

ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**“CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA, MOLECULAR Y
FUNCIONAL DEL BANCO DE CEPAS DE *Azospirillum* spp.
DEL INIAP AISLADAS DE LA RIZÓSFERA DEL
CULTIVO DE MAÍZ (*Zea mays* L.) DE LA SIERRA
ECUATORIANA”**

Previa a la obtención del Título de:

INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA

ELABORADO POR:

ANDREA GRETA CARRERA GONZÁLEZ

SANGOLQUÍ, 18 de Julio de 2012

INIAP - Estación Experimental Santa Catalina

RESUMEN

Azospirillum es una de las rizobacterias de vida libre más estudiada en la actualidad. Tiene la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico y secretar reguladores de crecimiento tales como: auxinas, citoquininas y giberelinas. La producción de un biofertilizante en base a cepas de *Azospirillum*, favorecería el manejo de los cultivos vegetales en Ecuador y forjaría una tecnología amigable con el medio ambiente. En el año 2004, el Programa de Maíz del INIAP aisló 20 cepas bacterianas procedentes de la rizósfera de los cultivos de maíz de la Sierra ecuatoriana para identificar especies nativas de *Azospirillum*. Desde entonces, las cepas no cuentan con una identificación taxonómica concluyente ni con evaluaciones de sus capacidades funcionales. Los objetivos de esta investigación fueron: caracterizar con técnicas microbiológicas y moleculares los 20 ejemplares aislados y evaluar su función sobre semillas y plantas de maíz, variedad I-101, en condiciones *in vitro* e invernadero. Se empleó pruebas bioquímicas específicas para identificar el género *Azospirillum*; además, se utilizó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con iniciadores específicos para amplificar y secuenciar el gen 16S ribosomal. Las dos técnicas dieron como resultado que los 20 ejemplares no pertenecen al género *Azospirillum*. La caracterización funcional a condiciones *in vitro*, identificó tres cepas (6, 13 y 20) con actividad promotora del crecimiento vegetal (PGPR). Éstas incrementaron la masa radicular, el número y la longitud de las raíces. En cambio, la caracterización funcional en invernadero identificó a la cepa 6 como promotora del desarrollo de biomasa vegetal. La cepa 6 es apta para el desarrollo de un biofertilizante, al presentar actividad promotora del crecimiento en el maíz suave INIAP-101, tanto a condiciones *in vitro* como invernadero.

Palabras claves: PGPR; *Azospirillum*; 16S ribosomal; maíz variedad INIAP-101.

ABSTRACT

Azospirillum is considered one of the free-living rhizobacteria most studied today. This bacterium has the ability to fix atmospheric nitrogen and secrete growth regulators such as auxins, cytokinins and gibberellins. The production of a biofertilizer based on *Azospirillum* strains would favor the use of crops in Ecuador, and forge a technology friendly environment. In 2004, the Programa de Maíz of INIAP isolated 20 bacterial strains from the rhizosphere of maize in the highlands of Ecuador, to identify native species of *Azospirillum*. But these strains do not have a taxonomic identification or evaluation of their functional ability. The objectives of this investigation were: to characterize with molecular and microbiological techniques the 20 bacterial strains and assess their role on seeds and corn plants, variety I-101, *in vitro* and greenhouse conditions. A microbiological level, specific biochemical tests were used to identify the *Azospirillum* genus; and molecular level, we used the Polymerase Chain Reaction (PCR), with specific primers to amplify and sequence 16S ribosomal gene. The two techniques resulted that 20 strains did not belong to *Azospirillum* genus. The functional characterization *in vitro* conditions identified three strains (6, 13 and 20) with plant growth promoting activity (PGPR). These increased root mass, the number and length of roots. Functional characterization, in greenhouse conditions, identified the strain 6 as the best treatment, because increased biomass in maize plants. Strain 6 is suitable for the development a biofertilizer, because this show growth promoting activity of sweet corn INIAP-101 under *in vitro* and greenhouse conditions.

Keywords: PGPR; *Azospirillum*; 16S ribosomal; variety corn INIAP-101.