



## RESUMEN – TESIS DE GRADO

**AUTORES:** YVONNE SARMIENTO RANGEL

**FACULTAD:** CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE

**PLAN DE ESTUDIOS:** INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

**DIRECTOR:** DIANA MARÍA CÁRDENAS CARO

**TITULO DE LAS TESIS:** EVALUACIÓN DE MÉTODOS DE CONSERVACIÓN DE MICROORGANISMOS DE INTERÉS BIOTECNOLÓGICO UTILIZANDO COMO MODELO *Azotobacter* sp. Y *Trichoderma* sp. EN LA UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER

### RESUMEN

Este proyecto evaluó 6 métodos diferentes de conservación para *Azotobacter* sp. y *Trichoderma* sp. en recuentos en placa con la técnica de la microgota para *Azotobacter* sp. y extendido con asa de hockey para *Trichoderma* sp. mensualmente durante 4 meses; se determinó el mayor porcentaje de viabilidad  $\geq 90\%$  para los tratamientos (T2) Viales con solución salina (0,85% NaCl) estéril y (T3) suelo estéril ambos en refrigeración 4°C que presentaron mayor estabilidad durante el periodo de evaluación.

### CARACTERÍSTICAS

PAGINAS: 72 PLANOS        ILUSTRACIONES        CD ROM 1

EVALUACIÓN DE MÉTODOS DE CONSERVACIÓN DE MICROORGANISMOS  
DE INTERÉS BIOTECNOLÓGICO UTILIZANDO COMO MODELO *Azotobacter*  
sp. Y *Trichoderma* sp. EN LA UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA  
SANTANDER

YVONNE SARMIENTO RANGEL

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE  
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA  
SAN JOSÉ DE CÚCUTA  
2009

EVALUACIÓN DE MÉTODOS DE CONSERVACIÓN DE MICROORGANISMOS  
DE INTERÉS BIOTECNOLÓGICO UTILIZANDO COMO MODELO *Azotobacter*  
sp. Y *Trichoderma* sp. EN LA UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA  
SANTANDER

YVONNE SARMIENTO RANGEL

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

Directora  
DIANA MARÍA CÁRDENAS CARO  
Ingeniera de Producción Biotecnológica

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE  
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA  
SAN JOSÉ DE CÚCUTA  
2009



UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE  
INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

ACTA DE SUSTENTACION DE UN TRABAJO DE GRADO

FECHA: 25 DE AGOSTO DE 2009

HORA: 10:00 A.M.

LUGAR: SALA N°03 CREAD

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERIA BIOTECNOLÓGICA

**TITULO DE LA TESIS:** "EVALUACIÓN DE MÉTODOS DE CONSERVACIÓN DE MICROORGANISMOS DE INTERÉS BIOTECNOLÓGICO UTILIZANDO COMO MODELO *Azotobacter* sp. Y *Trichoderma* sp. EN LA UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER"

**MODALIDAD:** Investigación

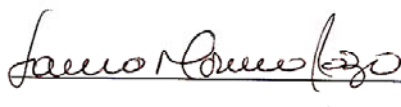
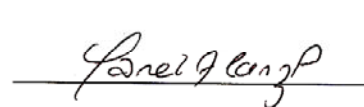
**JURADOS:** LAURA YOLIMA MORENO ROZO  
YANETH AMPARO MUÑOZ PEÑALOZA

**DIRECTOR:** DIANA MARIA CARDENAS CARO

NOMBRE DEL ESTUDIANTE	CODIGO	CALIFICACIÓN
YVONNE SARMIENTO RANGEL	1610234	4.5

**OBSERVACIONES:**  
MERITORIO

**FIRMA DE LOS JURADOS:**

Vo.Bo. Coordinador Comité Curricular 

A mis padres Guillermo Sarmiento y Leonor Rangel por su ejemplo, amor y apoyo incondicional en todos estos años de estudio.

A mi hermana Stephanie Sarmiento por su compañía, amistad y risas en los momentos más difíciles.

A mi novio Héctor Rubio por sus consejos, apoyo, paciencia en esta difícil etapa de culminación en mi carrera

Yvonne Sarmiento Rangel

## **AGRADECIMIENTOS**

La autora expresa sus agradecimientos:

Al FINU, Fondo de Investigación Nacional Universitario, por el apoyo económico para realizar y concluir este proyecto de investigación.

A Diana Cárdenas, ingeniera biotecnológica, directora del proyecto por enseñarme que todo se puede lograr, por sus sabios consejos y paciencia en el desarrollo de la investigación.

A Hazel Vergel, asistente del laboratorio por compartirme sus conocimientos y apoyarme en el transcurso de este camino.

## **CONTENIDO**

	<b>pág.</b>
INTRODUCCIÓN	13
1. CONSERVACIÓN DE MICROORGANISMOS	14
1.1 MÉTODOS DE CONSERVACIÓN MÁS IMPORTANTES	14
1.1.1 Métodos de conservación a largo plazo	14
1.1.2 Conservación por congelaciones	14
1.1.3 Conservación por liofilización	15
1.2 MÉTODOS ALTERNATIVOS	15
1.2.1 Conservación por transferencia periódica	16
1.2.2 Conservación por suspensión en agua destilada o en agua de mar estéril	16
1.3 MÉTODOS RESTRINGIDOS	17
1.3.1 Desección en papel de filtro	17
1.3.2 Desección en suelo, arena, silicagel	17
1.3.3 Desección en sal gorda para halobacterias	17
1.3.4 Desección en bolitas de alginato	17

2. OBTENCIÓN DEL CULTIVO INICIAL MICROBIANO	19
2.1 MONTAJE DEL EXPERIMENTO	19
2.1.1 Repiques sucesivos en viales con agar 4°C (T0)	20
2.1.2 Viales con solución salina	21
2.1.3 Suelo estéril en refrigeración 4°C (T3)	22
2.1.4 Viales con agar y capa de aceite mineral estéril	24
2.1.5 Viales con caldo de cultivo en crioconservación con glicerol a -20°C (T5)	25
2.1.6 Evaluación de metodologías de conservación	28
2.1.7 Conservación de las cepas de interés biotecnológico de los laboratorios de biotecnología	32
3. RESULTADOS	34
3.1 EVALUACIÓN DE MÉTODOS DE CONSERVACIÓN	34
3.2 APLICACIÓN DE LOS 2 MEJORES MÉTODOS DE CONSERVACIÓN A LAS CEPAS DE INTERÉS BIOTÉCNOLÓGICO	41
4. CONCLUSIONES	43
5. RECOMENDACIONES	45
BIBLIOGRAFÍA	46
ANEXOS	47