

INDICE

CAPITULO I INTRODUCCIÓN.....	1
Hipótesis.....	3
Objetivo general	3
Objetivos específicos	3
CAPITULO II REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
Generalidades de la producción de manzana.....	4
Producción de manzana en Chile.	4
Situación en la séptima región del Maule.	4
Principales variedades producidas en Chile.	5
Generalidades de la morfología del árbol del manzano.	6
Importancia de la producción de manzana en la fruticultura Chilena.	6
Principales enfermedades que afectan al manzano.	7
Daño económico causado por las pudriciones en la producción de manzanos.	7
Botryosphaeriaceae.	8
Descripción.....	8
Botryosphaeria en manzano.	8
Especies de Botryosphaeriaceae encontradas en Chile.....	9
<i>Phacidium lacerum</i> causando pudrición en manzano.	10
Identificación de especies.	10
Identificación Molecular, técnica de PCR.....	10
CAPITULO III MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
Ubicación del estudio	13
Obtención de los aislados fungosos	13
Identificación molecular.....	15
Extracción de AND fungoso	
.....	15
Electroforesis de la extracción de ADN fungoso.....	16
Amplificación del ADN.....	16
Identificación molecular por Blast (Herramienta de búsqueda de alineamiento básico de secuencias del NCBI).....	18

Análisis filogenético.....	18
Efecto de la temperatura en el crecimiento micelial.....	20
CAPITULO IV RESULTADOS.....	21
Identificación molecular.....	21
Análisis filogenéticos.....	22
Efecto de la temperatura en el crecimiento micelial.....	27
CAPITULO V DISCUSIÓN.....	28
CAPITULO VI CONCLUSIÓN.....	31
CAPITULO VII CITAS BIBLIOGRAFICAS.....	32

INDICE DE CUADROS

Cuadro 2.1. Superficie nacional y distribución geográfica de plantaciones de manzanos en hectáreas.....	4
Cuadro 2.2 Superficie plantada por variedad en la Región del Maule.....	5
Cuadro 3.1. Aislados fungosos obtenidos desde pudriciones de precosecha en manzanas cv. Fuji y Pink Lady utilizados en el presente estudio.	14
Cuadro 3.2. Condiciones del termociclado para la amplificación de los genes; gen de la región internal transcribed spacer (ITS), gen parcial de la beta tubulina (BT) y gen del factor de elongación 1- α (FE).....	16
Cuadro 3.3. Secuencias de nucleótidos de los partidores utilizados en la amplificación de los genes; gen de la región internal transcribed spacer (ITS), gen parcial de la beta tubulina (BT) y gen del factor de elongación 1- α (FE).....	17
Cuadro 3.4. Concentraciones y cantidades (μ L) de cada reactivo para la obtención del mix de PCR para los genes; gen de la región internal transcribed spacer (ITS), gen parcial de la beta tubulina (BT) y gen del factor de elongación 1- α (FE).	17
Cuadro 3.5. Secuencias de aislados fungosos obtenidas desde la base de datos del GenBank utilizadas en el análisis filogenético de las especies <i>Diplodia seriata</i> , <i>Diplodia mutila</i> y <i>Phacidium lacerum</i>	19
Cuadro 4.1. Identificación molecular de los aislados fungosos asociados a pudrición en precosecha mediante análisis de Blast por tres genes; Internal transcribed space (ITS), beta tubulina (BT) y Factor de elongación 1- α (FE).....	22

INDICE DE FIGURAS

Figura 2.1. Corte longitudinal de dos pseudotecios de <i>Botryosphaeria berengeriana</i>	8
Figura 2.2 Fruto con síntomas de anillos concéntricos en pudrición asociada a <i>P. lacerum</i> en manzanas Variedad Red Delicious. Pudrición de la zona pedúncular (izquierda) y de la zona calicinal (derecha) en variedad Red Delicious. Obtenidos desde Wiseman <i>et al.</i> , 2016.....	10
Figura 2.3 Fases a la que está expuesta el ADN molde en cada ciclo de termociclado de la reacción en cadena de la polimerasa (Eguiarte <i>et al.</i> , 2007).....	11
Figura 2.4 Amplificación exponencial del ADN molde mediante Reacción en Cadena de la polimerasa (PCR) (Eguiarte <i>et al.</i> , 2007).....	12
Figura 3.1. Frutos con diferentes grados de pudriciones cosechados en localidades de Los Niches y Longavi, desde los cuales se obtuvieron los aislados, A, Mz-F3 (<i>Diplodia seriata</i>); B, Mz-4 (<i>Phacidium lacerum</i>) y C, Mz-F14 (<i>Diplodia mutila</i>).	13
Figura 4.1. Filograma obtenido de un análisis de máxima parsimonia de la region Internal transcribed spacer (ITS) del alineamiento de secuencias de aislados chilenos asociados a pudriciones de precosecha en manzanas y secuencias depositadas de especies como <i>Diplodia seriata</i> , <i>Diplodia mutila</i> , <i>Botryosphaeria dothidea</i> , <i>Neofusicoccum parvum</i> , <i>Neofabraea alba</i> , <i>Phacidiopycnis washingtonensis</i> y <i>Phacidium lacerum</i> asociados a pudriciones en manzanas como en otros frutales en el GenBank. El árbol fue enraizado con secuencia <i>Diaporthe australafricana</i> (no. acceso GenBank KC343039).....	24
Figura 4.2. Filograma obtenido de un análisis de máxima parsimonia de la porción del gen de la beta tubulina (BT) del alineamiento de secuencias de aislados chilenos asociados a pudriciones de precosecha en manzanas y secuencias depositadas de especies como <i>Diplodia seriata</i> , <i>Diplodia mutila</i> , <i>Botryosphaeria dothidea</i> , <i>Neofusicoccum parvum</i> , asociados a pudriciones en manzanas como en otros frutales en el GenBank. El árbol fue enraizado con secuencia <i>Diaporthe australafricana</i> (no. acceso GenBank KC344007).....	25
Figura 4.3. Filograma obtenido de un análisis de máxima parsimonia del gen factor de elongación 1- α del alineamiento de secuencias de aislados chilenos asociados a pudriciones de precosecha en manzanas y secuencias depositadas de especies como <i>Diplodia seriata</i> , <i>Diplodia mutila</i> , <i>Botryosphaeria dothidea</i> , <i>Neofusicoccum parvum</i> , asociados a pudriciones en manzanas como en otros frutales en el GenBank. El árbol fue enraizado con secuencia <i>Diaporthe australafricana</i> (no. acceso GenBank KC343765).	26

Figura 4.1. Crecimiento micelial in vitro de aislados de *Diplodia mutila*, *D. seriata* y *Phacidium lacerum* a diferentes temperaturas (0, 5, 15, 25 y 35°C) por tres días de incubación.**27**