

	GESTIÓN DE RECURSOS Y SERVICIOS BIBLIOTECARIOS	Código	FO-SB- 12/v0
	ESQUEMA HOJA DE RESUMEN	Página	1/255

RESUMEN TRABAJO DE GRADO

AUTOR(ES): NOMBRES Y APELLIDOS COMPLETOS

NOMBRE(S): YORLADYS APELLIDOS: FLÓREZ CARRILLO

NOMBRE(S): ZULLY ZENITH APELLIDOS: FERRER CARRILLO

FACULTAD: CIENCIAS AGRARIAS Y DEL MEDIO AMBIENTE

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

DIRECTOR:

NOMBRE(S): LAURA YOLIMA APELLIDOS: MORENO ROZO

CO-DIRECTOR:

NOMBRE(S): ALINA KATIL APELLIDOS: SIGARROA RIECHE

TÍTULO DEL TRABAJO (TESIS): CARACTERIZACIÓN FISIOLÓGICA E IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE AISLADOS BACTERIANOS DIAZÓTROFOS PROMISORIOS DE CRECIMIENTO VEGETAL, PARA SU EVALUACIÓN *in vivo in situ* EN PLÁNTULAS DE CAÑA DE AZÚCAR (*Saccharum officinarum*) BAJO CASA MALLA.

RESUMEN

En este trabajo se caracterizaron fisiológicamente 30 aislados bacterianos diazótrofos, presuntivos de los géneros *Azospirillum* sp., *Azotobacter* sp., *Gluconacetobacter* sp. y *Burkholderia* sp., de ellos se seleccionaron 5 aislados con actividades promotoras del crecimiento vegetal sobresalientes y se identificaron molecularmente como *Azospirillum* brasilense y *Gluconacetobacter* diazotrophicus. Estas cepas se inocularon en plántulas de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) bajo condiciones de casa malla generando efectos positivos sobre cada una de los componentes del rendimiento de la caña evaluados, resultados que impulsan el uso de estos microorganismos como potenciales biofertilizantes que ayuden a reducir la fertilización química de los cultivos agrícolas.

PALABRAS CLAVE: Identificación fisiológica, PCR, biofertilización, caña de azúcar.

CARACTERÍSTICAS:

PÁGINAS: 255 PLANOS: ILUSTRACIONES: 44 CD ROOM: X

Elaboró		Revisó		Aprobó	
Equipo Operativo del Proceso		Comité de Calidad		Comité de Calidad	
F	17/08/2015	F	23/11/2015	F	07/04/2016
echa		echa		echa	

CARACTERIZACIÓN FISIOLÓGICA E IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE
AISLADOS BACTERIANOS DIAZÓTROFOS PROMISORIOS DE CRECIMIENTO
VEGETAL, PARA SU EVALUACIÓN *in vivo in situ* EN PLÁNTULAS DE CAÑA DE
AZÚCAR (*Saccharum officinarum*) BAJO CASA MALLA.

YORLADYS FLOREZ CARRILLO

ZULLY ZENITH FERRER CARRILLO

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

2017

CARACTERIZACIÓN FISIOLÓGICA E IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE
AISLADOS BACTERIANOS DIAZÓTROFOS PROMISORIOS DE CRECIMIENTO
VEGETAL, PARA SU EVALUACIÓN *in vivo in situ* EN PLÁNTULAS DE CAÑA DE
AZÚCAR (*Saccharum officinarum*) BAJO CASA MALLA.

YORLADYS FLOREZ CARRILLO *

ZULLY ZENITH FERRER CARRILLO**

*1610630

**1610614

Proyecto presentado como requisito para optar el título de

INGENIERO BIOTECNOLÓGICO

Director:

MSc. LAURA YOLIMA MORENO ROZO

Co-director:

MSc. ALINA KATIL SIGARROA RIECHE

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

2017

ACTA DE SUSTENTACION DE UN TRABAJO DE GRADO

FECHA: 17 DE FEBRERO DE 2017

HORA: 8:00 AM

SALA: EDIFICIO LABORATORIO EMPRESARIAL SALA 103

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

TITULO: "CARACTERIZACIÓN FISIOLÓGICA E IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE AISLADOS BACTERIANOS DIAZÓTROFOS PROMISORIOS DE CRECIMIENTO VEGETAL, PARA SU EVALUACIÓN *in vivo in situ* EN PLÁNTULAS DE CAÑA DE AZÚCAR (*Saccharum officinarum*) BAJO CASA MALLA"

MODALIDAD: INVESTIGACIÓN

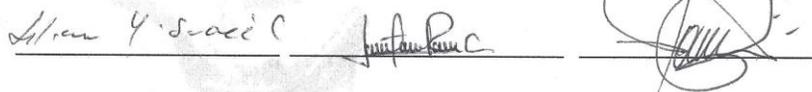
JURADOS: LILIANA YANET SUAREZ CONTRERAS
LILIAN TRINIDAD RAMIREZ CAICEDO
JUAN CARLOS RAMIREZ BERMUDEZ

DIRECTOR: LAURA YOLIMA MORENO ROZO
CODIRECTOR: ALINA KATIL SIGARROA RIECHE

NOMBRE DE LOS ESTUDIANTE	CODIGO	CALIFICACION
YORLADYS FLOREZ CARRILLO	1610630	4.4
ZULLY ZENITH FERRER CARRILLO	1610614	4.4

OBSERVACIONES: APROBADA

FIRMA DE LOS JURADOS



VoBo Coordinador Comité Curricular



Tabla de Contenido

	Página
Introducción	
1. El Problema	26
1.1. El Título	26
1.2. Planteamiento del Problema	26
1.3. Formulación del Problema	29
1.4. Justificación	29
1.5. Objetivos	31
1.5.1. Objetivo general	31
1.5.2. Objetivos específicos	31
1.6. Delimitaciones	32
1.6.1. Delimitación espacial	32
1.6.2. Delimitaciones temporales	32
1.6.3. Delimitaciones conceptuales	32
2. Marco Referencial	33
2.1. Antecedentes de la Investigación	33
2.2. Marco Teórico	43
2.2.1. Generalidades del cultivo de la caña de azúcar	43
2.2.2. Clasificación taxonómica	44

2.2.3.	Botánica del cultivo	45
2.2.3.1.	La raíz	45
2.2.3.2.	El tallo	45
2.2.3.3.	El nudo y entrenudo	46
2.2.3.4.	Las hojas	46
2.2.3.5.	La flor	47
2.2.4.	Requerimientos edáficos	48
2.2.5.	Requerimientos climatológicos	48
2.2.6.	Distancia y densidad de siembra	49
2.2.7.	Sistema de siembra	49
2.2.8.	Surcado	50
2.2.9.	Necesidades nutricionales	51
2.2.9.1.	Nitrógeno	51
2.2.9.2.	Fósforo	51
2.2.9.3.	Potasio	51
2.2.10.	Variedades producidas en Colombia	52
2.2.11.	Características de las variedades de caña de azúcar	53
2.2.11.1.	Características básicas	53
2.2.11.2.	Características complementarias	54
2.3.	La Fijación Biológica de Nitrógeno	56
2.3.1.	Microorganismos diazótrofos como fijadores de nitrógeno	57
2.3.1.1.	Bacterias diazótroficas de vida libre	58
2.3.1.2.	Bacterias diazótroficas asociativas	58
2.4.	Microorganismos de Interés Biotecnológico	58

2.4.1.	Generalidades del género <i>Azotobacter</i> sp.	58
2.4.2.	Generalidades del género <i>Azospirillum</i> sp.	61
2.4.3.	Generalidades del género <i>Burkholderia</i> sp.	62
2.4.4.	Generalidades del género <i>Gluconacetobacter</i> sp.	62
2.5.	Caracterización de Bacterias Diazótrofas	63
2.6.	Evaluación Fisiológica de Microorganismos Diazótrofos	65
2.6.1.	Producción de ácido indol acético	65
2.6.2.	Actividad fosfatasa	66
2.6.3.	Actividad nitrogenasa	67
2.6.4.	Producción de sideróforos	67
2.7.	Identificación Molecular	68
2.7.1.	Amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	68
2.7.2.	Electroforesis	69
2.8.	Inoculantes Microbianos	70
2.9.	Evaluación de Parámetros de Crecimiento Vegetativo	71
2.9.1.	Patrón de crecimiento de las plantas	71
2.9.2.	Medidas de crecimiento	72
2.9.2.1.	Medidas directas del crecimiento	72
2.10.	Análisis Estadístico	73
2.11.	Marco Conceptual	73
2.12.	Marco Legal	76
2.13.	Marco Contextual	78
3.	Metodología	79
3.1.	Tipo de Investigación	79

3.2. Población y Muestra	79
3.2.1. Población	79
3.2.2. Muestra	79
3.3. Hipótesis	79
3.4. Variables	80
3.4.1. Variables dependientes	80
3.4.2. Variables independientes	80
3.5. Fases de la Investigación	80
3.5.1. Activación y purificación de los aislados	80
3.5.2. Caracterización fisiológica	82
3.5.2.1. Determinación de la producción de ácido indol acético	82
3.5.2.2. Determinación de la solubilización de fosfatos	83
3.5.2.3. Determinación de la fijación biológica de nitrógeno	84
3.5.2.4. Determinación de la síntesis de sideróforos	85
3.5.3. Caracterización molecular de aislados promisorios	89
3.5.3.1. Método de aislamiento de ADN	89
3.5.3.2. Visualización del ADN y PCR	91
3.5.3.3. Identificación molecular	92
3.5.4. Selección de los aislados promisorios para ser usados en campo	93
3.5.5. Producción de inoculante y aplicación	97
3.5.6. Ensayo in vivo in situ de plántulas de caña	94
3.6. Variables a Evaluar en la Prueba <i>in vivo in situ</i>	95
3.6.1. Altura de la planta	95
3.6.2. Diámetro del tallo	96

3.6.3.	Longitud de la raíz	96
3.6.4.	Número de hojas por planta	96
3.6.5.	Peso fresco	96
3.6.6.	Peso seco	96
3.6.7.	Contenido de nitrógeno	96
3.7.	Recuperación del Microorganismo Después de la Fase <i>in vivo in situ</i>	97
3.7.1.	Instrumentos	99
4.	Resultados y Análisis	100
4.1.	Activación y Purificación de los Aislados	100
4.1.1.	Caracterización macroscópica y microscópica de aislados similares al género <i>Azotobacter</i> sp.	100
4.1.2.	Caracterización macroscópica y microscópica de aislados similares al género <i>Azospirillum</i> sp.	105
4.1.3.	Caracterización macroscópica y microscópica de aislados similares al género <i>Burkholderia</i> sp.	109
4.1.4.	Caracterización macroscópica y microscópica de aislados similares al género <i>Gluconacetobacter</i> sp.	116
4.2.	Caracterización Fisiológica de los Aislados	121
4.2.1.	Determinación de la producción de ácido indol acético	124
4.2.2.	Determinación de la producción de fosfatos	127
4.2.3.	Determinación de la fijación biológica de nitrógeno	129
4.2.4.	Determinación de la síntesis de sideróforos	131
4.3.	Selección de Diazótrofas por sus Actividades Promotoras	

de Crecimiento Vegetal	134
4.4. Caracterización Molecular de los Aislados Promisorios	137
4.4.1. Extracción y visualización de ADN	138
4.4.2. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y Visualización	138
4.5. Selección de los Aislados para la Etapa de Campo	142
4.6. Producción y Aplicación del Inoculante	142
4.7. Ensayo <i>In Vivo In Situ</i>	143
4.7.1. Recolección, desinfección del suelo y la semilla	143
4.7.2. Siembra y fertilización	145
4.7.3. Control de las variables de respuesta del ensayo	147
4.7.3.1. Porcentaje brotación	149
4.7.3.2. Componentes del rendimiento de la caña	153
4.7.3.2.1. Altura de la planta	154
4.7.3.2.2. Diámetro del tallo	157
4.7.3.2.3. Número de hojas	160
4.7.3.2.4. Número de macollas	163
4.7.3.2.5. Longitud de la raíz	165
4.7.3.2.6. Peso seco y Peso fresco	168
4.7.3.2.7. Nitrógeno	171
4.8. Recuperación del Microorganismo Después de la Fase <i>In Vivo In Situ</i>	173
5. Conclusiones	178

Bibliografía

Anexos