11, 8, 46, 57, 81, 14, 12, 24 y 31) y las cuatro accesiones individuales (28, 7, 35 y 9), las cuales mostraron mayor variabilidad genética molecular. Seguidamente, se establecieron ensayos individuales con cada marcador molecular miARN para las accesiones previamente seleccionadas. En las siguientes Figuras, se muestran los geles de cada uno de los ensayos, conjuntamente con su dendrograma y sus matrices de distancia y similitud genética por medio del coeficiente de Jaccard.

Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Figura 10

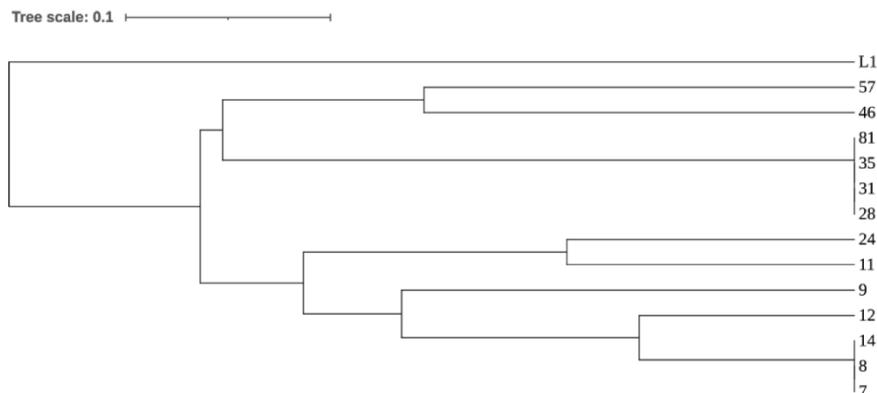
Gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR827 F/R para 13 accesiones.



Nota. P. Leal A. García & C. Orozco (2024). Gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR827 F/R para 13 accesiones [Imagen]. *GeneTools*.

Figura 11

Dendrograma de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR827 F/R para 13 accesiones.





Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Nota. P. Leal (2024). Dendrograma de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR827 F/R para 13 accesiones [Imagen]. *iTOL*.

Figura 12

Matriz de similitud calculada con el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR827 F/R para 13 accesiones.

Matriz de similitud calculada con el coeficiente de Jaccard														
	7	8	9	11	12	14	24	28	31	35	46	57	81	L1
7	1	1	0.5	0.5	0.75	1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.167	0.25	0
8		1	0.5	0.5	0.75	1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.167	0.25	0
9			1	0.5	0.4	0.5	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.167	0.25	0
11				1	0.4	0.5	0.667	0.25	0.25	0.25	0.25	0.167	0.25	0
12					1	0.75	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.143	0.2	0
14						1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.167	0.25	0
24							1	0.333	0.333	0.333	0.333	0.2	0.333	0
28								1	1	1	0.333	0.2	1	0
31									1	1	0.333	0.2	1	0
35										1	0.333	0.2	1	0
46											1	0.5	0.333	0.125
57												1	0.2	0.1
81													1	0
L1														1

Nota. P. Leal (2024). Matriz de similitud calculada con el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR827 F/R para 13 accesiones [Imagen]. *Excel*.

Figura 13

Matriz de distancia basada en el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR827 F/R para 13 accesiones.

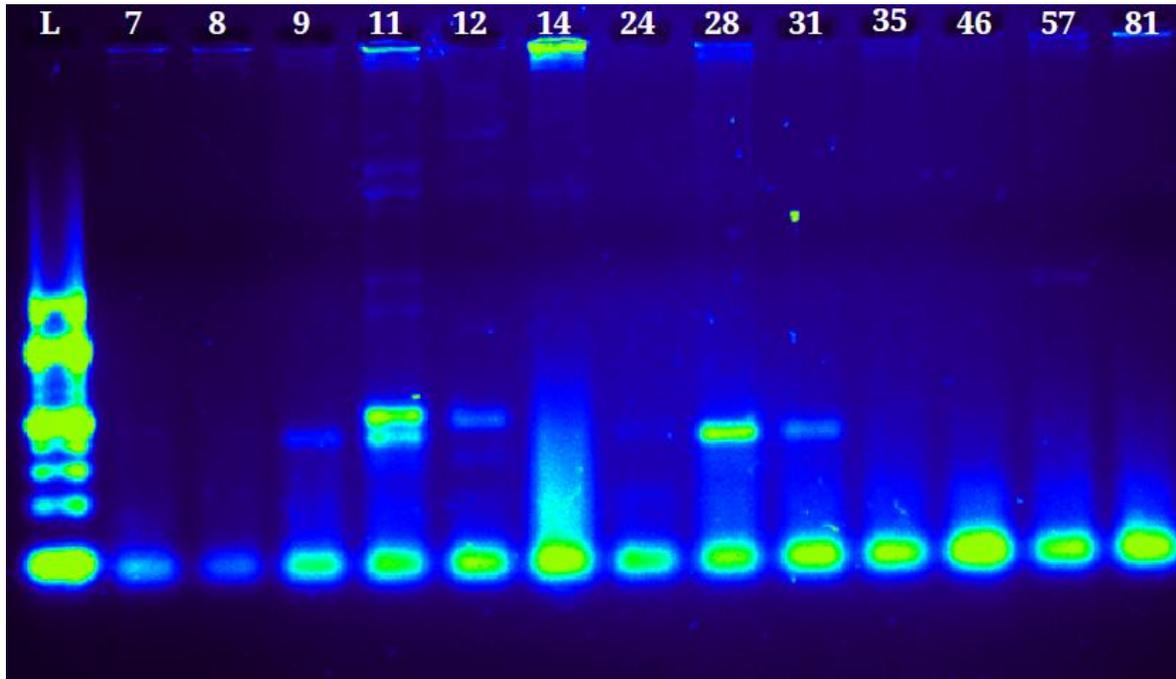
Matriz de distancia basada en el coeficiente de Jaccard														
	7	8	9	11	12	14	24	28	31	35	46	57	81	L1
7	0	0	0.5	0.5	0.25	0	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.833	0.75	1
8		0	0.5	0.5	0.25	0	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.833	0.75	1
9			0	0.5	0.6	0.5	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.833	0.75	1
11				0	0.6	0.5	0.333	0.75	0.75	0.75	0.75	0.833	0.75	1
12					0	0.25	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.857	0.8	1
14						0	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.833	0.75	1
24							0	0.667	0.667	0.667	0.667	0.8	0.667	1
28								0	0	0	0.667	0.8	0	1
31									0	0	0.667	0.8	0	1
35										0	0.667	0.8	0	1
46											0	0.5	0.667	0.875
57												0	0.8	0.9
81													0	1
L1														0

Nota. P. Leal (2024). Matriz de distancia basada en el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR827 F/R para 13 accesiones [Imagen]. *Excel*.

Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Figura 14

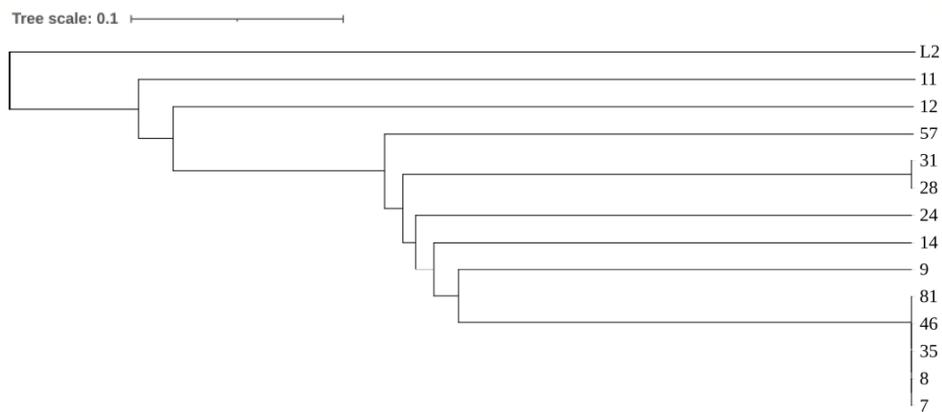
Gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR399 F/R para 13 accesiones.



Nota. P. Leal A. García & C. Orozco (2024). Gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR399 F/R para 13 accesiones [Imagen]. *GeneTools*.

Figura 15

Dendrograma de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR399 F/R para 13 accesiones.



Nota. P. Leal (2024). Dendrograma de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR399 F/R para 13 accesiones [Imagen]. *iTOL*.

Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Figura 16

Matriz de similitud calculada con el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR399 F/R para 13 accesiones.

Matriz de similitud calculada con el coeficiente de Jaccard														
	7	8	9	11	12	14	24	28	31	35	46	57	81	L2
7	1	1	0.5	0.143	0.2	0.5	0.5	0.5	0.5	1	1	0.5	1	0
8		1	0.5	0.143	0.2	0.5	0.5	0.5	1	1	1	0.5	1	0
9			1	0.286	0.167	0.333	0.333	0.333	0.333	0.5	0.5	0.333	0.5	0
11				1	0.091	0.125	0.125	0.125	0.125	0.143	0.143	0.125	0.143	0
12					1	0.167	0.167	0.167	0.167	0.2	0.2	0.167	0.2	0
14						1	0.333	0.333	0.333	0.5	0.5	0.333	0.5	0
24							1	0.333	0.333	0.5	0.5	0.333	0.5	0
28								1	1	0.5	0.5	0.333	0.5	0
31									1	0.5	0.5	0.333	0.5	0
35										1	1	0.5	1	0
46											1	0.5	1	0
57												1	0.5	0
81													1	0
L2														1

Nota. P. Leal (2024). Matriz de similitud calculada con el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR399 F/R para 13 accesiones [Imagen]. *Excel.*

Figura 17

Matriz de distancia basada en el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR399 F/R para 13 accesiones.

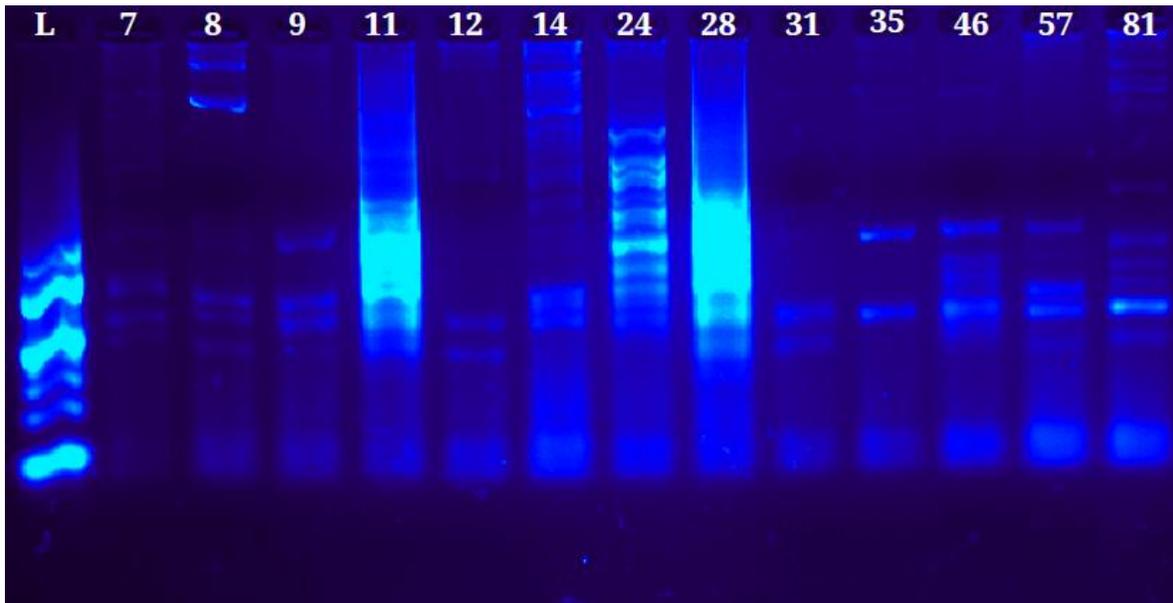
Matriz de distancia basada en el coeficiente de Jaccard														
	7	8	9	11	12	14	24	28	31	35	46	57	81	L2
7	0	0	0.5	0.857	0.8	0.5	0.5	0.5	0.5	0	0	0.5	0	1
8		0	0.5	0.857	0.8	0.5	0.5	0.5	0.5	0	0	0.5	0	1
9			0	0.714	0.833	0.667	0.667	0.667	0.667	0.5	0.5	0.667	0.5	1
11				0	0.909	0.875	0.875	0.875	0.875	0.857	0.857	0.875	0.857	1
12					0	0.833	0.833	0.833	0.833	0.8	0.8	0.833	0.8	1
14						0	0.667	0.667	0.667	0.5	0.5	0.667	0.5	1
24							0	0.667	0.667	0.5	0.5	0.667	0.5	1
28								0	0	0.5	0.5	0.667	0.5	1
31									0	0.5	0.5	0.667	0.5	1
35										0	0	0.5	0	1
46											0	0.5	0	1
57												0	0.5	1
81													0	1
L2														0

Nota. P. Leal (2024). Matriz de distancia basada en el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR399 F/R para 13 accesiones [Imagen]. *Excel.*

Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Figura 18

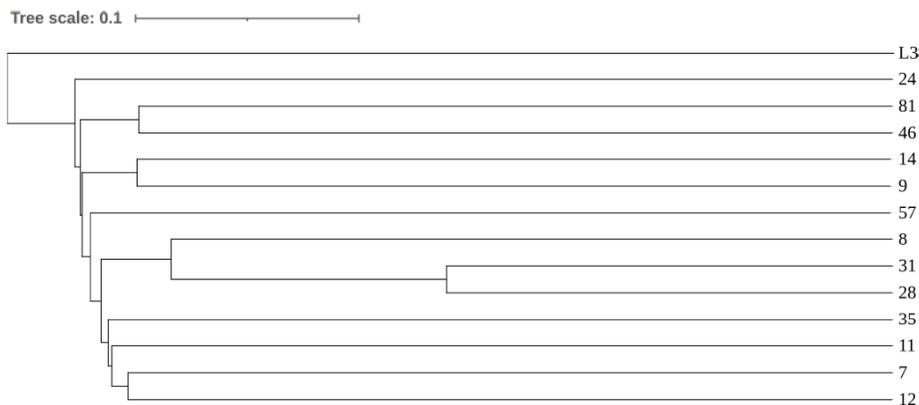
Gel corrido con el marcador molecular miARN TAE/HVU-miR156 F para 13 accesiones.



Nota. P. Leal A. García & C. Orozco (2024). Gel corrido con el marcador molecular miARN TAE/HVU-miR156 F para 13 accesiones [Imagen]. *GeneTools*.

Figura 19

Dendrograma de gel corrido con el marcador molecular miARN TAE/HVU-miR156 F para 13 accesiones.



Nota. P. Leal (2024). Dendrograma de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR156 F para 13 accesiones [Imagen]. *iTOL*.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Figura 20

Matriz de similitud calculada con el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR156 F/R para 13 accesiones.

Matriz de similitud calculada con el coeficiente de Jaccard														
	7	8	9	11	12	14	24	28	31	35	46	57	81	L3
7	1	0.091	0.125	0.125	0.143	0.077	0.083	0.143	0.125	0.125	0.125	0.111	0.077	0
8		1	0.083	0.083	0.091	0.059	0.062	0.2	0.182	0.083	0.083	0.077	0.059	0
9			1	0.111	0.125	0.154	0.077	0.125	0.111	0.111	0.111	0.1	0.071	0
11				1	0.125	0.071	0.077	0.125	0.111	0.111	0.111	0.1	0.071	0
12					1	0.077	0.083	0.143	0.125	0.125	0.125	0.111	0.077	0
14						1	0.056	0.077	0.071	0.071	0.071	0.067	0.053	0
24							1	0.182	0.077	0.077	0.077	0.071	0.056	0
28								1	0.5	0.125	0.125	0.111	0.077	0
31									1	0.111	0.111	0.1	0.071	0
35										1	0.111	0.1	0.071	0
46											1	0.1	0.154	0
57												1	0.067	0
81													1	0.062
L3														1

Nota. P. Leal (2024). Matriz de similitud calculada con el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR156 F/R para 13 accesiones [Imagen]. *Excel.*

Figura 21

Matriz de distancia basada en el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR156 F/R para 13 accesiones.

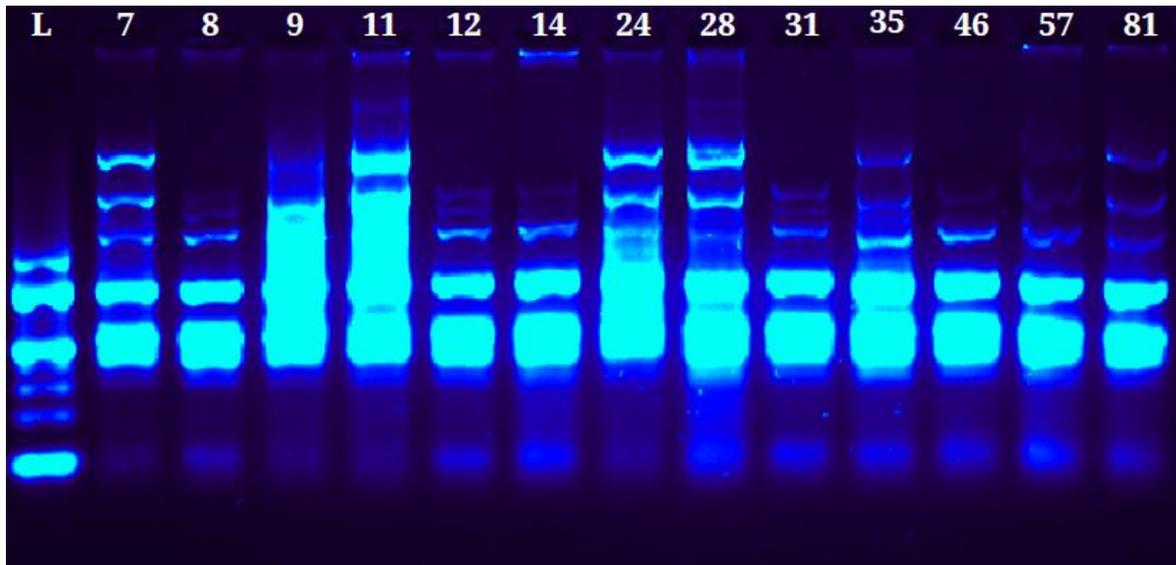
Matriz de distancia basada en el coeficiente de Jaccard														
	7	8	9	11	12	14	24	28	31	35	46	57	81	L3
7	0	0.909	0.875	0.875	0.857	0.923	0.917	0.857	0.875	0.875	0.875	0.889	0.923	1
8		0	0.917	0.917	0.909	0.941	0.938	0.8	0.818	0.917	0.917	0.923	0.941	1
9			0	0.889	0.875	0.846	0.923	0.875	0.889	0.889	0.889	0.9	0.929	1
11				0	0.875	0.929	0.923	0.875	0.889	0.889	0.889	0.9	0.929	1
12					0	0.923	0.917	0.857	0.875	0.875	0.875	0.889	0.923	1
14						0	0.944	0.923	0.929	0.929	0.929	0.933	0.947	1
24							0	0.818	0.923	0.923	0.923	0.929	0.944	1
28								0	0.5	0.875	0.875	0.889	0.923	1
31									0	0.889	0.889	0.9	0.929	1
35										0	0.889	0.9	0.929	1
46											0	0.9	0.846	1
57												0	0.933	1
81													0	0.938
L3														0

Nota. P. Leal (2024). Matriz de distancia basada en el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR156 F/R para 13 accesiones [Imagen]. *Excel.*

Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Figura 22

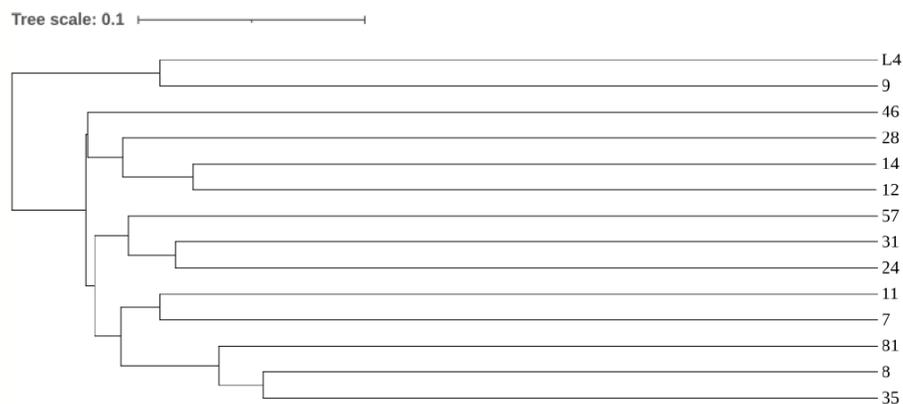
Gel corrido con el marcador molecular miARN TAE/HVU-miR408 F para 13 accesiones.



Nota. P. Leal A. García & C. Orozco (2024). Gel corrido con el marcador molecular miARN TAE/HVU-miR408 F para 13 accesiones [Imagen]. *GeneTools*.

Figura 23

Dendrograma de gel corrido con el marcador molecular miARN TAE/HVU-408 F para 13 accesiones.



Nota. P. Leal (2024). Dendrograma de gel corrido con el marcador molecular miARN TAE/HVU-miR408 F para 13 accesiones [Imagen]. *iTOL*.

Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Figura 24

Matriz de similitud calculada con el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR408 F/R para 13 accesiones.

Matriz de similitud calculada con el coeficiente de Jaccard														
	7	8	9	11	12	14	24	28	31	35	46	57	81	L4
7	1	0.2	0	0.182	0.091	0.1	0.091	0.083	0.091	0.083	0.1	0.091	0.2	0
8		1	0	0.182	0.091	0.1	0.2	0.083	0.091	0.3	0.1	0.091	0.2	0.083
9			1	0	0	0	0	0	0	0	0	0.091	0	0.182
11				1	0.083	0.091	0.083	0.167	0.182	0.077	0.091	0.083	0.083	0
12					1	0.222	0.091	0.083	0.091	0.083	0.1	0.091	0.091	0
14						1	0.1	0.2	0.222	0.091	0.111	0.1	0.1	0
24							1	0.083	0.2	0.182	0.1	0.091	0.091	0.083
28								1	0.083	0.077	0.091	0.083	0.083	0
31									1	0.083	0.1	0.2	0.091	0
35										1	0.091	0.083	0.3	0.077
46											1	0.1	0.1	0
57												1	0.091	0
81													1	0
L4														1

Nota. P. Leal (2024). Matriz de similitud calculada con el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR408 F/R para 13 accesiones [Imagen]. *Excel.*

Figura 25

Matriz de distancia basada en el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR408 F/R para 13 accesiones.

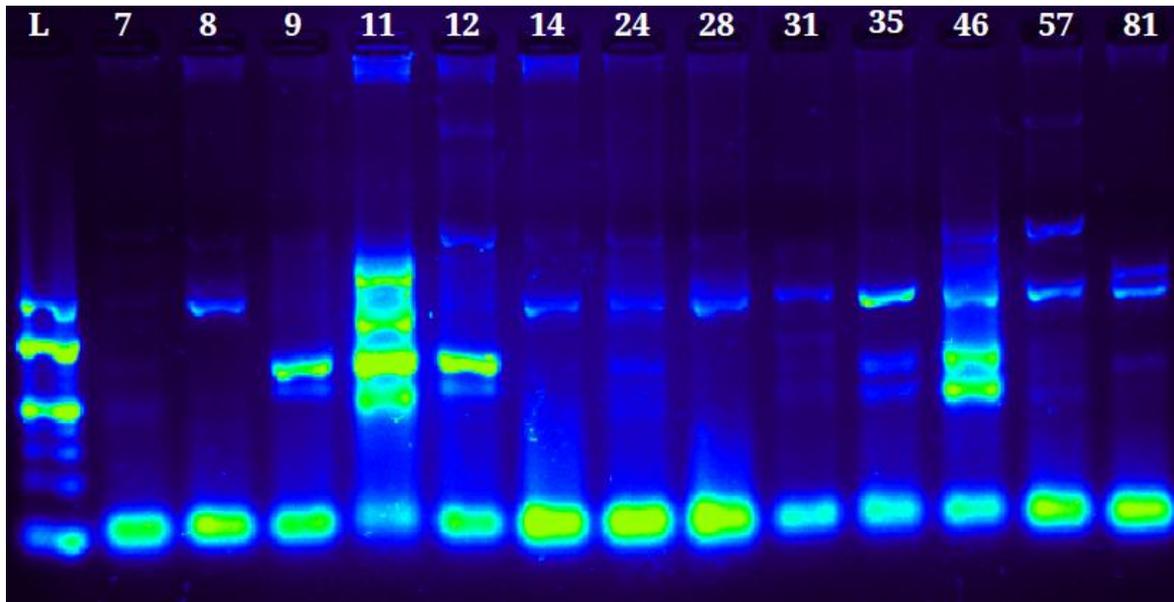
Matriz de distancia basada en el coeficiente de Jaccard														
	7	8	9	11	12	14	24	28	31	35	46	57	81	L4
7	0	0.8	1	0.818	0.909	0.9	0.909	0.917	0.909	0.917	0.9	0.909	0.8	1
8		0	1	0.818	0.909	0.9	0.8	0.917	0.909	0.7	0.9	0.909	0.8	0.917
9			0	1	1	1	1	1	1	1	1	0.909	1	0.818
11				0	0.917	0.909	0.917	0.833	0.818	0.923	0.909	0.917	0.917	1
12					0	0.778	0.909	0.917	0.909	0.917	0.9	0.909	0.909	1
14						0	0.9	0.8	0.778	0.909	0.889	0.9	0.9	1
24							0	0.917	0.8	0.818	0.9	0.909	0.909	0.917
28								0	0.917	0.923	0.909	0.917	0.917	1
31									0	0.917	0.9	0.8	0.909	1
35										0	0.909	0.917	0.7	0.923
46											0	0.9	0.9	1
57												0	0.909	1
81													0	1
L4														0

Nota. P. Leal (2024). Matriz de distancia basada en el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR408 F/R para 13 accesiones [Imagen]. *Excel.*

Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Figura 26

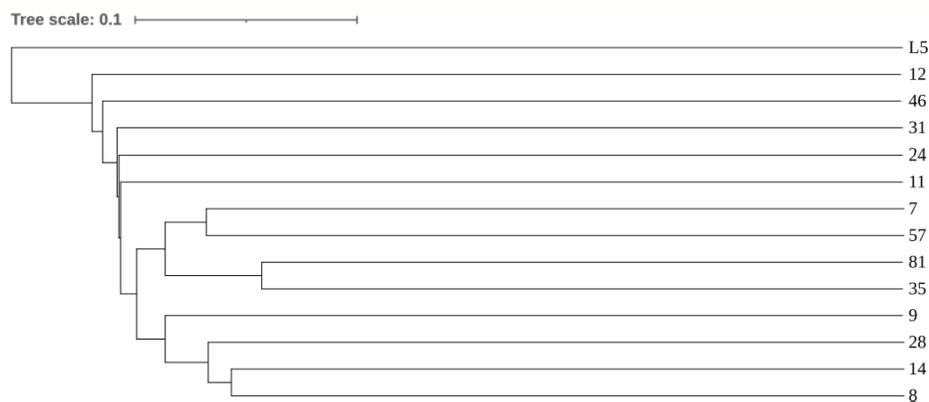
Gel corrido con el marcador molecular miARN TAE/HVU-miR398 F para 13 accesiones.



Nota. P. Leal A. García & C. Orozco (2024). Gel corrido con el marcador molecular miARN TAE/HVU-miR398 F para 13 accesiones [Imagen]. *GeneTools*.

Figura 27

Dendrograma de gel corrido con el marcador molecular miARN TAE/HVU-miR398 F para 13 accesiones.



Nota. P. Leal (2024). Dendrograma de gel corrido con el marcador molecular miARN TAE/HVU-miR398 F para 13 accesiones [Imagen]. *iTOL*.

Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Figura 28

Matriz de similitud calculada con el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR398 F/R para 13 accesiones.

Matriz de similitud calculada con el coeficiente de Jaccard														
	7	8	9	11	12	14	24	28	31	35	46	57	81	L5
7	1	0.125	0.111	0.1	0.083	0.143	0.1	0.125	0.1	0.111	0.091	0.222	0.222	0
8		1	0.167	0.143	0.111	0.25	0.143	0.2	0.143	0.167	0.125	0.143	0.143	0
9			1	0.125	0.1	0.2	0.125	0.167	0.125	0.143	0.111	0.125	0.125	0
11				1	0.091	0.167	0.111	0.143	0.111	0.125	0.1	0.111	0.111	0
12					1	0.125	0.091	0.111	0.091	0.1	0.083	0.091	0.091	0
14						1	0.167	0.25	0.167	0.2	0.143	0.167	0.167	0
24							1	0.143	0.111	0.125	0.1	0.111	0.111	0
28								1	0.143	0.167	0.125	0.143	0.143	0
31									1	0.125	0.1	0.111	0.111	0
35										1	0.111	0.125	0.286	0
46											1	0.1	0.1	0.083
57												1	0.25	0
81													1	0
L5														1

Nota. P. Leal (2024). Matriz de similitud calculada con el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR398 F/R para 13 accesiones [Imagen]. *Excel.*

Figura 29

Matriz de distancia basada en el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR398 F/R para 13 accesiones.

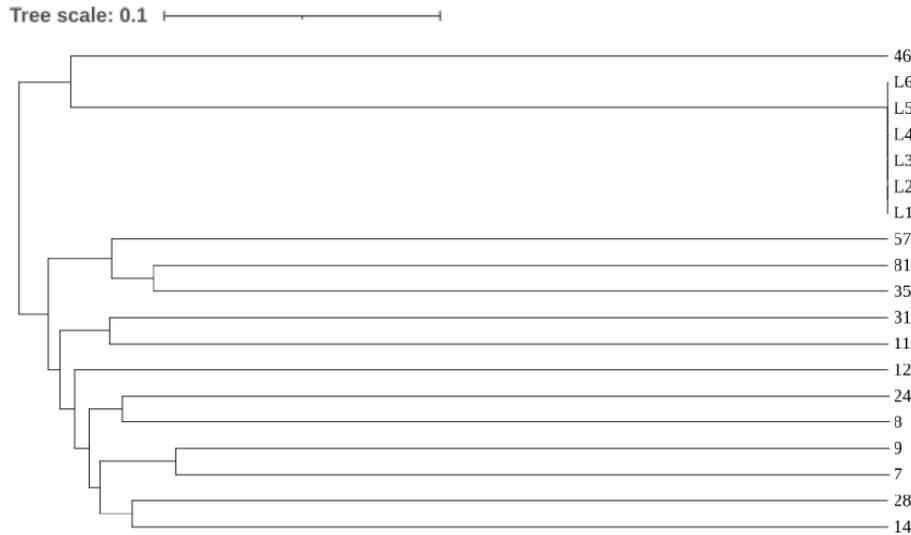
Matriz de distancia basada en el coeficiente de Jaccard														
	7	8	9	11	12	14	24	28	31	35	46	57	81	L5
7	0	0.875	0.889	0.9	0.917	0.857	0.9	0.875	0.9	0.889	0.909	0.778	0.778	1
8		0	0.833	0.857	0.889	0.75	0.857	0.8	0.857	0.833	0.875	0.857	0.857	1
9			0	0.875	0.9	0.8	0.875	0.833	0.875	0.857	0.889	0.875	0.875	1
11				0	0.909	0.833	0.889	0.857	0.889	0.875	0.9	0.889	0.889	1
12					0	0.875	0.909	0.889	0.909	0.9	0.917	0.909	0.909	1
14						0	0.833	0.75	0.833	0.8	0.857	0.833	0.833	1
24							0	0.857	0.889	0.875	0.9	0.889	0.889	1
28								0	0.857	0.833	0.875	0.857	0.857	1
31									0	0.875	0.9	0.889	0.889	1
35										0	0.889	0.875	0.714	1
46											0	0.9	0.9	0.917
57												0	0.75	1
81													0	1
L5														0

Nota. P. Leal (2024). Matriz de distancia basada en el coeficiente de Jaccard de gel corrido con el marcador molecular miARN HVU-miR398 F/R para 13 accesiones [Imagen]. *Excel.* Seguidamente, como lo establecido anteriormente, se realizó el dendrograma general donde se disponen los datos moleculares de las 13 accesiones pre seleccionadas expuestas a cada marcador molecular, de manera individual. A continuación, se presente dicho dendrograma.

Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Figura 30

Dendrograma general para 13 accesiones pre seleccionadas expuestas a los cinco marcadores moleculares de forma individual.



Nota. P. Leal (2024). Dendrograma general para 13 accesiones pre seleccionadas expuestas a los cinco marcadores moleculares de forma individual [Imagen]. *iTOL*.

Figura 31

Matriz de similitud calculada con el coeficiente de Jaccard de dendrograma general para 13 accesiones pre seleccionadas.

Matriz de similitud calculada con el coeficiente de Jaccard																			
	7	8	9	11	12	14	24	28	31	35	46	57	81	L1	L2	L3	L4	L5	L6
7	1	0.162	0.229	0.154	0.119	0.167	0.125	0.156	0.054	0.083	0.051	0.103	0.135	0.037	0.037	0.037	0.037	0.037	0.037
8		1	0.122	0.116	0.136	0.125	0.171	0.176	0.105	0.167	0.1	0.07	0.098	0.069	0.069	0.069	0.069	0.069	0.069
9			1	0.116	0.111	0.154	0.143	0.111	0.077	0.105	0.048	0.095	0.125	0.107	0.107	0.107	0.107	0.107	0.107
11				1	0.106	0.093	0.111	0.077	0.158	0.048	0.095	0.043	0.068	0.031	0.031	0.031	0.031	0.031	0.031
12					1	0.167	0.083	0.1	0.095	0.095	0.067	0.136	0.065	0.029	0.029	0.029	0.029	0.029	0.029
14						1	0.093	0.182	0.079	0.079	0.049	0.071	0.073	0.034	0.034	0.034	0.034	0.034	0.034
24							1	0.135	0.1	0.1	0.095	0.091	0.068	0.065	0.065	0.065	0.065	0.065	0.065
28								1	0.161	0.125	0.056	0.081	0.114	0.042	0.042	0.042	0.042	0.042	0.042
31									1	0.086	0.081	0.077	0.079	0.038	0.038	0.038	0.038	0.038	0.038
35										1	0.081	0.135	0.206	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
46											1	0.1	0.103	0.115	0.115	0.115	0.115	0.115	0.115
57												1	0.184	0.069	0.069	0.069	0.069	0.069	0.069
81													1	0.071	0.071	0.071	0.071	0.071	0.071
L1														1	1	1	1	1	1
L2															1	1	1	1	1
L3																1	1	1	1
L4																	1	1	1
L5																		1	1
L6																			1

Nota. P. Leal (2024). Matriz de similitud calculada con el coeficiente de Jaccard de dendrograma general para 13 accesiones pre seleccionadas [Imagen]. *Excel*.

Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Figura 32

Matriz de distancia basada en el coeficiente de Jaccard de dendrograma general para 13 accesiones pre seleccionadas.

Matriz de distancia basada en el coeficiente de Jaccard																			
	7	8	9	11	12	14	24	28	31	35	46	57	81	L1	L2	L3	L4	L5	L6
7	0	0.838	0.771	0.846	0.881	0.833	0.875	0.844	0.946	0.917	0.949	0.897	0.865	0.963	0.963	0.963	0.963	0.963	0.963
8		0	0.878	0.884	0.864	0.875	0.829	0.824	0.895	0.833	0.9	0.93	0.902	0.931	0.931	0.931	0.931	0.931	0.931
9			0	0.884	0.889	0.846	0.857	0.889	0.923	0.895	0.952	0.905	0.875	0.893	0.893	0.893	0.893	0.893	0.893
11				0	0.894	0.907	0.889	0.923	0.842	0.952	0.905	0.957	0.932	0.969	0.969	0.969	0.969	0.969	0.969
12					0	0.833	0.917	0.9	0.905	0.905	0.933	0.864	0.935	0.971	0.971	0.971	0.971	0.971	0.971
14						0	0.907	0.818	0.921	0.921	0.951	0.929	0.927	0.966	0.966	0.966	0.966	0.966	0.966
24							0	0.865	0.9	0.9	0.905	0.909	0.932	0.935	0.935	0.935	0.935	0.935	0.935
28								0	0.839	0.875	0.944	0.919	0.886	0.958	0.958	0.958	0.958	0.958	0.958
31									0	0.914	0.919	0.923	0.921	0.962	0.962	0.962	0.962	0.962	0.962
35										0	0.919	0.865	0.794	0.92	0.92	0.92	0.92	0.92	0.92
46											0	0.9	0.897	0.885	0.885	0.885	0.885	0.885	0.885
57												0	0.816	0.931	0.931	0.931	0.931	0.931	0.931
81													0	0.929	0.929	0.929	0.929	0.929	0.929
L1														0	0	0	0	0	0
L2															0	0	0	0	0
L3																0	0	0	0
L4																	0	0	0
L5																		0	0
L6																			0

Nota. P. Leal (2024). Matriz de distancia basada en el coeficiente de Jaccard de dendrograma general para 13 accesiones pre seleccionadas [Imagen]. *Excel*.

9.3. Discusión de resultados

9.3.1. Fase de campo

En base al comportamiento agronómico general de las 90 accesiones se observó comportamiento sobresaliente sobre las demás en las variables de campo indicadas en Tablas 1, 2, 3, 4, 5 y 6 Las cuales fueron: Días a floración femenina y masculina, Altura de planta, altura de mazorca, número total de hojas y Capacidad de Permanecer Verde Postcosecha.

Días a floración femenina y masculina

En la evaluación del comportamiento agronómico de genotipos de maíz se consideran características relacionadas a la finalidad de la investigación, en este caso, aquellas características que estén relacionadas al desarrollo de la planta en condiciones semiáridas.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

La sincronía floral se considera como un indicador de aquellos genotipos que son capaces de desarrollar y crecer sus estructuras florales femeninas y masculinas en coincidencia aún en condiciones de estrés hídrico, ya que esto, maximiza la polinización y la formación de granos.

La variable de días a floración femenina y masculina permitió evaluar la sincronía floral en coincidencia entre la liberación de polen (floración masculina) y la emergencia de los estigmas (floración femenina) de las 90 accesiones en condiciones de temperatura y precipitación de San José La Máquina, Suchitepéquez. En este caso de estudio, era principalmente importante que las accesiones mostraran un intervalo de Antesis/floración femenina sincrónico por la naturaleza que tiene un ensayo de incremento de semilla (Bernardo, 2008), donde las polinizaciones se realizaron de manera artificial considerando cruzamientos planta a planta de una misma accesión (Taba, 2008).

De las 90 accesiones o genotipos evaluados se consideró aquellos que presentaron coincidencia floral en un intervalo de 0 a 2 días correspondiendo a un intervalo de sincronía floral corto o sincronizado esto para anticipar la probabilidad de una fecundación exitosa. Las accesiones 7, 28, 50 y 56 mostraron este intervalo de 2 días entre la antesis y la aparición de los estigmas, como se observa en la Tabla 3; se demostró esta posible relación entre la sincronía floral y la formación de granos en la gráfica comparativa 1, pues los pesos de 100 granos fueron superiores en los genotipos anteriormente mencionados en relación al resto de accesiones siendo estos 33 gramos, 30 gramos, respectivamente y 31 gramos para las accesiones 50 y 56. Edmeades *et al.* (2017), refiere a esta capacidad de los genotipos de presentar un intervalo ASI corto como una de las características determinantes en la selección de genotipos para mejoramiento ante efectos de estrés por que presentan un alto índice de prolificidad ya que mejora el número de granos por unidad de superficie especialmente cuando el cultivo es sembrado a baja densidad poblacional como en este caso, en un ensayo de incremento de semilla.

Algunas accesiones muestran un desarrollo de grano medio, como lo son las accesiones 1, 12, 14 y 49 las cuales mostraron que 100 granos de cada accesión poseen un peso de 29 gramos. Estos genotipos presentaron un intervalo ASI largo entre 3 y 4 días. La diferencia de



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

hasta 4 días entre la liberación de polen y la aparición de estigmas se puede relacionar a la reducción en la fecundación y cuaje de grano con aquellos genotipos que mostraron un ASI corto.

El estrés hídrico afecta principalmente la floración femenina y es posible observar como la asincronía floral afecta directamente en el rendimiento de grano. Las accesiones 7 y 81 mostraron un ASI de 8 días, en donde los estigmas se desarrollaron demasiado tarde existiendo una fertilización deficiente (Fonts, 2000).

Altura de planta, altura de mazorca y número total de hojas

En condiciones semiáridas y de estrés hídrico las características de la fase vegetativas de altura de planta, altura de mazorca y número total de hojas son indicativos del uso del agua en la planta de maíz (Ibarra et al, 2019); estas características dependen de procesos fisiológicos como la división celular, la elongación del tallo y la asignación de recursos dentro de la planta, todos los cuales son afectados por el estrés hídrico. López et al (2021) considera que la sequía afecta negativamente la altura de la planta y la altura de inserción de la mazorca en maíz, impactando la capacidad de la planta para producir biomasa y granos. Se observa de manera general que los materiales de menor altura y mazorcas más bajas tienden a tener mejor tolerancia a sequía (Linares, 2019; López et al, 2017; Rocandio-Rodríguez et al, 2014).

Las variedades adaptadas a estas condiciones adversas presentan una altura de planta moderada y una altura de inserción de mazorca baja ya que las plantas bajo estrés hídrico pueden modificar su arquitectura para mejorar su eficiencia en el uso de recursos. Al reducir la altura de planta y de la mazorca, la planta minimiza la pérdida de agua y optimiza la distribución de carbohidratos, esta estrategia de supervivencia contribuye a una mejor administración en el uso del agua y una posible tolerancia al estrés hídrico (Andrade, 2023).

Según el ICTA (2014), las variedades desarrolladas para el Corredor Seco y condiciones de sequía en Guatemala mantienen una altura de planta de 2.15 metros y altura de mazorca de 1.20 metros. Las accesiones observadas con parámetros más cercanos a estos son 8, 14, 24 y



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

37 las cuales podrían mostrar cierta eficiencia en el uso del agua en relación a otras accesiones como la accesión 9, que muestra una altura de planta y de inserción de la mazorca mucho más baja que la recomendada y se asocia a que la planta no administra sus recursos de agua para la expansión celular ni la elongación de los entrenudos. Este acortamiento en los entrenudos también hace que la mazorca quede más baja en la planta (Andrade et al., 2023; Cerrudo, 2021; Sadras & Milroy, 1996).

Dentro del parámetro de altura de planta y de altura de inserción de mazorca también destacan dos genotipos que a pesar de mostrar alturas fuera de lo recomendado, siendo estas las más altas, alcanzaron también el mayor número de hojas por planta en promedio, siendo las accesiones 35 y 45 con 23 y 27 hojas totales por planta. Este es un comportamiento interesante que se podría asociar a la asignación de recursos y manejo del agua y adaptación para su uso en división celular, elongación de hojas (Ibarra, 2021; Edmeades et al., 1999).

Capacidad de Permanecer Verde (Post Cosecha), número total de hojas

El número total de hojas y la capacidad de Permanecer verde (CPV) en el cultivo de maíz están estrechamente relacionados, especialmente bajo condiciones de déficit hídrico. Ambos factores influyen en la eficiencia fotosintética, la producción de biomasa y, en última instancia, el rendimiento del cultivo. La capacidad de permanecer verde, es también una característica agronómica que se refiere a la habilidad de las plantas de maíz para mantener su follaje verde y funcional incluso después de que los granos han alcanzado la madurez fisiológica.

Las accesiones 7, 12, 14, 22, 24, 50, 56 y 87 presentaron una elevada capacidad para permanecer verde llegada la madurez fisiológica, esto está relacionado a la capacidad de cada material para que sus hojas permanezcan verdes, retardando el proceso normal de la senescencia. Las accesiones anteriormente mencionadas demostraron que pueden anteponerse a factores ambientales, como las condiciones semiáridas, que aceleran la senescencia (Buchanan *et al.*, 2003). Las accesiones 14, 28 y 46 también muestran la



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

capacidad de mantenerse verde “elevada” pero además muestran la mayor cantidad de hojas en promedio por accesión siendo 27, 29 y 27, respectivamente. Esto se podría asociar a que demorar la senescencia puede favorecer la producción de Biomasa (Acciaresi et al, 2014, Retalino y Otegui, 2012; Kumar et al, 2019)

9.3.2. Fase de laboratorio

Los resultados obtenidos a partir del estudio de las 90 accesiones expuestas a los marcadores moleculares miARN homogenizados, revelan una significativa y alta variabilidad genética en la totalidad de las muestras. En los geles de agarosa se observa distintos patrones de bandas, los cuales corresponden a fragmentos específicos de miARN, y su peso molecular en base a su posicionamiento en el gel. Esto nos permite identificar el polimorfismo en las secuencias de miARN a nivel individual de cada accesión. Esto se puede observar, entre otras, en las Figura 3 y 4.

El análisis de dicho polimorfismo permitió evaluar la diversidad genética presente en las muestras de ADN extraídas, donde la diferencia entre el posicionamiento y la variedad de patrones, indican la variación de las secuencias miARN, evidenciando la notable variabilidad.

El dendrograma general permite observar una representación gráfica de las relaciones genéticas existentes entre las accesiones estudiadas. En este se observan agrupamientos de accesiones que sugieren que estas poseen patrones de miARN similares y que comparten una mayor cantidad de variabilidad común. Las ramas más largas del dendrograma nos indican una divergencia genética entre las muestras, las accesiones que las poseen, presentan características genéticas únicas. El colapso de este dendrograma permitió facilitar el estudio de las accesiones, pues la alta cantidad de muestras y el alto nivel de variabilidad revelo gran cantidad de datos a detallar los cuales, por la naturaleza del estudio, no nos era posible desarrollar de manera completa, por limitaciones económicas.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Posterior a este estudio, en base a la diferenciación de los fragmentos de accesiones específicas, se estableció el estudio de cada marcador molecular miARN con la finalidad de observar a fondo la diversidad genética de las accesiones que pudiese estar asociada a la tolerancia genética al estrés hídrico.

El ensayo molecular utilizando el marcador molecular miARN HVU miR827 F/R muestra un fragmento molecular, con peso molecular de 12 pb, diferenciado en la accesión 12, la cual puede ser un material interesante para el estudio de materiales para tolerancia a sequía. El dendrograma establecido del estudio realizado con dicho marcador muestra variabilidad genética y destaca, nuevamente, la presencia del marcador en la línea 12. Además, nos establece conglomeraciones de accesiones que indican una posible relación genética. Tomando de referencia la accesión anteriormente mencionada, señala que está relacionada con las accesiones 7, 8 y 14. Esto puede corroborarse en la matriz de similitud genética (Figura 12) donde los valores entre la línea 12 y las líneas es de 0.75 para las tres accesiones, respectivamente.

De acuerdo con Lin *et al.* (2017) se ha demostrado que el microARN827 se encuentra ligado en las gramíneas con la regulación del transporte y almacenamiento de fosfato (Pi) dirigiéndose, preferentemente, al Transportador de Fosfato 5 (PHT5). Esta función fisiológica juega un papel crucial en la tolerancia genética al estrés hídrico; las accesiones que puedan presentar un mayor polimorfismo y bandas diferenciadas, pueden poseer dichos rasgos.

En el ensayo donde se expuso el marcador molecular miARN HVU miR399 F/R, destacan las accesiones 11 y 28, donde se observan fragmentos diferenciados y con una alta intensidad; estas dos comparten el fragmento con el peso molecular 48 pb, al mismo tiempo que con las accesiones 9 y 31; sin embargo, la accesión 11 posee el fragmento con el peso molecular 52 pb, que lo comparte con la accesión 12 de menor manera. En el dendrograma se ratifica lo anterior, pues se observa que la accesión 11 es la que posee una mayor divergencia genética, seguida por la accesión 12 con un rango menor. En contraste, las accesiones 31 y 28, presentan una estrecha similitud. Estas accesiones pueden ser interesantes para futuras



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

investigaciones relacionadas a la tolerancia a sequía. Similares resultados pueden observarse en la matriz de distancia genética (Figura 17) entre las líneas 11 y 12 cuyo dato es de 0.909. Por otra parte, la matriz de similitud (Figura 16) confirma que las líneas 31 y 28 son las que poseen mayor similitud con un valor de 1.

Según Pant *et al.* (2007) el miR399 posee un papel fisiológico determinante en la regulación de la homeostasis de fosforo (Pi), este interviene en la expresión de genes ligados al transporte y almacenamiento de este macronutriente; se ha comprobado que este se encuentra en la savia del floema, por lo tanto interviene en el transporte del fosforo desde la zona radicular hasta los brotes jóvenes. Esta cualidad es crucial al momento de someterse a un estrés hídrico considerable.

Para el ensayo con el marcador molecular miARN TAE/HVU miR156 F se presentan situaciones particulares; en el caso de las accesiones 11 y 28 se observa una alta conglomeración de bandas con una alta intensidad, esto impide la cuantificación exacta de los fragmentos, pero siendo interesantes para investigaciones subsecuentes. Por otro lado, la accesión 24 presenta una gran cantidad de bandas visibles (8), diferenciándose de manera clara. La accesión 8, presenta una banda de peso molecular mayor diferenciada, la cual solo se observa tenuemente en 5 accesiones más, siendo esta la única en la que se observa con intensidad relevante. Estas accesiones remarcadas pueden ser interesantes para futuras investigaciones. El dendrograma específico para este marcador ratifica lo establecido, mostrando que la 24 posee una alta divergencia, siendo la más diferenciada en el caso del marcador molecular. Tomando de referencia la matriz de distancia genética (Figura 21) puede ratificarse la mayor distancia de la línea 24 con las otras accesiones, tomando como referencia la distancia genética de la línea 24 con las líneas 14 y 81, con un valor de 0.944.

Estudios realizados por Jeyakumar *et al.* (2020) y Wang *et al.* (2023) indica que el miR156 posee un gran margen de acción ante el estrés abiótico; se indica que este se dirige a los genes SPL (*SQUAMOSA-PROMOTER BINDING-LIKE*) factores de transcripción, altamente involucrados en la respuesta al estrés; en estudios en trigo (*Triticum spp.*), se ha demostrado que miARN pertenecientes a la familia miR156, se inducen en las raíces bajo condiciones de



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

sequía. Por otro lado, este también interactúa con vías de señalización y regulación hormonal, como lo es el ácido abscísico (ABA), directamente relacionado con la respuesta al estrés hídrico (Feyissa, 2020).

El gel específico para el marcador molecular miARN TAE/HVU miR408 F, nos muestra un polimorfismo uniforme dentro de las accesiones, mostrando 2 bandas visibles todas las muestras expuestas. Sin embargo, las accesiones 7, 11, 24, 28, 35 y 81, presentan bandas similares, dando paso a una variabilidad genética común, estas presentan dos bandas superiores con peso molecular 549 pb y 319 pb, que las diferencia de las demás por lo que podrían ser un atractivo para futuras investigaciones. El dendrograma específico para este marcador, nos indica una gran variabilidad entre las muestras, además de establecer similitudes preliminares en las bandas, lo cual corrobora lo observado en los geles. Esto también se confirma en la matriz de distancia genética (Figura 25) que muestra altos valores entre las accesiones; por ejemplo, entre las accesiones 46 y 35 cuyo valor es de 0.909.

El estudio realizado por Gao *et al.* (2022) nos muestra la naturaleza compleja que posee el miR408 dentro de los mecanismos fisiológicos contra el estrés hídrico; se establece que este posee mecanismos de regulación de crecimiento y desarrollo, actuando de manera negativa a los ARNm diana, codificando proteínas de cobre (Cu) y transportando el mismo hacia la plastocianina (PC), afectando la actividad fotosintética y promoviendo un rendimiento de grano; también, miR408 colabora exponencialmente a la tolerancia al estrés, regulando los genes diana a menores niveles y potenciando los antioxidantes celulares, los cuales son importantes en la respuesta a condiciones de estrés abiótico.

Para el caso del gel expuesto a el marcador molecular miARN TAE/HVU miR398 F se puede observar una clara diferenciación de la accesión 11 ante las otras doce expuestas, esta presenta una banda de peso molecular 183 pb, única entre las demás. Seguidamente, las accesiones 9, 11, 12, 35 y 46 presentan una banda común de 69 pb, con una alta intensidad, siendo también atractivas para futuras investigaciones. Caso parecido sucede con las accesiones 8, 14, 28, 31, 35, 46, 57 y 81, pues presentan una banda común de 125 pb. A nivel de dendrograma, esta variabilidad es notoria pues la divergencia genética es alta entre la



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

mayoría y las similitudes son escasas, siendo la accesión 12, la que mayor divergencia posee. Esto puede corroborarse en la matriz de distancia genética (Figura 29), por ejemplo, entre las líneas 12 y 11 con un valor de 0.909, por ende, estas dos líneas presentan un menor valor de similitud 0.091 (Figura 28).

Como menciona Li *et al.* (2022) en su investigación, el miR398 es un regulador, maestro, de las respuestas al estrés; estudios relacionados con arroz (*Oryza sativa* L.) indican que la sobreexpresión de este ARN, poseen mayor tolerancia al estrés hídrico por diferentes vías, promoviendo los antioxidantes.

Posterior al estudio específico de las 13 accesiones pre seleccionadas con los marcadores molecular miARN, anteriormente expuestos, se realizó un dendrograma general tomando los pesos moleculares de todas las bandas generadas por los cinco marcadores en cada una de las 13 accesiones. Este dendrograma nos muestra una alta diferenciación de la accesión 46, siendo diferente al resto con alta divergencia genética, citando como ejemplo la distancia genética entre la línea 46 y la línea 9 que es de 0.952, que puede observarse en la Figura 32. lo anterior nos indica que esta accesión posee una alta variabilidad genética que, probablemente, pueda estar relacionada a la tolerancia genética al estrés hídrico. Sin embargo, también se destaca la alta diferenciación entre las otras doce accesiones, lo que indica una marcada variabilidad genética. Por otra parte, se puede observar en la matriz de similitud (Figura 31) que la línea 46 tiene una cercana similitud con la línea 8, con un coeficiente de 0.1.

Los resultados observados reflejan lo descrito por Ražná *et al.* (2021) en el sentido de que estos marcadores moleculares miARN, han sido basados en proteínas microARN que están asociadas a procesos fisiológicos, complejos, de tolerancia a diferentes tipos de estrés abiótico, entre ellos la sequía.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

- **Asociación entre resultados moleculares y de campo**

Al analizar los resultados obtenidos de la evaluación de campo, se muestran promisorias las accesiones 1, 7, 8, 11, 12, 13, 14, 22, 24, 28, 31, 33, 35, 37, 46, 49, 50, 56, 57 y 87, obteniendo resultados favorables a nivel agromorfológico y con posible tolerancia a sequía.

Los criterios utilizados para selección han sido señalados anteriormente, pero es importante mencionar que de ellos los más relevantes son sincronía floral y la capacidad de la planta para permanecer verde a la madurez fisiológica. Respecto a la sincronía floral, Edmeades *et al.* (2017), refiere a los genotipos que presentan un intervalo sincronía floral “ASI” corto como una de las características determinantes en la selección de genotipos para mejoramiento ante efectos de estrés, como lo es la sequía. Un intervalo ASI corto aumenta el índice de prolificidad y, por lo tanto, mejora el número de granos por unidad de superficie especialmente cuando el cultivo es sembrado a baja densidad poblacional como en este caso, en un ensayo de incremento de semilla (Ibarra, 2020; Lopez-Morales, 2020; Taba, 2008). El otro criterio a considerar es la capacidad que muestra un genotipo para permanecer verde en el tiempo (CPV), esta característica agronómica se refiere a la habilidad de las plantas de maíz para mantener su follaje verde y funcional incluso después de que los granos han alcanzado la madurez fisiológica, esto demuestra que la planta es capaz de anteponerse a factores de estrés que aceleran la senescencia (Kumar *et al.*, 2019; Acciaresi *et al.*, 2014; Retalino y Otegui, 2012).

Dentro de los datos moleculares, resaltan las accesiones 7, 8, 9, 11, 12, 14, 24, 28, 35, 46 y 81; las cuales, en función de su perfil genético, posiblemente, poseen promisorias para tolerancia a sequía, al estar expuestas a los cinco marcadores moleculares basados en miARN utilizados. Lo anterior se fortalece con lo descrito por Miskevish, F. (2019); Feyissa. (2020); Gao *et al.* (2022); Lin *et al.* (2017); Pant *et al.* (2007) quienes, de manera general, señalan que las familias miARN están directamente vinculadas a las rutas de regulación fisiológica que poseen las plantas para tolerar el estrés hídrico, esto mediante diversos mecanismos, como lo es la regulación de la ruta de transporte del fósforo, en la regulación hormonal mediante el ácido abscísico (ABA) o reduciendo el estrés oxidativo.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Al asociar los resultados moleculares con los resultados de campo, podemos observar que hay cinco líneas en común, siendo ellas las accesiones 7, 12, 14, 28 y 46; por lo que, posiblemente son materiales prometedores para estudios posteriores en la búsqueda de tolerancia genética a sequía combinado con otras características de interés agronómico.

Por otra parte, podemos observar que hay líneas que mostraron resultados positivos en cada estudio, independientemente del otro; sin embargo, por la naturaleza de cada una de las fases realizadas; estas líneas son, también, potencialmente interesantes para incluirlas en futuros estudios en relación a la tolerancia al estrés hídrico asociado con características, igual de importantes, en su naturaleza agronómica.

10. Propiedad intelectual

Los resultados obtenidos no están sujetos a gestión de propiedad intelectual.

11. Beneficiarios directos e indirectos

Tabla 7.

Beneficiarios directos e indirectos de la investigación

Resultados, productos o hallazgos	Beneficiarios directos	Número de beneficiarios directos	Beneficiarios indirectos
Variabilidad genética de 90 accesiones de maíz criollo nativo	Facultad de Agronomía Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo	3	Población guatemalteca Pequeños y medianos agricultores de maíz Agricultores de subsistencia en el Corredor Seco



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

12. Contribución al desarrollo de iniciativas

Este numeral no aplica para la investigación desarrollada, pues no se hace ninguna contribución para desarrollo de iniciativas.

13. Estrategia de divulgación y difusión de los resultados.

Tabla 8

	Sí	No
Presentación TV		X
Entrevistas radiales		X
Podcast		X
Entrevista DIGI		X
Recursos audiovisuales		X
Congresos científicos nacionales o internacionales	X	
Talleres		X
Publicación de libro		X
Publicación de artículo científico	X	
Divulgación por redes sociales institucionales		X
Presentación pública		X
Presentación autoridades USAC		X
Presentación a beneficiarios directos	X	
Entrega de resultados	X	
Docencia en grado	X	
Docencia postgrado		X
Póster científico		X
Trifoliales		X
Conferencias		X



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

14. Contribución a las Prioridades Nacionales de Desarrollo (PND)

La investigación contribuye, significativamente, al Plan Nacional de Desarrollo “K’atun Nuestra Guatemala 2032”, los resultados obtenidos ayudan a mejora de la seguridad alimentaria de la zona, la productividad y sostenibilidad ambiental, y el desarrollo tecnológico e innovación de esa región. también contribuyen a la conclusión de varios objetivos de desarrollo sostenible, como el objetivo 2 “Hambre cero” y el 13 “Acción por el clima” debido a que los resultados están ligados a la búsqueda de erradicar el hambre y la pobreza de las familias de agricultores de maíz a lo largo del Corredor Seco, altamente damnificadas por las consecuencias del cambio climático, como lo es la sequía.

El resultado de la alta variabilidad genética y de las posibles accesiones positivas que puedan seguir siendo investigadas, permiten continuar con el camino hacia la seguridad alimentaria y sostenibilidad ambiental de la población de dicha zona del país; población altamente afectada por la pobreza, la desnutrición, la migración y la desigualdad.

15. Vinculación

La propuesta de investigación se realizó con la cooperación de la Universidad Eslovaca de Agricultura en Nitra, quiénes, en conjunto con el equipo de investigación, realizaron la fase de laboratorio donde, mediante marcadores moleculares basados en miARN, identificaron la variabilidad genética de las accesiones, su relación epigenética y la probable relación con la tolerancia genética al estrés hídrico.

El Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA) estuvo estrechamente vinculado, pues brindaron la semilla que se evaluó y proporcionaron el espacio en la Estación Experimental ubicada en San José “La Máquina” Suchitepéquez; lugar donde se realizó el ensayo de campo y el incremento de semilla. El Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD) junto con ICTA realizaron la colecta de las semillas de las 90 accesiones a lo largo del Corredor Seco, proporcionando el material para los estudios genéticos y fenotípicos.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

16. Conclusiones

- Los estudios de laboratorio, utilizando marcadores moleculares miARN, mostraron variabilidad genética en las 90 accesiones de maíz utilizadas, que fueron colectadas en la zona geográfica determinada como Corredor Seco de Guatemala.
- En la variabilidad genética en 90 accesiones de maíz utilizando marcadores moleculares miARN, destacaron las accesiones 7, 8, 9, 11, 12, 14, 24, 28, 35, 46 y 81 como promisorias para futuros estudios relacionados a la tolerancia genética a sequía.
- Los estudios realizados con los marcadores moleculares basados en las familias miR827, miR399, miR398, miR156 y miR408 resultaron apropiados para identificar, de manera preliminar, materiales de maíz con posible tolerancia genética a sequía, en las 90 accesiones estudiadas.
- Los resultados de la evaluación de campo, realizados en el municipio de San José, La Máquina, Suchitepéquez, derivados de un ensayo de incremento de semilla mostraron, preliminarmente, líneas promisorias para investigaciones subsecuentes relacionadas a la búsqueda de tolerancia genética a sequía y características agronómicas favorables.
- La asociación de los resultados de la evaluación a nivel de campo y el estudio molecular, reflejan similitud en la pre selección de líneas promisorias para futuros estudios para tolerancia genética a sequía y comportamiento agronómico favorable; particularmente las líneas 7, 12, 14, 28 y 46.

17. Recomendaciones

- 17.1.** Continuar con los estudios genéticos sobre las líneas consideradas, preliminarmente, como promisorias para tolerancia a sequía.
- 17.2.** Proseguir con los estudios morfológicos más detallados, en las líneas previamente seleccionadas, que mostraron buen comportamiento agronómico y cierta tolerancia a sequía; considerando los resultados de campo.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Referencias

- Acciaresi H., E. Tambussi, M. Antonietta, M. Zuluaga, F. Andrade, y J. Guiamét. 2014. Carbon assimilation, leaf area dynamics, and grain yield in contemporary earlier- and lattersenescing maize hybrids. *European Journal of Agronomy*. 59: 29-38. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2014.05.007>
- Ali, Y., Nawaz, T., Ahmed, N., Junaid, M., Kanwal, M., Hameed, F., ... & Subhan, F. (2022). Maize (*Zea mays*) response to abiotic Stress. *Maize Genetic Resources: Breeding Strategies and Recent Advances*, 25.
- Anchukaitis, K. J., Taylor, M. D., Leland, C., Pons, D., Martin-Fernandez, J., & Castellanos, E. (2015). Tree-ring reconstructed dry season rainfall in Guatemala. *Climate Dynamics*, 45(5-6), 1537-1546. <https://doi.org/10.1007/s00382-014-2407-y>
- Aravind, J., Rinku, S., Pooja, B., Shikha, M., Kaliyugam, S., Mallikarjuna, M. G., Kumar, A., Rao, A. R., & Nepolean, T. (2017). Identification, Characterization, and Functional Validation of Drought-responsive MicroRNAs in Subtropical Maize Inbreds. *Frontiers in Plant Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00941>
- Bernardo R. 2008. Molecular markers and selection for complex traits in plants: Learning from the last 20 years. *Crop Sci.* 48(5): 1649–1664. doi: 10.2135/cropsci2008.03.0131.
- Ceccarelli, S., & Grando, S. (1996). Drought as a challenge for the plant breeder. *Plant Growth Regulation*, 20(2), 149-155. <https://doi.org/10.1007/bf00024011>
- Cerrudo D. 2021. Determinación del rendimiento en híbridos de maíz de origen tropical, tempado y templado x tropical. Tesis Doctoral-FCA UNMP. 119 páginas.
- CIMMYT [Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo]. (2013, 15 mayo). Variedades de maíz tolerante a la sequía en América Latina. <https://www.cimmyt.org/es/uncategorized/variedades-de-maiz-tolerante-a-la-sequia-en-america-latina/>
- Edmeades G. O., Bolaños, J., Chapman, S. C., Lafitte, H. R. y Bänziger, M. (1999). Selection Improves Drought Tolerance in Tropical
- Edmeades G.O., W. Trevisan, B.M. Prasanna y H. Campos. (2017). Tropical Maize (*Zea mays* L.), in: H. Campos, Caligari P.D.S. (Eds), *Genetic Improvement of Tropical Crops*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-59819-2_3
- Feyissa, B. A. (2020). MicroRNA156: a short RNA with a major role in abiotic stress tolerance in alfalfa. *Electronic Thesis And Dissertation Repository - Western University*. <https://ir.lib.uwo.ca/etd/6832>



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

- Fonts Vallejo C. 2000. Sincronía en la polinización en maíz y su efecto sobre la fijación de granos y la prolificidad en plantas de maíz. Biologist Thesis. Universidad de Mar del Plata, Mar del Plata, Argentina. 40p
- Fu, D., Ma, B., Mason, A. S., Xiao, M., Wei, L., & An, Z. (2013). MicroRNA-based molecular markers: a novel PCR-based genotyping technique in Brassica species. *Plant Breeding*, 132(4), 375–381. <https://doi.org/10.1111/pbr.12069>
- Fuentes López, M.R. (2002). Informe preliminar sobre la fenología en los maíces del Altiplano de Guatemala, Borrador sp.
- García Marroquín, R. M. (2018). El impacto del cambio climático en el corredor seco de Guatemala (Doctoral dissertation, Universidad de San Carlos de Guatemala).
- Gao, Y., Feng, B., Gao, C., Zhang, H., Wen, F., Tao, L., Fu, G., & Xiong, J. (2022). The Evolution and Functional Roles of miR408 and Its Targets in Plants. *International Journal Of Molecular Sciences*, 23(1), 530. <https://doi.org/10.3390/ijms23010530>
- Green, M. R., & Sambrook, J. (2018). Touchdown Polymerase Chain Reaction (PCR). *Cold Spring Harbor Protocols*, 2018(5), pdb.prot095133. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot095133>
- Ibarra Sánchez, Elizabeth, Castillo Gutiérrez, Antonio, Núñez Valdéz, María Eugenia, Suárez Rodríguez, Ramón, Andrade Rodríguez, María, & Perdomo Roldán, Francisco. (2020). Caracterización de la respuesta a la sequía de líneas segregantes de maíz. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 11(7), 1511-1524. Epub 29 de noviembre de 2021. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i7.2196>
- ICTA [Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas]. (2019). Instituto de Ciencia y Tecnología ICTA. Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícola. <https://www.icta.gob.gt/maiz>
- INE [Instituto Nacional de Estadística]. (2020). Memoria de Labores 2019. Instituto Nacional de Estadística. <https://www.ine.gob.gt/ine/wp-content/uploads/2020/04/Memoria-2019.pdf>
- Jeyakumar, J. M. J., Ali, A., Wang, W., & Thiruvengadam, M. (2020). Characterizing the Role of the miR156-SPL Network in Plant Development and Stress Response. *Plants*, 9(9), 1206. <https://doi.org/10.3390/plants9091206>
- Li, J., Song, Q., Zuo, Z., & Liu, L. (2022). MicroRNA398: A Master Regulator of Plant Development and Stress Responses. *International Journal Of Molecular Sciences*, 23(18), 10803. <https://doi.org/10.3390/ijms231810803>



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

- Lin, W., Lin, Y., Chiang, S., Syu, C., Hsieh, L., & Chiou, T. (2017). Evolution of microRNA827 targeting in the plant kingdom. *New Phytologist*, 217(4), 1712-1725. <https://doi.org/10.1111/nph.1493>
- Linares-Holguín O. O., M. Rocandio-Rodríguez, A. Santacruz-Varela, J. Á. López-Valenzuela, L. Córdova-Téllez, S. Parra-Terraza, ... y P. Sánchez-Peña (2019) Caracterización fenotípica y agronómica de maíces (*Zea mays* ssp. *mays* L.) nativos de Sinaloa, México. *Interciencia* 44:421-428.
- Liu, C., Weng, J., Zhang, D., Zhang, X., Yang, X., Shi, L., ... Zhang, S. (2014). Genome-wide association study of resistance to rough dwarf disease in maize. *European Journal of Plant Pathology*, 139(1), 205-216.
- Liu, X., Zhang, X., Sun, B., Hao, L., Liu, C., Zhang, D., Tang, H., Li, C., Li, Z., Shi, Y., Xie, X., Song, Y., Wu, N., & Li, Y. Y. (2019). Genome-wide identification and comparative analysis of drought-related microRNAs in two maize inbred lines with contrasting drought tolerance by deep sequencing. *PLOS ONE*, 14(7), e0219176. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219176>
- Martínez, O. F. C. (2022). Situación del cultivo de maíz en Guatemala: principales limitaciones en la productividad. *Avances en Ciencias e Ingenierías*, 14(1). <https://doi.org/10.18272/aci.v14i1.2596>
- McClintock, B., Yamakake, T. A., & Blumenschein, A. (1981). Chromosome constitution of races of maize: Its significance in the interpretation of relationships between races and varieties in the Americas. Chapingo, México, Colegio de Postgraduados.
- McCormick. (2020). All the latest data on maize production around the world. <https://www.mccormick.it/as/all-the-latest-data-on-maize-production-around-the-world/>
- Miskevish, F. (2019). Resistencia a sequía mediada por un miARN en plantas de maíz. UNL., https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8443/bitstream/handle/11185/5413/Resumen_Miskevish_CienciasBiologicas.pdf
- Morales, M. (2018). Más de Q80 millones en cultivos se pierden por la sequía en Chiquimula. *Prensa Libre*. <https://www.prensalibre.com/ciudades/chiquimula/mas-de-q80-millones-en-cultivos-se-pierden-por-la-sequia-en-chiquimula/>
- Mueller, G. M. (2011), "Corn and Culture: The Influence of *Zea mays* across Cultural and Historical Boundaries". Undergraduate Theses and Professional Papers. 8. <https://scholarworks.umt.edu/utpp/8>



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

- OXFAM International. (2014, 6 diciembre). De las palabras a los hechos: actuemos contra el cambio climático en Centroamérica. <https://www.oxfam.org/es/informes/de-las-palabras-los-hechos-actuemos-contr-el-cambio-climatico-en-centroamerica>
- Paliwal, R. L., Granados, G., Lafitte, H. R., Violic, A. D., & Marathée, J.-P. (2001). El maíz en los trópicos: Mejoramiento y producción. Roma, Italia: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Pant, B. D., Buhtz, A., Kehr, J., & Scheible, W. (2007). MicroRNA399 is a long-distance signal for the regulation of plant phosphate homeostasis. *The Plant Journal*, 53(5), 731-738. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313x.2007.03363>.
- Peer, L. A., Bhat, M. Y., Lone, A. A., Dar, Z. A., & Mir, B. A. (2024). Genetic, molecular and physiological crosstalk during drought tolerance in maize (*Zea mays*): pathways to resilient agriculture. *Planta*, 260(4). <https://doi.org/10.1007/s00425-024-04517->
- Prasanna, B. M., Burgueño, J., Beyene, Y., Makumbi, D., Asea, G., Woyengo, V., Tarekegne, A., Magorokosho, C., Wegary, D., Ndhlela, T., Zaman-Allah, M., Matova, M., Mwansa, K., Mashingaidze, K., Fato, P., Teklewold, A., Vivek, B. S., Zaidi, P. H., Vinayan, M., . . . Cairns, J. E. (2022). Genetic trends in CIMMYT's tropical maize breeding pipelines. *Scientific Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-24536-4>
- Pritsch, C. (2001). El pre-mejoramiento y la utilización de los recursos fitogenéticos. Estrategia en recursos fitogenéticos para los países del Cono Sur. PROCISUR, 111-121.
- Ražná, K., Gálová, Z., Balážová, E., Chňapek, M., & Harenčár, U. (2021). MicroRNA-Based and Proteomics Fingerprinting of *Avena sativa* L. Genotypes. IECPS 2021. <https://doi.org/10.3390/iecps2021-11917>
- Ražná, K., Žiarovská, J., & Gálová, Z. (2019). MicroRNA-Based Markers in Plant Genome Response to Abiotic Stress and Their Application in Plant Genotyping. En IntechOpen eBooks. <https://doi.org/10.5772/intechopen.88064>
- Rocandio-Rodríguez M., A. Santacruz-Varela, L. Córdova-Téllez, H. López-Sánchez, F. Castillo-González, R. Lobato-Ortiz, ... y R. Ortega-Paczka (2014) Caracterización morfológica y agronómica de siete razas de maíz de los Valles Altos de México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 37:351-361 https://www.maizar.org.ar/documentos/cultivo%20de%20maiz_version%20digital.pdf
- Rosegrant, M. W., & Cline, S. A. (2003). Global Food Security: Challenges and Policies. *Science*, 302(5652), 1917-1919. <https://doi.org/10.1126/science.1092958>



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

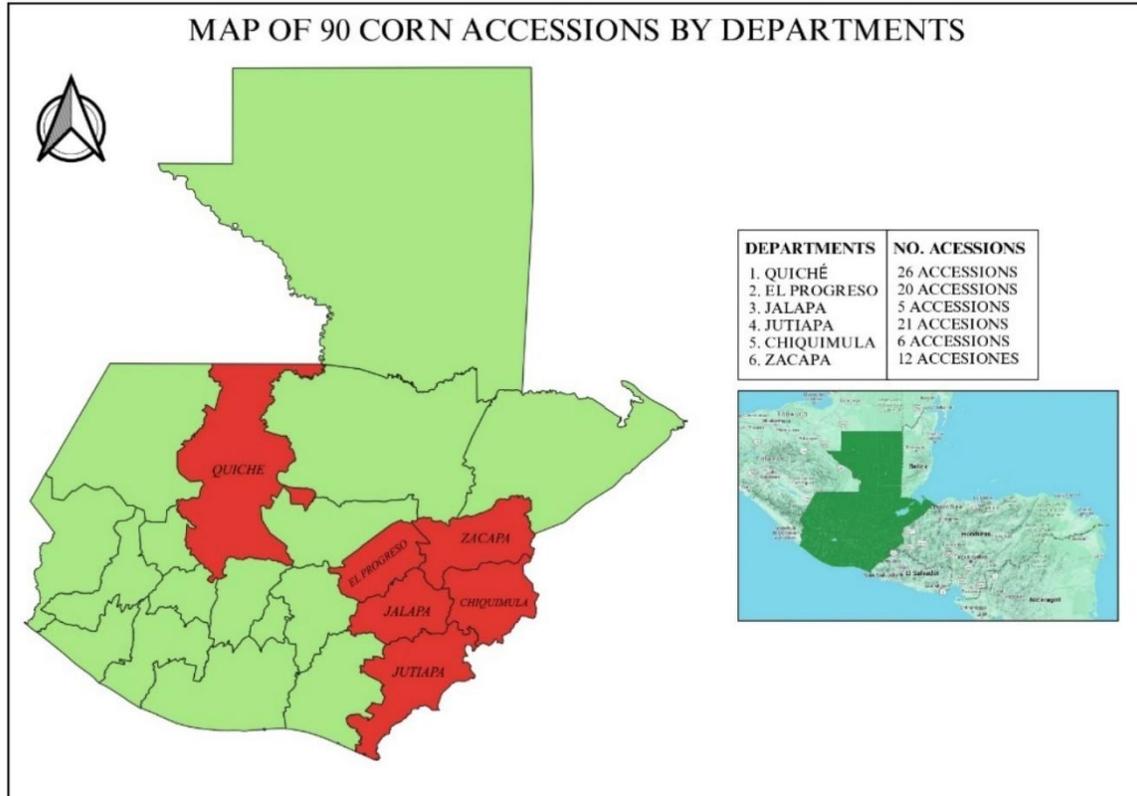
- Sadras V.O. y S. Milroy. 1996. Soil-water thresholds for the responses of leaf expansion and gas exchange: A review. *Field Crop Res.* 47:253-266
- Shikha, M., Kanika, A., Rao, A. R., Mallikarjuna, M. G., Gupta, H. P., & Nepolean, T. (2017). Genomic Selection for Drought Tolerance Using Genome-Wide SNPs in Maize. *Frontiers in Plant Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00550>
- SIINSAN [Sistema de Información Nacional de Seguridad Alimentaria y Nutricional]. (2015, mayo). Impacto de la sequía en Guatemala. Sistema de Información, Monitoreo y Alerta de la Inseguridad Alimentaria y Nutricional. <http://www.siinsan.gob.gt/siinsan/wpcontent/uploads/emergencias/05%20Canicula%20Prolongada%202015/impacto-de-la-sequia-en-guatemala,-2015.pdf>
- Taba S. and Twumasi-Afriyie S. 2008. Guías para la regeneración de germoplasma: maíz. En: Dulloo M.E., Thormann I., Jorge M.A. and Hanson J., editors. *Crop specific regeneration guidelines [CD-ROM]*. CGIAR System-wide Genetic Resource Programme (SGRP), Rome, Italy. 11 pp.
- Vivekananda, Y. A. I. K. H. O. M., Thangjam, K. E. N. N. Y., Brajendra, N., & Jm, L. (2018). A simple modified DNA extraction method of maize. *International Journal of Agricultural Science and Research*, 8(3), 67-72.
- Vargas, R., Cabrera, M., Cicowicz, M., Escobar, P., Hernández, V. L., Cabrera, J., & Guzmán, V. (2018). Climate risk and food availability in Guatemala. *Environment and Development Economics*, 23(5), 558-579. <https://doi.org/10.1017/s1355770x18000335>
- Wang, Y., Luo, Z., Zhao, X., Cao, H., Wang, L., Liu, S., Wang, C., Wang Wang, N., Liu, M., Wang, L., & Liu, Z. (2023). Superstar microRNA, miR156, involved in plant biological processes and stress response: A review. *Scientia Horticulturae*, 316, 112010. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112010>
- Wani, S. H., Kumar, V., Khare, T., Tripathi, P., Shah, T., Ramakrishna, C., Aglawe, S. B., & Mangrauthia, S. K. (2020). miRNA applications for engineering abiotic stress tolerance in plants. *Biologia*, 75(7), 1063-1081. <https://doi.org/10.2478/s11756-019-00397-7>
- Zhang, M., Chen, Y., Xing, H., Ke, W., Shi, Y., Sui, Z., Xu, R., Gao, L., Guo, G., Li, J., Xing, J., & Zhang, Y. (2022). Positional cloning and characterization reveal the role of a miRNA precursor gene ZmLRT in the regulation of lateral root number and drought tolerance in maize. *Journal of Integrative Plant Biology*. <https://doi.org/10.1111/jipb.13408>

Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Apéndice

Figura 1A

Mapa de pasaporte de las 90 accesiones de maíz a nivel departamental.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Figura 2A

Mapa de pasaporte de las 90 accesiones de maíz a nivel municipal.

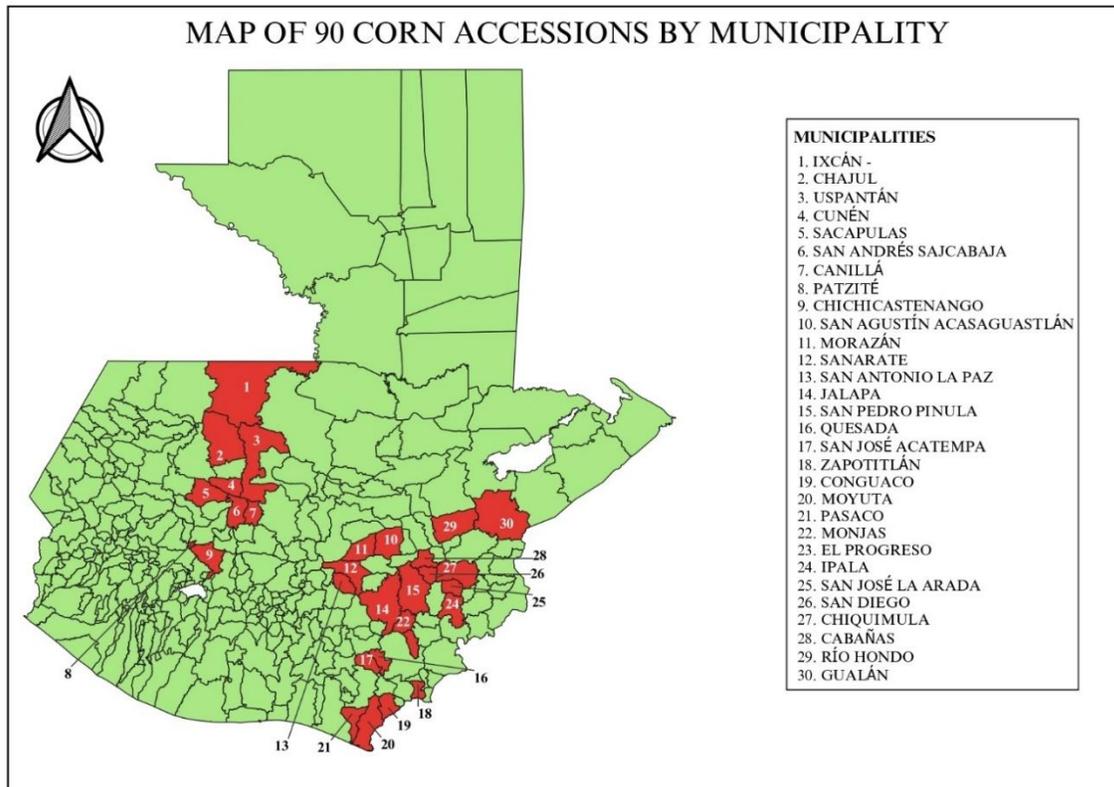


Figura 3A

Autoridades de la Universidad Eslovaca de Agricultura en Nitra junto con el coordinador de la investigación, PhD Carlos Orozco Castillo.





Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Figura 4A

Autoridades de la Universidad Eslovaca de Agricultura en Nitra junto con la auxiliar de investigación, Alejandra García.



Figura 5A

Coordinador de la investigación, PhD Carlos Orozco Castillo y la auxiliar de investigación Alejandra García; junto con el Ing. Giancarlo, autoridad de ICTA San José, La Máquina.



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Figura 6A

Equipo de trabajo de Laboratorio de Genética Molecular y Cultivo de Células y Tejidos. Ing. Mak Cruz, Auxiliar Alejandra García, PhD Carlos Orozco Castillo y Auxiliar Pablo Leal.



Figura 7A

Conferencia con estudiantes del curso de Fitogenética, Facultad de Agronomía, sobre la investigación realizada.





Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Declaración del coordinador del proyecto de investigación

El coordinador de proyecto de investigación con base en el Reglamento para el desarrollo de los proyectos de investigación financiados por medio del Fondo de Investigación, artículos 13 y 20, dejo constancia que el personal contratado para el proyecto de investigación que coordino ha cumplido a satisfacción con la entrega de informes individuales por lo que es procedente hacer efectivo el pago correspondiente.

<p>Dr Carlos Orozco Castillo</p>	
<p>Fecha: 27/02/2025</p>	

Aval del director del instituto, centro, unidad o departamento de investigación o coordinador de investigación del centro regional universitario

De conformidad con el artículo 13 y 19 del Reglamento para el desarrollo de los proyectos de investigación financiados por medio del Fondo de Investigación otorgo el aval al presente informe final de las actividades realizadas en el proyecto “Análisis de variabilidad genética en materiales de maíz (*Zea mays* L.) para tolerancia a sequía, utilizando marcadores moleculares miARN” en mi calidad de Director del Instituto de Investigaciones Agronómicas –IIA–, mismo que ha sido revisado y cumple su ejecución de acuerdo a lo planificado.

<p>Vo.Bo. Dr. Eddi Vanegas</p>	 
<p>Fecha: 27/02/2025</p>	



Informe final de Proyecto de Investigación 2024

Aprobación de la Dirección General de Investigación

Vo.Bo. Inga. Liuba Cabrera	
Fecha: 27/02/2025	

/Digi2024