

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



“Caracterización Mediante Marcadores ITS, rcbL y psbM-trnD y Secuenciación de especies del genero *Polylepis spp.* de Huaccoto, San Jerónimo - Cusco”

TESIS PARA OPTAR AL TITULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO

Presentada por:

Bach: Marishani Marín Carrasco

Asesor:

M.Sc. Jorge Acuario Saavedra

Auspiciado por el Consejo de Investigación de la UNSAAC

CUSCO-PERU

2017

Resumen

En la actualidad, los boques de *Polylepis* están disminuyendo principalmente por la acción antropogénica y por las malas políticas de conservación las cuales se realizaron por desconocimiento de la genética de *Polylepis*. Por ello se seleccionó a la comunidad de Huaccoto, que presenta el último parche de *Polylepis microphylla* reportado para la región Cusco como zona estratégica de estudio.

Primeramente, las colectas se realizaron en la comunidad de Huaccoto- San Jerónimo; en los meses de marzo, abril, mayo, junio del 2015 y 2016 respectivamente, colectando un total de 24 muestras. Se realizó la determinación morfológica bajo los criterios propuestos en el libro “El género *Polylepis* en el Perú” encontrándose las especies de *Polylepis microphylla* y *Polylepis incana* para la zona de estudio. Para el tratamiento molecular se utilizaron marcadores del tipo código genético de barras (ITS, *rcbL* y *psbM-trnD*) los cuales fueron escogidos por su alta afinidad y buenos resultados para plantas, la experimentación se realizó en las instalaciones del Instituto de ADN Uchumayo-Arequipa.

Polylepis resultó ser un género muy complicado de trabajar por lo que la extracción de ADN y PCR se realizaron con kits comerciales de alta fidelidad. Se realizaron modificaciones al protocolo a fin de cumplir con los objetivos planteados. La secuenciación fue realizada por la empresa Functional Biosciences USA por el método sanger acoplado a Big Dye terminator v3.1 y corridos en un secuenciador ABI 3770xl. Se observó que todas las muestras amplificadas por el cebador ITS, el genoma de la planta fue enmascarado por el genoma de hongos endófitos del género *Capnocheirides sp.* y *Mycosphaerellaceae*.

Mientras que las muestras amplificadas por el cebador *rcbL* mostraron que *Polylepis* a la tribu Sanguisorbinae ya que este cebador muestra alta fidelidad hasta esta categoría. No obstante, el análisis informático también dio a conocer a que especies pertenecían las muestras, para reforzar este resultado se utilizó el complejo cebador *psbM-trnD* que brinda mayor especificidad y fidelidad a nivel de especie permitiendo identificar las siguientes especies: *Polylepis sp.*, *Polylepis australis*, *Polylepis reticulata*.

Para los tres casos anteriormente mencionados se realizó el análisis respectivo con el software MEGA7; realizándose el alineamiento múltiple y la construcción de árboles filogenéticos mediante el método Neighbor joining-bootstrap adicionalmente se realizó un Blast-n para la comparación respectiva de las secuencias del GenBank- NCBI, limitando los resultados a la no existencia de secuencias suficientes en la base de datos del GenBank para este género, debido a que *Polylepis* no es un grupo muy estudiado genéticamente por lo complicado que es encontrar el método adecuado para su secuenciación.