

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTIN DE  
AREQUIPA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, BIOQUÍMICA Y  
MOLECULAR DE AISLADOS NATIVOS DE RIZOBIOS PRESENTES  
EN NODULOS DE LEGUMINOSAS EN AREQUIPA**

Tesis presentada por el bachiller:

PATRICK ROGER, FERNÁNDEZ GUZMÁN

Para optar el Título Profesional de BIÓLOGO

Asesora:

Dra. María Rosario Valderrama Valencia

**AREQUIPA – PERÚ**

**2018**

## RESUMEN

Las Rizobacterias son fundamentales para contrarrestar el deterioro de la estructura del suelo, generado por diferentes efectos que rompen el equilibrio de la microbiota edafológica. La importancia de usar cepas nativas, radica en la mayor eficiencia en su hábitat, en comparación con cepas exógenas. El presente estudio tuvo como objetivo caracterizar morfológica, bioquímica y molecularmente cepas aisladas de nódulos de 5 Leguminosas (*Pisum sativum*, *Vicia faba*, *Medicago sativa*, *M. trifolium* y *Amorpha sp.*) colectadas en 5 distritos de Arequipa (Characato, Jacobo Hunter, Sachaca, Sabandía y Socabaya) en los meses de Junio y Julio del año 2016. Se aisló y seleccionó 20 cepas, considerando a los hospedadores, lugares de procedencia, y morfología; de las cuales fueron identificadas molecularmente 12 especies de Rizobacterias: *Rhizobium acidisoli*, *R. indigoferae*, *R. leguminosarum*, *R. nepotum*, *R. tibeticum*, *Mesorhizobium amorphae*, *M. waimense*, *Sinorhizobium medicae*, *S. meliloti*, *Pseudomonas koreensis*, *Stenotrophomonas rhizophila* y *Xanthomonas translucens*. De estas, 17 cepas fueron de crecimiento rápido y 3 de crecimiento medio; todas son Gram negativas y asimilan como única fuente de carbono Sacarosa y Manitol, ninguna cepa usa D-Manosa ni D-Xilosa, las otras 13 fuentes probadas, se asimilan indistintamente. Sobre las características PGPR, la producción de Indól, fue mayor en HUVF-022 (*R. indigoferae*) con 46.1 ug/mL relativos de AIA; el mayor área de solubilización de Fósforo inorgánico lo presentó CHPS-014 (*P. koreensis*) con 38 mm<sup>2</sup>; todas las cepas producen Exopolisacáridos (EPS) en diferente proporción, los valores mayores los presentaron, SOMS-047 (*R. tibeticum*) con 72.89 mm<sup>2</sup> y HUVF-023 (*X. translucens*) con 51.68 mm<sup>2</sup>. El 80% de las cepas crecen de 28 a 38 °C y hasta 43 °C (20% de las cepas), de 0 a 0.5% de NaCl (30% de las cepas), hasta 3.5% (25%) y hasta 4.5% de NaCl (45%), todas las cepas crecen en pH 5 a 10 y 25% de las cepas hasta pH 4. En tanto, todas las cepas muestran patrones de resistencia a antibióticos variables, como, SAMS-029 (*P. koreensis*) que crece en presencia de todas las concentraciones de antibióticos evaluados, en contraste CHAM-004 y CHAM-006 (*M. waimense*) solo crecen en Eritromicina. Todas las cepas, presentan al menos un Plásmido (de 1.73 Kb hasta 1.01 Mb), excepto CHAM-002, HUMS-018 y SCVF-044. *S. meliloti* (HUMS-018, 019 y 020) y *S. medicae* (SCMT-038) presentan los genes NifH y NodC, en cambio las cepas *M. amorphae* (CHAM-002), *M. waimense* (CHAM-004 y CHAM-006) y *P. koreensis* (SAMS-029 y CHPS-014) solo presentan el gen NifH.

**Palabras Clave:** Rizobacterias, Bioquímica, PGPR, Molecular

## ABSTRACT

The rhizobacteria are fundamental to counteract the functioning of the soil structure, generate different effects that break the equilibrium of the edaphological microbiota. The importance of using native strains, lies in the greater efficiency in their habitat, compared with exogenous strains. The objective of this study was to characterize morphological, biochemical and molecularly nodule strains of 5 legumes (*Pisum sativum*, *Vicia faba*, *Medicago sativa*, *M. trifolium* and *Amorpha sp.*) Collected in 5 districts of Arequipa (Characato, Jacobo Hunter, Sachaca, Sabandía and Socabaya) in the months of June and July of the year 2016. It was isolated and selected 20 strains, for the hosts, places of origin, and morphology; The species were molecularly identified 12 rhizobacteria species: *Rhizobium acidisoli*, *R. indigoferae*, *R. leguminosarum*, *R. nepotum*, *R. tibeticum*, *Mesorhizobium amorphae*, *M. waimense*, *Sinorhizobium medicae*, *S. meliloti*, *Pseudomonas koreensis*, *Stenotrophomonas rhizophila* and *Xanthomonas translucens*. Of these, 17 strains were of rapid growth and 3 of medium growth; All are 13 proven sources, are assimilated indiscriminately. On the PGPR characteristics, the production of Industry was higher in HUVF-022 (*R. indigoferae*) with 46.1 ug / mL of AIA; The largest area of solubilization of inorganic phosphorus was presented by CHPS-014 (*P. koreensis*) with 38 mm<sup>2</sup>; All strains produce exopolysaccharides (EPS) in different values, the highest values presented, SOMS-047 (*R. tibeticum*) with 72.89 mm<sup>2</sup> and HUVF-023 (*X. translucens*) with 51.68 mm<sup>2</sup>. 80% of the strains grow from 28 to 38 °C and up to 43 °C (20% of the strains), from 0 to 0.5% of NaCl (30% of the strains), up to 3.5% (25%) and up to 4.5% NaCl (45%), all strains grow at pH 5 to 10 and 25% of strains up to pH 4. In the meantime, all strains of resistance patterns to antibiotic variables, such as, SAMS-029 (*P. koreensis*) that grows in the presence of all the antibiotics evaluated, in contrast CHAM-004 and CHAM-006 (*M. waimense*) only grow in Erythromycin. All strains have at least one plasmid (from 1.73 Kb to 1.01 Mb), except CHAM-002, HUMS-018 and SCVF-044. *S. meliloti* (HUMS-018, 019 and 020) and *S. medicae* (SCMT-038) present the NifH and NodC genes, whereas the *M. amorphae* (CHAM-002), *M. waimense* (CHAM-004 and CHAM-006 strains) and *P. koreensis* (SAMS-029 and CHPS-014) only present the NifH gene.

**Key words:** Rhizobacteria, Biochemistry, PGPR, Molecular.