

Estandarización de la extracción de ADN del nemátodo *Bursaphelenchus cocophilus* a partir del coleóptero *Rhynchophorus palmarum*



Diana Rodríguez Alarcón¹, José Gregorio Martínez², Sara Ramírez Restrepo²

1. Estudiante de Biotecnología. Semillero SIFACS. Facultad de Ciencias de la Salud, I.U. Colegio Mayor de Antioquia.

2. Docente Facultad Ciencias de la Salud. I.U. Colegio Mayor de Antioquia. Grupo Biotecnología.

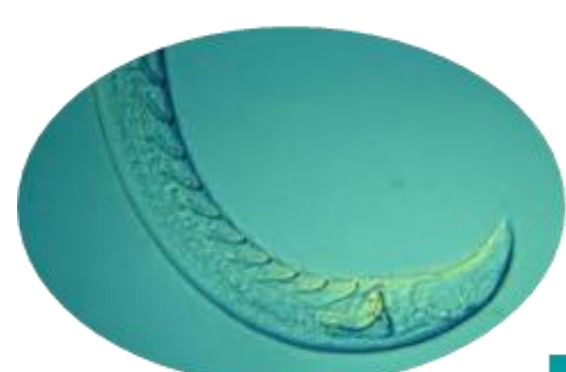
Autor de Correspondencia: drodriguez@est.colmayor.edu.co

INTRODUCCIÓN

Nematodos fitopatógenos



Morfología



Espícula

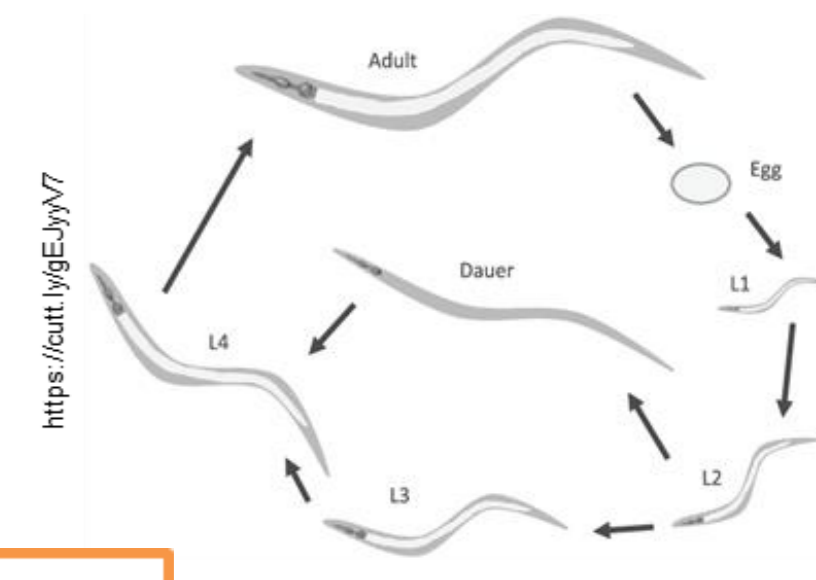
Estilete



Se estima que se cultivan 205 palmas/ha, con una productividad de 8.6 t/ha; lo que ubica al país por encima del promedio mundial (5 t/ha) [1].

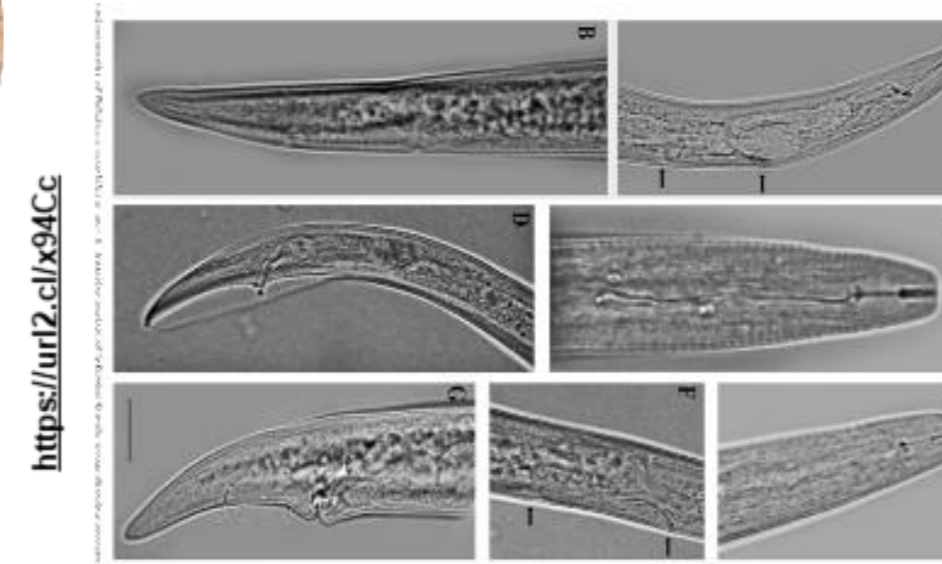


R. palmarum



Dauer larvae

Pérdidas anuales entre 11 y 14%, en cultivos de importancia económica como leguminosas, granos, banano, yuca, coco, remolacha azucarera, caña de azúcar, papa, hortalizas. \$80 billones al año [1].



B. cocophilus

Erradicación de 311.753 de 538.185 palmas afectadas, solo en Nariño. Se sanearon fitosanitariamente 1.732ha pertenecientes al cultivo del cocotero, de las cuales sólo se lograron rehabilitar y sembrar 486 ha [1].

OBJETIVOS

General

Determinar si *R. palmarum* es el reservorio/vector del nemátodo *Bursaphelenchus cocophilus*, causante de la enfermedad del anillo rojo, en cultivos de coco colombiano.

Específicos

- Identificar la presencia del insecto *R. palmarum* en cultivos de coco colombiano de la región de Urabá.
- Estandarizar la extracción de DNA del nemátodo *Bursaphelenchus cocophilus* a partir del coleóptero *Rhynchophorus palmarum* provenientes del cultivo coco colombiano de la región de Urabá.

METODOLOGÍA

Etapa 1: Identificación de la presencia de *R. palmarum* en los cultivos de coco

Obtención de los insectos

Arboletes, San Juan de Urabá y Necoclí

Identificación del dimorfismo sexual de *R. palmarum*

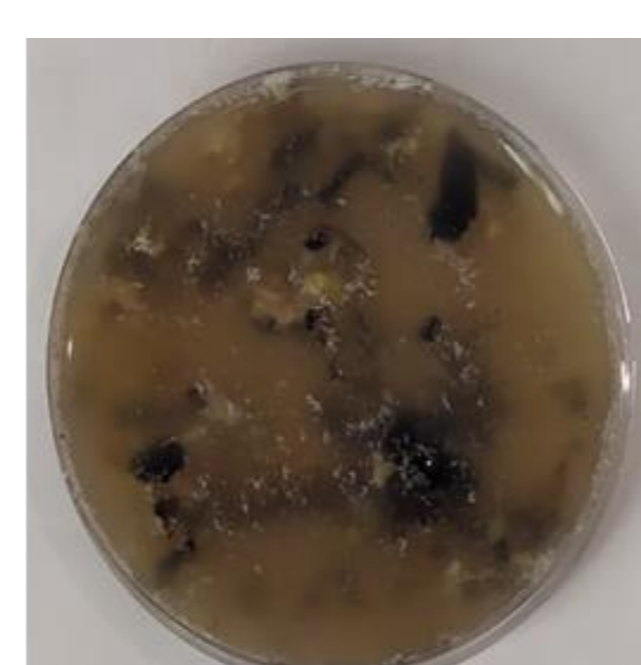
Etapa 2: Extracción de los nematodos a partir de *R. palmarum*



Embudo de Baermann.



Trampa White.



Trampa White modificada.

Este proyecto forma parte del proyecto "Validación molecular de *Rhynchophorus palmarum* como vector principal de la enfermedad del anillo rojo en cultivo de coco colombiano. Aproximación filogenética para el estudio de sus diversidades"

Etapa 3: Extracción de ADN de nematodos provenientes de *R. palmarum*



RESULTADOS PRELIMINARES

Identificación de la presencia de *R. palmarum* en los cultivos de coco.



Trampas de feromona *R. palmarum* en cultivos de coco de la región de Urabá



Dimorfismo sexual en individuos de *R. palmarum*.

Sexo	Individuos de <i>R. palmarum</i>
Hembra	57
Macho	17



Fotografía de una hembra de *R. palmarum*.

Extracción de nematodos a partir del insecto *R. palmarum* provenientes de la región de Urabá



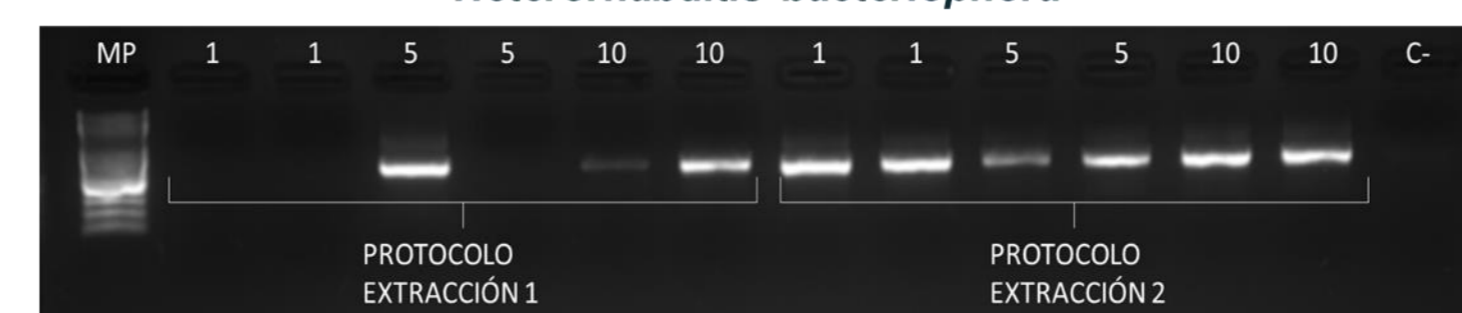
Nematodos recolectados a partir de los métodos de extracción

Métodos de extracción de nematodos	Recolección en 5ml
Embudo de Baermann	5
Trampa White	3
Trampa White modificada	22

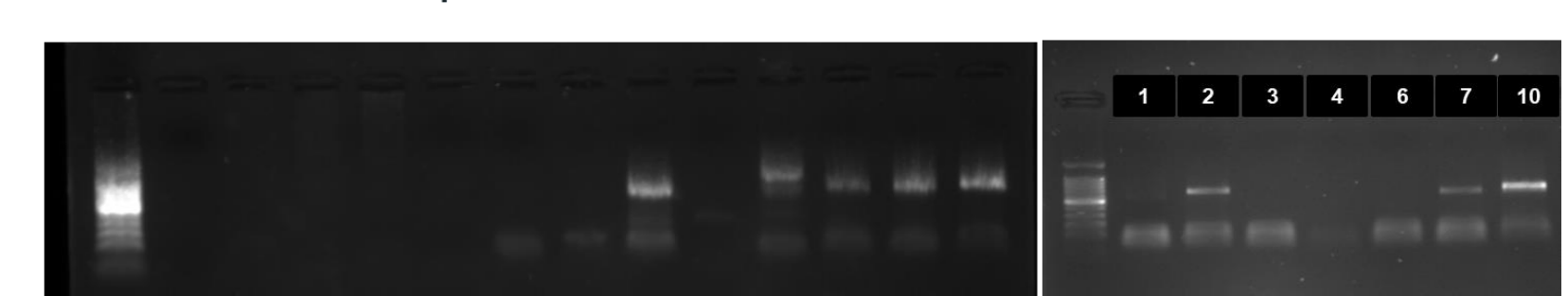


Observación microscópica de *B. cocophilus* en 10X.

Extracción de DNA utilizando como control positivo nematodos de la especie *Heterorhabditis bacteriophora*



Extracción de DNA de los nematodos provenientes del coleóptero *R. palmarum* y amplificación del marcador de identificación LSU



CONCLUSIONES PARCIALES

- Se confirmó la presencia del insecto *R. palmarum* en diferentes cultivos de coco de la región de Urabá.
- La trampa White modificada se definió como la de mayor eficiencia para el proceso de obtención de los nematodos, destacando también por la simplicidad del procedimiento frente a las otras dos trampas probadas.
- La metodología implementada permitió extraer el DNA de los nematodos presentes en los insectos recolectados en los cultivos de coco de la región de Urabá.

BIBLIOGRAFÍA

- Castillo A.J. (2019). Disminuir el impacto del deterioro al medio natural mediante la implementación de medidas y acciones en los cultivos de coco nucifera que conduzcan a las prácticas agronómicas a favor y protección del medio ambiente en la vereda Imbilpi del Carmen, municipio de Tumaco – Nariño. Universidad Nacional Abierta y a Distancia.
- Fujisawa, T., & Barraclough, T.G. Delimiting species using single-locus data and the generalized mixed Yule coalescent approach: A revised method and evaluation on simulated data sets. *Systematic Biology*, 62(5):707–724.
- Löhr, B., Vásquez-Ordóñez, A.A., & Lopez-Lavalle, L.A.B. (2015). *Rhynchophorus palmarum* in disguise: undescribed polymorphism in the "black" palm weevil. *PLoS One*, 10(12), 1–14.
- Silva, A.P., Parra, P.P., Campos, V.P., Costa, S.S., Vicente, C.S.L., Ferreira, L.G., et al. (2016). Genetic diversity of *Bursaphelenchus cocophilus* in South America. *Nematology*, 18(5), 605–14.
- Frías Navarro, MD., Pascual Llobell, J., & García Pérez, J.F. (1996). Determinación del tamaño de la muestra en el entorno SPSS. *Psicológica*, 17(2), 297–306.

