

## RESUMEN

Autor [Villanueva Cáceda, J.J.](#)  
Autor corporativo [Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima \(Peru\). Facultad de Ciencias](#)  
Título [Análisis de la diversidad genética de Hemileia vastatrix de Quillabamba mediante secuenciación de las regiones ITS del ADN ribosomal](#)  
Impreso Lima : UNALM, 2018

### Copias

Ubicación	Código	Estado
Sala Tesis	<a href="#">F30. V543 - T</a>	USO EN SALA
Descripción	73 p. : 13 fig., 9 tablas, 80 ref. Incluye CD ROM	
Tesis	Tesis (Biólogo)	
Bibliografía	Facultad : Ciencias	
Sumario	Sumarios (En, Es)	
Materia	<a href="#">COFFEA ARABICA</a> <a href="#">HEMILEIA VASTATRIX</a> <a href="#">VARIACION GENETICA</a> <a href="#">ADN RIBOSOMAL</a> <a href="#">HONGOS PATOGENOS</a> <a href="#">ANALISIS BIOLOGICO</a> <a href="#">PERU</a> <a href="#">ESPACIADORES TRANSCRIBIBLES INTERNOS</a> <a href="#">ITS</a> <a href="#">DIVERSIDAD GENETICA</a> <a href="#">QUILLABAMBA (CAP PROV)</a> <a href="#">LA CONVENCION (PROV)</a> <a href="#">REGION CUSCO</a>	
Nº estándar	PE2018000810 B / M EUVZ F30	

Se estudió la diversidad genética del patógeno *Hemilia vastatrix* por medio del análisis de la región ITS del ADN ribosomal. La extracción del ADN se realizó con el protocolo descrito por Goodwin y Lee (1993) y Cristancho et al. (2007) con algunas modificaciones, a partir de uredosporas aisladas de hojas infectadas de *Coffea arabica*, las que fueron seleccionadas al azar en cinco fincas localizadas en la zona productora de Quillabamba (Región Cusco). La amplificación de la región ITS se realizó mediante la técnica de PCR, los fragmentos obtenidos fueron separados utilizando electroforesis en gel de agarosa al uno por ciento. La purificación desde el gel del producto de amplificación se realizó utilizando el kit "QIAquick gel extraction". La clonación de dicho fragmento se logró por transformación de una cepa de *E. coli* competente empleando el kit "pGEM®-T Easy Vector Systems" (PROMEGA). El aislamiento de las colonias transformadas se realizó en el medio LB más ampicilina. Para la extracción del plásmido de la bacteria se utilizó el kit "Wizard®Plus SV Minipreps DNA Purification System". Los plásmidos obtenidos fueron enviados a GenBioteck (Argentina) para su secuenciación. A partir de 49 secuencias se identificaron 38 haplotipos ( $h=38$ ), con diversidad haplotípica ( $Hd=0.977 \pm 0.012$ ), diversidad nucleotídica ( $\pi=0.0054 \pm 0.00038$ ) e índice de Tajima ( $D = -2.35287, p<0.01$ ). Los resultados sugieren que *H. vastatrix* es una población que está en crecimiento con una alta proporción de haplotipos únicos.

### Abstract

The genetic diversity of the pathogen *Hemileia vastatrix* was studied by analyzing ITS region of the ribosomal DNA. The extraction of the DNA was done by following the protocol described by Goodwin and Lee (1993) and Cristancho et

al. (2007) with certain deviations, the uredospores were isolated from the infected leaves of the *Coffea* spp., these were random chosen from five farm located in the productive zone of Quillabamba (Cusco Region). The amplification of the ITS region was done by the PCR technique, and the fragments obtained were separated by electrophoresis in agarose gel at one percent. The purification of the amplification's product was made by utilizing the QIAquick gel extraction kit following the manual. The cloning was realized by transforming an competent strain of the *E. coli* using the pGEM®-T Easy Vector Systems (PROMEGA) kit. The isolation of the transformed colonies was done in a LB medium with ampicillin. For the extraction of the plasmid from the bacteria the Wizard®Plus SV Minipreps DNA purification system was used. For the sequencing the obtained plasmid was sent to GenBiotek (Argentina). From 49 sequences 38 haplotypes ( $h = 38$ ) were identified, resulting haplotype diversity ( $Hd = 0.977 \pm 0.012$ ), nucleotide diversity ( $\pi = 0.0054 \pm 0.00038$ ) and index of Tajima ( $D = -2.35287$ ,  $p < 0.01$ ). The results suggest that *H. vastatrix* is a population that is growing with a high proportion of unique haplotypes.