

Retos y oportunidades en la selección asistida de frijol resistente a BCMV y BCMNV en México. II. Oportunidades para la selección asistida*

Challenges and opportunities in assisted selection of resistant bean to BCMV and BCMNV in Mexico. II. Opportunities for assisted selection

José Luis Anaya-López¹, Fulgencio Espejel², Víctor Montero-Tavera¹, Jorge Alberto Acosta-Gallegos¹ y Laura Silva-Rosales^{2§}

¹Campo Experimental Bajío-INIFAP. Carretera Celaya-San Miguel de Allende, km 6.5. A. P. 112, C. P. 38110, Celaya, Guanajuato, México. (anaya.jose@inifap.gob.mx; montero.victor@inifap.gob.mx; acosta.jorge@inifap.gob.mx). ²Laboratorio de Interacciones Planta-Virus, Departamento de Ingeniería Genética, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Cinvesta Irapuato, México. (fulespejel@yahoo.com.mx). [§]Autora para correspondencia: lsilva@ira.cinvestav.mx.

Resumen

Considerando información reciente, el objetivo fue revisar el conocimiento de los mecanismos de resistencia a BCMV y BCMNV, describir el uso de marcadores de ADN para la selección asistida de variedades de frijol resistentes a ambos virus y señalar la necesidad de diseñar y generar marcadores moleculares más eficientes. La forma más económica y eficiente para prevenir los daños causados por ambos virus es sembrar variedades resistentes obtenidas mediante la piramidación de genes, en la que se combine una resistencia de amplio espectro contra los patogrupos de BCMV y BCMNV. Desde hace más de 30 años se conoce la función del gen dominante *I*, que confiere resistencia a cepas no necróticas, y de los genes recesivos *bc*, que incluyen *bc-u*, *bc-1*, *bc-1²*, *bc-2*, *bc-2²*, y *bc-3*, que confieren resistencia específica a algunos patogrupos de BCMV y BCMNV. Sin embargo, a excepción del gen *bc-3* que corresponde al gen *PveIF4E*, se desconoce la identidad de todos ellos. En relación al gen *bc3* se han identificado al menos tres alelos, *bc3¹*, *bc3²* y *bc3³*, de los cuales solo el alelo *bc3²*, en combinación con el gen *I*, confiere inmunidad a la cepa NL3 de BCMNV. Hasta el presente, los dos marcadores moleculares más utilizados para monitorear resistencia a BCMV: ROC11 y SW13 no han sido consistentes a través de germoplasma diverso. Por esta razón es necesario desarrollar

Abstract

Considering recent information, the objective was to review the knowledge on the mechanisms of resistance to BCMV and BCMNV, describe the use of DNA markers for assisted selection of bean varieties resistant to both viruses and point out the need to design and generate more efficient molecular markers. The most economical and efficient way to prevent damage caused by both viruses is to plant resistant varieties obtained by gene pyramiding, in which a broad-spectrum resistance against pathogroups of BCMV and BCMNV are combined. For over 30 years the role of the dominant *I* gene are known, which confers resistance to non-necrotic strains, and *bc* recessive genes, including *c-u*, *bc-1*, *bc-1²*, *bc-2*, *bc-2²*, and *bc-3*, which confer resistance to some specific pathogroups of BCMV and BCMNV. However, except for *bc-3* gene which corresponds to *PveIF4E* gene, their identity is unknown. Regarding to *bc3* gene has been identified at least three alleles, *bc3¹*, *bc3²* and *bc3³*, of which only the *bc3²* allele in combination with *I* gene, confers immunity to strain of NL3 from BCMNV. To date, the two most used molecular markers to monitor BCMV resistance: ROC11 and SW13 have not been consistent through diverse germplasm. It is therefore necessary to develop new or additional resistance markers based on knowledge of the biological function of the corresponding genes.

* Recibido: octubre de 2014
Aceptado: febrero de 2015

nuevos o marcadores de resistencia adicionales basados en el conocimiento de la función biológica de los genes correspondientes.

Palabras clave: BCMV, BCMNV, marcadores moleculares, SAMM, *bc3*, *eIF4E*.

Introducción

El BCMV y BCMNV son dos especies del género *Potyvirus* estrechamente relacionados con el frijol que producen las enfermedades conocidas como mosaico común y raíz negra. Se han identificado y caracterizado al menos 19 cepas diferentes de BCMV y cuatro de BCMNV: TN-1, NL-3, NL-5 y NL-8 (Larsen *et al.*, 2005), todas pueden transmitirse mecánicamente, y aunque se ha reportado la transmisión de este virus a través del polen, este mecanismo es de poca relevancia pues el frijol es una planta autógama. Por el contrario, la alta incidencia de infección del embrión por estos potyvirus, hace de la semilla el medio de diseminación más importante, ya que su transmisibilidad por semilla puede ser de hasta 80% dependiendo del genotipo de frijol, las condiciones ambientales y la cepa del virus (Morales y Castaño, 1987).

Una vez transmitidos por la semilla, estos virus pueden transmitirse secundariamente por varias especies de áfidos dentro y fuera del cultivo, perpetuando al agente etiológico y dando lugar a un nuevo ciclo de la enfermedad (Morales y Castaño, 2008), por lo que el mosaico común es la enfermedad viral más difundida a nivel mundial en este cultivo.

Recientemente en México se ha detectado una alta incidencia de BCMV y BCMNV (Flores-Esteves *et al.*, 2003; Lepe-Soltero *et al.*, 2012) que podría incrementar debido a las condiciones climáticas que se anticipan y a las prácticas agrícolas intrínsecas con los sistemas de producción de frijol en nuestro país, ya que como el mosaico común no afecta el llenado, el número de granos por vaina, ni la apariencia de la semilla el agricultor utiliza el grano infectado como semilla para el siguiente ciclo de cultivo favoreciendo la dispersión del virus.

Una alternativa para contribuir a la solución de este problema es la incorporación de resistencia genética en nuevas variedades de frijol adaptadas a las localidades específicas de cada región e impulsar el uso de semilla certificada libre de enfermedades. De ambas, la estrategia más económica es el uso de variedades

Keywords: BCMV, BCMNV, molecular markers, SAMM, *bc3*, *eIF4E*.

Introduction

BCMV and BCMNV are two species of the genus *Potyvirus* closely related to beans, producing diseases known as common mosaic and black root. Have been identified and characterized at least 19 different strains of BCMV and four BCMNV: TN-1, NL-3, NL-5 and NL-8 (Larsen *et al.*, 2005), all can be transmitted mechanically, and although it has been reported the transmission of this virus through pollen, this mechanism is of little relevance, since bean is a self-pollinating plant. Conversely, the high incidence of embryo infection by these potyvirus, makes seed the most important dissemination mean, since its transmissibility through seed can be up to 80% depending on bean genotype, environmental conditions and virus strain (Morales and Castaño, 1987).

Once seed-borne, these viruses can be transmitted secondarily by several species of aphids inside and outside the crop, perpetuating the etiologic agent and giving place to a new cycle of the disease (Morales and Castaño, 2008), so that common mosaic is the most widely viral disease spread worldwide in this crop.

Recently in Mexico has been detected a high incidence of BCMV and BCMNV (Flores-Esteves *et al.*, 2003; Lepe-Soltero *et al.*, 2012) which could increase due to anticipated climatic conditions and the intrinsic agricultural practices with bean production systems in our country, because the common mosaic does not affect grain filling, number of grains per pod, or the appearance of the seed nor the farmer uses infected seed for the next crop cycle favoring virus spread.

An alternative to contribute to the solution of this problem is the incorporation of genetic resistance in new bean varieties adapted to specific locations in each region and promote the use of disease-free certified seed. In both, the cheapest strategy is the use of resistant varieties, since planting virus-free seed without the incorporation of resistance would also be susceptible to infection mediated by insect vectors or the introduction of seed from another country. The selection process of resistant varieties can be accelerated by marker-assisted selection (MAS). However, until now in Mexico,

resistentes, pues la siembra de semilla libre de virus sin la incorporación de resistencia sería también susceptible a la infección mediada por los insectos vectores o a la introducción de semilla procedente de otro país. El proceso de selección de variedades resistentes puede acelerarse mediante selección asistida por marcadores moleculares (SAMM). Sin embargo, hasta ahora en México, sólo la variedad Dalia resistente a BCMV generada por el INIFAP (Acosta-Gallegos *et al.*, 2012), se ha seleccionado mediante esta estrategia usando los marcadores moleculares SW13 (Haley *et al.*, 1994; Melotto *et al.*, 1996) y ROC11 (Johnson *et al.*, 1997), por lo que presumiblemente tiene los genes de resistencia *I* y *bc3* que les confieren resistencia a BCMV y BCMNV.

Sin embargo, esta variedad y otras líneas de frijol, seleccionadas con estos mismos marcadores moleculares por el programa de mejoramiento genético del INIFAP, fueron susceptibles a la inoculación mecánica con la cepa NL3 de BCMNV. Lo que indicó que los materiales evaluados tienen el gen *I*, pero carecen del gen *bc-3* que les confiere resistencia a las cepas necróticas, por lo que el marcador ROC11 no es consistente en la selección de resistencia mediada por el gen *bc3*.

Genes de resistencia recesivos y dominantes a BCMV y BCMNV

De acuerdo a criterios genéticos, los genes de resistencia tienen una herencia dominante o recesiva que se relaciona estrechamente con el mecanismo molecular subyacente a la interacción del patógeno viral con el genotipo de frijol. Los genes dominantes típicamente desencadenan una respuesta hipersensible y, aunque su mecanismo de acción no ha sido perfectamente entendido, involucra el reconocimiento de un componente específico del patógeno seguido por una serie de eventos de señalización que culminan en el establecimiento de la resistencia (Martin *et al.*, 2003). Se propone que los genes tipo R de resistencia a virus funcionan de manera análoga a los de resistencia a hongos y bacterias de acuerdo al modelo evolutivo de resistencia tipo zig-zag propuesto por Jones y Dangl (2006), donde los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPS) pueden ser proteínas virales estructurales como la CP, de replicación como la helicasa del tobamovirus TMV o inclusive, intermediarios de la replicación viral como cadenas dobles de RNA. En este modelo de interacción una única copia funcional del gen tipo R es suficiente para establecer la resistencia al patógeno.

only Dalia variety resistant to BCMV generated by INIFAP (Acosta-Gallegos *et al.*, 2012), has been selected through this strategy using molecular markers SW13 (Haley *et al.*, 1994; Melotto *et al.*, 1996) and ROC11 (Johnson *et al.*, 1997), so presumably has *I* and *bc3* genes that confers resistance against BCMV and BCMNV.

However, this variety and other bean lines, selected with these same molecular markers by the genetic breeding program from INIFAP were susceptible to mechanical inoculation with strain NL3 from BCMNV. Indicating that evaluated materials have *I* gene but lack *bc-3* gene which confers them resistance to necrotic strains, so ROC11 marker is not consistent in selection for resistance mediated through *bc3* gene.

Recessive and dominant genes for resistance to BCMV and BCMNV

According to genetic criteria, the resistance genes have a dominant or recessive inheritance that is closely related with the underlying molecular mechanism to the viral pathogroup interaction with bean genotype. The dominant genes typically trigger a hypersensitive response, although its mechanism of action has not been fully understood, involves the recognition of a specific component of the pathogen followed by a series of signaling events that culminate in the establishment of resistance (Martin *et al.*, 2003). It is proposed that type R gene of virus resistance functions similar to resistance of fungi and bacteria according to the zigzag model for co-evolution resistance proposed by Jones and Dangl (2006), where the pathogen-associated molecular patterns (PAMPS) may be structural viral proteins such as CP, of replication as helicase from tobamovirus TMV or even, intermediaries of viral replication as RNA duplexes. In this interaction model a single functional copy of the type R gene is sufficient to establish resistance to the pathogen.

The *I* gene from *P. vulgaris*, which is believed to encode for a protein R type controls the resistance to BCMV and has been widely used in breeding programs worldwide. Although its resistance was initially characterized as a dominant monogenic trait (Ali, 1950) actually has an incomplete dominance (Whitmer-Collmer *et al.*, 2000). Drijfhout *et al.* (1978a) reported that *I* gene confers resistance to some BCMV in a dependent manner from temperature, but plants develop systemic necrosis at any temperature when infecting them with BCMNV pathogroups.

El gen *I* de *P. vulgaris*, que se cree codifica para una proteína tipo R, controla la resistencia a BCMV y se ha usado ampliamente en los programas de mejoramiento genético en el mundo. Aunque su resistencia se caracterizó inicialmente como un rasgo monogénico dominante (Ali, 1950), en realidad tiene una dominancia incompleta (Whitmer-Collmer *et al.*, 2000). Drijfhout *et al.* (1978a) señalaron que el gen *I* confiere resistencia a algunos BCMV de manera dependiente de la temperatura, pero que las plantas desarrollan necrosis sistémica en cualquier temperatura al infectarlas con patogrupos de BCMNV.

Adicionalmente, la resistencia conferida por el gen *I* depende del fondo genético: a 23 °C las plantas homocigotas *I/I* muestran resistencia extrema o inmunidad, mientras que los heterocigotos *I/i*, y los homocigotos *i/i* una reacción hipersensible y mosaico sistémico, respectivamente. Sin embargo, cuando se incrementa la temperatura a 34 °C se induce una respuesta hipersensible, así como necrosis sistémica en la mitad de los homocigotos *I/I* y en todos los heterocigotos (Whitmer-Collmer *et al.*, 2000). A la fecha permanece la duda de si el locus *I* tiene un sólo gen con amplio espectro de resistencia, o si representa un grupo de genes de resistencia con recombinación suprimida.

Drijfhout *et al.* (1978a, 1978b) dedujeron la existencia de seis genes recesivos *bc* localizados en cuatro loci, de los cuales *bc-1*, *bc-1²*, *bc-2*, *bc-2²*, y *bc-3* son genes específicos de resistencia a algún patogrupos, a diferencia del gen *bc-u* que parece ser necesario para la expresión de los otros genes *bc*, a menos que el gen *I* este presente (Drijfhout, 1978a). Los genes *bc* muestran distintas respuestas en función del patogrupos del virus y la combinación entre ellos y el gen *I*. En presencia del gen *I* los genes *bc-1*, *bc-1²* y *bc-3* confieren resistencia aún en ausencia de *bc-u* (Silbernagel, 1995, Miklas *et al.*, 2000a). Por su parte, *bc-1²* es dominante a *bc-1* en conferir resistencia a la necrosis apical en presencia del gen *I* (Miklas *et al.*, 2000a).

Cuando los genotipos *I+bc-1²* se inoculan con los patogrupos NL-8 y NL-3 de BCMNV, exhiben únicamente lesiones localizadas y necrosis de las venas de las hojas inoculadas, pero si se inoculan con el patogrupos NL-5 expresan necrosis apical, aunque con un desarrollo de síntomas retardado (Miklas *et al.*, 2000a). La combinación de los genes *I+bc-u* + *bc-2²* confrontada con patogrupos de BCMNV resulta sólo en lesiones locales en la hoja inoculada (Kelly, 1997); sin embargo, no se identifican lesiones o respuesta en las hojas inoculadas con patogrupos de BCMV o BCMNV si los

Adicionalmente, la resistencia conferida por el gen *I* depende del fondo genético: a 23 °C homocigotas *I/I* muestran resistencia extrema o inmunidad, mientras que heterocigotas *I/i*, y homocigotas *i/i* una reacción hipersensible y mosaico sistémico respectivamente. Sin embargo, cuando la temperatura aumenta a 34 °C se induce una respuesta hipersensible, así como necrosis sistémica en la mitad de las homocigotas *I/I* y en todas las heterocigotas (Whitmer-Collmer *et al.*, 2000). Hasta ahora permanece la pregunta de si el locus *I* tiene un solo gen con amplio espectro de resistencia, o si representa un grupo de genes de resistencia con recombinación suprimida.

Drijfhout *et al.* (1978a, 1978b) dedujeron la existencia de seis genes recesivos *bc* localizados en cuatro loci, de los cuales *bc-1*, *bc-1²*, *bc-2*, *bc-2²* y *bc-3* son genes específicos de resistencia a algunos patogrupos, a diferencia del gen *bc-u* que parece ser necesario para la expresión de los otros genes *bc* a menos que el gen *I* este presente (Drijfhout, 1978a). Los genes *bc* muestran distintas respuestas dependiendo del virus y la combinación entre ellos y el gen *I*. En presencia del gen *I*, los genes *bc-1*, *bc-1²* y *bc-3* confieren resistencia aún en ausencia de *bc-u* (Silbernagel, 1995, Miklas *et al.*, 2000a). Mientras que, *bc-1²* es dominante a *bc-1* en conferir resistencia a la necrosis apical en presencia del gen *I* (Miklas *et al.*, 2000a).

When *I + bc-1²* genotypes are inoculated with NL-8 and NL-3 pathogrupos from BCMNV, exhibit only localized lesions and necrosis of the veins from inoculated leaves, but if inoculated with NL-5 pathogrupos express apical necrosis, although with delayed symptom development (Miklas *et al.*, 2000a). The combination of *I + bc-u + bc-2²* genes confronted with pathogrupos from BCMNV turns only in local lesions in the inoculated leaf (Kelly, 1997); however, no lesions or response were identified on inoculated leaves with pathogrupos from BCMNV or BCMV if *bc-u + bc-3* genes are present, regardless of the presence or absence of *I* gene (Drijfhout *et al.*, 1978a). Currently the protein nature from *I* gene is unknown, even when proposed that it could be a type R gene involved in the guardian theory of viral resistance.

Identity of recessive resistance genes to potyvirus: factors translation initiation

Although recessive genes against plant virus have been recognized for over 30 years (Drijfhout *et al.*, 1978a, 1978b), it was not until recently that its molecular nature began to be elucidated. RNA genomes of BCMNV and BCMV are recognized and processed in the plant as if they were RNA messenger and therefore use the initiation of translation

genes *bc-u+bc-3* están presentes, independientemente de la presencia o ausencia del gen *I* (Drijfhout *et al.* 1978a). En la actualidad la naturaleza proteica del gen *I* se desconoce, aun cuando se propone que pueda ser un gen tipo R involucrado en la teoría guardiana de resistencia viral.

Identidad de los genes recesivos de resistencia a potyvirus: factores del inicio de la traducción

Aunque los genes recesivos contra los virus de plantas se han reconocido desde hace más de 30 años (Drijfhout *et al.*, 1978a, 1978b), no fue sino hasta hace poco que su naturaleza molecular comenzó a dilucidarse. Los genomas de RNA de BCMV y de BCMNV son reconocidos y procesados en la planta como si fueran RNA mensajeros y usan, por lo tanto factores de inicio de la traducción de la célula que infectan para favorecer la traducción de su genoma viral. Cuando hay cambios en esos factores de tal manera que no pueden ser usados por el virus, se da la resistencia viral en la planta pues el genoma viral no puede traducirse (Ruffel *et al.*, 2004).

Fraser (1986) propuso que debido a que los virus de plantas sintetizan pocas proteínas y reclutan muchos componentes moleculares del hospedero para desarrollar su ciclo infeccioso, los genes de resistencia podrían corresponder a cambios por pérdidas o disminución de función de esos componentes requeridos en un paso del ciclo de vida del virus. Estos cambios podrían estar dados por mutaciones no sinónimas, de tal manera que se interrumpe el reconocimiento entre estas proteínas del hospedero y las virales.

Esta hipótesis se confirmó recientemente por evidencias que señalan que la mutación en la secuencia de aminoácidos de algunos componentes del inicio de la traducción son los responsables de la resistencia a virus de ARN. En efecto, a la fecha todos los genes recesivos involucrados en las interacciones planta-potyvirus, grupo al que pertenecen BCMV y BCMNV, se han caracterizado como factores del inicio de la traducción, principalmente eIF4E, eIF4G o sus isoformas (Wang *et al.*, 2011). Estos incluyen 14 genes de resistencia recesivos, de los cuales 12 son eIF4E o su isoforma y dos eIF4G o su isoforma (Albar *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2010). Por lo tanto, la familia de proteínas eIF4E y eIF4G son particularmente importantes, pues son esenciales tanto para la susceptibilidad como la resistencia a las infecciones por algunos virus de ARN (*Potyvirus*, *Cucumovirus*, *Carmovirus* y *Bymovirus*) en plantas como *Arabidopsis*, *Capsicum* spp., *Lactuca* spp., *Lycopersicon* spp., *Cucumis melo*, y *Hordeum vulgare* (Robaglia y Caranta, 2006).

factors that infect the cell to facilitate the translation of the viral genome. When there are changes in these factors so that they cannot be used by the virus, viral resistance occurs in the plant because the viral genome cannot be translated (Ruffel *et al.*, 2004).

Fraser (1986) proposed that due to plant viruses synthesized few proteins and recruit many molecular components of the host to develop its infective cycle, resistance genes may correspond to changes through loss or function reduction of those components required in a step of the life cycle of the virus. These changes could be given by non-synonymous mutations, so that recognition between these proteins from the host and virus is interrupted.

This hypothesis was recently confirmed by evidence indicating that the mutations in the amino acid sequence of some components from the initiation of translation are the responsible for resistance to RNA virus. Indeed, to date all recessive genes involved in plant-potyvirus interactions, group to which BCMV and BCMNV belong, it have been characterized as factors in the initiation of translation, mainly eIF4E, eIF4G or its isoforms (Wang *et al.*, 2011). These include 14 recessive resistance genes, of which 12 are eIF4E or its isoform and two eIF4G or its isoform (Albar *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2010). Therefore, the protein family eIF4E and eIF4G are particularly important because they are essential for both susceptibility and resistance to infection by some RNA virus (*Potyvirus*, *Cucumovirus*, *Carmovirus* and *bymovirus*) in plants such as *Arabidopsis*, *Capsicum* spp., *Lactuca* spp., *Lycopersicon* spp., *Cucumis melo*, and *Hordeum vulgare* (Robaglia and Caranta, 2006).

eIF4E proteins are part of a complex of initiation of the translation of eIF4F (Marcotrigiano *et al.*, 1999). There is a second complex of isoforms called eIF (iso) 4F with corresponding eIF (iso) 4E and eIF (iso) 4G (Browning, 2004). These two complexes essentially perform the same task in translation, but have different affinities for certain classes of mRNAs and are probably involved in different cellular events (Gallie and Browning, 2001). It has been proven that virus can selectively use isoforms from both complexes of translation to successfully complete its cycle of infection (Sato *et al.*, 2005). For example, Duprat *et al.* (2002) found resistance to TuMV and LMV in mutant lines of *Arabidopsis thaliana* that did not express the *eIF* (iso) 4E gene, but these lines were not resistant to nepovirus TBRV or cucumovirus CMV. While Nicaise *et al.* (2007) found resistance to TuMV in *A. thaliana* line with double

Las proteínas eIF4E forman parte de un complejo de inicio de la traducción eIF4F (Marcotrigiano *et al.*, 1999). Existe un segundo complejo de isoformas llamado eIF (iso) 4F con sus correspondientes eIF (iso) 4E y eIF (iso) 4G (Browning, 2004). Estos dos complejos realizan esencialmente la misma tarea en traducción, pero tienen diferentes afinidades para ciertas clases de ARN mensajeros y están probablemente involucrados en diferentes eventos celulares (Gallie y Browning, 2001). Se ha demostrado que los virus pueden usar selectivamente las isoformas de ambos complejos de traducción para completar exitosamente su ciclo de infección (Sato *et al.*, 2005). Por ejemplo, Duprat *et al.* (2002) encontraron resistencia al TuMV y el LMV en líneas mutantes de *Arabidopsis thaliana* que no expresaban el gen *eIF(iso)4E*, pero estas mismas líneas no fueron resistentes al nepovirus TBRV ni al cucumovirus CMV. Mientras que Nicaise *et al.* (2007) encontraron resistencia al TuMV en una línea de *A. thaliana* con doble mutación insercional que eliminaba la expresión de los genes *eIF(iso) 4G1* y *eIF(iso) 4G2*, sugiriendo así la necesidad de dichos factores en el proceso de infección del virus. Además, la preferencia por una forma específica de eIF4E puede cambiar con el tipo de hospedero (Duprat *et al.*, 2002).

Con respecto al BCMV Naderpour *et al.* (2010) demostraron que la resistencia atribuida al gen *bc-3* se relaciona con mutaciones puntuales en cuatro nucleótidos posicionados en los sitios 159, 194, 227 y 332 de la secuencia del gen *eIF4E* de *P. vulgaris* (*PveIF4E*), y que la resistencia a BCMV requiere el estado homocigótico de estas mutaciones, por lo que el gen *bc-3* muy probablemente corresponde al gen *PveIF4E*. Adicionalmente, la combinación del gen *I* con un heterocigoto de *bc-3*, o con un homocigoto que carezca de estas mutaciones, resulta en el desarrollo de necrosis apical o mosaicos severos cuando se inocula con el patogrupa NL-3 del BCMNV (Hart y Griffiths, 2012). Es por esto que en función a la presencia o ausencia de estas mutaciones, el gen recesivo *bc-3* podría clasificarse en *bc-3¹*, *bc-3²* y *bc-3³* (Naderpour *et al.*, 2010; Hart y Griffiths, 2012), de los cuales sólo *bc-3²* confiere resistencia a la cepa NL-3 de BCMNV, cuando se encuentra en estado homocigótico (Hart y Griffiths, 2012).

Además de eIF4E existen otros factores del inicio de la traducción, como proteínas reclutadoras, helicasas, proteínas de unión a colas de poli A, y proteínas que facilitan el reclutamiento a sitios de entrada directa al ribosoma (IRES), que se requieren en diversas etapas de la traducción (Cheng y Gallie, 2006; Huang *et al.*, 2010; Parsyan *et al.*, 2011). Aparentemente el reclutamiento de eIF4E/iso4E

insertional mutation that eliminated the expression of *eIF (iso) 4G1* and *eIF (iso) 4G2* genes, suggesting the need for such factors in the process of infection of the virus. Furthermore, the preference for a specific form of eIF4E can change with the type of host (Duprat *et al.*, 2002).

Regarding to BCMV, Naderpour *et al.* (2010) demonstrated that resistance attributed to *bc-3* gene is associated with located mutations in four nucleotides positioned in sites 159, 194, 227 and 332 of *eIF4E* gene sequence from *P. vulgaris* (*PveIF4E*), and that resistance to BCMV requires the homozygous state of these mutations, so *bc-3* gene is likely to correspond to *PveIF4E* gene. Additionally, the combination of *I* gene with a heterozygote *bc-3*, or a homozygous lacking these mutations, results in the development of apical necrosis or severe mosaic when inoculated with NL-3 pathogroup of BCMNV (Hart and Griffiths, 2012). That is why, in function of the presence or absence of these mutations, the recessive *bc-3* gene could be classified into *bc-3¹*, *bc-3²* and *bc-3³* (Naderpour *et al.*, 2010; Hart and Griffiths, 2012), of which only *bc-3²* confers resistance to NL-3 strain of BCMNV, when it is in homozygous state (Hart and Griffiths, 2012).

Besides eIF4E there are other factors from initiation of translation, as recruiter proteins, helicases, binding proteins to poly A tails, and proteins that facilitate the recruitment to internal ribosome entry site (IRES), which are required at various stages of translation (Cheng and Gallie, 2006; Huang *et al.*, 2010; Parsyan *et al.*, 2011). Apparently the recruitment of eIF4E/iso4E by virus including BCMV in bean is through direct interaction with the binding protein to the viral genome or VPg (Figure 1).

The physical interaction of VPg and eIF4E/iso4E correlates with compatible infections in many plant-potyvirus interactions (Gao *et al.*, 2004; Charron *et al.*, 2008). Therefore, in some amino acid mutations within the sequence of eIF4E gene, for example in *pvr-1* or *pvr-2* gene from pepper, eliminates the interaction with VPg from PVY establishing virus resistance (Charron *et al.*, 2008). In contrast, variations in VPg can counteract the resistance conferred by encoding genes of modified forms of eIF4E/iso4E.

In many potyvirus isolations that break recessive gene resistance the virulence factor is VPg (Duprat *et al.*, 2002; Charron *et al.*, 2008; Gallois *et al.*, 2010), and it is known that many of VPg mutations are located in the central region involved in the interaction with eIF4E (Roudet-Tavert *et al.*, 2007). This puts the interaction between VPg and eIF4E as

por el virus, incluido el BCMV en frijol, es a través de la interacción directa con la proteína de unión al genoma viral o VPg (Figura 1).

La interacción física de VPg y eIF4E/iso4E correlaciona con infecciones compatibles en muchas interacciones planta-potyvirus (Gao *et al.*, 2004; Charron *et al.*, 2008). Por ello, mutaciones en algunos aminoácidos dentro de la secuencia del gen eIF4E, por ejemplo en el gen *pvr-1* o *pvr-2* de pimiento, eliminan la interacción con la VPg del PVY estableciendo la resistencia al virus (Charron *et al.*, 2008). En contraparte, las variaciones en la VPg pueden contrarrestar la resistencia conferida por los genes codificantes de formas modificadas de eIF4E/iso4E.

En muchos aislamientos potyvirales que rompen la resistencia de genes recesivos el determinante de virulencia es la VPg (Duprat *et al.*, 2002; Charron, *et al.*, 2008; Gallois, *et al.*, 2010), y se sabe que muchas de las mutaciones de la VPg están localizadas en la región central involucrada en la interacción con eIF4E (Roudet-Tavert *et al.*, 2007). Esto pone a la interacción entre la VPg y el eIF4E como un determinante clave de la virulencia o avirulencia en muchas, pero no en todas, las infecciones por potyvirus, ya que hay diversos casos reportados donde no encuentran interacción de la VPg con el eIF4E o su isoforma, aún en plantas susceptibles. Un ejemplo es en chícharo con el gen *sbm1* en su forma susceptible y el virus PSbMV (Gao *et al.*, 2004), así como otros patosistemas entre eIF4Es y diversas VPg reconocidas como virulentas o avirulentas (Gallois *et al.*, 2010).

Existen otros factores del complejo de traducción que interactúan con la VPg, como son la proteína de unión a cola de poli-A en *A. thaliana* (PABP2), donde se cree que la interacción entre VPg, eIF4E y PABP2 puede promover la circularización del RNA viral para facilitar la traducción (Léonard *et al.*, 2004). Como ya se había mencionado antes, la VPg, también interactúa con eIF4G formando un complejo trimolecular a través del intermediario eIF4E, que se piensa favorece la traducción viral disminuyendo la afinidad por los ARN mensajeros de la planta (Michon *et al.*, 2006). Por otra parte, la proteína tipo helicasa de RNA de *A. thaliana* AtRH8 (la cual se relaciona con eIF4A), es necesaria para la replicación de los potyvirus y es un interactivo más de la VPg como lo demostró Huang *et al.* (2010).

Igualmente, el factor de elongación 1 alfa (eEF-1A), interacciona con la VPg y la RdRp viral (RNA polimerasa dependiente de RNA viral) (Thivierge *et al.*, 2008), por

a key determinant of virulence or avirulence in many, but not in all, potyvirus infection, since there are many reported cases where there is no interaction of VPg with eIF4E or its isoform, even in susceptible plants. One example is in pea with *sbm1* gene in its susceptible form and PSbMV virus (Gao *et al.*, 2004) thus other PathoSystems between eIF4Es and various VPg recognized as virulent or avirulent (Gallois *et al.*, 2010).

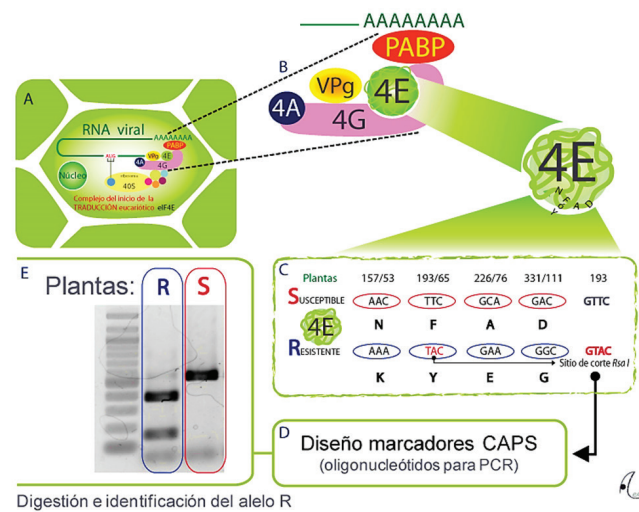


Figura 1. Estrategia para el diseño de marcadores moleculares tipo CAPS. A) Formación de complejos de traducción viral con la participación del genoma viral, su proteína VPg y las proteínas vegetales de inicio de la traducción (4E y 4G) al interior de una célula vegetal; B) Amplificación del complejo de traducción; C) Diferencias en la secuencia de la proteína y el gen del eIF4E entre una planta susceptible y una resistente; D) Diseño de oligonucleótidos que se usan para la generación de marcadores tipo CAPS; y E) Patrón de digestión de los fragmentos amplificados de eIF4E resistente y susceptible.

Figure 1. Strategy for the design of molecular markers CAPS type; A) Formation of viral translation complexes with the participation of viral genome, its VPg protein and vegetable protein of initiation of translation (4E and 4G) into a plant cell; B) Amplification of translation complex; C) Differences in protein sequence and eIF4E gene between a susceptible and resistant plant; D) Design of oligonucleotides used to generate CAPS markers; and E) Digestion pattern of the amplified fragments of eIF4E resistant and susceptible.

There are other factors from translation complex interacting with VPg, such as protein binding of poly-A tail in *A. thaliana* (PABP2), where it is believed that the interaction between VPg, eIF4E and PABP2 can promote the circularization of viral RNA to facilitate translation (Leonard *et al.*, 2004). As already mentioned, VPg, also interacts with eIF4G forming

lo que podría estar implicada también en la replicación del genoma viral. Pero la VPg no sólo interactúa con proteínas del complejo de la traducción, se sabe que también puede interactuar con una proteína rica en cisteína de *A. thaliana* designada como PVIP e implicada en el movimiento del virus en la planta. Esta interacción se da cerca de la región N-terminal de la VPg, que es distinta de la región asociada con el eIF4E (Dunoyer *et al.*, 2004). Otra proteína que se sabe interactúa con VPg es la proteína nucleolar Fibrillarina, la cual se demostró que también se requiere para el movimiento a larga distancia en las plantas hospederas (Rajamaki *et al.*, 2009). Paradójicamente la proteína eIF (iso) 4E de *A. thaliana* también se ha involucrado en el movimiento a larga distancia del TEV (Contreras-Paredes *et al.*, 2013). Esto, si bien interesante, hace más compleja la participación de los factores de inicio de la traducción de la célula hospedera.

Puesto que durante el proceso de replicación el ARN de los potyvirus requiere circularizarse por yuxtaposición de sus extremos 3' y 5' de manera similar a los ARNm celulares, la proteína de unión al extremo 3' no traducible que se une al segmento de poli A o PABP y en consecuencia, su gene codificante, es un potencial de resistencia recesivos a los potyvirus y merece ser investigado (Thivierge *et al.*, 2005).

Oportunidades para la selección asistida de frijol resistente a BCMV y BCMNV

El gen *I* se localiza en el cromosoma B2 (Kelly *et al.*, 2003) y es independiente de la resistencia recesiva condicionada principalmente por tres diferentes genes *bc*: *bc-3*, *bc-1²* y *bc-2²*. El gen *bc-3* se localiza en B6 (Mukeshimana *et al.*, 2005), mientras que *bc-1²* (Miklas *et al.*, 2000a) y el alelo no específico *bc-u*, necesario para la resistencia de *bc-2²*, se encuentran en B3 (Strausbaugh *et al.*, 1999). La combinación de genes dominantes y recesivos, con diferentes mecanismos de resistencia, ofrece una mayor durabilidad que 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 frijol (Kelly *et al.*, 2003).

La resistencia conferida únicamente por el gen *I* se rompe al confrontarse con todas las cepas necróticas (TN-1, NL-3, NL-5 y NL-8) y con las cepas NL2 y NL6 de BCMV (Morales y Castaño, 2008). Sin embargo, la respuesta hipersensible se disminuye o elimina al piramidarse con los genes recesivos, principalmente con *bc-3*. Cuando se trata de incorporar el gen *bc-3* en un genotipo con el gen *I* mediante selección directa

a trimolecular complex via the intermediary eIF4E, thought promotes viral translation, decreasing the affinity of plant mRNAs (Michon *et al.*, 2006). Moreover, RNA helicase from *A. thaliana* AtRH8 (which relates with eIF4A), is required for the replication of potyvirus and is a VPg interactor as demonstrated by Huang *et al.* (2010).

Similarly, the elongation factor 1 alpha (eEF-1A), interacts with VPg and RdRp (RNA polymerase dependent of viral RNA) (Thivierge *et al.*, 2008), which might be also involved in the replication of viral genome. But VPg not only interacts with proteins from the translation complex, it is known that can interact with cysteine-rich protein of *A. thaliana* designated as PVIP and involved in the movement of the virus in the plant. This interaction occurs near the N-terminal region of VPg, which is different from the region associated with eIF4E (Dunoyer *et al.*, 2004). Another protein known to interact with VPg is the nucleolar protein fibrillarin, which was proven to be also required for long distance movement in host plants (Rajamaki *et al.*, 2009). Paradoxically, eIF (iso) 4E protein of *A. thaliana* has also been involved in long distance movement of TEV (Contreras-Paredes *et al.*, 2013). This, although interesting, makes more complicate the factors involved in initiation of translation of the host cell.

During RNA replication process of potyvirus requires to circularize by juxtaposing their 3' and 5' ends in a similar manner to cellular mRNA, the binding protein to 3' end no translatable that binds to poly A or PABP segment and therefore its encoding gene, is a potential recessive resistance to potyvirus and deserves to be investigated (Thivierge *et al.*, 2005).

Opportunities for assisted selection of resistant bean to BCMV and BCMNV

I gene is located in chromosome B2 (Kelly *et al.*, 2003) and is independent of recessive resistance mainly conditioned by three different *bc* genes: *bc-3*, *bc-1²* and *bc-2²*; *bc-3* gene is located in B6 (Mukeshimana *et al.*, 2005), whereas *bc-1²* (Miklas *et al.*, 2000a) and non-specific allele *bc-u*, necessary for resistance of *bc-2²*, is in B3 (Strausbaugh *et al.*, 1999). The combination of dominant and recessive genes, with different mechanisms of resistance, provides greater durability than when a single gene is used; also because some of these genes reside on different linkage groups, its pyramiding is a strategy applicable to bean breeding programs (Kelly *et al.*, 2003).

por confrontación con el virus, se corre el riesgo de perder este último, debido a que la acción del gen *bc-3* enmascara la del gen *I* (Miklas *et al.*, 2006). En este sentido la aplicación de los marcadores moleculares ofrece la oportunidad para mantener y seguir utilizando el potencial del gen *I* como un gen de resistencia en futuras variedades de frijol.

Hasta hace muy poco todos los marcadores moleculares de resistencia a BCMV y BCMNV, correspondían a marcadores que no permitían determinar el carácter homocigótico del gen. Esta es una limitante importante debido a que los marcadores ligados pueden seleccionar individuos con el marcador pero sin la resistencia, debido en parte a que el gen *bc-3* no se encuentra en forma homocigótica, una característica que ha demostrado ser necesaria en la selección de resistencia efectiva (Naderpour *et al.*, 2010; Hart y Griffiths, 2012). Además, en comparación con un marcador codominante diseñado sobre la secuencia de un gen específico, la confirmación requiere más tiempo.

El Programa de Mejoramiento de Frijol del INIFAP ha usado los marcadores existentes SW13 para el gen *I* (Haley *et al.*, 1994; Melotto *et al.*, 1996), y ROC11 para *bc-3* (Johnson *et al.*, 1997). En el caso del marcador SW13, que se encuentra a ~5 cM del gen *I*, se pueden obtener recombinantes que poseen el marcador pero carecen del gen. Sin embargo, la coincidencia entre la presencia del amplicón del gen *I* y la resistencia fue 92.4% (Vandemark y Miklas, 2005), valor aceptable cuando se estudian grandes poblaciones, el restante 7.6% pudo deberse a la ausencia del gen o al efecto de la dominancia parcial. Por lo tanto, este marcador es una excelente herramienta para trabajar en condiciones de campo con cientos o miles de plantas, en donde la confrontación con el virus se produce de manera natural.

Por su parte, los marcadores codominantes que se encuentran dentro de la secuencia del gen son capaces de distinguir desde la primera generación filial (F_1), e incrementan la eficiencia de la SAMM, ya que pueden distinguir el estado homocigótico del gen (Miklas *et al.*, 2006). Actualmente sólo existe un marcador codominante que probablemente corresponde al gen *bc-3* (Naderpour *et al.*, 2010), el cual se diseñó una vez que se identificó molecularmente al gen responsable de la resistencia que codifica para eIF4E. Sin embargo, este marcador identifica los alelos *bc-3²* y *bc-3³* y por ser de tipo CAPS requiere el corte de restricción del producto de PCR con la enzima *RsaI*.

The resistance conferred only by *I* gene breaks when confronted with all necrotic strains (TN-1, NL-3, NL-5 and NL-8) and with NL2 and NL6 strains of BCMV (Morales and Castaño, 2008). However, the hypersensitive response is reduced or eliminated when pyramiding with recessive genes, mainly with *bc-3*. When it comes to incorporating the *bc-3* gene in a genotype with *I* gene through direct selection by confrontation with the virus, there is the risk of losing the latter, because the action of *bc-3* gene masks the *I* gene (Miklas *et al.*, 2006). In this sense the application of molecular markers provides the opportunity to maintain and continue to use the potential of *I* gene as a resistance gene in future bean varieties.

Until very recently all molecular markers of resistance to BCMV and BCMNV corresponded to markers that did not allow determining the homozygous nature of the gene. This is an important limitation because linkage marker can select individuals with markers but without resistance, in part due to the *bc-3* gene is not in homozygous form, a characteristic that has proven necessary in the selection of effective resistance (Naderpour *et al.*, 2010; Hart and Griffiths, 2012). Furthermore, compared with a codominant marker designed on the sequence of a specific gene, confirmation requires more time.

The Bean Breeding Program from INIFAP has used the existing SW13 markers for *I* gene (Haley *et al.*, 1994; Melotto *et al.*, 1996) and ROC11 for *bc-3* (Johnson *et al.*, 1997). In the case of SW13, which is located at ~ 5 cM from *I* gene, can be obtained recombinants that possess the marker but lack the gene. However, the coincidence between the presence of the amplicon from *I* gene and resistance was 92.4% (Vandemark and Miklas, 2005), acceptable value when large populations are studied, the remaining 7.6% could be due to the absence of the gene or to the effect of partial dominance. Therefore, this marker is an excellent tool to work under field conditions with hundreds or thousands of plants, where the confrontation with the virus occurs naturally.

Meanwhile, codominant markers found within gene sequence are able to distinguish from the first filial generation (F_1), and increase the efficiency of MAS, since they can distinguish the homozygous state of the gene (Miklas *et al.*, 2006). Currently there is only a codominant marker that probably corresponds to *bc-3* gene (Naderpour *et al.*, 2010), which was designed once the gene responsible of resistance that encodes for eIF4E was molecularly identified. However,

Adicionalmente, el uso de tecnologías como High Resolution Melting (HRM), para amplificar y monitorear en tiempo real cambios puntuales alrededor de los sitios de restricción enzimática, podría hacer más rápida la detección de individuos homocigotos posibilitando el análisis de poblaciones mayores. Por lo tanto el desarrollo de marcadores a partir del conocimiento de genes de resistencia es una opción viable en los programas de fitomejoramiento. En este sentido, tecnologías de reciente desarrollo como las ómicas, la genotipificación por SNPs o HRM, la secuenciación masiva del genoma y el transcriptoma, así como el análisis de expresión genética por qPCR, contribuirán a acelerar el proceso de identificación de nuevos marcadores ligados a un fenotipo específico de resistencia, ya sea que se encuentren adyacentes al gen o dentro de su secuencia. Desde luego, el conocimiento de las interacciones de las proteínas virales con las hospederas es el factor determinante en la propuesta de genes candidatos de resistencia viral. Este conocimiento aunado a la implementación de estas tecnologías podría crear programas de producción de semillas libres de virus en todas las regiones productoras, con el uso de metodologías rápidas, precisas y de costo accesible.

El uso de los marcadores disponibles, de manera paralela al desarrollo de nuevos marcadores, es una estrategia que puede acelerar y hacer más eficiente el fitomejoramiento. La variedad de frijol Dalia se obtuvo a partir de líneas avanzadas, y fue seleccionada para resistencia a BCMV mediante el uso de los marcadores moleculares SW13 y ROC11 (Acosta-Gallegos *et al.*, 2012) en cuatro ciclos de cultivo.

Aunque el Programa de Mejoramiento de Frijol del INIFAP es quizá el primero en utilizar técnicas biotecnológicas para el mejoramiento de frijol en México, recientemente ha estrechado su colaboración con instituciones de distintas disciplinas como el CINVESTAV y el CIAT para la búsqueda de genes candidatos de resistencia. Este tipo de interacciones favorece la obtención de mayor número de productos de investigación en forma de variedades mejoradas en un corto tiempo, para incrementar la eficiencia en atención a las principales demandas del país.

Conclusiones

Para enfrentar la problemática actual y futura del cultivo de frijol en México se requiere usar tecnologías que hagan más eficientes los programas de mejoramiento en uso.

this marker identifies the *bc-3²* and *bc-3³* alleles and for being CAPS type requires the restriction cutting with *RsaI* enzyme of the PCR product.

Additionally, the use of technologies such as High Resolution Melting (HRM), to amplify and for real-time monitoring specific changes around the restriction enzyme sites could make the detection of homozygous individuals faster, making possible to analyze larger populations. Therefore the development of markers from knowledge of resistance genes is a viable option in breeding programs. In this sense, technologies recently developed as omics, genotyping by SNPs or HRM, massive genome sequencing and transcriptome, and analysis of gene expression by qPCR, will contribute to accelerate the identification of new linkage markers to a specific phenotype of resistance, whether they are adjacent to the gene or within the sequence. Of course, knowledge of the interactions of viral proteins with host is the determining factor in the proposal of candidate genes for viral resistance. This knowledge coupled with the implementation of these technologies could create production programs of virus free seed in all producing regions, with the use of fast, accurate and affordable methodologies.

The use of available markers, in parallel to the development of new markers way, is a strategy that can accelerate and streamline breeding. Dalia bean variety was obtained from advanced lines, and was selected for resistance to BCMV using molecular markers SW13 and ROC11 (Acosta-Gallegos *et al.*, 2012) in four crop cycles.

Although Bean Breeding Program from INIFAP is perhaps the first to use biotechnology techniques to improve beans in Mexico, recently has strengthened its collaboration with institutions from different disciplines such as CINVESTAV and CIAT to search for candidate resistance genes. This type of interaction favors the obtaining a greater number of research products as improved varieties in a short time, to increase efficiency in response to the main demands of the country.

Conclusions

To address the current and future situation of bean cultivation in Mexico is necessary to use technologies that streamline breeding programs. To generate bean varieties resistant to BCMV and BCMNV through MAS is required to

Para generar variedades de frijol con resistencia a BCMV y BCMNV mediante SAMM se requiere desarrollar marcadores moleculares más eficientes que permitan la introducción de resistencia genética al mayor número de patógenos posible. En este sentido, el conocimiento de los mecanismos de replicación viral y de la variedad de los componentes de la célula hospedera necesarios para llevar a cabo dicha replicación, permitirá determinar los genes importantes para el desarrollo de marcadores moleculares de interés en la resistencia a BCMV y BCMNV. La contraparte viral a partir del conocimiento de la diversidad de demás especies y patógenos también será indispensable para vislumbrar estrategias de resistencia de amplio espectro.

El estado actual del conocimiento científico, así como el desarrollo de nuevas tecnologías para el estudio de ácidos nucleicos y proteínas, se encuentra en un estado tal que ya es posible llevar a cabo la identificación eficiente de genes y marcadores a partir de germoplasma con características de interés, en función a su resistencia a virus y aceptación por el consumidor. Para esto es necesario conjuntar esfuerzos de investigación en las áreas básica y aplicada de manera interdisciplinaria e interinstitucional, aprovechando las fortalezas de cada institución.

Agradecimientos

Al Fondo sectorial SAGARPA-CONACYT por apoyo al proyecto (Folio SIFP: 11-2008-0593) "Desarrollo de variedades de frijol de alto rendimiento, tolerantes a sequía, resistentes a patógenos y con la calidad que demanda el consumidor" (SAGARPA-2009-109621), y al proyecto "Identificación de virus que afectan la producción de frijol y desarrollo de marcadores moleculares para la selección asistida de variedades resistentes" apoyado con recursos fiscales y con número SIGI: 10242732533.

Literatura citada

- Acosta-Gallegos, J. A.; Montero-Tavera, V.; Jiménez-Hernández, Y.; Anaya-López, J. L.; González-Chavira, M. M. 2014. 'Dalia', a new variety of bean grain, Flor de Junio type for the central region of Mexico. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 5(2):331-336.
- Albar, L.; Bangratz-Reyser, M.; Hébrard, E.; Ndjiondjop, M. N.; Jones, M. and Ghesquière, A. 2006. Mutations in the eIF (iso) 4G translation initiation factor confer high resistance of rice to rice yellow mottle virus. *Plant J.* 47:417-426.
- Ali, M. A. 1950. Genetics of resistance to the common bean mosaic virus in the bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Phytopathology.* 40:69-79.
- Browning, K. S. 2004. Plant translation initiation factors: it is not easy to be green. *Biochem. Soc. T.* 32:589-591.
- Charron, C.; Nicolai, M.; Gallois, J. L.; Robaglia, C.; Moury, B.; Palloix, A. and Caranta, C. 2008. Natural variation and functional analyses provide evidence for co-evolution between plant eIF4E and potyviral VPg. *Plant J.* 54:56-68.
- Cheng, S. and Gallie, D. R. 2006. Wheat eukaryotic initiation factor 4B organizes assembly of RNA and eIFiso4G, eIF4A, and poly (A)-binding protein. *J. Biol. Chem.* 281:24351-24364.
- Contreras-Paredes, C. A.; Silva-Rosales, L.; Daròs, J. A.; Alejandri-Ramírez, N. A. and Dinkova, T. D. 2013. The absence of eukaryotic initiation factor eIF(iso)4E affects the systemic movement of a tobacco etch virus isolate in *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Plant. Microbe In.* 26(4):461-470.
- Drijfhout, E. 1978a. Genetic interaction between *Phaseolus vulgaris* and bean common mosaic virus with implications for strain identification and breeding for resistance. Doctoral thesis. Wageningen Agric. Res. Rep. 872.
- Drijfhout, E.; Silbernagel, M. J. and Burke, D. W. 1978b. Differentiation of strains of bean common mosaic virus. *Neth J. Plant. Pathol.* 84:13-26.
- Dunoyer, P.; Thomas, C.; Harrison, S.; Revers, F. and Maule, A. 2004. A cysteine-rich plant protein potentiates potyvirus movement through an interaction with the virus genome-linked protein VPg. *J. Virol.* 78:2301-2309.
- Duprat, A.; Caranta, C.; Revers, F.; Menand, B.; Browning, K. S. and Robaglia, C. 2002. The *Arabidopsis* eukaryotic initiation factor (iso)4E is dispensable for plant growth but required for susceptibility to potyviruses. *Plant J.* 32:927-934.

End of the English version



- Flores-Estéves, N.; Acosta-Gallegos, J. A. and Silva-Rosales, L. 2003. Bean common mosaic and bean common mosaic necrosis virus in Mexico. *Plant Dis.* 87:21-5.
- Fraser, R. S. S. 1986. Genes for resistance to plant viruses. *Crit. Rev. Plant. Sci.* 3:257-294.
- Gallie, D. R. and Browning, K. S. 2001. eIF4G functionally differs from eFiso4G in promoting internal initiation, cap-independent translation, and translation of structured mRNAs. *J. Biol. Chem.* 276:36951-36960.
- Gallois, J. L.; Charron, C.; Sánchez, F.; Pagny, G.; Houvenaghel, M. C.; Moretti, A.; Ponz, F.; Revers, F.; Caranta, C. and German-Retana, S. 2010. Single amino acid changes in the Turnip mosaic virus viral genome-linked protein (VPg) confer virulence towards *Arabidopsis thaliana* mutants knocked out for eukaryotic initiation factors eIF(iso)4E and eIF(iso)4G. *J. Gen. Virol.* 91:288-293.
- Gao, Z.; Johansen, E.; Eyers, S.; Thomas, C. L.; Noel-Ellis, T. H. and Maule, A. J. 2004. The potyvirus recessive resistance gene, *sbm1*, identifies a novel role for translation initiation factor eIF4E in cell-to-cell trafficking. *Plant J.* 40:376-385.
- Haley, S. D.; Afanador, L. and Kelly, J. D. 1994. Identification and application of a random amplified polymorphic DNA marker for the *I* gene (potyvirus resistance) in common bean. *Phytopathology.* 84:157-160.
- Hart, J. P. and Griffiths, P. D. 2012. Molecular and phenotypic evidence for multiple alleles at the recessive potyvirus resistance locus eIF4E. *Ann. Rep. Bean Improv. Coop.* 55:79-80.
- Huang, T. S.; Wei, T.; Laliberte, J. F. and Wang, A. 2010. A host RNA helicase-like protein, ATRH8, interacts with the potyviral genome-linked protein, VPg, associates with the virus accumulation complex, and is essential for infection. *Plant Physiol.* 152:255-266.
- Johnson, W. C.; Guzman, P.; Mandala, D.; Mkandawire, A. B. C.; Temple, S.; Gilbertson, R. L. and Gepts, P. 1997. Molecular tagging of the *bc-3* gene for introgression into Andean common bean. *Crop Sci.* 37:248-254.
- Jones, J. D. G. and Dangl, J. L. 2006. The plant immune system. *Nature.* 444:323-329.
- Kelly, J. D.; Gepts, P.; Miklas, P. N. and Coyne, D. P. 2003. Tagging and mapping of genes and QTL and molecular-marker assisted selection for traits of economic importance in bean and cowpea. *Field Crop Res.* 82:135-154.
- Kelly, J. D. 1997. A review of varietal response to bean common mosaic potyvirus in *Phaseolus vulgaris*. *Plant. Var. Seeds.* 10:1-6.
- Larsen, R. C.; Miklas, P. N.; Druffel, K. L. and Wyatt, S. D. 2005. NL-3 K strain is a stable naturally occurring interspecific recombinant derived from Bean common mosaic necrosis virus and Bean common mosaic virus. *Phytopathology.* 95:1037-1042.
- Lee, J. H.; Muhsin, M.; Atienza, G. A.; Kwak, D. Y.; Kim, S. M.; De Leon, T. B.; Angeles, E. R.; Coloquio, E.; Kondoh, H.; Satoh, K.; Cabunagan, R. C.; Cabauatan, P. Q.; Kikuchi, S.; Leung, H. and Choi, I. R. 2010. Single nucleotide polymorphisms in a gene for translation initiation factor (eIF4G) of rice (*Oryza sativa*) associated with resistance to Rice tungro spherical virus. *Mol. Plant Microbe In.* 23:29-38.
- Leonard, S.; Viel, C.; Beauchemin, C.; Daigneault, N.; Fortin, M. G. and Laliberte, J. F. 2004. Interaction of VPg-Pro of turnip mosaic virus with the translation initiation factor 4E and the poly (A)-binding protein in planta. *J. Gen. Virol.* 85:1055-1063.
- Lepe-Soltero, D.; Sánchez-García, B. M.; Jiménez-Hernández, Y.; Salinas-Pérez, R. A.; García-Neria, M. A.; González de León, D.; Becerra-Leor, N. E.; Acosta-Gallegos, J. A. and Silva-Rosales, L. 2012. Presence of BCMV and BCMNV in five dry bean-producing states in Mexico. *Trop. Subtrop. Agroecosyst.* 15:313-321.
- Marcotrigiano, J.; Gingras, A. C.; Sonenberg, N. and Burley, S. K. 1999. Cap dependent translation initiation in eukaryotes is regulated by a molecular mimic of eIF4G. *Mol. Cell.* 3:707-716.
- Martin, G. B.; Bogdanove, A. J. and Sessa, G. 2003. Understanding the functions of plant disease resistance proteins. *Annu. Rev. Plant. Biol.* 54:23-61.
- Melotto, M.; Afanador, L. and Kelly, J. D. 1996. Development of a SCAR marker linked to the *I* gene in common bean. *Genome.* 39:1216-1219.
- Michon, T.; Estevez, Y.; Walter, J.; German-Retana, S. and Le Gall, O. 2006. The potyviral virus genome-linked protein VPg forms a ternary complex with the eukaryotic initiation factors eIF4E and eIF4G and reduces eIF4E affinity for a mRNA cap analogue. *FEBS J.* 273:1312-1322.
- Miklas, P. N.; Kelly, J. D.; Beebe, S. E. and Blair, M. W. 2006. Common bean breeding for resistance against biotic and abiotic stresses: from classical to MAS breeding. *Euphytica.* 147:105-131.
- Miklas, P. N.; Larsen, R. C.; Riley, R. and Kelly, J. D. 2000a. Potential marker-assisted selection for *bc-1²* resistance to Bean common mosaic potyvirus in common bean. *Euphytica.* 116:211-219.
- Morales, F. and Castaño, C. 2008. Enfermedades virales del frijol común en América Latina. CIAT-publicaciones No. 364. Palmira (Valle-Col). 86 p.
- Morales, F. J. and Castaño, M. 1987. Seed transmission characteristics of selected bean common mosaic virus strains in differential bean cultivars. *Plant Dis.* 71:51-53.
- Mukeshimana, G.; Pañeda, A.; Rodríguez, C.; Ferreira, J. J.; Giraldez, R. and Kelly, J. D. 2005. Markers linked to the *bc-3* gene conditioning resistance to bean common mosaic potyviruses in common bean. *Euphytica.* 144:291-299.
- Naderpour, M.; Lund, O. S.; Larsen, R. and Johansen, E. 2010. Potyviral resistance derived from cultivars of *Phaseolus vulgaris* carrying *bc-3* is associated with the homozygotic presence of a mutated eIF4E allele. *Mol. Plant Pathol.* 11:255-263.
- Nicaise, V.; Gallois, J. L.; Chafiai, F.; Allen, L. M.; Schurdi-Levraud, V.; Browning, K. S.; Candresse, T.; Caranta, C.; Le Gall, O. and German-Retana, S. 2007. Coordinated and selective recruitment of eIF4E and eIF4G factors for potyvirus infection in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett.* 581:1041-1046.
- Parsyan, A.; Svitkin, Y.; Shahbazian, D.; Gkogkas, C.; Lasko, P.; Merrick, W. C. and Sonenberg, N. 2011. mRNA helicases: the tacticians of translational control. *Nat. Rev. Mol. Cell Bio.* 12:235-245.
- Rajamaki, M. L. and Valkonen, J. P. 2009. Control of nuclear and nucleolar localization of nuclear inclusion protein a of picorna-like Potato virus A in Nicotiana species. *Plant Cell.* 21:2485-2502.
- Robaglia, C. and Caranta, C. 2006. Translation initiation factors: a weak link in plant RNA virus infection. *Trends. Plant Sci.* 11:40-45.
- Roudet-Tavert, G.; Michon, T.; Walter, J.; Delaunay, T.; Redondo, E. and Le Gall, O. 2007. Central domain of a potyvirus VPg is involved in the interaction with the host translation initiation factor eIF4E and the viral protein HcPro. *J. Gen. Virol.* 88:1029-1033.

- Ruffel, S.; Caranta, C.; Palloix, A.; Lefebvre, V.; Caboche, M. and Bendahmane, A. 2004. Structure analysis of the eukaryotic initiation factor 4E gene controlling potyvirus resistance in pepper: exploitation of a BAC library. *Gene*, 338:209-216. *Plant Microbe Interact.* 11:1266-1270.
- Sato, M.; Nakahara, K.; Yoshii, M.; Ishikawa, M. and Uyeda, I. 2005. Selective involvement of members of the eukaryotic initiation factor 4E family in the infection of *Arabidopsis thaliana* by potyviruses. *FEBS Lett.* 579:1167-1171.
- Silbernagel, M. J. 1995. Bean germplasm releases. *Ann Rep Bean Improv Coop.* 38:177.
- Strausbaugh, C. A.; Myers, J. R.; Forster, R. L. and McClean, P. E. 1999. *Bc-1* and *Bc-u* two loci controlling bean common mosaic virus resistance in common bean are linked. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 124:644-648.
- Thivierge, K.; Nicaise, V.; Dufresne, P. J.; Cotton, S.; Laliberte, J. F.; Le Gall, O. and Fortin, M. G. 2005. Plant virus RNAs. Coordinated recruitment of conserved host functions by (+) ssRNA viruses during early infection events. *Plant Physiol.* 138:1822-1827.
- Thivierge, K.; Cotton, S.; Dufresne, P. J.; Mathieu, I.; Beauchemin, C.; Ide, C.; Fortin, M. G. and Laliberté, J. F. 2008. Eukaryotic elongation factor 1A interacts with Turnip mosaic virus RNA-dependent RNA polymerase and VPg-Pro in virus-induced vesicles. *Virology.* 377: 216-225.
- Vandemark, G. J. and Miklas, P. N. 2005. Genotyping common bean for the potyvirus resistance alleles *I* and *bc-1²* with a multiplex real-time polymerase chain reaction assay. *Phytopathology.* 95:499-505.
- Wang, A. and Krishnaswamy, S. 2012. Eukaryotic translation initiation factor 4E-mediated recessive resistance to plant viruses and its utility in crop improvement. *Mol. Plant Pathol.* 13:795-803.
- Whitmer-Collmer, C.; Fisher-Marston, M.; Taylor, J. C. and Jahn, M. 2000. The *I* gene of bean: a dosage dependent allele conferring extreme resistance, hypersensitive resistance, or spreading vascular necrosis in response to the potyvirus bean common mosaic virus. *Mol. Plant Microbe. Interact.* 11:1266-1270.