

	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): JONATHAN HERIBERTO

APELLIDOS: JAIMES OMAÑA

NOMBRE(S): DAYANA BIRGIT

APELLIDOS: PARRA RODRIGUEZ

FACULTAD: CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

DIRECTOR:

NOMBRE(S): LAURA YOLIMA

APELLIDOS: MORENO ROZO

TÍTULO DEL TRABAJO (TESIS): DIVERSIDAD MICROBIOLÓGICA DE BACTERIAS DIAZÓTROFAS PRESENTES EN SUELO RIZOSFÉRICO Y MATERIAL FOLIAR, Y SU RELACIÓN CON LA PRESENCIA DE LA ENFERMEDAD DEL AÑUBLO BACTERIAL (*Burkholderia glumae*) EN CULTIVOS DE ARROZ, DISTRITO DE RIEGO EL ZULIA, NORTE DE SANTANDER.

RESUMEN

En este trabajo se llevó a cabo la cuantificación de bacterias diazótroficas presentes en muestras de suelo rizosférico y material foliar tomadas de cultivos de arroz mediante la técnica de NMP, siendo esta última la de mayor cantidad de bacterias cuantificadas según los resultados obtenidos. Seguido, se realizó la identificación molecular de cepas aisladas a partir de las panículas del arroz las cuales fueron previamente caracterizadas tanto morfológica como microscópicamente del patógeno *Burkholderia glumae* (causal de la enfermedad del añublo bacterial) a través de la técnica de PCR (reacción en cadena de la polimerasa) teniendo en cuenta el porcentaje de incidencia de la enfermedad en cada una de las fincas seleccionadas; a partir de esto, se procedió a la confirmación del patógeno a través de la técnica de secuenciación obteniendo 11 cepas con un 99% de homología y 1 cepa con un 94% según la NCBI. Finalmente, se ejecutó un análisis estadístico en donde se obtuvo que no existe una diferencia significativa entre la cantidad de bacterias diazótroficas y el patógeno *Burkholderia glumae*.

PALABRAS CLAVE: agroecología, PCR, rizosfera, secuenciación y vaneamiento.

CARACTERÍSTICAS:

PÁGINAS: 214 **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

**DIVERSIDAD MICROBIOLÓGICA DE BACTERIAS DIAZÓTROFAS PRESENTES
EN SUELO RIZOSFÉRICO Y MATERIAL FOLIAR, Y SU RELACIÓN CON LA
PRESENCIA DE LA ENFERMEDAD DEL AÑUBLO BACTERIAL (*Burkholderia glumae*)
EN CULTIVOS DE ARROZ, DISTRITO DE RIEGO EL ZULIA, NORTE DE
SANTANDER.**

**JONATHAN HERIBERTO JAIMES OMAÑA
DAYANA BIRGIT PARRA RODRÍGUEZ**

**UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA
CÚCUTA
2018**

**DIVERSIDAD MICROBIOLÓGICA DE BACTERIAS DIAZOTROFAS PRESENTES
EN SUELO RIZOSFÉRICO Y MATERIAL FOLIAR, Y SU RELACIÓN CON LA
PRESENCIA DE LA ENFERMEDAD DEL AÑUBLO BACTERIAL (*Burkholderia glumae*)
EN CULTIVOS DE ARROZ, DISTRITO DE RIEGO EL ZULIA, NORTE DE
SANTANDER.**

**JONATHAN HERIBERTO JAIMES OMAÑA
DAYANA BIRGIT PARRA RODRÍGUEZ**

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

Ingeniero Biotecnológico

Director:

***PhD.* LAURA YOLIMA MORENO ROZO**

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

2018

ACTA DE SUSTENTACION DE UN TRABAJO DE GRADO

FECHA: 14 DE FEBRERO DE 2018

HORA: 08:00 AM

LUGAR: SALA 3 - CREAD

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

TITULO: "DIVERSIDAD MICROBIOLÓGICA DE BACTERIAS DIAZOTROFAS PRESENTES EN SUELO Y MATERIAL FOLIAR Y SU RELACION CON LA PRESENCIA DE LA ENFERMEDAD DEL Añublo Bacterial (*Burkholderia glumae*) EN CULTIVOS DE ARROZ."

MODALIDAD: INVESTIGACIÓN

JURADO: LILIAN TRINIDAD RAMIREZ CAICEDO
ADRIANA ZULAY ARGUELLO NAVARRO.
MARIA DEL PILAR JAIMES CASALLAS.

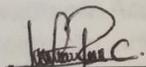
ENTIDAD: UFPS.

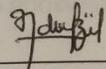
DIRECTOR: LAURA YOLIMA MORENO ROZO

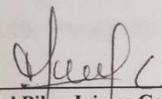
NOMBRE DE LOS ESTUDIANTE	CODIGO	CALIFICACION
JONATHAN HERIBERTO JAIMES OMAÑA	1610018	4.6
DAYANA BIRGIT PARRA RODRÍGUEZ	1610929	4.6

OBSERVACIONES: MERITORIO.

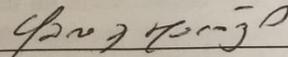
FIRMA DE LOS JURADOS


Lilian F. Ramírez Caicedo


Adriana Zulay Arguello N.


María del Pilar Jaimes Casallas

Vo.Bo Coordinador Comité Curricular



Dedicatoria

A Dios, a mis padres Pedro Parra y Claudia Rodríguez por ser apoyo constante, guiarme e instruirme por el mejor camino.

A la profe Laura Moreno por ser nuestra guía, cómplice y por su gran apoyo incondicional desde el inicio de la carrera hasta el final.

A mi compañero Jonathan Jaimes por su dedicación, empeño y compañía durante todo este camino profesional, de principio a fin.

Al equipo de laboratorio por su entrega y disposición durante este periodo de investigación.

Dayana B. Parra Rodríguez.

A mis padres Luz Elena Omaña y Heriberto Jaimes quienes nunca dejaron de creer en mí, gracias a ellos soy quien soy en estos momentos, por su apoyo y ser mi motor de vida.

A la profe Laura Moreno quien fue un gran apoyo tanto como docente, como persona, gracias por creer en nosotros y por acogernos en su laboratorio. ¡¡Muchas Gracias!!

A mi compañera de fórmula Dayana Parra quien aprendí y compartí durante estos últimos 5 años, gracias por estar hay en el transcurso de toda la carrera y más aún en esta etapa de investigación. Gracias.

Al equipo de trabajo por su gran colaboración y apoyo durante todo el proceso de investigación, (ingenieras: Sandra, Sheby y Paola).

Jonathan H. Jaimes Omaña

Agradecimientos

Los autores expresan los agradecimientos a: la vida por permitir ser quienes somos y sobre todo por permitirnos llegar a una meta propuesta, a cada uno de nuestros familiares por el aporte dado en este proceso de formación y sobre todo por permitirnos crecer como personas.

A nuestra directora de proyecto, la profesora PhD Laura Y. Moreno Rozo, por permitirnos realizar el proyecto bajo su dirección, por la inmensa paciencia y comprensión, pero sobre todo por guiarnos en el camino de la profesión correcta.

A las Ingenieras: Sandra López, Sheby Hurtado y Paola Molinares por su acompañamiento en el desarrollo de esta investigación.

A las becas que pertenecieron al laboratorio por su colaboración en la realización y cada uno de los implicados en la investigación por permitirnos desarrollar a cabo el proyecto de la mejor manera.

Muchas gracias a todos

Contenido

	Pág.
Contenido	7
Introducción	18
1. Problema	20
1.1. Título	20
1.2. Planteamiento del problema	20
1.3. Formulación del problema	24
1.4. Justificación	24
1.5. Objetivos	25
1.5.1. Objetivo general	25
1.5.2. Objetivos específicos	26
1.6. Alcances y limitaciones	26
1.6.1. Alcances	26
1.6.2. Limitaciones	26
1.7. Delimitaciones	27
1.7.1. Delimitación espacial	27
1.7.2. Delimitación temporal	27
1.7.3. Delimitación conceptual	27
2. Marco referencial	28
2.1. Antecedentes de la investigación	28
2.2. Marco teórico	33
2.2.1. Generalidades del cultivo de arroz	33

2.2.2.	Clasificación taxonómica	33
2.2.3.	Botánica del cultivo	35
2.2.3.1.	Raíces	35
2.2.3.2.	Tallo	36
2.2.3.3.	Hoja	36
2.2.3.4.	Inflorescencia	37
2.2.3.5.	Espiguillas	38
2.2.3.6.	Fruto	38
2.2.4.	Requerimientos edáficos	38
2.2.4.1.	Temperatura y clima	38
2.2.4.2.	Suelo	39
2.2.4.3.	pH	39
2.2.5.	Requerimientos nutricionales	40
2.2.5.1.	Nitrógeno	40
2.2.5.2.	Fósforo	41
2.2.5.3.	Potasio	41
2.2.6.	Riego	41
2.2.7.	Variedades de arroz cultivadas	42
2.2.8.	Fijación Biológica de Nitrógeno (FBN)	42
2.2.9.	Diazótrofas	45
2.2.9.1.	Organismos (FBN)	47
2.2.10.	Género <i>Burkholderia</i>	48
2.2.10.1.	Generalidades de <i>Burkholderia glumae</i>	48

2.2.11.	<i>Añublo Bacterial de la Panícula de Arroz</i>	50
2.3.	Marco conceptual	52
2.4.	Marco contextual	54
2.5.	Marco legal	54
3.	Diseño metodológico	58
3.1.	Tipo de investigación	58
3.2.	Población y muestra	58
3.2.1.	Población	58
3.2.2.	Muestra	59
3.3.	Hipótesis	59
3.4.	Variables	59
3.4.1.	Variable dependiente	59
3.4.2.	Variables independientes	59
3.4.3.	Variables intervinientes	60
3.5.	Fases de la investigación	60
3.5.1.	Caracterización de zonas de muestreo	60
3.5.2.	Toma de muestras	60
3.5.3.	Etapa I. Toma de muestras de suelo rizosférico	60
3.5.4.	Etapa II. Toma de muestra de material foliar y panículas	62
3.6.	Cuantificación mediante la técnica de Número Más Probable (NMP)	62
3.6.1.	Etapa I. Cuantificación de diazotróficas en suelo rizosférico	63
3.6.2.	Etapa II. Cuantificación de diazótrofes en material foliar	65
3.7.	Determinación y caracterización de <i>Burkholderia glumae</i>	66

3.8.	Aislamiento de <i>Burkholderia glumae</i>	67
3.8.1.	Aislamiento del ADN de <i>Burkholderia glumae</i>	69
3.8.1.1.	Preparación del gel de agarosa	70
3.8.1.2.	Visualización del ADN y PCR	72
3.9.	Identificación de <i>Burkholderia glumae</i>	73
3.9.1.	Secuenciación para la identificación de <i>Burkholderia glumae</i>	73
3.10.	Análisis estadístico	74
3.11.	Instrumentos	74
4.	Resultados y análisis	75
4.1.	Caracterización de las zonas de muestreo	75
4.2.	Toma de muestras	80
4.2.1.	Etapa I. Toma de muestras de suelo rizosférico	80
4.2.2.	Etapa II. Toma de muestras de material foliar y panículas	81
4.3.	Cuantificación mediante la técnica de Número Más Probable (NMP)	81
4.3.1.	Cuantificación de bacterias diazótrofes en suelo rizosférico	82
4.3.2.	Cuantificación de bacterias diazótrofes en material foliar	89
4.4.	Determinación y aislamiento de <i>Burkholderia glumae</i>	93
4.4.1.	Caracterización fenotípica y microscópica de <i>Burkholderia glumae</i>	94
4.4.2.	Caracterización de las colonias en medio King B, prueba de fluorescencia	95
4.5.	Extracción y cuantificación del ADN de las cepas aisladas de <i>Burkholderia glumae</i>	100
4.5.1.	Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y Cuantificación del ADN de los aislados de <i>Burkholderia glumae</i>	102

4.6.	Secuenciación para <i>Burkholderia glumae</i>	103
4.6.1.	Análisis de homología para <i>Burkholderia glumae</i>	107
4.7.	Análisis estadístico	112
	Conclusiones	128
	Recomendaciones	129
	Bibliografía	130
	ANEXOS	147