



UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
BIBLIOTECA EDUARDO COTE LAMUS



RESUMEN TESIS DE GRADO

AUTOR (ES):

NOMBRE (S): INGRID PAOLA **APELLIDOS:** FIGUEROA GALVIS

NOMBRE (S): _____ **APELLIDOS:** _____

FACULTAD: CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

DIRECTOR:

NOMBRE (S): HOWARD ARMANDO **APELLIDOS:** JUNCA DÍAZ

TÍTULO DE LA TESIS: AISLAMIENTO DE *Rhodococcus sp* DEGRADADORA DE
HIDROCARBUROS AROMÁTICOS A PARTIR DE SUELO PARA LA CONSTRUCCIÓN
DE UNA LIBRERÍA GENÓMICA

RESUMEN:

Se realizaron diversas pruebas de degradación de hidrocarburos aromáticos a aislamientos bacterianos de suelo con capacidad de degradar estos compuestos, seleccionando así la cepa bacteriana de acuerdo a su estimable capacidad de degradación de hidrocarburos aromáticos. Así mismo, se logró identificar la cepa escogida, para la genoteca por medio de la taxonomía molecular basada en el gen 16S; realizando la amplificación de genes conocidos de degradación de catecol por PCR con cebadores prediseñados. Por último, se realizó la búsqueda de actividad de degradación con derivados catecólicos en clones recombinantes.

Palabras Claves: Aislamiento de *Rhodococcus sp*, Construcción de una librería Genómica, degradadora de hidrocarburos aromáticos, derivados catecólicos, en clones recombinantes

CARACTERÍSTICAS:

PAGINAS: 72

PLANOS:

ILUSTRACIONES:

CD-ROM: 1

AISLAMIENTO DE *Rhodococcus sp* DEGRADADORA DE HIDROCARBUROS
AROMÁTICOS A PARTIR DE SUELO PARA LA CONSTRUCCIÓN DE UNA
LIBRERÍA GENÓMICA

INGRID PAOLA FIGUEROA GALVIS

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA
SAN JOSÉ DE CÚCUTA
2012

AISLAMIENTO DE *Rhodococcus sp* DEGRADADORA DE HIDROCARBUROS
AROMÁTICOS A PARTIR DE SUELO PARA LA CONSTRUCCIÓN DE UNA
LIBRERÍA GENÓMICA

INGRID PAOLA FIGUEROA GALVIS

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

Director:
HOWARD ARMANDO JUNCA DÍAZ
Microbiólogo

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA
SAN JOSÉ DE CÚCUTA
2012

ACTA DE SUSTENTACION DE UN TRABAJO DE GRADO

FECHA: 24 SEPTIEMBRE DEL 2012

HORA: 4:00 P.M.

LUGAR: AUDITORIO DEL CREAD

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

TITULO DE LA TESIS: "AISLAMIENTO DE *Rhodococcus sp* DEGRADADORA DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS A PARTIR DE SUELO PARA LA CONSTRUCCIÓN DE UNA LIBRERÍA GENÓMICA."

MODALIDAD: PASANTIA

JURADOS: FABIÁN GALVIS SERRANO
NÉSTOR ANDRÉS URBINA S
FABIO EDUARDO CORDÓN

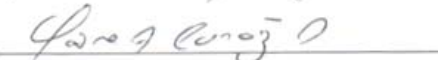
DIRECTOR: DR. HOWARD JUNCA DIAZ

NOMBRE DEL ESTUDIANTE	CODIGO	CALIFICACION
INGRID PAOLA FIGUEROA GALVIS	1610180	4.4

OBSERVACIONES: APROBADA

FIRMA DE LOS JURADOS:



Vo. Bo. Coordinador Comité Curricular 

A mi madre, Virginia Galvis, por su colaboración y apoyo en todos los momentos de mi vida.

Ingrid Paola

AGRADECIMIENTOS

El autor expresa sus agradecimientos a:

Agradezco a CORPOGEN y todo el equipo de investigadores que por su colaboración intelectual, de materiales y equipos permitieron la culminación de este proyecto.

La Ingeniera Yaneth Amparo Muñoz Peñaloza, por toda su paciencia, ayuda y colaboración.

Dr. Fabián Gálvis Serrano, Ing. Nestor Andrés Urbina y al Dr. Fabio Eduardo Córdón, por toda su colaboración y los aportes hechos durante las revisiones de los informes de avance.

La Universidad Francisco de Paula Santander porque me dio la formación y herramientas necesarias para poderlas aplicar en éste trabajo.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	15
1. PROBLEMA	17
1.1 TÍTULO	17
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
1.3 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	18
1.4 JUSTIFICACIÓN	18
1.5 OBJETIVOS	19
1.5.1 Objetivo general	19
1.5.2 Objetivos específicos	19
1.6 ALCANCES Y LIMITACIONES	19
1.6.1 Alcances	19
1.6.2 Limitaciones	19
1.7 DELIMITACIONES	20
1.7.1 Delimitación espacial	20
1.7.2 Delimitación temporal	20
1.7.3 Delimitación conceptual	20
2. MARCO REFERENCIAL	22
2.1 ANTECEDENTES	22
2.2 MARCO TEÓRICO	24

2.2.1 Hidrocarburos aromáticos	24
2.2.2 Efectos sobre la salud	24
2.2.3 Degradación aeróbica de compuestos aromáticos	25
2.2.4 Técnicas de biología molecular	26
2.3 MARCO LEGAL	28
2.4 MARCO CONTEXTUAL	29
2.4.1 Acerca de CORPOGEN.	29
2.4.2 Misión	29
2.4.3 Visión	29
2.4.4 Investigación	29
2.4.5 Productos	30
2.4.6 Contacto	31
3. METODOLOGÍA	32
3.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN	32
3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA	32
3.3 MARCO OPERATIVO	33
3.3.1 Primera etapa	33
3.3.2 Segunda etapa	34
3.3.3 Tercera etapa	36
3.4 DESCRIPCIÓN DETALLADA	38
3.4.1 Toma de muestras de suelo	39
3.4.2 Tratamiento de la muestra	39

3.4.3 Identificación molecular con Gen 16s Ribosomal	42
3.4.4 Amplificación de familia de genes conocidos de degradación de hidrocarburos	43
3.4.5 Extracción de ADN genómico de <i>Rhodococcus sp</i>	44
3.4.6 Digestión de ADN genómico y del vector	46
3.4.7 Electroforesis de ADN Genómico de <i>Rhodococcus sp</i> y extracción-purificación de gel de agarosa con kit quiagen	49
3.4.8 Ligación De ADN Con T4 ADN Ligasa	50
3.4.9 Transformación de e. coli bl21 con ligación pbluescript - <i>Rhodococcus sp.</i>	51
3.4.10 Ensayo para actividad de Catecol 2,3-Dioxigenasa	53
4. RESULTADOS	54
4.1 AISLAMIENTO A PARTIR DE SUELO DE <i>Rhodococcus sp</i>	54
4.2 IDENTIFICACIÓN MOLECULAR POR GEN 16S	54
4.3 IDENTIFICACIÓN DE GEN C23O	55
4.4 ADN GENÓMICO DIGERIDO DE <i>Rhodococcus sp</i>	56
4.5 CRECIMIENTO DE TRANSFORMANTES EN MEDIO LB CON AMPICILINA	56
5. ANÁLISIS DE RESULTADOS	58
6. CONCLUSIONES	60
7. RECOMENDACIONES	61

BIBLIOGRAFÍA	62
ANEXOS	63