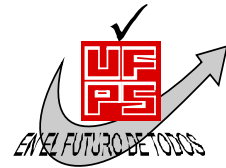




UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
BIBLIOTECA EDUARDO COTE LAMUS



RESUMEN TESIS DE GRADO

AUTOR (ES):

NOMBRE (S): SANDRA MILENA **APELLIDOS:** RAMIRÉZ ALARCÓN _____

FACULTAD: FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL MEDIO AMBIENTE _____

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA _____

DIRECTOR:

NOMBRE (S): Roció Margarita **APELLIDOS:** Gámez Carrillo _____

TÍTULO DE LA TESIS: Técnicas moleculares y caracterización de rizobacterias (pgpr) *bacillus amyloliquefaciens* y *pseudomonas fluorescens*

RESUMEN:

Se evaluó el perfil PGPR (plant-growth-promoting rhizobacteria) de las cepas Ps006 y Bs006, haciendo pruebas cualitativas y cuantitativas. Para Solubilización de fosfatos se observó la formación de halos, mostrando que Ps006 fue el mejor microorganismo con capacidad de solubilización de fosfato (4mm a las 24 horas). En la producción de Ácido Indol Acético (AIA), como promotor de crecimiento arrojó una mejor concentración Bs 006 (10.7µg/ml) y adicionalmente se determinó la actividad de la nitrogenasa, mediante la reducción del acetileno, Ps006 mostró mejor capacidad de fijar nitrógeno en medio Asbhy (2,53 µmol/mol) y Bs006 en medio NFb (1,63 µmol/mol). Para la caracterización molecular se secuenció el gen 16S, mostrando similitud de un 99% y un E-value de 0,0; además se evaluó la capacidad de fijar nitrógeno amplificando el gen nifH fue negativo para las dos rizobacterias.

CARACTERÍSTICAS:

PAGINAS: 56

PLANOS:

ILUSTRACIONES:

CD-ROM: 1

TECNICAS MOLECULARES Y CARACTERIZACIÓN DE RIZOBACTERIAS (PGPR)

Bacillus amyloliquefaciens y Pseudomonas fluorescens

SANDRA MILENA RAMÍREZ ALARCÓN

**UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA
BOGOTÁ D.C**

2015

TECNICAS MOLECULARES Y CARACTERIZACIÓN DE RIZOBACTERIAS (PGPR)

Bacillus amyloliquefaciens Y Pseudomonas fluorescens

SANDRA MILENA RAMÍREZ ALARCÓN

Tutor

Dra. Rocio Margarita Gámez Carrillo

Trabajo de grado para optar al título de profesional de Ingeniería Biotecnológica

**UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA
BOGOTA D.C**

2015

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE UN TRABAJO DE GRADO

FECHA: 19 DE JUNIO 2015

HORA: 04:00 P.M.

LUGAR: SALA 4 EDIFICIO CREAD

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

TÍTULO: TÉCNICAS MOLECULARES Y CARACTERIZACIÓN DE RIZOBACTERIAS (PGPR) *Bacillus amyloliquefaciens* y *Pseudomonas fluorescens*.

MODALIDAD: PASANTÍA

JURADOS: LILIANA YANET SUÁREZ CONTRERAS
ELENA MARÍA PEÑARANDA LIZARAZO
OSCAR ORLANDO PINILLA MANTILLA

DIRECTOR: ROCÍO MARGARITA GAMÉZ CARRILLO

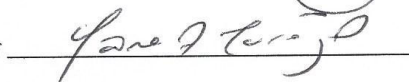
NOMBRE DEL ESTUDIANTE	CÓDIGO	CALIFICACIÓN
SANDRA MILENA RAMÍREZ ALARCÓN.	1610574	4.2

OBSERVACIONES: APROBADO

FIRMA DE LOS JURADOS:



Vo. Bo. Coordinador Comité Curricular



Resumen

Se evaluó el perfil PGPR (plant-growth-promoting rhizobacteria) de las cepas Ps006 y Bs006, haciendo pruebas cualitativas y cuantitativas. Para Solubilización de fosfatos se observó la formación de halos, mostrando que Ps006 fue el mejor microorganismo con capacidad de solubilización de fosfato (4mm a las 24 horas). En la producción de Ácido Indol Acético (AIA), como promotor de crecimiento arrojó una mejor concentración Bs 006 (10.7µg/ml) y adicionalmente se determinó la actividad de la nitrogenasa, mediante la reducción del acetileno, Ps006 mostró mejor capacidad de fijar nitrógeno en medio Asbhy (2,53 µmol/mol) y Bs006 en medio NFb (1,63 µmol/mol). Para la caracterización molecular se secuenció el gen 16S, mostrando similitud de un 99% y un E-value de 0,0; además se evaluó la capacidad de fijar nitrógeno amplificando el gen nifH fue negativo para las dos rizobacterias.

Agradecimientos

Doy gracias a mi familia por darme el apoyo incondicional, por ayudarme a sacar este logro adelante.

A Rocio Margarita Gaméz Carrillo y Fernando Rodríguez Villamizar por darme la oportunidad de crecer profesionalmente, por el apoyo, confianza y todo el conocimiento que me transmitieron.

A laboratorio de genética animal (Yoli, Leidy, Diego), por tenerme paciencia y por la colaboración que me brindaron.

Indice

Introducción	13
1 Problema.....	15
1.1 Título	15
1.2 Planteamiento del problema.....	15
1.3 Formulación del problema	15
1.4 Objetivos	15
1.4.1 Objetivo general	15
1.4.2 Objetivos específicos	16
1.5 Justificación.....	16
1.6 Alcances y limitaciones.....	17
1.6.1 Alcances.	17
1.6.2 Limitaciones.....	17
1.7 Delimitaciones.....	17
1.7.1 Delimitación espacial.	17
1.7.2 Delimitación temporal.	18
1.7.3 Delimitación conceptual.	18
2. Marco referencial.....	21
2.1 Antecedentes	21
2.2 Marco teórico	21
2.2.1 Perfil PGPR de acuerdo a la actividad funcional de las rizobacterias	21
2.2.2 Técnicas Moleculares.....	24

2.3	Marco contextual.....	27
2.3.1	Centro de investigación Tibaitatá CORPOICA.....	27
2.4	Marco legal.....	27
2.4.1	Constitución Política de Colombia de 1991.....	27
2.4.2	Ley 299 del 26 de julio 1996	28
2.4.3	Decreto 309 de 2000	28
2.4.4	Ley 30 de 1992, ley de la Educación Superior	29
2.4.5	Ley 99 de 1993, ley del medio Ambiente	29
2.4.6	Acuerdo No. 98 del 29 de Noviembre de 1995	29
3	Metodología.....	30
3.1	Tipo de investigación	30
3.1.1	Experimental.....	30
3.2	Instrumentos.....	30
3.3	Técnicas de recolección de datos	30
3.3.1	NCBI (Centro Nacional para la Información Biotecnológica).	30
3.4	Técnicas de análisis	31
3.4.1	Activación de cepas.....	31
3.4.2	Solubilización de fosfatos.	31
3.4.3	Determinación de la actividad de la Nitrogenasa.	312
3.4.4	Producción de fitohormonas AIA (Ácido 3 Indol Acético).	31
3.4.5	Extracción de ADN . Protocolo de extracción de DNA.....	33
3.4.6	Caracterización molecular	34
4	Resultados y análisis.....	36

4.1	Caracterización funcional	36
4.1.1	Activación de cepas	36
4.1.2	Solubilización de fosfatos.....	37
4.1.3	Determinación de la actividad nitrogenasa.....	39
4.1.4	Producción de fitohormonas AIA (Ácido 3 Indol Acético).	41
4.2	Caracterización molecular	43
	Conclusiones	52
	Referencias Bibliograficas	53