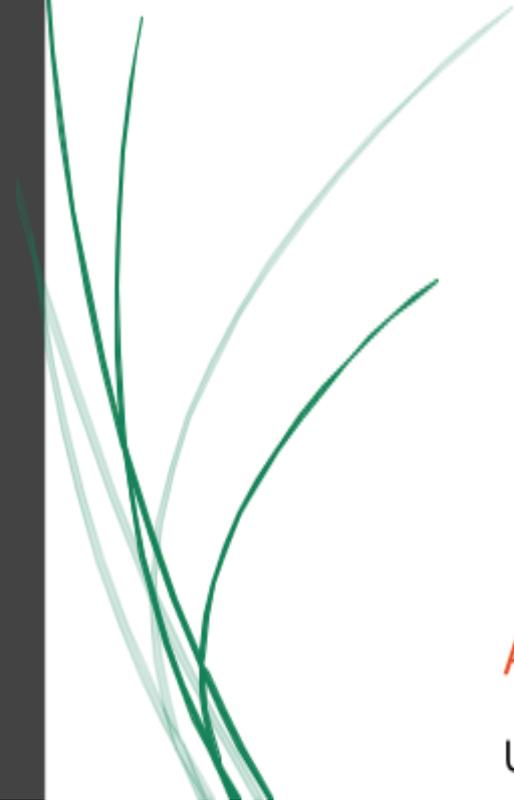




Viernes, 24 de Noviembre de 2023

Aislamiento y
caracterización
microbiológica, molecular
y bioquímica de
Agrobacterium
tumefaciens a partir de
rosas infectadas en la
comunidad Pijal-Imbabura



Anderson Toapanta De La Cruz

UNIVERSIDAD REGIONAL AMAZÓNICA IKIAM

Tutor: Ing Nathaly Fernanda Maldonado Taipe

Contenido

1. Antecedentes	3
2. Planteamiento del problema a investigar	4
3. Justificación de la investigación	5
4. Preguntas de la investigación	6
5. Hipótesis	6
6. Objetivos de la investigación	6
6.1. General	6
6.2. Específicos	6
7. Métodos	
8. Cronograma de actividades (basado en el marco lógico)	
9. Presupuesto	
10. Referencias bibliográficas (formato PLOS One)	8

1. Antecedentes

Las rosas, pertenecientes al género *Rosa* de la familia Rosaceae, se presentan como arbustos o trepadoras, a menudo espinosas y con la capacidad de alcanzar hasta los 3 metros de altura. Sus flores, hermafroditas, están compuestas por cinco pétalos y numerosos estambres, exhibiendo una amplia gama de colores que va desde el blanco hasta el rojo, pasando por tonalidades como el amarillo, el rosa y el morado. Además de su belleza visual, las rosas desprenden un agradable aroma, el cual se emplea en la elaboración de perfumes, jabones y otros productos cosméticos y alimenticios. Asimismo, se han reconocido sus propiedades medicinales, utilizándose para tratar diversas afecciones como la tos, la diarrea y la ansiedad. Por su popularidad, las rosas se encuentran entre las flores más cultivadas en todo el mundo [1].

En Ecuador, el cultivo de rosas tiene sus raíces en el siglo 21, aprovechando la biodiversidad y el clima idóneo para el florecimiento de diversas especies florales. Para el año 2016, la extensión de los cultivos en invernadero alcanzó las 5,163 hectáreas, con una notable cosecha en 4,981 hectáreas. Las provincias de Pichincha, Cotopaxi, Carchi e Imbabura destacan como las principales regiones, cubriendo aproximadamente el 99% del área destinada a la producción de rosas [2].

Las rosas son conocidas por ser plantas relativamente delicadas y susceptibles a una amplia gama de plagas y enfermedades. Las plagas más comunes de los rosales son los pulgones, los trips y los ácaros. Las rosas también pueden verse afectadas por virus, que pueden ser transmitidos por plagas como los pulgones. Los síntomas de las rosas ante los virus pueden variar, pero pueden incluir manchas amarillas o marrones en las hojas, deformación de las hojas y los tallos, y retraso en el crecimiento. Las bacterias también pueden afectar a las rosas, causando una variedad de enfermedades. Algunas de las bacterias más comunes que afectan a las rosas incluyen *Xanthomonas campestris*, *Rhizoctonia solani*, *Pseudomonas syringae* y *Agrobacterium tumefaciens* [1-3].

Agrobacterium tumefaciens, también conocida como *Rhizobium radiobacter*, es una bacteria Gram negativa la cual causa la enfermedad de la agalla de la corona en las planta. Es una bacteria del suelo la cual infecta las plantas a través de heridas o aberturas naturales. Una vez dentro de la planta, *Agrobacterium tumefaciens* transfiere un segmento de su ADN, llamado ADN-T, al genoma de la planta. El ADN-T contiene genes que codifican enzimas que hacen que la planta produzca hormonas que promueven el crecimiento tumoral, conocidas como agallas de la corona, las cuales no suelen ser letales para las plantas, pero pueden reducir los rendimientos y hacer que las plantas sean más susceptibles a otras enfermedades. Las agallas de la corona son más comunes en plantas dicotiledóneas, como rosas, frutas con hueso y uvas [3].

En el caso de las rosas, esta bacteria puede ingresar a través de heridas en la planta, como cortes en tallos durante la poda o lesiones causadas por insectos u otros factores. Una vez dentro de la planta, *Agrobacterium tumefaciens* puede transferir parte de su ADN a las células vegetales, causando la formación de tumores en la zona afectada. El control de esta enfermedad puede incluir medidas preventivas, como la limpieza y desinfección de herramientas de jardinería para evitar la propagación, así como la poda cuidadosa para minimizar las heridas en las plantas. En algunos casos, se pueden utilizar tratamientos químicos específicos para controlar la propagación de la bacteria fitopatógena[3-4].

Según un estudio realizado por el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) de Ecuador, el porcentaje de daño de *Agrobacterium tumefaciens* en flores de Ecuador es de

aproximadamente el 10%. Este porcentaje varía según la especie de flor, siendo más alto en las flores más sensibles, como las rosas y las orquídeas. El estudio se realizó en cultivos de flores de Ecuador durante el período 2021-2022. Se muestrearon un total de 1000 plantas de flores, de las cuales 100 resultaron infectadas con *Agrobacterium tumefaciens* [8].

En la década de 1990 al año 2008, el sector enfrentó un desafío significativo con la propagación de la agalla de la corona, una enfermedad bacteriana que afecta a las rosas, resultando en una disminución de 337 hectáreas dedicadas a la producción de este tipo de flor. Esta situación llevó a una reducción del 16% en el número de empleados en las florícolas [6]. A pesar de este revés, la industria florícola ecuatoriana demostró una notable capacidad de recuperación. En los años posteriores, el sector experimentó un crecimiento continuo y una diversificación significativa, incorporando nuevas variedades de flores como claveles, alstroemerias, lirios y crisantemos.

Los desafíos principales que enfrenta la industria florícola ecuatoriana incluyen la variabilidad climática, la competencia de otros países productores y la necesidad de continuar innovando para satisfacer las demandas de los mercados internacionales. Para abordar estos desafíos, la industria está dedicando recursos significativos a la investigación y desarrollo de nuevas variedades de flores que sean más resistentes a enfermedades y capaces de adaptarse a condiciones climáticas cambiantes. Asimismo, se están llevando a cabo esfuerzos para diversificar la gama de productos ofrecidos y para expandir los mercados de exportación. En este sentido, se reconoce un amplio potencial de crecimiento para la industria florícola ecuatoriana en los próximos años. Con la inversión adecuada y la colaboración de todos los actores involucrados, el sector tiene la capacidad de seguir desempeñando un papel crucial como motor de desarrollo económico para el país [7].

El aislamiento y caracterización de *Agrobacterium tumefaciens* a partir de rosas infectadas en la provincia de Imbabura comunidad Pijal de Imbabura es un estudio multidisciplinario integral que combinará métodos microbiológicos, moleculares y bioquímicos. Se pretende que esta investigación establezcan las bases de futuras investigaciones y acciones sobre la incidencia de esta enfermedad. se llevado a cabo debido a la frecuencia de tumores en las rosas de la región, lo que sugiere la posible presencia de esta bacteria fitopatógena conocida por causar agallas en numerosas plantas [5].

2. Planteamiento del problema a investigar

El problema que enfrentan los cultivos de rosas en Imbabura trasciende la mera presencia de tumores en las flores. Estos tumores, generados por la bacteria *Agrobacterium tumefaciens*, no solamente impactan la apariencia visual de las rosas, sino que también afectan significativamente su salud y productividad. Dado que las rosas son un cultivo de gran importancia tanto desde el punto de vista económico como cultural en la región, la calidad de estas flores resulta vital para satisfacer las demandas tanto del mercado local como internacional.

La comunidad Pijal, ubicada en la provincia de Imbabura, enfrenta un desafío significativo en la producción de rosas debido a la presencia de síntomas que sugieren la posible infección por *Agrobacterium tumefaciens*. Estos síntomas, tales como agallas y tumores en los tejidos vegetales, comprometen la calidad y rendimiento de los cultivos, afectando económicamente a los agricultores locales. La frecuencia de *Agrobacterium tumefaciens* en campos de cultivo de rosas no solo representa una amenaza para la producción agrícola sino también para la sostenibilidad económica de la comunidad Pijal. La falta de información detallada sobre la frecuencia y distribución de esta bacteria en la región limita la implementación de medidas de manejo efectivas.

La necesidad de una caracterización precisa de la bacteria es evidente, ya que otros patógenos pueden presentar síntomas similares, lo que podría llevar a diagnósticos erróneos y estrategias ineficaces de control. Por lo tanto, es esencial realizar un estudio exhaustivo que aborde esta problemática desde diversas perspectivas, integrando métodos microbiológicos, moleculares y bioquímicos para garantizar la identificación específica de *Agrobacterium tumefaciens*.

Los pocos estudios sobre la susceptibilidad a detalle de diferentes variedades de rosas a esta bacteria limita la capacidad de los agricultores para seleccionar variedades resistentes y desarrollar estrategias de cultivo adaptadas a las condiciones locales. En este contexto, la investigación propuesta busca llenar este vacío de conocimiento, proporcionando datos sólidos que permitan comprender la magnitud del problema y facilitar la implementación de prácticas agrícolas más efectivas y sostenibles en la comunidad Pijal.

3. Justificación de la investigación

La investigación propuesta sobre la frecuencia y caracterización de *Agrobacterium tumefaciens* en los cultivos de rosas en la comunidad Pijal-Imbabura posee una relevancia sustancial tanto a nivel local como global. Esta justificación se fundamenta en varios aspectos cruciales:

En primer lugar, la producción de rosas en la región de Imbabura representa una parte esencial de la economía local. La presencia de síntomas sugestivos de *Agrobacterium tumefaciens* amenaza directamente la viabilidad económica de los agricultores de la comunidad Pijal. La falta de información precisa sobre la frecuencia y distribución de esta bacteria impide la implementación de estrategias de manejo eficaces, aumentando los riesgos de pérdidas económicas y la degradación de los cultivos.

La identificación específica de *Agrobacterium tumefaciens* es crucial para evitar diagnósticos erróneos y la implementación de medidas de control inapropiadas. Dada la similitud de los síntomas con otros patógenos, es imperativo realizar un análisis completo y diferenciado de la bacteria para proporcionar a los agricultores información precisa y estrategias de manejo específicas. La investigación también aborda un vacío de conocimiento en cuanto a la susceptibilidad de diferentes variedades de rosas a la infección por *Agrobacterium tumefaciens*. La identificación de variedades resistentes o susceptibles es esencial para desarrollar estrategias de selección de cultivos que sean adaptables a las condiciones locales, promoviendo así la resiliencia de la producción de rosas en la región.

La investigación en Ecuador está alineada con varios Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS). Contribuye al ODS 1 (Fin de la Pobreza) al abordar la amenaza económica para los agricultores locales, y al ODS 2 (Hambre Cero) al proteger la producción de rosas, un cultivo vital. Asimismo, promueve el ODS 8 (Trabajo Decente y Crecimiento Económico) al fomentar prácticas agrícolas sostenibles y crear empleo [6]. En cuanto al ODS 12 (Producción y Consumo Responsables), respalda este objetivo al abogar por prácticas agrícolas eficientes y sostenibles. Finalmente, también contribuye al ODS 15 (Vida de Ecosistemas Terrestres) al gestionar la frecuencia de la bacteria, lo que contribuye a preservar la biodiversidad y promover el manejo sostenible de la tierra[8].

A nivel global, esta investigación proporcionará un aporte valioso al conocimiento científico sobre la biología y epidemiología de *Agrobacterium tumefaciens*. Las perspectivas obtenidas podrían

tener aplicabilidad en otros contextos agrícolas que enfrenten desafíos similares. De esta manera, la investigación no solo beneficia a la comunidad Pijal, sino que también tiene el potencial de contribuir a avances significativos en la gestión de enfermedades de plantas a nivel internacional

4. Preguntas de investigación

¿Cuál es la frecuencia y distribución de los síntomas asociados a *Agrobacterium tumefaciens* en cultivos de rosas de la comunidad Pijal-Imbabura, evidenciada por la caracterización microbiológica, molecular y bioquímica del patógeno en diferentes variedades de rosas?.

5. Hipótesis

El estudio investigará cómo los factores climáticos locales, como temperatura y humedad, afectan la presencia y diversidad genética de *Agrobacterium tumefaciens* en las rosas de Pijal-Imbabura. Se analizará las prácticas de cultivo, como la selección de variedades de rosas y las técnicas de manejo agronómico, para entender su impacto en la presencia de *Agrobacterium tumefaciens* y la salud de las plantas en la comunidad Pijal-Imbabura.. Se evaluará cómo el uso de pesticidas y métodos preventivos influye en la presencia y diversidad genética de *Agrobacterium tumefaciens*, con el objetivo de desarrollar estrategias de manejo adaptadas a las condiciones locales para mitigar sus efectos en la producción de rosas en la comunidad Pijal-Imbabura..

6. Objetivos de la investigación

6.1. General

- Identificar microbiológica, bioquímica y molecularmente *Agrobacterium tumefaciens* a partir de tejidos vegetales infectados en la comunidad Pijal-Imbabura.

6.2. Específicos

Recolecta de Datos sobre la frecuencia en Campo:

- Implementar un protocolo de muestreo en campo para obtener datos generales sobre la frecuencia de *Agrobacterium tumefaciens* en las rosas de la comunidad Pijal-Imbabura.

Caracterización Morfológica:

- Efectuar una caracterización morfológica detallada de los aislados de *Agrobacterium tumefaciens* obtenidos de rosas infectadas en la comunidad de Pijal-Imbabura, con el fin de identificar características distintivas que faciliten su identificación y estudio..

Caracterización Molecular:

- Utilizar PCR, para la caracterización genética del organismo aislado y procurar que se trate de *Agrobacterium tumefaciens*.

Caracterización Bioquímica:

- Emplear métodos bioquímicos específicos para analizar las propiedades bioquímicas de *Agrobacterium tumefaciens*.

10. Referencias bibliográficas.

1. Díaz Gutiérrez, D. J. (2022). *Comercialización de rosas (Rosa sp.) en el mercado de exportación Ecuatoriano* (Bachelor's thesis, BABAHOYO: UTB, 2022).
2. Guallasamin, K., & Simón Baile, D. (2018). Huella de carbono del cultivo de rosas en Ecuador comparando dos metodologías: GHG Protocol vs. PAS 2050. *Letras Verdes, Revista Latinoamericana de Estudios Socioambientales*, (24), 27-56.
3. Liu, G., Yuan, Y., Jiang, H., Bao, Y., Ning, G., Zhao, L., ... & Ma, N. (2021). *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of modern rose (*Rosa hybrida*) using leaf-derived embryogenic callus. *Horticultural Plant Journal*, 7(4), 359-366.
4. Torres, M., Jiquel, A., Jeanne, E., Naquin, D., Dessaux, Y., & Faure, D. (2022). *Agrobacterium tumefaciens* fitness genes involved in the colonization of plant tumors and roots. *New Phytologist*, 233(2), 905-918.
5. Thompson, M. G., Moore, W. M., Hummel, N. F., Pearson, A. N., Barnum, C. R., Scheller, H. V., & Shih, P. M. (2020). *Agrobacterium tumefaciens*: A bacterium primed for synthetic biology. *BioDesign Research*.
6. Tandapilco Llumitaxi, J. W. (2020). Aislamiento y caracterización microbiológica, bioquímica y molecular de *Agrobacterium Tumefaciens* a partir de tejidos vegetales infectados. *Escuela superior politécnica de chimborazo facultad de ciencias*.
7. Hidalgo Dávila, J. L. (2017). *La situación actual de la sustitución de insumos agroquímicos por productos biológicos como estrategia en la producción agrícola: El sector florícola ecuatoriano* (Master's thesis, Universidad Andina Simón Bolívar, Sede Ecuador).
8. Beltrán, A., & Aimé, J. (2022). *Evaluación del efecto de la aplicación de dos bactericidas sobre el desarrollo de la agalla causada por Agrobacterium tumefaciens en rosa* (Bachelor's thesis, Quito: UCE).
9. Bascón-Villegas, I. (2022). Lignonanofibras de celulosa procedentes de residuos agrícolas para la formulación de envases alimentarios sostenibles y funcionales. Universidad de Córdoba, UCOPress

<https://paperpile.com/s/plos-one-citation-style/>

FIRMA DEL TUTOR: Nathaly Fernanda Maldonado Taipe