

	GESTIÓN DE SERVICIOS ACADÉMICOS Y BIBLIOTECARIOS	CÓDIGO	FO-GS-15	
		VERSIÓN	02	
	ESQUEMA HOJA DE RESUMEN		FECHA	03/04/2017
			PÁGINA	1 de 1
Elaboró		Revisó		
Equipo Operativo del Proceso		Comité de Calidad		
		Aprobó		
		Comité de Calidad		

RESUMEN TRABAJO DE GRADO

AUTOR

NOMBRES: MARIA FERNANDA **APELLIDOS:** PEÑARANDA BEJARANO

FACULTAD: CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERIA BIOTECNOLOGICA

DIRECTOR:

NOMBRES: NEFTALÍ **APELLIDOS:** OCHOA ALEJO

TÍTULO DEL TRABAJO (TESIS): Estandarización del método de agroinfiltración para evaluar el silenciamiento génico inducido por virus (VIGS) del gen de la fitoeno desaturasa (PDS) en frutos de chile (*Capsicum annuum*)

La biosíntesis de carotenoides en chile (*Capsicum* spp.) es un proceso notorio de cambios graduales de color durante la maduración del fruto. Existe una variedad de genes que le otorgan estos colores. Una alternativa para estudiar la función de dichos genes en especies recalcitrantes a la transformación genética, es el silenciamiento génico inducido por virus (VIGS). Esta es una técnica que consiste en la interferencia de RNA mensajeros que suprimen la expresión de genes específicos. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar los parámetros para realizar el silenciamiento génico de frutos chile separados de la planta de 30 y 40 días DPA con el vector del virus TRV conteniendo secuencias del gen *PDS* en diferentes cepas de *A. tumefaciens* empleando la técnica de agroinfiltración. Como resultados se seleccionaron las infiltraciones # 3 y 5 utilizando la cepa GV3101 con OD (600 nm) de 1.5 y 1.8, respectivamente, ya que se logró apreciar en sus frutos una leve disminución del color en algunas partes del fruto, mientras que las demás infiltraciones no mostraron ningún síntoma visible. Basados en estos resultados, podemos concluir que la disminución de color observada en los frutos probablemente se debió a que hubo poco silenciamiento del gen.

PALABRAS CLAVES: *Agrobacterium tumefaciens*, *Capsicum annuum*, Fitoeno Desaturasa (*PDS*), Silenciamiento Génico, *Virus del cascabeleo del tabaco* (TRV).

CARACTERÍSTICAS:

PÁGINAS: 56 **PLANOS:** **ILUSTRACIONES:** **CD ROOM:** 1

ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO DE AGROINFILTRACIÓN PARA EVALUAR EL
SILENCIAMIENTO GÉNICO INDUCIDO POR VIRUS (VIGS) DEL GEN DE LA FITOENO
DESATURASA (*PDS*) EN FRUTOS DE CHILE (*Capsicum annuum*)

MARIA FERNANDA PEÑARANDA BEJARANO

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

2020

ESTANDARIZACIÓN DEL MÉTODO DE AGROINFILTRACIÓN PARA EVALUAR EL
SILENCIAMIENTO GÉNICO INDUCIDO POR VIRUS (VIGS) DEL GEN DE LA FITOENO
DESATURASA (*PDS*) EN FRUTOS DE CHILE (*Capsicum annuum*)

Trabajo de grado presentado como requisito para optar por el título de
Ingeniero Biotecnológico

MARIA FERNANDA PEÑARANDA BEJARANO

Director

Dr. NEFTALÍ OCHOA ALEJO

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

2020

ACTA DE SUSTENTACION DE UN TRABAJO DE GRADO

FECHA: 20 OCTUBRE DE 2020

HORA: 03:00 P.M.

LUGAR: CUCUTA, NORTE DE SANTANDER – EVALUACION VIRTUAL

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

TITULO: Estandarización del método de agroinfiltración para evaluar el silenciamiento génico inducido por virus (VIGS) del gen de la fitoeno desaturasa (PDS) en frutos de chile (*Capsicum annuum*).

MODALIDAD: INVESTIGACION

JURADO: GERMAN LUCIANO LÓPEZ BARRERA
EDWIN JAVIER DUARTE GOMEZ
ROMINA ESMERALDA FUENTES DIAZ

ENTIDAD: CINVESTAV Unidad-Irapuato México.

DIRECTOR: NEFTALÍ OCHOA ALEJO

NOMBRE DE LOS ESTUDIANTE	CODIGO	CALIFICACION
Maria Fernanda Peñaranda Bejarano	1611064	4.4

OBSERVACIONES: APROBADA.

FIRMA DE LOS JURADOS

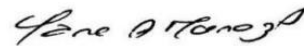


Romina E. Fuentes D.

Edwin Javier Duarte G

German Luciano López Barrera Romina Esmeralda Fuentes Diaz Edwin Javier Duarte Gomez

Vo. Bo Coordinador Comité Curricular _____



Esta investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales y Manipulación Genética de Plantas del Departamento de Ingeniería Genética de Plantas del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional - Unidad Irapuato bajo la asesoría del Dr. Neftalí Ochoa Alejo.

Dedicatorias

A mi Familia

A mis papas Marcelino Peñaranda y Marisol Bejarano, a mi tía Elvira Peñaranda y a mi abuela Anasixta López, les agradezco enormemente por darme su apoyo y amor incondicional para salir adelante y alcanzar todos los proyectos que me he propuesto.

A mis Hermanas Karol y Karina, a mi sobrina Mariángel y mi cuñado Yamid porque con ellos he compartido logros y siempre han estado para mí.

De igual forma quiero agradecer a todos mis familiares en general, tíos, primas, abuelos por todo el apoyo brindado en todas las etapas de mi vida.

Agradecimientos

Al Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (Cinvestav)-Unidad- Irapuato y al Departamento de Ingeniería Genética por proveer sus instalaciones y equipos para la realización de este trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt; México) por el apoyo financiero para la parte experimental a través de los proyectos de Fronteras de la Ciencia 1570, y de Ciencia Básica 280755.

A la Universidad Francisco de Paula Santander, Facultad Ciencias Agrarias y del Ambiente por aceptar y permitir realizar mi trabajo de grado fuera del país.

Al Dr. Neftalí Ochoa Alejo por su dedicación y apoyo brindado, por darme la oportunidad de ser parte de su equipo de trabajo, por compartir sus conocimientos y asesorarme a lo largo de este trabajo. Gracias.

A la M. en C. Alejandra Castañeda Marín, un agradecimiento especial, por sus sugerencias, ideas y el aporte de sus conocimientos, por su apoyo incondicional y el tiempo dedicado a la realización y conclusión de este trabajo. También por su amistad. Muchas gracias.

A mis amigos del Laboratorio, a mis amigas Dani y Carito por cada momento que pasamos juntas y por brindarme su amistad incondicional. A Fer, Marilu y Rosy, por hacer del trabajo un lugar ameno, por brindarme su apoyo y su amistad.

A Angie Gabriella Zambrano Pereira, por su amistad y compañía durante todo el periodo de estancia en México, por apoyarme en los buenos y malos momentos.

A Marco Antonio Meraz Mercado, por llegar a mi vida y hacer que mi estancia en México fuera más feliz, por brindarme todo su amor, amistad y apoyo incondicional.

A mis amigos Caro, Nico, Yeli y Yeimi por su apoyo moral y humano en estos años de carrera, son personas muy importantes para mí.

De manera general, agradezco a todas las personas que me brindaron su apoyo durante mis estudios y en la realización de este trabajo, el cual me permite concluir de la manera más satisfactoria esta etapa de mi vida.

Tabla de contenido

Introducción	16
1. Problema	18
1.1. Título	18
1.2. Planteamiento del problema	18
1.3. Formulación del problema	19
1.4. Justificación	19
1.5. Objetivos	20
1.5.1. Objetivo general	20
1.5.2. Objetivos específicos	20
1.6. Delimitaciones	20
1.6.1. Delimitación espacial	20
1.6.2. Delimitación temporal	21
1.6.3. Delimitación conceptual	21
2. Antecedentes	22
2.1. Características generales de <i>Capsicum</i> spp.	22
2.2. Carotenoides	23
2.3. Ruta de biosíntesis de carotenoides	25
2.4. Fitoeno desaturasa (<i>PDS</i>)	28
2.5. Silenciamiento génico inducido por virus (VIGS)	28
3. Diseño metodológico	32
3.1. Tipo de investigación	32

3.2. Población y muestra	32
3.2.1. Población	32
3.2.2. Muestra	32
3.3. Hipótesis	32
3.4. Fase de la investigación	33
3.4.1. Fase I: Transformación de las cepas de <i>A. tumefaciens</i> con los vectores TRV1, TRV2 y TRV2-PDS.	33
3.4.1.1 Células electrocompetentes de <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	33
3.4.1.2. Transformación de cepas de <i>E. coli</i> y <i>A. tumefaciens</i> por electroporación	33
3.4.2. Fase II: Silenciamiento génico inducido por virus por medio de agroinfiltración	36
3.4.2.1. Material biológico	36
3.4.2.2. Preparación del medio de infiltración	37
3.4.2.3. Desinfección de los frutos de chile	38
3.4.2.4. Agroinfiltración de los frutos de chile con las construcciones	38
4. Desarrollo del proyecto	40
4.1. Transformación de las cepas de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> con los vectores	40
4.2. Silenciamiento génico inducido por virus por medio de agroinfiltración	43
Conclusiones	50
Recomendaciones	51
Referencias Bibliográficas	52