



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura
Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Trabajo de Titulación, Previo a la Obtención del título de Ingeniero en
Biotecnología

**“Caracterización molecular del gen mitocondrial citocromo b del
nematodo del quiste *Globodera pallida*, asociado al cultivo de
papa (*Solanum tuberosum* L.)”**

Elaborado por
Cobo Cortez, Roberto Arturo

Director
Dra. Proaño Tuma, Karina Isabel Ph.D

Fecha
4 de septiembre del 2023



Tabla de contenido

1 Introducción

2 Objetivos e hipótesis

3 Materiales y Métodos

4 Resultados y Discusión

5 Conclusiones

6 Recomendaciones

7 Agradecimientos



Tabla de contenido

- 1 Introducción
- 2 Objetivos e hipótesis
- 3 Materiales y Métodos
- 4 Resultados y Discusión
- 5 Conclusiones
- 6 Recomendaciones
- 7 Agradecimientos



Introducción-*Solanum tuberosum* L.

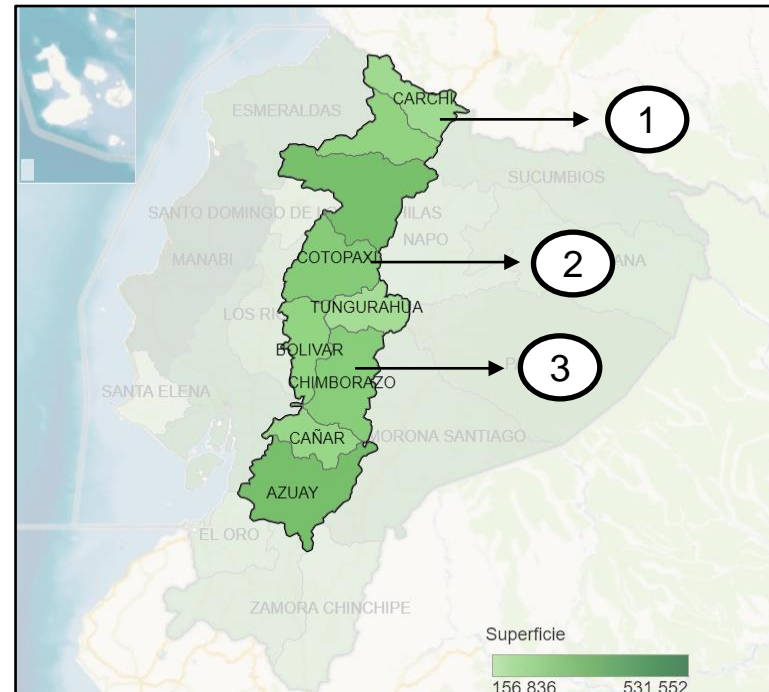
Familia	<i>Solanaceae</i>
Género	<i>Solanum</i>
Especie	<i>S. tuberosum</i>



América del Sur (6.000 y 10.000 años)

150 países - 4000 variedades

250 000 plazas de empleo	2.3% al Valor Agregado Bruto	USD 70 millones
--------------------------	------------------------------	-----------------



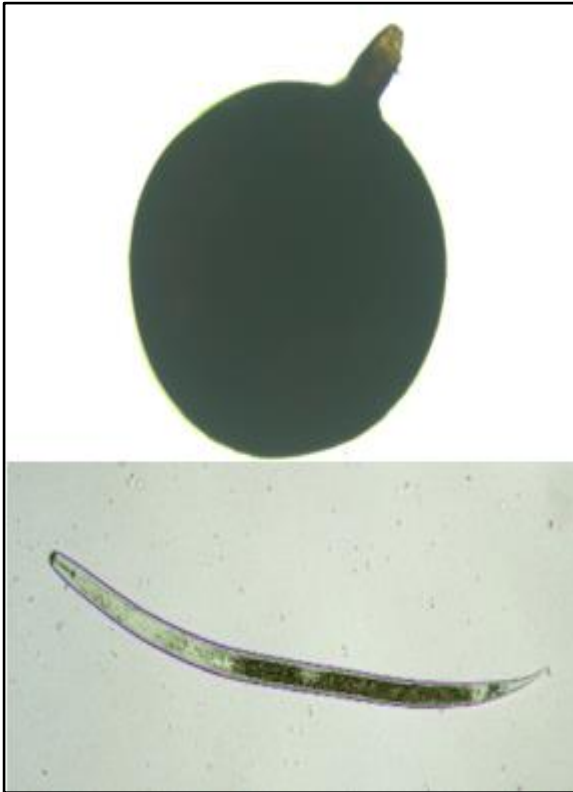
33,3% plagas



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

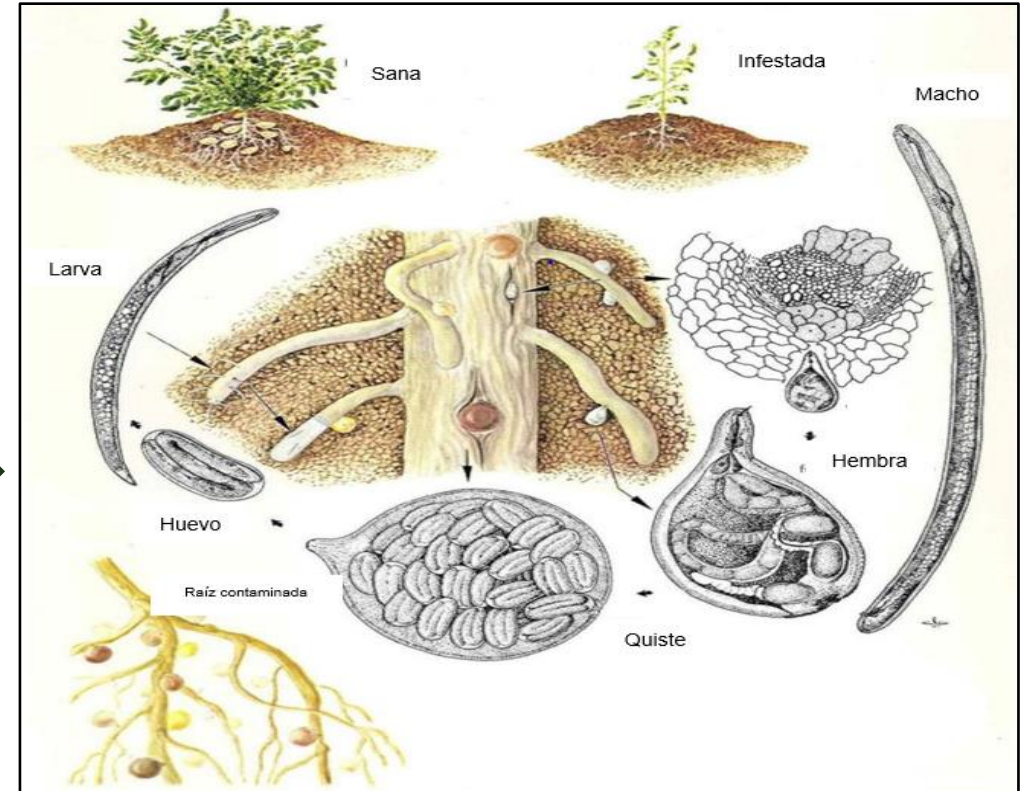
Introducción- Nematodo del Quiste de la Papa (Globodera spp.)

Familia	Heteroderidae
Género	Globodera



Principales especies

- ***G. pallida***
- ***G. rostochiensis***
- ***G. ellingtonae***
- ***G. mexicana***
- ***G. tabacum***

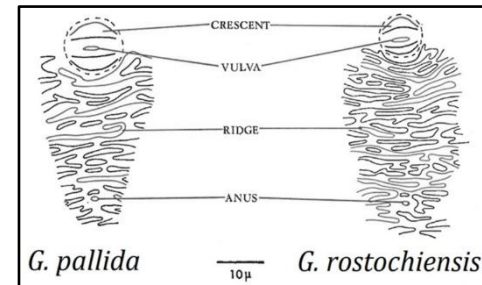


Introducción- Nematodo del Quiste de la Papa (Globodera spp.)

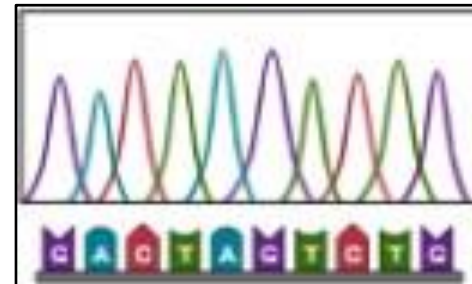
Identificación



❖ Morfológica



❖ Molecular



Información adicional



- Perfiles Enzimáticos
- Análisis de Proteínas

Tabla de contenido

1 Introducción

2 Objetivos e hipótesis

3 Materiales y Métodos

4 Resultados y Discusión

5 Conclusiones

6 Recomendaciones

7 Agradecimientos



Objetivo General

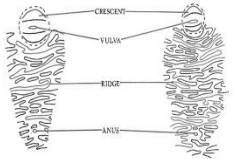


Caracterizar molecularmente el gen mitocondrial citocromo b del nematodo del quiste *Globodera pallida*, asociado al cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.)

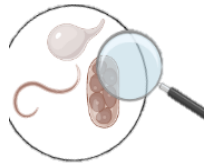
Objetivos

Objetivos específicos

- ❖ Validar un protocolo de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para detectar *Globodera pallida*, utilizando un cebador específico basado en ADN mitocondrial.
- ❖ Caracterizar las secuencias de la región del gen Cyt b de *Globodera pallida*.
- ❖ Contrastar los resultados moleculares con parámetros morfométricos de *Globodera pallida* en muestras obtenidas de cultivos de papa.



Hipótesis



La caracterización molecular del gen mitocondrial citocromo b permitirá la identificación del nematodo del quiste *Globodera pallida*, asociado al cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.)

Tabla de contenido

1 Introducción

2 Objetivos e hipótesis

3 Materiales y Métodos

4 Resultados y Discusión

5 Conclusiones

6 Recomendaciones

7 Agradecimientos



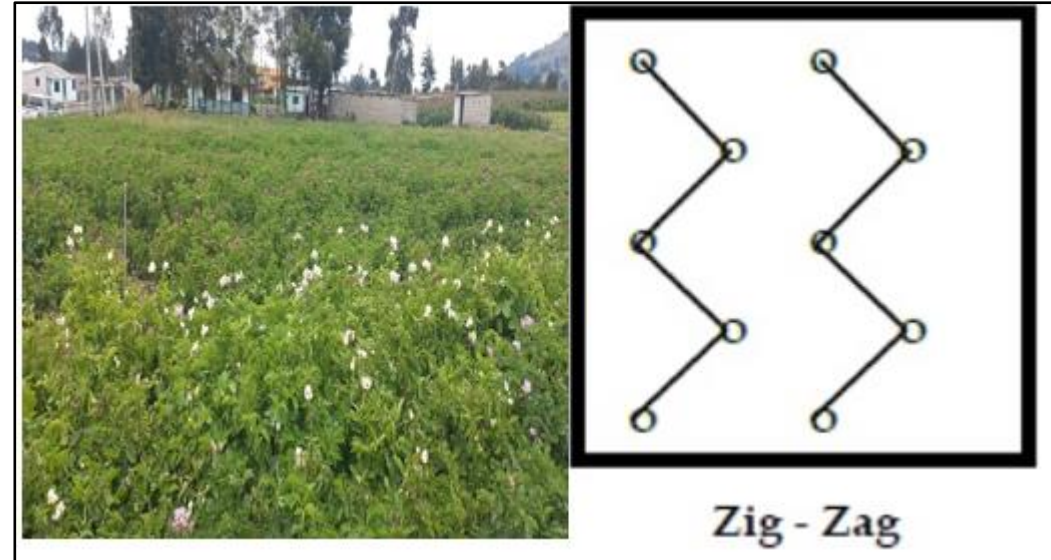
Materiales y métodos

Fase de campo

Ubicación geográfica



Material vegetal



Muestreo

- Patrón en Zig - Zag
- Toma y etiqueta
- Georreferenciación

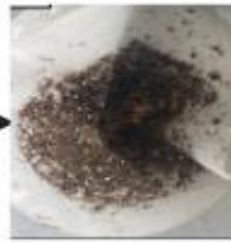
Material es y métodos

Fase de laboratorio

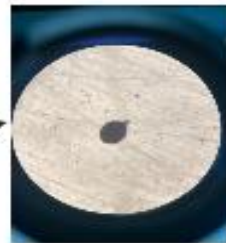
Identificación y análisis morfológico - morfométrico del quiste de *Globodera* spp.



Elutriador de Fenwick



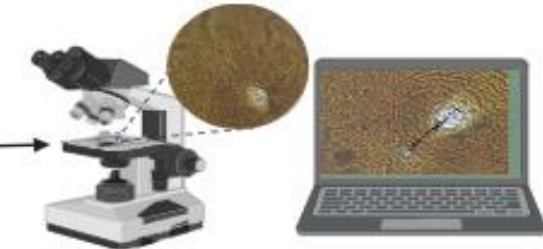
Aislamiento de quistes



Conteo e identificación de quistes



Transferencia y montaje



Visualización: 40x

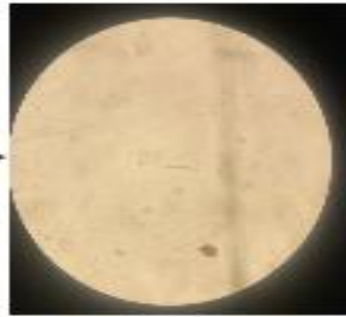
Material es y métodos

Fase de laboratorio

Identificación y análisis morfológico - morfométrico del estadio juvenil j2 *Globodera* spp.



Elutriador de Oostenbrick



Aislamiento de filiformes



Fijación del filiforme

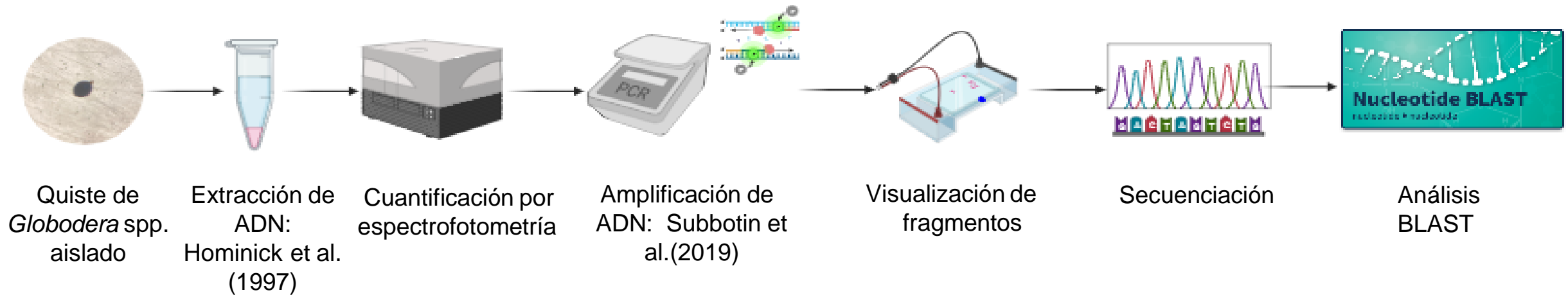


Visualización: 40x

Material es y métodos

Fase de laboratorio

Identificación molecular de *Globodera* spp.



Secuencias de los cebadores para análisis PCR de *Globodera* spp.

Nombre del primer	Gen	Secuencia del primer (5'→3')
Het-cytbF2	Cyt B	CARTATTTTRATRTTTGARGT
Het-cytbR3	Cyt B	ACHARRAARTTRATYTCCTC

(Hominick et al., 1997; Subbotin et al., 2019)

Material es y métodos

Identificación molecular: Amplificación de ADN

Componentes y concentraciones finales para amplificación del gen Cyt b

Componentes	Concentración Final
DreamTaq Green PCR	1 X
Master Mix	1,5 uM
Cebador Het-cytbF2	1,5 uM
Cebador Het- cyt bR3	

Nota. μM : micromolar

Condiciones para amplificación de la región Cyt b

Etapa	Ciclos	Temperatura	Tiempo
Desnaturalización			
inicial	1	94°C	4 min
	40	94°C	1 min
Desnaturalización	40	47°C	1 min
Hibridación	40	72°C	1 min 30 s
Extensión	1	72°C	10 min
Extensión final			

Tabla de contenido

1 Introducción

2 Objetivos e hipótesis

3 Materiales y Métodos

4 Resultados y Discusión

5 Conclusiones

6 Recomendaciones

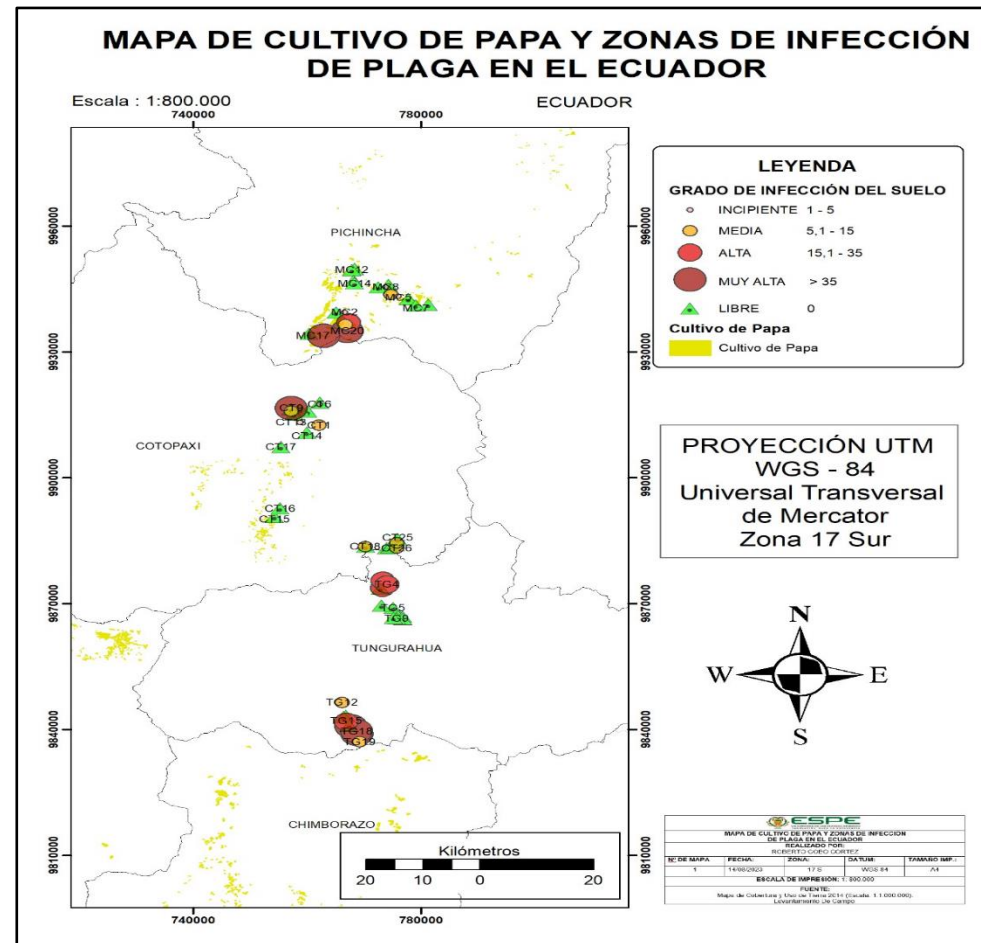
7 Agradecimientos



Resultados y discusión

Ubicación geográfica

Sitios de muestreo de cultivos de papa para identificación de *Globodera* spp.



62=40,32%

Resultados y discusión

Muestras colectadas en las provincias de Pichincha, Cotopaxi y Tungurahua con presencia de *Globodera* spp.

Muestra	Parroquia	Localidad	nro. de quiste	Variedad
			100 gr	
MC2	Mejía	Aloasí	2	Super chola
MC4	Mejía	Machachi	11	Super chola
MC5	Mejía	Machachi	3	Super chola
MC8	Mejía	Machachi	1	Super chola
MC15	Mejía	Aloasi	17	Super chola
MC16	Mejía	Aloasi	14	Super chola
MC17	Mejía	El Chaupi	63	Super chola
MC20	Mejía	Machachi	86	Super chola
CT1	Latacunga	Tanicuchí	13	Super chola
CT6	Latacunga	Pastocalle	3	Super chola
CT9	Latacunga	Tanicuchí	90	Super chola
CT11	Latacunga	Toacaso	6	Super chola
CT13	Latacunga	Toacaso	5	Super chola
CT18	Salcedo	San Miguel	10	Super Chola
CT24	Salcedo	Santa Ana	7	Cecilia/ super chola
CT26	Salcedo	San Miguel	8	Cecilia/super chola
TG1	Píllaro	Chagrapamba	31	Cecilia
TG2	Píllaro	Chagrapamba	34	Cecilia
TG4	Píllaro	Chagrapamba	29	Super chola
TG12	Quero	Quero	10	Super chola
TG15	Quero	Quero	27	Super chola
TG16	Quero	Quero	85	Super chola
TG17	Quero	Quero	39	Natividad
TG18	Quero	Quero	47	Natividad
TG19	Quero	Quero	14	Natividad

Nota. MC: Pichincha, CT: Cotopaxi, TG: Tungurahua



Resultados y discusión

Muestra	Parroquia	Localidad	nro. de quiste	Variedad
			100 gr	
MC2	Mejía	Aloasí	2	Super chola
MC4	Mejía	Machachi	11	Super chola
MC5	Mejía	Machachi	3	Super chola
MC8	Mejía	Machachi	1	Super chola
MC15	Mejía	Aloasi	17	Super chola
MC16	Mejía	Aloasi	14	Super chola
MC17	Mejía	El Chaupi	63	Super chola
MC20	Mejía	Machachi	86	Super chola
CT1	Latacunga	Tanicuchí	13	Super chola
CT6	Latacunga	Pastocalle	3	Super chola
CT9	Latacunga	Tanicuchí	90	Super chola
CT11	Latacunga	Toacaso	6	Super chola
CT13	Latacunga	Toacaso	5	Super chola
CT18	Salcedo	San Miguel	10	Super Chola
CT24	Salcedo	Santa Ana	7	Cecilia/ super chola
CT26	Salcedo	San Miguel	8	Cecilia/super chola
TG1	Píllaro	Chagrapamba	31	Cecilia
TG2	Píllaro	Chagrapamba	34	Cecilia
TG4	Píllaro	Chagrapamba	29	Super chola
TG12	Quero	Quero	10	Super chola
TG15	Quero	Quero	27	Super chola
TG16	Quero	Quero	85	Super chola
TG17	Quero	Quero	39	Natividad
TG18	Quero	Quero	47	Natividad
TG19	Quero	Quero	14	Natividad

Nota. MC: Pichincha, CT: Cotopaxi, TG: Tungurahua

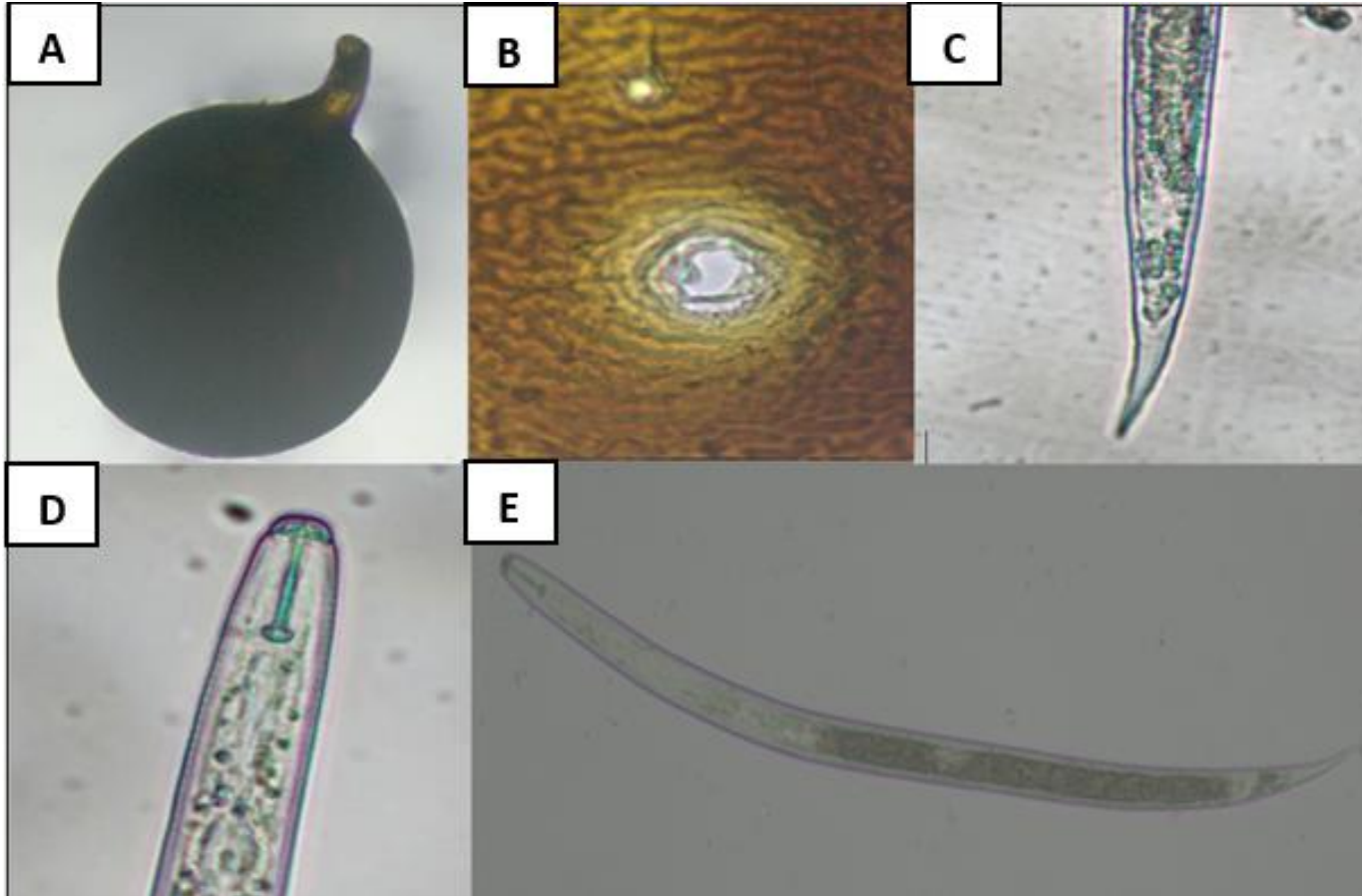
Grado de infección

- Variedades susceptibles (Cuesta & Monteros, 2022)
- Práctica de monocultivo (Cuesta & Monteros, 2022)
- Capacidad de latencia (Been et al., 2006)
- Temperatura (Phillips et al., 2015)



Resultados y discusión

Identificación morfológica



25 aislamiento

500 quistes

490 estadio juvenil J2

Cuerpo:

- Forma globular
- Cuello

Área perineal:

- Ano-vulva
- Crestas cuticulares

Cuerpo:

- Estilete bien desarrollado
- Cola puntiaguda
- Cola hialina

Nota. (A), quiste; (B), región perineal del quiste; (C), Cola de J2 (D), cabeza con estilete del J2; (E), cuerpo completo del juvenil J2

Resultados y discusión

Identificación morfométrica

Valores medios y desviación estándar de los principales caracteres del quiste y la región perineal de *Globodera* spp.

Muestra	n	Longitud del cuerpo (μm)	Ancho del cuerpo (μm)	Crestas cuticulares	Diámetro fenestral (μm)	Longitud ano-vulva (μm)	Radio Granek
MC2	20	575,20±94,22	549,79±92,66	11	21,35±2,53	50,18±15,48	2,35±0,62
MC4	20	584,22±78,81	570,45±82,85	10	20,74±2,59	44,07±14,09	2,11±0,55
MC5	20	545,61±100,8	528,84±91,96	11	20,58±2,23	46,37±13,39	2,26±0,60
MC8	20	574,08±79,10	551,40±73,59	10	21,11±2,89	49,03±16,22	2,30±0,60
MC15	20	588,41±87,01	573,86±86,56	10	21,05±2,70	50,98±14,31	2,40±0,51
MC16	20	579,35±80,95	545,71±84,75	10	19,85±2,40	45,98±12,59	2,30±0,47
MC17	20	544,06±59,45	544,10±84,37	11	20,01±2,85	43,10±11,34	2,16±0,51
MC20	20	644,99±68,58	624,15±58,47	11	22,77±2,28	61,48±11,81	2,70±0,42
CT1	20	546,62±59,46	533,70±67,32	11	18,75±1,07	47,10±9,300	2,52±0,50
CT6	20	555,59±93,05	531,80±89,23	11	20,54±2,50	44,20±12,10	2,14±0,46
CT9	20	602,67±71,57	588,27±81,42	11	20,76±2,62	53,07±18,10	2,51±0,64
CT11	20	617,31±83,49	575,98±76,50	11	21,24±2,40	52,68±14,58	2,47±0,57
CT13	20	629,21±77,72	612,12±70,66	11	21,88±2,46	55,67±15,93	2,52±0,52
CT18	20	574,56±92,57	537,94±88,20	11	21,93±2,38	47,01±15,38	2,11±0,52
CT24	20	570,59±79,80	547,64±80,20	11	19,72±2,12	38,44±7,870	1,96±0,37
CT26	20	526,94±85,60	515,70±98,91	11	19,68±2,35	41,34±11,01	2,10±0,49
TG1	20	605,85±87,14	592,98±84,88	11	20,73±3,23	48,29±12,05	2,35±0,60
TG2	20	597,11±81,59	606,14±72,54	11	20,76±3,53	55,81±10,96	2,76±0,68
TG4	20	642,97±114,6	645,17±111,5	10	21,34±3,07	49,42±16,40	2,37±0,85
TG12	20	578,56±100,2	567,02±116,9	11	19,29±3,82	50,35±18,05	2,63±0,82
TG15	20	530,91±90,81	515,15±106,4	10	18,79±3,49	39,13±10,08	2,11±0,51
TG16	20	609,38±82,88	609,66±98,66	11	20,13±2,06	49,77±13,03	2,48±0,64
TG17	20	572,54±94,89	568,53±91,09	11	21,69±3,30	48,82±15,20	2,25±0,63
TG18	20	511,96±88,70	504,66±103,9	11	19,35±2,81	47,24±22,23	2,41±0,91
TG19	20	575,37±92,40	584,08±90,26	11	21,14±3,79	46,35±10,70	2,22±0,53

Encuentran dentro de los rangos descritos por Perry et al., (2018)






Resultados y discusión

Identificación morfométrica

Valores medios y desviación estándar de los principales caracteres del quiste y la región perineal de *Globodera* spp.

Muestra	n	Longitud del cuerpo (μm)	Ancho del cuerpo (μm)	Crestas cuticulares	Diámetro fenestral (μm)	Longitud ano-vulva (μm)	Radio Granek
MC2	20	575,20±94,22	549,79±92,66	11	21,35±2,53	50,18±15,48	2,35±0,62
MC4	20	584,22±78,81	570,45±82,85	10	20,74±2,59	44,07±14,09	2,11±0,55
MC5	20	545,61±100,8	528,84±91,96	11	20,58±2,23	46,37±13,39	2,26±0,60
MC8	20	574,08±79,10	551,40±73,59	10	21,11±2,89	49,03±16,22	2,30±0,60
MC15	20	588,41±87,01	573,86±86,56	10	21,05±2,70	50,98±14,31	2,40±0,51
MC16	20	579,35±80,95	545,71±84,75	10	19,85±2,40	45,98±12,59	2,30±0,47
MC17	20	544,06±59,45	544,10±84,37	11	20,01±2,85	43,10±11,34	2,16±0,51
MC20	20	644,99±68,58	624,15±58,47	11	22,77±2,28	61,48±11,81	2,70±0,42
CT1	20	546,62±59,46	533,70±67,32	11	18,75±1,07	47,10±9,300	2,52±0,50
CT6	20	555,59±93,05	531,80±89,23	11	20,54±2,50	44,20±12,10	2,14±0,46
CT9	20	602,67±71,57	588,27±81,42	11	20,76±2,62	53,07±18,10	2,51±0,64
CT11	20	617,31±83,49	575,98±76,50	11	21,24±2,40	52,68±14,58	2,47±0,57
CT13	20	629,21±77,72	612,12±70,66	11	21,88±2,46	55,67±15,93	2,52±0,52
CT18	20	574,56±92,57	537,94±88,20	11	21,93±2,38	47,01±15,38	2,11±0,52
CT24	20	570,59±79,80	547,64±80,20	11	19,72±2,12	38,44±7,870	1,96±0,37
CT26	20	526,94±85,60	515,70±98,91	11	19,68±2,35	41,34±11,01	2,10±0,49
TG1	20	605,85±87,14	592,98±84,88	11	20,73±3,23	48,29±12,05	2,35±0,60
TG2	20	597,11±81,59	606,14±72,54	11	20,76±3,53	55,81±10,96	2,76±0,68
TG4	20	642,97±114,6	645,17±111,5	10	21,34±3,07	49,42±16,40	2,37±0,85
TG12	20	578,56±100,2	567,02±116,9	11	19,29±3,82	50,35±18,05	2,63±0,82
TG15	20	530,91±90,81	515,15±106,4	10	18,79±3,49	39,13±10,08	2,11±0,51
TG16	20	609,38±82,88	609,66±98,66	11	20,13±2,06	49,77±13,03	2,48±0,64
TG17	20	572,54±94,89	568,53±91,09	11	21,69±3,30	48,82±15,20	2,25±0,63
TG18	20	511,96±88,70	504,66±103,9	11	19,35±2,81	47,24±22,23	2,41±0,91
TG19	20	575,37±92,40	584,08±90,26	11	21,14±3,79	46,35±10,70	2,22±0,53

	Difiere de Llumiquinga et al., (2015)
	Difiere de Djebroune et al., (2021)
	Difiere de ambos estudios

Nota. n= número de aislamientos analizados

(Djebroune et al., 2021; Llumiquinga et al., 2015; Perry et al., 2018)



Resultados y discusión

Identificación morfométrica

Valores medios y desviación estándar de los principales caracteres del estadio juvenil J2 de *Globodera* spp.

Muestra	N	Largo del cuerpo (μm)	Ancho del cuerpo (μm)	Largo estilete (μm)	Longitud de la cola (μm)	Ancho de la cola (μm)	Cola hialina (μm)
MC2	20	494,88±34,86	21,38±0,99	23,40±0,55	49,14±5,75	12,39±0,80	28,04±2,86
MC4	20	508,14±12,91	21,46±0,90	24,08±0,62	44,61±2,67	11,05±0,50	27,99±2,00
MC5	20	495,77±23,11	21,24±0,85	23,84±0,60	48,41±5,12	12,11±2,68	28,81±1,28
MC8	20	490,77±25,72	21,57±0,79	23,64±0,51	45,26±4,74	11,32±0,77	28,01±2,02
MC15	20	491,79±17,95	21,32±0,76	23,65±0,49	48,68±5,26	11,86±0,99	28,16±2,81
MC16	20	427,29±25,93	21,43±0,72	23,70±0,80	50,40±4,16	12,40±0,67	27,50,2,93
MC17	20	490,72±35,75	21,29±1,33	23,74±0,59	50,95±5,80	12,12±1,11	28,53±2,44
MC20	20	515,15±30,32	21,90±1,14	23,94±0,72	47,73±5,06	11,94±0,77	28,09±3,76
CT1	20	506,16±20,95	21,98±0,79	23,61±0,55	50,35±4,60	12,32±0,99	28,64±1,97
CT6	20	471,56±32,94	20,65±1,01	23,52±0,62	47,61±3,83	11,67±1,14	28,09±1,76
CT9	20	505,68±21,33	21,71±1,09	23,66±0,36	48,18±3,36	11,52±0,78	29,45±0,98
CT11	20	498,06±29,77	20,77±0,92	23,49±0,63	48,19±3,20	11,99±0,87	26,60±2,27
CT13	20	503,93±21,08	21,31±0,52	23,66±0,59	51,42±4,02	12,01±0,86	28,73±2,21
CT18	20	484,95±19,57	21,26±0,98	23,80±0,37	49,49±3,94	12,07±0,93	28,05±1,97
CT24	10	495,58±60,74	20,91±0,86	24,05±0,65	50,41±4,65	12,20±0,70	28,22±2,40
CT26	20	474,92±26,87	20,41±0,90	23,64±0,69	47,21±5,15	11,71±0,95	26,37±2,36
TG1	20	480,13±21,39	20,66±0,72	23,63±0,78	48,01±5,53	11,52±1,22	28,64±3,16
TG2	20	487,46±18,58	20,60±0,86	23,68±0,88	50,55±5,59	11,90±1,06	28,90±2,64
TG4	20	467,59±31,14	20,46±1,24	23,38±0,96	49,94±5,75	11,78±0,98	27,86±2,54
TG12	20	493,14±28,31	20,58±0,72	23,83±0,73	52,23±4,31	11,82±0,82	29,42±2,99
TG15	20	486,88±30,10	20,69±0,70	23,79±0,86	51,99±5,45	12,25±0,80	29,28±3,33
TG16	20	495,59±28,79	20,87±1,17	23,56±0,77	50,69±8,83	12,13±1,22	29,93±3,17
TG17	20	493,14±28,31	20,58±0,72	23,83±0,73	52,23±4,31	11,82±0,82	29,42±2,99
TG18	20	481,11±19,50	20,64±0,60	23,64±0,44	49,15±4,81	11,57±0,97	28,22±2,30
TG19	20	507,84±34,59	21,45±0,69	23,54±0,66	52,22±4,68	12,22±0,99	29,50±2,12

Encuentran dentro de los rangos descritos por Perry et al., (2018)

Nota. n= número de aislamientos analizados

(Djebroune et al., 2021; Llumiyinga et al., 2015; Perry et al., 2018; Salalia et al., 2017 Vallejo et al., 2020)



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Resultados y discusión

Identificación morfométrica

Valores medios y desviación estándar de los principales caracteres del estadio juvenil J2 de *Globodera* spp.

Muestra	N	Largo del cuerpo (μm)	Ancho del cuerpo (μm)	Largo estilete (μm)	Longitud de la cola (μm)	Ancho de la cola (μm)	Cola hialina (μm)
MC2	20	494,88±34,86	21,38±0,99	23,40±0,55	49,14±5,75	12,39±0,80	28,04±2,86
MC4	20	508,14±12,91	21,46±0,90	24,08±0,62	44,61±2,67	11,05±0,50	27,99±2,00
MC5	20	495,77±23,11	21,24±0,85	23,84±0,60	48,41±5,12	12,11±2,68	28,81±1,28
MC8	20	490,77±25,72	21,57±0,79	23,64±0,51	45,26±4,74	11,32±0,77	28,01±2,02
MC15	20	491,79±17,95	21,32±0,76	23,65±0,49	48,68±5,26	11,86±0,99	28,16±2,81
MC16	20	427,29±25,93	21,43±0,72	23,70±0,80	50,40±4,16	12,40±0,67	27,50±2,93
MC17	20	490,72±35,75	21,29±1,33	23,74±0,59	50,95±5,80	12,12±1,11	28,53±2,44
MC20	20	515,15±30,32	21,90±1,14	23,94±0,72	47,73±5,06	11,94±0,77	28,09±3,76
CT1	20	506,16±20,95	21,98±0,79	23,61±0,55	50,35±4,60	12,32±0,99	28,64±1,97
CT6	20	471,56±32,94	20,65±1,01	23,52±0,62	47,61±3,83	11,67±1,14	28,09±1,76
CT9	20	505,68±21,33	21,71±1,09	23,66±0,36	48,18±3,36	11,52±0,78	29,45±0,98
CT11	20	498,06±29,77	20,77±0,92	23,49±0,63	48,19±3,20	11,99±0,87	26,60±2,27
CT13	20	503,93±21,08	21,31±0,52	23,66±0,59	51,42±4,02	12,01±0,86	28,73±2,21
CT18	20	484,95±19,57	21,26±0,98	23,80±0,37	49,49±3,94	12,07±0,93	28,05±1,97
CT24	10	495,58±60,74	20,91±0,86	24,05±0,65	50,41±4,65	12,20±0,70	28,22±2,40
CT26	20	474,92±26,87	20,41±0,90	23,64±0,69	47,21±5,15	11,71±0,95	26,37±2,36
TG1	20	480,13±21,39	20,66±0,72	23,63±0,78	48,01±5,53	11,52±1,22	28,64±3,16
TG2	20	487,46±18,58	20,60±0,86	23,68±0,88	50,55±5,59	11,90±1,06	28,90±2,64
TG4	20	467,59±31,14	20,46±1,24	23,38±0,96	49,94±5,75	11,78±0,98	27,86±2,54
TG12	20	493,14±28,31	20,58±0,72	23,83±0,73	52,23±4,31	11,82±0,82	29,42±2,99
TG15	20	486,88±30,10	20,69±0,70	23,79±0,86	51,99±5,45	12,25±0,80	29,28±3,33
TG16	20	495,59±28,79	20,87±1,17	23,56±0,77	50,69±8,83	12,13±1,22	29,93±3,17
TG17	20	493,14±28,31	20,58±0,72	23,83±0,73	52,23±4,31	11,82±0,82	29,42±2,99
TG18	20	481,11±19,50	20,64±0,60	23,64±0,44	49,15±4,81	11,57±0,97	28,22±2,30
TG19	20	507,84±34,59	21,45±0,69	23,54±0,66	52,22±4,68	12,22±0,99	29,50±2,12

Difiere de Llumiquinga et al., (2015)

 Difiere de Djebroune et al., (2021)

 Difiere de ambos estudios

Variaciones de las medias morfométricas

- Variabilidad intraespecífica geográfica
- Superposición de datos
- Plasticidad fenotípica

Nota. n= número de aislamientos analizados

(Djebroune et al., 2021; Llumiquinga et al., 2015; Perry et al., 2018; Salalia et al., 2017 Vallejo et al., 2020)

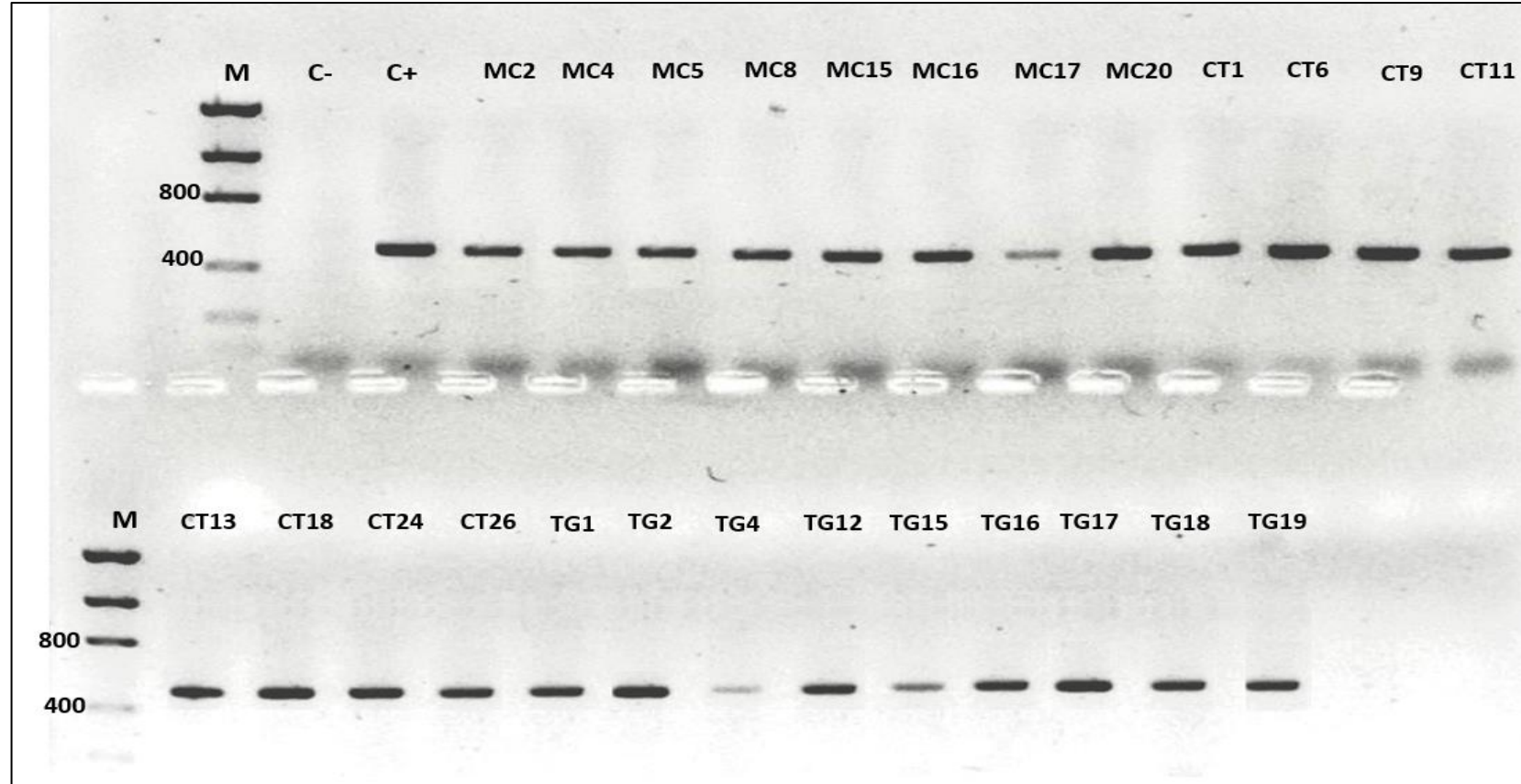


ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Resultados y discusión

Amplificación de ADN

Gen citocromo b



→ Subbotin et al., 2019:
cultivo de papa, *G.pallida*,
452 pb

Nota. M: Marcador molecular de 2 kb Low DNA Mass Ladder, C-: Control negativo, C+: Control positivo, Gel agarosa 1,5%

Resultados y discusión

Secuenciación

Región Cyt b										
Muestra	Especie identificada	Cobertura (%)	Identidad (%)	Número de accesión	Longitud de secuencia	%GC	A	C	G	T
MC2	<i>Globodera pallida</i>	99	99.18	MT872310.1	490	29.18	87	62	81	260
MC4	<i>Globodera pallida</i>	99	99.80	MT872310.1	490	29.59	87	63	82	258
MC5	<i>Globodera pallida</i>	100	99.76	MT872310.1	416	31.49	71	56	75	214
MC8	<i>Globodera pallida</i>	100	99.40	MT872310.1	498	30.12	88	66	84	260
MC15	<i>Globodera pallida</i>	100	98.58	MT872310.1	492	29.67	90	66	80	256
MC16	<i>Globodera pallida</i>	100	100	MT872310.1	473	29.53	86	60	80	248
MC17	<i>Globodera pallida</i>	100	98.97	MT872310.1	486	29.62	90	61	83	252
MC20	<i>Globodera pallida</i>	100	98.78	MT872310.1	492	29.88	90	65	82	255
CT1	<i>Globodera pallida</i>	100	99.54	MT872310.1	431	30.63	74	57	75	225
CT6	<i>Globodera pallida</i>	100	99.58	MT872310.1	476	29.41	85	58	82	251
CT9	<i>Globodera pallida</i>	99	99.77	MT872310.1	433	30.55	78	55	77	222
CT11	<i>Globodera pallida</i>	100	99.77	MT872310.1	433	30.48	77	55	77	224
CT13	<i>Globodera pallida</i>	99	99.80	MT872310.1	492	29.67	88	63	83	258
CT18	<i>Globodera pallida</i>	100	99.81	MT872310.1	496	29.84	89	65	83	259
CT24	<i>Globodera pallida</i>	100	99.41	MT872310.1	508	29.99	87	64	88	269
CT26	<i>Globodera pallida</i>	100	99.80	MT872310.1	492	29.67	88	64	82	258
TG1	<i>Globodera pallida</i>	100	99.80	MT872310.1	494	29.75	88	64	83	259
TG2	<i>Globodera pallida</i>	100	100	MT872310.1	488	29.91	87	63	82	255
TG4	<i>Globodera pallida</i>	99	99.76	MT872310.1	416	31.01	71	55	74	216
TG12	<i>Globodera pallida</i>	99	99.38	MT872310.1	480	29.16	86	58	82	254
TG15	<i>Globodera pallida</i>	100	99.15	MT872310.1	472	29.23	85	56	82	249
TG16	<i>Globodera pallida</i>	100	99.36	MT872310.1	469	29.64	84	58	81	246
TG17	<i>Globodera pallida</i>	99	99.60	MT872310.1	496	29.83	88	66	82	260
TG18	<i>Globodera pallida</i>	100	99.08	MT872310.1	434	30.64	80	54	79	221
TG19	<i>Globodera pallida</i>	100	99.58	MT872310.1	477	29.14	86	55	81	258

Poblaciones de nematodos eran similares no eran idénticas
Pylypenko et al., (2014)

AT=70,2%

Contenido promedio de A+T superior al 70%.

Timina mayor al 50%
(Pylypenko et al., 2014)

Desaminación de las bases nitrogenadas de adenina y citocina

Resultados y discusión

Polimorfismos de un solo nucleótido

	SNPs																% SNPs	
	1(T)	5(A)	17(T)	72(A)	128(T)	344(T)	346(T)	351(T)	364(T)	369(C)	398(G)	406(G)	432(A)	445(T)	453(T)	456(T)		472(T)
MC2	A	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8,7
MC4	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,3
MC5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0
MC8	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-	-	G	13,0
MC15	A	T	-	-	-	-	-	-	A	-	T	A	-	-	A	C	-	30,4
MC16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0
MC17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-	4,3
MC20	-	-	-	-	-	A	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	-	8,7
CT1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	-	4,3
CT6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	-	4,3
CT9	-	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,3
CT11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0
CT13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,3
CT18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0
CT24	A	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-	-	17,4
CT26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0
TG1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0
TG2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0
TG4	-	-	-	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	8,7
TG12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	4,3
TG15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T	-	A	-	-	-	-	-	8,7
TG16	-	-	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,3
TG17	A	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8,7
TG18	-	-	-	-	T	-	-	C	A	-	-	A	-	-	-	-	-	17,4
TG19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0

% de SNPs

Mecanismos de adaptación

- Presión de selección
- Condiciones ambientales



Tabla de contenido

1 Introducción

2 Objetivos e hipótesis

3 Materiales y Métodos

4 Resultados y Discusión

5 Conclusiones

6 Recomendaciones

7 Agradecimientos



Conclusiones

- Las técnicas moleculares basadas en la amplificación del gen citocromo b, lograron caracterizar las secuencias analizadas, lo cual permitió identificar a *Globodera pallida* en todas las muestras recolectadas de los cultivos de papas en las provincias Pichincha, Cotopaxi y Tungurahua.
- El protocolo estandarizado en este estudio, permitió identificar a *Globodera pallida* en todas las localidades muestreadas, a través de la amplificación del ADN mitocondrial del gen citocromo b utilizando los primers Het-cytbF2 y Het-cytbR3.
- La caracterización de las secuencias del gen mitocondrial citocromo b, mostraron un contenido promedio de GC de 29,8% y de AT de 70,2%, una longitud promedio de secuencia de 472 pb y un porcentaje de identidad superior al 98% en relación con la secuencia perteneciente al número de acceso MT872310.1.
- La identificación de *Globodera pallida* a través de la amplificación del ADN mitocondrial del gen citocromo b y la caracterización morfológica permiten tener un enfoque integral, resultados confiables y precisos en la distinción entre las especies de *Globodera*.

Tabla de contenido

1 Introducción

2 Objetivos e hipótesis

3 Materiales y Métodos

4 Resultados y Discusión

5 Conclusiones

6 Recomendaciones

7 Agradecimientos



Recomendaciones

- Con el fin de distinguir entre especies del mismo género, se sugiere evaluar la mayor cantidad de individuos y parámetros morfológicos del cuerpo de la hembra (quiste y región perineal), del estadio juvenil j2 y machos, para garantizar una mayor robustez y validez de los resultados.
- En futuros análisis, se debe realizar tanto pruebas moleculares como morfológicas para evitar errores en la identificación de especies de nematodos pertenecientes al género *Globodera* y así obtener resultados confiables y precisos.
- Para obtener una visión completa de la diversidad genética de este nematodo, es fundamental llevar a cabo estudios filogenéticos, que permitan tener mayor información sobre las relaciones e historias evolutivas del nematodo, así como información precisa acerca de su clasificación taxonómica.

Tabla de contenido

1 Introducción

2 Objetivos e hipótesis

3 Materiales y Métodos

4 Resultados y Discusión

5 Conclusiones

6 Recomendaciones

7 Agradecimientos



Agradecimientos



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA



Dra. Karina Proaño.
Directora del proyecto

Ing. Pablo Llumiquinga
Codirector del proyecto

FAMILIA Y AMIGOS



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA