



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA
VIDA Y LA AGRICULTURA**

**CARRERA DE INGENIERÍA EN
BIOTECNOLOGÍA**

TRABAJO DE TITULACIÓN

**TEMA: Identificación molecular y determinación de una metodología
para la inoculación de *Ilyonectria* sp. , asociado a la marchitez en
plantas de mora de castilla (*Rubus glaucus*).**

AUTOR: ITURRALDE SALAZAR PAOLA JANNINE

DIRECTOR: FLORES FRANCISCO, Ph.D

SANGOLQUÍ

2017

RESUMEN

En la enfermedad de pie negro en *Rubus glaucus*, la marchitez se origina de una pudrición severa de la raíz, causada por hongos del género *Ilyonectria*, más conocidos por su nombre anamorfo *Cylindrocarpon*. En este estudio se aisló hongos de plantas con síntomas de pie negro (A1 a A7) que se identificaron morfológicamente como *Ilyonectria* sp. Además se secuenció la región de espaciadores transcritos internos (ITS) y el gen del factor de elongación 1 α (TEF) obteniéndose 99% y 100% de identidad, respectivamente, con secuencias de la especie *I. torresensis*. La secuencia de la región ITS fue almacenada en la base de datos GenBank con el número de accesión KY114516 y la secuencia del TEF con el número de accesión KY114517. También se evaluó la virulencia de los aislamientos midiendo el tamaño de lesión en los tallos de mora inoculados, siendo el aislado A6 el más virulento con una lesión promedio de 3.38 cm de diámetro. Finalmente, se realizaron pruebas de patogenicidad utilizando dos factores de estudio, el primero fue el método de inoculación donde se utilizaron conidias, micelio o clamidosporas, el segundo fue el tratamiento de la raíz, con herida o sin herida. Los mejores resultados fueron obtenidos con la interacción entre el método de inoculación con conidios y raíz con herida, con una incidencia de marchitez del 88,8% y una incidencia de infección en raíz del 77%. Este tratamiento será utilizado para la evaluación de la resistencia al pie negro en programas de fitomejoramiento para el control de la enfermedad.

Palabras claves

I. torresensis, marchitez, incidencia, métodos de inoculación, patogenicidad

ABSTRACT

Black foot disease in *Rubus glaucus*, causes wilting due to severe root rot caused by fungi from the genus *Ilyonectria*, best known for their anamorph name *Cylindrocarpon*. In this study, plant pathogenic fungi were isolated from *R. glaucus* showing symptoms of black foot. Isolates A1 to A7 were morphologically identified as *Ilyonectria* spp. In addition, the internal transcribed spacer region (ITS), and the elongation factor 1 α gene (TEF) were sequenced, showing 99% and 100% identity, respectively, with sequences of the species *I. torresensis*. The ITS sequence was uploaded to GenBank under accession number KY114516, and the TEF sequence under accession number KY114517. The virulence of the isolates was also evaluated by measuring the lesion size on inoculated blackberry stems, isolate A6 was the most virulent with an average lesion size of 3.38 cm in diameter. Finally, pathogenicity tests were performed using two study factors, the first being the inoculation method where conidia, mycelium or chlamydospores were used, the second was root treatment, with wound or no wound. The best results were obtained with the interaction between the conidia inoculation and wounded root, with a wilt incidence of 88.8% and incidence of root infection of 77%. This treatment will be used to assess black foot resistance in breeding programs for the control of the disease.

Keywords

I. torresensis, wilting, incidence, inoculation methods, pathogenicity