

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

## RESUMEN TRABAJO DE GRADO

AUTOR(ES): NOMBRES Y APELLIDOS COMPLETOS

NOMBRE(S): WENDY LORENA APELLIDOS: PEÑA BARRERA

FACULTAD: FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE

PLAN DE ESTUDIO: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

DIRECTOR:

NOMBRE(S): LILIANA YANET APELLIDOS: SUÁREZ CONTRERAS

TÍTULO DEL TRABAJO (TESIS): IDENTIFICACIÓN MOLECULAR MEDIANTE ITS DE AISLAMIENTOS DEL ENTOMOPATÓGENO *Paecilomyces* sp. PERTENECIENTES AL LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR DE LA UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER

### RESUMEN

*Paecilomyces* es un hongo de interés biológico por su acción entomopatógena contra fitopatógenos que afectan plantaciones diversas y genera pérdidas económicas. El cultivo del cacao (*Theobroma cacao*) con 50 % de su producción en Norte de Santander, Colombia, se ha afectado principalmente por la moniliasis causada por *Moniliophthora roreri*. El objetivo del estudio fue caracterizar molecularmente catorce cepas biocontroladoras de *Paecilomyces* sp., aisladas de varios cultivos de cacao en municipios de Norte de Santander, Colombia a través de marcadores moleculares. Se estandarizó un protocolo de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) usando primers ITS4 e ITS5. El producto de los amplicones se verificó con electroforesis en gel de agarosa en gel red y se compararon con un marcador molecular de 1 Kb. Los ITS generados se secuenciaron y compararon con las secuencias en el banco de genes (BLAST), donde GIAV2, GIAV3, GIAV8, GIAV9, GIAV13, HC002, HC003, HC004, HC006, HS021, HS022 y HZ002 se identificaron como *Purpureocillium lilacinus*, GIAV12 como *Penicillium copticola* y GIAV14 como *Penicillium paxilli*. Los resultados son relevantes porque *Purpureocillium lilacinus* es nativos de cultivos de cacao en Norte de Santander, hongo de interés para el control biológico de enfermedades.

PALABRAS CLAVE: *Purpureocillium lilacinus*, marcadores moleculares, ITS, control biológico.

CARACTERÍSTICAS:

PÁGINAS: 113 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

COPIA NO CONTROLADA

**IDENTIFICACIÓN MOLECULAR MEDIANTE ITS DE AISLAMIENTOS DEL  
ENTOMOPATÓGENO *Paecilomyces* sp. PERTENECIENTES AL LABORATORIO  
DE BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR DE LA UNIVERSIDAD FRANCISCO DE  
PAULA SANTANDER**

**WENDY LORENA PEÑA BARRERA**

**UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE  
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA  
SAN JOSÉ DE CÚCUTA, COLOMBIA  
2017**

**IDENTIFICACIÓN MOLECULAR MEDIANTE ITS DE AISLAMIENTOS DEL  
ENTOMOPATÓGENO *Paecilomyces* sp. PERTENECIENTES AL LABORATORIO  
DE BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR DE LA UNIVERSIDAD FRANCISCO DE  
PAULA SANTANDER**

**WENDY LORENA PEÑA BARRERA**

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de  
Ingeniero Biotecnológico**

**Modalidad: Investigación**

**Directora:**

**LILIANA YANETH SUÁREZ CONTRERAS**

**Licenciada en Biología y Química**

**Maestría en Biología énfasis Genética**

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

**2017**

**ACTA DE SUSTENTACION DE UN TRABAJO DE GRADO**

**FECHA:** 09 DE FEBRERO DE 2017

**HORA:** 8:00 AM

**SALA:** SALA 3 EDIFICIO CREAD

**PLAN DE ESTUDIOS:** INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

**TITULO:** IDENTIFICACIÓN MOLECULAR MEDIANTE ITS DE AISLAMIENTOS DEL ENTOMOPATOGENO *Paecilomyces* sp. PERTENECIENTES AL LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR DE LA UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER

**MODALIDAD:** INVESTIGACIÓN

**JURADOS:** LILIAN TRINIDAD RAMÍREZ CAICEDO  
GERMAN LUCIANO LÓPEZ BARRERA  
ALBERTO SARMIENTO CASTRO

**DIRECTOR:** LILIANA YANET SUÁREZ CONTRERAS

<b>NOMBRE DE LOS ESTUDIANTES</b>	<b>CODIGO</b>	<b>CALIFICACION</b>
WENDY LORENA PEÑA BARRERA	1610657	4.4

**OBSERVACIONES:** APROBADA

**FIRMA DE LOS JURADOS**

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**VoBo Coordinador Comité Curricular**

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

*A mis abuelitos **Adán Barrera** y **Herminia Burgos**,*

*quienes se negaron a sí mismos sin queja alguna,*

*por permitirme lograr cada una de mis pequeñas*

*metas desde el jardín de la vida.*

## AGRADECIMIENTOS

Quiero que estas líneas reflejen mi más sincero agradecimiento a mi PAPÁ DIOS, por seleccionarme con un propósito único del cual me ha dado algunas pistas, por sus dulces promesas que han sido mi aliento para persistir y sé que este logro es un objetivo del macroproyecto de Él en mi vida.

A mi *alma máter*: UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER, proveedora del alimento intelectual y holístico necesario para mi formación académica y personal, especialmente a TODOS los funcionarios del Complejo Biotecnológico, por haber contribuido considerablemente en la realización de este proyecto, gracias.

A mi mami DORIS BARRERA, por ser la luz que siempre ha vencido la oscuridad e ilumina mi vida, por su resiliencia la cual ha sido mi fuente de determinación, por escucharme y estar siempre conmigo aun en la distancia. A MARCE por su entereza y amor que la han consolidado como mi aspiración más cercana. A JEISS por ser mi profesor personalizado sin importar las circunstancias, por ayudarme a comprender tantos misterios inentendibles para mí. Indudablemente a mi papá HÉCTOR PEÑA por su apoyo en el desarrollo de este sueño.

A mi directora LILIANA Y. SUÁREZ C., por la orientación y todo el tiempo invertido en la realización de esta investigación. Su minuciosidad y esmero son valiosos para mí.

A LUIS QUINTERO por su asesoría científica, por su preocupación constante y desinteresada para la culminación de este proyecto, por sus sugerencias originales para mantener la calma, por el ánimo infundido y la confianza depositada en mí.

A ALBA RANGEL por enseñarme tantos tips morfológicos, por su disponibilidad de aclarar siempre las dudas planteadas y corregir los errores.

A mi profesora MELISSA OBANDO, a quien tengo profunda admiración por ser la precursora de mi amor por la investigación con su calidez y enseñanza.

A mis papás, hermanos, familiares y amigos que han estado siempre al tanto de mi avance integral, gracias por ser parte de este gran sueño con su granito de arena.

MUCHAS GRACIAS...

## TABLA DE CONTENIDO

### Introducción

1	El Problema	1
1.1	Título	1
1.2	Planteamiento del Problema	1
1.2.1	Formulación del Problema	2
1.3	Justificación	3
1.4	Objetivos del Proyecto	4
1.4.1	Objetivo General	4
1.4.2	Objetivos Específicos	4
2	Marco Referencial	5
2.1	Antecedentes	5
2.2	Marco Teórico	13
2.2.1	Control Biológico	13
2.2.2	Generalidades de <i>Paecilomyces</i>	14
2.2.3	Mecanismos de Acción de <i>Paecilomyces</i>	15
2.2.4	Métodos de Reproducción de <i>Paecilomyces</i>	17
2.2.5	Identificación Molecular de Hongos	18
2.2.5.1	Reacción en Cadena de la Polimerasa	19
2.2.5.2	Mezcla de Reacción	20
2.2.5.2.1	Marcadores Genéticos	20
2.2.5.2.2	Espaciadores Internos Transcritos (ITS)	22
2.2.5.3	Termociclador	23
2.2.5.4	Secuenciación del ADN	24

2.3	Marco Legal	25
2.4	Hipótesis	25
2.4.1	Hipótesis Alternativa	25
3	Diseño Metodológico	27
3.1	Tipo de Investigación	27
3.2	Universo y Muestra	27
3.2.1	Universo	27
3.2.2	Muestra	27
3.2.3	Variables	27
3.2.3.1	Variables Dependientes	27
3.2.3.2	Variables Independientes	27
3.2.3.3	Variables Intervinientes	27
3.3	Fases de la Investigación	29
3.3.1	Obtención y Conservación de <i>Paecilomyces</i> sp.	29
3.3.1.1	Obtención de Cultivos Puros de <i>Paecilomyces</i> sp.	29
3.3.1.2	Conservación y Depuración de los Aislamientos de <i>Paecilomyces</i> sp.	31
3.3.1.3	Caracterización Microscópica de Aislamientos de <i>Paecilomyces</i> sp.	32
3.3.1.4	Siembra de <i>Paecilomyces</i> sp. en Caldo PDB	32
3.3.2	Extracción del ADN de <i>Paecilomyces</i> sp.	33
3.3.3	Purificación y Verificación del ADN de <i>Paecilomyces</i> sp.	34
3.3.4	Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)	35
3.3.5	Secuenciación de los Fragmentos ITS y Comparación de Secuencias	36
4	Discusión y Resultados	38
4.1	Obtención y Conservación de <i>Paecilomyces</i> sp.	38
4.1.1	Obtención de Cultivos Puros de <i>Paecilomyces</i> sp.	38

4.1.2	Descripción Macroscópica de Aislamientos de <i>Paecilomyces</i> sp.	39
4.1.3	Descripcion Microscopica de Aislamientos de <i>Paecilomyces</i> sp.	45
4.1.4	Siembra de <i>Paecilomyces</i> sp. en Caldo PDB	45
4.2	Extraccion y Verificacion del ADN de <i>Paecilomyces</i> sp.	46
4.3	Reaccion en Cadena de la Polimerasa (PCR)	47
4.4	Secuenciación de los Fragmentos ITS y Comparacion de Secuencias	51
5	Conclusiones	55
6	Recomendaciones	57
	Referencias Bibliograficas	59
	Anexos	67