



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



BIOFERTILIZACIÓN DE *Hypericum Silenoides* MICROPROPAGADAS USANDO BACTERIAS DIAZOTROFAS

Francisca Adriana Mendoza Urbina¹, Teresa del Rosario Ayora Talavera¹, Federico Antonio Gutiérrez Miceli¹, Reiner Rincón Rosales. Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez. División de Posgrado e Investigación, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. C.P. 29000. addii@hotmail.com

Palabras clave: Biofertilización, bacterias diazotrofas.

Introducción. *Hypericum silenoides* es una planta herbácea perteneciente a la familia Guttiferaceae. Utilizada en la medicina tradicional como anti-inflamante, bactericida, cicatrizante de heridas (1) y en Chiapas, México, las comunidades indígenas la emplea para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales. La aplicación de la micropropagación para la producción de plantas ha sido demostrado con eficiencia en el cultivo de especies vegetales que contienen metabolitos secundarios útiles (2). Especies del género *Hypericum*, han sido propagadas *In vitro* de manera exitosa. No obstante, las plantas cultivadas bajo esta técnica, presentan alta mortalidad al transferirse a condiciones de crecimiento *Ex vitro*. Técnicas biotecnológicas, tales como la aplicación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal han sido efectivas para inducir cambios en las plantas inoculadas para mejorar el crecimiento vegetal (3).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la inoculación de bacterias diazotrofas sobre el crecimiento y contenido de nitrógeno en *Hypericum silenoides*.

Metodología. Las semillas se colectaron en el municipio de Chenalhó, Chiapas. Fueron escarificadas con 2.5% Ca(ClO)₂ por 20 min. Germinadas en 0.8% agar-agua e incubadas a 20 °C. Las plántulas de 4 meses fueron colocadas en tubos de ensayo de 20 X 200 mm, con 20 ml de medio Farhaeus, 30 g/L sacarosa, 2.5 g/L phytigel, pH 6.8 y en macetas de polipropileno llenadas con Peat Moss estéril y saturadas con una solución nutritiva libre de nitrógeno (4). Se inocularon al nivel de raíz con 1 ml de 1X10⁷ cel-ml de *Azospirillum brasilensis* cd, *Rhizobium multihospitium* 11b y *Pseudomonas fluorescens* EU-05, solución KNO₃ al 1.25 M (control positivo) y un control negativo sin inóculo fue utilizado. Después de 120 días se evaluaron: longitud total, longitud de raíz y nitrógeno por Bremner y Mulvaney 1982.

Resultados. En el presente estudio tres bacterias fijadoras de nitrógeno fueron probadas su eficiencia para promover el crecimiento vegetal bajo condiciones *Ex vitro* e *In vitro*, además de un control negativo y positivo. Entre las bacterias fijadoras de nitrógeno evaluadas, en condiciones *Ex vitro*, *Rhizobium multihospitium* 11b y *Azospirillum brasilense* cd se encontraron los más

efectivos en el crecimiento de plántulas de *H. silenoides* (12.625 y 13.375 cm, respectivamente) comparado con *Pseudomonas fluorescens* EU-05, el control positivo y negativo. En condiciones *In vitro*, *Azospirillum brasilense* cd fue encontrado el más efectivo en el crecimiento vegetal y longitud de raíz (Tabla 1 y 2). La cantidad de nitrógeno se presenta en la tabla 1 y 2; las plantas inoculadas con *Azospirillum brasilense* cd presentaron mayores valores en el contenido de nitrógeno, y fue más bajo en el control negativo. Sin embargo en las plantas *In vitro* no hubo diferencia estadística entre tratamientos.

Tabla 1. Efecto de los tratamientos sobre la longitud total, longitud de raíz y el contenido de nitrógeno total en *Hypericum silenoides*.

Tratamiento	Longitud total (cm)	Longitud raíz (cm)	Nitrógeno (mg/planta)
Control negativo	7.55 b	4.37 a	80.5 c
Control positivo	10.0 ab	6.75 a	468.2 bc
<i>Pseudomonas fluorescens</i> EU-05	10.625 ab	6.37 a	876.25 bc
<i>Rhizobium multihospitium</i> 11b	12.625 a	7.0 a	2143.5 ab
<i>Azospirillum brasilensis</i> cd	13.375 a	6.5 a	3244.25 a

Tabla 2. Efecto de los tratamientos sobre la longitud total, longitud de raíz y el contenido de nitrógeno total en *Hypericum silenoides* bajo condiciones *In vitro*.

Tratamiento	Longitud total (cm)	Longitud raíz (cm)	Nitrógeno (mg/planta)
Control negativo	14.125 c	7.625 bc	1577.5 a
Control positivo	16.24 bc	10.25 b	1650.0 a
<i>Pseudomonas fluorescens</i> EU-05	7.5 d	2.125 c	1732.5 a
<i>Rhizobium multihospitium</i> 11b	20.25 ab	13.25 ab	1815.0 a
<i>Azospirillum brasilensis</i> cd	21.5 a	17.75 a	2244.0 a

Conclusiones. Bajo condiciones *Ex vitro* la inoculación de *H. silenoides* con *A. brasilense* y *R. multihospitium* incremento la altura de la planta y el contenido de nitrógeno.

Bibliografía.

1. Patoka J. 2003. *J. of Applied Biomedicine*. 1, 61-70.
2. Rout et al., 2000. *Biotech Ad* 18:91-120.
3. Thomas J., Ajay D., Kumar R.R., Mandal A.K.A. 2010. *Plant Cell Tiss Organ Cult*. 101:365-370.
4. Fahraeus G. 1957. *Journal General Microbiology*. 16: 374-381.