

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



**Determinación de polimorfismo de genotipos *Musa* spp. en la
Región de Tumbes**

TESIS para optar el título de ingeniero agrónomo

Autor:

Bach. Garcia Garcia Segundo Melecio

TUMBES, 2024

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



**Determinación de polimorfismo de genotipos *Musa* spp. en la
Región de Tumbes**

Tesis aprobada en forma y estilo por:

Dr. Ramón García seminario (Presidente).

ORCID: 0000-0003-0756-0935

Dr. Faustino Sanjinez Salazar (Secretario).

ORCID: 0000-0002-8542-9353

Dr. Milton Valladolid Ramos (Vocal).

ORCID: 000-0002-05226-0544

Dr. Jalmer Fidel Campaña Olaya (Asesor)

ORCID:0000-0002-0804-1208

TUMBES, 2024

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



**Determinación de polimorfismo de genotipos *Musa* spp. en
la Región de Tumbes**

Los suscritos declaramos que la tesis es original en su contenido
y forma:

Bach. Garcia Garcia Segundo Melecio (Autor)

DR. Jalmer Fidel Campaña Olaya (Asesor)

ORCID:0000-0002-0804-1208

M. Sc Erick Antonio Peña Suarez (Co-asesor)

ORCID: 0000-0003-0137-8251

TUMBES, 2024

COPIA DEL ACTA DE SUSTENTACIÓN



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA



“Año del Bicentenario de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho”

ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS

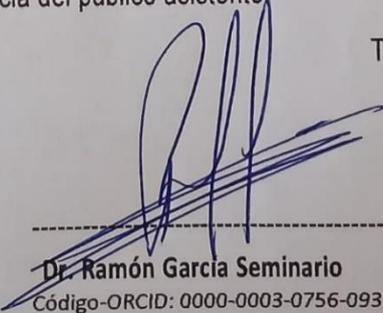
El día, **viernes 24 de mayo del 2024, siendo las 10.00 a.m. horas**, nos reunimos en el aula virtual N° 01 de la Facultad de Ciencias Agrarias, los miembros del Jurado de tesis **Dr. Ramón García Seminario** (Presidente); **PhD. Faustino Sanjinez Salazar** (Secretario), **Dr. Milton Valladolid Ramos** (Vocal), designados por **Resolución N° 098-2023/UNTUMBES-VRACAD-FCA-D**; reconociendo en la misma resolución al **Dr. Jalmer, F. Campaña Olaya**, como asesor del mencionado Proyecto de Tesis, se procedió a evaluar, calificar y deliberar la sustentación de tesis, titulada **“Caracterización molecular de cultivares de Musa spp. (Banano) en las Provincias de Tumbes y Zarumilla”**, para optar el Título Profesional de Ingeniero Agrónomo, presentado por el **Bach. Segundo Melecio García García**. Concluida la exposición y absueltas las preguntas por parte del tesista y después de la deliberación, el jurado, según el artículo N° 65 del Reglamento de tesis para Pregrado y Posgrado de la Universidad Nacional de Tumbes, declara al **Bach. Segundo Melecio García García**, **APROBADO** con calificativo de **MUY BUENO**.

Se hace conocer al sustentante, que deberá levantar las observaciones finales hechas al informe final de tesis, que el jurado le indique.

En consecuencia, queda **APTO** para continuar con los trámites correspondientes a la obtención del Título Profesional de Ingeniero Agrónomo, de conformidad con lo estipulado en la Ley Universitaria N° 30220, el Estatuto, Reglamento general, Reglamento General de Grados y Títulos y Reglamento de Tesis de la Universidad Nacional de Tumbes.

Siendo las **once horas y 45 minutos** del mismo día, se dio por concluida la ceremonia académica, procediendo a firmar el acta en presencia del público asistente.

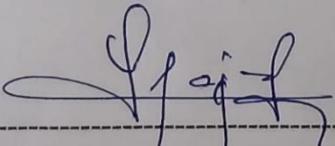
Tumbes, 24 de mayo del 2024.



Dr. Ramón García Seminario

Código-ORCID: 0000-0003-0756-0935

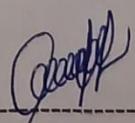
Presidente



PhD. Faustino Sanjinez Salazar

Código ORCID: 0000-0002-8542-9353

Secretario



Dr. Milton Valladolid Ramos

Cód. ORCID N: 0000-0002-0526-0544

Vocal

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a Dios, por ser mi fuerza y guía en cada paso. A mis queridos padres, por su amor incondicional y constante apoyo. A mi asesor y coasesor, por su invaluable orientación y sabiduría. A mi amada enamorada, por ser mi inspiración y motivación constante. Y a todas las personas que me brindaron su apoyo y aliento a lo largo de este camino. ¡Gracias por ser parte de este logro!

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradecer a Dios por brindarme vida por haberme regalado el don de la vida y estar conmigo en los momentos más difíciles y por permitirme llegar hasta donde estoy. Agradecer de todo corazón a mis queridos padres por el esfuerzo que realizaron económicamente y de muchas cosas que se privaron para que yo pueda estudiar. Asimismo, agradecer al Dr. Jalmer Fidel Campaña Olaya por su sugerencias y consejos, y motivación que me ayudan a crecer como persona y futuro profesional. También me gustaría agradecer al MSc. Ingeniero Erick Antonio Suarez Peña por el apoyo, por el aporte de sus instrucciones durante la tesis.

Determinación de polimorfismo de genotipos Musa spp. en la Región de Tumbes

INFORME DE ORIGINALIDAD

18%

INDICE DE SIMILITUD

17%

FUENTES DE INTERNET

6%

PUBLICACIONES

4%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

www.scielo.org.mx

Fuente de Internet

2%

2

apolo.unab.edu.co

Fuente de Internet

2%

3

repositorio.usfq.edu.ec

Fuente de Internet

1%

4

worldwidescience.org

Fuente de Internet

1%

5

repositorio.umsa.bo

Fuente de Internet

1%

6

Submitted to Universidad Nacional de Tumbes

Trabajo del estudiante

1%

7

publicaciones.inia.gob.ve

Fuente de Internet

1%

8

Submitted to Universidad Nacional Abierta y a Distancia, UNAD, UNAD

Trabajo del estudiante

1%


ing. Jalmer Fidel Campaña Olaya
0000-0002-0804-1209



9	cdn.www.gob.pe Fuente de Internet	1 %
10	www.revistas.unitru.edu.pe Fuente de Internet	1 %
11	idoc.pub Fuente de Internet	1 %
12	core.ac.uk Fuente de Internet	1 %
13	search.scielo.org Fuente de Internet	1 %
14	repositorio.untumbes.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
15	dspace.ucuenca.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
16	digi.usac.edu.gt Fuente de Internet	<1 %
17	repositorio.unal.edu.co Fuente de Internet	<1 %
18	cia.uagraria.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
19	doczz.net Fuente de Internet	<1 %
20	repositorio.unap.edu.pe Fuente de Internet	<1 %



21	Submitted to Higher Education Commission Pakistan Trabajo del estudiante	<1 %
22	go.gale.com Fuente de Internet	<1 %
23	repositorio.untumbes.edu.pe:8080 Fuente de Internet	<1 %
24	www.jove.com Fuente de Internet	<1 %
25	www.researchgate.net Fuente de Internet	<1 %
26	es.unionpedia.org Fuente de Internet	<1 %
27	hdl.handle.net Fuente de Internet	<1 %
28	studentsrepo.um.edu.my Fuente de Internet	<1 %
29	ediciones.inca.edu.cu Fuente de Internet	<1 %
30	www.sabiia.cnptia.embrapa.br Fuente de Internet	<1 %
31	cdn.slideserve.com Fuente de Internet	<1 %
32	investigacion.uaa.mx Fuente de Internet	<1 %



<1 %

33 patents.google.com
Fuente de Internet

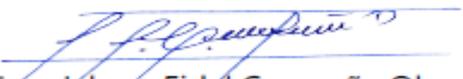
<1 %

34 Submitted to Universidad Sergio Arboleda
Trabajo del estudiante

<1 %

Excluir citas Activo
Excluir bibliografía Activo

Excluir coincidencias < 15 words


Ing. Jalmer Fidel Campaña Olaya

0000-0002-0804-1208

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	I
ABSTRACT	II
CAPITULO I	12
1. INTRODUCCIÓN	12
CAPITULO II	14
2. REVISIÓN DE LITERATURA	14
2.1. Importancia productiva de las Musáceas	14
2.2. Generalidades del banano	14
2.2.1. Origen y distribución geográfica de banano.....	14
2.2.2. Usos del banano.....	15
2.2.3. Clasificación taxonómica del banano.....	15
2.2.4. Descripción Botánica	16
2.2.5. Descripción morfológica del banano.....	17
2.3. Biotecnología molecular	18
2.4. Antecedentes	19
CAPITULO III	22
3. MATERIALES Y MÉTODOS	22
4. RESULTADOS y DISCUSIÓN	32
CAPITULO V	36
5. CONCLUSIONES	36
CAPITULO VI	37
6. RECOMENDACIONES	37
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	XXXVIII
8. ANEXOS	XLIV

INDICE DE TABLAS

Tabla 1 Coordenadas del área de estudio	22
Tabla 2 Concentración en ng/ul y pureza del ADN aislado a partir de tejidos foliar de 9 cultivares de banano	28
Tabla 3 Primer´s utilizados para la amplificación específica de ADN en banano	29
Tabla 4 Composición del mix de PCR para la amplificación del gen del ADN	30
Tabla 5 Oligonucleótidos decámeros, bandas amplificadas, bandas polimórficas y porcentaje de polimorfismo entre 9 cultivares de <i>Musa</i>	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig 1. Localización de las áreas donde se muestreo los cultivares de banano en el departamento de Tumbes.....	24
Fig 2. Pasos de los procesos principales después de la recolección de la muestra	25
Fig 3. Pasos de caracterización molecular de las muestras de <i>Musa</i> spp	26
Fig 4. Dendograma generado de 9 cultivares con IC2, Valery, monte cristo, Cavendish gigante, Red Dacca, Williams, Gran enano, gros michel, zapatito de banano sobre el análisis de 7 marcadores RAPD. La escala de disimilitud se encuentra en la parte lateral izquierda de 0.0 a 3.0	35

ÍNDICE DE ANEXOS

Fig 5. cultivares de banano a) IC2 b) Valery c) Monte cristo d) Cavendish gigante e) Red Dacca f) Williams g) Gran Enano h) Gros michel g) Zapatito	XLIV
Fig 6. Georreferenciación en las diferentes zonas de Tumbes	XLIV
Fig 7. Recolección de muestras de cultivares de banano de los cultivares ya mencionados	XLV
Fig 8. Reactivos para realizar el PCR	XLV
Fig 9. Materiales utilizados durante las diferentes fases de la investigación	XLVI
Fig 10. Materiales utilizados en laboratorio	XLVII
Fig 11. Reactivos	XLVII
Fig 12. Proceso de extracción de ADN de <i>Musa spp.</i> A) se pipeteo 350 de lysis buffer. B) se limpió con alcohol al 70 % C) se picó en partes pequeñas la hoja D) se tomó 0.3 gramos de hoja y se molieron en el mortero estéril en presencia de nitrógeno líquido E) transferir el tejido molido al tampón de lisis F) mezclar el tejido con la lisis G) agregar 50 de lysis buffer y 20 ul de RNasa A H) incubar por 10 min en baño de agua I) agregar 130 de solución de precipitación J) centrifugar de 5 min a 14000 rpm K) recoger el sobredante y transferir a un tubo de centrifuga limpio L) transferir la mitad de la mezcla a una columna de centrifugado M) agregar 500 ul de Wash buffer I centrifugar y desechar N) agregar 500 ul de Wash buffer II O) para eluir el ADN genómico agregar 100 ul elution buffer al centro de la membrana de la columna centrifugar por 1 min a 10000 rpm Q) ADN purificado	XLVIII
Fig 13. Proceso del PCR A) se pipetea 153 ul de AUP B) 50 de buffer 5x C) 20ulde Mg Cl ₂ 5 ul de dNTP'S de primer's 6 ul y finalmente 1 ul de polimerasa D) se mezcló todo en el mezclador E) la mezcla del kit de pcr F) se agregó 23.4 ul a cada tubo en total 10 finalmente se le agrego 1 ul de ADN de cada cultivar de banano. G) seguidamente se coloca en el amplificador para la amplificación de las muestras.	
	XLIX
Fig 14. Proceso de electroforesis A) se vierte la agarosa a la bandeja para que se solidifique B) ya solidificado se coloca el gel en el tae C) se retira 5 ul de muestra con una pipeta D) se coloca en los pasillos del gel los 5 ul de muestras y programar	

en el sistema de electroforesis a 28 minutos E) pasado el tiempo se retira el gel y se observa en el transiluminador F) se observa las bandas polimórficas XLIX

Fig 15. Amplificación de marcadores RAPD producidos por el oligonucleótido OPA 1 Y OPA 2. Escalera marcadora de peso molecular .1 IC2, 2 valery, 3 Monte cristo, 4 Cavendish gigante, 5 Red Dacca, 6 Williams, 7 Gran enano, 8 Gros michel, 9 zapatito.

Fig 16. Amplificación de marcadores RAPD producidos por el oligonucleótido OPA 3 Y OPA 4. Escalera marcadora de peso molecular (L). 1 IC2, 2 Valery, 3 Monte cristo, 4 Cavendish gigante, 5 Red Dacca , 6 Williams, 7 Gran Enano, 8 Gros michel, 9 zapatito.

Fig 17. Amplificación de marcadores RAPD producidos por el oligonucleótido A-01 3 Y OPC 15. Escalera marcadora de peso molecular (L). 1 IC2, 2 Valery, 3 Monte cristo, 4 Cavendish gigante, 5 Morado, 6 Williams, 7 Gran Enano, 8 Gros michel, 9 zapatito.

Fig 18. Amplificación de marcadores RAPD producidos por el oligonucleótido OPC 2. Escalera marcadora de peso molecular (L). 1 IC2, 2 valery, 3 monte cristo, 4 Cavendish gigante, 5 Red Dacca, 6 Williams, 7 Gran Enano, 8 Gros michel, 9 Zapatito.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en seis zonas de las provincias de Tumbes y Zarumilla, teniendo como finalidad determinar el polimorfismo de genotipos de *Musa* spp. en las provincias antes mencionadas. Mediante la técnica RAPD (ADN polimórfico amplificado aleatoriamente) se logró determinar entre los *Musa acuminata* cv (cultivar). IC2, *M. acuminata* cv. Valery, *M. acuminata* cv. Monte cristo, *M. acuminata* cv. Cavendish Gigante, *Musa acuminata* cv. Red Dacca, *Musa acuminata* cv. Willians, *M. acuminata* cv. Gran Enano, *M. acuminata* cv. Gros michel y *M. paradisiaca* cv. Zapatito, un total de 76 bandas amplificadas y 41 bandas polimórficas, permitiendo así determinar la existencia de variabilidad genética entre cultivares de una misma especie y establecer una relación mediante mayor índice de polimorfismo. Adicionalmente, dentro de estos resultados, se identificó que, entre todos los oligonucleótidos evaluados, el Operón Primers A (OPA-3) de 400 pb, presenta un mayor porcentaje de polimorfismo dentro de la población evaluada, mientras que los OPA- 4 y Operón Primers C (OPC-15) no han mostrado amplificación alguna lo que sugiere que no todos los cultivares presentan regiones genómicas susceptibles a la amplificación por marcadores RAPD. A razón del agrupamiento por método de apareamiento, solo se obtuvo un agrupamiento (*Musa acuminata* cv. IC2, *M. acuminata* cv. Valery, *M. acuminata* cv. Monte cristo, *Musa acuminata* cv. Willians, *M. acuminata* cv. Gran Enano), el mismo que se encuentra relacionado por la amplificación de los marcadores OPA-1, OPA-2, OPA-3 y A-01. Mediante estos resultados se establecerán estrategias de selección de genotipos resistentes para futuros programas de mejoramientos en la resistencia y de calidad productiva.

Palabras clave: Cultivares, Determinación polimórfica, diversidad genética, RAPD.

ABSTRAC

The present research work was carried out in six areas of the provinces of Tumbes and Zarumilla, with the purpose of determining the polymorphism of *Musa* spp genotypes. in the aforementioned provinces. Using the RAPD (randomly amplified polymorphic DNA) technique, it was possible to determine among the *Musa acuminata* cv (cultivar). IC2, *M. acuminata* cv. Valery, *M. acuminata* cv. Monte cristo, *M. acuminata* cv. Giant Cavendish, *Musa acuminata* cv. Red Dacca, *Musa acuminata* cv. Williams, *M. acuminata* cv. Great Dwarf, *M. acuminata* cv. Gros michel and *M. paradisiaca* cv. Zapatito, a total of 76 amplified bands and 41 polymorphic bands, thus allowing us to determine the existence of genetic variability between cultivars of the same species and establish a relationship through a higher polymorphism index. Additionally, within these results, it was identified that, among all the oligonucleotides evaluated, Operon Primers A (OPA-3) of 400 bp, presents a higher percentage of polymorphism within the evaluated population, while OPA-4 and Operon Primers C (OPC-15) have not shown any amplification, which suggests that not all cultivars have genomic regions susceptible to amplification by RAPD markers. Due to the grouping by mating method, only one grouping was obtained (*Musa acuminata* cv. IC2, *M. acuminata* cv. Valery, *M. acuminata* cv. Monte cristo, *Musa acuminata* cv. Williams, *M. acuminata* cv. Gran Enano), the same one that is related to the amplification of the markers OPA-1, OPA-2, OPA-3 and A-01. Using these results, selection strategies for resistant genotypes will be established for future programs to improve resistance and productive quality

Keywords: Cultivars, Polymorphic Determination, genetic diversity, RAPD.

