

INSTITUTO TECNOLÓGICO Y DE ESTUDIOS SUPERIORES DE OCCIDENTE

Departamento de Procesos Tecnológicos e Industriales

Sustentabilidad y tecnología

PROYECTO DE APLICACIÓN PROFESIONAL (PAP)

Programa de Apoyo a Centros de Investigación Externos II



**ITESO, Universidad
Jesuita de Guadalajara**

4G03 Programa de Apoyo a Centros de Investigación Externos II

**Estudio de Asociación de Genoma Completo (GWAS) para la identificación
de genes relacionados a la respuesta hidrotrópica en maíz Ancho (*Zea mays*
L.) nativo mexicano en el IBt – UNAM**

PRESENTAN

Programas educativos y Estudiantes

Lic. en Ingeniería en Biotecnología, Roberto Olvera Hernández

Profesora PAP: Dra. Gladys Iliana Cassab López

Tlaquepaque, Jalisco, diciembre de 2023

ÍNDICE

Contenido

REPORTE PAP	2
Presentación Institucional de los Proyectos de Aplicación Profesional	2
Resumen	4
1. Ciclo participativo del Proyecto de Aplicación Profesional.....	4
1.1 Entendimiento del ámbito y del contexto	5
1.2 Caracterización de la organización	10
1.3 Identificación de la(s) problemática(s).....	11
1.4. Planeación de alternativa(s).....	12
1.5. Desarrollo de la propuesta de mejora	16
1.6. Valoración de productos, resultados e impactos	20
1.7. Bibliografía y otros recursos	25
1.8. Anexos generales.....	32
2. Productos	36
3. Reflexión crítica y ética de la experiencia.....	37
3.1 Sensibilización ante las realidades	37
3.2 Aprendizajes logrados	37

REPORTE PAP

Presentación Institucional de los Proyectos de Aplicación Profesional

Los Proyectos de Aplicación Profesional (PAP) son experiencias socio-profesionales de los alumnos que desde el currículo de su formación universitaria- enfrentan retos, resuelven problemas o innovan una necesidad sociotécnica del entorno, en vinculación (colaboración) (co-participación) con grupos, instituciones, organizaciones o comunidades, en escenarios reales donde comparten saberes.

El PAP, como espacio curricular de formación vinculada, ha logrado integrar el Servicio Social (acorde con las Orientaciones Fundamentales del ITESO), los requisitos de dar cuenta de los saberes y del saber aplicar los mismos al culminar la formación profesional (Opción Terminal), mediante la realización de proyectos profesionales de cara a las necesidades y retos del entorno (Aplicación Profesional).

El PAP es un proceso acotado en el tiempo en que los estudiantes, los beneficiarios externos y los profesores se asocian colaborativamente y en red, en un proyecto, e incursionan en un mundo social, como actores que enfrentan verdaderos problemas y desafíos traducibles en demandas pertinentes y socialmente relevantes. Frente a éstas transfieren experiencia de sus saberes profesionales y demuestran que saben hacer, innovar, co-crear o transformar en distintos campos sociales.

El PAP trata de sembrar en los estudiantes una disposición permanente de encargarse de la realidad con una actitud comprometida y ética frente a las disimetrías sociales. En otras palabras, se trata del reto de “saber y aprender a transformar”.

El Reporte PAP consta de tres componentes:

El primer componente refiere al ciclo participativo del PAP, en donde se documentan las diferentes fases del proyecto y las actividades que tuvieron lugar durante el desarrollo de este y la valoración de las incidencias en el entorno.

El segundo componente presenta los productos elaborados de acuerdo con su tipología.

El tercer componente es la reflexión crítica y ética de la experiencia, el reconocimiento de las competencias y los aprendizajes profesionales que el estudiante desarrolló en el transcurso de su labor.

Resumen

México es centro de origen, domesticación y diversificación del maíz. Además de ser pilar de la gastronomía mexicana, el maíz Ancho (*Zea mays* L.) es un alimento fundamental para el auto abasto y economía de grupos campesinos e indígenas en la ruralidad del estado de Morelos. Debido a la falta de agua, estos grupos han optado por productos menos rentables o híbridos foráneos resistentes a sequía. Para satisfacer sus necesidades y proteger la biodiversidad local, se propone generar variedades resistentes a sequía mediante el entrecruzamiento de accesiones locales con respuesta hidrotónica (RH) robusta en sus raíces. En este PAP, a través de un Estudio de Asociación de Genoma Completo (GWAS), se identificaron marcadores moleculares (SNPs) y genes asociados con la RH en accesiones nativas de *Z. mays* L. Después de realizar ensayos de selección, 119 accesiones provenientes de los municipios Huitzilac y Puente de Ixtla, Morelos fueron secuenciadas por DArTseq en las que se encontraron 13,249 SNPs de calidad. Un GWAS basado en MLM demostró que existen 56 SNPs asociados a la RH, de los cuales, se lograron identificar dos genes asociados: *CAND1* (transporte de auxinas) y *ABAC7* (proteína de transporte activo) por medio de búsqueda de ortólogos en *A. thaliana*. Ambos genes representan parte de un mecanismo molecular más complejo, y pueden servir como marcadores de selección para entrecruzamiento.

1. Ciclo participativo del Proyecto de Aplicación Profesional

El PAP es una experiencia de aprendizaje y de contribución social integrada por estudiantes, profesores, actores sociales y responsables de las organizaciones, que de manera colaborativa construyen sus conocimientos para dar respuestas a problemáticas de un contexto específico y en un tiempo delimitado. Por tanto, la experiencia PAP supone un proceso en lógica de proyecto, así como de un estilo de trabajo participativo y recíproco entre los involucrados.

El presente PAP se realizó en conjunto con el Grupo de Investigación de la Dra. Gladys Iliana Cassab del Departamento de Biología Molecular en Plantas en el Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México (IBt – UNAM), ubicado en Cuernavaca, Morelos. En este PAP se llevó a cabo un análisis genómico que generó conocimiento para el

proyecto del IBt – UNAM titulado “*Genética, fisiología, y mejoramiento evolutivo-participativo de maíces nativos de Morelos sometidos a manejo agronómico sostenible*” para la PRONAI de Soberanía Alimentaria 2021 postulada por el CONAHCYT. Esta experiencia fue asesorada por la Dra. Gladys Cassab López, el asesoramiento del Mc. Leopoldo Vázquez Marcial, junto con el apoyo de la Lic. Nancy Lisset Trujillo Román como miembros de este grupo de investigación.

Objetivo general

Encontrar los SNPs y genes asociados con la respuesta hidrotópica (RH) de la raíz primaria en las accesiones de maíz Ancho nativo (*Zea mays* L.) provenientes de los municipios Huitzilac y Puente de Ixtla, Morelos, a través de un Estudio de Asociación de Genoma Completo (GWAS).

Objetivos específicos

- Realizar un análisis de calidad y filtrar los polimorfismos de nucleotido único (SNPs, por sus siglas en inglés) obtenidos por la técnica de secuenciación DArTseq.
- Realizar un análisis primario y limpieza de datos del reporte de secuenciación DArTseq.
- Realizar el GWAS usando datos fenotípicos previamente obtenidos.
- Identificar los SNPs fuertemente asociados a la respuesta hidrotópica.
- Identificar los genes candidatos asociados la respuesta hidrotópica.
- (Opcional) Buscar en las bases de datos las posibles funciones de los genes candidatos.

1.1 Entendimiento del ámbito y del contexto

México es centro de origen, domesticación y diversificación del maíz [1]. De todos los alimentos que han cambiado por las presiones globales, el maíz Ancho o pozolero es uno de los que no se ha dejado de consumir al ser esencial para la dieta mexicana en la preparación de tortillas, pozoles, tamales, atoles, gorditas, quesadillas, pinoles, etc. [2]. En toda tierra rural del estado de Morelos, México, el maíz ha sido sembrado y cosechado alguna vez [3].

Economía y productividad del maíz Ancho

En el año 2022, el maíz Ancho tuvo una producción total de 32.2 mil toneladas [4], generando un valor de producción equivalente a \$224.5 millones de pesos mexicanos a nivel nacional [5], en el que el estado de Morelos se posicionó como la segunda entidad federativa más importante para su producción [4]. De acuerdo con el cierre del segundo trimestre de 2023 en la Encuesta Nacional de Ocupación y Empleo (ENOE) [6], en el estado de Morelos un total de 82,735 personas se dedican al sector primario (agricultura, ganadería, silvicultura, caza y pesca), y dentro de este grupo, más de 7 mil personas se dedican a la agricultura de subsistencia; entre ellos algunos grupos indígenas.

Importancia cultural del maíz Ancho como estrategia de vida

En el México rural, el grupo campesino busca formas de preservar su existencia frente al constante cambio de un mundo globalizado y rápidamente urbanizado para poder seguir reproduciendo su economía y su cultura a través de lo que se conoce como “estrategias de vida” [7], y en los pueblos de Morelos, el maíz es el producto más fuerte para asegurar estas estrategias [3]. Por ejemplo, Román-Montes-de-Oca, *et al.* [2] describen la importancia del maíz Ancho como estrategia de vida a nivel económico en el municipio de Texcala, Morelos, ya que puede reducir los gastos de alimentación en la unidad familiar a través del consumo de sus productos derivados. Además, las ganancias generadas por su venta constante durante el año funcionan como una caja de ahorro para la familia en caso de emergencias y también funge como una justificación a seguir usando la tierra y no perderla. De esta forma, el maíz representa un conjunto de relaciones de los campesinos y su familia con los distintos elementos de su cultura [3].

Sequía

Contar con un sistema de riego adecuado para proteger a los cultivos de maíz Ancho de la sequía representa un gran problema para la comunidad campesina. La lucha por distribuir los recursos hídricos en el campo mexicano ha sido históricamente un problema social que se mantiene presente hasta la fecha [8]–[10]. La irrigación es considerada un lujo destinado solamente al sector agro-industrial, apenas el 8.03% de la producción de maíz Ancho en México proviene de esta modalidad de riego [11], el resto de las personas dependen del riego por temporal para producir. Sin embargo, la percepción sobre el cambio climático es notoria

entre la población. Según entrevistas realizadas por Velázquez Gutiérrez, *et al.* [12] y Navarrete Galindo [8], los habitantes de la región Nororiente de Morelos mencionan un constante agotamiento de los recursos en las cuencas de la región y cambios drásticos en los ciclos del temporal.

Así, el acaparamiento de los recursos hídricos junto con el cambio climático, obligan al grupo campesino a buscar alternativas para hacer frente a la escasez de agua. Por ejemplo, cambiar a cultivos que requieran menos agua, pero que no garantizan la misma seguridad económica que les aporta el maíz [8], o bien, usar variedades híbridas resistentes a sequía provenientes de los EE.UU. [13], las cuales representan un riesgo a la pérdida de biodiversidad por erosión genética [14] al ser cultivos de polinización abierta. Por lo tanto, es importante encontrar soluciones que ayuden a combatir la sequía que sean accesibles al grupo campesino y ayuden a la protección de la biodiversidad.

Mejoramiento participativo

Para asegurar las estrategias de vida del grupo campesino de Morelos y mantener la biodiversidad del maíz Ancho en la zona, la metodología propuesta para el fitomejoramiento se basa en el marco del Mejoramiento Participativo [15], [16]. Este se fundamenta en establecer una sinergia entre los métodos tradicionales de selección y el entrecruzamiento del grupo agricultor con el apoyo y los conocimientos de grupos de investigación para generar nuevas variedades de plántulas adaptables al entorno utilizando accesiones locales [17]. Esta estrategia significa que el origen de la diversidad del maíz Ancho proviene directamente de la adaptación de estas plantas al ambiente que pertenece. A través de fenotipificación y genotipificación, se buscan los mejores candidatos para reproducir las características deseadas en el resto de los campos.

Hidrootropismo

Al estar fijadas al suelo, las plantas han desarrollado estrategias evolutivas muy interesantes para encontrar recursos y resistir los cambios en su ambiente. Para explorar el suelo que habitan, las plantas usan “tropismos”, mecanismos fisiológicos que les permiten realizar un crecimiento diferencial de sus órganos hacia condiciones más favorables a partir de estímulos

que encuentran en el ambiente [18]–[21], como luz [22], [23], gravedad [24], [25], o agua [18], [19]. Sobre este último, en 1985 Jaffe *et al.* [26] realizaron experimentos en mutantes de chícharos (*Pisum sativum* L.) con raíces agravitrópicas—sin tropismos sensibles a la gravedad—que podían doblar y crecer sus raíces en dirección a gradientes de humedad. Este experimento fundamentó el re-descubrimiento de las respuestas hidrotropicas (RH) y abrió las puertas para buscar estas respuestas en más especies, entre ellas, maíz (*Zea mays* L.) [27].

Al ser un campo de estudio relativamente reciente, aún no se tiene establecido un consenso sobre los mecanismos moleculares y celulares de las RH. En revisiones extensas de Cassab, Eapen y Campos [18], y Miyazawa y Takahashi [19], se exponen trabajos realizados durante los últimos 30 años dirigidos a comprenderlos. Los mecanismos mejor caracterizados para la RH, o por lo menos donde se pueden encontrar acuerdos comunes, son los de regulación genética en *Arabidopsis thaliana*, al ser un organismo modelo bien establecido para investigación en plantas.

Eapen, Barroso, Campos *et al.* [28] aislaron una mutante de *Arabidopsis* sin RH llamada *nhr1* que, subsecuentemente, serviría para descubrir las mutaciones responsables *misukusseil* (*miz1*) y *miz2* por Kobayashi *et al.* [29] y Miyazawa *et al.* [30], respectivamente. El gen *MIZ1* codifica una proteína sin una función conocida en la cofia de las raíces y en la estela [29], y es regulado positivamente en la presencia de ácido abscísico (ABA), a través de la cinasa SnRK2s que fosforila factores de transcripción río-abajo en células de corteza [31]. Por otro lado, *MIZ2* codifica la proteína ARF-GEF que funciona como factor de intercambio GDP/GTP en el tráfico de vesículas [32] y se encuentra dentro del locus *GNOM* [30], cuya función más caracterizada es como un mediador importante en el transporte de auxina a través de la reutilización de proteínas PIN en la membrana [33].

Polimorfismos de Nucleótidos Únicos (SNPs) como marcadores en fitomejoramiento

Tradicionalmente, la selección de plantas está fundamentada en escoger características biológicas de interés para obtener la mejor combinación de genes que ayuden a crear nuevas variantes de una especie. Para encontrar estos genes, grandes poblaciones de miles o millones de individuos deben ser monitoreados [34], sin embargo, con el constante surgimiento de

herramientas biotecnológicas, como la identificación de marcadores moleculares [35], estos esfuerzos por encontrar la combinación perfecta pueden ser ampliamente reducidos.

Los marcadores moleculares, comúnmente indican una diferencia en una secuencia nucleotídica de referencia, sea dentro del genoma o de un fragmento específico (ie. una proteína recombinante), que puede estar relacionada con características biológicas de interés [36]. Estos marcadores son heredados, por lo tanto, dan origen a la diversidad en especies o linajes [37]. Sus posiciones dentro de los cromosomas suelen ser desconocidas [38] y generalmente se encuentran en regiones no-codificantes [36], es decir, que estas mutaciones no son las responsables de que se exprese la característica biológica sino que como indicadores para saber cuáles son los genes que están involucrados en el complejo mecanismo de esa respuesta [39] como, por ejemplo, la RH.

Múltiples marcadores moleculares han sido descubiertos en las últimas décadas para genotipificar individuos [40]–[46], pero cuentan con numerosas desventajas al tratar de aplicarlos en estudios poblacionales, principalmente, por el tiempo y esfuerzo requerido para obtener resultados [47]. Por esta razón, el desarrollo de metodologías para identificar polimorfismos de nucleótido único (SNPs, *Single Nucleotide Polymorfisms*) [48], ha reducido significativamente tiempo y esfuerzos de genotipificación [47]. Los SNPs son diferencias puntuales en un solo par de bases nucleotídicas localizados fuera y dentro de regiones codificantes en todo el genoma, y son los polimorfismos más comunes en los organismos [38]. Cuando son pareados con técnicas de Secuenciación de Nueva Generación (NGS) en genomas completos [47], [48], se convierten en poderosos identificadores para estudiar la diversidad de poblaciones enteras [49]–[52]. Por ello, los SNPs rápidamente se han convertido en el estándar de oro para realizar Estudios de Asociación de Genoma Completo (GWAS, *Genome-Wide Association Study*) [53].

Antecedentes del proyecto

En 2021, se sometió el proyecto del grupo de la Dra. Cassab López: “*Genética, fisiología, y mejoramiento evolutivo-participativo de maíces nativos de Morelos sometidos a manejo agronómico sostenible*” para la PRONAI de Soberanía Alimentaria 2021 postulada por el

CONAHCYT. Dentro de la propuesta, se incluyó el trabajo de Eapen *et al.* [54] en el que realizó experimentación con líneas resistentes a sequía de África (DTMA, *Drought Tolerant Maize from Africa*) para clasificar plántulas por su RH (“débil” o “robusta”) y ponerlas a prueba en campo bajo diferentes tipos de irrigación. Sus resultados establecieron que existe una relación positiva entre la presencia de una RH robusta y el rendimiento productivo del maíz, sin importar el tipo de riego. A su vez, Guadarrama [55] realizó un GWAS para este germoplasma de DTMA y encontró que los marcadores moleculares con mayor asociación a la RH en la raíz primaria se situaron en los genes *DUF1005*, . Ambos estudios estuvieron enfocados a comprender los mecanismos de las RH en *Z. mays* L., y a partir de ellos surgieron nuevos conocimientos para llevar a cabo un proyecto para generar fitomejoramiento en maíces nativos.

Desde la aprobación del proyecto para PRONAI hasta el inicio del presente PAP, el grupo de la Dra. Cassab López se ha dedicado a recolectar diferentes accesiones de maíz Ancho en los municipios de Huitzilac y Puente de Ixtla, Morelos, con comunidades de pequeños agricultores que actualmente comercializan sus productos agrícolas con valor agregado (ver **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, del Anexo). A partir de estas accesiones, se obtuvieron datos fenotípicos de la RH en raíces primarias para más de 360 plántulas, de las cuales, una población de 120 plántulas con RH robusta y débil fueron secuenciadas en el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) para la identificación de marcadores moleculares (SNPs) que se utilizaron para el Estudio de Asociación de Genoma Completo (GWAS) de este PAP.

1.2 Caracterización de la organización

Fundado el 20 de abril de 1982 en Cuernavaca, Mor., el Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México (IBt – UNAM) es uno de los centros académicos dedicados a la investigación en biotecnología más prolíficos de México; hasta el 2022, contaban 4 mil 804 artículos publicados, 114 mil 431 citas y 65 patentes en áreas de genética y ciencias de la vida acumulados en 40 años de historia científica [56]. Dentro de sus metas como instituto de investigación, busca la implementación de acciones de voluntariado

nacional para la atención de problemas de la comunidad utilizando el conocimiento de la biología competitiva que atienda problemas en el área de salud, industrial, energética, ambiental y agropecuaria, a la par de fomentar la colaboración con el sector privado.

En la estructura del IBt – UNAM se integran cinco departamentos: Desarrollo y Fisiología Molecular; Ingeniería Celular y Biocatálisis; Biología Molecular y Bioprocesos; Microbiología Molecular; y la colaboración de este PAP: Biología Molecular de Plantas bajo la dirección Dr. José Luis Reyes Taboada. Dentro de este departamento se encuentra el grupo de investigación liderado por la Dra. Gladys Iliana Cassab López, conformado por cuatro técnicos académicos, dos becarias y siete estudiantes de licenciatura, incluyendo al autor de este PAP. El objetivo de este grupo es comprender los sistemas de transducción de señales a nivel celular en las plantas.

1.3 Identificación de la(s) problemática(s)

México es centro de diversidad para el maíz, incluyendo el maíz pozolero o Ancho [1], y es esencial en la gastronomía y dieta mexicana [2]. La producción nacional de maíz Ancho en 2022 representó más de \$224 millones de pesos mexicanos [4], y el estado de Morelos se posicionó como el segundo productor más importante [4]. El grupo campesino en este estado utiliza accesiones nativas del maíz Ancho como estrategia económica de autosustento [2], [3], [13]. Sin embargo, la falta de acceso a sistemas de riego adecuados [11] y el cambio climático [12] amenazan contra estas estrategias de vida, obligando a este grupo a buscar alternativas, como la introducción de variedades híbridas de EE. UU., lo que provoca el desplazamiento de accesiones nativas y, al ser cultivos de polinización abierta, también la pérdida de biodiversidad [14], [57].

Para apoyar las estrategias actuales de estos grupos en el Morelos rural, la comunidad científica mexicana representa una labor importante al brindarles acceso a innovación tecnológica. El enfoque del presente PAP es apoyar el proyecto del IBt – UNAM que busca generar accesiones nativas adaptadas a sequía que garanticen la seguridad económica y alimentaria de estos sectores de la población, así como la protección de la biodiversidad en la región.

1.4. Planeación de alternativa(s)

Otras alternativas al PAP

Se discuten dos soluciones que pueden ayudar a combatir la sequía, que sean accesibles al grupo campesino y ayuden a la protección de la biodiversidad: la milpa y el uso de micorrizas. La milpa es un policultivo tradicionalmente utilizando en cultivos de maíz desde épocas prehispánicas para reducir la presencia de plagas y mejorar el crecimiento del cultivo [58]. Esta no es una solución viable porque pretende cambiar a métodos que la mayoría de los campesinos desconoce, además de obtener cultivos que no necesariamente crecen en la región y no garantizan solucionar el problema de la resistencia a sequía. Segunda, las micorrizas pueden ser una opción biotecnológica accesible [59], aunque los estudios que se tienen actualmente son significativamente menores a los que existen para las RH, además de que no existe una metodología establecida para caracterizar y proponer las condiciones en suelo óptimas para que funcionen estos microorganismos.

Estudio de Asociación de Genoma Completo (GWAS)

Un Estudio de Asociación de Genoma Completo (GWAS) se utiliza en humanos, animales, microorganismo y plantas, y tiene como objetivo encontrar correlaciones entre datos fenotípicos y genotípicos al detectar diferencias puntuales en alelos dentro de un grupo de individuos que pertenecen a la misma especie, pero que tienen variaciones fenotípicas [53], en la figura 1 se muestra un resumen de esta metodología de análisis.

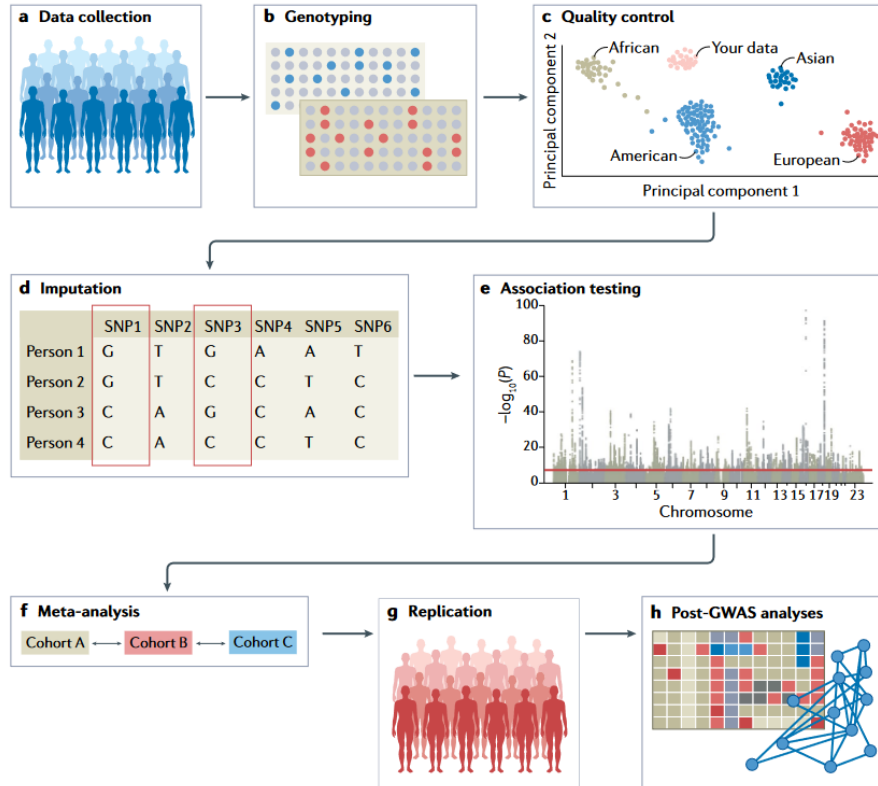


Figura 1. Resumen del flujo de trabajo de un GWAS. (A) Recolección de muestras para obtener datos fenotípicos y genotípicos; (B) Obtener marcadores moleculares a través de secuenciación; (C) Eliminar datos que puedan afectar al modelo estadístico de GWAS a partir del contexto del estudio, en este ejemplo, eliminar datos provenientes de espacios geográficos no relevantes; (D) Se eliminan datos genotípicos que no tengan una relevancia significativa para el modelo; (E) realización del GWAS y obtención de SNPs asociados al fenotipo; (F) Metaanálisis para la obtención de genes candidatos; (G) Los resultados pueden ser replicados; (H) Comparar distintos GWAS para establecer una ruta metabólica o mecanismo biológico que explique el fenotipo. En este PAP se pretende llegar hasta el paso F. Diagrama recuperado de Uffelmann *et al.* [53].

Como se mencionó anteriormente, previo al inicio de este PAP, los datos fenotípicos y genotípicos fueron obtenidos por el grupo de la Dra. Cassab López en el IBt – UNAM, en colaboración con el CIMMYT. En el presente PAP, se pretende realizar un GWAS con el objetivo de encontrar la relación entre la RH de las raíces primarias de maíz Ancho con los SNPs que fueron obtenidos a través de secuenciación DArTseq.

Para la realización del GWAS, primero es necesario transformar el reporte de secuenciación del CIMMYT a un formato Hapmap, una estructura de datos común en bioinformática que se utiliza para reportar diferencias alélicas. Para esto, es necesario programar un script en el

lenguaje de programación R—ampliamente utilizado para análisis estadístico y conocido en la bioinformática—para traducir el formato de Excel a uno de texto con la estructura de un Hapmap.

Al obtener los datos fenotípicos y genotípicos crudos, es necesario el uso de software bioinformático para hacer un análisis primario, GAPIT 3.0 [60], [61], como librería de R, y TASSEL 5.0 [62], en su versión de Shell (Linux). Se utilizan estos dos programas en el presente PAP, ya que ambos son de libre acceso y estén optimizados para específicamente realizar flujos de trabajo de GWAS para variedades de *Zea mays* L. El GWAS se realiza en GAPIT 3.0 utilizando datos fenotípicos con valores numéricos, en este caso, ángulo de raíces primarias, y los datos genotípicos procesados por TASSEL 5.0. El resultado del GWAS consiste en una tabla con los *scores* estadísticos que indican cuáles SNPs tienen una fuerte asociación con los datos fenotípicos que se le presentaron.

Finalmente, se toman los SNPs con mayor relevancia para predecir los genes que podrían estar relacionados con la RH. Adicionalmente, se realiza un análisis ADMIXTURE [63] para explicar la diversidad genética de los datos y presentar una hipótesis de entrecruzamiento de las accesiones, a través de un análisis de ancestría geobiológica.

Cronograma de actividades

En la tabla 1 se muestra al plan de trabajo del presente PAP. Se especifican los recursos humanos, datos y software necesarios para cumplir la actividad. Además, se anota el tiempo requerido para llevar a cabo las actividades y la semana en la cual se planea realizarla.

Tabla 1. Cronograma de actividades previstas para la realización del PAP.

Nombre de la actividad	Recursos	Tiempo (días)	AGO				SEP				OCT			NOV			
			Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6	Semana 7	Semana 8	Semana 9	Semana 10	Semana 11	Semana 12	Semana 13	Semana 14	Semana 15
Fase de inducción																	
Leer precedentes del proyecto (artículo previo)	AH, TP	15															
Lectura de artículos (conceptos iniciales)	AH, TP	30															

AB	Asesoría M.C.. Leopoldo Vázquez (Bioinformática)
AH	Asesoría Dra. Gladys Cassab (Hidrotropismo/Entrecruzamiento)
AN	Apoyo Lic. Nancy Trujillo (Trabajo de fenotipificación)
TP	Trabajo personal
R	R Studio (Base)
GP	Software: GAPIT (R Studio)
TS	Software: TASSEL 5.0
AX	Software: ADMIXTURE (UNIX Shell)

1.5. Desarrollo de la propuesta de mejora

Análisis de datos fenotípicos

Previo a este PAP, se determinó la respuesta hidrotrópica (RH) de las raíces primarias en 1,554 individuos provenientes de 38 accesiones de los municipios de Huitzilac y Puente de Ixtla, Morelos, utilizando la metodología de Eapen *et al.* [54] (figura 2 y figura 10 del Anexo). La RH fue clasificada como “débil” ($x < 40$) o “robusta” ($x \geq 40$) dependiendo del ángulo de la raíz primaria, cada accesión fue clasificada como “Baja”, “Media” o “Alta” dependiendo de su altitud geográfica (figura 8 del Anexo).

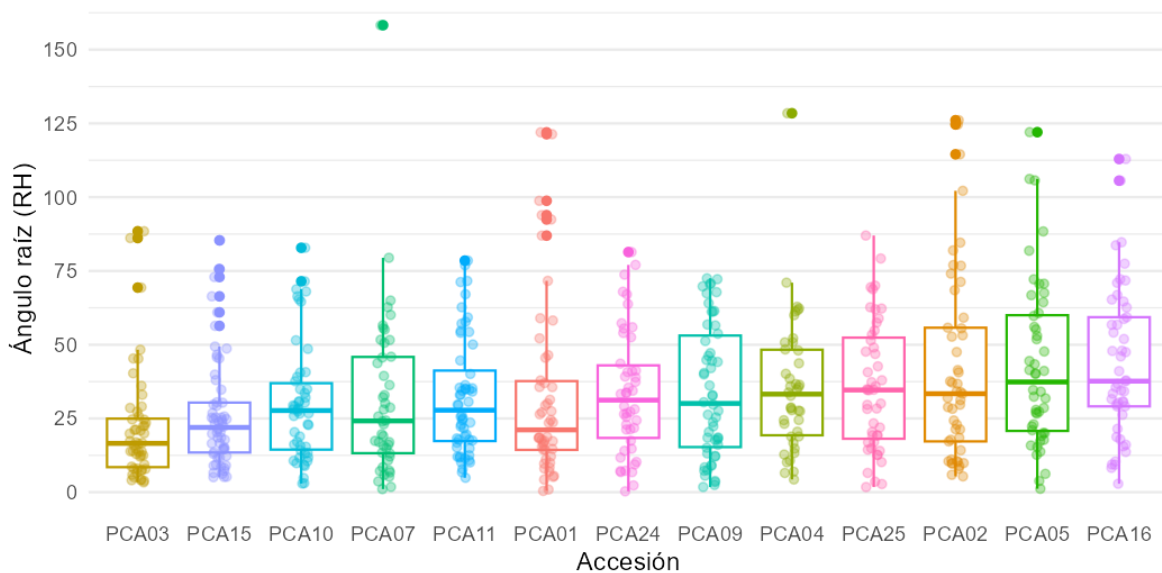


Figura 2. Promedio y desviación de ángulo de raíz primaria (respuesta hidrotrópica, RH) estándar para 13 accesiones de maíz Ancho de altitud “Baja”. La RH fue clasificada como “débil” o “robusta” a partir de un ángulo de 40 grados.

Se realizó un análisis estadístico para encontrar la relación entre la altura y la RH, y diferencias entre las accesiones. Los datos no presentaron una distribución normal (prueba de Shapiro-Wilk, $p\text{-value} < 2.2e-16$) y presentaron un sesgo hacia respuestas débiles (figura 3A y figura 3B). Este sesgo implicó una distorsión decreciente por la que se requirió comparar la varianza de las RHs por separado. Así, se realizaron dos análisis de varianza (ANOVA) para cada tipo de RH con un límite de confianza del 90% ($\alpha = 0.10$). Los resultados de los ANOVA demostraron que existe una diferencia significativa entre la RH y la altitud geográfica de las accesiones (Débil, $p\text{-value} = 0.0318$; Robusta, $p\text{-value} = 0.0108$), es decir, que el origen de la diversidad genética o adaptativa no proviene de los cambios en la altitud.

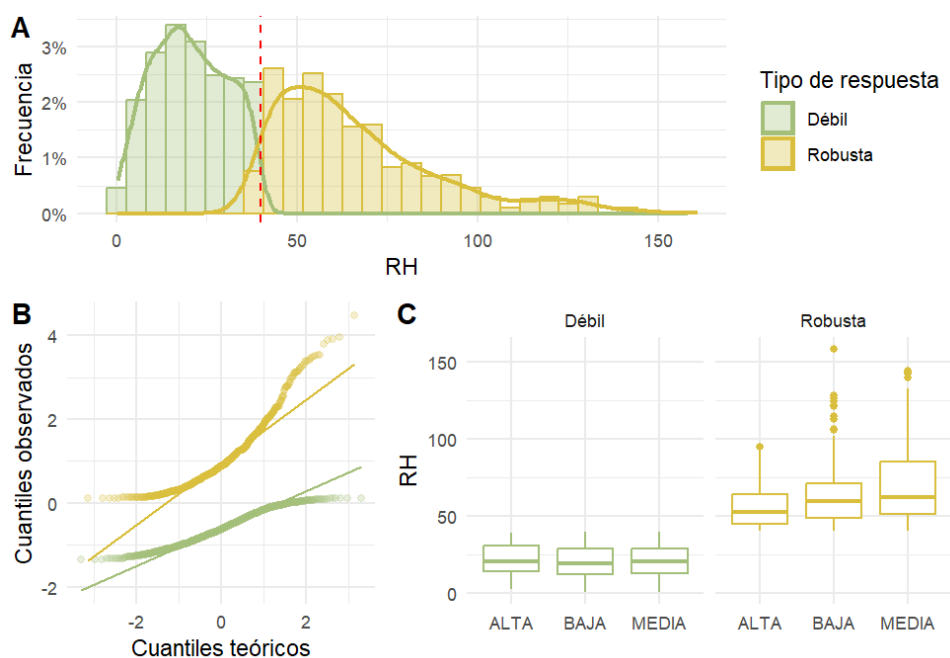


Figura 3. Análisis descriptivo de la respuesta hidrotópica (RH) por tipo de respuesta. (A) Histograma de RH, los datos presentaron un sesgo hacia RH débiles (izquierda de línea roja punteada); (B) QQ-Plot de distribución normal para datos estandarizados, ningún tipo de RH tuvo una distribución normal; (C) Comparación de los tipos de RH para diferentes alturas.

Genotipificación por DArTseq

De la población fenotipificada, 119 individuos con la RH más alta fueron genotipificados por secuenciación de nueva generación (NGS) usando la metodología DArTseq (*Diversity Arrays Technology Sequencing*) a servicio del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) para identificar los marcadores moleculares. La metodología

DArTseq se utiliza para la reducción genómica en secuenciaciones de genomas completos. La metodología se fundamenta en la digestión del genoma utilizando enzimas de restricción sensibles a metilaciones [50], estas cortan en regiones altamente metiladas, preservando los fragmentos sin metilar; es decir, las regiones genómicas que son expresadas en fenotipos [64]. A partir de esta secuenciación, se generó una librería de 48,370 fragmentos con SNPs para los 119 individuos (figura 9 del Anexo).

Análisis de los datos genotípicos

Control de calidad

Los fragmentos secuenciados fueron alineados por el CIMMYT utilizando el genoma de referencia [B73v4](#) [65] de *Zea mays* L. con el objetivo de determinar los *loci* de cada SNP. La línea B73 proviene de Minnesota, EE.UU., es decir, es genéticamente distante a las accesiones nativas de Morelos, por lo que algunos *loci* no fueron alineados y se generaron datos nulos. Utilizando el ambiente de programación R, se realizó un primer filtro para el conjunto de datos y conservar solo los SNPs con *loci* identificados (código 1 en el Anexo). Se obtuvo un total de 34,079 SNPs (70.45%) con *loci* conocidos para las 119 accesiones.

Un segundo filtro fue aplicado a las secuencias utilizando la plataforma [TASSEL 5.0](#) (*Trait Analysis by aSSociation, Evolution and Linkage*), desarrollado por Bradbury *et al.* [62]. La frecuencia de alelos menores (MAF, *Minor Allele Frequency*) es la proporción en la que el alelo menos común se presenta en una lectura [66]. En su mayoría, los análisis estadísticos no cuentan con el poder estadístico para hacer asociaciones con MAFs bajos [66], por lo que es necesario retirarlos. En este proyecto, se utilizó un filtro de $MAF \geq 10\%$ (figura 4A y figura 4B). Después de este último filtro, hubo una reducción del 39.63% de los datos, dejando un total de 20,573 SNPs disponibles para realizar la asociación (figura 4C).

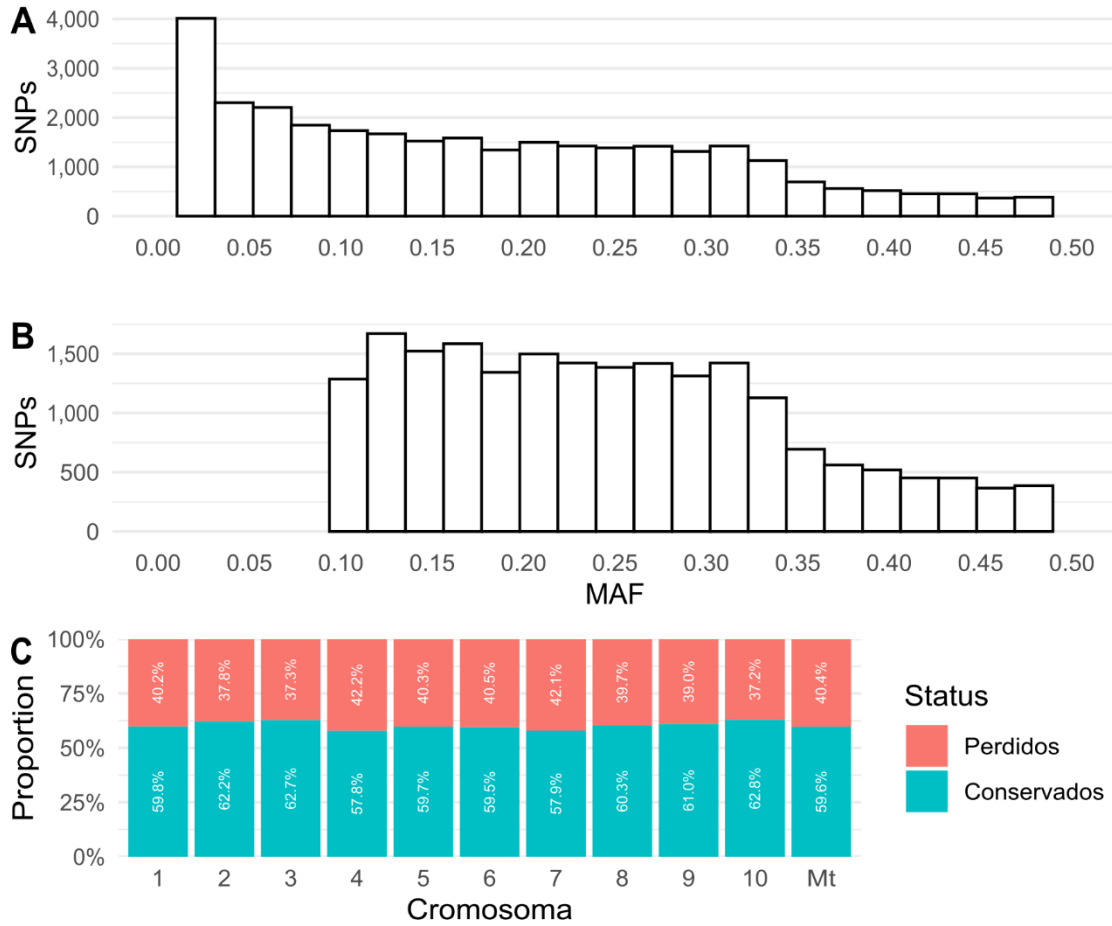


Figura 4. Resumen de control de calidad para 20,573 SNPs. Se muestran los histogramas de Frecuencia de Alelos Menores (MAF) para (A) antes de aplicar el filtro; (B) después de aplicar el filtro para MAF ≥ 10%. También se muestra (C) porcentaje de datos perdidos por cromosoma.

En la figura 5 se muestra la cantidad de SNP debido a que cada cromosoma de *Z. mays* L. tiene un largo diferente, por ejemplo, el cromosoma 1 cuenta con 307.04Mpb, mientras que cromosoma 10 se compone de 150.98Mpb.

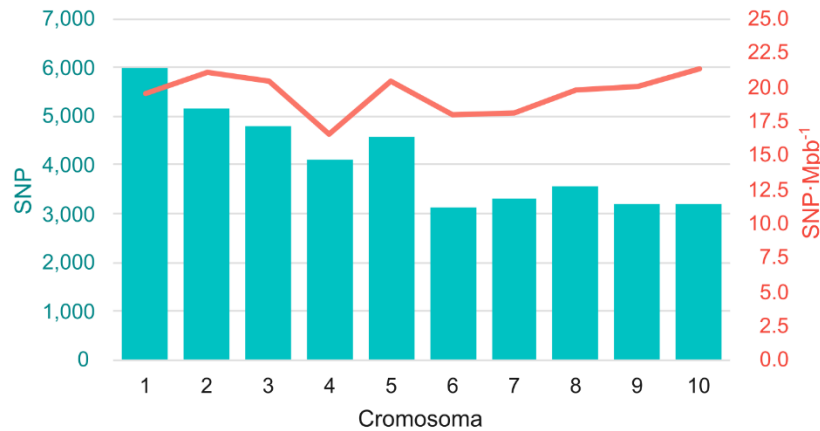


Figura 5. Cantidad de SNPs totales por cromosoma (naranja) y proporción de SNPs por cada millón de pares de bases (Mpb, azul).

1.6. Valoración de productos, resultados e impactos

Estudio de Asociación de Genoma Completo (GWAS)

A partir de los datos fenotípicos de las plántulas secuenciadas y sus datos genotípicos filtrados ($MAF \geq 10\%$), se realizó un Estudio de Asociación de Genoma Completo (GWAS) con el software [TASSEL 5.0](#) [62]. Para entender la asociación de un SNP con su rasgo fenotípico se utiliza un modelo lineal para realizar correlaciones entre la presencia del SNP a través de las accesiones y la RH, el modelo utilizado para este GWAS fue un MLM. Como *output*, el MLM—o cualquier modelo lineal—genera un puntaje estadístico (*p-value*) con el que se puede asociar la significancia estadística de esa correlación. Comúnmente, para visualizar y analizar los resultados, estos scores pasan por una transformación logarítmica ($-\log_{10}(p)$); entre más alto sea, mayor confianza hay de que ese SNP esté asociado al fenotipo.

Análisis estadístico

Fueron identificados 56 SNPs asociados con la RH. En la figura 6 se muestra un gráfico de cuantil-cuantil (Q-Q Plot) que ayudó a determinar un límite de confianza ($-\log_{10}(p) = 2.48$) para los *p-values* calculados por el MLM. Los valores dejan de tener un comportamiento uniforme después de este valor, por lo que se tratan de SNPs con *p-values* (bajos) con significancia estadística, es decir, que rechazan la hipótesis nula (H_0) y explican

la correlación calculada por el MLM [66]. Aquellos SNPs con un valor mayor o igual a este fueron clasificados como “asociados” y seleccionados para identificar posibles genes asociados a la RH (figura 7).

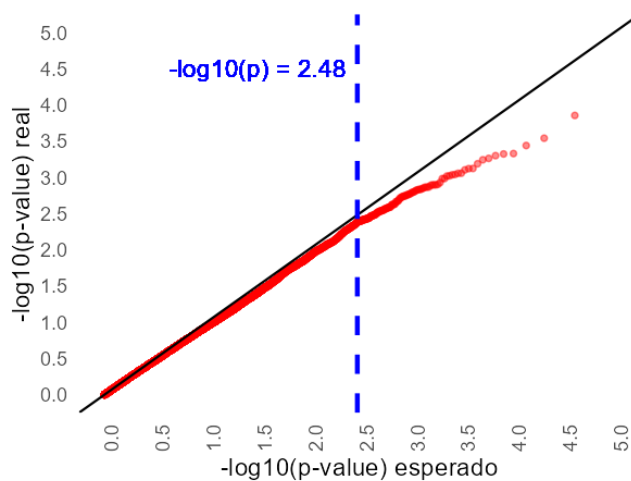


Figura 6. Gráfico Cuantil-Cuantil (QQ-Plot). Se grafican los p-values esperados en una distribución uniforme (eje horizontal) contra los generados por el MLM para una muestra de 250 SNPs. Los datos observados dejan de tener un comportamiento uniforme a partir de $-\log_{10}(p) = 2.48$, por lo que se tratan de *p-values* (bajos) con significancia estadística, es decir, que rechazan la hipótesis nula (H_0) y explican la correlación del MLM.

Cribado de genes asociados

En este PAP se lograron identificar 10 regiones genómicas y genes con SNPs asociados a la RH. Los SNPs fueron localizados con el “Genome Data Viewer” de [NCBI](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/gdv/?org=zea-mays) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/gdv/?org=zea-mays>) con el genoma de referencia “B73 RefGen_v4” ingresando la coordenada del SNP (ie. chr1:307,041,717), y extrayendo el código único de *locus* (ID) del gen o genes más cercano al SNP. El ID pertenece a la *International Nucleotide Sequence Database Collaboration* (INSDC) del Proyecto de Secuenciación Genómica de Maíz. Dicho ID fue buscado en la MaizeGDB (<https://www.maizegdb.org/>) para encontrar conexiones a UniProt (<https://www.uniprot.org/>) y/u ortología con *Arabidopsis thaliana* en la base de datos TAIR (<https://www.arabidopsis.org/index.jsp>) (figura 7 y tabla 3), y ampliar la búsqueda en otras bases de datos (ie. KEGG Pathway, GeneOntology, Panther, etc.).

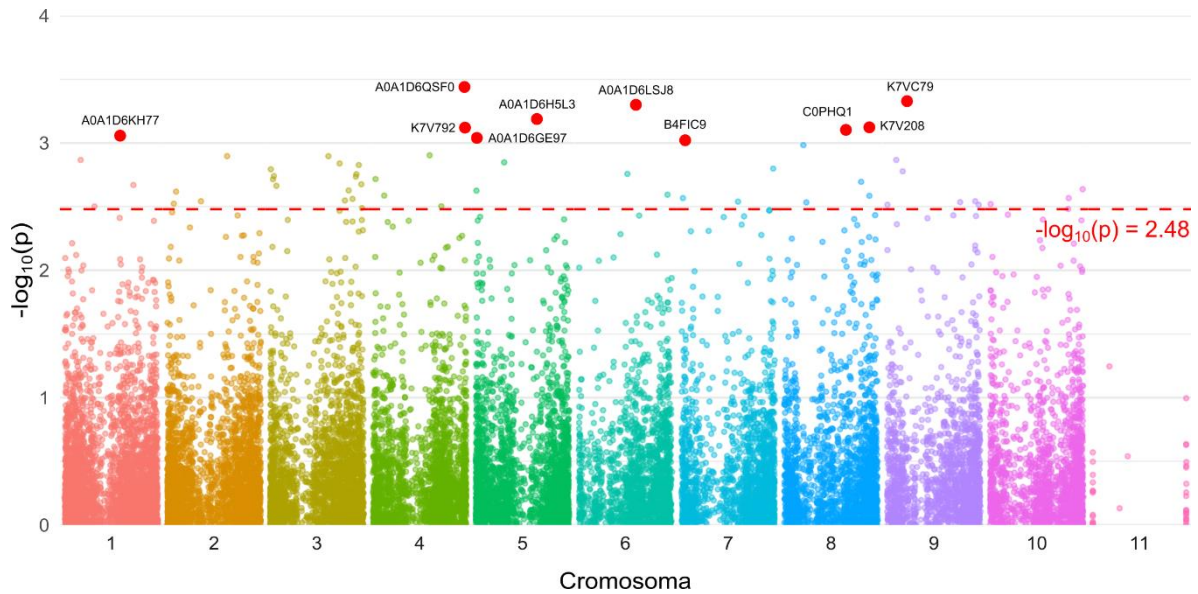


Figura 7. Gráfico de Manhattan para la RH en accesiones de maíz Ancho nativo para el GWAS — MLM. Cada punto representa un SNP en su respectiva posición cromosómica (eje horizontal) y su p -value de acuerdo con el MLM (eje vertical). Existe una mayor cantidad de SNP al inicio y al final de cada cromosoma por el efecto de la recombinación cromosómica. Se muestran los 10 SNPs con un mayor nivel de significancia (puntos rojos) y el ID de la accesión de UniProt asociada (texto, verde=gen/azul=región intergénica).

Búsqueda de información y *gene-mining* de los genes asociados

El SNP con una mayor asociación genómica a la RH fue perteneciente a la *CAND1* en el cromosoma 4 (tabla 3). De acuerdo con información en el ortólogo *A. thaliana*, se trata de una proteína señalizadora de auxina dependiente de ubiquitina, presente desde embriogénesis hasta floración [67]. Sin embargo, esta proteína se encuentra presente solamente en el desarrollo vascular de hojas para el transporte de auxina [67]. Podría estar relacionado al estar involucrado con el crecimiento. Otro gen ortólogo a *A. thaliana* es *ABCA7* del cromosoma 6 (tabla 3), perteneciente a la super familia de proteínas transmembranales dependientes de ATP [68], y está relacionada con el metabolismo de lípidos acilados para la formación de membranas [69].

Tabla 3. Resultados de minería de genes para los 10 SNPs con un p -value más alto del GWAS. Se presentan códigos para bases de datos en MaizeGDB (INSDC ID), UniProt y TAIR (ortología con *A. thaliana*); las coordenadas cromosómicas del SNP asociado (SNP Coord.); el p -value del SNP; y la descripción del gen asociado de UniProt. Se marca de color gris los genes de los que se obtuvo más información en literatura: *CAND1*, *ABCA7*.

INSDC ID	SNP Coord.	$-\log_{10}(p)$	Uniprot ID	Tair ID	Descripción
Zm00001d053813	Chr3:241598199	3.439	A0A1D6QSF0	AT2G02560	Cullin-associated NEDD8-dissociated protein 1

Zm00001d045703	chr9:33996681	3.328	K7VC79	AT1G23880	NHL domain-containing protein
Zm00001d036927	chr6:106659892	3.299	A0A1D6LSJ8	AT2G01320	ABC transporter A family member 7
Zm00001d016136	chr5:146122222	3.188	A0A1D6H5L3	-	E3 ubiquitin-protein ligase ATL41
Zm00001d011924	chr8:164686490	3.122	K7V208	-	Protein LURP-one-related 2
Zm00001d053882	chr4:242947617	3.120	K7V792	-	Splicing factor 3B subunit 1
Zm00001d010530	chr8:119425364	3.103	C0PHQ1	-	cysteine--tRNA ligase
Zm00001d031232	chr1:182937557	3.057	A0A1D6KH77	-	Sodium/hydrogen exchanger 7
Zm00001d012970	chr5:2557067	3.039	A0A1D6GE97	-	Phosphatidylinositol N-acetylglucosaminyltransferase subunit P-related
Zm00001d018854	chr7:7399264	3.021	B4FIC9	-	mRNA-putative carboxylesterase 15

Homología con *MIZ1*

Como se mencionó al inicio de este escrito, existen mutaciones reportadas que podrían explicar el mecanismo molecular de la RH, el gen *MIZ1*, así que también se buscaron posibles homólogos relacionados dentro de los SNPs de este PAP. Guadarrama [55] identificó 11 genes homólogos del gen *MIZ1* en variantes DMTA (tabla 4). Se buscaron en MaizeGDB los 3 homólogos de Guadarrama [55] con el *p-value* más alto y se identificaron los SNPs asociados más cercanos a las coordenadas cromosómicas. Solamente un par de SNPs de baja significancia coincidieron con un homólogo reportado en el cromosoma 8.

Tabla 4. Genes homólogos a *MIZ1* en *Z. mays* L. (DTMA) identificados por Guadarrama [55]. Los IDs pertenecen al gen de referencia B73_v3, pero también existen para B73_v4. Se comparan los SNP encontrados en este PAP con las regiones reportadas. Las celdas de color gris son las que coincidieron.

INSDC ID		SNP más cercano	En gen	Distancia (Kpb)	-log ₁₀ (p)	
B73_v2	B73_v4				Guadarrama	PAP
GRMZM2G329999	Zm00001d014681	chr5:58,555,370	No	176.593	1.84	0.90; 0.36
GRMZM2G475994	Zm00001d012555	chr8:171,216,647	No	110.222	1.45	0.06
GRMZM2G437509	Zm00001d040415	chr3:42,334,923	Sí	0.000	1.35	0.35; 0.35

Conclusiones

Se desarrolló un GWAS para plántulas de maíz Ancho (*Z. mays* L.) nativo del estado del Morelos para encontrar genes asociados a la respuesta hidrotópica (RH) de la raíz primaria en plántulas. A través de un análisis de datos para el reporte de genotipificación por secuenciación se lograron obtener más de 13 mil marcadores moleculares para realizar el estudio con 119 individuos. Se lograron identificar 56 SNPs asociados a la RH a través de un MLM, de los cuales, los 10 con *p-values* más significativos fueron seleccionados. Los resultados indicaron que, aunque existe una posible relación de la RH con un gen reportado

como responsable de la RH (*MIZ1*), aún hay genes con una mayor importancia que pertenecen a mecanismos moleculares más complejos como el transporte de auxinas para el desarrollo de nuevos tejidos (*CAND1*) y el uso de transporte activo en la membrana de la pared celular (*ABCA7*).

Perspectivas

Incluir mayor diversidad genética

Uno de los principales retos de este PAP fue que el trabajo realizado se basó en un conjunto de datos sesgado, al contar solamente con plántulas de RH robusta y de altitud baja. En un GWAS, es necesario contar con poblaciones opuestas o genéticamente diversas para encontrar correlaciones entre la diversidad de característica fenotípicas y la presencia de SNPs en cada individuo. Sin embargo, los resultados siguen siendo una ventana útil para construir un análisis genómico, ya que independientemente de los individuos, su *p-value* seguirá siendo proporcionalmente significativo incluyendo los “nuevos” SNPs, por lo tanto, puede cambiar el límite de significancia y no se incluirán los mismos SNPs más bajos.

Terminar de buscar genes candidatos

Se lograron encontrar genes candidatos que podrían llegar a revelar un complejo mecanismo molecular del que depende la RH. Aún es necesario investigar más sobre las funciones de las proteínas seleccionadas, y sobre el resto de los genes identificados.

Posible estudio de transcriptómica

Una vez que se tenga un GWAS con los datos completos y genes candidatos, el estudiar los niveles de transcripción—sea por qPCR o RNAseq—en etapas de desarrollo de la semilla y bajo un diseño experimental con gradientes de humedad, podría no solo dar mayor claridad sobre los mecanismos moleculares de la planta, sino también a evaluar la importancia de los marcadores moleculares y estandarizar el proceso de selección para entrecruzamiento corriendo pruebas para un solo set de genes, incluso un solo gen.

1.7. Bibliografía y otros recursos

- [1] T. Á. Kato, C. Mapes, L. M. Mera, J. A. Serratos, y R. A. Bye, “Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica”, *Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, DF*, vol. 116, 2009.
- [2] E. Román-Montes-de-Oca, G. Bahena-Delgado, M. I. Ayala-Enríquez, y J. E. Licea-Resendiz, “El maíz pozolero: Una estrategia de sobrevivencia de las familias rurales en Texcala Morelos, México”, *Perspectivas Rurales Nueva Época*, vol. 17, núm. 33, Art. núm. 33, jun. 2019, doi: 10.15359/prne.17-33.3.
- [3] E. Guzmán-Gómez y A. León-López, “Peculiaridades campesinas del Morelos rural”, *Economía Sociedad y Territorio*, ene. 2014, doi: 10.22136/est00201434.
- [4] SIAP, “Anuario Estadístico de la Producción Agrícola”, Producción agrícola en modalidad de Riego y Temporal de maíz en grano, variedad grano pozolero a nivel nacional. [En línea]. Disponible en: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- [5] SIAP, “Anuario Estadístico de la Producción Agrícola”, Producción agrícola en modalidad de Riego y Temporal de maíz en grano a nivel nacional. [En línea]. Disponible en: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- [6] INEGI, “Encuesta Nacional de Ocupación y Empleo. Indicadores estratégicos, segundo trimestre de 2023”, Subsistema de Información Demográfica y Social (Entidad Federativa: Morelos). Consultado: el 29 de agosto de 2023. [En línea]. Disponible en: <https://www.inegi.org.mx/programas/enoe/15ymas/#tabulados>
- [7] R. Amador Pérez, “Inserción y resistencia en las estrategias de adaptación de las familias campesinas indígenas de la huasteca hidalguense frente a las dinámicas del desarrollo y economía global”, Doctoral, Benemérita Universidad Autónoma De Puebla, Puebla, México, 2021. Consultado: el 30 de agosto de 2023. [En línea]. Disponible en: <https://ecosistema.buap.mx/ecoBUAP/handle/ecobuap/414>
- [8] E. Navarrete Galindo, “Estrategias de organización frente a la escasez de agua para riego, Temoac, Morelos”, *TLA-MELAUA Revista de ciencias sociales*, núm. 49, Art. núm. 49, mar. 2021, doi: 10.32399/rtla.0.49.989.
- [9] D. Olvera, “Las plantas de agua se quedan sin operar por su alto costo y falta de mantenimiento”, *SinEmbargo MX*, el 27 de agosto de 2022. Consultado: el 28 de

- septiembre de 2023. [En línea]. Disponible en: <https://www.sinembargo.mx/27-08-2022/4236073>
- [10] A. Ayala Martínez, “Empresas acaparan el agua afectando a cientos de campesinos en Puebla”, *LADO B*, Puebla, México, el 26 de octubre de 2020. Consultado: el 28 de septiembre de 2023. [En línea]. Disponible en: <https://www.ladobe.com.mx/2020/10/empresas-acaparan-el-agua-afectando-a-cientos-de-campesinos-en-puebla/>
- [11] SIAP, “Anuario Estadístico de la Producción Agrícola”, Modalidad de riego, maíz en grano, estado de Morelos. [En línea]. Disponible en: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- [12] M. Velázquez Gutiérrez *et al.*, “La construcción social del cambio climático en la Barranca del Amatzinac: amenaza, vulnerabilidad y riesgo desde la perspectiva de género en la región Nororiente de Morelos”. 2015. [En línea]. Disponible en: <https://www.pincc.unam.mx/proyectos-pincc-unam/la-construccion-social-del-cambio-climatico-en-la-barranca-del-amatzinac-amenaza-vulnerabilidad-y-riesgos-desde-la-perspectiva-de-genero-en-la-region-nororiente-de-morelos/>
- [13] R. García Hernández, “El cultivo de maíz por productores de comunidades del municipio de Hueyoxtla y la permanencia de maíces nativos.”, Tesis de maestría, 2023. Consultado: el 1 de septiembre de 2023. [En línea]. Disponible en: <http://colposdigital.colpos.mx:8080/xmlui/handle/10521/5096>
- [14] F. Guevara-Hernández *et al.*, “Maíces locales; una contextualización de identidad tradicional”, *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo*, vol. 51, núm. 1, pp. 369–381, jun. 2019, Consultado: el 1 de septiembre de 2023. [En línea]. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1853-86652019000100026&lng=es&nrm=iso&tlng=en
- [15] J. R. Witcombe, A. Joshi, K. D. Joshi, y B. R. Sthapit, “Farmer participatory crop improvement. I. Varietal selection and breeding methods and their impact on biodiversity”, *Experimental Agriculture*, vol. 32, núm. 4, pp. 445–460, 1996, doi: 10.1017/S0014479700001526.

- [16] A. Joshi y J. R. Witcombe, “Farmer participatory crop improvement. II. Participatory varietal selection, a case study in india”, *Experimental Agriculture*, vol. 32, núm. 4, pp. 461–477, 1996, doi: 10.1017/S0014479700001538.
- [17] J. F. Pierre, “Mejoramiento genético participativo: herramientas para una producción sustentable de maíz criollo (*Zea mays* L.) en Yucatán”, 2021, pp. 262–275. doi: 10.37885/210303595.
- [18] G. I. Cassab, D. Eapen, y M. E. Campos, “Root hydrotropism: An update”, *American Journal of Botany*, vol. 100, núm. 1, pp. 14–24, 2013, doi: 10.3732/ajb.1200306.
- [19] Y. Miyazawa y H. Takahashi, “Molecular mechanisms mediating root hydrotropism: what we have observed since the rediscovery of hydrotropism”, *J Plant Res*, vol. 133, núm. 1, pp. 3–14, ene. 2020, doi: 10.1007/s10265-019-01153-3.
- [20] L. Taiz, E. Zeiger, I. M. Møller, A. Murphy, y others, *Plant physiology and development*, núm. Ed. 6. Sinauer Associates Incorporated, 2015.
- [21] D. Dietrich *et al.*, “Root hydrotropism is controlled via a cortex-specific growth mechanism”, *Nature Plants*, vol. 3, núm. 6, Art. núm. 6, may 2017, doi: 10.1038/nplants.2017.57.
- [22] J. M. Christie y A. S. Murphy, “Shoot phototropism in higher plants: New light through old concepts”, *American Journal of Botany*, vol. 100, núm. 1, pp. 35–46, 2013, doi: 10.3732/ajb.1200340.
- [23] E. Liscum, S. K. Askinosie, D. L. Leuchtman, J. Morrow, K. T. Willenburg, y D. R. Coats, “Phototropism: Growing towards an Understanding of Plant Movement”, *The Plant Cell*, vol. 26, núm. 1, pp. 38–55, ene. 2014, doi: 10.1105/tpc.113.119727.
- [24] L. Ge y R. Chen, “Negative gravitropic response of roots directs auxin flow to control root gravitropism”, *Plant, Cell & Environment*, vol. 42, núm. 8, pp. 2372–2383, 2019, doi: 10.1111/pce.13559.
- [25] S. Guyomarc’h, S. Lérán, M. Auzon-Cape, F. Perrine-Walker, M. Lucas, y L. Laplaze, “Early development and gravitropic response of lateral roots in *Arabidopsis thaliana*”, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 367, núm. 1595, pp. 1509–1516, jun. 2012, doi: 10.1098/rstb.2011.0231.

- [26] M. J. Jaffe, H. Takahashi, y R. L. Biro, “A pea mutant for the study of hydrotropism in roots”, *Science*, vol. 230, núm. 4724, pp. 445–447, 1985, doi: 10.1126/science.230.4724.445.
- [27] H. Takahashi y T. K. Scott, “Hydrotropism and its interaction with gravitropism in maize roots”, *Plant Physiology*, vol. 96, núm. 2, pp. 558–564, 1991, doi: <https://doi.org/10.1104/pp.96.2.558>.
- [28] D. Eapen *et al.*, “A no hydrotropic responseRoot Mutant that Responds Positively to Gravitropism in Arabidopsis1”, *Plant Physiology*, vol. 131, núm. 2, pp. 536–546, feb. 2003, doi: 10.1104/pp.011841.
- [29] A. Kobayashi *et al.*, “A gene essential for hydrotropism in roots”, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 104, núm. 11, pp. 4724–4729, mar. 2007, doi: 10.1073/pnas.0609929104.
- [30] Y. Miyazawa, A. Takahashi, A. Kobayashi, T. Kaneyasu, N. Fujii, y H. Takahashi, “GNOM-Mediated Vesicular Trafficking Plays an Essential Role in Hydrotropism of Arabidopsis Roots”, *Plant Physiology*, vol. 149, núm. 2, pp. 835–840, feb. 2009, doi: 10.1104/pp.108.131003.
- [31] T. Moriwaki, Y. Miyazawa, N. Fujii, y H. Takahashi, “Light and abscisic acid signalling are integrated by MIZ1 gene expression and regulate hydrotropic response in roots of Arabidopsis thaliana”, *Plant, Cell & Environment*, vol. 35, núm. 8, pp. 1359–1368, 2012, doi: 10.1111/j.1365-3040.2012.02493.x.
- [32] T. Steinmann *et al.*, “Coordinated polar localization of auxin efflux carrier PIN1 by GNOM ARF GEF”, *Science*, vol. 286, núm. 5438, pp. 316–318, 1999, doi: <https://doi.org/10.1126/science.286.5438.316>.
- [33] N. Geldner *et al.*, “The Arabidopsis GNOM ARF-GEF Mediates Endosomal Recycling, Auxin Transport, and Auxin-Dependent Plant Growth”, *Cell*, vol. 112, núm. 2, pp. 219–230, ene. 2003, doi: 10.1016/S0092-8674(03)00003-5.
- [34] B. C. Collard y D. J. Mackill, “Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century”, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 363, núm. 1491, pp. 557–572, 2008, doi: <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2170>.

- [35] J. A. Garrido-Cardenas, C. Mesa-Valle, y F. Manzano-Agugliaro, “Trends in plant research using molecular markers”, *Planta*, vol. 247, núm. 3, pp. 543–557, mar. 2018, doi: 10.1007/s00425-017-2829-y.
- [36] B. C. Y. Collard, M. Z. Z. Jahufer, J. B. Brouwer, y E. C. K. Pang, “An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts”, *Euphytica*, vol. 142, núm. 1, pp. 169–196, ene. 2005, doi: 10.1007/s10681-005-1681-5.
- [37] L. Mandal, S. K. Verma, S. Sasmal, y J. Katara, “Potential applications of molecular markers in plant”, *Curr. Trends Biomed. Eng. Biosci*, vol. 12, pp. 85–87, 2018, doi: <http://dx.doi.org/10.19080/CTBEB.2018.12.555844>.
- [38] S. Amiteye, “Basic concepts and methodologies of DNA marker systems in plant molecular breeding”, *Heliyon*, vol. 7, núm. 10, p. e08093, sep. 2021, doi: 10.1016/j.heliyon.2021.e08093.
- [39] P. Ramesh *et al.*, “Advancements in molecular marker technologies and their applications in diversity studies”, *J Biosci*, vol. 45, núm. 1, p. 123, sep. 2020, doi: 10.1007/s12038-020-00089-4.
- [40] R. Bernatzky y S. D. Tanksley, “Toward a saturated linkage map in tomato based on isozymes and random cDNA sequences”, *Genetics*, vol. 112, núm. 4, pp. 887–898, 1986.
- [41] A. Konieczny y F. M. Ausubel, “A procedure for mapping Arabidopsis mutations using co-dominant ecotype-specific PCR-based markers”, *The plant journal*, vol. 4, núm. 2, pp. 403–410, 1993.
- [42] M. Litt y J. A. Luty, “A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene.”, *American journal of human genetics*, vol. 44, núm. 3, p. 397, 1989.
- [43] S. S. Salimath, A. C. de Oliveira, J. L. Bennetzen, y I. D. Godwin, “Assessment of genome origins and genetic diversity in the genus *Eleusine* with DNA markers”, *Genome*, vol. 38, núm. 4, pp. 757–763, 1995.
- [44] P. Vos *et al.*, “AFLP: a new technique for DNA fingerprinting”, *Nucleic acids research*, vol. 23, núm. 21, pp. 4407–4414, 1995.

- [45] J. G. Williams, A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Rafalski, y S. V. Tingey, “DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers”, *Nucleic acids research*, vol. 18, núm. 22, pp. 6531–6535, 1990.
- [46] E. Desmarais, I. Lanneluc, y J. Lagnel, “Direct amplification of length polymorphisms (DALP), or how to get and characterize new genetic markers in many species”, *Nucleic acids research*, vol. 26, núm. 6, pp. 1458–1465, 1998.
- [47] Y. S. Chung, S. C. Choi, T.-H. Jun, y C. Kim, “Genotyping-by-sequencing: a promising tool for plant genetics research and breeding”, *Hortic. Environ. Biotechnol.*, vol. 58, núm. 5, pp. 425–431, oct. 2017, doi: 10.1007/s13580-017-0297-8.
- [48] S. Deschamps, V. Llaca, y G. D. May, “Genotyping-by-Sequencing in Plants”, *Biology*, vol. 1, núm. 3, Art. núm. 3, dic. 2012, doi: 10.3390/biology1030460.
- [49] J. Bocianowski, A. Tomkowiak, M. Bocianowska, y A. Sobiech, “The Use of DArTseq Technology to Identify Markers Related to the Heterosis Effects in Selected Traits in Maize”, *Current Issues in Molecular Biology*, vol. 45, núm. 4, pp. 2644–2660, mar. 2023, doi: 10.3390/cimb45040173.
- [50] A. Kilian *et al.*, “Diversity Arrays Technology: A Generic Genome Profiling Technology on Open Platforms”, en *Data Production and Analysis in Population Genomics: Methods and Protocols*, vol. 888, Springer, 2012, pp. 67–89. doi: 10.1007/978-1-61779-870-2_5.
- [51] C. Sansaloni *et al.*, “Diversity Arrays Technology (DArT) and next-generation sequencing combined: genome-wide, high throughput, highly informative genotyping for molecular breeding of Eucalyptus”, *BMC Proceedings 2011 5:7*, vol. 5, núm. 7, pp. 1–2, sep. 2011, doi: 10.1186/1753-6561-5-S7-P54.
- [52] A. Tomkowiak, J. Bocianowski, J. Spychała, J. Grynia, A. Sobiech, y P. Ł. Kowalczewski, “DArTseq-Based High-Throughput SilicoDArT and SNP Markers Applied for Association Mapping of Genes Related to Maize Morphology”, *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 22, núm. 11, Art. núm. 11, ene. 2021, doi: 10.3390/ijms22115840.
- [53] E. Uffelmann *et al.*, “Genome-wide association studies”, *Nat Rev Methods Primers*, vol. 1, núm. 1, Art. núm. 1, ago. 2021, doi: 10.1038/s43586-021-00056-9.

- [54] D. Eapen, J. Martínez-Guadarrama, O. Hernández-Bruno, L. Flores, J. Nieto-Sotelo, y G. I. Cassab, “Synergy between root hydrotropic response and root biomass in maize (*Zea mays* L.) enhances drought avoidance”, *Plant Science*, vol. 265, pp. 87–99, dic. 2017, doi: 10.1016/J.PLANTSCI.2017.09.016.
- [55] J. J. M. Guadarrama, “Identificación de genes relacionados a la respuesta hidrotópica en maíz mediante estudios de asociación del genoma completo (genome-wide association studies, gwas)”, El autor, 2019. Consultado: el 15 de agosto de 2023. [En línea]. Disponible en: <http://riaa.uaem.mx/xmlui/handle/20.500.12055/750>
- [56] K. Cárdenas, “Instituto de Biotecnología celebra su 40 aniversario”, *El Sol de Cuernavaca*, Cuernavaca, CDMX, el 20 de abril de 2022. Consultado: el 1 de septiembre de 2023. [En línea]. Disponible en: <https://www.elsoldecuernavaca.com.mx/local/instituto-de-biotecnologia-celebra-su-40-aniversario-8168468.html>
- [57] P. M. G. Barbosa *et al.*, “Biochemical characterization and evaluation of invertases produced from *Saccharomyces cerevisiae* CAT-1 and *Rhodotorula mucilaginosa* for the production of fructooligosaccharides”, *Prep Biochem Biotechnol*, vol. 48, núm. 6, pp. 506–513, 2018, doi: 10.1080/10826068.2018.1466155.
- [58] S. Morales Tapia y E. Guzmán, “Caracterización sociocultural de las milpas en dos ejidos del municipio de Tlaquiltenango , Morelos , México”, *Etnobiología*, vol. 13, núm. 2, pp. 94–109, 2015, Consultado: el 29 de septiembre de 2023. [En línea]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5294441>
- [59] A. Mendez-Matias, C. Robles, y L. Hernandez-Cuevas, “Hongos Micorrizógenos Arbusculares Asociados con el Cultivo de Maíz en Regiones con Sequía en Oaxaca”, *Agrociencia*, vol. 55, núm. 1, pp. 19–35, feb. 2021, doi: 10.47163/agrociencia.v55i1.2345.
- [60] A. E. Lipka *et al.*, “GAPIT: genome association and prediction integrated tool”, *Bioinformatics*, vol. 28, núm. 18, pp. 2397–2399, sep. 2012, doi: 10.1093/bioinformatics/bts444.
- [61] Y. Tang *et al.*, “GAPIT Version 2: An Enhanced Integrated Tool for Genomic Association and Prediction”, *The Plant Genome*, vol. 9, núm. 2, p. plantgenome2015.11.0120, 2016, doi: 10.3835/plantgenome2015.11.0120.

- [62] P. J. Bradbury, Z. Zhang, D. E. Kroon, T. M. Casstevens, Y. Ramdoss, y E. S. Buckler, “TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples”, *Bioinformatics*, vol. 23, núm. 19, pp. 2633–2635, oct. 2007, doi: 10.1093/bioinformatics/btm308.
- [63] D. H. Alexander, J. Novembre, y K. Lange, “Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals”, *Genome Res*, vol. 19, núm. 9, pp. 1655–1664, sep. 2009, doi: 10.1101/gr.094052.109.
- [64] P. D. Rabinowicz *et al.*, “Differential methylation of genes and retrotransposons facilitates shotgun sequencing of the maize genome”, *Nat Genet*, vol. 23, núm. 3, Art. núm. 3, nov. 1999, doi: 10.1038/15479.
- [65] Y. Jiao *et al.*, “Improved maize reference genome with single-molecule technologies”, *Nature*, vol. 546, núm. 7659, pp. 524–527, 2017.
- [66] A. T. Marees *et al.*, “A tutorial on conducting genome-wide association studies: Quality control and statistical analysis”, *Int J Methods Psychiatr Res*, vol. 27, núm. 2, p. e1608, feb. 2018, doi: 10.1002/mpr.1608.
- [67] M. M. Alonso-Peral, H. Candela, J. C. del Pozo, A. Martínez-Laborda, M. R. Ponce, y J. L. Micol, “The HVE/CAND1 gene is required for the early patterning of leaf venation in Arabidopsis”, *Development*, vol. 133, núm. 19, pp. 3755–3766, oct. 2006, doi: 10.1242/dev.02554.
- [68] R. Sánchez-Fernández, T. G. Davies, J. O. Coleman, y P. A. Rea, “The Arabidopsis thaliana ABC protein superfamily, a complete inventory”, *J Biol Chem*, vol. 276, núm. 32, pp. 30231–30244, ago. 2001, doi: 10.1074/jbc.M103104200.
- [69] Y. Li-Beisson *et al.*, “Acyl-Lipid Metabolism”, *arbo.j*, vol. 2013, núm. 11, ene. 2013, doi: 10.1199/tab.0161.

1.8. Anexos generales

Código

Código 1. Filtro de calidad en R para regiones cromosómicas sin *loci* identificado.

```
source("scripts/snp2hapmap.R") # Importar función para transformar de CIMMYT a hapmap
hapmap_report <- snp2hapmap(file = snp_report.file[,-6])
hapmap_report <- hapmap_report[grepl("\\d{1,2}_chromosome", hapmap_report$chrom),] # seleccionar todo lo que empiece con número y "_chromosome"
hapmap_report$chrom <- gsub("_chromosome", "", hapmap_report$chrom) # remover "_chromosome"
```

```
e"
hapmap_report$chrom <- as.integer(hapmap_report$chrom) # indicar chrom como numero entero

# Configuración específica para TASSEL 5.0
hapmap_tassel <- hapmap_report
colnames(hapmap_tassel)[c(1,6)] <- c("rs#", "assembly#")
hapmap_tassel$QCcode <- NA
hapmap_tassel <- hapmap_tassel %>% relocate(QCcode, .after = panelSID)
hapmap_tassel <- hapmap_tassel[order(hapmap_tassel$chrom, hapmap_tassel$pos),] # ordenar por cromosoma y luego posición

write.table( # Guardar hapmap como un .txt para leer en TASSEL 5.0
  hapmap_tassel,
  file="data/02_processed/report_snp-dmz119-tassel.hmp.txt",
  sep="\t",
  row.names = FALSE,
  quote=FALSE # no guardar nada como texto, saltar usar comillas en cualquier dato
)
```

Código 2. Función de R para transformar el reporte de secuenciación DArTseq del CIMMYT al formato Hapmap.

```
# ! IMPORTANTE
# Este script está diseñado para ser utilizado en otros análisis
# Favor de implementar la función en el análisis como:
#
# source(snp2hapmap.R)

### SNP2HAPMAP ###
snp2hapmap <- function(file){
  snp.report <- file # Leer la tabla
  snp.report <- snp.report[snp.report$snp!="",] # Eliminar los renglones vacíos

  ## Sustituir
  alleles <- data.frame(
    allele = gsub("\\d+:(\\w)>(\\w)", "\\1", snp.report$snp),
    substitution = gsub("\\d+:(\\w)>(\\w)", "\\2", snp.report$snp)
  )
  alleles$snp <- paste0(alleles$allele, "/", alleles$substitution)

  alleles.results <- cbind(alleles, snp.report[,7:ncol(snp.report)])

  # Sustituir valores numéricos por alelos
  alleles.results[,4:ncol(alleles.results)] <- ifelse( # Sentencia condicional para cambiar valores.
    alleles.results[,4:ncol(alleles.results)] == 1, # homocigotos
    strrep(alleles.results$substitution, 2),
    ifelse(
      alleles.results[,4:ncol(alleles.results)] == 2, # heterocigotos
      paste0(alleles.results$allele, alleles.results$substitution),
      ifelse(
        alleles.results[,4:ncol(alleles.results)] == 0,
        strrep(alleles.results$allele, 2),
        NA
      )
    )
  )
}

alleles.results <- alleles.results[,4:ncol(alleles.results)]
```

```

head(alleles.results)

hapmap <- data.frame(
  rs      = snp.report$id,
  alleles = alleles$snp,
  chrom   = snp.report$chrom,      # Número de cromosoma (si hay Letras hay que quitarlas, o filtrar los contigs)
  pos     = snp.report$chrom_pos, # Posición en cromosoma
  strand  = NA,
  assembly = NA,
  center  = NA,
  protLSID = NA,
  assayLSID = NA,
  panel   = NA,
  QCcode  = NA
)
hapmap <- cbind(hapmap,alleles.results)
return(hapmap)
}

```

Figuras y tablas suplementarias

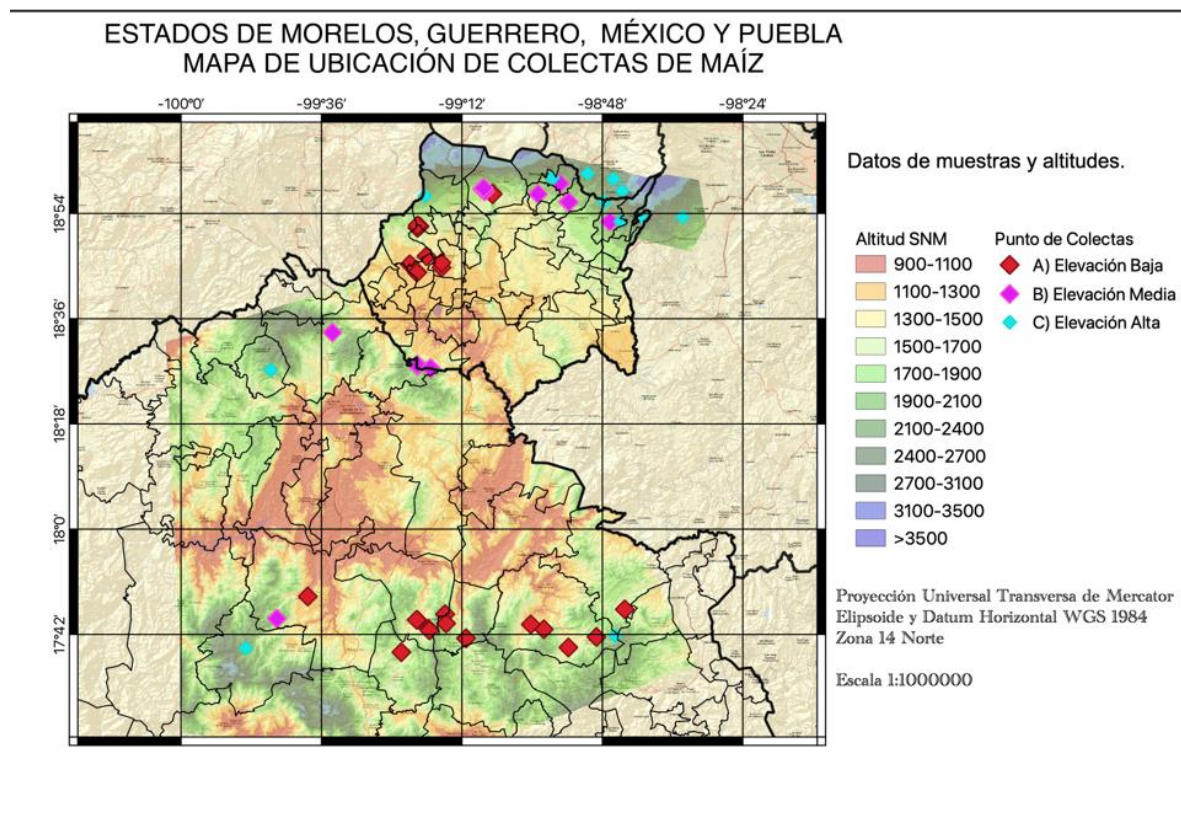


Figura 8. Mapa de accesiones de maíz Ancho en los municipios de Huitzilac y Puente de Ixtla, Mor. Cada punto representa una accesión de la que se tomaron muestras. Se presenta la diferencia de alturas “Baja” (< 1,400 m.s.n.m), “Media” (1,400 – 1,800 m.s.n.m) y “Alta” (> 1,800 m.s.n.m) como curvas de nivel.

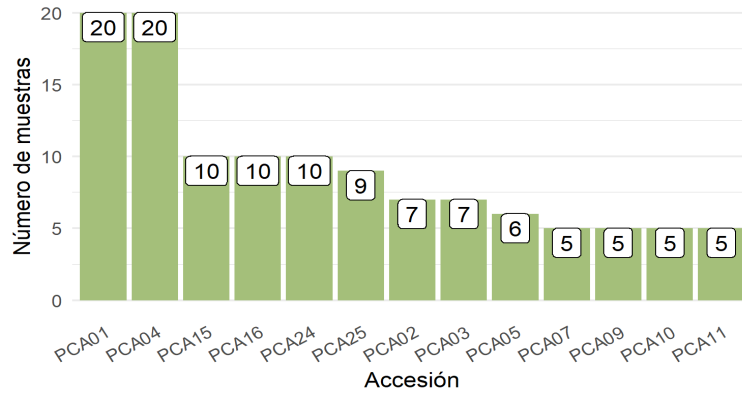


Figura 9. Individuos genotipificados. Hay un total de 119 individuos que fueron secuenciados provenientes de 13 accesiones diferentes de maíz Ancho.

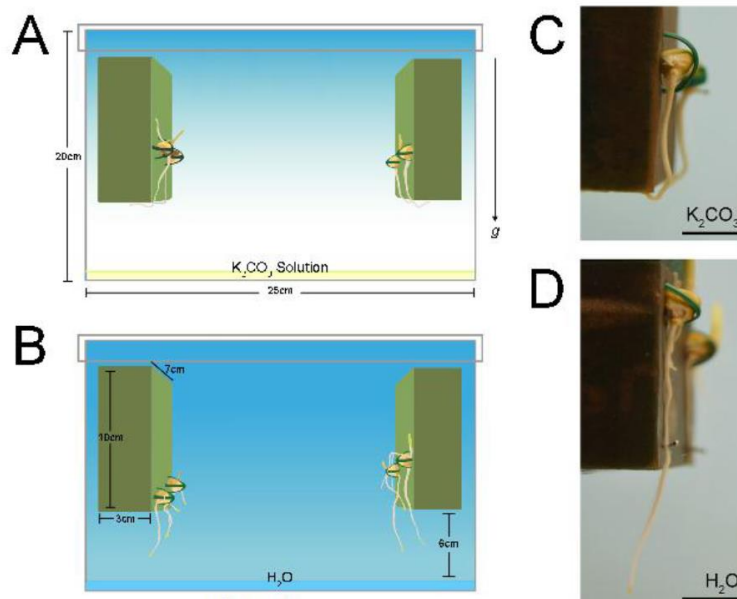


Figura 10. Representación gráfica de la metodología propuesta por Eapen *et al.* [54] para ensayos de respuesta hidrotropica en plántulas de *Zea mays* L. (DTMA). Se utilizó la misma metodología para obtener los datos fenotípicos (ángulo de la raíz) utilizados en este PAP.

2. Productos

Tabla 5. Ficha descriptiva de producto: Conjunto de datos DMz23-119 (input).

Nombre y código del PAP	4G03 Programa de Apoyo a Centros de Investigación Externos II
Nombre del proyecto	Estudio de Asociación de Genoma Completo (GWAS) para la identificación de genes relacionados a la respuesta hidrotópica en maíz Ancho (<i>Zea mays</i> L.) nativo mexicano en el IBt – UNAM
Descripción (qué es, para quién se realizó y para qué es):	Se entregan 2 archivos comprimidos (DMz23-119.tar.gz; DMz23-119.zip) que contienen los archivos crudos necesarios para realizar el protocolo bioinformático. Son 4 tablas separadas por tabulaciones en formato de texto (.txt): fenotipo (completo y secuenciado), y genotipo (CIMMYT y Hapmap).
Autores:	Roberto Olvera Hernández

Tabla 6. Ficha descriptiva de producto: Resultados de minería de genes.

Nombre y código del PAP	4G03 Programa de Apoyo a Centros de Investigación Externos II
Nombre del proyecto	Estudio de Asociación de Genoma Completo (GWAS) para la identificación de genes relacionados a la respuesta hidrotópica en maíz Ancho (<i>Zea mays</i> L.) nativo mexicano en el IBt – UNAM
Descripción (qué es, para quién se realizó y para qué es):	Se entrega una base de datos (Excel y CSV) con las anotaciones de búsqueda para encontrar los genes asociados.
Autores:	Roberto Olvera Hernández

Tabla 7. Ficha descriptiva de producto: Protocolo bioinformático para realización de GWAS.

Nombre y código del PAP	4G03 Programa de Apoyo a Centros de Investigación Externos II
Nombre del proyecto	Estudio de Asociación de Genoma Completo (GWAS) para la identificación de genes relacionados a la respuesta hidrotópica en maíz Ancho (<i>Zea mays</i> L.) nativo mexicano en el IBt – UNAM
Descripción (qué es, para quién se realizó y para qué es):	Se entrega un proyecto de R con el protocolo detallado para realizar el GWAS. Dentro del proyecto se encuentra un notebook (.Rmd) con las instrucciones detalladas para importar los datos, limpiarlos, realizar control de calidad (R y TASSEL 5.0), realizar el GWAS (TASSEL 5.0), y el análisis de datos para los resultados. El notebook puede ser compilado en un formato PDF, en HTML para ver en web, o leer directamente en R (terminal o RStudio).
Autores:	Roberto Olvera Hernández

3. Reflexión crítica y ética de la experiencia

El RPAP tiene también como propósito documentar la reflexión sobre los aprendizajes en sus múltiples dimensiones, las implicaciones éticas y los aportes sociales del proyecto para compartir una comprensión crítica y amplia de las problemáticas en las que se intervino.

3.1 Sensibilización ante las realidades

Estar involucrado, participar activamente y estudiar sobre este proyecto cambió totalmente mi perspectiva acerca de la importancia cultural y social que tiene el maíz en este país. No solamente es un alimento culturalmente valioso para el resto de México, sino que representa si una familia va a poder pagar una cirugía o no, o perder el terreno con el que lo crecen. Por esto, es importante establecer medios de educación tanto para las personas del grupo campesino e indígena, como para los grupos de investigación que pueden perderse en la tecnicidad. Además, los grupos de investigación tienen una responsabilidad como ciudadanía de funcionar como un puente entre el gobierno—u otros medios de financiamiento—y los grupos más vulnerables, presentando estrategias que puedan convencer de que se brinde apoyo necesario tal y como lo es este proyecto.

A pesar de ser un proyecto en el que dediqué el 100% de mi tiempo frente a la computadora, pude comprender las realidades de este sector de la población e interesarme aún más por comprender los problemas que se enfrentan aquí en Jalisco y en el resto del país.

3.2 Aprendizajes logrados

Primeramente, el trabajar en un grupo de investigación me enseñó la importancia del trabajo colaborativo. Comunicarse de forma constante y compartir información entre los miembros de un equipo es parte esencial para entender la importancia de cada una de las actividades, incluso del panorama completo del proyecto; sea en investigación o una empresa. Discutir, presentar soluciones y ofrecer apoyo son los principales factores para crear una colaboración que puede brindar buenos frutos.

También, salgo con un buen sabor de boca al saber que existen grupos de investigación y colectivos dedicados a ofrecer su tiempo y trabajo en colaboraciones con razones sociales.

Una cosa es escribir la importancia social en un artículo y encerrarte en un laboratorio, y otra es salir con las personas, aprender de sus procesos, compartir conocimientos y que cada uno puede llevar esto a sus casas para tener un ganar-ganar. Aprendí que el conocimiento puede generarse en todos lados, la transdisciplinariedad no solamente puede suceder entre las disciplinas de STEM, o STEM y ciencias sociales, sino también con la misma gente que ha acumulado el conocimiento de generaciones.

Finalmente, afortunadamente, tuve la oportunidad de trabajar dentro de una de las instituciones con mayor capital en bioinformática. Curiosamente, la mayoría de mis aprendizajes en este PAP no fueron sobre programación o manejo de la computadora, sino de los complejos mecanismos moleculares y genéticos que dan origen a la diversidad de poblaciones en maíz, todo esto para entender los números que arrojaba el software.

3.3 Inventario de competencias Inicial (ingreso del PAP) e Inventario de competencias Final (salida al PAP).

	Competencia	Evidencia	Relevancia/Fortaleza*	Nuevas competencias
Conocimientos	Ingeniería genética/metabólica	Materia cursada en ITESO	Puedo comprender y explicar a nivel básico los fenómenos evolutivos a nivel molecular que suceden en el genoma del maíz.	Adquirí nuevos conocimientos sobre genética de poblaciones, cómo es que se da origen a la diversidad en una población. A su vez, tuve que comprender a un nivel más profundo la estructura del genoma del maíz.
	Biología vegetal	Materia cursada en ITESO	Puedo comprender y explicar a nivel básico los fenómenos morfo-fisiológicos de las raíces en maíz.	Aprendí sobre los mecanismos moleculares de ubiquitinación y transporte de auxinas para poder comprender la función de los genes asociados, y dar una explicación de cómo podrían estar involucrados en el hidrotropismo.
	Diseño de experimentos	Materia cursada en ITESO	Puedo explicar y validar el diseño experimental utilizado para detectar	Aprendí sobre nuevos modelos estadísticos (Mixed Linear Model, General Linear Model,

			las diferencias fenotípicas por el grupo de trabajo.	PCA, Matrices de Afinidad, árboles filogenéticos) para saber diferenciar y explicar diferencias entre poblaciones.
	Análisis de secuenciación masiva	Curso externo; trabajo como becario.	Conozco la tecnología y métodos de secuenciación masiva de nueva generación, así como el análisis de los datos generados.	Conocí una nueva metodología de secuenciación (DARtseq). Una poderosa herramienta en genómica para identificar cambios puntuales a través de genomas completos.
Habilidades	Programación en R	Autodidacta	Uso de librerías disponibles en el lenguaje R para análisis de datos genómicos.	Aprendí a estructurar un proyecto/protocolo bioinformático en este lenguaje de programación.
			Realizar análisis estadísticos multivariados para	
	Uso de Linux OS	Curso externo	Uso de software de código abierto solo disponible en este sistema operativo para hacer análisis replicables.	
			Crear flujos de trabajo en BASH para el diseño de flujos de trabajo con comandos del OS.	
Gestión de proyectos	Materia en ITESO	Identificar hitos y entregables importantes para el proyecto.	Mejoré en la organización de mis tiempos y a poner fechas límites para no interferir ni atrasar el trabajo del resto del grupo de investigación.	
Actitudes	Honestidad		Tengo la firme actitud de ser honesto en mi enfoque, presentando los resultados tal como son, con el objetivo de entregar conocimiento científico real.	Mejoré en pedir ayuda, cuando algo se me complicaba, no entendía un tema, tuve que ser honesto para que salieran las cosas adelante.
	Diálogo crítico		Estaré dispuesto a escuchar las opiniones de mis asesores y compañeros para entregar un trabajo científico imparcial que respete la generación del conocimiento científico.	Aprendí a recibir críticas directas para mejorar mi desempeño, y del mismo modo, a ser asertivo para corregir problemas que pudieran tener un efecto a futuro.
	Responsabilidad		En caso de que surja algún evento derivado de mi trabajo que afecte al	Igual que en 'Honestidad' tuve que aprender a hacer entregas a tiempo y en el formato

		proyecto, estoy comprometido a asumir la responsabilidad y afrontar las consecuencias de manera directa y consciente.	que la mayoría de las personas pudieran entender.
	Perseverancia	Tengo una actitud de constante aprendizaje. Para asegurarme de comunicar de manera óptima mis acciones y logros, mantendré mi compromiso con la lectura y la adquisición de conocimientos.	

Este PAP fue dedicado a mi abuelo, quien sembró en mi desde pequeño la emoción por descubrir, aprender cosas nuevas, a ser curioso. Contarle sobre esta colaboración fue el último gran logro que le pude presumir.

Un grande y fuerte abrazo hasta el cielo.

“Mientras sigamos vivos, podemos seguir aprendiendo.”

— Roberto Olvera Chávez