

DETERMINACIÓN DEL PATÓGENO CAUSANTE DE “LA SECADERA” EN CULTIVOS DE PASIFLORAS Y SU POSIBLE CONTROL BIOLÓGICO EN FINCAS, MUNICIPIO DE PASCA- CUNDINAMARCA

LIZETH GERALDINE GALINDO GUERRERO

KAREN SABINE MEDINA GARZÓN

LIGIA CONSUELO SÁNCHEZ LEAL

Asesora

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO

JUNIO DE 2019



Introducción

Se encuentran 16 enfermedades causadas por nemátodos, hongos, virus y bacterias que afectan las pasifloras

Fusarium spp asociado con "Secadera"



<https://ecocosas.com/plantas-medicinales/pasiflora/>

Esta enfermedad puede causar pérdidas hasta del 100% de los cultivos y puede afectar en cualquier etapa del crecimiento de la planta

Se utilizan métodos preventivos como el Yodo, el Hipoclorito de sodio al 2% y Cal. El suelo tiene que tener 6 meses sin siembra.

Producción De Pasifloras En Colombia

2011

12,361 Ton Sembradas

9,749 Ton Cosechadas

Tasa de crecimiento
2,5%

2017

15,138 Ton. Sembradas

11,052 Ton Cosechadas

Tasa crecimiento
5,1%



Passiflora edulis L

<https://www.elnuevodiario.com.ni/suplementos/ellas/349425a/>



Passiflora ligularis Juss

<http://exportube.com/?product=granadilla>



Passiflora edulis Sims

<https://www.agronegocios.co/agricultura/pasifloras>

Secadera o Fusariosis Vascular

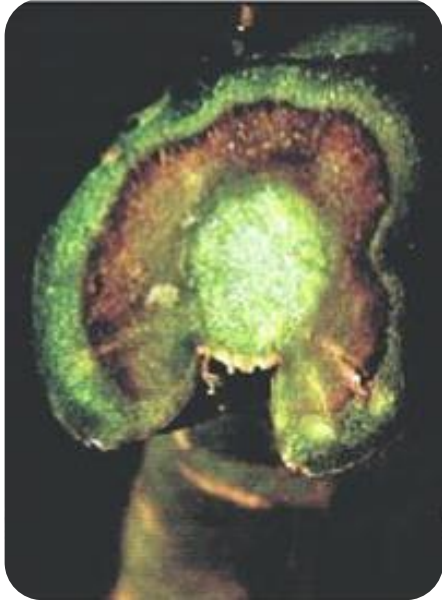
Vía de entrada: Heridas en raíz y hojas

Ataca en cualquier etapa de crecimiento

Etapas de semillero: marchitamiento de las hojas hasta la muerte

Etapas de desarrollo: los síntomas se ven 4-6 meses

Clorosis en hojas, Marchitamiento del tallo y raíz

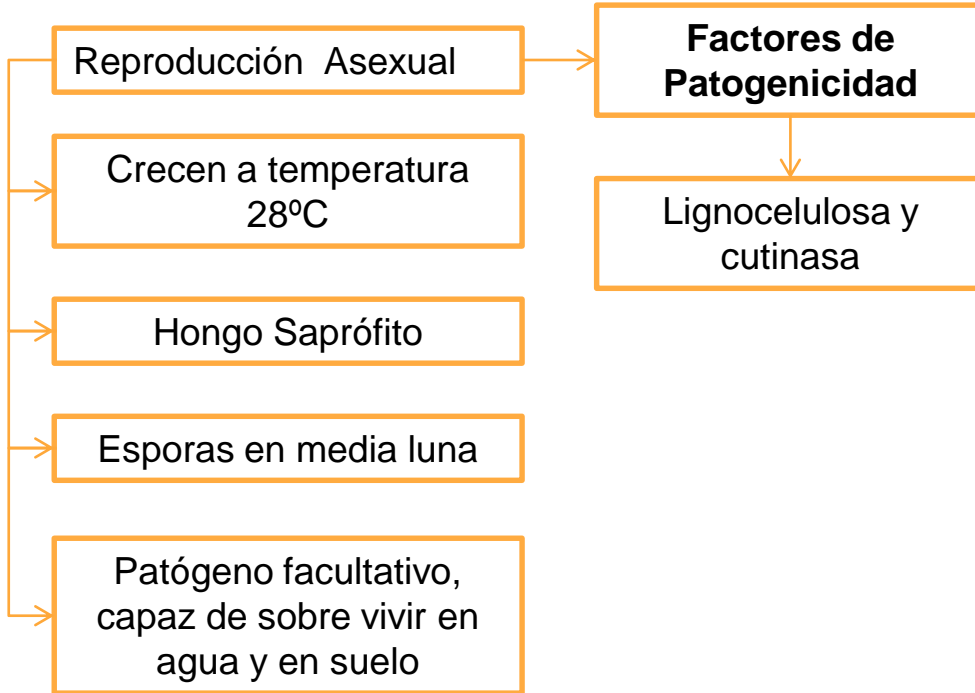


<http://www.scielo.org.co/pdf/rcch/v6n1/v6n1a11.pdf>

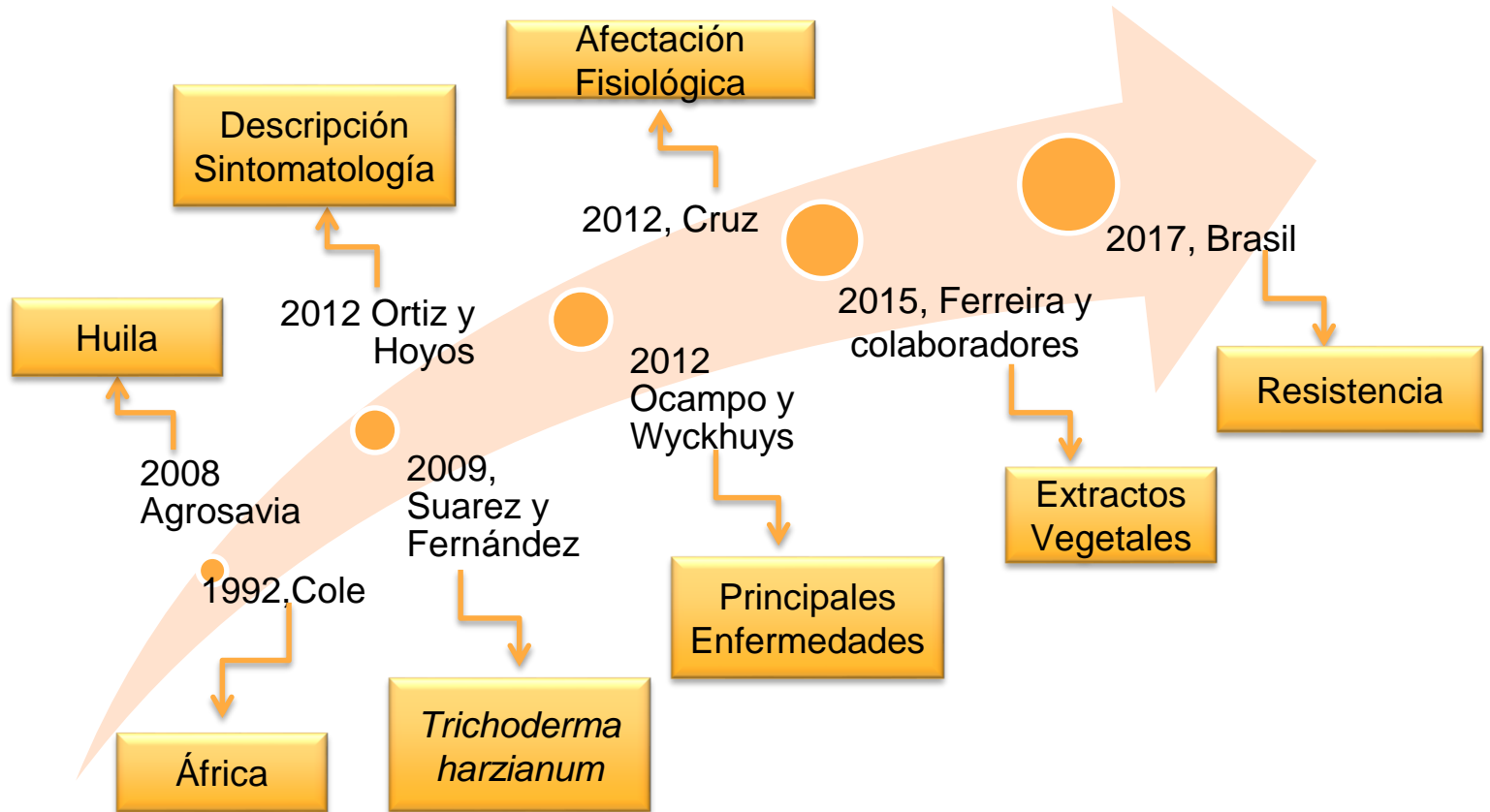


<http://www.scielo.org.co/pdf/rcch/v6n1/v6n1a11.pdf>

Género *Fusarium*



Antecedentes



Establecer la identidad del microorganismos patógenos causante de la secadera en los cultivos de Pasifloras ubicado en Fincas en el Municipio de Pasca - Cundinamarca y, los posibles controladores microbiológicos como solución al problema fitosanitario presente en los cultivos de estudio.



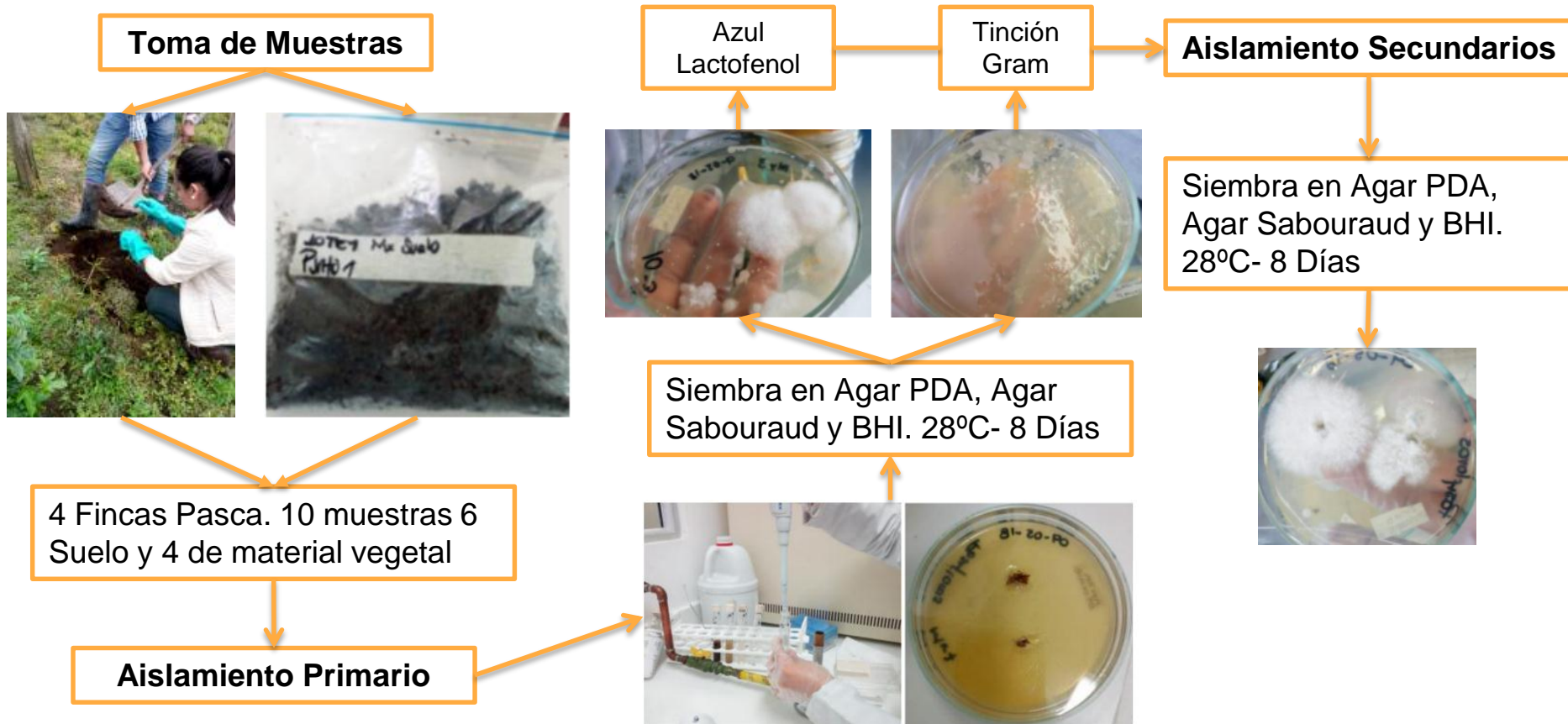
Objetivos

1. Aislar el patógeno que está causando la secadera en los cultivos de Gulupa y Maracuyá en fincas, ubicadas en el municipio de Pasca-Cundinamarca

2. Identificar microorganismos como posibles controladores por medio de pruebas microbiológicas y su actividad antagónica mediante bioensayos *In vitro* frente a patógenos que están causando la secadera en los cultivos de Gulupa y Maracuyá.

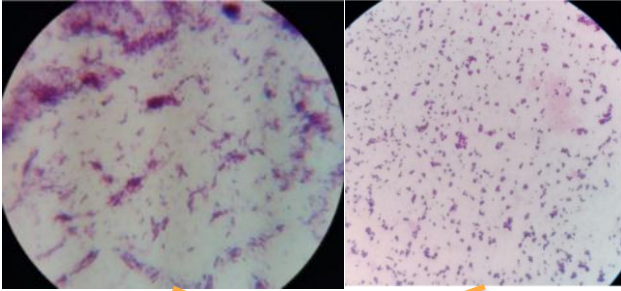
3. Identificar por técnicas de biología molecular el microorganismo aislado de Gulupa y Maracuyá provenientes de Pasca - Cundinamarca

Metodología - Primera Fase

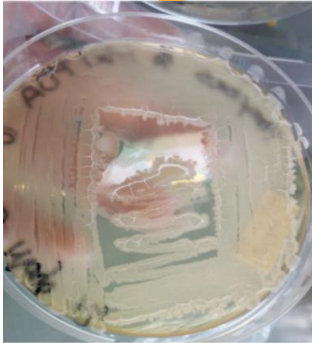


Metodología - Segunda Fase

Tinción Gram



Siembra en Agar BHI, 28°C 24h



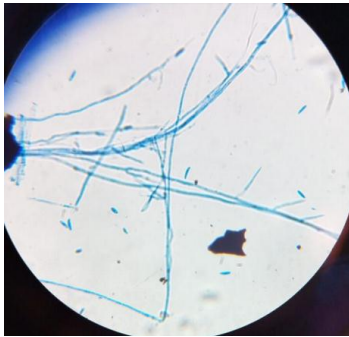
Siembra en tubos de bioquímicas, 24h, en fase de crecimiento



Siembra en BBL Crystal, 24h, en fase de crecimiento



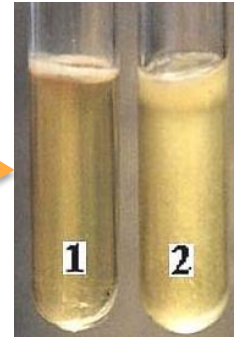
Metodología - Tercera Fase



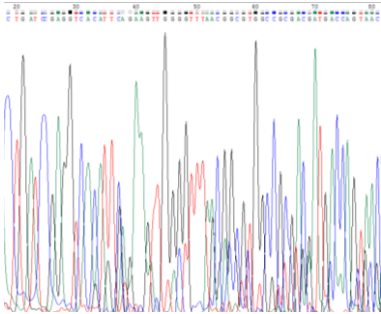
Azul de Lactofenol



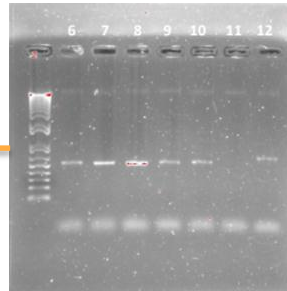
Siembra en caldo papa dextrosa 28°C, 8 Días



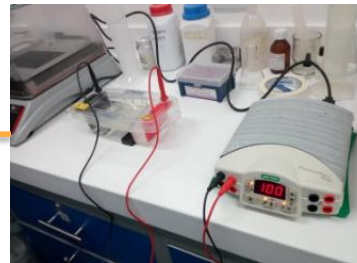
Extracción ADN



Secuenciación producto PCR



Producto PCR



Electroforesis (85v, 45 min)



PCR Convencional

Metodología - Cuarta Fase



Agar PDA



Agar Sabouraud



Agar BHI

- Antagonismo Dual (Dos biocontroladores, un patógeno)
- Triplicado en Agar PDA, Agar Sabouraud y Agar BHI
- Se realizaron 13 Antagonismos
- Incubación 28°C por 8 Días

N°	Hongo	Hongo Confirma o BLAST	Longitud	Max score	Cobertura	Identidad	Acceso al Gen Bank
1	Cubillos y Colaboradores	No identificado	Bueno y Colaboradores			-	-
2	F1B	No identificado				-	-
3	F2A	<i>Fusarium solani</i>	300	377	91%	89.97%	MH855637.1
4	F2B	<i>Fusarium solani</i>	300	381	91%	89.97%	HQ379685.1
5	F3	No identificado	-	-	-	-	-
6	F4	No identificado	-	-	-	-	-
7	F5A	<i>Fusarium oxysporum</i>	9			98.80%	MF688883.1
8	F5B	<i>Fusarium oxysporum</i>	326	363	89%	93.5%	MH578603.1
9	F6	<i>Phoma</i> sp	400	473	99%	88.53%	KT581922.1
10	F9	<i>Epicoccum cf. nigrum</i>	400	595	100%	100%	MH782554.1
11	F12	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	600	931	32%	99.4%	KY587331.1
12	F13	<i>Fusarium oxysporum</i>	500	894	100%	98.9%	KY786127.1

Resultados y Discusion

Identificación de los patógenos

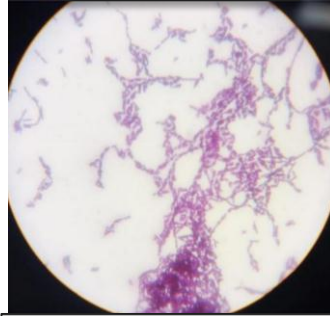


Pruebas Bioquímicas

Bacteria	Resultado
PB01	<i>Bacillus</i> sp
PB02	<i>Bacillus</i> sp
PB03	<i>Bacillus</i> sp
PB04	<i>Bacillus</i> sp
PB05	<i>Bacillus</i> sp
PB06	<i>Bacillus</i> sp
PB07	<i>Bacillus</i> sp
PB08	<i>Pseudomonas</i> sp
PB09	<i>Bacillus</i> sp
PB10	<i>Bacillus</i> sp
PB11	<i>Staphylococcus</i> sp
PB12	<i>Bacillus</i> sp
PB13	<i>Bacillus</i> sp

Resultados y Discusión Biocontroladores

Koneman



Anderson y Col



Pruebas BBL Crystal

Bacteria	Resultado
PB01	No se identificó
PB02	<i>Bacillus assahaii</i>
PB03	<i>Bacillus licheniformis</i>
PB04	<i>Bacillus subtilis</i>
PB05	<i>Bacillus subtilis</i>
PB06	<i>Bacillus joetgali</i>
PB07	<i>Bacillus licheniformis</i>
PB08	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
PB09	No me identifico
PB10	<i>Bacillus licheniformis</i>
PB11	<i>Staphylococcus warneri</i>
PB12	<i>Paenibacillus alvei</i>
PB13	No se identificó

Resultados y Discusión Pruebas *in vitro* Antagonismos



Agar BHI

Agar Sabouraud



Agar PDA



Resultados y Discusión Pruebas *in vitro* Antagonismos

Ariza y
Sánchez

Tejera y col

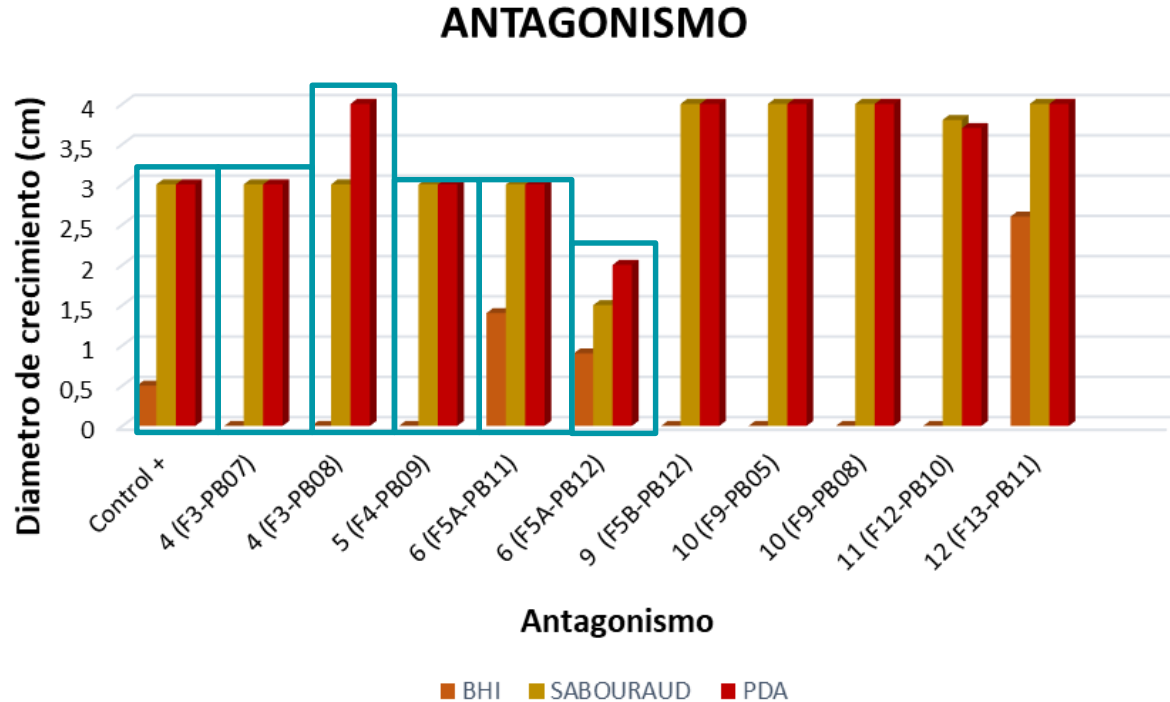
Obera y Col

Villareal y col

Álvarez y
Sánchez

Salas Torres

Avendaño y
Col



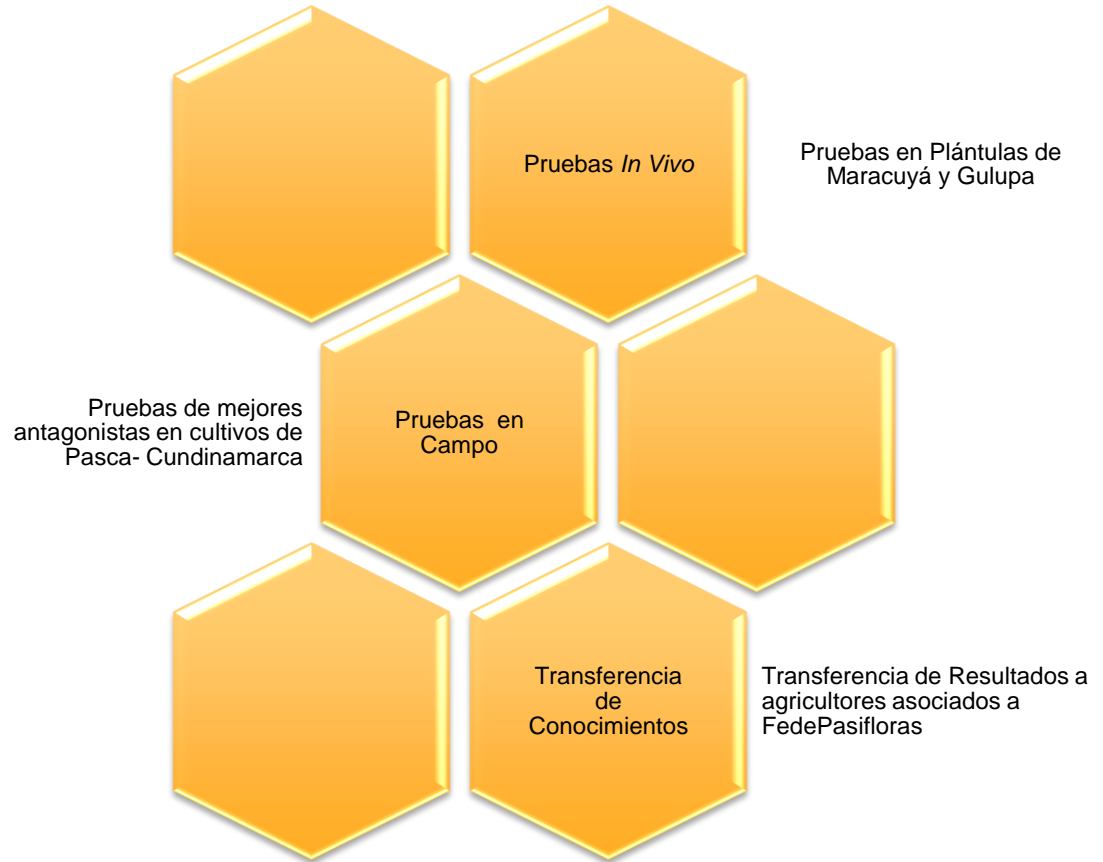
Conclusiones

- Se obtuvieron 12 patógenos de los cuales se lograron identificar por medio de pruebas moleculares, 4 *Fusarium oxysporum*, 2 *Fusarium solani*, *Phoma* sp y *Epicoccum nigrum*

- Se aislaron 13 Bacterias; 11 *Bacillus* sp, 1 *Staphylococcus*, 1 *Pseudomonas* sp, las cuales se probaron en las pruebas in vitro

- Las pruebas de antagonismo establecieron 4 bacterias (PB07, PB09, PB11, PB12) lograron inhibir el crecimiento de los patógenos. tres del género *Bacillus*

Recomendaciones






Agradecimientos





Gracias



EC  MIC

FHUN