

	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): ANDERSON FABIAN APELLIDOS: GOMEZ GALVIS

NOMBRE(S): MAYERLING JULISSA APELLIDOS: GUTIERREZ SANCHEZ

FACULTAD: CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

DIRECTOR:

NOMBRE(S): DIANA MARÍA APELLIDOS: CÁRDENAS CARO

TÍTULO DEL TRABAJO (TESIS): SELECCIÓN DE AGENTES CRIOPROTECTANTES PARA LA CONSERVACIÓN DE BACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL (RBPV) EN EL LABORATORIO DE INVESTIGACIONES EN BIOLOGÍA APLICADA DE LA UFPS

RESUMEN

Actualmente, en el Laboratorio de Biología Aplicada se requiere implementar el método de criopreservación a $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ para optimizar el espacio disponible para el banco de cepas y asegurar la viabilidad de las accesiones microbianas a largo plazo, por lo que en este proyecto se realizará la optimización de las concentraciones de agentes crioprotectores, como glicerol y leche descremada, que permitan mantener estables las características promotoras del crecimiento vegetal como síntesis de compuestos indólicos (AIA) y fijación biológica de nitrógeno (FBN) por las cuales fueron caracterizadas y seleccionadas como promisorios biofertilizantes de uso en cultivos regionales. Se llegó a la conclusión de que Los agentes crioprotectores evaluados mostraron un efecto positivo en el mantenimiento de la viabilidad celular de las cepas de *Azotobacter* sp. RZA044 y RZA045 y *Pseudomonas putida* RZA027 y RZA035, así como en la tasa de supervivencia, la cual presentó valores superiores a 94 % en todos los tratamientos.

PALABRAS CLAVE: Crioprotectores, viabilidad celular, tasa de supervivencia, fijación biológica

CARACTERÍSTICAS:

PÁGINAS: 92 PLANOS: ___ ILUSTRACIONES: 16 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

SELECCIÓN DE AGENTES CRIOPROTECTANTES PARA LA
CONSERVACIÓN DE BACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO
VEGETAL (RBPV) EN EL LABORATORIO DE INVESTIGACIONES EN BIOLOGIA
APLICADA DE LA UFPS

ANDERSON FABIAN GOMEZ GALVIS

MAYERLING JULISSA GUTIERREZ SANCHEZ

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

2018

SELECCIÓN DE AGENTES CRIOPROTECTANTES PARA LA CONSERVACIÓN
DE RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL (RBPV) EN EL
LABORATORIO DE INVESTIGACIONES EN BIOLOGIA APLICADA DE LA UFPS

ANDERSON FABIAN GOMEZ

MAYERLING JULISSA GUTIERREZ SANCHEZ

Trabajo de grado presentado como requisito para optar el título de

Ingeniero Biotecnológico

Director:

Ingeniera de Produccion Biotecnologica MSc en Biología Aplicada

DIANA MARÍA CÁRDENAS CARO

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE

PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

SAN JOSE DE CÚCUTA

2018

ACTA DE SUSTENTACION DE UN TRABAJO DE GRADO

FECHA: 15 DE AGOSTO DE 2018

HORA: 04:00 P.M

LUGAR: AUDITORIO CIENCIAS BASICAS

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

TITULO: "SELECCIÓN DE AGENTES CRIOPROTECTANTES PARA LA CONSERVACIÓN, DE RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL (RPCV) EN EL LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN EN BIOLOGIA APLICADA DE LA UFPS."

MODALIDAD: INVESTIGACIÓN

JURADO: LILIAN TRINIDAD RAMIREZ CAICEDO
ADRIANA ZULAY ARGUELLO NAVARRO
ANA MILENA GOMEZ SOTO

ENTIDAD: LABORATORIO DE INVESTIGACIONES EN BIOLOGIA APLICADA.

DIRECTOR: DIANA MARIA CARDENAS CARO

NOMBRE DE LOS ESTUDIANTE	CODIGO	CALIFICACION
ANDERSON FABIAN GOMEZ GALVIS	1610551	4.3
MAYERLING JULISSA GUTIERREZ SANCHEZ	1610151	4.3

OBSERVACIONES: APROBADO

FIRMA DE LOS JURADOS


Lilian Trinidad Ramirez Caicedo


Adriana Zulay Arguello Navarro


Ana Milena Gomez Soto

Vo.Bo Coordinador Comité Curricular


Yaneth Amparo Muñoz Peñaloza

Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos a:

Dios primeramente por habernos dado la oportunidad de poder culminar una etapa importante en nuestras vidas.

Profesora Msc Diana María Cárdenas Caro por colocar su confianza en nosotros y por su entrega y dedicación.

Al semillero de investigación en biotecnología para la agricultura y la alimentación SIBAA y sus integrantes, por sus aportes en este proyecto.

A nuestras familias por darnos la motivación para salir adelante en este trabajo.

Resumen

La conservación de cepas microbianas para procesos académicos, investigativos e industriales es un requerimiento para el mantenimiento de su viabilidad celular, fisiológica y genética a través del tiempo. Con el propósito de conservar rizobacterias de los géneros *Azotobacter* y *Pseudomonas* fluorescentes en el Laboratorio de Investigación en Biología Aplicada de la Universidad Francisco de Paula Santander, se realizó un diseño experimental para la evaluación de diferentes concentraciones de leche descremada (LD 10 y 30 %), glicerol (G 30 y 50 %) y sus combinaciones (LD:G = 10:30; 10:50; 30:30 y 30:50) como agentes crioprotectantes que permitan mantener la viabilidad celular, supervivencia, actividad de fijación biológica de nitrógeno (FBN) y síntesis de ácido indolacético (AIA) por las cepas *Azotobacter* sp. RZA044, RZA045 y *Pseudomonas putida* RZA027 y RZA035 en crioconservación a -50 °C en un período de 6 meses. Los resultados indicaron el mantenimiento de la viabilidad celular y una tasa de supervivencia superior al 94 % en todos los tratamientos. Sin embargo, la actividad FBN y síntesis de AIA no fueron detectables luego de un único período de activación por 24 h para *P. putida* y 72 h para *Azotobacter* sp. Se encontró que es necesario un período de activación por 3 días y posterior subcultivo en nuevo medio de cultivo por 5 – 8 días de incubación para la recuperación de estas actividades fisiológicas promotoras del crecimiento vegetal por las cuales estas rizobacterias fueron aisladas.

Palabras clave: *Azotobacter* sp., *Pseudomonas putida*, crioprotectantes, viabilidad celular, tasa de supervivencia, fijación biológica de nitrógeno, síntesis de ácido indolacético

Contenido

	Pág.
Introducción	14
1. El problema	17
1.1 Título	17
1.2 Planteamiento del Problema	17
1.3 Formulación Del Problema	18
1.4 Justificación	19
1.5 Objetivos	20
1.5.1 Objetivo general.	20
1.5.2 Objetivos específicos.	20
1.6 Alcances y limitaciones	21
1.6.1 Alcances	21
1.6.2 Limitaciones	21
1.7 Delimitaciones	21
1.7.1 Delimitación espacial	21
1.7.2 Delimitación temporal	21
1.7.3 Delimitación conceptual	22
2. Marco referencial	23
2.1 Antecedentes	23
2.2 Marco teórico	26
2.2.1 Conservación de microorganismos.	26
2.2.2 Crioconservación.	27
2.2.3 Agentes Criopreservantes (ACP, en inglés CPAs).	28
2.2.4 Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR).	30
2.3 Marco Contextual	34
2.4 Marco Legal	34

3. Diseño metodológico	35
3.1 Tipo de investigación	35
3.2 Población y muestra	35
3.2.1 Población.	35
3.2.2 Muestra	35
3.3 Hipótesis	36
3.4 Variables	36
3.4.1 Variables dependientes	36
3.4.2 Variables independientes	36
3.4.3 Variables intervinientes. La temperatura del equipo congelador, la cual debió ser controlada durante el transcurso de la investigación.	37
3.5 Fases de la investigación	37
3.5.1 Cultivos bacterianos.	37
3.5.2 Selección de la concentración de los agentes crioconservantes.	37
3.5.3 Montaje del diseño experimental.	39
3.5.4 Determinación de la viabilidad celular, tasa de supervivencia y pureza	41
3.5.5 Determinación de la actividad promotora del crecimiento vegetal.	43
3.5.6 Determinación de tiempos de crecimiento celular para la recuperación de las actividades biofertilizantes por las cepas de <i>Azotobacter</i> y <i>Pseudomonas</i> .	45
4. Resultados	50
4.1 Selección de la concentración de los agentes crioconservantes	50
4.2 Determinación de tiempos de crecimiento celular para la recuperación de las actividades biofertilizantes por las cepas de <i>Azotobacter</i> y <i>Pseudomonas</i>	55
4.2.1 Tiempo de activación requerido para la recuperación de la capacidad de síntesis de AIA por las cepas de <i>Azotobacter sp.</i> y <i>Pseudomonas putida</i> .	55
4.2.2 Tiempo de activación requerido para la recuperación de la capacidad de fijación biológica de nitrógeno por las cepas de <i>Azotobacter sp.</i> y <i>Pseudomonas putida</i> .	62
5. Discusiones	65