



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

En colaboración con: IBt — UNAM

Ing. en Biotecnología, Roberto Olvera Hernández

Directora PAP: Dra. Glayds I. Cassab López

Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Occidente,
Departamento de Procesos Tecnológicos e Industriales

Proyecto de Aplicación Profesional (PAP) 4G03
Programa de Apoyo a Centros de Investigación Externos II
13 de diciembre de 2023



① Introducción

Problemática

Alternativa Propuesta

Objetivos

② Metodología

Fenotipificación

Control de calidad de datos genotípicos

③ Resultados

Estudio de Asociación Genoma Completo (GWAS)

Búsqueda genes candidatos

④ Conclusiones y reflexiones

Introducción

Problemática

El maíz Ancho es sustento de vida



7mil
personas en Morelos
Dependen de él

EFECTOS

PROBLEMA CENTRAL

PROBLEMAS RAÍZ



Alternativa Propuesta

Mejoramiento Evolutivo-Participativo

Fundamentos del “Mejoramiento Evolutivo-Participativo”:

Establecer una sinergia *agricultor-investigador*

- Características deseadas *por campesinos*.
- Crear nuevas variedades a partir poblaciones locales.
- Aplicación a nivel global desde 1996 [6], [7] .

¿Qué característica nos interesa?

Mejorar la **respuesta hidrotrópica (RH)** de las raíces en *Zea mays L.* puede ayudar a combatir la sequía.



Figura 1: El mejoramiento participativo es un marco de trabajo científico que toma en cuenta su comunidad.

Alternativa Propuesta

Respuesta Hidrotrópica

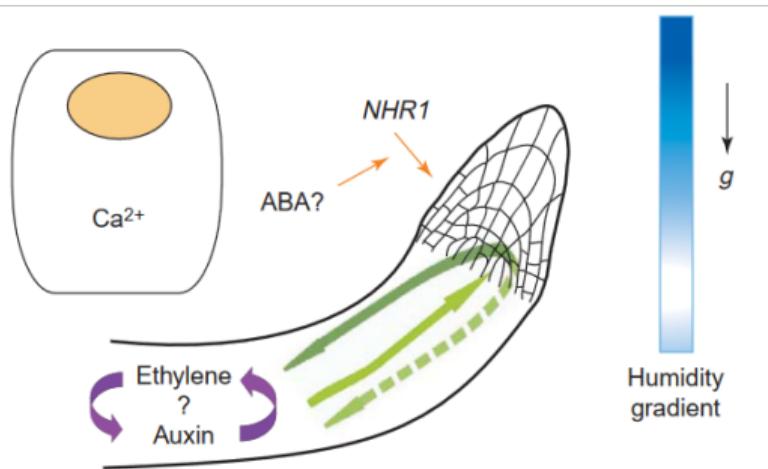


Figura 2: Diagrama representativo de los mecanismos de RH en plántulas de *A. thaliana*. Las raíces tienen una preferencia hacia la percepción de gradientes de humedad, en vez de la gravedad. Recuperado de Eapen, Barroso, Ponce et al. [2].

Tropismos: Mecanismos de las plantas para crecer diferencialmente sus órganos a partir de estímulos.

Hidrotropismo/Respuesta hidrotrópica: Tropismos **radiculares** para encontrar **agua**.

- Tropismo relativamente nuevo, redescubierto en 1985 por Jaffe, Takahashi y Biro [3].
- Poca información sobre sus mecanismos moleculares.
- Investigaciones en *A. thaliana* mostraron posibles genes *MIZ1* [4] y *MIZ2* [5].

◎ Generales

Encontrar marcadores moleculares relacionados a la respuesta hidrotrópica (RH) en maíz Ancho (*Zea mays L.*) de cultivos nativos en Morelos.

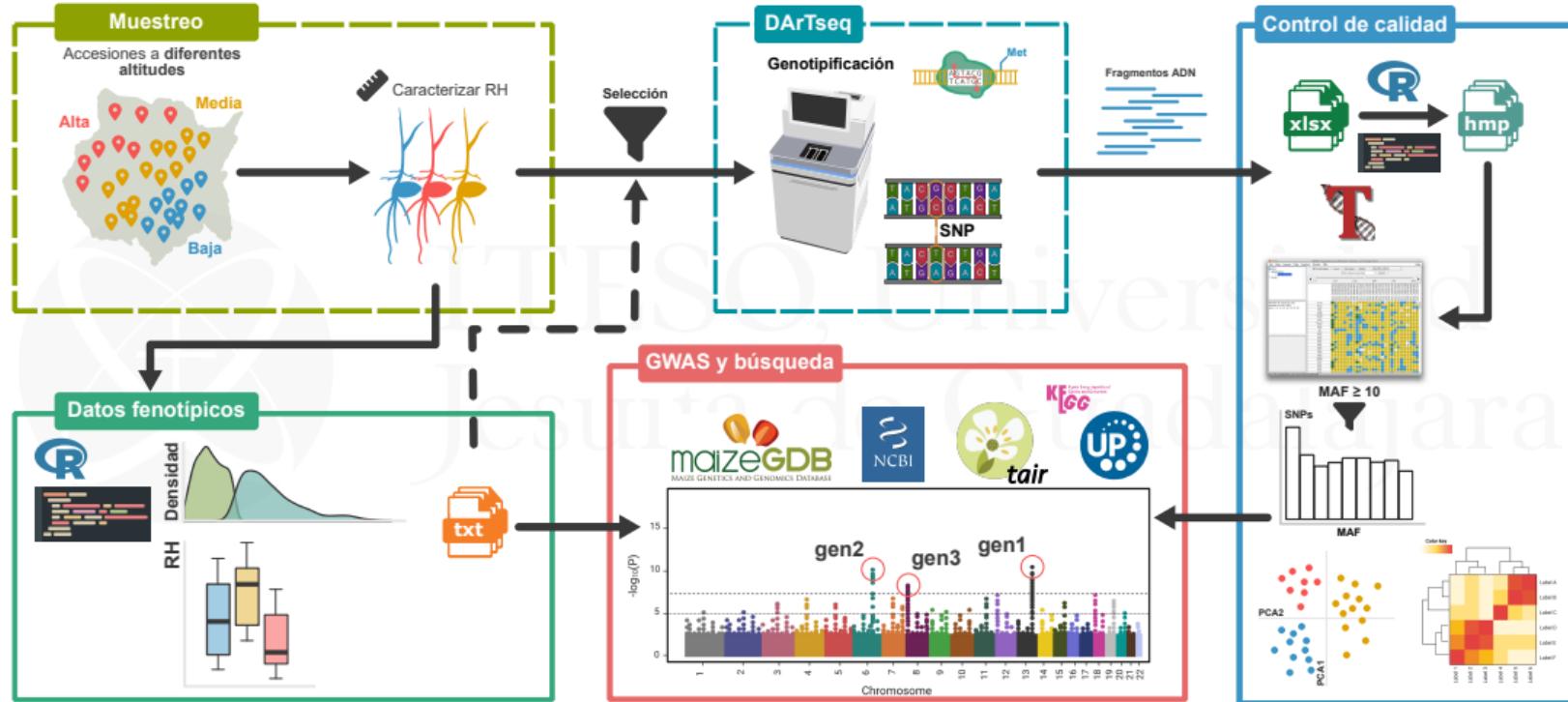
Específicos

- ◎ Análisis primario y limpieza de *dataset* de secuenciación.
- ◎ Análisis estadístico de datos fenotípicos.
- ◎ Control de calidad de datos genotípicos.
- ◎ Realizar GWAS.
- ◎ Identificar SNPs y genes asociados a RH.
- ◎ Encontrar función biológica de genes.

Metodología

Metodología

Resumen



Metodología

Recolección de muestras

ESTADOS DE MORELOS, GUERRERO, MÉXICO Y PUEBLA
MAPA DE UBICACIÓN DE COLECTAS DE MAÍZ

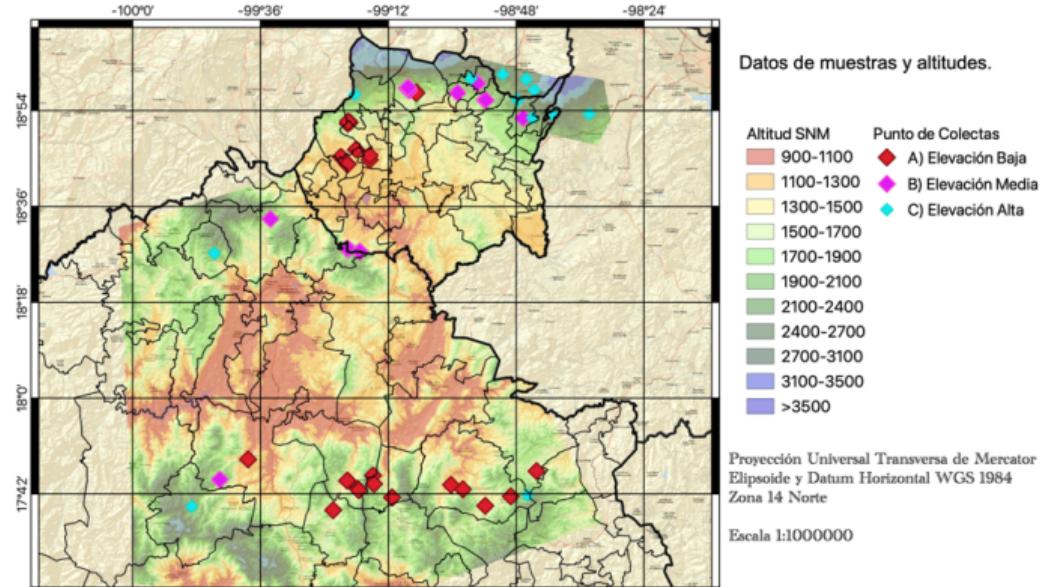
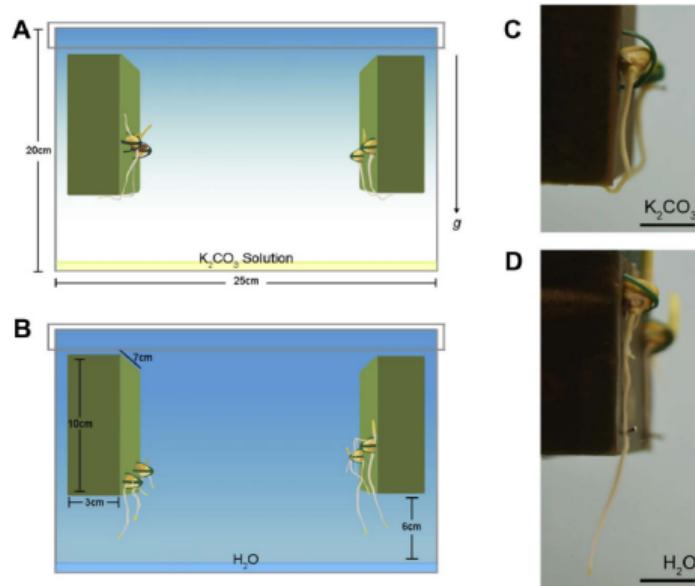


Figura 3: Sitios de recolección de muestras en los estados de Morelos y Guerrero.
Mapa cortesía de M.C. Vázquez de IBt - UNAM.

Metodología

Ensayos de respuesta hidrotrópica



Propuesto originalmente por Eapen, Martínez-Guadarrama, Hernández-Bruno et al. [1]
Obtención de datos fenotípicos: ángulo de raíz primaria.

- Solución higroscópica K₂CO₃ crea gradiente humedad.
- Control negativo con H₂O.
- Raíces curva hacia arriba.

Figura 4: Sistema de ensayo para probar la RH de raíces primarias en maíz. Recuperado de Eapen, Martínez-Guadarrama, Hernández-Bruno et al. [1]

Metodología

Ensayos de respuesta hidrotrópica

Fenotipificación de la RH en raíz primaria de maíz Ancho

Altitud BAJA (< 1,499 m.s.n.m)

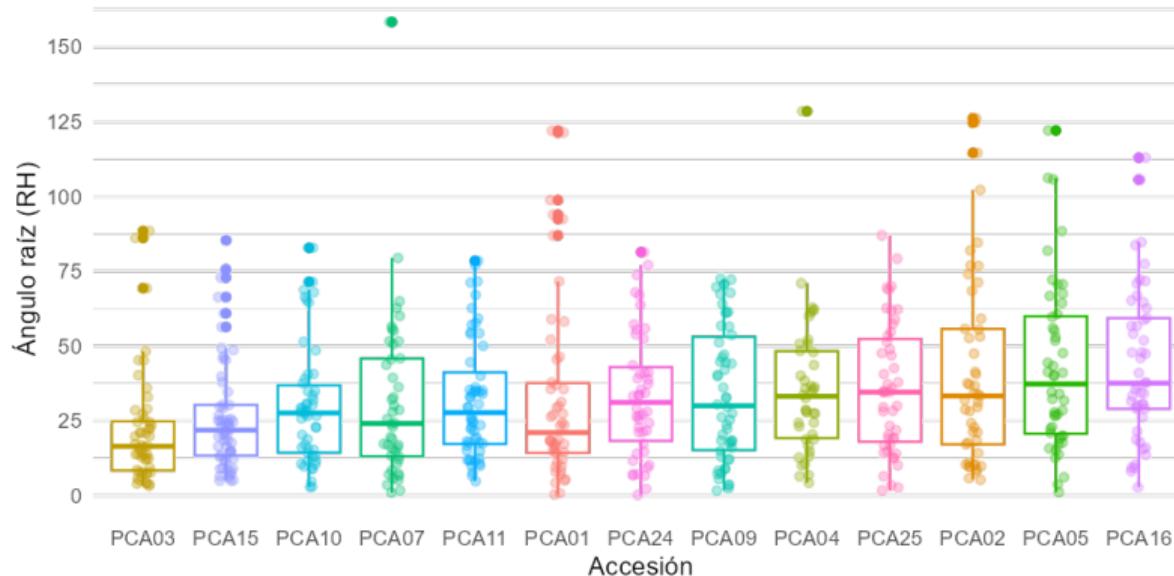


Figura 5: Promedio y desviación de RH para 13 accesiones de maíz Ancho. Promedio = 33.6° (Débil).
119 fueron secuenciadas por CIMMYT con DArTseq y reportadas.

Metodología

Control de Calidad de Alineación

- Alineación de marcadores con genoma de referencia B73_v4 de EE.UU.
- R: Se eliminaron B73v4_ctg 0.85 % y datos NULL 28.7 %.
 - Total: 48,470 100.0 %
 - Filtro de Cromosomas: 34,079 70.5 %
 - MAF: 20,573 60.5 %

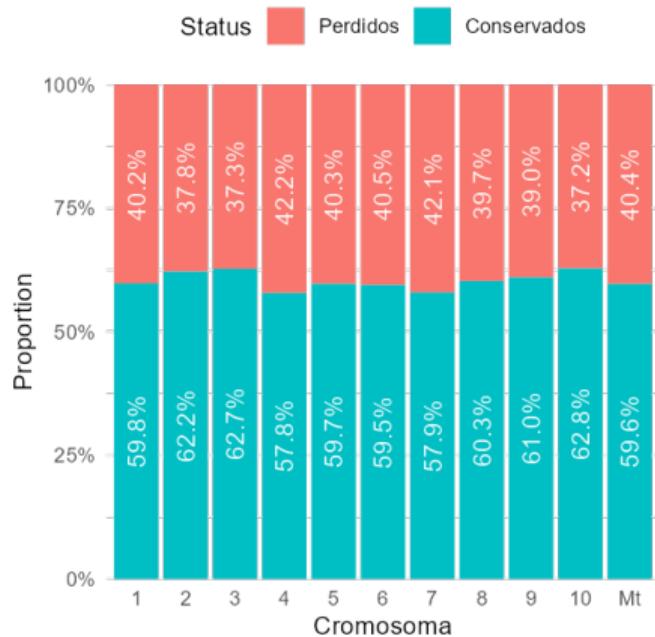


Figura 6: Proporción de datos perdidos por cromosoma.

Metodología

Script snp2hmp.R

Figura 7: Script del lenguaje R para convertir reporte de secuenciación CIMMYT a Hapmap.

Metodología

Control de Calidad para Alelos

TASSEL 5.0 es un software bioinformático específico para *Zea mays* L. desarrollado por lab. de Bradbury, Zhang, Kroon et al. [8].

- **TASSEL 5.0:** Se filtraron secuencias MAF $\leq 0,1$ (pueden generar ruido).
- Conservación del **60.5 %** de los datos.

Major Allele Frequency (MAF)

Frecuencia de Alelos Menores (MAF) Proporción en la que aparece el alelo menos común.

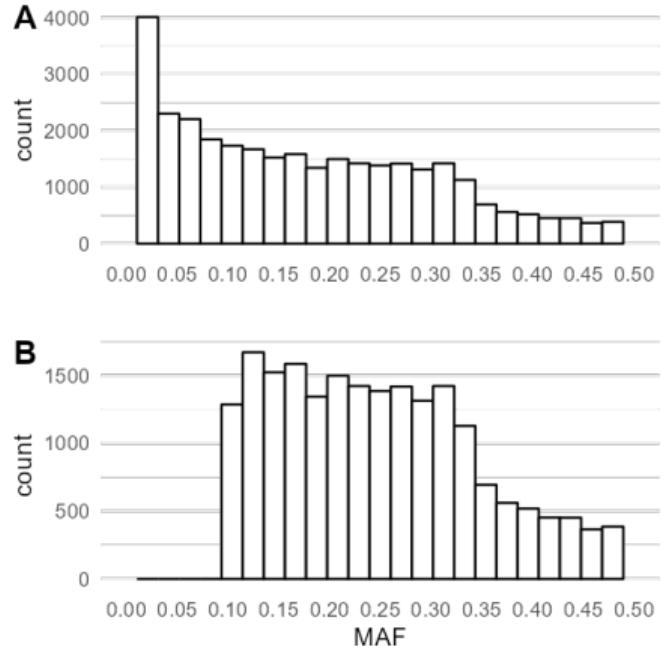


Figura 8: Histograma de Frecuencia de Alelos Menores (MAF) para (A) antes de filtro (b) después de filtro.

Resultados

Resultados

Análisis estadístico

Un QQ-Plot en GWAS sirve para:

- Visualizar los *p-values* de la distribución con la transformación:

$$-\log_{10}(p)$$

- Aquellos *p-values* que **aceptan H_0** se mantienen sobre la **línea recta**.

Todos los SNPs cuyo *p-value* rechacen H_0 estarán relacionados a la **RH**.

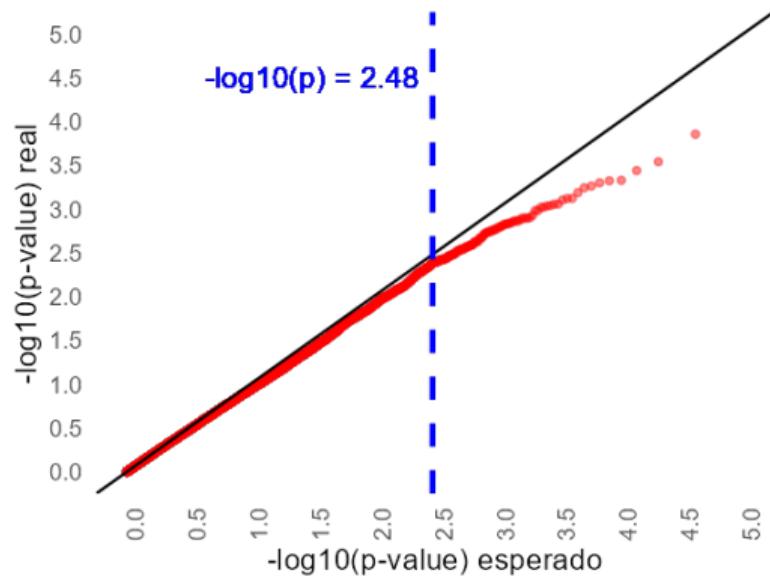


Figura 9: Gráfico Cuantil-Cuantil (QQ-Plot) de GWAS — MLM.

Resultados

Estudio de Asociación de Genoma Completo (GWAS)

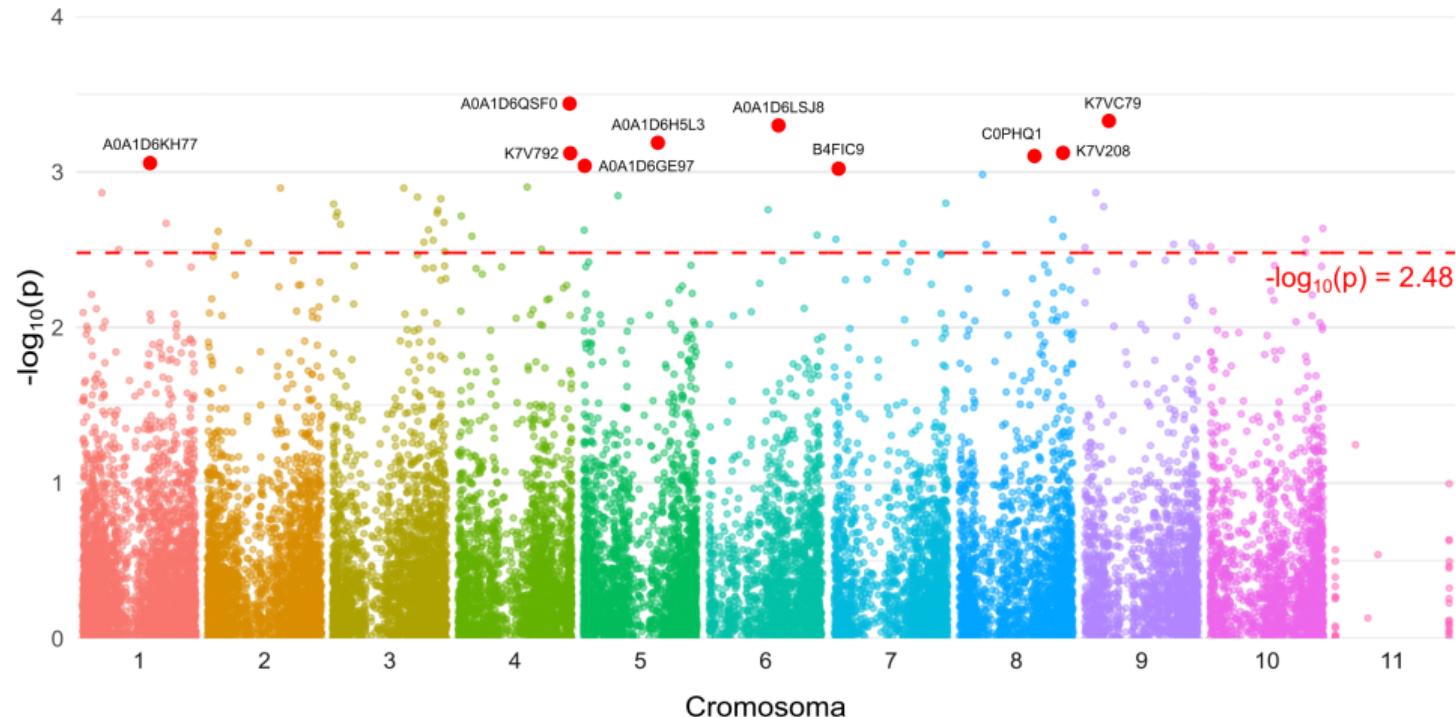


Figura 10: Gráfico de Manhattan para la RH en accesiones de maíz Ancho nativo para el GWAS — MLM. Los ID pertenecen a accesiones de UniProt.

Resultados

Búsqueda de genes candidatos

Cuadro 1: Primeros 10 genes de *Z. mays* L. con mayor asociación a RH. Ortología con *A. thaliana*. En amarillo se muestran proteínas relacionadas al proceso de ubiquitinación , y en azul con transporte de auxina .

INSDC ID	SNP Coord.	-log10(p)	Uniprot ID	Tair ID	Descripción
Zm00001d053813	chr3:241598199	3.439	A0A1D6QSF0	AT2G02560	(<i>CAND1</i>) Cullin-associated NEDD8-dissociated protein 1
Zm00001d045703	chr9:33996681	3.328	K7VC79	AT1G23880	NHL domain-containing protein
Zm00001d036927	chr6:106659892	3.299	A0A1D6LSJ8	AT2G01320	(<i>ABCA7</i>) ABC transporter A family member 7
Zm00001d016136	chr5:146122222	3.188	A0A1D6H5L3	-	(<i>ATL41</i>) 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-acetylglicosaminyltransferase subunit P-related
Zm00001d018854	chr7:7399264	3.021	B4FIC9	-	mRNA-putative carboxylesterase 15

Conclusiones y reflexiones

Conclusiones y reflexiones

Conclusiones

Conclusiones

- ➔ Ortólogos de *MIZ1* y *MIZ2* de *A. thaliana* no tiene la misma asociación que en *Zea mays* L., igual que en variantes DTMA [9].
- ➔ *CAND1* y *ATL41* indican que la RH puede ser explicada por ubiquitinación. Ensayo (no publicado) BQ de UNAM muestran resultados similares.
- ➔ El transporte activo de auxinas (*ABCA7*) también puede estar involucrado.

Perspectivas

- + Completar GWAS con MEDIA y BAJA.
- + Secuencias Robusta y Débil.
- + Identificar y mapear los genes relacionados a ubicuitinación.
- + Ensayos de transcriptómica en desarrollo de la planta hacia genes de GWAS.

Conclusiones y reflexiones

Reflexiones

“En toda tierra de Morelos, el maíz ha sido sembrado alguna vez.”

Referencias citadas

- [1] D. Eapen, J. Martínez-Guadarrama, O. Hernández-Bruno, L. Flores, J. Nieto-Sotelo y G. I. Cassab, *Plant Science*, vol. 265, págs. 87-99, dic. de 2017, ISSN: 0168-9452. DOI: 10.1016/J.PLANTSCI.2017.09.016.
- [2] D. Eapen, M. L. Barroso, G. Ponce, M. E. Campos y G. I. Cassab, English, *Trends in Plant Science*, vol. 10, n.º 1, págs. 44-50, ene. de 2005, ISSN: 1360-1385. DOI: 10.1016/j.tplants.2004.11.004. dirección: [https://www.cell.com/trends/plant-science/abstract/S1360-1385\(04\)00271-7](https://www.cell.com/trends/plant-science/abstract/S1360-1385(04)00271-7).
- [3] M. Jaffe, H. Takahashi y R. Biro, *Science (New York, N.Y.)*, vol. 230, n.º 4724, págs. 445-447, 1985. DOI: 10.1126/science.230.4724.445. dirección: <https://www.science.org/doi/abs/10.1126/science.230.4724.445>.
- [4] T. Kaneyasu, A. Kobayashi, M. Nakayama, N. Fujii, H. Takahashi e Y. Miyazawa, *Journal of Experimental Botany*, vol. 58, n.º 5, págs. 1143-1150, mar. de 2007, ISSN: 0022-0957. DOI: 10.1093/jxb/erl274. dirección: <https://doi.org/10.1093/jxb/erl274>.
- [5] Y. Miyazawa, A. Takahashi, A. Kobayashi, T. Kaneyasu, N. Fujii y H. Takahashi, *Plant Physiology*, vol. 149, n.º 2, págs. 835-840, feb. de 2009, ISSN: 0032-0889. DOI: 10.1104/pp.108.131003. dirección: <https://doi.org/10.1104/pp.108.131003>.
- [6] J. R. Witcombe, A. Joshi, K. D. Joshi y B. R. Sthapit, *Experimental Agriculture*, vol. 32, n.º 4, págs. 445-460, 1996. DOI: 10.1017/S0014479700001526.
- [7] A. Joshi y J. R. Witcombe, *Experimental Agriculture*, vol. 32, n.º 4, págs. 461-477, 1996. DOI: 10.1017/S0014479700001538.
- [8] P. J. Bradbury, Z. Zhang, D. E. Kroon, T. M. Casstevens, Y. Ramdoss y E. S. Buckler, *Bioinformatics*, vol. 23, n.º 19, págs. 2633-2635, oct. de 2007, ISSN: 1367-4803. DOI: 10.1093/bioinformatics/btm308. dirección: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm308>.
- [9] J. J. M. Guadarrama, Accepted: 2019-05-29T11:22:56Z, Tesis doct., El autor, mayo de 2019. dirección: <http://riaa.uaem.mx/xmlui/handle/20.500.12055/750>.