

## TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN.....	11
I. INTRODUCCION.....	12
1. Efectos en la salud el uso del petróleo y sus derivados .....	12
2. Tipos de energías alternativas.....	13
3. Antecedentes históricos y uso del Biodiesel.....	14
4.Importancia de las bacterias en el medio ambiente y su uso en la producción de biodiesel.....	16
5. Taxonomía y características generales de los <i>Actinomycetales</i> .....	16
6. Importancia de establecer diversidad genética en orden <i>Actinomycetales</i> .....	18
II. HIPOTESIS.....	19
III. OBJETIVOS.....	19
Objetivo General.....	19
Objetivos específicos.....	19
IV. MATERIALES Y METODOS.....	20
1. Colecta de material biológico y procesamiento de muestra.....	20
2. Extracción de ADN (ácido desoxiribonucleico) a partir de desechos orgánicos.....	21
3. Análisis de biodiversidad de bacterias a partir de tres fuentes de desechos orgánicos mediante CAPs-RFLP del fragmento 16S de ADNr.....	22
3.1. <i>Reacción en cadena de la polimerasa a partir del fragmento 16S de ADNr</i> .....	22
3.2. <i>Obtención de fragmentos de restricción polimórfica a partir de amplificaciones del 16S de ADNr de las muestras polimicrobianas</i> .....	23
4. Análisis de la diversidad genética de los <i>Actinomycetales</i> presentes en vertederos de la Región del Maule.....	24

5. Aislamiento e identificación de bacterias del orden <i>Actinomycetales</i> a partir de desechos orgánicos.....	24
5.1 Aislamiento de colonias candidatas en medio sólido.....	24
5.2 Identificación de colonias candidatas mediante PCR de región 16S ADNr del orden bacteriano <i>Actinomycetales</i> y secuenciación de fragmentos aislados.....	25
5.3 Extracción de ADN a partir de colonias candidatas.....	25
5.4 Identificación de colonias candidatas mediante PCR de la región 16S ADNr del orden bacteriano <i>Actinomycetales</i> . ....	26
5.4.1 Secuenciación del ADNr 16S amplificado a partir de colonias candidatas.....	26
6. Determinación de triglicéridos producidos por colonias candidatas mediante cromatografía de capa fina (TLC).....	26
6.1 Condiciones de crecimiento y medio de cultivo bacteriano.....	26
6.2 Determinación cualitativa de la presencia de triglicéridos en las cuatro muestras candidatas mencionadas en el punto (6.1) a través del método TLC.....	27
V. RESULTADOS.....	29
2. Extracción de ADN a partir de desechos orgánicos.....	29
3. Identificación molecular de bacterias del orden <i>Actinomycetales</i> a partir de desechos orgánicos. ....	30
4. Análisis de los patrones de diversidad genética en muestras de bacterias pertenecientes del orden <i>Actinomycetales</i> .....	31
5. Aislamiento e identificación de bacterias del orden <i>Actinomycetales</i> a partir de desechos orgánicos.....	33
5.1 Aislamiento de colonias candidatas en medio sólido.....	33
6. Secuenciación del fragmento ADNr 16S de las bacterias pertenecientes al orden <i>Actinomycetales</i> seleccionados. ....	33
7. Determinación de triglicéridos a través del método TLC (cromatografía capa fina). ....	34
VI. DISCUSION. ....	35

VII. CONCLUSIONES.....	39
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	40

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Condiciones de digestión para cada enzima de restricción.....	23
Tabla 2. Condiciones de crecimiento de las colonias candidatas .....	25
Tabla 3. Índices de diversidad genética para cada población de <i>Actinomycetales</i> en tres poblaciones de vertederos de la Región del Maule.....	32
Tabla 4. Comparación de las secuencias de la región 16S DNAr del orden bacteriano <i>Actinomycetales</i> con la base de datos NCBI .....	34

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución geográfica de sitios de muestreo. ....	20
Figura 2. Electroforesis en gel de agarosa al 1 % para ADN obtenido a partir de desechos orgánicos sólidos y lixiviados.....	29
Figura 3. Evaluación de los dos métodos Kit y Buffer A .....	30
Figura 4. Producto de PCR con partidores específicos para el orden <i>Actinomycetales</i> . .....	30
Figura 5. P.C.A. (Análisis de Coordenas Principales).....	32
Figura 6. Identificación de bacterias acumuladoras de TG.....	34