

	GESTIÓN DE RECURSOS Y SERVICIOS BIBLIOTECARIOS	Código	FO-SB-12/v0
	ESQUEMA HOJA DE RESUMEN	Página	1/68

RESUMEN TRABAJO DE GRADO

AUTOR(ES): NOMBRES Y APELLIDOS COMPLETOS

NOMBRE(S): ANGIE APELLIDOS: ESPITIA FRANCO

NOMBRE(S): _____ APELLIDOS: _____

FACULTAD: CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE

PLAN DE ESTUDIOS: INGENERÍA BIOTECNOLÓGICA

DIRECTOR:

NOMBRE(S): LILIANA YANETH APELLIDOS: SUARÉZ CONTRERAS

TÍTULO DEL TRABAJO (TESIS): IDENTIFICACIÓN MOLECULAR MEDIANTE ITS DE LOS FITOPATÓGENOS *Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Rhizopus* sp., *Aspergillus* sp., *Curvularia* sp., PERTENECIENTES AL BANCO DE CEPAS DE LA UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER, SEDE CAMPOS ELÍSEOS

RESUMEN

Los fitopatógenos son hongos que generan [enfermedades en las plantas](#), provocando pérdidas económicas significativas para los cultivadores. Con el objetivo de identificar las especies de los géneros fitopatógenos de *Aspergillus* sp., *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Rhizopus* sp., *Fusarium* sp., pertenecientes al cepario de la UFPS, Sede Campos Elíseos, se caracterizó molecularmente 12 cepas, la extracción de ADN y amplificación por PCR usando espaciadores internos transcritos (ITS) universales para hongos. Los amplicones obtenidos se verificaron mediante electroforesis en gel de agarosa y se compararon con el marcador de peso molecular de 1Kb. Mediante la amplificación y posterior secuenciación de ADN_r (ITS), se procedió a realizar un análisis usando la herramientas bioinformáticas BLASTn; comparando las secuencias en el banco de genes de la (NCBI); en donde se determinó las especies de los géneros aislados obteniendo como resultado cepas correspondientes a *Aspergillus tamarii*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Curvularia lunata*, *Alternaria longipes*, *Lichtheimia ramosa*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium equiseti* y *Gibberella intermedia* con un porcentaje de identidad entre 97 y 100%. Luego de obtener las especies de los hongos mediante el uso de los ITS 4 y 5, se procedió a realizar un alineamiento de las secuencias usando el programa Clustal 2X, para luego construir el correspondiente árbol filogenético con el programa TreeWiew determinando las relaciones genéticas entre cada género y especie.

PALABRAS CLAVE: fitopatógenos, género, especie, ITS, PCR, marcadores moleculares.

CARACTERÍSTICAS:

PÁGINAS: ___ PLANOS: ___ ILUSTRACIONES: ___ CD ROOM: 1

Elaboró		Revisó		Aprobó	
Equipo Operativo del Proceso		Comité de Calidad		Comité de Calidad	
Fecha	24/10/2014	Fecha	05/12/2014	Fecha	05/12/2014

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR MEDIANTE ITS DE LOS FITOPATÓGENOS
Fusarium sp., *Alternaria* sp., *Rhizopus* sp., *Aspergillus* sp., *Curvularia* sp.,
PERTENECIENTES AL BANCO DE CEPAS DE LA UNIVERSIDAD FRANCISCO DE
PAULA SANTANDER, SEDE CAMPOS ELÍSEOS

ANGIE ESPITIA FRANCO

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA
SAN JOSÉ DE CÚCUTA

2018

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR MEDIANTE ITS DE LOS FITOPATOGENOS

Fusarium sp., Alternaria sp., Rhizopus sp., Aspergillus sp., Curvularia sp.,

PERTENECIENTES AL BANCO DE CEPAS DE LA UNIVERSIDAD FRANCISCO DE
PAULA SANTANDER, SEDE CAMPOS ELISEOS

ANGIE ESPITIA FRANCO

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de

Ingeniero Biotecnológico

Directora

LILIANA YANET SUÁREZ CONTRERAS

Licenciada en Biología y Química

Maestría en Biología énfasis Genética

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE

INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

SAN JOSÉ DE CÚCUTA

2018

ACTA DE SUSTENTACION DE UN TRABAJO DE GRADO

FECHA: 23 DE FEBRERO DE 2018

HORA: 08:15 AM

LUGAR: LABORATORIO DE CALIDAD AMBIENTAL

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

TITULO: "IDENTIFICACIÓN MOLECULAR MEDIANTE ITS DE LOS FITOPATÓGENOS *Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Curvularia* sp. PERTENECIENTES AL BANCO DE CEPAS DE LA UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER, SEDE CAMPOS ELISEOS"

MODALIDAD: INVESTIGACIÓN

JURADO: GERMAN LUCIANO BARRERA
NELSON ALFONSO VEGA CONTRERAS
MARIA DEL PILAR JAIMES CASALLAS

ENTIDAD: UFPS

DIRECTOR: LILIANA YANET SUAREZ CONTRERAS

NOMBRE DE LOS ESTUDIANTE	CODIGO	CALIFICACION
ANGIE ESPITIA FRANCO	1610655	4.4

OBSERVACIONES: APROBADO.

FIRMA DE LOS JURADOS



German Luciano Barrera

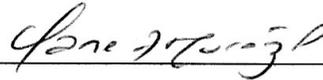


Nelson Alfonso Vega Contreras.



María del Pilar Jaimes Casallas

Vo. Bo Coordinador Comité Curricular



Agradecimientos

Deseo agradecer desde mis sentimientos más profundos al ser más importante en mi recorrido de vida que es DIOS; por brindarme la oportunidad de respirar un día más para emprender este triunfo como ser humano y por enseñarme en este proceso de formación muchas lecciones que me han hecho una mujer con plena y de carácter...Por brindarme fortaleza para enfrentar cada peldaño de este reto.

A mi ALMA MATER al permitirme ser parte de una sociedad capaz y soñadora, por guiarme en el amplio camino del conocimiento ético y científico. Academia edificadora de metas, sueños, alegrías y dificultades a las cuales entregue parte de mi vida.

A mi padre Héctor Julio Espitia Moreno, por ser mi apoyo inconmensurable durante mis años de vida y formación académica, además de ser un ser humano comprensivo que me ha ayudado enfrentar este maravilloso recorrido intelectual. A mi madre Ángela Consuelo Franco Torres por ser indeleble en mi vida y enseñarme que los deseos más profundos del corazón solo se cumplen en la voluntad de Dios. Una gran mujer que desde la distancia cuando realizaba mi proceso formativo siempre estuvo atenta a todas mis necesidades con su excéntrica forma de querer.

A mis hermanos; Jhon, Alejandra y Valentina por ser mi compañía en los momentos de esfuerzo e incompreensión y por creer siempre en mí, ustedes son parte de mi existencia. A mi tía Juana Zoraya Franco Torres porque es mi gran ejemplo de superación... Una mujer luchadora en esta montaña de la vida; además por haberme brindado un espacio en su hogar y en su corazón. A mi tío Oswaldo Alejandro Franco Torres y mi abuelita Leonor por apoyarme desinteresadamente cuando menos lo espere, Gracias!

A mi directora de tesis, Liliana Yanet Suárez C. por brindarme su conocimiento, asesoría, colaboración, experiencia y tiempo para poder llevar a cabo esta investigación. Por ser una mujer admirable, luchadora, perseverante y persistente ante cualquier situación.

A Luis Quintero por invertir su tiempo y enseñarme pacientemente cada proceso científico; además de transmitir su incondicional alegría, nobleza y serenidad.

A Leydi Moreno por brindarme parte de su tiempo, espacio, apoyo, críticas constructivas y asesoría inclusive en sus tiempos extracurriculares.

A mi amiga, compañera y gran mujer Wendy Peña por el cariño, comprensión, consejos y ayudas para culminar este grandioso peldaño de la gran pirámide que deseo escalar.

GRACIAS...

Tabla de Contenido

	pag.
Introducción	13
1. El problema	17
1.1 Título	17
1.2 Planteamiento del problema	17
1.2.1 Formulación del problema	18
14 Justificación	18
1.3 Objetivos	20
1.3.1 Objetivo general	20
1.3.2 Objetivos específicos	20
1.4 Alcances y limitaciones	20
1.4.1 Alcances	20
1.4.2 Limitaciones	21
1.5 Delimitaciones	21
1.5.1 Espacial	21
1.5.2 Temporal	21
1.5.3 Conceptual	21
2. Marco referencial	22
2.1 Antecedentes	22
2.1.1 Antecedentes empíricos	22
2.1.2 Antecedentes bibliográficos	25
2.2 Marco teorico	34

2.2.1 Extracion ADN	34
2.2.2 Electroforesis	35
2.2.3 Cuantificación del ADN mediante espectrofotometría	42
2.2.4 PCR	44
2.2.5 Secuenciación de fragmentos de ADN amplificados por PCR	53
2.2.6 Herramientas bioinformáticas	53
2.2.6 Características de los géneros a analizar	56
2.3 Marco Conceptual	59
2.4 Marco Contextual	63
2.5 Marco Legal	64
3. Diseño Metodológico	65
3.1 Tipo de investigación	65
3.2 Población y muestra	65
3.2.1 Población	65
3.2.2 Muestra	65
3.2.3 Hipótesis	66
3.2.4 Variables	66
3.3 Fases de la investigación	67
3.3.1 Siembra y conservación en PDA	67
3.3.2 Reactivación, purificación y conservación de <i>Fusarium</i> sp., <i>Alternaria</i> sp., <i>Rhizopus</i> sp., <i>Aspergillus</i> sp., <i>Curvularia</i> sp., en Agar Papa Dextrosa (PDA)	68
3.3.3 Obtención de los aislamientos de <i>Fusarium</i> sp., <i>Alternaria</i> sp., <i>Rhizopus</i> sp., <i>Aspergillus</i> sp., <i>Curvularia</i> sp., en Caldo PDB	78

3.3.4 Extracción y purificación de ADN	68
3.3.5 Espaciadores internos transcritos (ITS) y reacción en cadena de polimerasa (PCR)	73
3.3.6 Amplificación PCR	73
3.3.7 Secuenciación y comparación de los fragmentos ITS	73
4. Discusion y resultados	75
5. Conclusiones	101.
6. Recomendaciones	103
Referencias Bibliográficas	. 118
Anexos	130