



UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER  
BIBLIOTECA EDUARDO COTE LAMUS



RESUMEN TESIS DE GRADO

**AUTOR (ES):**

**NOMBRE (S):** YURIA DISNEY

**APELLIDOS:** MARTINEZ BECERRA

**NOMBRE (S):** \_\_\_\_\_

**APELLIDOS:** \_\_\_\_\_

**NOMBRE (S):** \_\_\_\_\_

**APELLIDOS:** \_\_\_\_\_

**FACULTAD:** CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE

**PLAN DE ESTUDIOS:** INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

**DIRECTOR:**

**NOMBRE (S):** JORGE EVELIO

**APELLIDOS:** ANGEL DÍAZ

**NOMBRE (S):** \_\_\_\_\_

**APELLIDOS:** \_\_\_\_\_

**TÍTULO DE LA TESIS:** CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE ESPECIES DE *Fusarium oxysporum* ASOCIADAS AL CULTIVO DE GULUPA (*Passiflora edulis sims*) EN MUNICIPIOS DEL DEPARTAMENTO DE CUNDINAMARCA

**RESUMEN:**

Se aislaron los patógenos del cultivo de gulupa (*Passiflora edulis sims*) causante de enfermedades vasculares en diferentes zonas de Cundinamarca, identificando el género y especie, siguiendo las claves taxonómicas de Leslie y Sumerell para obtener cultivos monospóricos. Se realizaron las pruebas de patogenicidad con postulados de Koch para confirmar si *Fusarium oxysporum* es el agente causal de la marchitez vascular en gulupa. Igualmente se ampliaron las secuencias correspondientes al gen nuclear que codifica para el Factor de Elongación -1 alfa (EF-1a). Por último se utilizaron enzimas de restricción (AluI y MspI-HpaII) para digestión de los fragmentos amplificados mediante PCR RFLP.

**CARACTERÍSTICAS:**

**PAGINAS:** 143

**PLANOS:**

**ILUSTRACIONES:**

**CD-ROM:** 1

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE ESPECIES DE *Fusarium oxysporum*  
ASOCIADAS AL CULTIVO DE GULUPA (*Passiflora edulis sims*) EN MUNICIPIOS  
DEL DEPARTAMENTO DE CUNDINAMARCA

YURIA DISNEY MARTINEZ BECERRA

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE  
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA  
SAN JOSÉ DE CÚCUTA  
2010

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE ESPECIES DE *Fusarium oxysporum*  
ASOCIADAS AL CULTIVO DE GULUPA (*Passiflora edulis sims*) EN MUNICIPIOS  
DEL DEPARTAMENTO DE CUNDINAMARCA

YURIA DISNEY MARTINEZ BECERRA

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de  
Ingeniero Biotecnológico

Director  
JORGE EVELIO ANGEL DÍAZ  
PhD. Biología Molecular

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE  
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA  
SAN JOSÉ DE CÚCUTA  
2010



UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE  
INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

ACTA DE SUSTENTACION DE UN TRABAJO DE GRADO

FECHA: 03 DE JUNIO DE 2010

HORA: 04:00 P.M.

LUGAR: SALA N°4 EDIFICIO CREAD

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERIA BIOTECNOLÓGICA

TITULO DE LA TESIS: "CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE ESPECIES DE *Fusarium oxysporum* ASOCIADAS AL CULTIVO DE GULUPA (*Passiflora edulis sims*) EN MUNICIPIOS DEL DEPARTAMENTO DE CUNDINAMARCA"

MODALIDAD: INVESTIGACIÓN

JURADOS: CHRISTIAN CHACIN ZAMBRANO  
GERMÁN LUCIANO LÓPEZ BARRERA  
YENNY ESPERANZA RODRÍGUEZ PÉREZ

DIRECTOR: JORGE EVELIO ANGEL DIAZ

NOMBRE DEL ESTUDIANTE	CODIGO	CALIFICACION
YURIA DISNEY MARTINEZ BECERRA	1610356	4.8

OBSERVACIONES:  
MERITORIO

FIRMA DE LOS JURADOS:

  

Vo. Bo. Coordinador Comité Curricular 

A mi madre, Carmen Alicia Becerra, por su apoyo incondicional y sobre todo por hacer de mi una persona fuerte decidida y capaz de cumplir con sus objetivos.

**Yuria**

## **AGRADECIMIENTOS**

La autora del presente trabajo de grado expresa sus agradecimientos a:

Doctor Jorge Evelio Angel Díaz, director del trabajo de grado, por la oportunidad de realizar y cumplir cada uno de los objetivos que me permitieron crecer profesionalmente.

MSc. Catalina Botero, codirectora del trabajo de grado, por la dedicación y apoyo que me brindó para cumplir con mi objetivo.

Doctores Leonardo Mariño y Mauricio Ortiz, por sus asesorías en los análisis de secuencias y el diseño estadístico del estudio.

Ingeniero Leonardo Camargo, por el apoyo brindado al momento de coleccionar las muestras utilizadas en el trabajo.

## CONTENIDO

	<b>pág.</b>
INTRODUCCIÓN	15
1. GENERALIDADES DE LA GULUPA	19
1.1 CULTIVO DE GULUPA	19
1.2 ENFERMEDAD DE GULUPA CAUSADA POR MARCHITEZ VASCULAR	21
1.3 REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)	25
1.3.1 Gen de elongación 1 alfa	28
2. PRESENTACION DE RESULTADOS	30
2.1 OBTENCIÓN DE MATERIAL VEGETAL	30
2.1.1 Pruebas de patogenicidad	35
2.1.2 Extracción del DNA del hongo	50
2.1.3 Amplificación del gen de elongación 1 alfa	51
2.1.4 Caracterización molecular PCR-RFLP	52
2.1.5 Secuenciación	52

2.2 ANÁLISIS Y PROCEDIMIENTO DE DATOS	53
2.2.1 Análisis estadístico	53
3. RESULTADOS Y DISCUSIONES	54
3.1 AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE FUSARIUM OXYSPOURUM	54
3.2 PRUEBAS DE PATOGENICIDAD	59
3.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO MORTALIDAD POR CEPA EN CADA EXPERIMENTO	74
3.4 EXTRACCIÓN DE DNA DE FUSARIUM OXYSPOURUM	83
3.5 DETERMINACION DEL GEN DE ELONGACIÓN 1 ALFA	84
3.6 DETERMINACION DE PCR RFLP	85
3.7 DETERMINACION DE LA SECUENCIACIÓN	95
4. CONCLUSIONES	101
5. RECOMENDACIONES	104
BIBLIOGRAFIA	105
ANEXOS	107



## LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Cultivo de gulupa	20
Figura 2. Macroconidias de <i>Fusarium oxysporum</i>	22
Figura 3. Mecanismo de ataque de <i>Fusarium oxysporum</i> en gulupa	23
Figura 4. Visualización del proceso de PCR	27
Figura 5. Amplificación exponencial en la PCR	28
Figura 6. Estructura del gen de elongación	28
Figura 7. Diagrama metodológico	30
Figura 8. Obtención de material vegetal de plantas de gulupa ( <i>Passiflora edulis sims</i> )	31
Figura 9. Desinfección del material vegetal y obtención del patógeno	33
Figura 10. Conservación de <i>Fusarium oxysporum</i> en tubos con PDA a 4°C	35
Figura 11. Turba y lombricompost	37
Figura 12. Suelo en macetas	37
Figura 13. Macetas con sustrato	38
Figura 14. Bloques inoculados al azar, con aislamientos de los municipios del departamento de Cundinamarca, cepas VB3 (Venecia), VFP (Pandi), SBLU (San Bernardo), W2(Cabrera), B2 (Bojacá), R5 (Ubaque), C4(Choachi)	40
Figura 15. Bloques al azar inoculados con aislamientos de otros frutales, cepas UC, GR, M38 y M54	40
Figura 16. Bloques inoculados con controladores de <i>Fusarium</i> , cepa VB3	41
Figura 17. Bloque control testigo	42
Figura 18. Solución EMA, bloque de 10 plantas	44