

## INDICE

1	Introducción.....	1
2	Revisión Bibliográfica.....	3
2.1	El cultivo de manzanos en el mundo .....	3
2.1.1	Importancia del cultivo de Manzanos en Chile .....	3
2.1.2	Relevancia del cultivo en la VII región .....	3
2.2	Enfermedades que afectan el cultivo del manzano .....	4
2.2.1	Enfermedades causadas por hongos .....	5
2.2.2	Enfermedades causadas por bacterias.....	6
2.2.3	Enfermedades causadas por virus.....	6
2.3	Mosaico del manzano ( <i>Apple mosaic virus, ApMV</i> ).....	6
2.3.1	Características de la familia .....	6
2.3.2	Genoma.....	7
2.3.3	Hospederos .....	7
2.3.4	Vectores y formas de transmisión.....	7
2.3.5	Sintomatología .....	7
2.4	Mancha clorótica de la hoja del manzano ( <i>Apple chlorotic leaf spot virus, ACLSV</i> ) .....	7
2.4.1	Características de la familia .....	7
2.4.2	Genoma.....	8
2.4.3	Hospederos .....	8
2.4.4	Vectores y formas de transmisión.....	8
2.4.5	Sintomatología .....	8
2.5	Anillado necrótico del tomate ( <i>Tomato ringspot virus, ToRSV</i> ) .....	8
2.5.1	Características de la familia .....	8
2.5.2	Genoma.....	9
2.5.3	Hospederos .....	9
2.5.4	Vectores y formas de transmisión.....	9
2.5.5	Sintomatología .....	9
2.6	Métodos de diagnóstico de enfermedades de origen viral en manzanos .....	10
2.6.1	Detección mediante métodos serológicos .....	10
2.6.2	Detección mediante métodos moleculares .....	10
3	Materiales y Métodos .....	12
3.1	Determinación del área de muestreo .....	12

3.2	Metodología de muestreo .....	12
3.3	Observaciones al momento de muestreo .....	12
3.4	Métodos de diagnóstico para virus .....	12
3.4.1	DAS-ELISA.....	13
3.4.2	Extracción de ARNs totales .....	16
3.4.3	RT-PCR.....	20
3.4.4	Análisis de resultados a través de electroforesis en gel de agarosa .....	22
3.4.5	Análisis estadístico: Modelo lineal generalizado mixto.....	23
4	Resultados y Discusión .....	24
4.1	Análisis Serológico DAS-ELISA.....	26
4.2	Análisis Molecular RT-PCR.....	29
4.3	Comparación de ambos métodos .....	34
5	Conclusiones.....	38
6	Bibliografía .....	39

## INDICE DE CUADROS

### CAPITULO 3

<b>Cuadro 3.1.</b>	Tampón Tapizado utilizado en la prueba serológica DAS-ELISA. ....	14
<b>Cuadro 3.2.</b>	Tampón de Lavado o “Washing Buffer” utilizado en la prueba serológica DAS-ELISA.....	15
<b>Cuadro 3.3.</b>	Tampón Conjugado o “Conjugate Buffer” utilizado en la prueba serológica DAS-ELISA.....	15
<b>Cuadro 3.4.</b>	Tampón de Extracción o “Extraction Buffer” utilizado en la prueba serológica DAS- ELISA. ....	16
<b>Cuadro 3.5.</b>	Tampón Sustrato o “Substrate Buffer” utilizado en la prueba serológica DAS-ELISA.....	16
<b>Cuadro 3.6.</b>	Tampón de Extracción empleado en el proceso de Extracción de ARNs totales.....	17
<b>Cuadro 3.7.</b>	Tampón de Lavado empleado en el proceso de Extracción de ARNs totales.....	18
<b>Cuadro 3.8.</b>	SDS al 1% empleado en el proceso de Extracción de ARNs totales. ....	18
<b>Cuadro 3.9.</b>	Acetato de Potasio empleado en el proceso de Extracción de ARNs totales.....	19
<b>Cuadro 3.10.</b>	Sílice empleado en el proceso de Extracción de ARNs totales.....	19
<b>Cuadro 3.11.</b>	NAI empleado en el proceso de Extracción de ARNs totales.....	19
<b>Cuadro 3.12.</b>	Mezcla partidor y ARNs totales.....	20
<b>Cuadro 3.13.</b>	Mezcla utilizada para la realización de la transcripción reversa. ....	21
<b>Cuadro 3.14.</b>	Mezcla para la reacción de PCR (ApMV, ToRSV, ACLSV).....	21
<b>Cuadro 3.15.</b>	Tampones usados para el análisis de RT-PCR a través de electroforesis en gel de agarosa. ....	23

### CAPITULO 4

<b>Cuadro 4.1.</b>	Superficie dedicada al cultivo de manzanos en las comunas muestreadas.....	25
<b>Cuadro 4.2.</b>	Sintomatología presente en las muestras recolectadas en huertos comerciales de manzanos de la Región del Maule. ....	26
<b>Cuadro 4.3.</b>	Porcentaje de infección en las muestras colectadas en huertos comerciales de manzanos de la Región del Maule. ....	27

<b>Cuadro 4.4.</b>	Sintomatología presente en las muestras recolectadas en huertos comerciales de manzanos de la Región del Maule. ....	29
<b>Cuadro 4.5.</b>	Porcentaje de infección en las muestras colectadas en huertos comerciales de manzanos de la Región del Maule. ....	32

## INDICE DE FIGURAS

### CAPITULO 2

<b>Figura 2.1</b>	El triángulo de las enfermedades.....	4
-------------------	---------------------------------------	---

### CAPITULO 4

<b>Figura 4.1</b>	Ubicación geográfica de los huertos muestreados en la Región del Maule para la detección de <i>Apple Mosaic Virus</i> , ApMV y <i>Apple Chlorotic Spot Virus</i> , ACLSV. Temporada 2013/2014.....	24
<b>Figura 4.2</b>	Resultados obtenidos por DAS-ELISA para ACLSV, en 151 muestras foliares colectadas en huertos comerciales de manzano de la Región del Maule. Temporada 2013/2014.....	27
<b>Figura 4.3</b>	Resultados obtenidos por DAS-ELISA para ApMV, en 151 muestras foliares colectadas en huertos comerciales de manzano de la Región del Maule. Temporada 2013/2014.....	28
<b>Figura 4.4</b>	Resultados obtenidos por RT - PCR para ACLSV, en 151 muestras foliares colectadas en huertos comerciales de manzano de la Región del Maule. Temporada 2013/2014.....	33
<b>Figura 4.5</b>	Resultados obtenidos por RT - PCR para ApMV, en 151 muestras foliares colectadas en huertos comerciales de manzano de la Región del Maule. Temporada 2013/2014.....	33
<b>Figura 4.6</b>	Comparación de resultados obtenidos para ACLSV y ApMV a través de las técnicas DAS - ELISA y RT - PCR para muestras foliares colectadas en huertos comerciales de manzano en la Región del Maule. Temporada 2013/2014.....	34
<b>Figura 4.7</b>	Comparación de resultados obtenidos para ApMV mediante las técnicas DAS - ELISA y RT - PCR para muestras recolectadas en huertos comerciales de manzanos en la Región del Maule. Temporada 2013/2014.....	35
<b>Figura 4.8</b>	Comparación de resultados obtenidos para ACLSV mediante las técnicas DAS- ELISA y RT - PCR para muestras recolectadas en huertos comerciales de manzanos en la Región del Maule. Temporada 2013/2014.....	36