	GESTIÓN DE RECURSOS Y SERVICIOS BIBLIOTECARIOS	Código	FO-SB-12/v0
	ESQUEMA HOJA DE RESUMEN	Página	1/105

AUTOR (ES):
NOMBRE(S): DIEGO ARMANDO **APELLIDOS**: VIVIESCAS LÓPEZ
NOMBRE(S): **APELLIDOS**:

FACULTAD: CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERIA BIOTECNOLOGICA
DIRECTOR:
NOMBRE(S): GIOVANNI **APELLIDOS**: CHAVES BEDOYA

TÍTULO DEL TRABAJO (TESIS): DETERMINACIÓN DE LA SECUENCIA NUCLEOTIDICA COMPLETA DEL VIRUS DE LA MANCHA ANULAR DE LA PAPAYA (*Carica Papaya L,)* DE UN AISLADO DE LA VEREDA CAMPO HERMOSO DE NORTE DE SANTANDER.

RESUMEN

La papaya (*Carica papaya* L.) es una planta propia de América Tropical y una de las frutas más populares. Esta planta pertenece a la familia *Caricaceae* que está constituida por seis géneros. La papaya es la única entidad taxonómica del género *Carica*, debido a la categorización del género *Vasconcellea*. Los países mayores productores de papaya del mundo son Brasil, Nigeria, México y la India. El cultivo de papaya es el tercer cultivo más importante en el mundo esto podría deberse a un conjunto de factores importantes en la industria. Los cultivos de papaya en la actualidad se ven afectados por diferentes problemas especialmente aquellos causados por el Potyvirus virus de la mancha anular de la papaya (PRSV). PRSV es el principal riesgo en la producción de papaya en el mundo. En varios países se han desarrollado estrategias para el manejo de esta enfermedad mediante ingeniería genética, donde se han logrado buenos resultados; Con este trabajo se pretende contribuir la secuenciación genética completa de PRSV aportando la totalidad de su secuencia nucleotidica. El genoma de este aislamiento tiene un tamaño de 10326 nucleótidos, un marco de lectura abierto de 3344 aminoácidos y una composición nucleotidica de A = 31.69%, G=23.46%, T = 27.03% y C=17.83%, la similitud con otros aislamientos PRSV del mundo es del 97% a nivel de nucleótidos y aminoácidos respectivamente. El aislamiento colombiano PRSV-CH con los aislados Americanos y los de la India sugieren la presencia de un evento de recombinación, los resultados se discuten en este proyecto.

PALABRAS CLAVE*: PRSV*, ingeniería genética, recombinación

CARACTERÍSTICAS:
PÁGINAS: 105 **PLANOS**: ____ **ILUSTRACIONES**: ____ **CD ROOM**: 1

Elaboró		Revisó		Aprobó	
Equipo Operativo del Proceso		Comité de Calidad		Comité de Calidad	
Fecha	17/09/2014	**Fecha**	22/04/2015	**Fecha**	22/04/2015

DETERMINACION DE LA SECUENCIA NUCLEOTIDICA COMPLETA DEL VIRUS DE LA MANCHA ANULAR DE LA PAPAYA (*Carica Papaya L)*, DE UN AISLADO DE LA VEREDA CAMPO HERMOSO DE NORTE DE SANTANDER.

DIEGO ARMANDO VIVIESCAS LÓPEZ

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL MEDIO AMBIENTE
PLAN DE ESTUDIO INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA
SAN JOSÉ DE CÚCUTA
2016

DETERMINACION DE LA SECUENCIA NUCLEOTIDICA COMPLETA DEL VIRUS DE LA MANCHA ANULAR DE LA PAPAYA (*Carica Papaya L)*, DE UN AISLADO DE LA VEREDA CAMPO HERMOSO DE NORTE DE SANTANDER.

DIEGO ARMANDO VIVIESCAS LÓPEZ

Proyecto presentado como requisito para optar al título de
Ingeniero Biotecnológico

Director

GIOVANNI CHAVES BEDOYA PhD

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL MEDIO AMBIENTE
PLAN DE ESTUDIO INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA
SAN JOSÉ DE CÚCUTA
2016

ACTA DE SUSTENTACION DE UN TRABAJO DE GRADO

FECHA: 7 DE DICIEMBRE DE 2016 HORA: 2:00 pm

SALA: AUDITORIO LABORATORIO BÁSICAS

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

TITULO: "DETERMINACIÓN DE LA SECUENCIA NUCLEÓTIDICA COMPLETA DEL VIRUS DE LA MANCHA ANULAR DE LA PAPAYA *(Carica Papaya L)*, DE UN AISLADO DE LA VEREDA CAMPO HERMOSO DE NORTE DE SANTANDER".

MODALIDAD: INVESTIGACIÓN

JURADO: DORA CLEMENCIA VILLADA CASTILLO
LADY YESENIA SUAREZ SUÁREZ
NELLY RUBÍ RODRÍGUEZ ROJAS

DIRECTOR: PhD. GIOVANNI CHAVES BEDOYA

NOMBRE DEL ESTUDIANTE	CODIGO	CALIFICACION
DIEGO ARMANDO VIVESCAS LÓPEZ	1610613	4.5

OBSERVACIONES:
MERITORIA

FIRMA DE LOS JURADOS

VoBo Coordinador Comité Curricular

Resumen

La papaya (*Carica papaya* L.) es una planta propia de América Tropical y una de las frutas más populares. Esta planta pertenece a la familia *Caricaceae* que está constituida por seis géneros. La papaya es la única entidad taxonómica del género *Carica*, debido a la categorización del género *Vasconcellea.* Los países mayores productores de papaya del mundo son Brasil, Nigeria, México y la India. El cultivo de papaya es el tercer cultivo más importante en el mundo esto podría deberse a un conjunto de factores importantes en la industria. El cultivo de papaya en la actualidad se ve afectado por diferentes problemas especialmente aquellos causados por el *Potyvirus* Virus de la mancha anular de la papaya (PRSV). PRSV es el principal riesgo en la producción de papaya en el mundo. En varios países se han desarrollado estrategias para el manejo de esta enfermedad mediante ingeniería genética, donde se han logrado buenos resultados, para lo que es necesario el conocimiento de las secuencias genómicas de aislados virales infectando cultivos a nivel local.

En este trabajo se presenta la primera secuencia genómica completa de un aislado PRSV-P muestreado en la localidad de Campo Hermoso, en el Departamento de Norte de Santander. El genoma de este aislamiento tiene un tamaño de 10326 nucleótidos, un marco de lectura abierto de 3344 aminoácidos y una composición nucleotidica de A = 31.69%, G=23.46%, T = 27.03% y C=17.83%, la similitud con otros aislamientos PRSV del mundo es del 97% a nivel de nucleótidos y aminoácidos respectivamente; las similitudes más bajas se dan con los aislamientos de China con 78.3% y 89.2% (nucleótidos / Aminoácidos) y las mayores similitudes se detectaron con aislamientos de México, Venezuela y Hawái. Los arboles filogenéticos generados presentan cambios en la agrupación con respecto a los resultados de las relaciones filogenéticas previamente reportados. El aislamiento colombiano PRSV-CH con los aislados

Americanos y los de la India sugieren la presencia de un evento de recombinación; el análisis de mapa de haplotipos permitió identificar las relaciones a lo largo del genoma PRSV entre el aislamiento Colombiano, Americanos e Indios, donde se identificaron las posibles regiones no recombinantes.

Palabras clave: PRSV, recombinación, árbol filogenético, mapa de haplotipos.

Para Dios y mis padres

AGRADECIMIENTOS

Primeramente a papá Dios por acompañarme siempre a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en muchos momentos de debilidad, por brindarme siempre una vida llena de bendición. A mis padres, Ismael Viviescas y Ana López, por su incondicional apoyo, desde el momento que decidí emprender mi carrera, hasta el momento de culminación de mi trabajo, esta demás decir que nunca en la vida me ha faltado nada gracias a ellos. Siempre lo dije son las personas en las que más he creído pues todo los valores los he aprendido de ustedes y de una u otra forma todo este esfuerzo ha sido impulsado por ustedes y por ellos he llegado hasta aquí. Aunque no lo diga muy seguido y sea poco expresivo, los amo.

A mis hermanos, Jorge Luis Viviescas López y Edwin Santamaría, por la motivación que siempre despertaron en mí, por esas ganas de hacerme luchar desde que empecé mis estudios y durante toda mi estadía en la UFPS., por recordarme constantemente que a pesar del poco tiempo que compartía con ellos siempre me extrañaron, y buscaron la manera de estar cerca de mí, por hacerme entender que yo era un motivo de orgullo para ellos. Jorge y Santa; no importa donde me encuentre siempre estaré con ustedes y por siempre seremos hermanos.

A los miembros de mi familia: tías, tíos, primos y abuelos, que de alguna u otra forma estuvieron apoyándome y cuidando de mí, de mi desempeño, mi bienestar, mis necesidades durante el desarrollo de mis estudios. Sepan que cada uno hace parte y es contribuyente de éste logro.

Al Dr. Giovanni Chaves, mi director, por su total disposición a la ahora de ayudarme, corregirme y sobre todo enseñarme a resolver todas mis dudas (por más simples y repetitivas que fueran), a estar atento a mi desempeño, a iniciar nuevamente con cada uno de los procesos debido

a mis errores con la mayor actitud posible. A su paciencia, por velar por mí, por mis necesidades en el laboratorio, por el gran esfuerzo que hizo para poder adaptarme a este gran grupo de investigación.

A la profesora Luz Ortiz, a la ingeniera Zaida Galvis, y a la estudiante Maite Acevedo; por todo su apoyo a la hora de resolver dudas, a la hora de enseñarme para aprender de cada una de ustedes, por enseñarme a tener una buena perspectiva de colaboración, de compartir de apoyo mutuo. Las admiro y se les quiere mucho.

A mis amigos de la UFPS, especialmente a karime Torres, Karen Castellanos, Yuli Arandia, Erickson Gómez, Alejandra Laguado, por todas las veces que me escucharon en los buenos y malos momentos que pasé así como por la motivación recibida para seguir adelante con todo el trabajo. Compañeros, les debo mucho.

Por último, a mis amigos Daniela Sepúlveda, Jefferson Ascanio y Cristian Suarez, por enseñarme lo necesario para también distraerme, y por las valiosas ayudas que recibí de su parte en momentos en que me sentía más perdido que nunca y sin las cuáles no habría podido salir de esos estancamientos.

Muchas gracias a todos

Contenido

Introducción

1. Problema 21

1.1 Titulo 21

1.2 Planteamiento del problema 21

1.3 Formulación del problema 22

1.4 Justificación 22

1.5 OBJETIVOS 24

1.5.1 Objetivo general 24

1.5.2 Objetivos específicos 24

1.6. Delimitaciones 25

1.6.1 Espacial 25

1.6.2 Temporal 25

1.6.3 Conceptual 25

2. Marco referencial 26

2.1 Antecedentes de la investigación 26

2.2 Marco teórico 31

2.2.1 Generalidades de la papaya (carica papaya l) 31

2.2.2 Virus de la mancha anular PRSV 36

2.2.3 Sintomatología de PVRS en Carica papaya L 39

2.2.4 Mejoramiento a partir de modificación genética 46

2.2.5 Funciones de las proteínas de cada cistrón del virus PRSV 46

2.3 Marco legal 52

3. Diseño Metodológico 55

3.1 Tipo de investigación 55

3.2 Población y Muestra 55

3.2.1 Población 55

3.2.2 Muestra 56

3.3 Hipótesis 56

3.4 Etapas cumplidas en el desarrollo del proyecto 56

3.4.1 Muestreo de campo 56

3.4.2 Extracción de ARN 56

3.4.3 Síntesis de ADN complementario (ADNC) 58

3.4.4 Cuantificación de ADN mediante espectrofotometría 59

3.4.5 Clonación y transformación 60

3.4.6 Análisis de secuencia 61

3.4.7 Diseño y síntesis de primers 62

4. Resultados y análisis 63

4.1 Genoma completo del virus PRSV 63

4.2 Amplificación por PCR de cada región de los fragmentos del genoma PRSV 65

4.2.1 Región 1-1780 65

4.2.2 Región 878-2746 66

4.2.3 Región 2289-4850 68

4.2.4 Región 4199-5924 69

4.2.5 Región 6777-8301 70

4.3 Clonación 71

4.4 Aislamientos PRSV analizados en este estudio 72

4.5 Comparación y análisis de secuencias 73

4.6 Diversidad de nucleótidos 77

4.7 Relación filogenética de cada fragmento 77

4.7.1 Árbol filogenético de P1 78

4.7.2 Árbol filogenético de HC-PRO 79

4.7.3 Árbol filogenético de P3 80

4.7.4 Árbol filogenético de 6K1 81

4.7.5 Árbol filogenético de CI 82

4.7.6 Árbol filogenético de 6K2 83

4.7.7 Árbol filogenético de VPg 84

4.7.8 Árbol filogenético de NIaPro 85

4.7.9 Árbol filogenético de NIB 86

4.7.10 Árbol filogenético general del genoma completo 87

4.8 Análisis de recombinación 88

5. Discusiones 93

6. Conclusiones 96

Referencias 97