

Identificación molecular del gen de la *Trehalosa-6-fosfato Sintetasa* (TPS) en el maíz raza San Jerónimo

Molecular identification of *trehalose-6-phosphate synthetase* (TPS) gene in San Jerónimo corn

Medina, Rocio d.¹ y Román, Nicolás .¹

DOI: 10.26490/pucag.20261.2507

¹ Universidad Nacional del Centro del Perú, Facultad de Agronomía, Huancayo, Perú.

Resumen: Las heladas son una de las principales causas de pérdidas económicas de grandes extensiones de cultivo de maíz en el Valle del Mantaro y la trehalosa es un azúcar no reductor formado por dos glucosas con enlace glucosídico α, α -1,1 que protegen a las plantas de diferentes tipos de estrés como las bajas temperaturas. Es por ello que esta investigación tuvo por objetivo determinar la presencia del gen de la trehalosa-6-fosfato sintetasa (TPS) en el maíz raza San Jerónimo; para lo cual se sembraron los maíces en bolsas de plástico en sustrato preparado con tierra agrícola de la zona, arena y tierra negra. Las plantas se cultivaron hasta los 3 meses, se expusieron a 4°C por 1h y luego se tomaron muestras de hojas cada hora por 12h. Se realizó la extracción de ARN de dos formas: con el Kit Gene Jet RNA purification complementado con DTT y con TriReagent, se purificaron las muestras con DNase I, RNA free, la retrotranscripción se hizo con el kit Revert Aid utilizando OligoDT, se cuantificaron las muestras de ARN y ADNc con nanodrop y se verificó la calidad con electroforesis. Para la PCR se utilizó la Platinum Taq DNA Polymerase. No se logró determinar la presencia del gen de la trehalosa-6-fosfato (TPS) en el maíz raza San Jerónimo pero si ajustar el protocolo de identificación molecular del gen de la trehalosa-6-fosfato sintetasa en el Maíz raza San Jerónimo hasta la retrotranscripción del ARN.

Palabras clave: maíz, Zea mays, maíz raza San Jerónimo, trehalosa, identificación molecular.

Abstract: Las heladas son una de las principales causas de pérdidas económicas de grandes extensiones de cultivo de maíz en el Valle del Mantaro y la trehalosa es un azúcar no reductor formado por dos glucosas con enlace glucosídico α, α -1,1 que protegen a las plantas de diferentes tipos de estrés como las bajas temperaturas. Es por ello que esta investigación tuvo por objetivo determinar la presencia del gen de la trehalosa-6-fosfato sintetasa (TPS) en el maíz raza San Jerónimo; para lo cual se sembraron los maíces en bolsas de plástico en sustrato preparado con tierra agrícola de la zona, arena y tierra negra. Las plantas se cultivaron hasta los 3 meses, se expusieron a 4°C por 1h y luego se tomaron muestras de hojas cada hora por 12h. Se realizó la extracción de ARN de dos formas: con el Kit Gene Jet RNA purification complementado con DTT y con TriReagent, se purificaron las muestras con DNase I, RNA free, la retrotranscripción se hizo con el kit Revert Aid utilizando OligoDT, se cuantificaron las muestras de ARN y ADNc con nanodrop y se verificó la calidad con electroforesis. Para la PCR se utilizó la Platinum Taq DNA Polymerase. No se logró determinar la presencia del gen de la trehalosa-6-fosfato (TPS) en el maíz raza San Jerónimo pero si ajustar el protocolo de identificación molecular del gen de la trehalosa-6-fosfato sintetasa en el Maíz raza San Jerónimo hasta la retrotranscripción del ARN.

Keywords: maize, Zea mays, San Jerónimo maize variety, trehalose, molecular identification.



Referencia: Medina, R. d, y Román, N. . (2026). Identificación molecular del gen de la *Trehalosa-6-fosfato Sintetasa* (TPS) en el maíz raza San Jerónimo. *Prospectiva Universitaria en Ciencias Agrarias*, 7(1), 15–22. <https://doi.org/10.26490/pucag.20261.2507>

Recibido: 29 de setiembre de 2025

Aceptado: 20 de mayo de 2026

Publicado: 30 de junio de 2026

Prospectiva Universitaria en Ciencias Agrarias. Vol. 7, núm. 1, enero a junio, 2026. Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons



CC BY 4.0

Attribution 4.0 International

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

1. Introducción

La trehalosa es un azúcar no reductor formado por dos glucosas con enlaces que les permiten una mayor estabilidad frente a los diferentes factores de estrés en algunos microorganismos y plantas tales como sequía, bajas temperaturas y otros (Mascorro-Gallardo et al., 2005, p. 193-195). Leloir describió por primera vez las rutas metabólicas de la trehalosa en *Saccharomyces cerevisiae* donde intervenían dos enzimas en su síntesis la trehalosa-6-fosfato sintetasa (TPS) y la trehalosa-6-fosfato fosfatasa (TPP) (Mascorro-Gallardo et al., 2005, p. 193). En las bacterias se lograron identificar hasta cinco rutas metabólicas mientras en el maíz sólo una, la vía TPS/TPP (Figueroa, 2019). En la vía TPS/TPP la TPS produce trehalosa-6-fosfato (T-6-P) a base de la glucosa-6-fosfato y UDP-glucosa, luego la TPP desfosforila la T-6-P convirtiéndola en trehalosa (Mascorro-Gallardo et al., 2005). La trehalosa ha sido estudiada en microorganismos y diversos cultivos debido a sus propiedades como agente protector frente a las condiciones ambientales adversas y actualmente se está estudiando su posible rol como molécula señalizadora del estrés en el maíz y otros cultivos (Joczyk et al., 2017). En un estudio realizado por la Dra. Acosta (2020), titulado Aislamiento y caracterización molecular de los genes trehalosa-6-fosfato sintetasa (TPS) y trehalosa-6-fosfato fosfatasa (TPP) y su relación en la tolerancia a estrés abiótico en plántulas de maíz (*Zea mays*) menciona que obtuvieron ADNc de TPS y TPP en líneas de maíz resistentes y susceptibles sometidas a estrés hídrico y osmótico por 72 h. Además, encontró que se produjo una mayor expresión de este gen a las 0.5 horas en líneas resistentes y de 1 hasta 4 horas después en las susceptibles. (p.xiii). Según Nuñez-Muñoz et al. (2021), la trehalosa en los microorganismos interviene en la síntesis, almacén y transporte de carbohidratos, así como osmoprotector ante diferentes tipos de estrés como sequía, choque osmótico, salinidad, oxidación, congelación y radiación (e18770051). Agreda-Laguna et al. (2018), demostraron que la inhibición de la trehalasa genera una mejor respuesta del maíz frente a las bajas temperaturas y al estrés hídrico e incluso un mayor crecimiento y fotosíntesis. (p.1009) La gran estabilidad de la trehalosa frente a los diferentes factores adversos se debe a que posee un enlace glicosídico de gran energía, 4.184 kJ/mol. 1. (Mascorro-Gallardo et al., 2005). Luo et al. (2021) demostraron que la trehalosa aplicada externamente al maíz le permite mejorar el transporte de electrones durante el estrés por calor (p.857). Ramazan et al. (2021) encontraron que dos genotipos diferentes de maíz acumularon casi la misma cantidad de trehalosa

en condiciones normales, pero a bajas temperaturas fueron diferentes en la cantidad y tiempo de acumulación (p.1400). La síntesis y degradación de la trehalosa está condicionada por el frío en el maíz y se cree que pueda actuar como un osmoregulador, así como en la señalización del estrés y regulación del metabolismo frente al estrés por frío y sequía en el maíz (Joczyk et al., 2017). Debido a las similitudes y diferencias entre los módulos genéticos de maíz y *Arabidopsis* se han podido estudiar genes del maíz con esta planta modelo y se ha encontrado que la máxima expresión de la trehalosa es en las últimas etapas (Ma et al., 2017). La TPS y la TPP están codificadas por varios genes de los cuales 37 ya se han identificado y mostrado que cada uno se expresa en diferentes etapas y partes de la planta (Zhou et al., 2014, p.256-259). Acosta (2020) extrajo ARN de maíz en estrés hídrico, según el protocolo de Stiekema et al. 1988. Luego realizó la retrotranscripción para obtener el ADNc con el kit High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA) según las indicaciones del fabricante utilizando oligodT (p.15). Zhou et al., (2014), extrajeron ARN con Trizol (Takara) bajo las instrucciones del fabricante. Luego, para obtener el cDNA utilizaron 1 µg de RNA total con el kit Prime Script™ RT reagent con gDNA Eraser para qRT-PCR y analizaron los datos de la qRT-PCR con el método 2-Ct (p.259). Jiang et al. (2010) aislaron ARN con TRIzol (Invitrogen, EE. UU.) y la retrotranscripción con el kit PrimeScript RT (Takara, China) según las instrucciones de los fabricantes (p.35). Ramazan et al. (2021) obtuvieron el ARN del maíz con Trizol (Invitrogen, Carlsbad, CA), midieron la calidad mediante electroforesis en gel de agarosa desnaturante al 1.2% y con espectrofotometría en los parámetros A260/A280 (1,8 a 2,1) y A260/A230 (2,0 a 2,2). Luego obtuvieron el ADNc de primera hebra con el kit Revert Aid (Thermo-Fisher Scientific) siguiendo las instrucciones de los fabricantes y almacenaron el ADNc a -20°C hasta su uso (p.1397). Acosta (2020), para amplificar el gen TPS-2 utilizó: F-ATGGTTCTGAAGTCGCACACA y RTCAGCTGCTTTGTTCCATCTGA, y para el gen TPS-3: FATGTCGCGGGTGATGACG y R-CTAAGACCCTCCAATTGGTGT. Realizó la PCR con el kit Platinum Taq DNA Polymerase (Invitrogen, Waltham, MA, USA) y los productos fueron secuenciados por servicio externo (p.15). El ARN total de quinua se extrajo con el reactivo TRI reagent, que utiliza el fenol como principio activo (INIA, 2020).

Según el MINAM (2018) Una raza es un conjunto de individuos que tienen morfología y adaptación parecidas y que poseen algunos caracteres que permiten

a los agricultores y consumidores tratarlas como iguales (p.99). Blas y Sevilla (2022) mostraron que el Perú cuenta con 52 razas de maíz (p.15). Primero se tiene una colección de todos los ejemplares de maíz de la zona y luego se separa en razas. Las razas tienen muchos rasgos o características en común y dentro de una raza pueden existir varios cultivares que se diferencian por pocas o incluso una sola característica (MINAM, 2018). El maíz raza San Jerónimo pertenece a las razas imperfectamente definidas las cuales están muy bien caracterizadas, tienen una limitada dispersión geográfica y algunas parecen estar en una etapa inicial de desarrollo. Es una planta de altura baja y algo precoz, con 9 a 11 hojas pequeñas y angostas, la planta es de color rojo sol, la mazorca está en posición muy baja. La panoja es de tamaño intermedio, poco ramificada, las mazorcas tienen forma de granada, con granos dispuestos irregularmente, harinosos, redondos y blancos. Podemos encontrarla entre Huancayo y Jauja, en el valle del Mantaro alrededor de los 3,200 msnm. El distrito de San Jerónimo cerca de Huancayo es su centro de distribución (Salhuana, 2004, p.28-29). Una helada meteorológica ocurre cuando la temperatura del aire disminuye a 0°C o menos de 0°C. Mientras la helada agrometeorológica sucede cuando la temperatura del aire disminuye a niveles críticos para los cultivos causando la muerte de los tejidos, pudiendo ser temperaturas mayores a 0°C. (SENAMHI, 2022).

En la actualidad aún no existen estudios específicos que demuestren la presencia del gen de la trehalosa-6-fosfato sintetasa en el maíz raza San Jerónimo la cual es una raza bastante conservada con características bien definidas y propia de una zona específica del Valle del Mantaro en el Perú, la mayoría de los estudios realizados en identificación y análisis del gen de la trehalosa-6-fosfato sintetasa los han realizado en diferentes variedades de otras zonas y países. Además, en este estudio se enfocó la síntesis de la trehalosa frente a bajas temperaturas por ser uno de los factores climáticos que más afecta a los cultivos de maíz en la zona.

El maíz raza San Jerónimo es una planta adaptada a crecer en altura y a las condiciones climáticas andinas es por ello que se escogió trabajar con él en este estudio ya que el principal factor climático de estrés en el cultivo de maíz en estas zonas son las heladas.

Ya existen estudios sobre los genes de la TPS y TPP en algunas variedades de maíz donde se han observado diferencias en su expresión, es por ello que se realizó este estudio con el fin de determinar la presencia del gen de la trehalosa-6-fosfato sintetasa (TPS) en el maíz raza San Jerónimo, propio de la zona del Valle del Mantaro, ya que es altamente susceptible a las heladas.

2. Métodos

Esta investigación se desarrolló en los laboratorios del Programa de Biotecnología e Ingeniería Genética (PBIG) y el laboratorio de Fitopatología en la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional del Centro del Perú (FAG-UNCP) en el Distrito El Mantaro, Jauja durante 2023-2025. Es una investigación del tipo aplicada descriptiva cuantitativa y cualitativa.

2.1. Procedimiento

Se preparó el sustrato mezclando tres partes iguales de arena, tierra negra y tierra agrícola de la zona, se mezcló bien y se rellenaron las bolsas almaciguerras de 8x12x2 dobladas y etiquetadas. Se regaron y se sembraron 10 bolsas de 2 variedades de maíz raza San Jerónimo. Se regaron las plantas interdiario ya que fueron cultivadas en condiciones ambientales normales.

2.2. Muestra

Para la selección de la muestra, se procedió de la siguiente forma. Cuando las plantas empezaron su etapa de floración se expuso a las plantas a frío (4°C) durante 40 min. Luego se expusieron a condiciones ambientales normales. Se tomaron muestras de hojas de 1 a 12 horas después de la exposición en una bolsa con cierre hermético y se guardaron en la refrigeradora por máximo un día.

Se limpiaron las hojas con papel toalla humedecida con agua destilada, se cortaron y se molieron en un mortero con nitrógeno líquido hasta que se obtuvo un polvo que con el tiempo se iba poniendo pastosa por eso inmediatamente se traspasó a papel platino y se pesaron 50-70mg de muestra por tubo, luego con la ayuda de una hoja de bisturí estéril se traspasó a los microtubos rotulados.

2.2.1. Extracción de ARN con Kit Gene Jet RNA purification

Se realizó la extracción de ARN de maíz con el Kit Gene Jet RNA purification según protocolo del fabricante manteniendo la cadena de frío al colocar los microtubos dentro de una bandeja de hielo y se le agrego el DTT 2M a la solución de lisis tal como recomendaba el mismo protocolo. Se utilizaron soluciones recién preparadas de DTT 2M para lo cual se utilizó 3.1mg (0.0031g) de DTT y 10ul de agua para PCR libre de nucleasas por cada reacción. Se preparó una solución stock para 10 reacciones. Se verificó la total disolución del DTT 2M luego de llevar a vórtex y centrifugar. Se mezcló con el buffer de lisis para 10 reacciones evitando hacer burbujas y se agregó 510ul a cada muestra. Luego se prosiguió con el protocolo de extracción según el fabricante del Kit Gen Jet RNA Purification man-

teniendo siempre la cadena de frío. El ARN obtenido se almacena en una congeladora a -20°C .

2.2.2. Extracción de ARN con Tri Reagent

Se utilizaron los reactivos fríos y se mantuvo la cadena de frío. 1). Se agregaron 1000ul de Trizol a cada muestra, se homogenizaron las muestras pipeteando y se mantuvieron los microtubos en una cubeta con hielo. 2). Se centrifugo el lisado por 5min a 12000g a 4°C y luego se transfirió el sobrenadante a un microtubo estéril libre de nucleasas. 3). Se dejaron las muestras 5min en la cubeta con hielo para terminar de completar la disociación de complejos de nucleoproteínas 4). Se agregaron 200ul de Cloroformo a cada muestra, se cerraron bien los microtubos y se mezcló vigorosamente por inversión 5). Se dejó incubar en la cubeta de hielo por 2-3 min 6). Se centrifugaron las muestras por 15 min a 12000 g a 4°C . Se separaron en fases. 7). Se transfirió la fase acuosa superior transparente que contenía el ARN a un nuevo microtubo estéril libre de nucleasas con la micropipeta en un ángulo de 45° cuidando de no extraer la interfase 8). Se agregaron 500ul de Isopropanol a la fase acuosa y se mezcló bien pipeteando 9). Se incubo por 10min a 4°C . 10). Se centrifugo por 10min a 12000g a 4°C y el ARN se precipito en forma de pellet (se ve como un punto blanco) en la base del microtubo 11). Se descartó el sobrenadante con la micropipeta. Una vez extraído todo el sobrenadante se extrajo el pellet y se traspasó a un microtubo nuevo con la ayuda de la micropipeta para tenerlo más puro 12). Se resuspendió el pellet en 1ml de etanol al 75% 13). Se llevaron las muestras a Vortex brevemente, luego se centrifugaron por 5min a 7500g a 4°C 19. Se descartó el sobrenadante con una micropipeta 14). Se dejó abiertos los microtubos para que el pellet de ARN se seque por 5-10 min. 15). Se resuspendió los pellets en 20-50ul de agua libre de nucleasas 16). Se incubo a 55°C por 15min en la incubadora 17). Se guardaron las muestras en la congeladora a -20°C aunque se recomienda si es por más de una semana mejor en la ultracongeladora a -70°C

2.2.3. Purificación del ARN con DNase I, RNase free

Se realizó la Purificación del ARN de ADN genómico con el Kit DNase I, RNase free Thermo Scientific siguiendo los pasos según el protocolo del fabricante utilizando el EDTA 50mM. Se centrifugaron los reactivos antes de utilizarlos a 10000 se almacenaron las muestras en la congeladora a -20°C .

2.2.4. Síntesis de ADNc

Se centrifugaron los reactivos a 10000 RPM por 5 min y se guardaron en una cubeta con hielo para mantener la cadena de frío y se siguieron los pasos según protocolo del fabricante del Kit Revert Aid de Thermo Scientific utilizando Oligo (DT)18. El ADNc obtenido se almacena a -20°C . Se realizó la cuantificación en el nanodrop y se consideraron óptimas las muestras con un valor de 1.8 a 2 en las relaciones A260/A280 y A260/A230.

2.3. Mediciones

2.3.1. Cuantificación con Nanodrop

Las muestras de ARN debían tener un valor de 2 a 2.2 en las relaciones A260/A280 y A260/A230 y las muestras de ADN un valor de 1.8 a 2 en las relaciones A260/A280 y A260/A230

2.3.2. Electroforesis del ARN y ADNc

Se preparo el gel de agarosa al 2% para las muestras de ARN y al 1.7% para las muestras de ADN y se diluyeron en buffer TAE 1X. Se utilizo el marcador molecular Gene Ruler 100bp y gel Red. El gel Red se aplico directamente al gel de agarosa antes de que gelifique. Las muestras se corrieron a 100V para el ARN y 150V para el ADNc por 30 min.

2.3.3. PCR con Kit Taq Platinum

Para la PCR se utilizaron los primers TPS-2: F-ATGGTTCTGAAGTCGCACACA y R-TCAGCTGCTTTGTTCCATCTGA y TPS-3: F-ATGTCGCGGGTGATGACG y R-CTAAGACCCTCCAATTGGTGT y el Primer 1 (Gen de referencia Subunidad ribosomal mayor): F-CTGAGAAACGGCTACCACA y R-CC-CAAGGTCCAACACTACGAG. Se bajo la concentración de los primers de 100 a 10uMol. Se siguió el protocolo del fabricante del Kit Taq Platinum DNA polimerasa de Invitrogen. Para el termociclado se realizó 1 ciclo de desnaturalización inicial a 94°C por 2 min., 30 ciclos de la segunda etapa para desnaturalización 94°C por 30 segundos, anillamiento a 55°C por 30 segundos, extensión a 72°C por 2.5 min. Y una tercera etapa de 1 ciclo de espera a 4°C por tiempo infinito.

3. Resultados

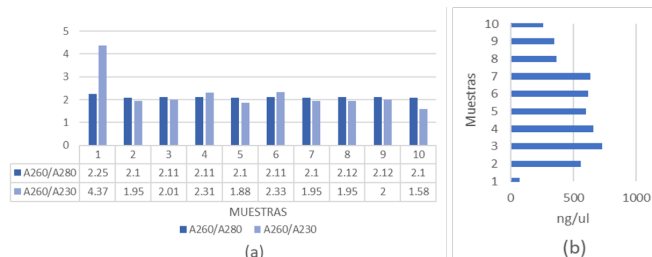
3.1. Cuantificación de Muestras de ARN

Se obtuvo una buena calidad de muestras de ARN total extraído de hojas de maíz de la raza San Jerónimo debido a que se encuentran en el ratio 2 a 2.2 en las relaciones A260/A280 y A260/A230 a excepción de las

muestras 1 y 10 las cual fueron descartadas para los siguientes pasos.

Figura 1

Cuantificación de las muestras de ARN



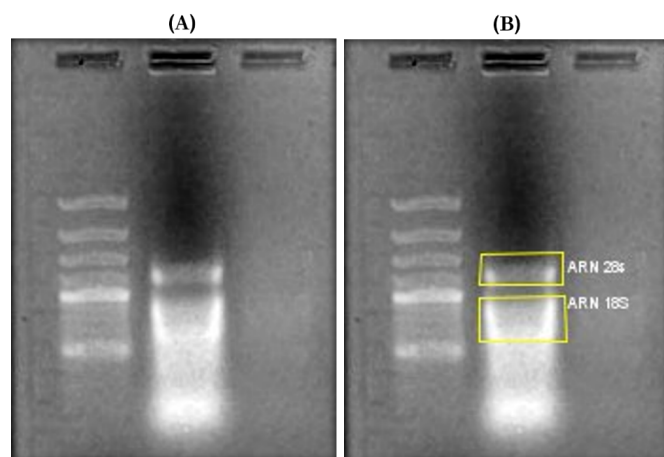
Nota. a) Se muestran las relaciones A260/A280 y A260/A230. b) Se muestra la cantidad de ARN por muestra.

3.2. Electroforesis de ARN total en gel de agarosa al 2% de hojas de maíz raza San Jerónimo

En la Figura 2 se pueden observar las dos bandas correspondientes a las sub unidades ribosomales 28s y 18S demostrando la calidad obtenida de ARN total mediante el método del trizol utilizando el reactivo Tri Reagent.

Figura 2

Electroforesis de ARN de maíz San Jerónimo



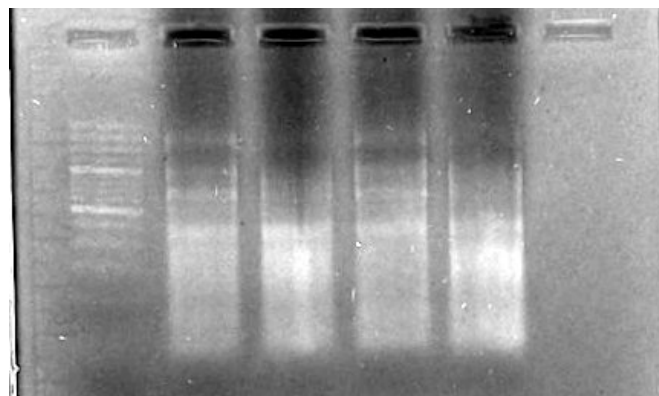
Nota. (a) Banda de ARN (b) Subunidades ribosomales 28S y 18S

3.3. Electroforesis de ADNc en gel de agarosa al 2% de hojas de maíz raza San Jerónimo

En la Figura 3. se observan ciertos patrones de bandas que muestran los genes presentes o ausentes en las diferentes variedades de maíz dentro de la raza San Jerónimo. Se observa un ADNc bastante integro y de buena calidad.

Figura 3

Electroforesis de ADNc en gel de agarosa al 2%

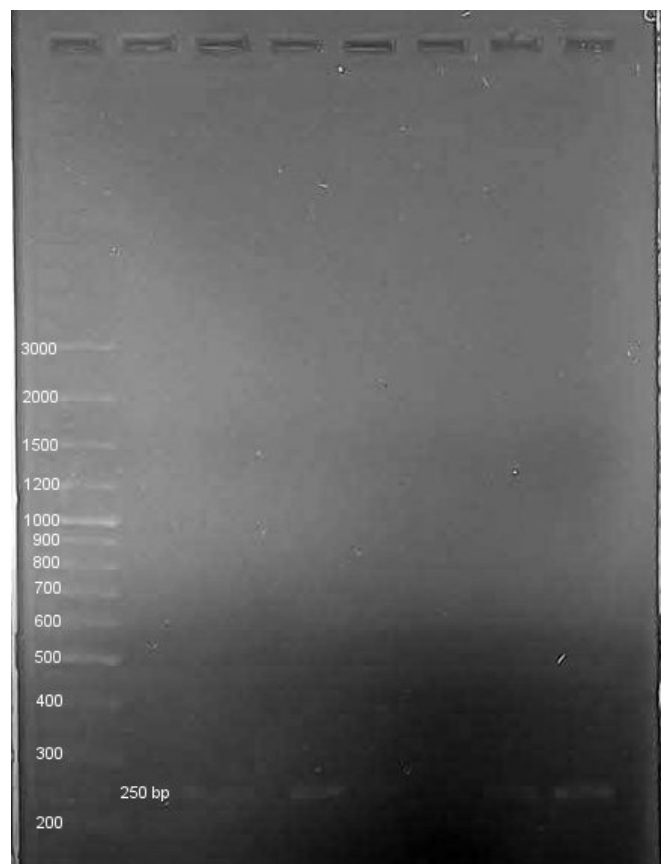


3.4. Electroforesis de producto de PCR en gel de agarosa al 2% de hojas de maíz raza San Jerónimo

No se logró detectar los genes TPS2 Y TPS3 con pesos moleculares aproximados de 2 Kb y 3Kb pero si se logró amplificar un producto de aproximadamente 250pb que no se llegó a identificar.

Figura 4

Electroforesis de producto de PCR



4. Discusión

En este trabajo de investigación se buscó identificar el gen de la trehalosa-6-fosfato sintetasa (TPS) en

el maíz raza San Jerónimo, para lo cual se expusieron las plantas a bajas temperaturas de 4°C simulando las condiciones ambientales de las heladas para promover su expresión. Tal como lo menciona Nuñez-Muñoz et al. (2021), la trehalosa actúa como un osmoprotector frente a las diferentes condiciones de estrés como congelación, sequía, salinidad, choque osmótico, oxidación y radiación en los microorganismos. (e18770051). Agreda-Laguna et al. (2018), demostraron que al inhibir la trehalasa el maíz tenía una mejor respuesta frente al estrés por bajas temperaturas y sequía e incluso mayor fotosíntesis y crecimiento. (p.1009)

Existen varios estudios que demuestran la presencia del gen de la Trehalosa-6-fosfato sintetasa (TPS) en el maíz como los estudios realizados en México con líneas de maíz mejorado con tolerancia a sequía por la Dra. Acosta (2020) donde identifico los genes codificantes de las enzimas productoras de trehalosa, la Trehalosa-6-fosfato sintetasa (TPS) y la trehalosa-6-fosfato fosfatasa (TPP), para lo cual diseño diferentes pares de primers de los cuales solo los pares correspondientes a la TPS fueron los que se utilizaron de igual forma en este estudio, sin embargo, en el presente trabajo de investigación no se logró obtener la amplificación de los productos de PCR esperados correspondientes a los genes TPS2 y TPS4 a pesar de haber utilizado el mismo Kit de PCR, Taq Platinum.

En esta investigación se simuló las condiciones ambientales de las heladas mediante el cultivo de maíces de la raza San Jerónimo en bolsas de plástico y luego exponiendo las plantas a condiciones de frío dentro de una refrigeradora a 4°C por una hora y exponiéndolas a la luz natural por diferentes rangos de horas y tomando las muestras entre 0 a 12 horas después de haber sido expuestas al frío. Ya que como menciona el SENAMHI (2022) las heladas agrometeorológicas ocurren cuando las bajas temperaturas empiezan a causar daño en los tejidos de las plantas (párr.1) es por ello que se trabajó con temperatura de 4°C la cual era la mínima temperatura alcanzada con el refrigerador.

El gen de la Trehalosa-6-fosfato sintetasa (TPS) es un gen que se expresa diferente en las diversas variedades de maíz y tal como lo menciona la Dra. Acosta (2020) puede estar relacionado a diferentes mecanismos de respuesta frente al estrés (p.80). Figueroa (2019) explica que la trehalosa se sintetiza cuando el organismo lo requiere, es decir, primero no hay síntesis en condiciones normales, luego, la célula es expuesta a alguna condición de estrés y se inicia la síntesis de la trehalosa, finalmente la célula se recupera de la condición de estrés y al tener una baja cantidad de glucosa se activa la trehalasa para transformar la trehalosa en

glucosas. (p.17). Esto explicaría que no se haya logrado identificar el gen de la TPS en el maíz raza San Jerónimo debido a que se tomó la muestra cuando aún no se había activado su síntesis o porque ya se había detenido. Esto también pudo estar influenciado por la falta de exposición de las plantas a la luz solar por suficiente tiempo para que realicen la fotosíntesis y se active la ruta metabólica secundaria de la síntesis de la trehalosa. Según el trabajo realizado por la Dra. Acosta (2020), la mayor expresión del gen de la trehalosa-6-fosfato fosfatasa (TPP) en líneas de maíz susceptibles y resistentes expuestas por 72h a estrés hídrico y osmótico ocurrió en el primer caso entre las 1 y 4 horas después de la exposición y en el segundo caso a la media hora. (p.xiii)

Para la extracción de ARN de las muestras de hojas de maíz expuestas 1 hora a condiciones de baja temperatura (4°C) se utilizaron dos métodos, la extracción con el Gene jet Purification RNA purification Kit a diferencia de Acosta (2020) que extrajo ARN según el protocolo de Stiekema et al., 1988. En esta investigación también se probó la extracción de ARN con Tri-Reagent de Thermo Fisher Scientific tal como Zhou et al., (2014), utilizaron Trizol (Takara) para la extracción de ARN bajo las instrucciones del fabricante, Jiang et al. (2010) utilizaron el TRIzol (Invitrogen, EE. UU.) y Ramazan et al. (2021) obtuvieron el ARN del maíz con el reactivo Trizol (Invitrogen, Carlsbad, CA).

Ramazan et al. (2021) obtuvieron el ARN del maíz con el reactivo Trizol (Invitrogen, Carlsbad, CA). Luego midieron la calidad mediante electroforesis en gel de agarosa desnaturalizante al 1.2% y con espectrofotometría en los parámetros A260/A280 (1,8 a 2,1) y A260/A230 (2,0 a 2,2). Y así como ellos lo hicieron también se midió la calidad de las muestras de ARN obtenidas con el nanodrop y se consideraron de buena calidad las muestras con valores para la relación A260/A280 y A260/A230 de 2 a 2.2, tomándose en mayor consideración la relación A260/A280 la cual determinaba si se trata realmente de ARN y no de ADN. Y porque el mismo equipo no mostraba alerta de contaminantes como tiocianato de guanidina, etanol o algún otro.

Para la retrotranscripción se utilizó al igual que Ramazan et al. (2021) el kit de síntesis de ADNc de primera hebra Revert Aid (Thermo-Fisher Scientific) siguiendo las instrucciones de los fabricantes y se almacenaron el ADNc a -20°C hasta su uso. (p.1397). En cambio, Jiang et al. (2010) realizaron la transcripción reversa con el kit PrimeScript RT (TakaRa, China) según las instrucciones de los fabricantes. (p.35). Y Acosta (2020), que realizó la transcripción reversa para ob-

tener el ADNc con el kit High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA) según las indicaciones del fabricante utilizando oligodT. (p.15). Pero al igual que Acosta (2020) también se utilizó el Oligo dt en la retrotranscripción.

En el presente estudio similar a Zhou et al., (2014), se utilizó 1ul de ARN molde con concentraciones cercanos a 1 ug/ul pero ellos utilizaron el kit Prime ScriptTMR Treagent con gDNA Eraser para qRT-PCR y luego analizaron los datos de la qRT-PCR con el método 2- Ct (p.259). A diferencia de Zhou et al., (2014), en esta investigación se utilizó el DNase I, RNA free de Thermo Scientific para la purificación del ARN obtenido de ADN genómico.

4.1. Conclusiones

No se logró determinar la presencia del gen de la trehalosa-6-fosfato sintetasa (TPS) en el maíz raza San Jerónimo pero si se logró ajustar el protocolo de identificación molecular del gen de la trehalosa-6-fosfato sintetasa (TPS) en el Maíz raza San Jerónimo hasta la

retrotranscripción del ARN. Por tanto, no se consiguió evaluar la similitud del gen de la trehalosa-6-fosfato sintetasa (TPS) del Maíz raza San Jerónimo y el Genebank

4.2. Financiación

"Esta investigación fue financiada por la Universidad Nacional del Centro del Perú, Resolución N° 1601-R-2023, CONTRATO N° 20".

4.3. Agradecimientos

Al ING. Gilberto Torres y al ING. Luis Simeón Galindo Meza por su colaboración con los permisos y asesoría en el uso de equipos en el Laboratorio de FITOPATOLOGÍA de la Facultad de Agronomía de la UNCP.

4.4. Conflictos de intereses

"Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses".

4.5. Contribución de los autores

RCNA: Conceptualización, Adquisición de financiación; Validación MQR: Investigación, Metodología; Resultados; Conclusiones; Recomendaciones.

Referencias

- Agreda-Laguna, K., Cabrera-Ponce, J., Ruiz-Medrano, R., Garzon-Tiznado, J., & Xoconostle-Cázares, B. (2018). Trehalose Accumulation Provides Drought Tolerance to Genetically-Modified Maize in Open Field Trials. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 55(4), 1009-1020. https://scholar.google.com/citations?view_op=view_citation&hl=es&user=gj3wDVwAAAAJ&citation_for_view=gj3wDVwAAAAJ:d1gkVwhDpl0C
- Blas, R., & Sevilla, R. (2022). Diversidad de maíz en el Perú. *XXIV Reunión Latinoamericana de Maíz*. <https://hdl.handle.net/20.500.12955/1752>
- Figueroa, E. J. (2019). *Análisis de la interacción de la síntesis de la trehalosa y la metacaspasa de Ustilago maydis en respuesta a estrés celular in vitro y la patogenicidad en el maíz* [Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Querétaro]. <http://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/1414>
- INIA. (2020). *Manual de procedimientos para estudios de transcriptomas en quinua*. Instituto Nacional de Innovación Agraria. https://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/20.500.12955/1063/6/Manual%2520de%2520procedimientos%2520para%2520estudios%2520de%2520transcriptomas%2520en%2520quinua_Actualizado.pdf
- Jiang, W., Fu, F.-L., Zhang, S.-Z., Wu, L., & Li, W.-C. (2010). Cloning and characterization of functional trehalose-6-phosphate synthase gene in maize. *Journal Of Plant Biology*, 53(2), 134-141. <https://doi.org/10.1007/s12374-010-9098-7>
- Joczyk, M., Sobkowiak, A., Trzcinska-Danielewicz, J., Skoneczny, M., Solecka, D., Fronk, J., & Sowiski, P. (2017). Global analysis of gene expression in maize leaves treated with low temperature. II. Combined effect of severe cold (8 °C) and circadian rhythm. *Plant Molecular Biology*, 95, 279-302. <https://doi.org/10.1007/s11103-017-0651-3>
- Luo, Y., Liu, X. Y., Fan, Y. Z., Fan, Y. H., Lv, Z. Y., Li, W. Q., & Gen, J. Y. (2021). Exogenously supplied trehalose accelerates photosynthetic electron transport in heat-stressed maize. *Russian Journal of Plant Physiology*, 68, 857-866. <https://doi.org/10.1134/S1021443721050113>
- Ma, S., Ding, Z., & Li, P. (2017). Maize network analysis revealed gene modules involved in development, nutrients utilization, metabolism, and stress response. *BMC Plant Biology*, 17, 131. <https://doi.org/10.1186/s12870-017-1077-4>
- Mascorro-Gallardo, J. O., Avonce, N., & Iturriaga, G. (2005). Biotecnología de la trehalosa en las plantas. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 11(2), 193-202. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2005.04.020>

- MINAM. (2018). *Línea de base de la diversidad genética del maíz peruano con fines de bioseguridad*. Ministerio del Ambiente. <https://bioseguridad.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2019/01/Linea-de-base-ma%25C3%25ADz-LowRes.pdf>
- Nuñez-Muñoz, L., Vargas-Hernández, B., Hinojosa-Moya, J., Ruiz-Medrano, R., & Xoconostle-Cázares, B. (2021). Plant drought tolerance provided through genome editing of the trehalase gene. *Plant Signaling & Behavior*, 16(4), 1877005. <https://doi.org/10.1080/15592324.2021.1877005>
- Ramazan, S., Qazi, H. A., Dar, Z. A., & John, R. (2021). Low temperature elicits differential biochemical and antioxidant responses in maize (*Zea mays*) genotypes with different susceptibility to low temperature stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 27, 1395-1412. <https://doi.org/10.1007/s12298-021-01020-3>
- SENAMHI. (2022). Clima/ heladas y friajes. *Servicio Nacional De Meteorología E Hidrología Del Perú*. <https://www.senamhi.gob.pe/?p=heladas-y-friajes-preguntas>