

	<b>GESTIÓN DE RECURSOS Y SERVICIOS BIBLIOTECARIOS</b>	<b>Código</b>	FO-SB-12/v0
	<b>ESQUEMA HOJA DE RESUMEN</b>	<b>Página</b>	<b>1/81</b>

RESUMEN TRABAJO DE GRADO

AUTOR(ES): LEIDY PAOLA OMAÑA PEÑARANDA

FACULTAD: FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

DIRECTOR: GIOVANNI CHAVES BEDOYA

TÍTULO DEL TRABAJO: “DETECCION Y CARACTERIZACION MOLECULAR DEL VIRUS DEL MOSAICO DEL PEPINO CMV ASOCIADO AL CULTIVO DEL TOMATE (SOLANUM LYCOPERSICUM) EN LOS MUNICIPIOS DE ABREGO Y EL ZULIA DE NORTE DE SANTANDER”

RESUMEN

El cultivo del tomate es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial, la producción de este cultivo se ve limitada por enfermedades virales como las causadas por los Begomovirus, y los Cucumovirus. El objetivo de este trabajo fue realizar la detección del virus del mosaico del pepino en diferentes localidades del departamento de Norte de Santander mediante el uso de técnicas moleculares. Para cumplir con el objetivo planteado se realizaron colectas de material vegetal de plantas de tomate y pepino que presentaban sintomatología típica para este virus como clorosis, mosaicos y malformación de las hojas, en las localidades de Abrego, El Zulia, Chitagá, Bucarasica, Pamplonita, Los Patios y Arboledas. Se llevaron a cabo las extracciones de ARN del tejido vegetal y se realizaron ensayos de RT-PCR con cebadores diseñados para la detección de este virus reportado en la literatura. Se logró generar amplificaciones de 586pb. Aunque los resultados no fueron concluyentes para determinar la presencia del virus del mosaico del pepino en las localidades muestreadas. Se logró detectar la presencia de otros virus de igual importancia económica relacionados con el Virus del rizado foliar severo del tomate (ToSLCV) y el virus del mosaico amarillo de la papa (PYMV) en el municipio de Pamplonita y Ábrego.

PALABRAS CLAVE: CMV, virus, detección

CARACTERÍSTICAS:

PÁGINAS: 83 PLANOS:    ILUSTRACIONES:    CD ROOM:   1

DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DEL VIRUS DEL MOSAICO DEL  
PEPINO CMV ASOCIADO AL CULTIVO DE TOMATE (SOLANUM LYCOPERSICUM)  
EN LOS MUNICIPIOS DE ÁBREGO Y EL ZULIA DE NORTE DE SANTANDER

LEIDY PAOLA OMAÑA PEÑARANDA

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

2020

DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DEL VIRUS DEL MOSAICO DEL  
PEPINO CMV ASOCIADO AL CULTIVO DE TOMATE (SOLANUM LYCOPERSICUM)  
EN LOS MUNICIPIOS DE ÁBREGO Y EL ZULIA DE NORTE DE SANTANDER

LEIDY PAOLA OMAÑA PEÑARANDA

INFORME FINAL PRESENTADO COMO REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE  
INGENIERO BIOTECNOLÓGICO

DIRECTOR

GIOVANNI CHAVES BEDOYA

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

2020

**ACTA DE SUSTENTACION DE UN TRABAJO DE GRADO**

**FECHA:** 17 DICIEMBRE DE 2019

**HORA:** 04:00 P.M.

**LUGAR:** OFICINA DEL PROGRAMA INGENIERIA BIOTECNOLOGICA

**PLAN DE ESTUDIOS:** INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

**TITULO:** "DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DEL VIRUS DEL MOSAICO DEL PEPINO CMV ASOCIADO AL CULTIVO DE TOMATE (SOLANUM LYCOPERSICUM) EN LOS MUNICIPIOS DE ÁBREGO Y EL ZULIA DE NORTE DE SANTANDER."

**MODALIDAD:** INVESTIGACION

**JURADO:** LILIAN TRINIDAD RAMIREZ CAICEDO  
GERMAN LUCIANO LÓPEZ BARRERA  
JUAN CARLOS RAMIREZ BERMUDEZ

**ENTIDAD:** UFPS

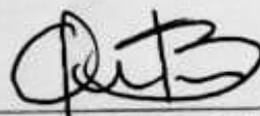
**DIRECTOR:** GIOVANNI CHAVES BEDOYA

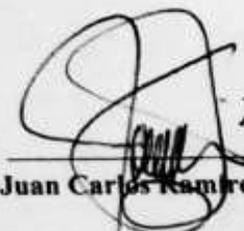
<b>NOMBRE DE LOS ESTUDIANTE</b>	<b>CODIGO</b>	<b>CALIFICACION</b>
<b>Leidy Paola Omaña Peñaranda</b>	<b>1611071</b>	<b>4.3</b>

**OBSERVACIONES:** APROBADO.

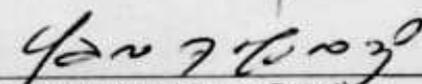
**FIRMA DE LOS JURADOS**

  
Lilian Trinidad Ramirez Caicedo

  
German Luciano López Barrera

  
Juan Carlos Ramirez Bermúdez

**Vo. Bo Coordinador Comité Curricular**

  
Yaneth Amparo Muñoz Peñalóza

## Resumen

El cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum*) es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial, la producción de este cultivo se ve limitada por enfermedades virales como las causadas por fitopatógenos de alta importancia agrícola como los Begomovirus, (familia *gemviridae*) y los Cucumovirus (familia *Bromoviridae*). A nivel nacional se ha incrementado la presencia de plantas asociadas con la aparición síntomas virales. El objetivo de este trabajo fue realizar la detección del virus del mosaico del pepino [CMV, por sus siglas en inglés] en diferentes localidades del departamento de Norte de Santander mediante el uso de técnicas moleculares. Para cumplir con el objetivo planteado se realizaron colectas de material vegetal de plantas de tomate y pepino que presentaban sintomatología típica para este virus como clorosis, mosaicos y malformación de las hojas, en las localidades de Abrego, El Zulia, Chitagá, Bucarasica, Pamplonita, Los Patios y Arboledas. Se llevaron a cabo las extracciones de ARN del tejido vegetal y se realizaron ensayos de RT-PCR con cebadores diseñados para la detección de este virus reportado en la literatura. Se logró generar amplificaciones de 586pb con los cebadores CMV (CMV-F 5'-CCTCCGCGGATGCTAACTT-3 'y CMV-R 5'-CGGAATCAGACTGGGAGCA-3 '). Algunos productos se purificaron y secuenciaron. Aunque los resultados no fueron concluyentes para determinar la presencia del virus del mosaico del pepino en las localidades muestreadas. Se logró detectar la presencia de otros virus de igual importancia económica relacionados con el Virus del rizado foliar severo del tomate (ToSLCV) y el virus del mosaico amarillo de la papa (PYMV) en el municipio de Pamplonita, tanto en invernadero como en campo. La presencia de (ToSLCV) en Colombia no se ha descrito en la literatura hasta el momento; de igual forma es el primer Aporte de la presencia de (PYMV) en el departamento de Norte de Santander.

## **Agradecimientos**

A Dios por darme la fortaleza y sabiduría para seguir cada día.

A mis padres y tía por todo el apoyo.

A mi director de proyecto de grado Giovanni Chaves Bedoya por la confianza y paciencia.

A Alexander Garro por su amor y apoyo.

A todo el grupo de investigación FITOBIOMOL por darme la oportunidad de conocerlos y por los conocimientos prestados.

## Contenido

Resumen	5
Agradecimientos	6
Contenido	7
Lista de tablas	10
Lista de figuras	11
Introducción	12
1. El problema	14
1.1. Título	14
1.2. Planteamiento del problema	14
1.3. Formulación del problema	15
1.4. Justificación	15
1.5. Objetivos	16
1.5.1. Objetivo general	16
1.5.2. Objetivos específicos	16
1.6 Delimitación	16
2. Marco referencial	17
2.1 Antecedentes	17
2.2 Marco teórico	20
2.2.1. Generalidades del tomate ( <i>solanum lycopersicum</i> )	20
2.2.1.1. Origen.	20
2.2.1.2. Condiciones edafoclimatológicas	20
2.2.1.3. Suelo.	21
2.2.1.4. Condiciones climáticas.	21
2.2.1.5. Descripción botánica y morfológica.	22
2.2.1.6. Clasificación taxonómica.	23
2.2.1.7. Valor nutricional del Tomate.	23
2.2.1.8. Tipos de tomate.	25
2.2.1.9. Principales productores mundiales de tomate.	25

2.2.1.10. Principales zonas productoras de tomate en el país.	27
2.2.2. Virus del mosaico del pepino (CMV):	28
2.2.2.1. Descripción.	28
2.2.2.2. Biología y Epifitiología.	29
2.2.2.3. Características morfológicas y estructurales.	29
2.2.2.4. Sintomatologías del virus CMV.	31
2.2.2.5. Replicación del virus.	32
2.2.2.5.1. Movimiento célula a célula.	35
2.2.2.6 Propagación de CMV en la naturaleza.	35
2.2.2.6.1. Propagación de CMV por áfidos.	35
2.2.2.7. Medidas de prevención y control del virus CMV.	36
2.3 Marco legal	37
2.4 Geminivirus	39
2.4.1 Begomovirus.	40
Diseño metodológico	43
3.1 Tipo de investigación	43
3.2 Población y muestra	43
3.2.1. Población.	43
3.2.2. Muestra.	44
3.3 Hipótesis	44
3.4 Variables	45
3.4.1. Muestreo en campo.	45
3.4.2. Extracción de ARN	45
3.4.2.1. Estandarización de la extracción de ARN.	45
3.4.2.1.1 Protocolo con reactivo del Trizol (materia liofilizado).	45
3.4.2.1.2 Protocolo con reactivo del Trizol (material macerado con Nitrógeno líquido)	46
3.4.2.1.3 Protocolo de extracción utilizando el reactivo PureLink™ Plant RNA Reagent	47
3.4.3. Síntesis de ADN complementario (ADNc)	48
3.4.3.1. Selección y diseño de oligonucleótidos.	48

3.4.3.2. Condiciones de la transcripción reversa (RT).	49
3.4.4. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	50
3.4.4.1. Estandarización de las condiciones de la PCR.	50
3.4.4.2. Purificación de ADNc.	53
3.4.4.2.1. Protocolo de purificación de ADN (Column-Pure DNA Gel Recovery Kit)	53
3.4.4.2.2. Protocolo de purificación con El kit GeneJET PCR	54
3.4.4.2.3. Electroforesis en gel de agarosa.	54
3.4.5. Clonación de ADNs purificados.	55
3.4.5.1. Ligación con el vector TOPO TA cloning.	55
3.4.5.2. Transformación de células por electroporación.	55
3.4.5.3. PCR en colonia.	56
3.4.5.4. Minipreparación.	56
3.4.5.4.1. Procedimiento de purificación mediante centrifugación	57
3.4.5.4.2. Digestión con la enzima ECOR I.	58
3.4.6. Cuantificación de ADN.	58
3.4.7. Secuenciación.	58
3.4.8. Análisis de secuencias.	59
3.5 Fases de la investigación	59
4.1 recolección de muestras	60
4.2 Extracción de ARN	64
4.3 Detección molecular de virus	65
4.3.1 RT- PCR.	65
4.3.2 Análisis de secuencias.	67
Conclusiones	75
Recomendaciones	76
Referencias bibliográficas	77