

	GESTIÓN DE RECURSOS Y SERVICIOS BIBLIOTECARIOS	Código	FO-SB- 12/v0
	ESQUEMA HOJA DE RESUMEN	Página	1/1

RESUMEN TRABAJO DE GRADO

AUTOR(ES):

NOMBRE(S): JASSON JAVIER APELLIDOS: SIERRA VARGAS

NOMBRE(S): NYDIA NATALIA APELLIDOS: LOZANO HERNÁNDEZ

FACULTAD: CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

DIRECTOR:

NOMBRE(S): LAURA YOLIMA APELLIDOS: MORENO ROZO

CODIRECTOR:

NOMBRE(S): _____ APELLIDOS: _____

TÍTULO DEL TRABAJO (TESIS): EVALUACION DEL POTENCIAL BIOFERTILIZANTE DE AISLADOS NATIVOS DE *PSEUDOMONAS SP* Y *AZOSPIRILLUM SP* EN CULTIVO DE MAIZ (*ZEА MAYS*) BIOENSAYO

RESUMEN

En el siguiente trabajo se caracterizaron fisiológicamente y genéticamente 20 aislados diazotrofos promisorios de crecimiento vegetal, se tienen los géneros *Azospirillum sp* y *Pseudomonas sp*, provenientes del banco de cepas del laboratorio de Microbiología de la Universidad Francisco de Paula Santander sede Colsag. Fueron seleccionados 1 aislado correspondiente de cada especie teniendo en cuenta las actividades promotoras de crecimiento vegetal como producción de ácido indólico, fijación biológica de Nitrógeno, solubilización de sideróforos y fosfatos. Seguidamente se identificaron y secuenciaron molecularmente los aislados de *Azospirillum brasilense* y *Pseudomonas putida* para ser aplicadas en semillas de maíz (zea mays), bajo condiciones de casa malla y conocer su potencial fertilizante. Finalmente se tuvo en cuenta las relaciones mostradas entre los tratamientos y los componentes del rendimiento del maíz, mostrando resultados positivos para el uso de biofertilizantes mejorando la producción y mostrando un mayor rendimiento con el uso de *Azospirillum brasilense* sobre el maíz.

PALABRAS CLAVE: aislados diazotrofos, secuenciación, actividades promotoras de crecimiento, maíz.

CARACTERÍSTICAS:

PÁGINAS: 183 PLANOS: _____ ILUSTRACIONES: _____ 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

COPIA NO CONTROLADA

EVALUACION DEL POTENCIAL BIOFERTILIZANTE DE AISLADOS NATIVOS DE
PSEUDOMONAS SP Y *AZOSPIRILLUM SP* EN CULTIVO DE MAIZ (*ZEA MAYS*)

BIOENSAYO

JASSON JAVIER SIERRA VARGAS

NYDIA NATALIA LOZANO HERNÁNDEZ

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

2019

EVALUACION DEL POTENCIAL BIOFERTILIZANTE DE AISLADOS NATIVOS DE
PSEUDOMONAS SP Y *AZOSPIRILLUM SP* EN CULTIVO DE MAIZ (*ZEA MAYS*)

BIOENSAYO

NYDIA NATALIA LOZANO HERNÁNDEZ

JASSON JAVIER SIERRA VARGAS

Trabajo de grado presentado como requisito para optar el título de:

Ingeniero Biotecnológico

Director:

Ph.D. LAURA YOLIMA MORENO ROZO

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

2019

ACTA DE SUSTENTACION DE UN TRABAJO DE GRADO

FECHA: 15 AGOSTO DE 2019

HORA: 09:00 A.M

LUGAR: CREAD SALA 3

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

TITULO: "EVALUACION DEL POTENCIAL BIOFERTILIZANTE DE AISLADOS NATIVOS DE *Pseudomonas sp* Y *Azospirillum sp* EN CULTIVO DE MAÍZ (*Zea mays*) BIOENSAYO."

MODALIDAD: INVESTIGACIÓN

JURADO: LILIAN TRINIDAD RAMIREZ CAICEDO
ADRIANA ZULAY ARGUELLO NAVARRO
JUAN CARLOS RAMIREZ BERMUDEZ

ENTIDAD: UFPS

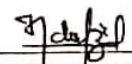
DIRECTOR: LAURA YOLIMA MORENO ROZO

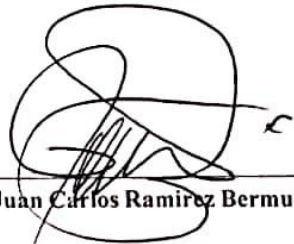
NOMBRE DE LOS ESTUDIANTE	CODIGO	CALIFICACION
Jasson Javier Sierra Vargas	1610904	4.5
Nydia Natalia Lozano Hernández	1610695	4.5

OBSERVACIONES: MERITORIO.

FIRMA DE LOS JURADOS


Lilian Trinidad Ramirez Caicedo


Adriana Zulay Arguello Navarro


Juan Carlos Ramirez Bermudez

Vo.Bo Coordinador Comité Curricular


Yaneth Amparo Muñoz Peñaloza

Dedicatoria

A Dios, primeramente, a mi madre Blanca Nubia Sierra por ser mi mayor apoyo, guía y concejera constante para realizar bien mis propósitos en la vida y ser el impulso de mi vida.

A la profesora Laura Moreno por ser nuestro principal apoyo en sus diferentes facetas como docente, y como persona, gracias por todo el tiempo dedicado y por volvernos parte de su familia en el laboratorio.

A mi compañera Nidia Natalia Lozano por su dedicación, compromiso y compañía durante el desarrollo del proyecto y vida estudiantil.

Al equipo de laboratorio por su apoyo, disposición y tiempo dedicados durante la investigación, (Ingenieros(a): Sandra, Sheby, Paola y Camilo).

A diferentes compañeros y personas allegadas que necesite de su apoyo y estuvieron conmigo para colaborarme y ayudarme, (Angelina, Jose, Omar, Brayan, Barbara)

Jasson J. Sierra Vargas.

A Dios, porque sin el nada sería posible, a mi familia especialmente a mi madre Nydia Lozano y abuelita Blanca Hernández, por el amor y la paciencia en este largo camino para mi formación profesional y personal.

A la profesora Laura Yolima Moreno Rozo, por ser parte de mi cambio personal, por la oportunidad de ser parte de su equipo, por la experiencia y el aporte a mi vida personal y profesional. Sin duda alguna es la persona que marco esta etapa de mi vida, por su amor, dedicación, disciplina y paciencia por su profesión.

A mi compañero Jasson Sierra Vargas, por ahí dicen que la vida da muchas vueltas, y así fue, después de tantas peleas y malos ratos la vida se encargó de invertir los papeles. Gracias por la paciencia.

A las ingenieras Paola Molinares, Sandra López y Sheby Hurtado, por su aporte a este proyecto, su ayuda y apoyo incondicional, su paciencia y por motivarme y escucharme cada que el camino se ponía difícil. Mil gracias.

Al Ingeniero Jhan Pablo Agudelo Escalante, por su apoyo y ayuda en la ejecución del proyecto, más que un compañero, se convirtió en un gran amigo.

Y, por último, pero no menos importante a mis compañeros Camilo Yañez, Brayan Leonardo y Bárbara por su tiempo y ayuda desinteresada.

Nydia Natalia Lozano Hernández.´

Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos a:

A dios, por podernos permitir llegar a este punto de nuestras vidas y llegar a una meta propuesta, a cada uno de nuestros seres queridos por la ayuda, el tiempo y los consejos durante nuestra formación como profesionales.

A nuestra directora de proyecto, la profesora PhD Laura Y. Moreno Rozo, por su tiempo y dedicación en la ejecución del proyecto, por su paciencia y consejos, y sobre todo por su aporte humano hacia nosotros para guiarnos en esta etapa y por ser aparte de una gran profesional, una gran persona..

A las ingenieras Paola Molinares, Sandra Lopez y Sheby Hurtado por su apoyo y compañía durante todo el proceso de la investigación.

A los beca- trabajo pertenecientes al laboratorio de microbiología avanzada por la ayuda y compromiso en el laboratorio.

A compañeros y personas cercanas por dedicar tiempo y ayuda en el desarrollo de la investigación.

Muchas Gracias.

Contenido

	pág.
Introducción	20
1. Problema	22
1.1 Título	22
1.2 Planteamiento del Problema	22
1.3 Formulación del Problema	24
1.4 Justificación	24
1.5 Objetivos	27
1.5.1 Objetivo general.	27
1.5.2 Objetivos específicos.	27
1.6 Alcances y Limitaciones	28
1.6.1 Alcances.	28
1.6.2 Limitaciones.	28
1.7 Delimitaciones	28
1.7.1 Espacial	28
1.7.2 Temporal	28
1.7.3 Conceptual	28
2. Marco Referencial	30
2.1 Antecedentes	30
2.2 Marco Teórico	39
2.2.1 Generalidades del Cultivo de Maíz	39
2.2.2 Clasificación Taxonómica	40
2.2.3 Botánica del Cultivo.	41

2.2.3.1 La Raíz	41
2.2.3.2 El Tallo	41
2.2.3.3 Las Hojas	41
2.2.3.4 Inflorescencia	42
2.2.3.5 La Flor	42
2.2.3.6 El Fruto	42
2.2.4 Requerimientos Edáficos.	44
2.2.5 Requerimientos climatológicos	44
2.2.6 Distancia y densidad de siembra.	45
2.2.7 Sistema de siembra	45
2.2.8 Necesidades nutricionales.	46
2.2.8.1 Fosforo	47
2.2.8.2 Aluminio	48
2.3 Fijación Biológica del Nitrógeno	48
2.3.1 Bacterias fijadoras de nitrógeno.	50
2.3.2 Generalidades del genero Azospirillumsp.	52
2.3.3 Generalidades del genero Pseudomonas sp.	54
2.4 Evaluación Fisiológica de Microorganismos Diazótrofos	55
2.4.1 Producción de ácido indol acético(AIA).	55
2.4.2 Actividad fosfatasa.	56
2.4.3 Actividad nitrogenasa.	57
2.4.4 Producción de sideróforos.	57
2.5 Identificación Molecular	58
2.5.1 Amplificación por reacción en cadena de la polimerasa(PCR).	59

2.5.2 Electroforesis.	60
2.5.3 Secuenciación	61
2.5.4 Inoculantes microbianos.	61
2.6 Evaluación de Parámetros de Crecimiento Vegetativo	62
2.6.1 Patrón de Crecimiento de las Plantas.	62
2.6.2 Medidas de crecimiento	63
2.6.2.1 Medidas directas de crecimiento	64
2.7 Análisis Estadístico	64
2.8 Marco Conceptual	64
2.9 Marco Legal	68
2.10 Marco Contextual	70
3. Diseño Metodológico	71
3.1 Tipo de Investigación	71
3.2 Población y Muestra	71
3.2.1 Población	71
3.2.2 Muestra.	71
3.3 Hipótesis	71
3.4 Variables	72
3.4.1 Variables dependientes.	72
3.4.2 Variables independientes	72
3.5 Fases de la Investigación	72
3.5.1 Activación de los aislados.	72
3.5.2 Caracterización fenotípica de los aislados.	73
3.5.2.1 Azospirillumsp.	73

3.5.2.2 Pseudomonas sp.	73
3.5.3 Caracterización fisiológica de los aislados.	74
3.5.3.1 Determinación de la producción de compuestos indólicos	75
3.5.3.2 Determinación de la solubilización de fosfatos	75
3.5.3.3 Determinación de la fijación biológica de nitrógeno	76
3.5.4 Caracterización molecular de aislados promisorios	78
3.5.4.1 Método de aislamiento de ADN	78
3.5.4.2 Visualización del DNA.	80
3.5.4.2 Identificación molecular	80
3.5.5 Selección de los aislados promisorios para ser usados encampo	82
3.5.5.1 Diseño experimental.	82
3.6 Variables a Evaluar en la Prueba in Vivo In Situ	83
3.7 Recuperación del Microorganismo de la fase In vivo In Situ	84
4. Resultados y Análisis	85
4.1 Re-activación de Aislados	85
4.1.1 Caracterización macroscópica y microscópica de aislados semejantes al género Pseudomonas sp.	85
4.1.2 Caracterización macroscópica y microscópica de aislados similares al género Azospirillum sp.	98
4.2 Caracterización Fisiológica de los Aislados	106
4.2.1 Determinación de la producción de ácido indol acético.	108
4.2.2 Determinación de la solubilización de fosfatos.	109
4.2.3 Determinación de la fijación biológica de nitrógeno.	111
4.2.4 Determinación de la síntesis de sideróforos.	113

4.3 Caracterización Molecular de los Aislados Promisorios	115
4.3.1 Extracción y cuantificación del ADN de cepas aisladas de Azospirillum Sp y Pseudomonas sp	115
4.3.2 Secuenciación para Azospirillum brasilense y Pseudomonas putida.	121
4.4 Producción del Inoculante	134
4.5 Ensayo In Vivo In Situ	135
4.5.1 Recolección, desinfección del suelo y la Semilla.	135
4.5.2. Siembra y fertilización.	137
4.5.3 Control de las variables de respuesta del ensayo.	140
4.5.3.1 Análisis estadístico.	140
4.5.3.3 Diámetro del Tallo.	145
4.5.3.3 Peso fresco y peso seco.	154
5. Conclusiones	158
6. Recomendaciones	159
Referencias Bibliográficas	160
Anexos	167