



Nombre del documento: Formato para Solicitud de Residencias Profesionales

Código: ITTJ-AC-PO-007-01

Revisión: 01

Referencia a la Norma ISO 9001:2015 8.5.1

Página 1 de 2

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TLAJOMULCO.
DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES
RESIDENCIAS PROFESIONALES
SOLICITUD DE RESIDENCIAS PROFESIONALES

Lugar: Tlajomulco de Zuñiga Jalisco Fecha: 31 Mayo 2019
C. Erick Lopez Carrillo AT'N: C. Miguel Hernandez Flores
Jefe(a) de la Div. de Estudios Profesionales Coord. de la Carrera de Ingeniería en Innovación Agrícola Sustentable

NOMBRE DEL PROYECTO:

Detección de resistencia a virus en una colección de porotos chilenos a través de PCR

OPCION ELEGIDA:

Banco de Proyectos

Propuesta propia

Trabajador

PERIODO PROYECTADO:

Agosto-Diciembre

No. de Residentes

1

Datos de la empresa:

Nombre:	Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA)		
Giro, Ramo: o Sector:	Industrial () Servicios () Otro () (11) Público (X) Privado ()	R.F.C.	61.312.000-9
Domicilio:	Vicente Méndez 515, Chillan, Chillán, Región del Bío Bío, Chile		
Colonia:	Quilamapu	C. P	3780000
		Correo electrónico:	morellan@inia.cl
Ciudad:	Chillán	Teléfono (no celular)	(56-42) 220 6800
Misión de la Empresa:	Generar y transferir conocimientos y tecnologías estratégicas a escala global, para producir innovación y mejorar la competitividad del sector agroalimentario.		
Nombre del Titular de la empresa:	Rodrigo Avilés Rodríguez	Puesto:	Director Regional
Nombre del Asesor Externo:	Gerardo Marcelo Tapia San Martin	Puesto:	Investigador
Nombre de la persona que firmará el acuerdo de trabajo. Estudiante-Escuela-Empresa	Rodrigo Avilés Rodríguez	Puesto:	Director Regional

Datos del Residente:

Nombre:	José Armando Ruiz Páez		
Carrera:	Ingeniería en Innovación Agrícola Sustentable	No. de control:	15940014
Domicilio:	Jazmín 9 Rinconada del Valle		
E-mail:	arm-rizpaz77@protonmail.com	Para Seguridad Social acudir	ISSSTE () IMSS (X) OTROS () No. De seguridad social: 26179722777
Ciudad:	Tlajomulco de Zuñiga	Teléfono: (no celular)	3915 4469


Firma del estudiante



EDUCACIÓN

SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Tlajomulco

"2019, Año del Caudillo del Sur, Emiliano Zapata"

DIRECCIÓN
SUBDIRECCIÓN DE PLANEACIÓN Y VINCULACIÓN
Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco, 27/Junio/2019

No. DE OFICIO: D.SPV/405/2019
ASUNTO: Residencia profesional en el INIA Chile

A QUIEN CORRESPONDA.

PRESENTE

Por este medio y con el fin de apoyar el procedimiento de residencia profesional, que es una estancia correspondiente al noveno semestre de la carrera de ingeniería en Innovación Agrícola Sustentable. Le informo que el alumno José Armando Ruiz Páez con número de control 15940014, registrado en la carrera antes mencionada, requiere realizar en el país de Chile el proceso mencionado, para participar en un proyecto de investigación denominado Detección de resistencia a virus en una colección de porotos chilenos a través de PCR con el Dr. Gerardo Tapia San Martín del instituto de investigaciones agropecuarias para con ello concluir su formación de Ingeniero en Innovación Agrícola Sustentable.

Sin más por el momento y esperando el apoyo de su parte para con la institución y el alumno agradezco de sobremanera su atención.

ATENTAMENTE

*Excelencia en Educación Tecnológica®
Educar para la Sociedad Actual y los Retos del Futuro*

**M.C. MARÍA ISABEL BECERRA RODRÍGUEZ
DIRECTORA DEL PLANTEL**



S.E.P.
TECNM
4DIT00031
TLAJOMULCO

DIRECCIÓN

C.c.p.- Expediente.

MIBR/RCI/AFC





INIA

**Pasantía Laboratorio Recursos Genéticos
Centro Regional de Investigación QUILAMAPU
Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA)**

A QUIEN CORRESPONDA

Mediante la presente, se extiende invitación al Sr. **José Armando Ruíz Páez**, quien opta al título de Ingeniero en Innovación Agrícola Sustentable, estudios realizados en el Instituto Tecnológico de Tlajomulco (Jalisco - México) para realizar una pasantía en el Laboratorio de Recursos Genéticos en el Centro Regional de Investigación Quilamapu - Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), a contar del 5 de Agosto al 7 de Diciembre del 2019.

Durante su estadía el Sr. Ruiz abordará aspectos relacionados a la detección de la presencia de genes de resistencia (Gen I y BC3) a virus mosaico común del poroto en colecciones existentes en el banco de germoplasma de INIA-Quilamapu.

En el período de permanencia en INIA-QUILAMAPU, el Sr. Ruíz será guiado y supervisado por el Dr. **Gerardo Tapia San Martín**, responsable del Laboratorio de Recursos Genéticos.



Luis Inostroza F.
Subdirector de Investigación y Desarrollo
INIA Quilamapu

Chillán, Chile, 01 Julio de 2019

Instituto de
Investigaciones
Agropecuarias

Ministerio de Agricultura

INIA Quilamapu: Avda. Vicente Méndez 515, Chillán. Casilla 426
Tel: +56 42 220 6800

	Nombre del documento: Formato para Seguimiento de Proyecto de Residencias Profesionales	Código: ITTJ-AC-PO-007-07
	Referencia a la Norma ISO 9001:2015 8.5.1	Revisión: 01
		Página 1 de 2

**INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TLAJOMULCO, JAL.
SUBDIRECCIÓN ACADÉMICA
DEPARTAMENTO DE AGRONOMÍA
SEGUIMIENTO DE PROYECTO DE RESIDENCIAS PROFESIONALES**

ESTUDIANTE: RUIZ PÁEZ JOSÉ ARMANDO	No. DE CONTROL: 15940014
NOMBRE DEL PROYECTO: DETECCIÓN DE RESISTENCIA A VIRUS EN UN COLECCIÓN DE POROTOS CHILENOS A TRAVÉS DE PCR	EMPRESA: INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS (INIA) QUILAMAPU
ASESOR EXTERNO: DR. GERARDO TAPIA S.M.	ASESOR INTERNO: ING. MIGUEL HERNÁNDEZ FLORES
PERIODO DE REALIZACIÓN: 04 DE AGOSTO AL 04 DE DICIEMBRE DEL 2019	

ACTIVIDAD	SEMANAS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16					
		EXTRACCIÓN ADN DE PLANTAS	P	■	■	■	■															
	R	■	■	■	■																	
CUANTIFICACIÓN DE ADN Y GELES	P				■	■	■															
	R				■	■	■															
PCR Y ELECTROFORESIS	P						■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■					
	R						■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■					
RFLP Y ELECTROFORESIS	P								■	■	■	■	■	■	■	■	■					
	R								■	■	■	■	■	■	■	■	■					
INFORME FINAL DEL PROYECTO	P																■					
	R																■					
OBSERVACIONES																						
ENTREGA DE REPORTES Y/O EVIDENCIA	Asesor interno MIGUEL HERNÁNDEZ 	Firma: 	Fecha: 07/09/19						Firma: 	Fecha: 15/10/19						Firma: 	Fecha: 29/11/19					
	Estudiante J. ARMANDO RUIZ 	Firma: 	Fecha: 07/09/19						Firma: 	Fecha: 15/10/19						Firma: 	Fecha: 29/11/19					
	Jefe Depto. Académico MIGUEL HERNÁNDEZ 	Firma: 	Fecha: 07/09/19						Firma: 	Fecha: 15/10/19						Firma: 	Fecha: 29/11/19					



Nombre del documento: Evaluación del Reporte Final de Residencia Profesional Referencia a la Norma ISO 9001:2015 8.5.1	Código: ITTJ-AC-PO-007-06
	Revisión: 01
Página 1 de 1	

EVALUACIÓN DE REPORTE DE RESIDENCIA PROFESIONAL

Nombre del Residente: JOSÉ ARMANDO RUIZ PÁEZ Número de control 5940014
 Nombre del proyecto: DETECCIÓN DE RESISTENCIA A VIRUS EN UNA COLECCIÓN DE POROTOS CHILENOS A TRAVÉS DE PCR
 Programa Educativo: INGENIERÍA EN INNOVACIÓN AGRÍCOLA SUSTENTABLE
 Periodo de realización de la Residencia Profesional: AGOSTO-DICIEMBRE 2019
 Calificación Final (promedio de ambas evaluaciones):

En qué medida el residente cumple con lo siguiente

Evaluación por el asesor externo	Criterios a evaluar	Valor	Evaluación
		2	2
2	2		
2	2		
2	2		
2	2		
5	3		
5	5		
5	5		
10	10		
5	5		
40	35		
15	15		
3	3		
2	2		
Calificación total		100	93



Observaciones:

Nombre y firma del asesor externo GERARDO TAPIA SAN MARTIN	Sello de la empresa, organismo o dependencia	Fecha de Evaluación
--	--	---------------------

En qué medida el residente cumple con lo siguiente

Evaluación por el asesor interno	Criterios a evaluar	Valor	Evaluación
		2	2
2	2		
2	2		
2	2		
2	2		
5	5		
5	5		
5	5		
10	10		
5	5		
40	40		
15	15		
3	3		
2	2		
Calificación total		100	100

Observaciones:

Nombre y firma del asesor interno MIGUEL HERNANDEZ FLORES	Sello de la Institución S.E.P. TECNM TLAJOMULCO	Fecha de Evaluación
---	--	---------------------

Considerar los criterios a evaluar que correspondan a cada programa educativo y de acuerdo a la naturaleza del proyecto



Nombre del documento: Evaluación de seguimiento del proyecto de residencias profesionales

Código: ITTJ-AC-PO-007-05

Revisión: 02

Referencia a la Norma ISO 9001:2015
8.5.1

Página 1 de 1

EVALUACIÓN Y SEGUIMIENTO DE RESIDENCIA PROFESIONAL

Nombre del Residente: RUIZ PÁEZ JOSÉ ARMANDO Número de control: 15940014

Nombre del proyecto: DETECCIÓN DE RESISTENCIA A VIRUS EN UNA COLECCIÓN DE POROTOS CHILENOS A TRAVÉS DE PCR

Programa Educativo: INGENIERÍA EN INNOVACIÓN AGRÍCOLA SUSTENTABLE

Periodo de realización de la Residencia Profesional: OCTUBRE-DICIEMBRE 2019

Calificación Parcial (promedio de ambas evaluaciones ponderado a 20% de cal. final): _____

En qué medida el residente cumple con lo siguiente:

Criterios a evaluar		Valor	Evaluación
Evaluación por el asesor externo	Asiste puntualmente en el horario establecido	5	5
	Trabaja en equipo y se comunica de forma efectiva (oral y escrita)	10	9
	Tiene iniciativa para colaborar	5	5
	Propone mejoras al proyecto	10	9
	Cumple con los objetivos correspondientes al proyecto	15	15
	Es ordenado y cumple satisfactoriamente con las actividades encomendadas en los tiempos establecidos del cronograma	15	15
	Demuestra liderazgo en su actuar	10	10
	Demuestra conocimiento en el área de su especialidad	20	18
	Demuestra un comportamiento ético (es disciplinado, acata órdenes, respeta a sus compañeros de trabajo, entre otros)	10	10
Calificación total		100	96



Observaciones:

DR. GERARDO TAPIA S.M.
Nombre y firma del asesor externo

Sello de la empresa, organismo o dependencia

29/11/2019
Fecha de Evaluación

En qué medida el residente cumple con lo siguiente

Criterios a evaluar		Valor	Evaluación
Evaluación por el asesor interno	Asistió puntualmente a las reuniones de asesoría	10	10
	Demuestra conocimiento en el área de su especialidad	20	20
	Trabaja en equipo y se comunica de forma efectiva (oral y escrita)	15	15
	Es dedicado y proactivo en las actividades encomendadas	20	20
	Es ordenado y cumple satisfactoriamente con las actividades encomendadas en los tiempos establecidos en el cronograma	20	20
	Propone mejoras al proyecto	15	15
Calificación total		100	100

Observaciones:



ING. MIGUEL HERNÁNDEZ FLORES
Nombre y firma del asesor interno

S.E.P.
Sello de la Institución

Fecha de Evaluación

4DIT00031
TLAJOMULCO

DIRECCIÓN



Nombre del documento: Evaluación de seguimiento del proyecto de residencias profesionales	Código: ITTJ-AC-PO-007-05
	Revisión: 01
Referencia a la Norma ISO 9001:2015 8.5.1	Página 1 de 1

EVALUACIÓN Y SEGUIMIENTO DE RESIDENCIA PROFESIONAL

Nombre del Residente: RUIZ PÁEZ JOSÉ ARMANDO Número de control: 15940014
 Nombre del proyecto: DETECCIÓN DE RESISTENCIA A VIRUS EN UNA COLECCIÓN DE POROTOS CHILENOS A TRAVÉS DE PCR
 Programa Educativo: INGENIERÍA EN INNOVACIÓN AGRÍCOLA SUSTENTABLE
 Periodo de realización de la Residencia Profesional: AGOSTO - OCTUBRE 2019
 Calificación Parcial (promedio de ambas evaluaciones ponderado a 20% de cal. final): _____

En qué medida el residente cumple con lo siguiente:

Evaluación por el asesor externo	Criterios a evaluar	Valor	Evaluación
		Asiste puntualmente en el horario establecido	5
	Trabaja en equipo y se comunica de forma efectiva (oral y escrita)	10	9
	Tiene iniciativa para colaborar	5	5
	Propone mejoras al proyecto	10	9
	Cumple con los objetivos correspondientes al proyecto	15	15
	Es ordenado y cumple satisfactoriamente con las actividades encomendadas en los tiempos establecidos del cronograma	15	15
	Demuestra liderazgo en su actuar	10	10
	Demuestra conocimiento en el área de su especialidad	20	18
	Demuestra un comportamiento ético (es disciplinado, acata órdenes, respeta a sus compañeros de trabajo, entre otros)	10	10
	Calificación total	100	96



Observaciones: _____

DR. GERARDO TAPIA S.M. Nombre y firma del asesor externo		Sello de la empresa, organismo o dependencia	29/11/2019 Fecha de Evaluación
---	--	--	-----------------------------------

En qué medida el residente cumple con lo siguiente

Evaluación por el asesor interno	Criterios a evaluar	Valor	Evaluación
		Asistió puntualmente a las reuniones de asesoría	10
	Demuestra conocimiento en el área de su especialidad	20	20
	Trabaja en equipo y se comunica de forma efectiva (oral y escrita)	15	15
	Es dedicado y proactivo en las actividades encomendadas	20	20
	Es ordenado y cumple satisfactoriamente con las actividades encomendadas en los tiempos establecidos en el cronograma	20	20
	Propone mejoras al proyecto	15	15
	Calificación total	100	100

Observaciones: _____

ING. MIGUEL HERNÁNDEZ FLORES Nombre y firma del asesor interno		Sello de la Institución S.E.P. TECNM 4DIT0003L Tlaxiahuacán DIRECCIÓN	Fecha de Evaluación
---	--	---	---------------------



Chillán, Chile 04 diciembre 2019


Asunto: Carta de Terminación

M.C. María Isabel Becerra Rodríguez
Directora del Instituto Tecnológico de Tlajomulco

Atención: M.C. Alejandro Frías Castro
Jefe del Departamento de Gestión
Tecnológica y Vinculación

Por este conducto hago de su conocimiento que la (el) C. José Armando Ruiz Páez, con número de control 15940014, alumna(o) de la carrera de Ing. Innovación Agrícola Sustentable, ha finalizado satisfactoriamente sus **Residencias Profesionales** dentro de nuestras instalaciones del "INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS INIA-QUILAMAPU", con el proyecto "**Detección de resistencia a virus en una colección de poroto chileno a través de PCR**", cubriendo un total de 500 horas.

Sin otro particular me despido,

Atentamente,


Dr. GERARDO TAPIA SAN MARTÍN
Encargado del laboratorio de Recursos Genéticos



SEP
SECRETARÍA DE
EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO



ANTEPROYECTO DE RESIDENCIAS PROFESIONALES

**IDENTIFICACIÓN DE LA PRESENCIA DE ALELOS RESISTENTES AL BCMV Y BCMNV EN
EL GEN I Y/O EL GEN BC-3 EN UNA COLECCIÓN DE GERMOPLASMA DE POROTOS
(*PHASEOLUS VULGARIS L.*) CHILENOS**

QUE PRESENTA

RUIZ PÁEZ JOSÉ ARMANDO

No. DE CONTROL

15940014

EMPRESA

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS (INIA) QUILAMAPU

ASESOR INTERNO

MIGUEL HERNÁNDEZ FLORES

ASESOR EXTERNO

GERARDO MARCELO TAPIA SAN MARTÍN

TLAJOMULCO DE ZUÑIGA, JAL.

DICIEMBRE 2019

Introducción

El poroto (*Phaseolus vulgaris* L.) fue domesticado hace aproximadamente 8000 años en el centro de México y América del Sur (Shii *et al.*, 1980; Koinange *et al.*, 1992). Dos eventos independientes de domesticación dieron lugar a poblaciones que difieren en morfología, características agronómicas y composiciones de proteínas de semilla, estas son: el genotipo mesoamericano y un grupo de genes andinos (Singh *et al.*, 1991). Para cada una se definen tres razas, en el caso del genotipo Mesoamericano corresponden las razas Durango, Jalisco y Mesoamérica, para los Andes sudamericanos corresponden las razas Chile, Nueva Granada y Perú. Esto significa que Chile es considerado un subcentro de diversidad genética de *P. vulgaris* L., cuyos ecotipos poseen ciertas características que no se encuentran presentes en otras razas (Voystest, 2000; Bascur y Tay, 2005).

La siembra de poroto común es una de las principales actividades de la economía campesina en varias regiones de Sudamérica, siendo de mucha importancia como generador de ingresos y empleo rural y como producto básico en la dieta alimenticia de la población (FAO 2007). El poroto es una especie que se encuentra adaptada desde el extremo norte de Chile, Arica (18°28' lat. Sur) hasta la provincia de Chiloé por el sur (42°29' lat. Sur). El área cultivada para producción comercial se encuentra en la zona central. Las variedades destinadas a producción comercial corresponden en su mayoría a genotipos mejorados, existiendo una gran diversidad de tipos, de los cuales algunos son utilizados sólo para el consumo en el país y otras clases comerciales destinadas al mercado externo. El poroto es consumido al estado fresco (vaina verde y granada) y en grano seco (Bascur y Tay, 1983; Bascur, 2001). En la actualidad muchos pequeños agricultores en los secanos interiores y costeros de la zona centro sur de Chile siembran leguminosas para autoconsumo y mercados locales.

De los patógenos del poroto, los virus son los causantes de pérdidas significativas en el rendimiento del cultivo y la producción en todo el mundo (Anderson *et al.*, 2004). A menudo se transmiten por un organismo vectorial (insectos, artrópodos, hongos, nematodos), a través de heridas producidas durante las prácticas agrícolas o a través del polen o las semillas (Mink, 1993). Estas variadas vías de transmisión hacen que el control y el manejo del virus sea un proceso complejo y limitan la erradicación de la enfermedad viral. Uno de los virus más importantes causantes de mermas graves en la producción del poroto es el virus del

mosaico común del poroto (BCMV por sus siglas en inglés), perteneciente a la familia *Potyviridae* (Morales, 2006; Worrall *et al.*, 2015). La alta incidencia de infección del embrión por BCMV y el virus del mosaico común necrótico del frijol (BCMNV por sus siglas en inglés), con porcentajes que pueden llegar hasta 80%, hace que la semilla sea el principal medio de diseminación (Morales y Castaño, 1987). Posteriormente, la transmisión secundaria es mediada por varias especies de áfidos, que transmiten al virus de manera no persistente dentro y fuera del cultivo, perpetuando al agente etiológico y dando lugar a un nuevo ciclo de la enfermedad (Morales y Castaño, 2008). El BCMV y el BCMNV producen las enfermedades conocidas como mosaico común y raíz negra del frijol. En variedades susceptibles, el BCMV puede ocasionar pérdidas en el rendimiento entre 53% y 83% (Sastri, 2013). Aunque la incorporación de resistencia dominante monogénica conferida por el gen *I* previene la infección sistémica crónica o mosaico común ocasionado por algunas cepas de BCMV, cuando estas variedades se infectan con BCMNV o alguna cepa inductora de necrosis de BCMV, se desarrolla una respuesta hipersensible conocida como necrosis apical o raíz negra (Drijfhout, 1978).

La mejor estrategia para controlar al mosaico común y la raíz negra es el uso de variedades de poroto genéticamente resistentes que combine la resistencia dominante conferida por el gen *I* con los genes recesivos *bc*, en especial el gen *bc-3*, con el fin de eliminar la posibilidad de infección por cepas del BCMV o BCMNV (Morales y Castaño, 2008). Según Bourguet (2016), la resistencia genética aparece como la estrategia de control más confiable y económica para manejar las enfermedades virales, especialmente en el contexto ecológico actual de preservación de la biodiversidad y el medio ambiente, en el que el uso de productos fitosanitarios es limitado. Tomando a consideración lo mencionado anteriormente, esta investigación tiene el objetivo de identificar molecularmente la presencia de alelos con resistencia viral en los genes *I* y/o *bc-3* usando los marcadores tipo SCAR (Secuencia Caracterizada de una Región Amplificada por sus siglas en inglés) y CAPS (Secuencia Polimórfica Amplificada y Cortada por sus siglas en inglés) BCMV_48289723 y ENM en una colección de germoplasma de poroto Chileno.

Planteamiento del problema

Hace unos cinco siglos el poroto se exportó desde América a otros continentes y se convirtió en una planta económica y geográficamente importante, especialmente en los países en desarrollo donde representa una fuente importante de proteínas dietéticas (Santalla *et al.*, 2002; Castro- Guerrero *et al.*, 2016). El poroto es una leguminosa de grano particularmente interesante para la salud humana y la producción sostenible de alimentos debido a su capacidad para la fijación simbiótica del nitrógeno atmosférico (Foyer *et al.*, 2016).

De los patógenos que se encuentran presentes en el poroto, los virus son los de mayor dificultad para erradicar, debido a que los virus dependen de las células, no hay productos químicos antivirales disponibles para atacar solo al virus sin afectar a la planta hospedadora infectada. En consecuencia la lucha contra el virus depende principalmente del uso de semillas certificadas, el control químico de los vectores y el uso de variedades de semillas resistentes, sin embargo los dos primeros controles representan un alto costo para el productor, además certificar plantas sanas y el descontaminar herramientas hortícolas no proporcionan una garantía durante todo el ciclo del cultivo, mientras que el control químico del vector es preventivo y debe hacerse antes de la aparición del virus y su transmisión (Hadidi *et al.*, 1998).

El BCMV, es un virus pertenece al género *Potyvirus* que se distribuye por todo el mundo en áreas de cultivo de leguminosas (Drijfhout, 1978; Makkouk *et al.*, 2012) infectando una amplia gama de especies (Bos, 1971). El BCMNV es el virus más común y destructivo que infecta al poroto común y se encuentra distribuido a escala mundial. Las pérdidas de rendimiento debidas a BCMV están entre 6 y 98% dependiendo del cultivo y el tiempo de infección (Worral *et al.*, 2015; Hagedorn, 1986). En Chile se conocen 3 razas tipo NY15 y necrótica (Sepúlveda, 2000).

En *Phaseolus spp.* el BCMV produce síntomas distintos. En genotipos susceptibles a temperaturas de crecimiento típicas (26-28°C) puede aparecer un mosaico severo, rizado de las hojas, bandas de venas y vainas moteadas y malformadas (Bos, 1971). A temperaturas elevadas (por encima de 30°C), estas plantas muestran retraso en el crecimiento y síntomas de "raíz negra" o necrosis sistémica cuando se infectan con el tipo de cepa US 1 (Bos, 1971). Las variedades tolerantes pueden infectarse sistemáticamente, pero muestran solo una leve deformación o estrechamiento de las hojas (Bos, 1971). Algunos genotipos muestran una

resistencia extrema (ER) contra la cepas a temperaturas de crecimiento típicas no manifestando síntomas visibles (Bos, 1971; Fisher y Kyle, 1994), pero a temperaturas más altas (por encima de 30°C) aparece la necrosis vascular en propagación y a menudo la muerte típica de la "raíz negra" (Bos, 1971).

La resistencia a diferentes cepas de BCMV está controlada por el gen *I* dominante y/o con combinaciones de varios genes recesivos (*bc-u*, *bc-1*, *bc-12*, *bc-2*, *bc-22* y *bc-3*) (Kelly *et al.*, 1995; Strausbauhg *et al.*, 1999). Este proyecto se dedicará a identificar la presencia de las combinaciones alélicas homocigota resistente *II* y *eIF4E² /eIF4E²* (eukaryotic initiation factor 4E) del gen *I* y *bc-3* resistentes al BCMV y al BCMNV respectivamente, usando los marcadores moleculares BCMV_48289723_CAPS y CAPS ENM en una colección de porotos chilenos, para generar un registro de porotos con resistencia y habilitar estrategias de mejora genética.

Objetivos

Objetivo general:

- A) Identificar molecularmente la presencia de las combinaciones alélicas resistentes a las cepas del BCMV usando los marcadores moleculares tipo SCAR BCMV_48289723_CAPS y CAPS ENM asociados al gen *I* y *b-c3* respectivamente, en una colección de germoplasma de poroto chileno usando la técnica de PCR y RFLP.

Objetivo específico:

- A) Identificar la presencia de la combinación alélica homocigota resistente al BCMV (II) del gen *I*, usando el marcador molecular BCMV_48289723_CAPS y la enzima de restricción *TaqI* con las técnicas de PCR y RFLP, en una colección de germoplasma de poroto chileno.
- B) Identificar la presencia de la combinación alélica homocigota resistente al BCMNV (*eIF4E²/eIF4E²*) del gen *bc-3*, usando el marcador molecular CAPS ENM y la enzima de restricción *RsaI* con las técnicas de PCR y RFLP, en una colección de germoplasma de poroto chileno.

Antecedentes

Hace tres décadas Chile era exportador de leguminosas con mercados de destino a prácticamente todo el mundo, incluso a mercados tan exigentes como el europeo, sin embargo el escenario cambió debido a la aparición de cultivos más rentables como hortalizas y frutillas, especialmente en el valle central, disminuyendo así su superficie de siembra (ODEPA, 2012). Según la Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA, 2017), se estima que en Chile la superficie sembrada de poroto en la temporada 1979/1980 fue de 110.700 hectáreas en cambio en la temporada 2017/2018 fue de 9.723 hectáreas. Esta situación fue debido a la disminución en el rendimiento causada por enfermedades víricas que provocaron grandes pérdidas económicas, en consecuencia esto generó la transición de los agricultores a otros cultivos más rentables.

El BCMV y BCMNV se encuentran entre las mayores amenazas para la producción de frijol debido a sus variadas vías de transmisión como son la mecánica, por áfidos y por semilla. Es un patógeno de importancia para los genotipos de *P. vulgaris* en todo el mundo, siendo la transmisión por semilla una fuente importante de infección inicial causando hasta el 80% de la infección en el cultivo (Boss, 1971). La enfermedad del mosaico común del frijol puede controlarse eficazmente mediante la plantación de semillas y/o la creación y el uso de variedades resistentes. La resistencia contra algunas cepas de BCMV es conferida por el locus *I* solo, mientras que la resistencia específica y no específica es conferida por un conjunto de genes *bc* recesivos (*bc-1*, *bc-12*, *bc-2*, *bc-22*, *bc-3*, *bc-u*) (Drijfhout, 1978). Si una variedad tiene el gen *I* dominante, es resistente a las cepas del BCMV, pero hipersensible a las cepas del BCMNV (Ali 1950; Drijfhout 1978; Kelly 1992).

En el poroto, la estrategia más efectiva para el control de los *Potyvirus* es combinar los genes *I* y *bc-3* (Mukeshimana et al., 2005). El gen *I* confiere resistencia a las cepas no necróticas del BCMV (Drijfhout, 1978), mientras que el gen *bc-3* condiciona la inmunidad a todas las cepas conocidas de BCMV y BCMNV (Miklas et al. 1998). La combinación de genes dominantes y recesivos con diferentes mecanismos de resistencia ofrece una resistencia de amplio espectro a diferencia de cuando se usa un solo gen, además, debido a que algunos de estos genes residen en distintos grupos de ligamiento, su piramidación es una estrategia aplicable a los programas de mejoramiento genético de poroto (Kelly et al., 2003).

En los años 1990 y 1991 se efectuó en Chile una recolección de germoplasma de poroto, mediante un proyecto desarrollado entre el International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR) con sede en Roma y el Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) de Chile (Proyecto IBPGR/INIA, N° 88/ 112), con el propósito de preservar la diversidad genética presente en el poroto común, especialmente en la raza Chile, para su posterior evaluación y uso en el mejoramiento de esta especie. El objetivo de esta investigación es identificar de manera molecular la presencia de la combinación alélica resistente a las cepas del BCMV presentes en el gen *I* y el gen *bc-3* en la colección de germoplasma de porotos chilenos antes mencionada con el fin de generar estrategias de mejora para este cultivo.

QUI 118	Blanco
QUI 136	-
QUI 171	Pinto
QUI 172	Negro argel
QUI 175 A	Tórtola corriente
QUI 175 B	Tórtola corriente
QUI 214	Payar morado
QUI 282	Varillas
QUI 403	Manteca
QUI 420	Blanco tipo payar
QUI 421	Bayote
QUI 10217	Enriqueta
QUI 10228	Plomo 100 días
QUI 10241	Frutilla
QUI 10263	Hallado
QUI 10269	Sapito
QUI 10272	Sapo
QUI 10273	Sapito
QUI 10274	Sapito
QUI 10478	Pallar Licanten
QUI 10479	Manteca
QUI 10480	Blanco Español
QUI 10481	Curi
QUI 10481 S.I.	Curi S.I.
QUI 10482	Araucano
QUI 10483	Torcaza
QUI 10484	Coyunda
QUI 10485	Quilapallar
QUI 10486	Lpci 106
QUI 10487	Zorzal

QUI 10488	Cachiporra
QUI 10489	Colihuadp
QUI 10490	Rubí
QUI 10491	Magnum
QUI 10492	Timoteo
QUI 10493	Azufrado
QUI 10494	Cabrito
QUI 10495	Mantequilla
QUI 10496	Juanita
QUI 10497	Arroz

Extracción de ADN:

El protocolo a seguir será el de Coelho *et. al.* (2009) modificado para la extracción de ADN.

Reacción en Cadena de Polimerasa PCR:

La detección de los marcadores moleculares SCAR BCMV_48289723_CAPS y CAPS ENM, relacionados al gen *I* y *bc3*, respectivamente, se realizará utilizando la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), según la metodología propuesta por Bello *et. al.* 2014 y Pasev *et. al.* 2014. Para la detección de marcador molecular BCMV_48289723_CAPS se utilizarán los partidores Frente (5' AGG AGG AAG AAC GGT GGT C 3') y Reversa (5' TTT GGT GGT AAT TTG AAA ATG G 3') descritos por Bello *et. al.* 2014. Por otro lado, para la detección del marcador molecular CAPS ENM se utilizarán los partidores ENM-F (5' ACC GAT GAG CAA AAC CCT 3') ENM-R (5' CAA CCA ACT GGT ATC GGA 3') descritos por Naderpour *et. al.* 2010.

Restricción Longitudinal del fragmento Polimorfo RFLP:

La detección de las accesiones con las combinaciones alélicas resistentes, en el gen *I* y/o *bc-3*, se determinará utilizando la técnica RFLP. En el marcador molecular BCMV_48289723 se usará la enzima de restricción *TaqI*, que reconoce el sitio de restricción 5' TCGA y separa el alelo de resistencia en dos bandas a 201 y 110 pb que indican la combinación alélica resistente al BCMV (II), por el contrario, la presencia de una banda a 311 pb representa los

genotipos susceptibles (ii e li) que no fueron cortados por la enzima de restricción *TaqI* debido a alteraciones en el sitio de restricción. En el marcador ENM se usará la enzima de restricción *RsaI*® con sitio de reconocimiento 5' GTAC y 3' CATG que separa el alelo de resistencia en dos bandas a 381 y 160 pb que indican la combinación alélica resistente al BCMNV (*eIF4E²/eIF4E²*), de igual manera la presencia de una sola banda a 511 pb representa los genotipos susceptibles (*elf4E¹/elf4E¹* y *elf4E¹/elf4E²*) que no fueron cortados por la enzima de restricción.

Resultados esperados

Se espera identificar, dentro de la colección de porotos chilenos a analizar, variedades con la presencia de las combinaciones alélicas resistentes del gen *I* y/o *bc-3* mediante las técnicas moleculares descritas anteriormente.

Bibliografía

- Ali M. 1950. Genetics of resistance to the common bean mosaic virus (bean virus 1) in the bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Phytopathology*. 40: 69-79. [en línea]
- Anderson, P.K., A.A. Cunningham, N.G. Patel, F.J. Morales, P.R. Epstein y P. Daszak. 2004. Emerging infectious diseases of plants: pathogen pollution, climate change and agrotechnology drivers. *Trends Ecol. Evol.* 19 (10): 535-544.
- Bascur, G., J. Tay. 2005. Collection, characterization and use of genetic variation in Chilean bean germplasm (*Phaseolus vulgaris* L.). *Agric. Téc.* 65(2):135-146.
- Bello et al.: Application of *in silico* bulked segregant analysis for rapid development of markers linked to Bean common mosaic virus resistance in common bean. *BMC Genomics* 2014 15:903.
- Bos, L. 1971. Bean common mosaic virus. *Descriptions of Plant Viruses* 73. [en línea]. Institute of Phytopathological Research <<http://www.dpvweb.net/dpv/showdpv.php?dpvno=73>> .[Consulta: 03 abril 2019]
- Bourguet, D., T. Guillemaud. 2016. The hidden and external costs of pesticide use. pp: 35-120. In: E. Lichtfouse (ed.). *Sustainable Agriculture Reviews*. 19a. ed. Francia.
- Cadle-Davidson, M. M., & Jahn, M. M. (2005). Resistance conferred against Bean common mosaic virus by the incompletely dominant I locus of *Phaseolus vulgaris* is active at the single cell level. *Archives of virology*, 150(12), 2601-2608.
- Castro-Guerrero, N.A., M.C. Isidra-Arellano, D.G. Mendoza-Cozatl y O. Valdés-López. 2016. Common Bean: A legume model on the rise for unraveling responses and adaptations to iron, zinc, and phosphate deficiencies. *Front. Plant. Sci.* 7(600).