



PERÚ

Ministerio
de Agricultura y Riego



Instituto Nacional de Innovación Agraria



PRESENTACIÓN PÚBLICA DE RESULTADOS

Proyecto 172_PI: Desarrollo de la tecnología para la edición génica para el mejoramiento del cultivo de papa a través de la herramienta CRISPR-Cas9

M.Sc. Blga. Elizabeth Fernandez Huaytalla
Investigadora Responsable del Proyecto

La Molina, Junio del 2020



PERÚ

Ministerio
de Agricultura y Riego

Instituto Nacional de Innovación Agraria

INFORMACIÓN GENERAL DEL PROYECTO

TÍTULO DEL PROYECTO	Desarrollo de la tecnología para la edición génica para el mejoramiento del cultivo de papa a través de la herramienta CRISPR-Cas9
PROPÓSITO	Desarrollo en el INIA de la herramienta CRISPR/Cas9 para el incremento de la tolerancia a estreses bióticos y/o abióticos, en variedades comerciales de papa
DEPENDENCIA DEL INIA EJECUTORA	Sede Central La Molina-Lima
DURACIÓN (meses)	18 Meses
PRESUPUESTO	S/. 566,182.61

ÁMBITO DE INTERVENCIÓN

DEPARTAMENTO	PROVINCIA	LUGAR
Lima	Lima	Sede Central-INIA
Cajamarca	Cajamarca	Baños del Inca
Junín	Huancayo	Santa Ana

Resumen Ejecutivo

- El proyecto tiene como objetivo desarrollar, en el INIA, la herramienta CRISPR/Cas9 para el incremento de la tolerancia a estreses bióticos y/o abióticos, en variedades comerciales de papa; así como fortalecer las capacidades en el equipo técnico del INIA para el desarrollo de la tecnología de edición de genes.
- El proyecto tuvo una duración de 19 meses, desde setiembre del 2018 a abril del 2020.
- A través de la Subdirección de Biotecnología se ha logrado establecer herramientas para la edición génica de papa generando protocolos para el diseño de ARN guías, construcción de vectores de edición, aislamiento de protoplastos a partir de hojas y mediante un experimento de expresión de genes se logró generar data para mejorar la comprensión de los genes involucrados en la infección del patógeno de papa *Phytophthora infestans* en *Solanum tuberosum*.
- Se realizó el fortalecimiento de capacidades a través de eventos de capacitación a nivel internacional contando con participantes provenientes de países como Colombia, Brasil, Costa Rica, Turquía y México. Asimismo, se ha llevado a cabo talleres de capacitación a productores de papa de comunidades altoandinas en cuanto al manejo agronómico del cultivo de papa para mejorar su producción. Finalmente, se realizó la difusión de resultados a través de un póster en un evento científico, logrando obtener el primer lugar al mejor póster de trabajo de investigación.
- Finalmente, el proyecto 172_PI que hace uso de la tecnología de edición génica CRISPR/Cas9, evidencia que el INIA ha desarrollado la fase inicial de esta herramienta, usando como primer cultivo a la papa.

Desarrollo de la tecnología para la edición génica para el mejoramiento del cultivo de papa a través de la herramienta CRISPR-Cas9

Objetivos específicos:

1. Evaluación genética y molecular de material de papa en las EEA Baños del Inca y EEA Santa Ana
Realizar experimentos en campo para evaluar resistencia a *Phytophthora infestans* (Pi).
2. Recopilación, selección y análisis de secuencias de los genes de resistencia/tolerancia al estrés biótico y/o abiótico
Buscar genes de interés asociados a la resistencia de Pi para diseñar y construir vectores de edición.
3. Entrenamiento en el diseño y la construcción de los vectores para edición génica y la potencial aplicación de esta tecnología en el mejoramiento genético de papa.
Realizar eventos de capacitación en el uso de la herramienta CRISPR/Cas9.
4. Evaluación del potencial para producir embriones somáticos y/o protoplastos en al menos 3 variedades de papa
Realizar experimentos para obtener protocolos de producción de protoplastos en papa a partir de hojas de plántulas *in vitro*.
5. Fortalecimiento de capacidades de investigación
Formación de profesionales (tesistas), realización de eventos de capacitación y difusión de resultados.



Objetivo 1: Evaluación genética y molecular de material de papa en las EEA Baños del Inca y EEA Santa Ana



UBICACIÓN DE LOS
EXPERIMENTOS EN CAMPO

Experimento: Evaluación de resistencia a *Phytophthora infestans* de cinco variedades de papa en Cajamarca y Junín

- El tizón tardío es ocasionado por el oomiceto *Phytophthora infestans* (Pi) y causa pérdidas de rendimiento del 16% a nivel mundial.
- 5 variedades mejoradas de papa del Perú: INIA 302-Amarillis, INIA 303-Canchán, INIA 309-Serranita, INIA 326-Shulay y Yungay (Campaña agrícola 2018-2019)
- Localidades: Chucmar, Chota-Cajamarca y Huaripampa, Tarma-Junín
- La resistencia a Pi se determinó calculando la susceptibilidad de cada variedad mediante el uso de las variables AUDPC (área bajo la curva del progreso de la enfermedad), rAUDPC (AUDPC relativo) y escala de susceptibilidad.

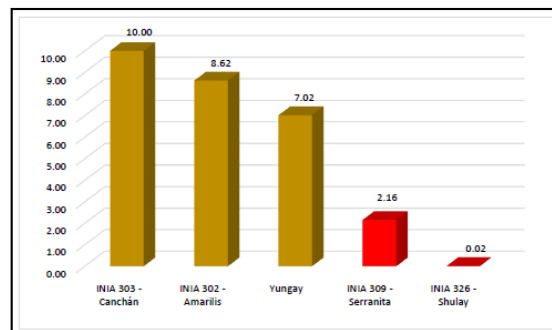
Objetivo 1: Evaluación genética y molecular de material de papa en las EEA Baños del Inca y EEA Santa Ana

- La variedad Shulay demostró ser resistente seguido de la variedad Serranita.
- Las variedades Amarilis, Yungay y Canchán fueron susceptibles.
- La variedad Shulay fue seleccionada para llevar a cabo experimentos de expresión de genes en condiciones controladas de invernadero en la Sede Central, Lima.



Tabla 5. Registro del porcentaje de *P. infestans* y cálculo de susceptibilidad, parcela experimental de Chucumar.

Bloque	Días después de la siembra							AUDPC	rAUDPC	Valor más alto de escala	constante	valores de la escala de susceptibilidad	
	21	43	66	80	94	107	113	120					
I	Serranita	0.0	0.0	0.5	0.8	1.0	3.0	3.0	10.0	152.37	0.01539		0.60
	Yungay	0.0	1.0	1.0	3.0	3.0	50.0	50.0	75.0	1448.5	0.14631		5.68
	Canchán	0.0	1.0	3.0	10.0	10.0	91.0	97.0	100.0	2548	0.25737	10	10.00
	Shulay	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	3.5	0.00035		0.01
	Amarilis	0.0	0.5	1.0	3.0	10.0	91.0	97.0	100.0	2401.8	0.24260		9.43
II	Canchán	0.0	1.0	3.0	15.0	15.0	97.0	97.0	100.0	2742.5	0.27702	10	10.0
	Serranita	0.0	0.0	1.0	3.0	3.0	15.0	20.0	25.0	548.5	0.05540		2.0
	Yungay	0.0	1.0	1.0	5.3	10.0	66.7	75.0	91.0	2006.5	0.20288		7.32
	Amarilis	0.0	0.5	1.0	3.0	3.0	75.0	91.0	97.0	2095.3	0.21164		7.6
	Shulay	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.5	4.605	0.00047		0.02
III	Yungay	0.0	1.0	3.0	3.0	10.0	50.0	50.0	50.0	1405	0.14192		5.07
	Shulay	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	6.75	0.00068		0.02
	Amarilis	0.0	0.5	3.0	10.0	10.0	99.0	99.0	100.0	2625.8	0.26523		9.47
	Canchán	0.0	1.0	3.0	15.0	15.0	96.0	100.0	100.0	2771.5	0.27995	10	10.0
	Serranita	0.0	0.0	1.0	7.7	10.0	25.0	25.0	25.0	635.88	0.06443		3.02
IV	Shulay	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	6.75	0.00068		0.02	
	Yungay	0.0	1.0	3.0	10.0	15.0	99.0	100.0	100.0	2711	0.27384		10.0
	Serranita	0.0	0.0	1.7	5.3	10.0	25.0	25.0	25.0	815.52	0.08238		3.01
	Canchán	0.0	1.0	3.0	10.0	15.0	99.0	100.0	100.0	2711	0.27384	10	10.0
	Amarilis	0.0	0.5	3.0	5.3	10.0	72.0	82.3	96.0	2167.3	0.21892		7.99



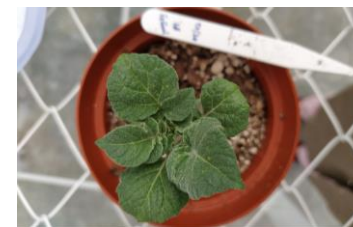
Experimento: Análisis de expresión de genes en dos variedades de papa inoculadas con *Phytophthora infestans* (Pi) POX67

- Obtener el perfil transcripcional en una variedad resistente (Shulay) y una susceptible (Yungay) durante la infección con tizón tardío utilizando el secuenciamiento por RNAseq.
- Ubicación: INIA (Sede Central) y Centro Internacional de la Papa (CIP, Lima).

Inoculación	Variedad Shulay				Variedad Yungay			
	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3
POX67 (Pi)	3 rep	3 rep	3 rep	3 rep	3 rep	3 rep	3 rep	3 rep
Control (H ₂ O)	3 rep	3 rep	3 rep	3 rep	3 rep	3 rep	3 rep	3 rep
Total : 48 muestras	24 muestras				24 muestras			

Las colectas de muestras de folíolos se realizaron en las mismas plantas para diferentes tiempos:

- T0: tiempo antes de la inoculación (12 horas antes)
- T1: tiempo después de la inoculación (24 horas después)
- T2: tiempo después de la inoculación (48 horas después)
- T3: tiempo después de la inoculación (72 horas después)



Instalación del experimento en Invernadero de la DRGB (Sede Central)

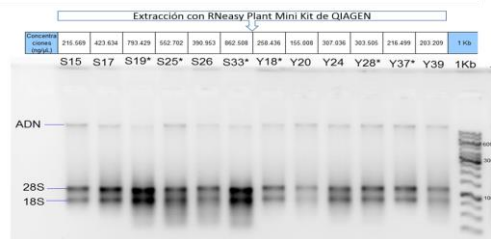
Experimento: Análisis de expresión de genes en dos variedades de papa inoculadas con *Phytophthora infestans* (Pi) POX67



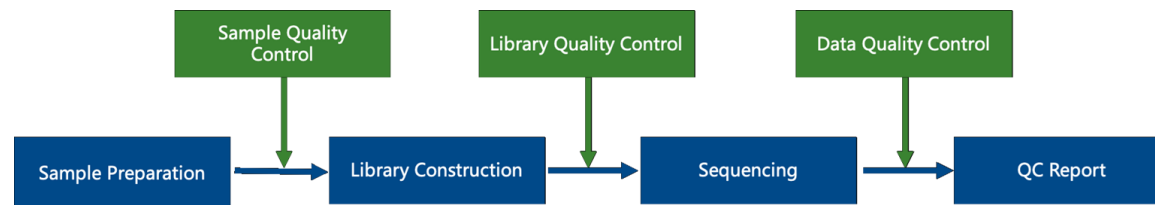
Infección con Pi en invernadero de bioseguridad en el CIP



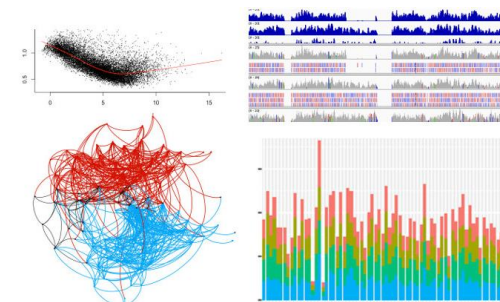
Toma de muestras de foliolos y extracción de ARN



Verificación de la calidad de ARN



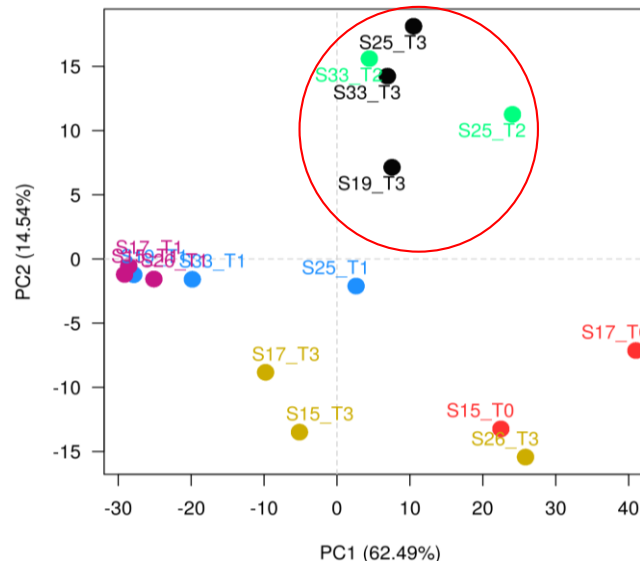
Flujo de trabajo del secuenciamiento de ARN (NOVOGENE Inc, EEUU)



Análisis de Datos por herramientas bioinformáticas

Experimento: Análisis de expresión de genes en dos variedades de papa inoculadas con *Phytophthora infestans* (Pi) POX67

- Los resultados de los Análisis de Componentes Principales (PCA) demuestran que hay un componente genético que se está expresando en la variedad Shulay a partir de las 48 horas (círculo) producto de la infección con *P. infestans* en comparación con los tratamientos control (T0) y con el tratamiento a las 24 horas.



Análisis de componentes principales (PCA) de las muestras Shulay (S) del experimento

T0: tiempo antes de la inoculación (12 horas antes)
T1: tiempo después de la inoculación (24 horas después)
T2: tiempo después de la inoculación (48 horas después)
T3: tiempo después de la inoculación (72 horas después)

Objetivo 2: Recopilación, selección y análisis de secuencias de los genes de resistencia/tolerancia al estrés biótico y/o abiótico



1° Recopilación

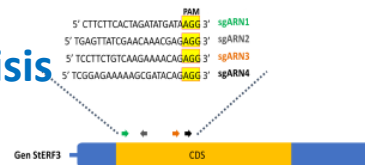


2° Selección

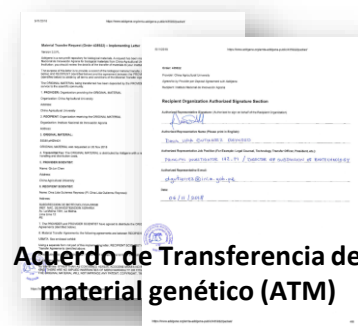
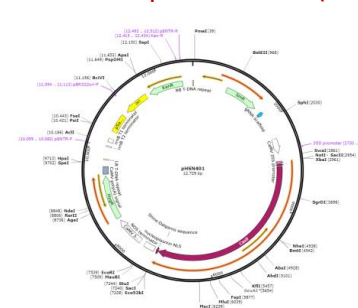


“db_crispr”
Servidor del LBMG

3° Análisis



Vectores para edición (05)



Acuerdo de Transferencia de material genético (ATM)



PERÚ

Ministerio de Agricultura y Riego



Instituto Nacional de Innovación Agraria

Recopilación y selección

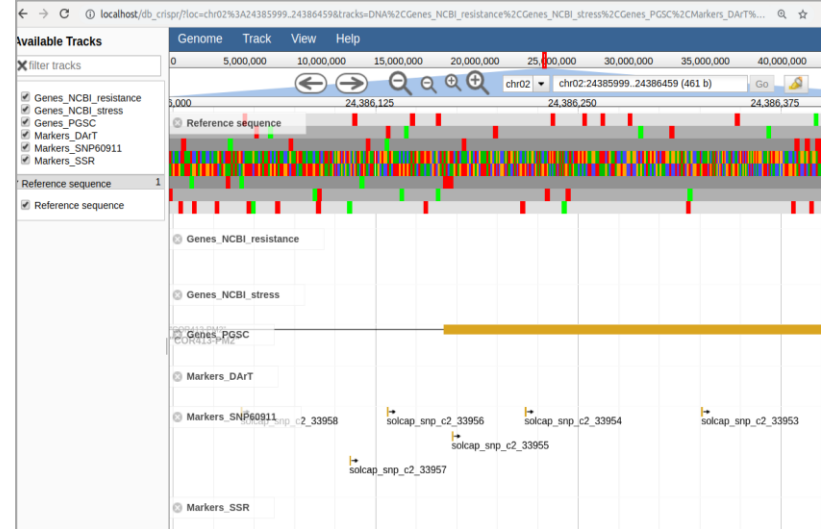
Recopilación y descarga de las secuencias del genoma de papa, modelos de genes en el genoma y marcadores genéticos vinculados.

Búsqueda bibliográfica de genes relacionados a resistencia de *Phytophthora infestans* y tolerancia a salinidad en *Solanum tuberosum*

Construcción de la base de datos local "db_crispr".

Selección de los genes objetivo para el diseño de sus respectivos sgARNs ★

Obtención de las secuencias de los genes utilizando la base de datos local "db_crispr"



Vista de la base de datos de secuencias de papa "db_crispr" usando el interfaz de Jbrowse

*Búsqueda de genes objetivo 'target'

PDS

Participa en la síntesis de carotenoides, cuya deficiencia da como resultado la despigmentación de las plantas. Por ello, este gen puede servir como un buen modelo para la visualización y evaluación de la eficiencia de los métodos de edición génica (Khromov et al. 2018).

StDMR6

Dentro de los genes *S*, según el estudio de Sun *et al.* (2016). Este gen se encuentra anotado en la base de datos del consorcio (PGSC, por sus siglas en inglés), facilitando la obtención de sus secuencias. Su inactivación (*knockout*) le transfiere resistencia a la planta contra *P. infestans*.

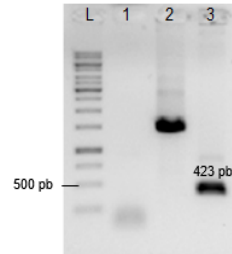
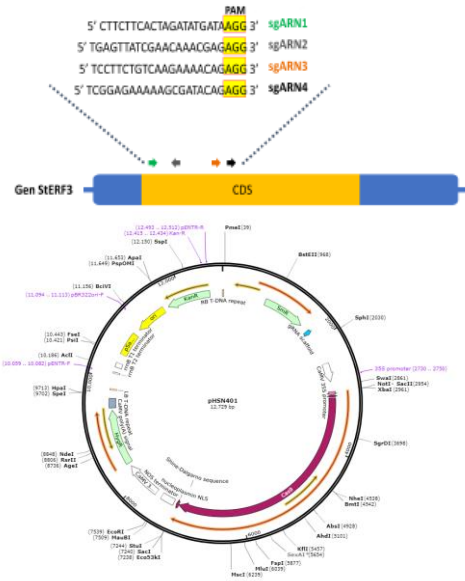
StSR4

Dentro de los genes *S*, según el estudio de Sun *et al.* (2016). Este gen se encuentra anotado en la base de datos del consorcio (PGSC, por sus siglas en inglés), facilitando la obtención de sus secuencias. Su inactivación (*knockout*) le transfiere resistencia a la planta contra *P. infestans*.

NRL1

Su inactivación (*knockout*) le transfiere resistencia a la planta contra *P. infestans*. Debido a la falta de estudios sobre su relación con la resistencia a *P. infestans* en papa y el que aún no haya sido anotado en la base de datos del consorcio, nos abre la posibilidad de generar mayor conocimiento sobre su rol en el cultivo de papa

Construcción de vectores con los genes seleccionados



Gel de agarosa al 1.0% (90 minutos de corrida en buffer TBE 1X, 50 V) para corroborar que el vector *StPDS1* contenga el inserto del ARNg 1. L: 1 KB DNA Ladder; 1: Blanco; 2: plásmido sin ligación del ARNg PDS1 (control negativo); 3: plásmido que contiene el inserto ARNg PDS1 (423 pb)



Secuenciamiento
Validar secuencia del vector construido

...más adelante

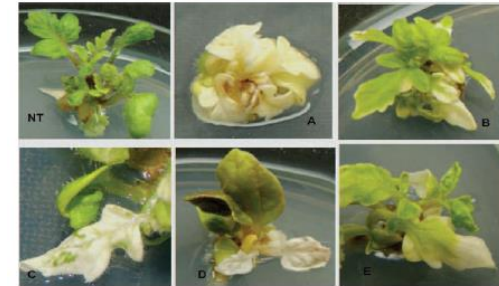


Fig. 1. Albino phenotype in first generation (T_0) chimeric tomato shoots carrying *CRISPR-cas9* assembly targeting *pds* gene (NT-Non transgenic, Chimeric shoots -A, B, C, D, E)
Fuente: Vilas Parkhi *et al.*, 2018

Objetivo 3: Entrenamiento en el diseño y la construcción de los vectores para edición génica y la potencial aplicación de esta tecnología en el mejoramiento genético de papa.



Instituto Nacional de Innovación Agraria



- *Curso de capacitación: “Fundamento de CRISPR/Cas9 y sus aplicaciones en programas de mejoramiento genético” del 23 al 27 de marzo de 2020
- Instituciones organizadoras:
 - Instituto Nacional de Innovación Agraria - INIA
 - Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica – CONCYTEC
 - Universidad Nacional Agraria La Molina – UNALM
- Capacitadores profesionales invitados del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) de Argentina.

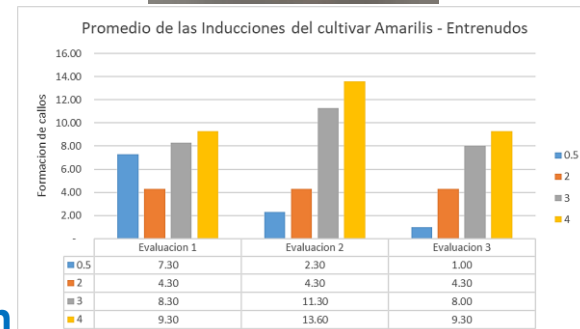
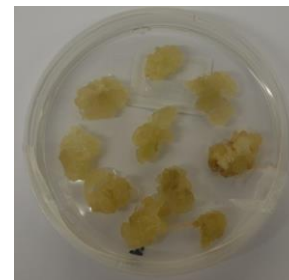
*Suspendido por la emergencia sanitaria

PROGRAMA	
Lunes 23 de marzo	
08:00 - 08:15	Registro de participantes
08:15 - 08:30	Palabras de Inauguración Dr. Jorge Luis Marcelino Quintana, Jefe del INIA
08:30 - 09:00	Presentación de estudiantes y consideraciones del curso
09:00 - 10:15	Origen de la edición génica: desde meganucleasas hasta el sistema CRISPR/Cas (T).
10:15 - 10:30	Refrigerio
10:30 - 11:15	Consideraciones generales de CRISPR/Cas9: selección de targets y diseño de sgRNAs (T).
11:15 - 12:00	Consideraciones generales de CRISPR/Cas9: Sistemas de expresión (T).
12:00 - 13:00	Almuerzo
13:30 - 17:00	Diseño de sgRNAs mediante herramientas bioinformáticas (P).
Martes 24 de marzo	
08:00 - 09:15	Consideraciones generales de CRISPR/Cas9: métodos de transformación en plantas (T).
09:15 - 10:15	Consideraciones generales de CRISPR/Cas9: métodos de detección de mutaciones (T).
10:15 - 10:30	Refrigerio
11:00 - 12:00	Ejemplos de dos sistemas de clonado en vectores binarios. Introducción al trabajo práctico (T).
12:00 - 13:00	Almuerzo
13:30 - 17:00	Amplificación y purificación de los ARN guías. Ensamblado Golden Gate (P).
Miércoles 25 de marzo	
08:00 - 09:00	Estado del arte de la Edición génica en plantas (T).
09:00 - 10:45	Edición génica en <i>Solanum tuberosum</i> (T).
10:15 - 10:30	Refrigerio
11:00 - 12:00	Edición génica en Argentina (T).
12:00 - 13:00	Almuerzo
13:30 - 17:00	Transformación de <i>E. coli</i> DH5alpha (P).
Jueves 26 de marzo	
08:00 - 09:45	Aspectos regulatorios de edición génica en el mundo (T)
09:45 - 10:15	CRISPR y más allá: Otras aplicaciones de la tecnología CRISPR en Plantas (T).
10:15 - 10:30	Refrigerio
10:30 - 12:00	PCR colonia (P).

Objetivo 4: Evaluación del potencial para producir embriones somáticos y/o protoplastos en al menos 3 variedades de papa

Experimento: Inducción de callos embriogénicos en 06 variedades de papa

- Variedades: Shulay, Desirée, Amarilis, Yungay, Serranita y Canchán
- Para las pruebas de inducción a callos embriogénicos de papa se usó la fitohormona 2,4-D .
- El cultivar Desirée fue la que mayor callogénesis formó con una concentración de 3 mg/L de 2,4-D.
- Se ha encontrado que las respuestas son diferentes en las variedades utilizadas en los ensayos.



Propagación



Inducción



La mejor dosis de 2,4-D para formación de callo fue de 4 mg/L para los cultivares de Amarilis, Canchán, Serranita, Yungay y 3 mg/L para los cultivares Desirée y Shulay

Adquisición de material *in vitro*

Multiplicación *in vitro*

Objetivo 4: Evaluación del potencial para producir embriones somáticos y/o protoplastos en al menos 3 variedades de papa

Experimento: Obtención de protoplastos en las variedades de papa seleccionadas

- Variedades de papa: Desirée, Cancán y Serranita (plántulas *in vitro*).
- Se basó en los protocolos del trabajo de investigación: Fusión de protoplastos en especies cultivadas y silvestres del género *Solanum* de Espejo, R. (2000) con algunas modificaciones.
- La viabilidad de los protoplastos se realizó mediante la tinción con azul de Evans y el conteo se realizó mediante el uso de la cámara de Neubauer



4* Filtrar la suspensión en un tubo cónico a través de una malla de nylon de 40 µm y descartar los restos vegetales.

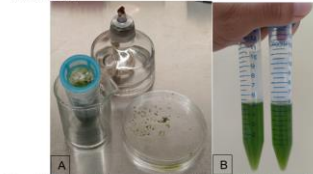


Figure 4: A) Filtración de la suspensión de tejido foliar digerido. B) Suspensión post-filtrado.

8* Centrifugar a 1000 rpm durante 5 min.
9* Colectar los 500 µL de sucrosa al 21% y añadir 500 µL de manitol al 13%.
10* Centrifugar a 800 rpm durante 5 min.

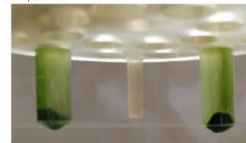


Figure 7: Suspensión final de protoplastos.

2* Colocar los foliolos en 20 ml de la solución de Sorbitol al 0.5 M con el limbo foliar hacia arriba durante 2 horas.

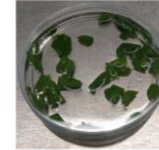


Figure 2: Foliosos en Sorbitol al 0.5 M con el limbo foliar hacia arriba

5* Centrifugar a 1000 rpm durante 10 minutos y descartar el sobrenadante.

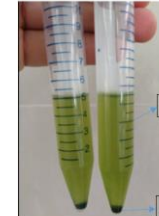


Figure 5: Suspensión luego de la centrifugación: A) Precipitado conformado de protoplastos, B) Suspensión de enzimas.

3* Transferir los foliolos a 10 ml de la solución enzimática, escurdirlos finamente e incubarlos por 18 horas en oscuridad a 80 rpm de agitación y 20 °C.

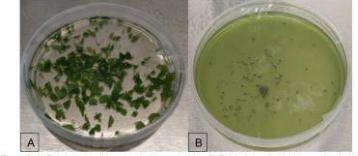


Figure 3: A) Foliosos escurridos en solución enzimática. B) Tejido foliar digerido tras su incubación en la solución enzimática.

6* Resuspender el precipitado en 1 ml de manitol al 13%.
7* Agregar 500 µL de sucrosa al 21%.



Figure 6: Precipitado resuspendido en Manitol y Sucrosa.

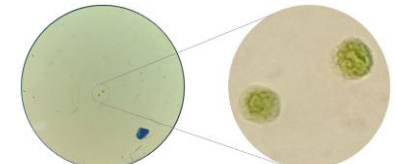


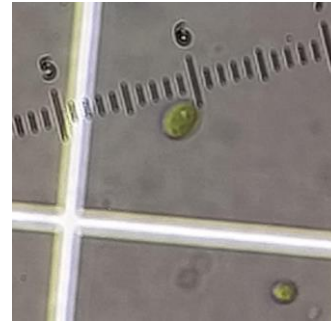
Figure 8: Protoplastos de la variedad Desirée observados a 40X.

Obtención de protoplastos en las variedades de papa seleccionadas

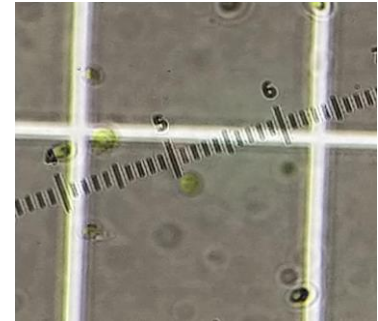
- Producción de protoplastos a partir de hojas:

Varietal de papa	[protoplastos/mL]
A) Canchán	1×10^6
B) Desirée	8×10^4
C) Serranita	$1,6 \times 10^6$

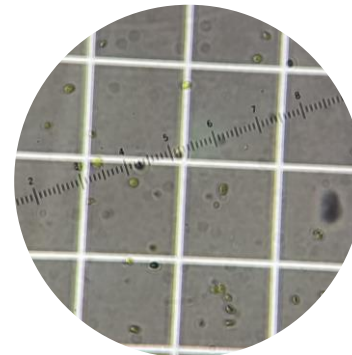
- Se logró estandarizar un protocolo de aislamiento de protoplastos, para las variedades Canchán, Desirée y Serranita, sin embargo, aún requiere la optimización de los medios de regeneración.



Protoplastos de la variedad
Canchán



Protoplastos de la variedad
Serranita



Protoplastos de la variedad Desirée

Objetivo 5: Fortalecimiento de capacidades en investigación



Participación de la Bach. Andrea Jara en el **II Simposium Internacional de Biotecnología y Agrobiodiversidad**, llevada a cabo en la ciudad de Trujillo del 26 al 29 de agosto del 2019. Obteniendo **PREMIO MEDALLA BIOREDNORTE – PERÚ 2019**.

Disño de sgARMS (single guide RNA) correspondiente al gen SIERF3 de *Solanum tuberosum* (papa) involucrado en la resistencia a *Phytophthora infestans*
Design of sgRNAs corresponding to the gene SIERF3 of *Solanum tuberosum* (potato) involved in the resistance to *Phytophthora infestans*

"Néctar Jara, Juan Herrera, Reinhard Simon, Elizabeth Fernández, María Román, Sandra Manrique Trujillo, Dora L. Gutiérrez"
 Universidad Nacional de Trujillo, Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Departamento de Biología, Trujillo, Perú

RESUMEN

La papa (*Solanum tuberosum*) es un cultivo de gran importancia económica y social. Debido a su alto potencial genético, este cultivo es susceptible a las enfermedades causadas por hongos, bacterias, virus y nematodos. La patata comúnmente sufre de la enfermedad causada por el hongo *Phytophthora infestans*, que provoca la pérdida de la cosecha y la contaminación de la cadena de suministro. El gen SIERF3 de *S. tuberosum* es un gen de resistencia a *Phytophthora infestans* que codifica una proteína de tipo lectina. Este gen es un candidato ideal para ser utilizado en la edición de genes mediante CRISPR/Cas9. En este estudio se diseñó un sgRNA (single guide RNA) que se dirigirá al gen SIERF3 de *S. tuberosum* para su edición. El sgRNA se diseñó basándose en la secuencia de nucleótidos del gen SIERF3 de *S. tuberosum* y se validó mediante simulaciones de docking molecular. El sgRNA se diseñó para ser específico para el gen SIERF3 de *S. tuberosum* y no para otros genes de la familia SIERF de *S. tuberosum*. El sgRNA se diseñó para ser específico para el gen SIERF3 de *S. tuberosum* y no para otros genes de la familia SIERF de *S. tuberosum*. El sgRNA se diseñó para ser específico para el gen SIERF3 de *S. tuberosum* y no para otros genes de la familia SIERF de *S. tuberosum*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó el gen SIERF3 de *S. tuberosum* como plantilla para el diseño de sgRNAs. Se utilizaron los programas CRISPR-Cas9 y CRISPR-Cas9 para el diseño de sgRNAs. Se utilizaron los programas CRISPR-Cas9 y CRISPR-Cas9 para el diseño de sgRNAs.

RESULTADOS

Se diseñó un sgRNA (single guide RNA) que se dirigirá al gen SIERF3 de *S. tuberosum* para su edición. El sgRNA se diseñó basándose en la secuencia de nucleótidos del gen SIERF3 de *S. tuberosum* y se validó mediante simulaciones de docking molecular. El sgRNA se diseñó para ser específico para el gen SIERF3 de *S. tuberosum* y no para otros genes de la familia SIERF de *S. tuberosum*.

CONCLUSIONES

El sgRNA se diseñó basándose en la secuencia de nucleótidos del gen SIERF3 de *S. tuberosum* y se validó mediante simulaciones de docking molecular. El sgRNA se diseñó para ser específico para el gen SIERF3 de *S. tuberosum* y no para otros genes de la familia SIERF de *S. tuberosum*.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el Proyecto FONDECYT N° 1180002, otorgado por el Programa Nacional de Innovación Agraria (PIA) de Trujillo, Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Universidad Nacional de Trujillo, Perú.




 CONVENIO CIAT DE COLOMBIA - PERÚ
 UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO - PERÚ

CONSTANCIA

El Presidente del Comité Organizador del II SIMPOSIUM INTERNACIONAL DE BIOTECNOLOGÍA Y AGROBIODIVERSIDAD, con base en el informe del Comité Científico Evaluador del Concurso de Posters 2019, que suscribe, hace constar que el trabajo de investigación:

"Disño de sgARMS (single guide RNA) correspondiente al gen SIERF3 de *Solanum tuberosum* (papa) involucrado en la resistencia a *Phytophthora infestans*"

Presentado por

Andrea Jara Ouzipe, Juan Herrera, Reinhard Simon, Elizabeth Fernández, María Román, Sandra Manrique Trujillo, Dora L. Gutiérrez

Como póster en el II Simposio Internacional "INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA Y AGROBIODIVERSIDAD: ENCUENTRO ENTRE AGRICULTURA, AGROINDUSTRIA Y NUTRICIÓN", desarrollado en la Universidad Nacional de Trujillo del 26 al 29 de agosto del presente y organizado por el Convenio Institucional CIAT de Colombia - Universidad Nacional de Trujillo, ha obtenido el PREMIO MEDALLA BIOREDNORTE-PERU 2019.

Trujillo, 29 de agosto del 2019


 Dr. Félix Huazranga Moreno
 PRESIDENTE DEL COMITÉ ORGANIZADOR

Objetivo 5: Fortalecimiento de capacidades en investigación



Desarrollo del Curso Internacional **“APLICACIONES BIOINFORMÁTICAS EN APOYO AL ANÁLISIS DE INVESTIGACIONES EN BIOTECNOLOGÍA DE PLANTAS”** con financiamiento del ICGEB y apoyo de CONCYTEC, llevada a cabo del 04 al 15 de marzo de 2019.

Participación en el Curso **“TEORIA Y APLICACIÓN DE CRISPR”** organizado por SENASA, el 09 y 10 de octubre de 2019; y en el Curso Teórico – Práctico **“HERRAMIENTAS BIOTECNOLÓGICAS Y MOLECULARES APLICADO AL MEJORAMIENTO GENÉTICO EN PLANTAS”** con financiamiento del INIA y CONCYTEC, llevada a cabo del 04 al 08 de noviembre de 2019.





PERÚ

Ministerio
de Agricultura y Riego



Instituto Nacional de Innovación Agraria

Objetivo 5: Fortalecimiento de capacidades en investigación

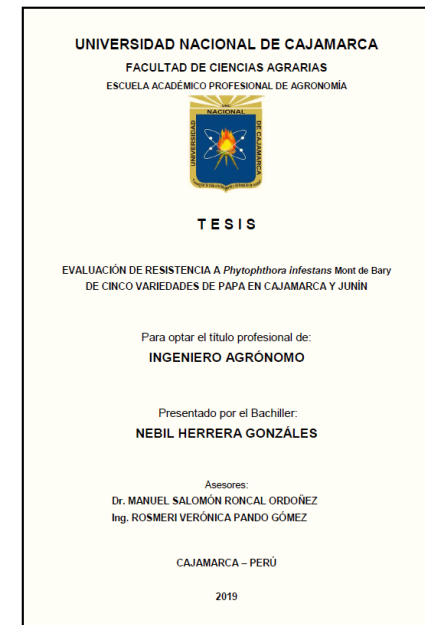
Act5.2. Propuestas del proyecto de tesis

Se han presentado 03 propuestas de proyecto tesis

01 ha sido aprobada y sustentada

02 proyectos de tesis en proceso de aprobación.

→ Se ha sustentado 01 Tesis



6. Gestión del proyecto

- Se ha presentado 5 Informes Técnico y Financiero (ITF).
- Se han elaborado documentos técnicos como Línea de Base, Línea de salida, Plan de cierre, entre otros.
- Se han adquirido equipos para el desarrollo del Proyecto.

ITEM	RELACIÓN DE EQUIPOS ADQUIRIDOS	
	DENOMINACIÓN	NOMBRE PROVEEDOR
1	Microscopio estereoscopio	BAIRES S.A.C.
2	Microscopio estereoscopio	BAIRES S.A.C.
3	Disco duro interno 2TB	CLOUDATEL SOLUTIONS S.A.C.
4	Disco duro interno 2TB	CLOUDATEL SOLUTIONS S.A.C.
5	Dispensador digital	MERCK PERUANA S.A.
6	Termomezclador (Thermomixer)	MERCK PERUANA S.A.
7	Set de micropipetas	MERCK PERUANA S.A.
8	Pipetor multicanal	MERCK PERUANA S.A.
9	Workstation Dell Precision 5820 Tower CTO	CLOUDATEL SOLUTIONS S.A.C.
15	Micropipeta 1000-5000 uL	MASED REPRESENTACIONES S.A.C.
16	Pipetor 10 mL	MASED REPRESENTACIONES S.A.C.
11	Monitor LED 21.5"	EAC Consulting S.A.C.
12	Disco duro externo 1TB USB 3.0	EAC Consulting S.A.C.
13	TERMOHIGRÓMETRO	ARMOTEC CONTRATISTAS GENERALES S.A.C.
14	LUXÓMETRO DIGITAL	ARMOTEC CONTRATISTAS GENERALES S.A.C.
10	Impresora Multifuncional Epson L5190 (EEA Baños del Inca)	CACERES DE REOMERO BLANKA ELENA
17	Pipeta variable 0,1-2,5 uL	MERCK PERUANA S.A.
18	Pipeta variable 0,5-10 uL	MERCK PERUANA S.A.





PERÚ

Ministerio
de Agricultura y Riego

Instituto Nacional de Innovación Agraria

CONCLUSIONES

- Se ejecutó el 87.19% del presupuesto asignado.
- Ejecución de metas físicas al 77%:
 - ✓ Objetivo 1 → 100%
 - ✓ Objetivo 2 → 100%
 - ✓ Objetivo 3 → 0.0% (Taller de capacitación interrumpido)
 - ✓ Objetivo 4 → 100%
 - ✓ Objetivo 5 → 80% (Taller de presentación de resultados interrumpido)
- Se desarrolló dos herramientas para la generación de vectores de edición y para el aislamiento y producción de protoplastos.
- Se logró obtener tres vectores para la edición de los genes PDS, StSR4 y NRL1 de *Solanum tuberosum* “papa” utilizando el método de clonación Golden Gate
- Se realizó dos eventos para el fortalecimiento de capacidades. (1) Día de campo en la localidad de Huaripampa, provincia de Tarma donde se capacitó a productores de papa de la zona, (2) Taller internacional de capacitación “Aplicaciones Bioinformáticas en apoyo al análisis de Investigaciones en Biotecnología de Plantas”.
- Productos:
 - ✓ 01 Tesis licenciatura sustentada
 - ✓ 02 Proyectos de tesis por aprobar
 - ✓ 01 Manuscrito
 - ✓ 01 Manual de bioseguridad.





PERÚ

Ministerio
de Agricultura y Riego

Equipo Técnico

Blga.Mcs. Elizabeth Fernandez - Investigador Responsable del Proyecto

Dra. Dina Gutiérrez Reynoso - Colaboradora

Dra. Sandra Manrique Trujillo - Colaboradora

Mcs. Reinhard Simon - Colaborador

Blgo. Juan Herrera - Asistente de Investigación

Blga. Mcs. María Lupe Román - Consultora en Biotecnología

Bach. Almendra Astete - Asistente técnico

Bach. Andrea Jara - Tesista

Equipo Técnico – Estaciones Experimentales Agrarias

Ing. Rosmeri Pando - Responsable en la EEA-Baños del Inca

Ing. Pacífico Muñoz - Asistente en la EEA-Baños del Inca

Dra. Noemí Zuñiga - Responsable en la EEA- Santa Ana

Bach. Jheferson Gutiérrez - Asistente en la EEA-Santa Ana

Bach. Nebil Herrera - Tesista

Apoyo

Bach. Jesús Ancieta - Administrador del Proyecto

Tec. Yris Tenazoa - Técnica de Laboratorio LBMG Sede Central

PERÚ Ministerio de Agricultura y Riego 

PROYECTO PNIA 172_PI

DESARROLLO DE LA TECNOLOGÍA PARA LA EDICIÓN GENÉTICA PARA EL MEJORAMIENTO DEL CULTIVO DE PAPA A TRAVÉS DE LA HERRAMIENTA CRISPR-CAS9

www.inia.gob.pe **EL PERÚ PRIMERO**



PERÚ

Ministerio
de Agricultura y Riego



Instituto Nacional de Innovación Agraria

EL PERÚ PRIMERO