



**UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA ECOTEC  
FACULTAD DE INGENIERIAS, ARQUITECTURA Y CIENCIAS DE LA  
NATURALEZA**

**CARRERA DE AGRONOMÍA**

**TRABAJO INVESTIGACIÓN**

**EVALUACIÓN DE VARIEDADES CRIOLLAS (Zea mays L.)  
PARA LA DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DEL GEN  
OPACO-2 MEDIANTE EL USO DE MICROSATÉLITES SSR**

**TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN  
GESTIÓN DE LOS PROCESOS PRODUCTIVOS AGRÍCOLAS**

**AUTOR  
ECHEVERRÍA AGUILAR FRANCIS NICOLLE**

**Samborondón – Ecuador**

**2024**



**UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA ECOTEC  
FACULTAD DE INGENIERIAS, ARQUITECTURA Y  
CIENCIAS DE LA NATURALEZA**

**CARRERA DE AGRONOMÍA**

**EVALUACIÓN DE VARIEDADES CRIOLLAS (Zea mays L.)  
PARA LA DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DEL GEN  
OPACO-2 MEDIANTE EL USO DE MICROSATÉLITES SSR  
TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

Trabajo de titulación presentado como requisito para la obtención del  
título de  
**INGENIERA AGRÓNOMA**

**AUTOR  
ECHEVERRÍA AGUILAR FRANCIS NICOLLE**

**TUTORES:  
CÉSAR ALCÁCER, Ph.D.  
IRIS PERÉZ-ALMEIDA, Ph.D.**

**GUAYAQUIL – ECUADOR**

2024

**ANEXO No. 10**

**PROCESO DE TITULACIÓN  
CERTIFICADO DEL PORCENTAJE DE COINCIDENCIAS  
DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

Habiendo sido revisado el trabajo de titulación TITULADO: **Evaluación de variedades criollas (Zea mays sp.) para la determinación de la presencia del gen Opaco-2 mediante el uso de microsatélites SSR.** elaborado por **FRANCIS NICOLE ECHEVERRIA AGUILAR** fue remitido al sistema de coincidencias en todo su contenido el mismo que presentó un porcentaje del **4%**, mismo que cumple con el valor aceptado para su presentación que es inferior o igual al 10% sobre el total de hojas del documento. Adicional se adjunta captura de pantalla de dicho resultado.



**CERTIFICADO DE ANÁLISIS**  
magister

**ECHEVERRIA AGUILAR FRANCIS NICOLLE**  
**\_TFC\_19DIC2024**

**4%**  
Textos sospechosos

**< 1%** Similitudes  
0% similitudes entre comillas  
0% entre las fuentes mencionadas  
**3%** Idiomas no reconocidos

Nombre del documento: ECHEVERRIA AGUILAR FRANCIS NICOLLE \_TFC\_19DIC2024.pdf  
ID del documento: 8c3c13283b5fcb565f9025992bb657460f6f4e2  
Tamaño del documento original: 2,27 MB  
Autores: []

Depositante: CESAR ALCACER SANTOS  
Fecha de depósito: 17/12/2024  
Tipo de carga: interface  
fecha de fin de análisis: 17/12/2024

Número de palabras: 10.727  
Número de caracteres: 77.035

**ATENTAMENTE,**



Firmado electrónicamente por:  
**CESAR ALCACER SANTOS**

César Alcácer Santos, Ph.D.

18 de diciembre de 2024

**ANEXO No. 12**

**CERTIFICADO DE APROBACIÓN DEL TUTOR PARA LA PRESENTACIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN CON INCORPORACIÓN DE LAS OBSERVACIONES DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL**

Samborondón, 18 de diciembre de 2024

Magíster

**Érika Ascencio Jordán**

**Facultad de Ingenierías, Arquitectura y Ciencias de la Naturaleza**

Universidad Tecnológica ECOTEC

De mis consideraciones:

Por medio de la presente comunico a usted que el trabajo de titulación TITULADO: **Evaluación de variedades criollas (Zea mays sp.) para la determinación de la presencia del gen Opaco-2 mediante el uso de microsatélites SSR.**; fue revisado y se deja constancia que el estudiante acogió e incorporó todas las observaciones realizadas por los miembros del tribunal de sustentación por lo que se autoriza a: **ECHEVERRIA AGUILAR FRANCIS NICOLE**, para que proceda a la presentación del trabajo de titulación para la revisión de los miembros del tribunal de sustentación y posterior sustentación.

**ATENTAMENTE,**



Firmado electrónicamente por:  
**CESAR ALCACER  
SANTOS**

**PhD. César Alcácer Santos**

**Tutor**

## **Dedicatoria**

Dedico este trabajo a mi madre, quien siempre fue mi guía y apoyo incondicional; a mis hermanos, a mis abuelos, y, sobre todo, a mis gatos mis compañeros de vida Emma, Pupi y Guli gracias por su amor incondicional.

## **Agradecimiento**

Agradezco a la Dra Iris quien siempre estuvo detrás mío haciendo esto posible y a la Universidad Ecotec.

## Resumen

Este estudio se centró en identificar el gen opaco-2 (o2) en 24 variedades criollas de maíz, con el fin de mejorar las características nutricionales, especialmente el contenido proteico del grano. Se utilizó un enfoque combinado de análisis morfológico y molecular para caracterizar la presencia de este gen, el cual influye en la textura, opacidad y calidad del endospermo. Se realizaron observaciones de las características morfológicas de las semillas bajo una cámara de luz, evaluando la transparencia del endospermo, la textura, el tamaño y el peso de los granos. Paralelamente, se aplicaron marcadores moleculares microsatélites (phi112, phi057, umc1066) para amplificar regiones específicas del ADN mediante PCR, seguido de la visualización de los productos de amplificación por electroforesis. Los resultados mostraron que algunas variedades presentaron características morfológicas como mayor transparencia y suavidad en el grano, asociadas con la presencia del gen opaco-2, lo que se corroboró con los tamaños del amplicón genético obtenido de los marcadores moleculares. Las variedades con alta transparencia y suavidad en los granos probablemente contienen este gen, mientras que aquellas con mayor opacidad y dureza mostraron una menor presencia de opaco-2. Estos hallazgos tienen implicaciones importantes para la mejora genética del maíz, permitiendo la selección de variedades con mayor valor proteico y mejor calidad nutricional, lo que contribuiría a un mayor aprovechamiento del maíz en la alimentación humana y animal.

**Palabras clave:** Endospermo, Gen opaco-2, maíz criollo, marcadores moleculares, PCR.

### **Abstract**

This study focused on identifying the opaque-2 (o2) gene in 24 landraces of corn, in order to improve nutritional characteristics, especially the protein content of the grain. A combined approach of morphological and molecular analysis was used to characterize the presence of this gene, which influences the texture, opacity and quality of the endosperm. Observations of the morphological characteristics of the seeds were made under a light chamber, evaluating the transparency of the endosperm, the texture, size and weight of the grains. In parallel, microsatellite molecular markers (phi112, phi057, umc1066) were applied to amplify specific regions of DNA by PCR, followed by visualization of the amplification products by electrophoresis. The results showed that some varieties presented morphological characteristics such as greater transparency and softness in the grain, associated with the presence of the opaque-2 gene, which was corroborated with the genetic distances obtained from molecular markers. Varieties with high transparency and softness in the grains probably contained this gene, while those with greater opacity and hardness showed a lower presence of opaque-2. These findings have important implications for the genetic improvement of corn, allowing the selection of varieties with higher protein value and better nutritional quality, which would contribute to greater use of corn in human and animal nutrition.

**Keywords:** Endosperm, Opaque-2 gene, native corn, molecular markers, PCR.



## Tabla de Contenidos

### Contenido

<b>LISTA DE TABLAS</b> .....	7
<b>CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN</b> .....	1
Contexto general del estudio.....	1
Importancia local .....	2
Identificación del problema .....	2
Limitaciones del trabajo.....	3
Justificación y Objetivos.....	3
HIPÓTESIS.....	4
OBJETIVO GENERAL.....	4
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	4
<b>CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO</b> .....	5
Bases teóricas .....	5
Marco teórico fundamental .....	6
Antecedentes de la Genética Agrícola.....	6
Antecedentes del maíz de calidad proteínica.....	7
Genética en el Agro.....	8
Diversidad genética en maíz criollo .....	8
Característica de la semilla de maíz.....	9
Gen Opaco-2 y genética del Maíz criollo .....	10
Seguridad alimentaria y variedades mejoradas. ....	11
Marcadores Moleculares .....	11
Marcadores Moleculares Microsatélites (SSR).....	13
Marco teórico conceptual.....	13
Maíz ( <i>Zea mays</i> L.).....	13
Variedades criollas .....	14
Gen Opaco-2 .....	14
Calidad proteica .....	14
Marcadores moleculares .....	15
Microsatélites (SSR) .....	15
Polimorfismo.....	15
Endospermo.....	16
Genoma.....	16

Marco teórico situacional.....	16
Importancia calidad proteínica del maíz.....	16
Importancia del uso de microsatélites en el maíz .....	17
Marco teórico contextual .....	18
Comportamiento de la producción de maíz en las regiones del Ecuador.....	18
Estado del Arte.....	19
<b>CAPÍTULO 3: MARCO METODOLÓGICO .....</b>	<b>21</b>
<i>Materiales y métodos de objetivos de investigación</i> .....	21
<i>Extracción ADN</i> .....	22
<i>Preparación del ADN para amplificación</i> .....	22
<i>Amplificación por PCR</i> .....	23
<i>Preparación y carga del gel de MetaPhore</i> .....	23
<i>Electroforesis y visualización de los productos de PCR</i> .....	23
<b>CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>25</b>
Introducción a los resultados.....	25
Resultados del objetivo específico 1.....	25
<i>Valoración:</i> .....	25
Preparación de las muestras.....	26
Resultados del objetivo específico 2.....	32
<i>Análisis por marcadores</i> .....	32
Resultados del objetivo específico 3.....	36
<b>CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES .....</b>	<b>38</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>39</b>

**LISTA DE TABLAS**

<b>Tabla 1.</b> Materiales seleccionados	22
<b>Tabla 2.</b> Detalle de resultados	32
<b>Tabla 3.</b> Distancia de variedades	36

**LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 1.</b> Semillas evaluadas en una cámara de luz variedad CARHUAY-RUN	27
<b>Figura 2.</b> Semillas evaluadas en una cámara de luz variedad Blanco Gigante-P	28
<b>Figura 3.</b> Semillas evaluadas en una cámara de luz variedad CARHUAY-P	28
<b>Figura 4.</b> Semillas evaluadas en una cámara de luz Maíz variedad Morado de Pichos	29
<b>Figura 5.</b> Semillas evaluadas en una cámara de luz variedad Cusqueado de Pampas	29
<b>Figura 6.</b> Semillas evaluadas en una cámara de luz variedad Astilla Blanca-C	30
<b>Figura 7.</b> Semillas evaluadas en una cámara de luz variedad Astilla Blanca-DH	30
<b>Figura 8.</b> Semillas evaluadas en una cámara de luz Variedad Choclero INIA-603	31
<b>Figura 9.</b> Semillas evaluadas en una cámara de luz variedad INIA 601	31
<b>Figura 10.</b> Semillas evaluadas en una cámara de luz variedad INIAP 543-QPM	32
<b>Figura 11.</b> Grado de diferencia genética	34
<b>Figura 12.</b> Grado de diferencia genética UMC1066	35
<b>Figura 13.</b> Grado de diferencia genética PHI112	36
<b>Figura 14.</b> Grado de diferencia genética PHI057	37

## CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN

### Contexto general del estudio

El maíz es uno de los tres cereales principales consumidos en el mundo para la obtención de proteínas y energía. Sirve como alimento para seres humanos y animales, desempeñando un papel importante dentro de la industria de los cereales y de la economía mundial a pesar de su bajo contenido proteico (Vasal, 2000).

Se conoce que a pesar de ser un cultivo de bajo contenido proteico es la base alimentaria en algunos continentes como Asia, África, América Central y del Sur; la poca ingesta de aminoácidos desencadena desnutrición severa entre otros padecimientos, es por esto que es necesario mejorar la calidad nutricional del maíz (Vasal, 2000).

Las proteínas de buena calidad se encuentran en el germen, aunque esté conforma únicamente el 20% del grano maduro; las proteínas de baja calidad las encontramos en el endospermo y conforman el 80%, se debe trabajar para mejorar la calidad de proteína del endospermo (Singh, 2023).

Según Singh et al. (2023) de las proteínas que constituyen el grano del maíz las principales son las zeínas y las gluteninas, mientras que las que están en menor proporción son las albúminas y las globulinas. Las zeínas son las encargadas de formar estructuras proteicas en el endospermo, éstas no contienen lisina y triptófano, dos aminoácidos esenciales para la nutrición humana. Sin embargo en Estados Unidos (1920) se encontró una variedad mutante natural de maíz que contenía un gen que se conoce como *Opaco-2* rico en lisina y triptófano (Singh, 2023).

El descubrimiento de variedades de maíz con alto contenido nutricional genera un impacto significativo en la seguridad alimentaria de ciertas comunidades susceptibles que requieren mayor contenido proteico en su alimentación diaria (Vasal, 2000). El gen *Opaco-2* se identifica por diferencias en su secuencia; existen al menos 3 marcadores moleculares microsatélites capaces de identificar QPM (*o-2*); *umc1066*, *phi057* y *phi112*. (Singh, 2023).

## **Importancia local**

En el Ecuador el maíz es un alimento de alto consumo en zonas rurales, por su bajo contenido proteico puede desencadenar desnutrición a los consumidores si es el alimento prevalente. Es necesario incrementar variedades de maíz criollo que contengan el gen Opaco-2 para así elevar los niveles de ingesta de proteína en la población.

## **Identificación del problema**

El maíz es un cereal consumido en todo el mundo siendo un alimento clave en las áreas menos desarrolladas como Asia, África, América central y del Sur, donde constituye la base de la pirámide alimentaria. Se conoce que la proporción de fracciones del endospermo del maíz original consiste en albúminas 3%, globulinas 3%, zeínas 60% y para la glutenina 34%. Todas las fracciones menos las zeínas son equilibradas y ricas en lisina y triptófano, la baja calidad proteica del maíz se debe a las zeínas, las cuales se deben reducir para que así las demás fracciones puedan elevarse (Singh et al 2023).

El maíz al ser bajo tan bajo en proteínas, causa de problemas severos de desnutrición y desarrollo de patologías en poblaciones vulnerables, sin lugar a dudas el maíz es un cultivo que requiere de mejoramiento genético (Vasal 2000).

En variedades mejoradas QPM (Quality Protein Maize) se ha comprobado la presencia de mayor contenido proteico especialmente de dos aminoácidos esenciales que son la lisina y el triptófano, este tipo de proteínas son necesarias para la síntesis de proteínas en los seres humanos ya que somos incapaces de producirlas, la única manera de obtenerlas es a través de ciertos alimentos (Singh et al 2023).

Se pueden lograr mejoras genéticas en variedades de maíz criollo a corto plazo utilizando herramientas como marcadores moleculares microsatélites, a través de pruebas PCR. Los marcadores moleculares microsatélites SSR (umc1066, phi112, y phi057) permiten identificar la presencia del gen opaco-2 (o2) en variedades criollas de maíz, determinando aquellas variedades aptas ser cultivadas, más ricas en proteínas. Este estudio nos permitirá obtener resultados de forma eficiente (Singh et al. 2023)

## **Limitaciones del trabajo**

Este problema aún no se ha solucionado ya que requiere de tecnología avanzada, la falta de recursos financieros para este tipo de investigación impide alcanzar los objetivos correspondientes.

## **Justificación y Objetivos**

Este trabajo de investigación contribuye a uno de los objetivos de desarrollo sostenible, hambre cero (2) al analizar variedades de maíz que podrían mejorar la seguridad alimentaria y nutricional, tiene un aporte social, ya que a través del mejoramiento genético se espera una mejora de la nutrición en ciertas comunidades, además tiene un aporte metodológico e impacto económico gracias a la optimización del proceso.

En el Ecuador el maíz es un cultivo que habita gran parte de la superficie de terreno, en el 2021 se cultivaron 355 mil ha con una producción que alcanzó los 1.38 millones de toneladas, en la sierra se produce maíz de grano suave o también conocido como harinoso con un rendimiento de aproximadamente 0,82 t ha<sup>-1</sup> mientras que en la costa y amazonia se producen híbridos de maíz amarillo duro que rinden aproximadamente 4,64 t ha<sup>-1</sup> (Zambrano & Caviedes, 2022).

Los mutantes de maíz opaco-2 (O2) desarrollan un papel crucial para la mejora genética de la calidad de proteína del maíz, se ha comprobado la calidad nutricional de los materiales QPM, estas variedades pueden influir en la mejora de la alimentación humana, la seguridad alimentaria y además disminuir relativamente la desnutrición sobre todo en las áreas más susceptibles. A través de análisis con marcadores moleculares se puede comprobar la presencia o ausencia del gen O2, es decir, se pueden diferenciar las variedades de maíz QPM de las que no lo son; hay tres marcadores moleculares microsátélites que son capaces de segregar el gen Opaco-2; umc1066 y phi057 que son codominantes y phi112 que es dominante, esta herramienta es eficaz y nos sirve para hacer modificaciones genéticas (Singh et al 2023).

## **HIPÓTESIS**

La evaluación de variedades criollas de maíz utilizando microsatélites SSR permite identificar la presencia del gen Opaco-2 en estas variedades, así como en qué medida la diversidad genética influye en la expresión de este gen.

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar variedades criollas (*Zea mays* L.) para la determinación de la presencia del gen Opaco-2 mediante el uso de microsatélites SSR.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Examinar 10 variedades de maíz criollo utilizando un marcador morfológico para identificar aquellos materiales en función del nivel de vitrosidad de su endospermo.
2. Caracterizar 24 variedades criollas de maíz mediante los marcadores moleculares microsatélites phi057, umc1066 y phi112, con el fin de identificar materiales que contengan el gen opaco-2 (o2/o2).
3. Correlacionar el contenido proteico de las variedades con la presencia del gen Opaco-2



## CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO

### Bases teóricas

Teoría de la Herencia Mendeliana formulada por Gregor Mendel, esta teoría establece que los rasgos heredados se transmiten a través de unidades discretas llamadas alelos. Mendel identificó principios como la segregación y la independencia de los caracteres, que son fundamentales para comprender cómo se heredan rasgos específicos, como el contenido de aminoácidos influenciado por el gen Opaco-2 en el maíz. Esta teoría es clave para la mejora genética, ya que permite predecir la manifestación de ciertos rasgos en la descendencia a partir de las combinaciones genéticas de los progenitores (Monforte, 2020)

La Teoría de la Variabilidad Genética enfatiza la importancia de la diversidad genética dentro de las poblaciones para su adaptación y supervivencia. En el contexto del maíz, una alta variabilidad genética es crucial para desarrollar variedades que puedan resistir plagas, enfermedades y condiciones ambientales adversas. La teoría sostiene que la diversidad genética contribuye a la resiliencia de las plantas y es esencial para la producción agrícola sostenible y la seguridad alimentaria (Rangel, 2021)

Teoría de la Adaptación desarrollada por Charles Darwin, esta teoría explica cómo las especies evolucionan y se adaptan a sus entornos a lo largo del tiempo. Las variedades criollas de maíz han sido seleccionadas por los agricultores durante generaciones, lo que ha permitido que se adapten a condiciones locales específicas, como el clima y el tipo de suelo. La expresión del gen Opaco-2 puede ejemplificar cómo estas adaptaciones genéticas influyen en la calidad del grano y en la capacidad de las variedades para satisfacer las necesidades nutricionales de las comunidades locales (J Hesse, 2024).

Teoría del Genotipo-Fenotipo postula que las características observables (fenotipo) de un organismo son el resultado de la interacción entre su composición genética (genotipo) y las condiciones ambientales. En el caso del maíz, la presencia del gen Opaco-2 puede influir en el fenotipo de las variedades criollas, afectando aspectos como el contenido de lisina y

triptófano. Esta interacción es crucial para entender cómo la genética y el entorno contribuyen a la calidad del grano (Rival, 2013)

Teoría de la Conservación de Recursos Genéticos destaca la importancia de conservar la diversidad genética de las especies cultivadas para garantizar la seguridad alimentaria a largo plazo. La preservación de variedades criollas de maíz es esencial, ya que contienen recursos genéticos únicos que pueden ser utilizados en programas de mejora genética. La conservación de la diversidad genética beneficia a los agricultores y asegura que las futuras generaciones tengan acceso a cultivos resilientes y adaptables a cambios ambientales (Bonet de Viola, 2020).

## **Marco teórico fundamental**

### **Antecedentes de la Genética Agrícola**

La historia de la genética, que comenzó formalmente en 1900 con el redescubrimiento de las leyes de Mendel, ha tenido un impacto significativo en la agricultura. A lo largo del siglo veinte, el desarrollo de esta ciencia se puede dividir en tres etapas: la época clásica, la intermedia y la contemporánea. Cada una de estas fases trajo consigo avances que permitieron una comprensión más profunda de la herencia y la variabilidad genética, lo que a su vez impulsó el progreso de la biotecnología en la agronomía y el mejoramiento de cultivos.

Los científicos latinoamericanos, influenciados por teorías de Europa y Estados Unidos, desempeñaron un papel crucial en el desarrollo de la genética. Desde 1925 algunos investigadores comenzaron a aplicar estos principios al mejoramiento de plantas y animales, integrando la genética en los programas universitarios de biología y agronomía. Pioneros como F. Saez y N. Horowitz se destacaron en la citogenética, mientras que otros exploraron temas relacionados con la evolución y la herencia en cultivos y ganado.

A lo largo del siglo, las interacciones con destacados científicos internacionales y el apoyo de organizaciones globales contribuyeron al crecimiento de la genética en la región. La fundación de la Asociación Latinoamericana de Genética en 1969 facilitó la colaboración y el intercambio de conocimientos, fortaleciendo así la comunidad científica latinoamericana.

El desarrollo de la genética ha sido fundamental para la agricultura, ya que ha permitido la creación de variedades de cultivos más resistentes y productivas, así como el mejoramiento genético de animales de granja. Estos avances han optimizado la producción agrícola impactando de manera significativa en la seguridad alimentaria y el desarrollo sostenible en América Latina. En este sentido, la genética se ha consolidado como una ciencia esencial en biología y medicina funcionando como una herramienta clave para el progreso agrícola y la mejora de la calidad de vida en la región (Copelli, 2023).

### **Antecedentes del maíz de calidad proteínica**

El maíz de calidad proteínica (QPM) tiene sus orígenes en el mutante conocido como “Opaco 2”, descubierto en 1963 en la Universidad de Purdue, Estados Unidos, a partir de semillas de maíz procedentes de Perú. Las primeras variedades desarrolladas a partir de este mutante contenían la misma cantidad total de proteína que el maíz convencional, pero con el doble de los aminoácidos esenciales, como la lisina y el triptófano. Sin embargo, presentaban desventajas significativas. El endospermo de estas semillas tenía una textura harinosa, lo que reducía tanto el peso de los granos como el rendimiento en el campo, además, los granos eran vulnerables a ataques de plagas, lo que llevó a la suspensión de las investigaciones sobre el maíz Opaco 2 en 1975 en varios países.

No obstante, dos investigadores, Surinder Vasal y Evangelina Villegas, continuaron con sus esfuerzos para mejorar el maíz de calidad proteínica, y a principios de la década de 1980 lograron desarrollar una nueva variante que conservaba una textura normal en el endospermo pero mantenía una alta calidad proteica. Este avance dio lugar al maíz de calidad proteínica tal como se conoce hoy en día. Los logros de Vasal y Villegas fueron reconocidos internacionalmente en el año 2000, cuando recibieron el Premio Mundial de Alimentación por sus contribuciones al mejoramiento de la calidad nutricional del maíz.

En la actualidad, existen numerosas variedades e híbridos de maíz de calidad proteínica, y su uso se ha promovido en varios países. El Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) ha desempeñado un papel crucial en la difusión de

estas variedades, el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP) ha realizado investigaciones que han permitido evaluar y seleccionar los mejores híbridos y variedades de QPM.

### **Genética en el Agro**

La genética es la disciplina que investiga la transmisión de rasgos o características hereditarias de una generación a la siguiente, es decir, de los progenitores a su descendencia. Tanto la genética vegetal como la animal no solo se centran en la información genética de un individuo, conocida como genotipo, sino que también tienen en cuenta el ambiente en el que estos organismos se desarrollan y crecen. Por esta razón, el fenotipo resulta ser el producto de la interacción entre un genotipo y un ambiente específico ( $F=G+A$ ). Ambos elementos interactúan de manera constante. Los programas de mejoramiento genético toman en consideración estas interacciones para seleccionar características productivas superiores, como una variedad de trigo más resistente a enfermedades fúngicas o la mejora de la calidad de la carne en una raza bovina.

No obstante, al seleccionar genes de interés para la producción, otros genes quedan excluidos del proceso. Sin embargo, estos genes no se pierden, ya que permanecen en las especies silvestres. Por esta razón, es fundamental conservar la variabilidad genética presente en los recursos vegetales, ya que esta diversidad es esencial para los futuros avances en la agricultura (Tocho, Tacaliti T, & Moreno Kiernan, 2021).

### **Diversidad genética en maíz criollo**

El maíz es un cereal de gran importancia que fue domesticado y valorado por las culturas prehispánicas, desempeñando un papel central en la alimentación y cultura de Centroamérica. Se considera un elemento estratégico para la soberanía y seguridad alimentaria, especialmente en el ámbito rural. En América Latina, los agricultores continúan cultivando variedades criollas de maíz, un término que utilizan para distinguir las especies nativas o adaptadas a las condiciones agroecológicas locales de aquellas obtenidas a través

de programas de mejoramiento genético. Esta diversidad maicera está vinculada a la persistencia cultural y a los sistemas de cultivo tradicionales de los agricultores.

Ecuador destaca por su gran diversidad genética de maíz, con 36 razas reconocidas, aunque algunas de ellas no están bien definidas. En la provincia de Manabí, en el cantón Jipijapa, se encuentran diversos cultivares de maíz criollo que aún no han sido caracterizados, cultivados por agricultores en pequeñas áreas. La producción de maíz criollo en esta región está relacionada con las condiciones sociales y económicas de los campesinos, y su uso se destina principalmente a la alimentación familiar, a través de la elaboración de platos típicos.

En Ecuador, existen diversas variedades de maíz criollo que se destacan por sus múltiples formas, colores, sabores y usos, así como por su importancia cultural. Estas variedades son esenciales para la subsistencia de las comunidades rurales, ya que los campesinos que cultivan maíz tradicional contribuyen a la conservación de la diversidad del maíz nativo y sustentan la soberanía alimentaria. Se han identificado 29 razas de maíz en el país, de las cuales 17 provienen de la Sierra, considerada la región con mayor riqueza genética en este cultivo, mientras que las 12 restantes son de zonas tropicales. Ecuador aporta el 18% de las colecciones de maíz al Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, posicionándose como el tercer país con mayor diversidad de maíz (Fuentes Figueroa & Parrales Quimis , 2022).

### **Característica de la semilla de maíz**

La semilla de maíz representa el insumo que los agricultores cultivan que contiene el potencial genético necesario para lograr una producción agrícola más eficiente. Las semillas de variedades mejoradas pueden generar cambios significativos que contribuyen al cumplimiento de los objetivos productivos. El desarrollo de los granos de maíz ocurre a través de la acumulación de productos de fotosíntesis y la absorción de nutrientes mediante las raíces, culminando en la formación de la inflorescencia femenina, conocida como espiga, que

puede contener entre 544 y 3444 granos, dependiendo del número de hileras y de las dimensiones de la mazorca.

Botánicamente, cada grano de maíz se denomina cariósipide e incluye la cubierta seminal y el embrión. Este grano se compone de cuatro estructuras esenciales: el pericarpio, el endospermo, el germen o embrión y la piloriza. Estudios han analizado la anatomía del maíz opaco-2, mostrando que su endospermo difiere del maíz convencional al presentar una matriz proteica más delgada y cuerpos proteicos de menor tamaño, resultado de la restricción en la síntesis de zeína.

El desarrollo de la semilla se divide en varias etapas, desde la histo-diferenciación hasta el llenado del grano y la madurez. La calidad óptima de la semilla, en términos de germinación y vigor, se asocia tradicionalmente con el peso seco máximo, que indica el final del transporte de nutrientes desde la planta madre. La interrupción de este transporte señala el inicio de la fase final de desarrollo, durante la cual la semilla comienza a perder agua al secarse.

El cultivo de maíz presenta una notable diversidad en el tamaño, forma y composición de las semillas, influenciadas por factores genéticos y ambientales. Estas variaciones pueden afectar tanto la germinación como el crecimiento de las plántulas, sugiriendo que la selección de semillas de un tamaño específico podría mejorar la tolerancia al estrés, ya sea durante la germinación o en los primeros días de crecimiento. Además, la ubicación de la semilla dentro de la mazorca influye en su tamaño y forma, ya que los granos compiten por los recursos fotosintéticos disponibles, lo que resulta en semillas de distintas características según su posición en la mazorca.

### **Gen Opaco-2 y genética del Maíz criollo**

El gen opaco-2 fue descubierto por Singleton y Cones en 1975 en la estación experimental de Connecticut, aunque en ese momento no se reconoció su valor nutritivo. Más tarde, en la década de 1980, estudiantes de bioquímica de la Universidad de Purdue,

liderados por Jon Bates, identificaron que algunas muestras de maíz mostraban niveles anormalmente altos de lisina, lo que se atribuyó al gen mutante opaco-2.

La presencia del gen opaco-2 en su forma recesiva interfiere con la producción de la proteína zeína, lo que mejora el balance proteico del maíz y aumenta los niveles de aminoácidos esenciales como la lisina y el triptófano. Investigaciones posteriores confirmaron que este gen tiene un efecto positivo en la calidad de la proteína en el endospermo del maíz, superando al maíz normal en términos de contenido proteico.

El desarrollo de variedades de maíz con alto contenido de aminoácidos esenciales presenta nuevas oportunidades para abordar la deficiencia proteica que afecta a las familias de bajos ingresos en países en vías de desarrollo, contribuyendo así a mejorar la seguridad alimentaria y la nutrición en estas comunidades. (Vasal, 2000).

### **Seguridad alimentaria y variedades mejoradas.**

Se conoce que los cereales tienen un bajo porcentaje de proteínas el consumo habitual de estos cereales puede desencadenar deficiencia de vitaminas, desnutrición, enfermedades de alto riesgo como la pelagra, tuberculosis y problemas gastrointestinales (Nuss & Tanumihardjo, 2011, como se citó en Hernández-Rodríguez, 2022). América latina es el centro de origen del maíz estas razas tienen rasgos deseables que han sido utilizados a lo largo del tiempo para su crianza, un cereal genéticamente diverso, ampliamente consumido en el mundo entero y de gran importancia socioeconómica, es de extrema necesidad garantizar la seguridad alimentaria de los consumidores aplicando mejoras genéticas para que se conserve la diversidad genética del maíz, poder producir variedades más fuertes, más resistentes, capaces de afrontar ciertas adversidades con respecto al cambio climático y con mayor valor nutricional (Guzzon, 2021).

### **Marcadores Moleculares**

La información genética de un individuo está determinada por su genotipo, el cual abarca toda su información genética o una porción de ella. Cada locus relacionado con la expresión del fenotipo contiene un conjunto de genes, tanto en las regiones codificantes como

no codificantes del ADN. Los marcadores genéticos, que son indicadores de diferencias genéticas entre individuos o especies, suelen estar localizados cerca de los genes de interés y actúan como señales o "marcas", aunque no suelen afectar directamente el fenotipo de la característica estudiada. En general, estos marcadores no representan genes funcionales específicos, pero se encuentran vinculados a los genes que controlan la característica de interés.

Inicialmente, los marcadores genéticos se emplearon en el mapeo genético para identificar el orden de los genes a lo largo de los cromosomas. Sturtevant (1913) fue pionero al desarrollar el primer mapa genético, utilizando caracteres morfológicos ligados al sexo en *Drosophila melanogaster*, y más tarde, Sax (1923) demostró el ligamiento genético entre caracteres cualitativos en frijoles. Desde entonces, se reconocieron los beneficios de los marcadores genéticos en programas de mejoramiento, aunque su uso fue limitado por la falta de suficientes marcadores.

La introducción de los marcadores genéticos basados en ADN en la década de 1970 revolucionó la investigación, permitiendo por primera vez la identificación de numerosos marcadores en el genoma de especies como el tomate. En la actualidad, los marcadores genéticos se utilizan en diversas áreas, como la investigación básica en genética vegetal, el mejoramiento de cultivos, la conservación genética, la identificación de genes, la introgresión de alelos favorables y la protección de variedades comerciales. Los marcadores se localizan en uno o varios loci y son esenciales para estudiar los genomas de diferentes especies. Existen tres tipos principales de marcadores: morfológicos, bioquímicos y moleculares.

Los marcadores morfológicos son caracteres fenotípicos controlados generalmente por un único locus, pero su uso es limitado, ya que pueden ser enmascarados por efectos epistáticos o pleiotrópicos. Los marcadores bioquímicos, como las isoenzimas, permiten identificar variaciones a nivel de la secuencia génica, aunque su utilidad también está limitada debido a modificaciones transcripcionales en las proteínas.

Por otro lado, los marcadores moleculares son los más utilizados en el análisis del germoplasma vegetal, ya que pueden detectar variaciones en el ADN generadas por



mutaciones, inserciones, deleciones o errores de replicación. Estos marcadores se encuentran principalmente en regiones no codificantes del ADN, lo que los hace selectivamente neutros. Dentro de los marcadores moleculares, existen varios tipos, como los marcadores directos, que están relacionados con mutaciones funcionales, y los marcadores en desequilibrio de ligamiento (DL) o en equilibrio de ligamiento (EL).

Los marcadores moleculares son útiles en programas de selección, y su aplicación depende de su capacidad para detectar variaciones en los genes de interés, con técnicas como la selección asistida por genes (SAG), selección asistida por marcadores DL (SAM-DL) y selección asistida por marcadores EL (SAM-EL). La elección del marcador adecuado depende de su facilidad de detección y la naturaleza de la relación entre el marcador y los caracteres fenotípicos en las poblaciones estudiadas.

### **Marcadores Moleculares Microsatélites (SSR).**

Los marcadores moleculares microsatélites también son conocidos como Simple Sequence Repeats son herramientas que se utilizan en mejoramiento genético ya que son capaces de detectar ciertas características en las plantas como en este caso la presencia o ausencia del gen Opaco-2, son codominantes es decir tienen la capacidad de reconocer alelos homocigotos y heterocigotos, son secuencias cortas de ADN que se conforman con 1 a 6 nucleótidos distribuidos a largo del genoma de un organismo, además tienen un grado alto de polimorfismo lo que hace que sea útil para mejora genética. Los marcadores que secuencian este gen O2 son; umc1066 phi057 y phi112 (Singh, 2023).

### **Marco teórico conceptual**

#### **Maíz (*Zea mays* L.)**

El maíz es una planta de la familia Poaceae, considerada uno de los cultivos más importantes a nivel mundial, tanto por su relevancia en la alimentación humana como animal. Es la base de diversas industrias, desde la alimentación hasta la producción de biocombustibles. Existen diferentes tipos de maíz, incluidos los maíces de grano blanco,

amarillo, azul y rojo, y una amplia diversidad genética, especialmente en variedades criollas que han sido adaptadas a condiciones locales específicas (Carrasco, 2023).

### **Variedades criollas**

Las variedades criollas de maíz son aquellas que han sido cultivadas y seleccionadas por generaciones de agricultores locales para adaptarse a las condiciones específicas de un área geográfica. Estas variedades tienen características únicas como resistencia a plagas locales, mayor tolerancia a sequías o suelos empobrecidos, y la preservación de rasgos fenotípicos como el tamaño del grano o el color del endospermo. Las variedades criollas también son muy valoradas por su diversidad genética, que es fundamental para mantener la variabilidad dentro de una especie (Fuentes, 2022).

### **Gen Opaco-2**

El gen Opaco-2 es una mutación genética en el maíz que se identifica por su efecto en la calidad proteica del grano. Se descubrió en la década de 1960 y fue considerado un avance porque incrementa significativamente los niveles de aminoácidos esenciales como la lisina y triptófano, que son limitantes en el maíz tradicional, inicialmente las semillas con Opaco-2 tenían un endospermo harinoso, lo que afectaba su rendimiento y su resistencia a plagas, con el tiempo, se han desarrollado variedades con Opaco-2 y características mejoradas, permitiendo el aumento de la calidad proteica sin afectar negativamente el rendimiento del grano (Bertola, 2021).

### **Calidad proteica**

La calidad proteica del maíz se refiere a la cantidad y calidad de los aminoácidos esenciales que contiene el grano. El maíz es una fuente importante de proteína, pero su contenido de aminoácidos esenciales, particularmente lisina y triptófano, es deficiente. El gen Opaco-2 mejora esta calidad proteica, haciendo que el maíz sea una mejor fuente de proteínas para el consumo humano y animal. Este avance tiene un gran impacto en la nutrición, especialmente en áreas donde las proteínas de alta calidad son limitadas en la dieta (Chan, 2021).

## **Marcadores moleculares**

Los marcadores moleculares son secuencias de ADN que se utilizan para identificar variaciones genéticas específicas en los organismos. A diferencia de los métodos tradicionales basados en características fenotípicas (como el color del grano), los marcadores moleculares permiten detectar variaciones genéticas de forma directa y precisa, independientemente de la expresión externa de las características. Los microsatélites, como los SSR, son uno de los tipos más utilizados de marcadores moleculares en genética vegetal, ya que son fáciles de identificar y se encuentran en diversas partes del genoma (Villegas, 2021).

### **Microsatélites (SSR)**

Los microsatélites o SSR (Simple Sequence Repeats) son secuencias cortas de ADN que se repiten varias veces de manera consecutiva. Estas secuencias son altamente variables entre individuos, lo que las convierte en excelentes marcadores para estudios de diversidad genética, mapeo genético y selección asistida por marcadores (MAS). Los microsatélites SSR son especialmente útiles en la evaluación de la presencia de genes específicos, como el Opaco-2, ya que se localizan cerca de los genes de interés y pueden servir para determinar si una variedad de maíz posee o no dicho gen (Alarcón, 2021).

### **Polimorfismo**

El polimorfismo se refiere a la presencia de variabilidad genética dentro de una población o especie. Esta variabilidad puede manifestarse en diferentes formas, como variaciones en la secuencia de ADN, el tamaño de las proteínas o el comportamiento fenotípico. En el caso de los microsatélites, el polimorfismo se detecta en la variabilidad en el número de repeticiones de las secuencias, lo que puede ser utilizado para diferenciar entre individuos y poblaciones. Este fenómeno es clave para el estudio de la biodiversidad genética y la identificación de variantes genéticas de interés (Duque, 2023).

## **Endospermo**

El endospermo es una parte del grano de maíz que contiene almidón, proteínas y otros nutrientes. Es la principal fuente de energía en la semilla. En el caso de los maíces con Opaco-2, el endospermo tiene una textura harinosa, lo que inicialmente afectaba el rendimiento y la resistencia a plagas. Con el mejoramiento genético, se han desarrollado variedades con un endospermo de textura más firme que conserva las ventajas nutricionales del Opaco-2 sin comprometer el rendimiento (Villena, 2024).

## **Genoma**

El genoma es el conjunto completo de material genético de un organismo, que incluye todos los genes y las secuencias no codificantes que participan en la regulación de la expresión genética. En el caso del maíz, el genoma contiene la información necesaria para la producción de todas las características fenotípicas, incluidas las relacionadas con la calidad proteica, la resistencia a plagas y otras características agronómicas (Alvarez, 2021).

## **Marco teórico situacional**

### **Importancia calidad proteínica del maíz**

La calidad proteínica del maíz resalta como un cultivo agrícola fundamental en muchas regiones del mundo, especialmente en áreas donde es un pilar de la dieta básica. Cada año, se siembran grandes extensiones de este grano, y su producción representa una parte significativa del total de granos cultivados, lo que lo convierte en un alimento esencial. El maíz es una fuente primaria de calorías y proteínas en muchas poblaciones, proporcionando un alto porcentaje de la energía y la proteína necesarias para el sustento diario. Sin embargo, la proteína presente en el maíz convencional tiene deficiencias importantes en aminoácidos esenciales como la lisina y el triptófano, lo que limita su valor nutricional completo, tanto para los seres humanos como para los animales.

Este déficit en aminoácidos esenciales se convierte en un problema grave en contextos de desnutrición, particularmente en poblaciones vulnerables como niños, madres lactantes, ancianos y personas de escasos recursos. A pesar de la gran cantidad de maíz

producido, las deficiencias nutricionales en algunas áreas no pueden ser completamente cubiertas por su consumo, lo que subraya la necesidad de mejorar la calidad del grano.

Una de las soluciones más prometedoras es el desarrollo de maíces de calidad proteínica (QPM, por sus siglas en inglés), una variante que ha sido modificada para aumentar significativamente los niveles de lisina y triptófano, acercándose a la calidad proteica de la leche, según diversos estudios. Estos maíces ofrecen un mejor perfil nutricional para el consumo humano, con un mejor aprovechamiento en la alimentación animal.

La adopción de maíces de calidad proteínica podría ser un avance crucial para mejorar los niveles nutricionales de la población, especialmente en zonas rurales. La implementación de estos maíces en la dieta de las comunidades vulnerables permitiría una mejora sustancial en la salud pública, al cubrir las carencias de aminoácidos esenciales y, por ende, reducir la desnutrición (Broa, 2019).

### **Importancia del uso de microsatélites en el maíz**

El uso de microsatélites (SSR) en el maíz representa un avance significativo en el campo de la biotecnología agrícola, proporcionando herramientas precisas para el análisis genético. La implementación de estas tecnologías ha transformado la comprensión de la variabilidad genética en distintos niveles, desde el individual hasta el de la especie. En el mejoramiento del maíz, los métodos convencionales suelen ser lentos y carecen de información detallada sobre la evolución de los caracteres seleccionados. Esto resulta en genotipos poco adaptados a las condiciones cambiantes del campo y en dificultades para la protección intelectual de las variedades generadas.

La incorporación de marcadores moleculares, como los SSR, permite un avance más eficiente en la selección de genotipos. Estos marcadores ofrecen ventajas significativas, como su neutralidad fenotípica, codominancia y capacidad para detectar altos niveles de polimorfismo, además, pueden ser evaluados en cualquier etapa de desarrollo, lo que reduce la influencia del ambiente en el proceso de selección. Esto es particularmente importante en la agricultura temporal, donde la adaptación a condiciones ambientales variables es crucial.

La aplicación de tecnologías moleculares puede acelerar la liberación de variedades mejoradas, incrementando la competitividad de las variedades nacionales frente a las internacionales. Un estudio reciente, se seleccionaron y caracterizaron genotipos de maíz utilizando SSR para identificar la variabilidad genética entre líneas endogámicas. Los resultados revelaron un alto nivel de diversidad genética y permitieron clasificar las líneas en grupos con diferentes grados de similitud. Este análisis proporciona una base sólida para la formación de híbridos con mayor potencial de rendimiento, lo que podría tener un impacto positivo en la productividad agrícola (Gutiérrez, 2016).

### **Marco teórico contextual**

#### **Comportamiento de la producción de maíz en las regiones del Ecuador**

La producción de maíz en Ecuador combina prácticas tradicionales con tecnologías modernas, reflejando una diversidad de enfoques según las condiciones agroecológicas y el nivel de desarrollo agrícola en las distintas regiones. Según datos de la FAO, el país cuenta con 365,334 hectáreas dedicadas al cultivo de maíz, alcanzando una producción total de 1,479,700 toneladas con un rendimiento promedio de 4.58 toneladas por hectárea, sin embargo, esta cifra promedio esconde importantes diferencias regionales.

En la región Sierra, el maíz se caracteriza por su diversidad en tipos, colores, texturas y formas, cultivado principalmente para consumo directo, ya sea como grano seco o choclo. A pesar de la creciente demanda, el rendimiento en esta región es limitado, con un promedio de apenas 1.63 t. Las condiciones agroclimáticas, como las bajas temperaturas y la irregularidad en las precipitaciones, junto con un desarrollo tecnológico más lento, han sido factores que restringen la productividad en esta región.

La región Costa, donde predomina el maíz amarillo duro, ha mostrado una notable mejora en su producción gracias a un mayor nivel de tecnificación. Este tipo de maíz, destinado en gran medida a la industria de alimentos balanceados, ha contribuido a que el país cubra entre el 85% y el 90% de su demanda nacional, especialmente en el sector avícola.

El uso de variedades híbridas de alto rendimiento, junto con técnicas avanzadas de manejo agronómico, ha sido determinante en este incremento.

El cambio climático plantea nuevos desafíos para la producción de maíz en Ecuador. Factores como la variabilidad en los regímenes de lluvia, la sequía, el exceso de humedad y la aparición de plagas y enfermedades en nuevas áreas obligan a buscar soluciones innovadoras. Entre las tecnologías adoptadas se encuentran la fertilización específica según las necesidades del suelo y el uso de biofertilizantes. Técnicas como el Manejo de Nutrientes por Sitio Específico (MNSE) y la fertilización líquida han mostrado resultados prometedores, mejorando los rendimientos y reduciendo los costos de producción.

Se han desarrollado biofertilizantes experimentales, como aquellos basados en bacterias promotoras del crecimiento, que han demostrado incrementar la eficiencia en la absorción de nutrientes y reducir la dependencia de fertilizantes químicos. Otra innovación en evaluación es el uso del helecho Azolla como biofertilizante, con capacidad para fijar nitrógeno atmosférico, que ha mostrado un impacto positivo en la productividad del maíz (Caviedes, 2022).

### **Estado del Arte**

Un estudio hecho por Camarena sobre el mejoramiento genético y biotecnológico de plantas resalta cómo la biotecnología puede responder a los retos globales, como el cambio climático, la globalización y las demandas del mercado internacional.

El estudio subraya que el mejoramiento genético ha sido fundamental para incrementar la productividad agrícola, especialmente en zonas áridas y de condiciones adversas. A través de la introducción de genes resistentes a plagas, enfermedades y factores abióticos, se han desarrollado variedades más adaptadas a diferentes condiciones agroecológicas, además, la investigación resalta la necesidad de preservar la biodiversidad, ya que esta constituye una fuente esencial de genes para futuras generaciones de cultivos.

En cuanto a las metodologías, el estudio aborda técnicas tradicionales como modernas, incluyendo la selección genética, la producción de híbridos, el uso de dobles haploides y la aplicación de marcadores moleculares, se enfatiza la importancia del cultivo de

tejidos in vitro y la transformación genética, herramientas clave para lograr avances significativos en el mejoramiento de plantas autógamias y alógamas.

Este enfoque integral del mejoramiento genético y biotecnológico tiene aplicaciones directas en el contexto ecuatoriano, donde se busca optimizar la producción de maíz mediante tecnologías avanzadas. Los resultados del estudio de Camarena ofrecen una guía valiosa para implementar prácticas que mejoren la sostenibilidad y la competitividad del sector agrícola en la región (Camarena, 2022).



### CAPÍTULO 3: MARCO METODOLÓGICO

#### Introducción a la metodología utilizada

Esta investigación proporcionó un análisis detallado de la estructura del gen, para ello se selecciona el estudio de tipo descriptivo, para estudiar sus características estructurales y asociativo para explorar las posibles relaciones del gen con otras variables genéticas. Se llevó a cabo una evaluación metodológica utilizando un enfoque de variables mixtas, combinando métodos, con el objetivo de identificar la ausencia del gen opaco-2, centrado en la secuencia genética registrada en GenBank correspondiente al gen opaco-2 (secuencia X15544).

#### *Materiales y métodos de objetivos de investigación*

Se presentan las 24 variedades para el análisis del estudio.

**Tabla 1.** *Materiales seleccionados*

Entrada	Ecotipo-Variedad	Nombre Codigo	Raza Probable	Localidad	Distrito
1	ASTILLA AMARILLA-DH	VC1	San Geronimo Huancavelicano	Los Ángeles de Cucharan	Daniel Hernández
2	CARHUAY-Q	VC2	San Geronimo Huancavelicano	Mantacra	Quishuar
3	CARHUAY-Q	VC3	Cusco	Anjara Pata	Quishuar
4	CHULLPI-Q	VC4	Chullpi	Yacutoclla	Quishuar
5	ALMIDON-ST	VC5	Cusco	Buenos Aires	Santiago de Tucuma
6	ASTILLA BLANCA-ST	VC6	San Geronimo Huancavelicano	Huayrapire	Santiago de Tucuma
7	CARHUAY-PI	VC7	San Geronimo Huancavelicano	Muuyupata	Pichos
8	HUAMAMSARA-PI	VC8	San Geronimo Huancavelicano	Huasahuayoco	Pichos
9	CHOCLERO-101	VT1	Cusco Gigante	INIA Cajamarca	Cajamarca
10	CHOCLERO-101	VT2	Nutrichoclo	INIAP Ecuador	Ecuador
11	Carhuay-Run	G3	SGH	RUNDO	Daniel Hernández
12	Astilla Blanca-ACP	G7	SGH	AHUAYTA CASAY	Pampas
13	Cusqueado-P	G8	CUSCO	GENTIL PAMPAS	
14	Carhuay-P	G9	SGH	MANTACRA	Pampas

15	Blanco gigante-P	G10	CUSCO GIGANTE	PROVIDENCIA MANTACRA	
16	Astilla Blanca-C	G11	SGH	AGUA DULCE, COM. CAMPESINA SAN JULIAN ALTO	Colcabamba
17	Chulpy-ST	G14	CHULLPI	USNUPAMPA	Santiago de Tucuma
18	Pistiada-Pi	G15	PISCCORUNTO	MUYUPATA	Pichos
19	Maiz Morado-Pi	G20	CUSCO MORADO	HUAYCHAUOCRUZ	
20	Choclero-INIA-603	T2		INIA CAJAMARCA	Cajamarca
21	INIA-601	T3	CUSCO MORADO		
22	Chulpy-ST	14-M1	CHULLPI	USNUPAMPA - 2018, ORIGEN G-17	Santiago de Tucuma
23	Chulpy-ST	14-M2	CHULLPI	USNUPAMPA - 2018, ORIGEN G-16	Santiago de Tucuma
24	Chulpy-ST	14-M3	CHULLPI	TIENDA	Pampas

**Elaborado por:** Nicolle Echeverria

### ***Extracción ADN***

Se hizo la recolección de tejido vegetal de hojas jóvenes a los 10 días después de la germinación, utilizando 25 granos del tercio medio de una mazorca representativa de cada variedad. La extracción del ADN se realizó utilizando un kit EZNA-Plant DNA. La cuantificación del ADN se realizó en un Qubit 4.0 de Promega y su calidad se estimó utilizando un gel de agarosa al 1.5%.

### ***Preparación del ADN para amplificación***

El ADN genómico fue diluido con agua destilada para ajustar la concentración a 30 ng/μL adecuada para la amplificación. Se sembraron 3 repeticiones por cada una de las 24 variedades de maíz, distribuidas en 3 placas PCR, siendo cada placa utilizada con un marcador molecular diferente.

### ***Preparación del Master Mix***

Para las reacciones de amplificación por PCR, se preparó un master mix que contenía todos los componentes necesarios para la reacción. El master mix consistió en el buffer GreenTaq, agua destilada y los primers (cebadores) forward y reverse específicos para cada marcador molecular (phi112, umc1066, phi057). La mezcla fue preparada en un volumen final

de 22  $\mu\text{L}$ , a los cuales se les añadió 3  $\mu\text{L}$  de ADN diluido (30 ng/ $\mu\text{L}$ ). Este master mix fue utilizado para las 3 repeticiones por cada variedad en las placas PCR.

### ***Amplificación por PCR***

Las reacciones de amplificación se llevaron a cabo en un termociclador Techne® Prime utilizando el siguiente protocolo de termociclado (Carrera, 2011):

Desnaturalización inicial: 94°C durante 5 min.

35 ciclos de amplificación, cada uno compuesto por:

Desnaturalización: 94°C durante 1 min.

Hibridación (annealing): a 58°C durante 30 seg para el marcador phi112, a 56°C para umc1066 y a 59°C para phi057.

Elongación: 72°C durante 30 seg.

Extensión final: 72°C durante 5 min.

Al finalizar el ciclo, las muestras fueron almacenadas a 10°C hasta su posterior uso.

### ***Preparación y carga del gel de MetaPhore***

Para la visualización de los productos amplificados por PCR, se preparó un gel de MetaPhore con las siguientes proporciones:

2.5 gr de MetaPhore

1.5 grs de agarosa

100 mL de buffer TBE 0.5X

La mezcla fue hidratada durante 15 min, y luego se calentó en el microondas a baja potencia hasta que el gel se volvió transparente. Tras enfriarlo ligeramente, se añadió 3  $\mu\text{L}$  del tinte Diamont dye, que permite visualizar el ADN en el gel. Posteriormente, el gel se vertió en un molde para proceder a su ejecución.

### ***Electroforesis y visualización de los productos de PCR***

El gel preparado fue colocado en una cámara de electroforesis y se sometió a una corrida a 70 voltios durante 2 h y media. Una vez finalizada la electroforesis, los geles fueron observados mediante un transiluminador, donde se capturaron las imágenes de los productos

de amplificación. Cada marcador molecular fue analizado por separado utilizando un gel distinto, permitiendo así la comparación de los resultados obtenidos con los patrones de los marcadores moleculares.

## CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Introducción a los resultados

En el análisis visual, se observó que los materiales clasificados como tipo 3, característicos de los maíces que contienen el gen opaco-2 en su forma homocigota recesiva ( $o2/o2$ ), fueron identificados. Además, mediante el uso de marcadores moleculares microsátélites como phi112, phi057 y umc1066, fue posible caracterizar los materiales que presentan el gen de interés. Esto se logró a través de la amplificación, visualización y cuantificación de las bandas de ADN, empleando técnicas biotecnológicas como la electroforesis y la PCR para obtener resultados precisos.

### Resultados del objetivo específico 1

Para examinar las 10 variedades de maíz criollo utilizando un marcador morfológico, se realizó una observación detallada en una cámara de luz, donde se muestran las características físicas que se pueden utilizar para identificar la presencia de dicho gen en el grano. Cada uno de estos marcadores refleja un rasgo específico que puede variar dependiendo si el gen O2 está presente o no en el maíz.

Utilizando una escala del 1 al 5, se evaluaron diversas variedades de maíz según sus características morfológicas, con un enfoque particular en la presencia del gen O2 y cómo este afecta la opacidad del endospermo, la textura, el tamaño y el peso de los granos.

#### *Valoración:*

1. Transparencia u opacidad del endospermo
2. Textura del grano, suave al tacto en caso de que contenga el gen O2
3. Forma del grano
4. Color del endospermo, no cambia pero puede verse menos brillante o uniforme.

Ejemplo el grano que es amarillo con el gen O2 puede verse más pálido.

5. Tamaño y peso, los O2 pueden ser ligeramente más grandes.

### Preparación de las muestras

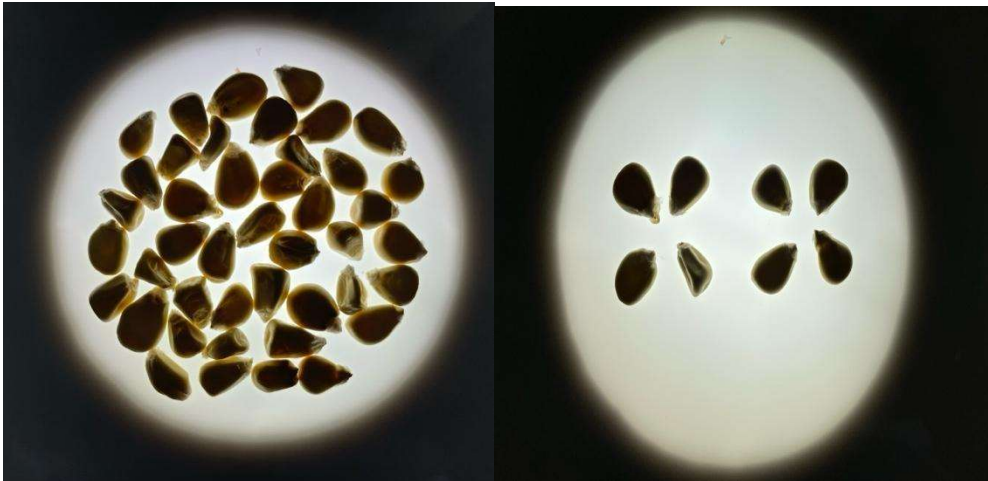
Las muestras de maíz evaluadas fueron previamente seleccionadas y preparadas, asegurando que los granos estuvieran limpios y secos. Luego, se utilizó una mesa de luz para identificar las características morfológicas claves, como el color, el tamaño, la superficie y los posibles defectos de cada grano. Estos factores fueron clasificados y registrados para su análisis posterior.

En cuanto a la variedad (Figura 1), se observó un grado moderado de transparencia en el endospermo y una textura algo rugosa. El tamaño y la forma del grano fueron relativamente normales, pero no se percibió una suavidad destacable al tacto. Debido a estas características, se le asignó un puntaje de 2 en la escala, indicando que no presenta una opacidad ni una suavidad marcadas, características típicas de los granos con el gen O2.



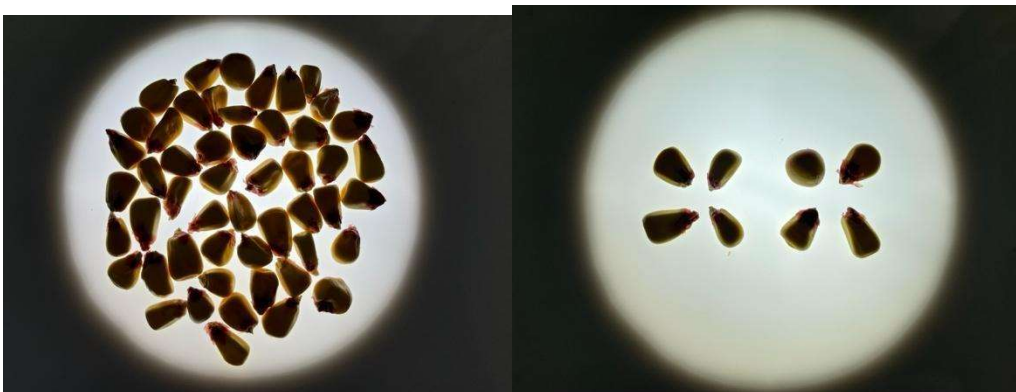
**Figura 1.** Semillas evaluadas en una cámara de luz variedad CARHUAY-RUN  
**Elaborado por:** Nicolle Echeverria

Por otro lado, la variedad (Figura 2), originaria de Pampas, presentó una notable opacidad en su endospermo, junto con una textura rugosa y un tamaño y forma normales. A pesar de la opacidad, el grano resultó ser duro al tacto, lo que le valió un puntaje de 1, el cual indica una mayor opacidad en comparación con otras variedades.



**Figura 2.** Semillas evaluadas en una cámara de luz variedad Blanco Gigante-P  
**Elaborado por:** Nicolle Echeverría

En el caso de la variedad (Figura 3), originaria de Pichos, la semilla mostró una leve transparencia en el endospermo, con una textura normal y un tamaño y peso regulares. Este conjunto de características llevó a otorgarle una puntuación de 3, reflejando un equilibrio en los rasgos observados.



**Figura 3.** Semillas evaluadas en una cámara de luz variedad CARHUAY-P  
**Elaborado por:** Nicolle Echeverría

La variedad (Figura 4), también originaria de Pichos, presentó una alta opacidad en el endospermo, junto con un tamaño y peso regulares. Presentó una textura rugosa y el grano resultó semi duro al tacto, por lo que se le asignó en una puntuación de 1, similar a la de otras variedades con mayor opacidad.



**Figura 4.** Semillas evaluadas en una cámara de luz Maíz variedad Morado de Pichos  
**Elaborado por:** Nicolle Echeverría

Por su parte, la variedad (Figura 5), mostró un grado moderado de transparencia en su endospermo, un tamaño algo más grande de lo normal y una textura semi rugosa. Este conjunto de características permitió asignarle un puntaje de 2, indicando una ligera mayor transparencia y tamaño en comparación con otras variedades más opacas.



**Figura 5.** Semillas evaluadas en una cámara de luz variedad Cusqueado de Pampas  
**Elaborado por:** Nicolle Echeverría

La variedad (Figura 6), presentó un ligero grado de transparencia en su endospermo, una textura suave y un tamaño y peso normales, lo que resultó en una puntuación de 3, reflejando una mayor suavidad al tacto y una apariencia más luminosa del grano.





**Figura 6.** Semillas evaluadas en una cámara de luz variedad Astilla Blanca-C  
**Elaborado por:** Nicolle Echeverría

En la variedad (Figura 7), se observó una semilla rugosa con un grado de opacidad normal, un tamaño mayor al habitual y una forma de grano alargada, lo que le valió una puntuación de 1. Esta variedad mostró características más cercanas a las de granos con opacidad elevada y mayor dureza.



**Figura 7.** Semillas evaluadas en una cámara de luz variedad Astilla Blanca-DH  
**Elaborado por:** Nicolle Echeverría

La variedad (Figura 8), destacó por tener una mayor transparencia en su endospermo, una textura suave al tacto, granos lisos y un tamaño ligeramente más grande, con peso normal. Estos atributos le valieron una puntuación de 4, indicando una buena presencia del gen O2, que favorece la suavidad y la transparencia del grano.



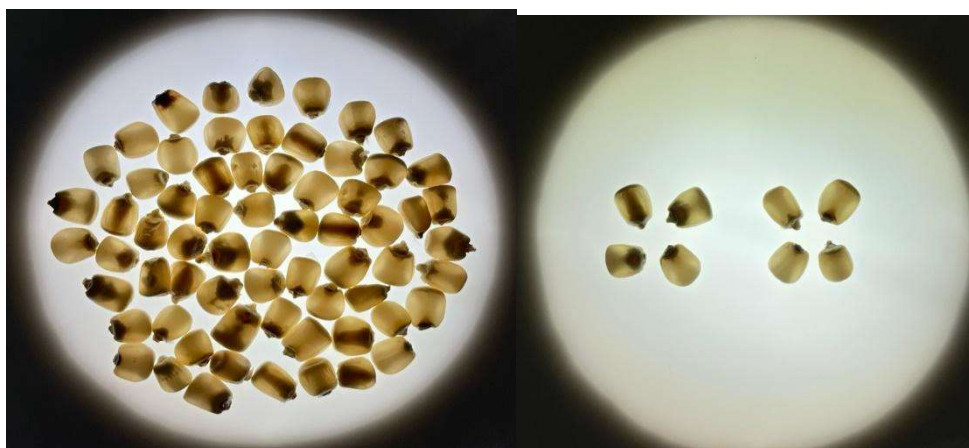
**Figura 8.** Semillas evaluadas en una cámara de luz Variedad Choclero INIA-603  
**Elaborado por:** Nicolle Echeverría

La variedad (Figura 9) presentó un endospermo opaco, una semilla rugosa y dura, con un tamaño algo más grande de lo normal y una forma alargada semi ovalada. Debido a la opacidad y la dureza del grano, obtuvo un puntaje de 1, indicando una presencia predominante de características morfológicas asociadas a la falta de suavidad y mayor dureza.



**Figura 9.** Semillas evaluadas en una cámara de luz variedad INIA 601  
**Elaborado por:** Nicolle Echeverría

La variedad (Figura 10), destacó con un endospermo transparente, granos suaves y ligeramente más grandes, con una forma redondeada. Estos rasgos la posicionaron con una puntuación de 5, lo que la convierte en un ejemplo claro de los efectos del gen O2 en la morfología de las semillas de maíz, especialmente en lo que respecta a la transparencia, suavidad y tamaño de los granos.



**Figura 10.** Semillas evaluadas en una cámara de luz variedad INIAP 543-QPM  
**Elaborado por:** Nicolle Echeverría

**Tabla 2.** Detalle de resultados

Variedad	Puntuación	Características Observadas	Posibilidad de Contener el Gen O2
CARHUAY-RUN	2	Leve transparencia, textura rugosa, tamaño y forma normales, no es suave al tacto.	Baja (transparencia moderada, textura rugosa y tamaño normal)
Blanco Gigante-P	1	Alta opacidad, textura rugosa, tamaño y forma normales, dura al tacto.	Alta (alta opacidad y textura rugosa)
CARHUAY-P	3	Leve transparencia en el endospermo, textura normal, tamaño y peso regulares.	Moderada (leve transparencia y textura normal)
Maíz Morado de Pichos	1	Alta opacidad, tamaño y peso regulares, semi-duro al tacto, textura rugosa.	Alta (alta opacidad y textura rugosa)
Cusqueado de Pampas	2	Moderada transparencia, tamaño ligeramente más grande de lo normal, textura semi-rugosa.	Baja (transparencia moderada, textura semi-rugosa)
Astilla Blanca-C	3	Leve transparencia, textura suave, tamaño y peso normales.	Moderada (leve transparencia, textura suave)
Astilla Blanca-DH	1	Alta opacidad, tamaño más grande de lo normal, forma alargada, textura rugosa.	Alta (alta opacidad y textura rugosa)
Choclero INIA-603	4	Alta transparencia en el endospermo, suave al tacto, tamaño más grande y peso normal.	Baja (alta transparencia y textura suave)
INIAP 601	1	Alta opacidad, textura rugosa, tamaño ligeramente más grande, forma semi-ovalada.	Alta (alta opacidad y textura rugosa)

INIAP 543-QPM	5	Alta transparencia en el endospermo, suave al tacto, granos ligeramente más grandes, forma redondeada.	Alta (alta transparencia, textura suave, tamaño regular)
---------------	---	--	--

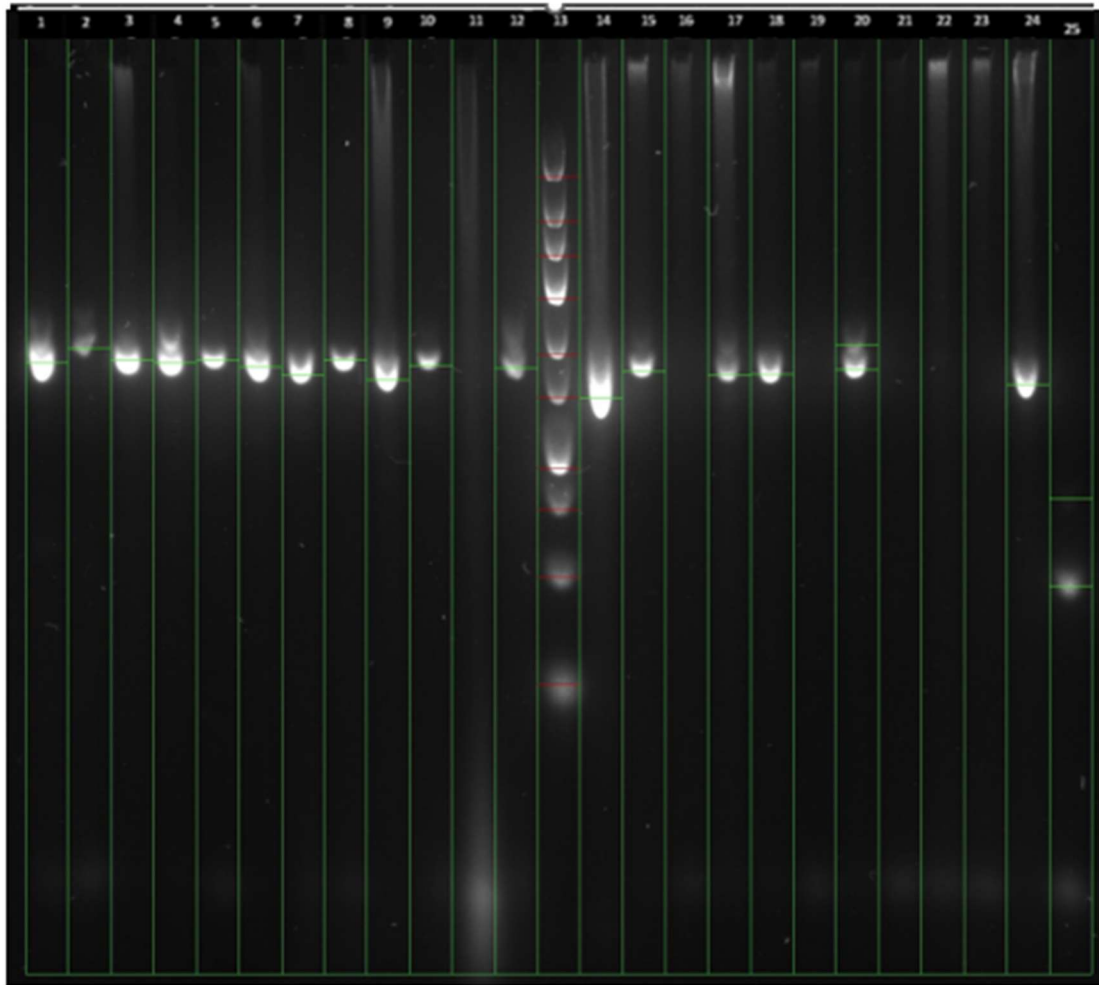
**Elaborado por:** Nicolle Echeverria

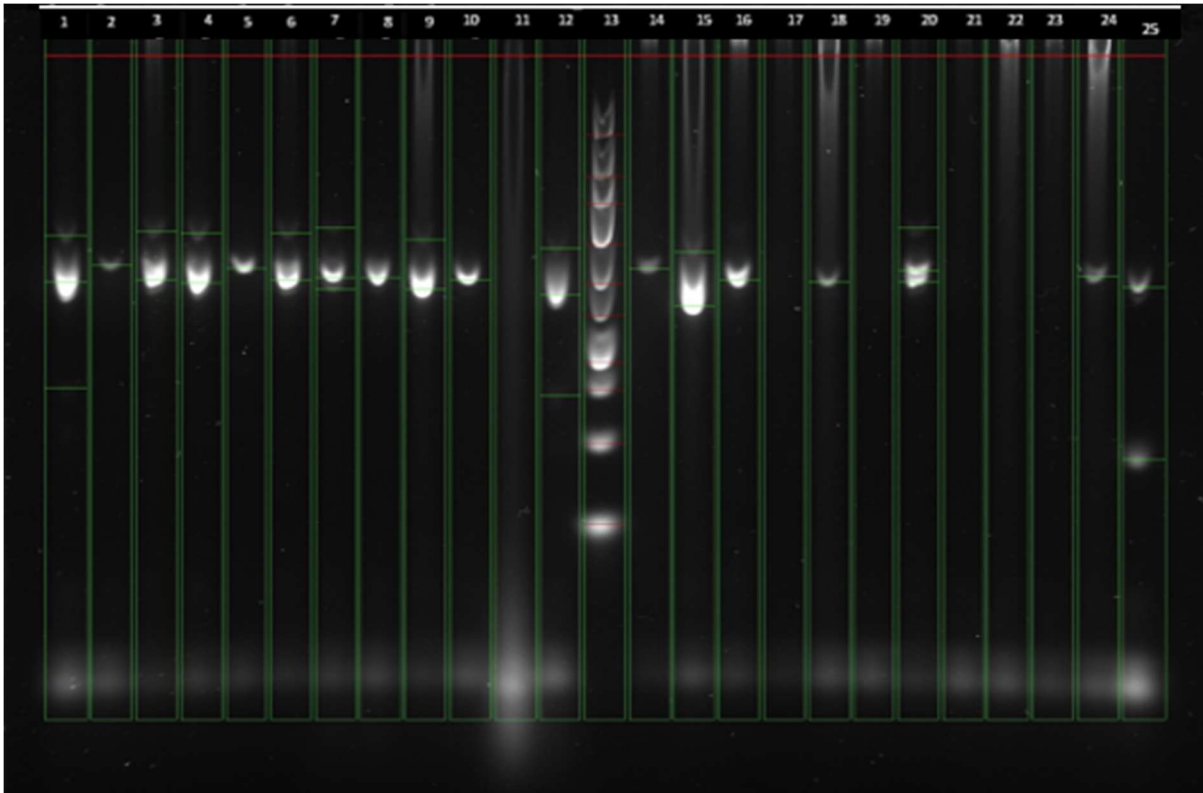
A partir de los datos obtenidos, se puede suponer la presencia del gen Opaco-2 en las variedades analizadas, pero no es posible confirmar, a través de los marcadores morfológicos, la existencia de los alelos recesivos o dominantes, lo cual es crucial en el proceso de selección de semillas para el desarrollo de variedades. Además, el efecto positivo observado en las medias de las variedades que podrían contener este gen podría estar influenciado por factores distintos al gen Opaco-2, como la acción de genes o proteínas que modifican las características del endospermo.

## **Resultados del objetivo específico 2**

### ***Análisis por marcadores***

umc 1066: Este marcador muestra una considerable variabilidad entre las variedades, con el tamaño del amplicón que oscilan entre 125 (Variedad 9) y 250 (Variedad 13). Las más bajas en este marcador, como las observadas en Variedad 9, sugieren una mayor similitud genética con otras variedades, mientras que las más altas, como en Variedad 13, indican diferencias significativas en el perfil genético de esta variedad respecto a las otras. Esto podría indicar que la Variedad 13 es más genética y posiblemente más única o con una genética diferente.

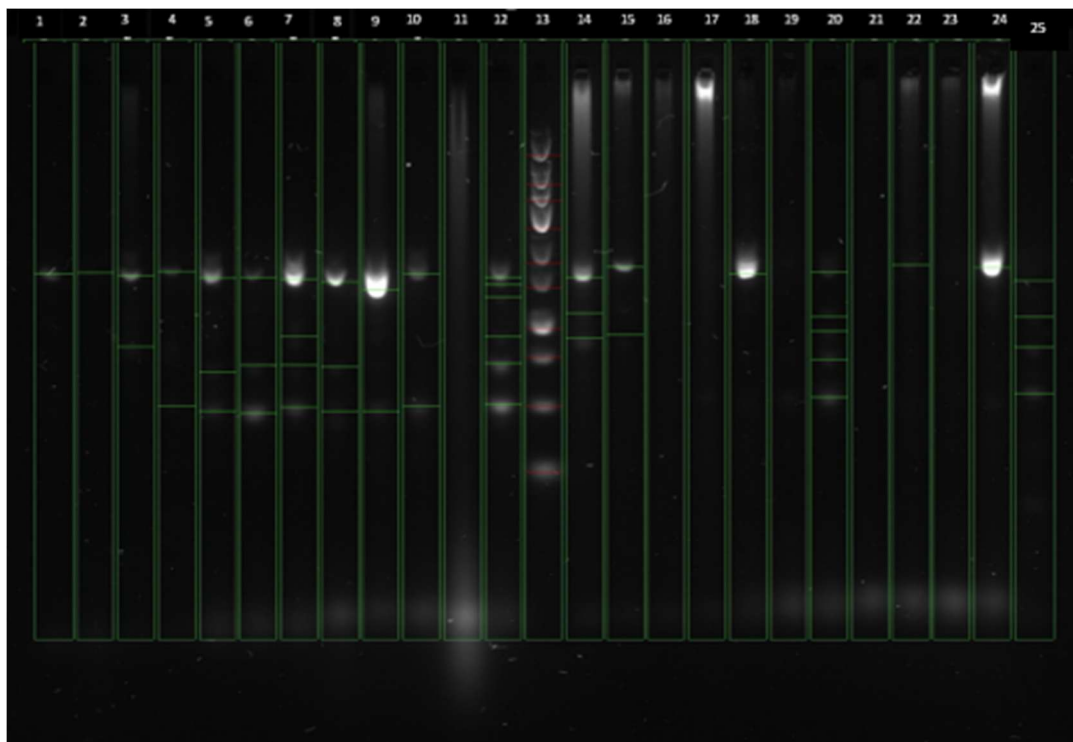




**Figura 13.** Grado de diferencia genética phi 112- Variedad 1 Astilla Amarilla-Dh, 2 Carhuay-Q, 3 Carhuay-Q, 4 Chullpi-Q, 5 Almidon-St, 6 Astilla Blanca-St, 7 Carhuay-PI, 8 Huamamsara-PI, 9 Choclero-101, 10 Choclero-101, 11 Carhuay-Run, 12 Astilla Blanca-ACP, 13 Ladder (phi112), 14 CUSQUEADO-P, 15 Blamco gigante-P, 16 Astilla Blanca-C, 17 Chulpy-ST, 18 Pistiada-Pi, 19 Maiz Morado-Pi, 20 Choclero-INIA-603, 21 INIA-601, 22 Chulpy-ST, 23 Chulpy-ST, 24 Chulpy-ST, 25 AGUA

**Elaborado por:** Nicolle Echeverria

phi 057: Este marcador muestra un tamaño del amplicón que oscilan entre 124 (Variedad 9) y 250 (Variedad 13). Similar a los otros dos marcadores, las más altas en phi 057 en Variedad 13 sugieren una gran diferencia genética en este locus, mientras que el tamaño del amplicón más bajas, como en Variedad 9 (124), reflejan una mayor similitud con otras variedades en este marcador.



**Figura 14.** Grado de diferencia genética PHI057 – Variedad 1 Astilla Amarilla-Dh, 2 Carhuay-Q, 3 Carhuay-Q, 4 Chullpi-Q, 5 Almidon-St, 6 Astilla Blanca-St, 7 Carhuay-PI, 8 Huamamsara-PI, 9 Choclero-101, 10 Choclero-101, 11 Carhuay-Run, 12 Astilla Blanca-ACP, 13 Ladder (phi 057), 14 Cusqueado-P, 15 Carhuay-P, 16 Blamco gigante-P, 17 Astilla Blanca-C, 18 Chulpy-ST, 19 Pistiada-Pi, 20 Maiz Morado-Pi, 21 Choclero-INIA-603, 22 INIA-601, 23 Chulpy-ST, 24 Chulpy-ST, 25 AGUA  
**Elaborado por:** Nicolle Echeverría

Para caracterizar las 24 variedades criollas de maíz mediante los En la siguiente tabla se observan los tamaños de los alelos amplificados en cada uno de los marcadores moleculares microsatélites phi057, umc1066 y phi112, con el fin de identificar materiales que contengan el gen opaco-2.

**Tabla 3.** Tamaño de variedades

Tamaño del amplicón	UMC 1066	PHI 112	PHI 057
VARIEDAD 1	170	133	139
VARIEDAD 2	157	125	139
VARIEDAD 3	157	162	136
VARIEDAD 4	158	156	141
VARIEDAD 5	166	124	134
VARIEDAD 6	157	124	134
VARIEDAD 7	153	129	133
VARIEDAD 8	164	122	130
VARIEDAD 9	125	123	124
VARIEDAD 10	144	125	139
VARIEDAD 11			

VARIEDAD 12		120	135
VARIEDAD 13	250	250	250
VARIEDAD 14	159	119	135
VARIEDAD 15	147	122	145
VARIEDAD 16		129	
VARIEDAD 17	177		
VARIEDAD 18	151	127	138
VARIEDAD 19			
VARIEDAD 20	166	131	140
VARIEDAD 21			
VARIEDAD 22	174	124	148
VARIEDAD 23			
VARIEDAD 24	149	138	145
VARIEDAD 25		153	132

*Elaborado por:* Nicolle Echeverría

Los perfiles genéticos muestran diferencias en los alelos presentes en los loci correspondientes a estos marcadores microsatélites.

### **Resultados del objetivo específico 3**

A partir de los datos morfológicos y moleculares, podemos hacer algunas inferencias:

Las variedades con puntuaciones altas (4 y 5), como INIAP 543-QPM, Choclero INIA-603 y otras, probablemente contienen el gen Opaco-2 y presentan mejor calidad proteica y mejores características morfológicas (transparencia y suavidad).

Las variedades con puntuaciones bajas (1 y 2), como Blanco Gigante-P y Maíz Morado de Pichos, presentan una alta probabilidad de contener el gen O2 debido a su alta opacidad y textura rugosa, características asociadas con la acumulación de compuestos antioxidantes como antocianinas y carotenoides. Ambos muestran una textura dura y opaca, lo que sugiere una mayor resistencia y potencial nutricional.

Las variedades intermedias (puntuaciones 2 y 3), como CARHUAY-RUN y Cusqueado de Pampas, muestran una presencia moderada del gen Opaco-2, pero también presentan una variabilidad en las características morfológicas y genéticas, lo que sugiere que la expresión del gen puede ser parcial o depender de factores adicionales.

Existe una correlación clara entre los marcadores moleculares y las características morfológicas. Las variedades con transparencia y suavidad en el grano (indicativas de la



presencia del gen O2) tienden a mostrar un tamaño del amplicón genética más bajas entre sí, mientras que aquellas con opacidad y rugosidad (posiblemente sin el gen O2) muestran un tamaño del amplicón mucho mayor y más alto.

## CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES

El análisis de las 24 variedades de maíz criollo mediante la evaluación morfológica y el uso de marcadores moleculares ha revelado información valiosa sobre la posible presencia del gen Opaco-2 (O2) y su impacto en las características del maíz. Este estudio permite identificar variedades con características deseables como mayor transparencia y suavidad en el grano, abriendo la puerta a futuras investigaciones que podrían tener un impacto directo en el desarrollo de variedades con mejor calidad proteica y mayor valor nutritivo.

La implicación más significativa de estos resultados es que se ha proporcionado una base sólida para seleccionar variedades de maíz que podrían ser mejoradas en términos de contenido proteico, tamaño del grano y suavidad del endospermo. Variedades como INIAP 543-QPM y Choclero INIA-603, que muestran una mayor probabilidad de contener el gen Opaco-2, podrían ser clave para programas de mejoramiento genético enfocados en maíz de calidad proteica superior. Sin embargo, este estudio también ha demostrado que las características morfológicas observadas no son suficientes por sí solas para confirmar la presencia del gen O2.

Las implicaciones prácticas de estos hallazgos podrían tener un impacto significativo en la agricultura de maíz, especialmente en regiones donde el maíz es una fuente principal de proteína en la dieta. Identificar y promover el uso de variedades con el gen O2 podría mejorar la calidad nutricional del maíz, sino contribuyendo a la seguridad alimentaria y al desarrollo de cultivos más nutritivos para comunidades rurales.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alarcón, P. (2021). *Evaluación De Marcadores Microsatélites (Srs) Heterólogos En Rubus Niveus Para Estudios De Diversidad Genética En Las Islas Galápagos*. Recuperado El 01 De 11 De 2024, De [Https://Revistas.Usfq.Edu.Ec/Index.Php/Avances/Article/Download/2293/2716/15211](https://Revistas.Usfq.Edu.Ec/Index.Php/Avances/Article/Download/2293/2716/15211)
- Alvarez, F. (2021). *Genes, Cromosomas Y Herencia. La Transmisión De La Información Genética*. Recuperado El 01 De 11 De 2024, De [Https://Sedici.Unlp.Edu.Ar/Bitstream/Handle/10915/131491/Documento\\_Completo.Pdf-Pdfa.Pdf?Sequence=1&Isallowed=Y](https://Sedici.Unlp.Edu.Ar/Bitstream/Handle/10915/131491/Documento_Completo.Pdf-Pdfa.Pdf?Sequence=1&Isallowed=Y)
- Bertola, A. (2021). *Evaluación Y Caracterización De Una Nueva Población Introducida De Maíz Opaco-2 (Zea Mays L.) En La Región Semiárida Central De Córdoba*. Recuperado El 01 De 11 De 2024, De [Https://Revistas.Unc.Edu.Ar/Index.Php/Nexoagro/Article/Download/33148/34230](https://Revistas.Unc.Edu.Ar/Index.Php/Nexoagro/Article/Download/33148/34230)
- Broa, E. (2019). *Características Físicoquímicas Y Calidad De La Proteína De Maíces Nativos Pigmentados De Morelos En Dos Años De Cultivo*. Recuperado El 01 De 11 De 2024, De [Https://Www.Scielo.Org/Mx/Pdf/Remexca/V10n3/2007-0934-Remexca-10-03-683.Pdf](https://Www.Scielo.Org/Mx/Pdf/Remexca/V10n3/2007-0934-Remexca-10-03-683.Pdf)
- Camarena, F. (2022). *Mejoramiento Genético Y Biotecnológico De Plantas*. Recuperado El 01 De 11 De 2024, De [Https://Www.Agrobanco.Com.Pe/Wp-Content/Uploads/2017/07/Mejoramiento\\_Genetico\\_Y\\_Biotecnologico\\_De\\_Plantas.Pdf](https://Www.Agrobanco.Com.Pe/Wp-Content/Uploads/2017/07/Mejoramiento_Genetico_Y_Biotecnologico_De_Plantas.Pdf)
- Carrasco, W. (2023). *Historia Del Maíz Desde Tiempos Ancestrales Hasta La Actualidad*. Recuperado El 30 De 10 De 2024, De [Https://Revistas.Utb.Edu.Ec/Index.Php/Sr/Article/Download/2951/2602/10274](https://Revistas.Utb.Edu.Ec/Index.Php/Sr/Article/Download/2951/2602/10274)
- Caviedes, M. (2022). *Tecnologías Para El Cultivo De Maíz (Zea Mays. L) En El Ecuador*. Recuperado El 01 De 11 De 2024, De [Https://Revistas.Usfq.Edu.Ec/Index.Php/Avances/Article/Download/2588/2987/19010](https://Revistas.Usfq.Edu.Ec/Index.Php/Avances/Article/Download/2588/2987/19010)

Chan, M. (2021). *Caracterización Química Y Nutricional De Variedades De Maíz (Zea Mays L.) De Alta Calidad De Proteína (Qpm) Desarrolladas En Yucatán, México.*

Recuperado El 01 De 11 De 2024, De

<https://www.redalyc.org/journal/6729/672971063002/html/>

Duque, L. (2023). *Polimorfismos Genéticos Implicados En El Desarrollo De La Púrpura Trombocitopénica Inmune.* Recuperado El 01 De 11 De 2024, De

<https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/8860721.pdf>

Fuentes, T. (2022). *Caracterización Morfológica Y Etnobotánica Del Maíz Criollo (Zea Mays L.) En La Comuna Sancán, Ecuador.* Recuperado El 01 De 11 De 2024, De

<https://revistas.unesum.edu.ec/index.php/unesumciencias/article/download/631/529/1922>

Gutiérrez, J. (2016). *Variabilidad Genética De Líneas Endogámicas De Maíz Comparadas Con Progenitores Criollos Mediante Microsatélites.* Recuperado El 01 De 11 De

2024, De <https://www.redalyc.org/journal/944/94446004007/html/>

Villegas, E. (2021). *Marcadores Genéticos: Introducción Al Análisis Y Su Aplicación En Diversas Áreas Biológicas.* Recuperado El 01 De 11 De 2024, De

[https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/131500/Documento\\_completo.pdf-Pdfa.pdf?sequence=1&isallowed=Y](https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/131500/Documento_completo.pdf-Pdfa.pdf?sequence=1&isallowed=Y)

Villena, P. (2024). *Evaluación De Germinación Y Dormancia De Semillas De Tres Especies Forestales Nativas Andinas En Azuay-Ecuador.* Recuperado El 01 De 11 De 2024,

De <https://www.scielo.cl/pdf/bosque/V45n1/0717-9200-bosque-45-01-177.pdf>