

	<b>GESTIÓN DE RECURSOS Y SERVICIOS BIBLIOTECARIOS</b>	<b>Código</b>	FO-SB-12/v0
	<b>ESQUEMA HOJA DE RESUMEN</b>	<b>Página</b>	<b>1/134</b>

## RESUMEN TRABAJO DE GRADO

AUTOR(ES): NOMBRES Y APELLIDOS COMPLETOS

NOMBRE(S): PAULA MANUELA APELLIDOS: BENITEZ ESPITIA

NOMBRE(S): BELKIS GISELA APELLIDOS: VILLAMIZAR CALDERÓN

FACULTAD: CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

DIRECTOR:

NOMBRE(S): LILIANA YANETH APELLIDOS: SUÁREZ CONTRERAS

NOMBRE(S): \_\_\_\_\_ APELLIDOS: \_\_\_\_\_

TÍTULO DEL TRABAJO (TESIS): CARACTERIZACIÓN MOLECULAR MEDIANTE ITS Y CRIOCONSERVACIÓN DE RIZOBACTERIAS DEL BANCO DE CEPAS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE DE LA UFPS

RESUMEN

En este trabajo se caracterizaron molecularmente 11 aislados bacterianos correspondientes a rizobacterias, presuntivas de los géneros *Azospirillum sp.*, *Azotobacter sp.*, *Gluconacetobacter sp.*, y *Burkholderia sp.* Mediante un protocolo estipulado para realizar caracterización molecular utilizando ITS; se obtuvo como resultado géneros diferentes a los que inicialmente tenían las bacterias. Estos se identificaron molecularmente como *Bacillus cereus.*, *Rhizobium sp.*, *Aagrobacterium sp.*, *Enterobacter cloacae.*, y *Bacillus subtilis*; los aislados cuentan con actividades promotoras del crecimiento vegetal sobresalientes. El nombre de los géneros es distinto al de su identificación inicial ya que al momento de aislar y caracterizar por: microscopía, macroscopía y hacer batería bioquímica, presentan similitudes fisiológicas y morfológicas; esto causó errores al momento de su inicial clasificación. Para su conservación se preparó una suspensión celular con glicerol, para proteger la estructura celular durante el periodo de congelación y se realizaron evaluaciones en diferentes tiempos para determinar la efectividad de este método de conservación en bacterias.

PALABRAS CLAVE: Caracterización Molecular, bacterias, Rizobacterias, *Bacillus cereus*, banco de cepas

CARACTERÍSTICAS:

PÁGINAS: 134 PLANOS: \_\_\_ ILUSTRACIONES: \_\_\_ CD ROOM: \_\_\_

Elaboró		Revisó		Aprobó	
Equipo Operativo del Proceso		Comité de Calidad		Comité de Calidad	
<b>Fecha</b>	24/10/2014	<b>Fecha</b>	05/12/2014	<b>Fecha</b>	05/12/2014

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR MEDIANTE ITS Y CRIOCONSERVACIÓN DE  
RIZOBACTERIAS DEL BANCO DE CEPAS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS  
AGRARIAS Y DEL AMBIENTE DE LA UFPS

PAULA MANUELA BENITEZ ESPITIA  
BELKIS GISELA VILLAMIZAR CALDERÓN

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

2019

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR MEDIANTE ITS Y CRIOCONSERVACIÓN DE  
RIZOBACTERIAS DEL BANCO DE CEPAS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS  
AGRARIAS Y DEL AMBIENTE DE LA UFPS

PAULA MANUELA BENITEZ ESPITIA  
BELKIS GISELA VILLAMIZAR CALDERÓN

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

Director

LILIANA YANETH SUÁREZ CONTRERAS  
MSc. en Biología énfasis Genética

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

2019

**ACTA DE SUSTENTACION DE UN TRABAJO DE GRADO**

**FECHA:** 14 DE FEBRERO DE 2019

**HORA:** 4:00 p.m.

**LUGAR:** CREAD SALA 4

**PLAN DE ESTUDIOS:** INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

**TITULO:** "CARACTERIZACIÓN MOLECULAR MEDIANTE ITS Y CRIOCONSERVACIÓN DE RIZOBACTERIAS DEL BANCO DE CEPAS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL MEDIO AMBIENTE DE LA UFPS."

**MODALIDAD:** INVESTIGACIÓN

**JURADO:** ANDRES FERNANDO BARAJAS SOLANO  
LILIAN TRINIDAD RAMIREZ CAICEDO  
JUAN CARLOS RAMÍREZ BERMÚDEZ

**ENTIDAD:** UFPS

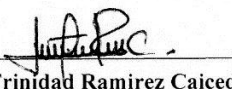
**DIRECTOR:** LILIANA YANET SUAREZ CONTRERAS

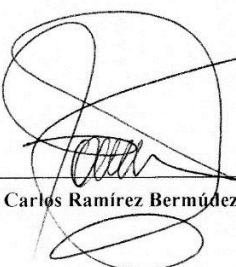
<b>NOMBRE DE LOS ESTUDIANTE</b>	<b>CODIGO</b>	<b>CALIFICACION</b>
PAULA MANUELA BENITEZ ESPITIA	1610571	4.4
BELKIS GISELA VILLAMIZAR	1611040	4.4

**OBSERVACIONES:** APROBADO.

**FIRMA DE LOS JURADOS**

  
Andres Fernando Barajas Solano

  
Lilian Trinidad Ramirez Caicedo

  
Juan Carlos Ramirez Bermudez

**Vo.Bo Coordinador Comité Curricular**

  
Yaneth Amparo Muñoz Peñaloza

## **Dedicatoria**

A mi abuelo Ciro Antonio Villamizar Fernández por su esfuerzo, dedicación, por apoyarme en cada sueño y meta que me proponía, por permitir formarme como profesional y sobre todo por los grandes consejos de la vida. Por acompañarme en mi formación como profesional hasta el momento en que el alcanzo su ultimo respiro.

“Creciendo fuerte”

**Belkis Gisela Villamizar Calderón.**

Dedicado a Dios, mi madre y Helena.

“Vuela alto y sueña en grande”

**Paula Manuela Benítez Espitia.**

## **Agradecimientos**

Agradezco primero a Dios por guiar cada uno de mis pasos, por darme la sabiduría, el entendimiento para tomar cada una de las decisiones que la vida me ha presentado, y por darme la fuerza que he necesitado en los momentos más difíciles que he pasado.

A mis abuelos y mi madre por ser quienes me apoyan en cada sueño o meta que quiero emprender.

A mis tías por sus grandes consejos y cariño en los momentos en los que he necesitado una voz de aliento.

A la profesora Liliana Suarez por la oportunidad de realizar este proyecto.

**Belkis Gisela Villamizar Calderón.**

Quiero agradecer a Dios y a la virgen por permitirme llegar a esta meta, a mi madre pilar fundamental en mi vida, a Helena por su apoyo incondicional; gracias a sus esfuerzos realizados he llegado a este punto.

A la Universidad Francisco de paula Santander por aportar a mi vida tantos conocimientos y experiencias inolvidables

A la profesora Liliana Suarez por la oportunidad de realizar este proyecto.

A la ingeniera Lady Johana Moreno Villamizar por sus consejos y enseñanzas.

Y, por último, a los demás familiares, amigos y compañeros de laboratorio que aportaron a mi proceso personal e intelectual.

**Paula Manuela Benítez Espitia.**



## Contenido

	<b>pág.</b>
Introducción	15
1. El problema	17
1.1 Planteamiento del Problema	17
1.2 Formulación del Problema	18
1.3 Justificación	18
1.4 Objetivos	19
1.4.1 Objetivo general	19
1.4.2 Objetivos específicos	19
1.5 Delimitaciones	20
1.5.1 Espacial	20
1.5.2 Temporal	20
1.5.3 Conceptual	20
2. Marco Referencial	21
2.1 Antecedentes de la Investigación	21
2.2 Marco Teórico	27
2.2.1 Caracterización macroscópica y microscópica de bacterias	27
2.2.2 Pruebas bioquímicas	27
2.2.3 Caracterización molecular	27
2.2.4 Características de los posibles géneros de rizobacterias a analizar	30
2.3 Marco Contextual	34
2.4 Marco Legal	34
3. Metodología	36

3.1 Tipo de Investigación	36
3.2 Población y Muestra	36
3.2.1 Población	36
3.2.2 Muestra	36
3.3 Fases de la Investigación	36
3.3.1 Reactivación de cepas	36
3.3.2 Extracción y Purificación de ADN - Kit WIZARD	38
3.3.3 Análisis de protocolos de extracción	40
3.3.4 Amplificación del ADNr 16S	40
3.3.5 Secuenciación y comparación de los fragmentos ITS	40
3.3.6 Conservación.	41
4. Resultados y Discusiones	42
4.1 Activación y Purificación de los Aislados	42
4.1.1 Caracterización macroscópica y microscópica de aislados similares al género <i>Azotobacter sp.</i>	42
4.1.2 Caracterización macroscópica y microscópica de aislados similares al género <i>Azospirillum sp.</i>	47
4.1.3 Caracterización macroscópica y microscópica de aislados similares al género <i>Burkholderia sp.</i>	50
4.1.4 Caracterización macroscópica y microscópica de aislados similares al género <i>Gluconacetobacter sp.</i>	52
4.2 Caracterización Fisiológica de los Aislados	54
4.2.1 Determinación de las pruebas bioquímicas	54
4.3 Caracterización Molecular de los Aislados Promisorios	58

4.3.1 Extracción, visualización y cuantificación del ADN	58
4.3.2 Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y Visualización	60
4.3.3 Secuenciación de los fragmentos ITS y comparación de secuencias con bases de datos	63
4.4 Evaluación de Crioconservación	68
5. Conclusiones	71
6. Recomendaciones	72
Referencias Bibliográficas	73
Anexos	82