

	GESTIÓN DE SERVICIOS ACADÉMICOS Y BIBLIOTECARIOS		CÓDIGO	FO-GS-15	
			VERSIÓN	02	
	ESQUEMA HOJA DE RESUMEN			FECHA	03/04/2017
				PÁGINA	1 de 1
ELABORÓ		REVISÓ		APROBÓ	
Jefe División de Biblioteca		Equipo Operativo de Calidad		Líder de Calidad	

RESUMEN TRABAJO DE GRADO

AUTOR(ES): NOMBRES Y APELLIDOS COMPLETOS

NOMBRE(S): OMAR APELLIDOS: BOTELLO SALON

NOMBRE(S): CARLOS DAVID APELLIDOS: CORREA OCAMPO

FACULTAD: CIENCIAS AGRARIAS Y DEL MEDIO AMBIENTE

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA

BIOTECNOLÓGICA

DIRECTOR:

NOMBRE(S): PAOLA ANDREA APELLIDOS: ROMAN HERNANDEZ

NOMBRE(S): ROMINA ESMERALDA APELLIDOS: FUENTES DÍAZ

TÍTULO DEL TRABAJO (TESIS): CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS PRESENTES EN EL PROCESO DE BIORREMEDIACIÓN COMO ALTERNATIVA PARA LA RECUPERACIÓN DE SUELOS DEL MUNICIPIO DE TIBÚ, NORTE DE SANTANDER, CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS

Los hidrocarburos representan la principal fuente energética para el mundo en la actualidad, además de usos industriales muy variados, sin embargo también es el principal reto a superar actualmente debido al riesgo ecológico de este agente como principal contaminante en diversos hábitats por derrame del mismo, lo cual impacta negativamente en la vida marítima y terrestre; como alternativa para solucionar esta problemática, la naturaleza brinda las herramientas necesarias, aprovechando el potencial metabólico microbiano para asimilar y degradar hidrocarburos. El objetivo principal de este trabajo se basa en el desarrollo de una metodología que permita la caracterización e identificación de microorganismos degradadores de hidrocarburos. Inicialmente se logró seleccionar el medio NWRI como potencial medio de aislamiento no selectivo para extraer microorganismos presentes en suelos contaminados con hidrocarburos procedentes de Tibú, Norte de Santander, tras realizar procesos de muestreo, tratamientos de biorremediación y aislamiento microbiano. Posteriormente de forma documental se estableció una metodología detallada planteando protocolos para comprobar la capacidad de asimilación y degradación de crudo por parte de microorganismos presentes en suelos contaminados con hidrocarburos y caracterizar los mismos por medio de pruebas bioquímicas e identificación molecular planteando dos protocolos para la extracción y secuenciación de DNA en Bacterias y Hongos.

PALABRAS CLAVE: BIORREMEDIACIÓN, HIDROCARBUROS, MICROORGANISMOS, DEGRADACION

CARACTERISTICAS

PÁGINAS: 75 PLANOS: 0 ILUSTRACIONES: 0 CD ROOM:

CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS PRESENTES EN EL PROCESO DE
BIORREMEDIACIÓN COMO ALTERNATIVA PARA LA RECUPERACIÓN DE SUELOS
DEL MUNICIPIO DE TIBÚ, NORTE DE SANTANDER, CONTAMINADOS CON
HIDROCARBUROS.

OMAR BOTELLO SALON
CARLOS DAVID CORREA OCAMPO

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
PROGRAMA INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA
CÚCUTA, NORTE DE SANTANDER

2020

CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS PRESENTES EN EL PROCESO DE
BIORREMEDIACIÓN COMO ALTERNATIVA PARA LA RECUPERACIÓN DE SUELOS
DEL MUNICIPIO DE TIBÚ, NORTE DE SANTANDER, CONTAMINADOS CON
HIDROCARBUROS.

OMAR BOTELLO SALON
CARLOS DAVID CORREA OCAMPO

Monografía de investigación para optar al título de Ingeniero Biotecnólogo

DIRECTORA

PAOLA ANDREA ROMAN HERNANDEZ
Ingeniera biotecnológica
M. Sc. Dirección de desarrollo social

Co-Directora

ROMINA ESMERALDA FUENTES DÍAZ
Ingeniero de Producción Biotecnológica
M. Sc. en Ciencias Biológicas

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
PROGRAMA INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA
CÚCUTA, NORTE DE SANTANDER

2020

ACTA DE SUSTENTACION DE UN TRABAJO DE GRADO

FECHA: 17 DICIEMBRE DE 2020

HORA: 09:00 A.M.

LUGAR: CUCUTA, NORTE DE SANTANDER – EVALUACION VIRTUAL

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

TÍTULO: "CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS PRESENTES EN EL PROCESO DE BIORREMEDIACIÓN COMO ALTERNATIVA PARA LA RECUPERACIÓN DE SUELOS DEL MUNICIPIO DE TIBÚ, NORTE DE SANTANDER, CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS."

MODALIDAD: MONOGRAFIA

JURADO: ROMINA ESMERALDA FUENTES DIAZ
AZULA SANGUINO QUINTERO
ADRIANA ZULAY ARGUELLO NAVARRO

ENTIDAD: UFPS

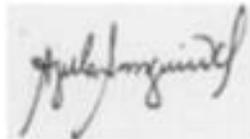
DIRECTOR: PAOLA ANDREA ROMÁN HERNÁNDEZ

NOMBRE DE LOS ESTUDIANTE	CODIGO	CALIFICACION
Carlos David Correa Ocampo	1611218	4.3
Omar Botello Salon	1611242	4.3

OBSERVACIONES: APROBADO.

FIRMA DE LOS JURADOS

Romina E. Fuentes D.



Romina Esmeralda Fuentes Diaz

Azula Sanguino Quintero

Adriana Zulay Arguello Navarro



Vo. Bo Coordinador Comité Curricular _____

Resumen

Los hidrocarburos representan la principal fuente energética para el mundo en la actualidad, además de usos industriales muy variados, así pues la petroquímica es en gran medida responsable de nuestro estilo de vida actual, sin embargo también representa el principal reto a superar actualmente debido al riesgo ecológico de este agente como principal fuente de emisión de CO₂ y por ende responsable en gran medida del cambio climático así como contaminación en diversos hábitats por derrame del mismo lo cual impacta negativamente en la vida marítima y terrestre, como alternativa para solucionar esta última problemática, la naturaleza nos brinda las herramientas necesarias, aprovechando el potencial metabólico microbiano para asimilar y degradar hidrocarburos y sus derivados. El objetivo principal de este trabajo se basa en el desarrollo de una metodología que permita la caracterización e identificación de microorganismos degradadores de hidrocarburos. Inicialmente de forma experimental se logró seleccionar el medio NWRI como potencial medio de aislamiento no selectivo para extraer microorganismos presentes en suelos contaminados con hidrocarburos procedentes de Tibú, Norte de Santander tras realizar procesos de muestreo, montaje de tratamientos de biorremediación y aislamiento microbiano. Posteriormente de forma documental se estableció una metodología detallada planteando protocolos para comprobar la capacidad de asimilación, mineralización o degradación de crudo por parte de microorganismos presentes en suelos contaminados con hidrocarburos y caracterizar los mismos por medio de pruebas bioquímicas e identificación molecular planteando dos protocolos para la extracción y secuenciación de DNA en Bacterias y Hongos, así como el establecimiento de un protocolo para la conservación de estos utilizando glicerol al 15% como agente crio protector.

Agradecimientos

Inicialmente agradecimientos a Dios, a nuestras familias y seres queridos por ser una fuente inagotable de afecto, apoyo, consejo, ejemplo y motivación para salir adelante en nuestro crecimiento profesional, cumplimiento de metas y objetivos.

A nuestra Directora M. Sc Paola Andrea Román Hernández por la dirección, dedicación y apoyo brindado al desarrollo de este trabajo, durante los diferentes ajustes que el mismo ha tenido. Extender dicho agradecimiento a los diferentes docentes y evaluadores los cuales a lo largo de nuestra estancia en la Universidad Francisco de Paula Santander permitieron a través de una buena pedagogía incentivar y aumentar el amor hacia la ciencia, la investigación y a su vez supieron dar a conocer la relevancia y trascendencia que la Biotecnología puede tener actualmente y a futuro como fuente de solución a problemáticas actuales.

Agradecimientos a compañeros y amigos, su apoyo académico, personal y humano ha permitido allanar el camino recorrido hasta ahora. A la Universidad Francisco de Paula Santander por facilitar instalaciones, equipos y calidad humana no solo en el desarrollo del presente trabajo sino a través de toda la carrera.

Tabla De Contenido

Introducción	13
1.1. Delimitación del ejercicio de investigación.	17
1.2 Planteamiento del problema.	17
1.3 Formulación del problema.	19
1.4 Justificación.	20
1.5 Objetivos.	22
1.5.1 Objetivo general.	22
1.5.2 Objetivos específicos.	22
2. Diseño metodológico.	23
2.1 Tipo de investigación.	23
2.1.1 Metodología Experimental; Desarrollo Del Primer Objetivo.	23
2.1.1.1. Toma de muestras de suelo contaminado de la zona de Tibú.	23
2.1.1.2. Montaje de composteros de análisis.	23
2.1.1.3. Preparación de material para realizar la siembra microbiana.	23
2.1.1.4. Esterilización de material.	24
2.1.1.5. Preparación de la solución salina.	24
2.1.1.6. Preparación de medio NWRI.	24
2.1.2. Metodología Documental; Desarrollo De Segundo y Tercer Objetivo.	25
2.2. Método de investigación.	26
2.2.1. Técnicas e instrumentos de recolección y selección de información.	26
2.2.2. Fuentes de información.	26
3. Resultados y análisis caracterización de cepas microbianas a partir de suelos contaminados con hidrocarburos.	28
3.1. Analisis y selección de métodos para siembra microbiana.	31
3.1.1. Toma de muestras.	31

3.1.2. Montaje de tratamientos.	32
3.1.3. Aislamiento a partir de suelos contaminados.	33
3.1.3.1. Preparación y selección del medio.	33
3.1.3.2. Resultados destacados, primer muestreo (tiempo cero).	35
3.1.3.3. Resultados destacados, segundo muestreo (tiempo uno).	36
3.1.3.4. Resultados destacados, tercer muestreo (tiempo dos).	38
3.1.3.5. Análisis de resultados obtenidos.	40
3.1.3.6. Aislamiento en agares enriquecidos.	42
3.2. Selección de cepas degradadoras de hidrocarburos.	43
3.2.1 Metodología para la selección de microorganismos degradadores de petróleo.	44
3.3. Caracterización e identificación por pruebas bioquímicas, extracción y secuenciación del DNA.	45
3.3.1. Identificación bioquímica.	45
3.3.1.1. Tinciones.	45
3.3.1.1.1. Tinción Gram.	45
3.3.1.1.2. Tinción de azul de algodón o azul de lactofenol.	46
3.3.1.2. Asimilación de carbohidratos.	46
3.3.1.3. Citocromo-oxidasa.	47
3.3.1.4. Catalasa.	47
3.3.1.5. Motilidad.	47
3.3.1.6. Indol.	47
3.3.1.7. Urea.	48
3.3.2. Método de conservación de cepas aisladas.	48
3.3.2.1. Curva Mc Farland.	49
3.3.2.2. Conservación de cepas bacterianas en glicerol estéril.	52
3.3.2.3. Conservación de cepas fúngicas en glicerol estéril.	52
3.3.3. Identificación y secuenciación molecular.	53
3.3.3.1. Protocolo de extracción de DNA bacteriano.	55
3.3.3.2. Protocolo de extracción de DNA fúngico.	56
3.3.3.3. Cuantificación del ADN extraído.	57
Conclusiones.	58

Recomendaciones.	60
Referencias bibliográficas.	61
Anexos.	71