

El uso de tres cepas diferentes de *Rhizobium* como fertilizante natural, comparado con un fertilizante químico

Ana Paula Gartland, Ana Paulina Duran, Alfredo Rangel, Fernanda Tovar

Colegio Marymount de Cuernavaca, E-mail: colegio@marymount.edu.mx

Asesor: Dr. Federico Sánchez, Instituto de Biotecnología, UNAM-Campus Morelos.

2 de junio de 2011

Resumen

El nitrógeno es un elemento fundamental para el desarrollo de las plantas. *Rhizobium* es una bacteria que fija nitrógeno para las plantas del frijol y ayuda de esta manera a su crecimiento. Por otro lado, los fertilizantes químicos hechos a partir de la descomposición de la molécula de nitrógeno, también ayudan al crecimiento de las plantas sin embargo la producción de estos requiere de una gran cantidad de energía y su uso contamina los subsuelos. En esta investigación el objetivo principal fue comparar dos cosas; la cantidad de nitrógeno fijada entre tres diferentes cepas de *Rhizobium*, (*Rhizobium etli* storbd, *Rhizobium etli* CFN42 y *Rhizobium tropici* CIAT899 wt) y el crecimiento de estas a comparación de plantas fertilizadas con un fertilizante químico hecho a base nitrato de potasio pasadas las tres semanas de crecimiento. El experimento consistió en inocular setenta y cinco plantas con las diferentes cepas de *Rhizobium* (veinticinco por cada sepa) y fertilizar otras veinticinco plantas con un fertilizante químico hecho a base de nitrato de potasio. Las cien plantas fueron colocadas en el invernadero y después de tres semanas se calculo con el segundo trifolio de cada planta el peso fresco, turgente y seco. Posteriormente se utilizo la raíz de las plantas biofertilizadas para calcular la fijación de nitrógeno en el cromatógrafo de gases. Los resultados fueron graficados y evaluados. *Rhizobium tropici* fue la cepa que mas fijo nitrógeno para las plantas del frijol y la que obtuvo valores del peso fresco, turgente y seco mayores a los de las plantas inoculadas con las otras cepas. Aun así, el fertilizante químico fue significativamente superior a los biofertilizantes

Introducción

A pesar de que el nitrógeno es un gas que conforma el 78 % de la atmósfera y es un elemento fundamental en el desarrollo de muchos seres vivos, existen pocos organismos capaces de aprovecharlo directamente como es encontrado en la atmósfera. *Rhizobium etli*, es uno de estos pocos organismos capaces de descomponer

el N_2 a su forma reducida, el ion amonio NH_4^+ , haciéndolo entonces asimilable para otros seres vivos.

Rhizobium etli y la planta del frijol establecen una simbiosis que favorece tanto a la planta como a la bacteria; mientras *Rhizobium* fija nitrógeno para la planta, ésta le proporciona compuestos de carbono, los cuales son producto de la fotosíntesis [1].

Existen varias cepas de *Rhizobium* caracterizadas por sus diferentes propiedades. Por ejemplo, la cepa de *Rhizobium etli* storbd se caracteriza por su superfijación, es decir, es capaz de fijar una gran cantidad de nitrógeno en la raíz de la planta del frijol. También, podemos encontrar cepas como la de *Rhizobium etli* CFN42, así como la cepa *Rhizobium tropici* CIAT899 que es la cepa silvestre.

La fijación de nitrógeno es un proceso tan importante para el desarrollo de las plantas que la industria ha creado numerosos fertilizantes químicos, como el nitrato de potasio (un compuesto asimilable por las plantas) para nutrir a las plantas [2]. Para poder descomponer los enlaces en una molécula de N_2 son necesarias dos atmósferas de presión y una temperatura de $550^\circ C$. Sin embargo, dicho proceso es muy contaminante debido a la gran cantidad de energía que requiere. Además, al ser utilizados, se infiltran en los mantos freáticos, contaminándolos y robándoles el oxígeno a los peces. Por lo tanto, es muy importante el estudio de la fijación de nitrógeno hecha por los microorganismos, como *Rhizobium*; para que de tal manera el uso de fertilizantes químicos pueda reducirse, ayudando así a la ecología [3]. De hecho, hay lugares en los que los biofertilizantes se están usando como una alternativa a los fertilizantes químicos. Por ejemplo, en el estado de Morelos, el 30 % del sector agrícola utiliza fertilizantes biológicos en los cuales se encuentra la presencia de microorganismos [4].

Antecedentes

Para que se lleve a cabo la infección de esta bacteria en la planta del frijol, *Rhizobium* es atraída por un compuesto químico liberado por la planta cuando a ésta le falta nitrógeno. La bacteria se introduce a la planta por el pelo de la raíz formando lo que se denomina como hilo infeccioso. A través de éste, *Rhizobium* se introduce a la planta e infecta las células corticales por medio de un proceso endocítico, en el cual están involucradas una serie de proteínas que inhiben la maduración del endosoma evitando que éste sea degradado en la vacuola [5]. Estando la bacteria en la raíz de la planta formará nódulos en éstas; y ahí, se llevará a cabo la fijación de nitrógeno.

La cantidad de agua contenido en las hojas de frijol se determinará gracias a sus tres diferentes pesos: fresco, turgente y seco. El peso fresco es aquel que se obtiene cuando las hojas han sido recientemente arrancada de la planta. Al dejar estas mismas hojas en frascos con agua en un cuarto frío a $4^\circ C$ y cubiertas para evitar que les dé la luz y tengan actividad, obtenemos el peso turgente. Por último, el peso seco se obtiene al dejar las mismas hojas en un horno a $60^\circ C$ durante 78 horas.

Hipótesis

La cepa de *Rhizobium etli* storbd (superfijador) fija más nitrógeno que las otras cepas, *Rhizobium etli* CFN42 wt y *Rhizobium tropici* CIAT899, y proporciona un mayor

crecimiento a las plantas que los otros biofertilizantes y el fertilizante químico empleado.

Objetivos

- Comparar la fijación de nitrógeno a partir de la raíz de las plantas inoculadas con las cepas *Rhizobium etli* Storbd (superfijador), *Rhizobium etli* CFN42(wt) y *Rhizobium tropici* CIAT899 mediante cromatografía de gases.
- Comparar el crecimiento de las plantas sometidas a los diferentes fertilizantes, biológicos y químico por medio del peso fresco, turgente y seco de estas.

Estrategia experimental

Realizar cuatro experimentos utilizando tres diferentes cepas de *Rhizobium* y un fertilizante químico. Repetir cada experimento veinticinco veces y procurar el cuidado de las plantas colocadas en el invernadero del IBT a 25 grados centígrados y 40 % de humedad durante tres semanas, regándolas con un medio rico en nutrientes B&D (especificado en metodología), cada tres días. (Para aquellas plantas inoculadas con alguna cepa de *Rhizobium*, el medio careció de nitrato de potasio.)

Después de tres semanas de crecimiento, medir la fijación de nitrógeno de las raíces de las plantas fertilizadas con *Rhizobium* por medio del cromatógrafo de gases. El cromatógrafo de gases mide el porcentaje de acetileno convertido en etileno en las raíces de las plantas para determinar la cantidad de nitrógeno fijada en estas.

Comparar los resultados para establecer que cepa obtuvo una mayor fijación de nitrógeno pasadas las tres semanas.

Posteriormente calcular el peso fresco del segundo trifolio de cada planta (El “segundo trifolio” es el segundo trío de hojas que surge del tallo de la planta) inoculada con las diferentes cepas de *Rhizobium* y de las plantas fertilizadas con nitrato de potasio. En seguida, poner esos mismos trifolios en frascos con agua suficiente para taparlos y una vez hecho esto dejarlos un día en el cuarto frío a cuatro grados centígrados para estimar el peso turgente. Por último, deshidratar completamente los trifolios en el horno a sesenta y cinco grados centígrados durante tres días para calcular el peso seco.

Comparar el peso fresco, turgente y seco de las plantas fertilizadas biológicamente y a su vez, compararlas con aquellas fertilizadas químicamente, para determinar el crecimiento.

Lugar: Laboratorio del Dr. Federico Sánchez en el Instituto de Biotecnología de la UNAM, Campus Morelos.

Materiales:

- 70 semillas de frijol
- Nitrato de potasio

- *Rhizobium etli* storbd
- *Rhizobium etli* CFN42 wt
- *Rhizobium tropici* CIAT899.
- Cromatógrafo de gases
- Balanza de precisión
- Horno
- Cuarto frio
- Invernadero
- Campana

(El resto del material se encuentra en el ANEXO1)

Metodología

1. Cultivar las bacterias de *Rhizobium etli* storbd, *Rhizobium etli* CFN42 y *Rhizobium tropici* CIAT899 wt siguiendo los pasos que a continuación se presentan:

- Inocular un matraz con 100 ml de medio y poner en agitación durante toda la noche a 30° C.
- Centrifugar el cultivo.
- Lavar las células con 50-100 ml de MgSO₄, 10 mM estéril.
- Re-suspender las células en MgSO₄ 10 mM estéril en el mismo volumen que se incubó y leerla OD 600 nm.

2. Limpiar las semillas que van a ser cosechadas:



- Lavar las semillas de frijol con agua destilada estéril
- Agregar hipoclorito de sodio para eliminar las bacterias.
- Reposar por unos minutos y enjuagar el hipoclorito de sodio con agua destilada estéril.
- Agregar etanol al 70 % y volver a enjuagar con agua destilada estéril.

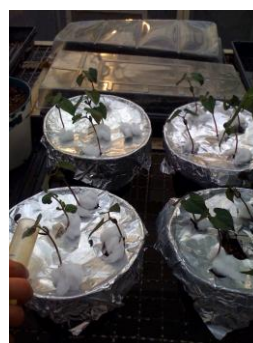
3. Acomodar las semillas sobre una charola con papel húmedo y cubrirlas con papel aluminio para que germinen durante dos días.



4. Destapar las semillas, sembrarlas en macetas con vermiculita e inocular 75 plantas con un mililitro de cultivo de las tres diferentes cepas de bacterias (veinticinco por cada cepa). En un mililitro existen alrededor de 1×10^8 . Esta medida es la cantidad máxima que puede ser asimilada por la planta, cantidades mayores ya no lo son.



5. Después de dos días comenzar a suministrar el medio nutritivo a las 40 plantas. Para las diez plantas que no se inocularon, se les suministró (regándolas) un medio con 8 mM de nitrato de potasio por cada litro de agua destilada estéril. Se escogió esta cantidad, ya que es la utilizada comúnmente en la industria agrícola y es la cantidad con la cual la atracción de la planta por la bacteria se inhibe. Así, el crecimiento de las plantas pudo ser contribuido únicamente al fertilizante químico y de esta manera, establecimos una comparación justa entre ellas.



(La composición del medio B&D se ilustra en el ANEXO 2)

6. Regar con el medio nutritivo correspondiente durante tres semanas, cada tres días. Aquellos días que no se suministre con el medio nutritivo, regar la planta con agua estéril.

7. Después de tres semanas de crecimiento, medir mediante del cromatógrafo de gases la cantidad de nitrógeno fijado en veinticinco plantas inoculadas con *Rhizobium etli* storbd; veinticinco con *Rhizobium etli* CFN42 wt; y veinticinco con *Rhizobium tropici* CIAT899. Para obtenerlo, primero se inyectaron con una aguja 2 ml de acetileno (en estado gaseoso) en los frascos cerrados que contenían las raíces de las plantas. Se dejó reposar durante 20 minutos y se extrajeron 2 ml de aire, los cuales fueron inyectados en el cromatógrafo de gases. Así, se obtuvo la conversión de acetileno a etileno, es decir, la fijación de nitrógeno.

8. Después de tres semanas de crecimiento, calcular el peso fresco de cada planta inoculada con las diferentes cepas de *Rhizobium* y de las plantas fertilizadas con nitrato de potasio, posteriormente sacar el peso turgente y por último, calcular el peso seco de éstas.

9. Comparar los resultados obtenidos por medio de gráficas y determinar si existe alguna diferencia significativa entre ellas con la desviación estándar y la prueba estadística t de student.

Variable dependiente: Cantidad de nitrógeno fijado después de tres semanas en las plantas inoculadas con *Rhizobium*, determinado por el porcentaje de acetileno reducido a etileno.

Variables independientes: Fertilizantes biológicos: *Rhizobium etli*, *Rhizobium etli* storbd CFN42, *Rhizobium tropici* CIAT899. Fertilizante químico: Nitrato de potasio.

Resultados y discusión

En la Figura 1 se ilustra que el promedio del peso fresco, seco y turgente de todos los fertilizantes.

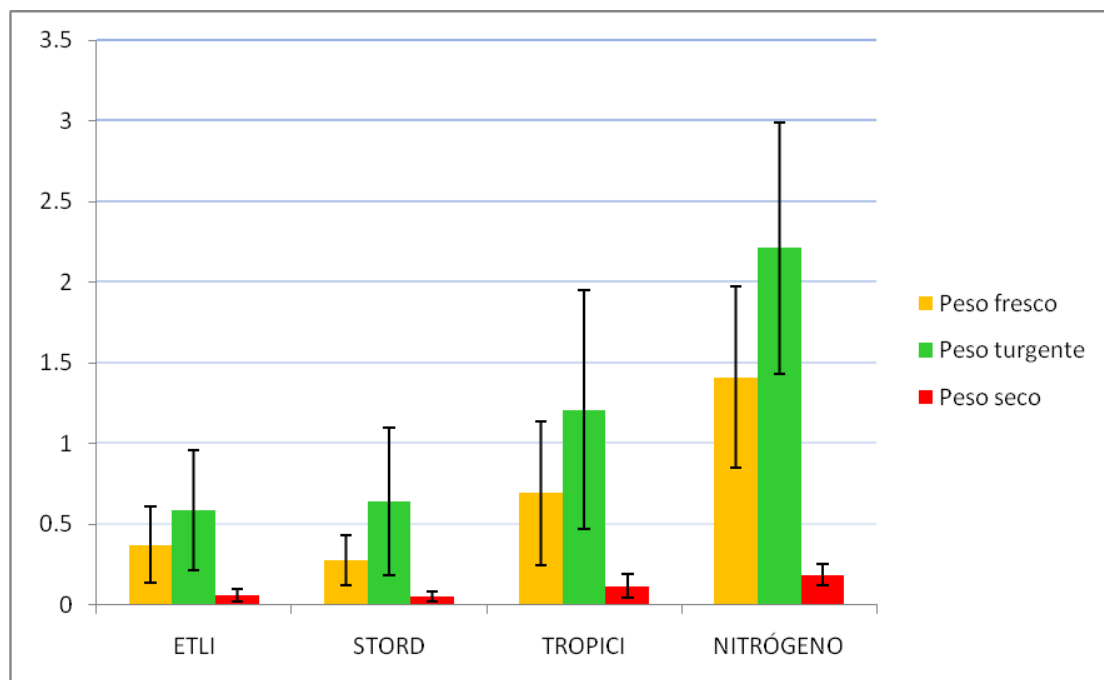


Figura 1

Como podemos observar en la figura 1, el fertilizante químico supero a los biológicos enormemente. Según los cálculos de la prueba estadística *t student* la cepas *etli* y *etli storbd* no presentaron diferencia significativa en ninguno de los pesos calculados. En cuanto al peso fresco, ningún fertilizante incluyendo el químico tuvo una diferencia significativa.

En la Figura 2 se ilustra el promedio obtenido de fijación en las raíces de las plantas de las tres cepas diferentes; *etli*, *storbd* y *tropici*

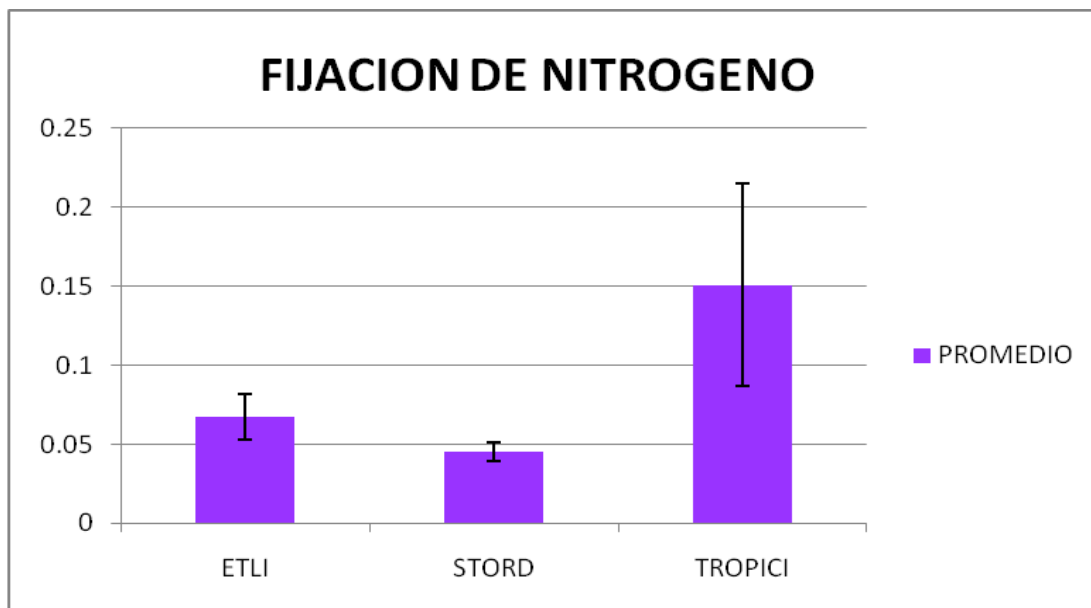


Figura 2

Como podemos observar en la tabla, *tropici* fue la cepa que más fijó nitrógeno, siguiéndola *storbd* y por ultimo *etli*. Todas obtuvieron diferencias significativas entre ellas según la prueba estadística *t student*.

Ver anexo.

A pesar de que las plantas inoculadas con *Rhizobium* sí crecieron durante las tres semanas, las plantas que se regaron con nitrato de potasio crecieron más. Esto nos demuestra que los biofertilizantes son efectivos y, por lo tanto, una solución viable para el problema ecológico al que nos enfrentamos. Sin embargo, todavía no se pueden sustituir por completo los fertilizantes químicos ya que para satisfacer las necesidades alimentarias de la población, se necesita que los cultivos crezcan rápido y sean de buena calidad. Pero como ya mencionamos anteriormente, los fertilizantes biológicos sí pueden ser utilizados, por lo menos en algún porcentaje de las cosechas.

Conclusiones

La hipótesis fue refutada ya que el fertilizante químico fue superior a todas las cepas de *Rhizobium*, obteniendo mayores magnitudes en la estimación del peso fresco,

turgente y seco. Entre los biofertilizantes, *tropicici* fue el la cepa que obtuvo mayores magnitudes en la estimación del peso fresco, turgente y seco y también logro una mayor fijación de nitrógeno en las raíces de las plantas a comparación de las otras cepas.

Bibliografía

[1] Quinto, C., Cárdenas, L. (2007). Diálogo para ganar: interacción simbiótica entre una bacteria del suelo y el frijol, en: López-Munguía, A. Una ventana al quehacer científico. Instituto de Biotecnología de la UNAM, 25 aniversario, cap 24. México, D.F.. UNAM. pags. 273-279. Consulta en la página electrónica el 27 de febrero del 2011: http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/libro_25_aniv/capitulo_24.pdf

[2] Wikipedia, la enciclopedia libre (2010, diciembre 9). Fertilizante. Consulta en la página electrónica el 28 de febrero del 2011: <http://es.wikipedia.org/wiki/Fertilizante>

[3] Trujillo, C. (sin fecha). *Rhizobium etli*: El primer genoma de un organismo completo secuenciado en México. Artículo consultado en la página electrónica de la revista *Hypatia* el 25 de mayo del 2011: http://hypatia.morelos.gob.mx/index.php?option=com_content&task=view&id=46&Itemid=37

[4] Caballero, Jesús. (2010, septiembre) Microbios que nutren a las plantas (Biofertilizantes). Periódico La Unión de Morelos. Artículo consultado en la página electrónica de la Academia de Ciencias de Morelos el 25 de mayo del 2011: http://www.acmor.org.mx/descargas/10_sep_13_microbios.pdf Páginas: 34-35.

[5] Heredia, J., Marín, A., Martínez, O., Rocha, P., Rosette, L., (2009) ¿Es fundamental la presencia del PI3P para la formación de nódulos en plantas de frijol? Reporte final del proyecto de la materia Metodología de la Investigación, Colegio Marymount Cuernavaca. Pp: 2-7. Consultado en la página electrónica de la Academia de Ciencias de Morelos, el 27 de febrero del 2011: <http://www.marymount.edu.mx/ciencias/PI3P.pdf>

ANEXO

A continuación se muestra una lista de todos los materiales utilizados para el experimento llevado a cabo en el proyecto de investigación.

Materiales:

- 70 semillas de frijol
- Agua destilada estéril
- Hipoclorito de sodio
- Etanol
- Matraz Erlenmeyer
- Micropipetas
- Papel húmedo
- Nitrato de potasio
- *Rhizobium etli* storbd
- *Rhizobium etli* CFN42 wt
- *Rhizobium tropici* CIAT899.
- Charola de metal
- Papel aluminio
- Medio nutritivo con nitrato de potasio
- Medio nutritivo sin nitrato de potasio

Equipo:

- Cromatógrafo de gases
- Balanza de precisión
- Horno
- Cuarto frío
- Invernadero
- Campana

Aquí se especifica las sustancias que componen al medio nutritivo que se utilizo para regar las plantas durante las tres semanas de crecimiento. Para aquellas plantas que no fueron inoculadas con las cepas de *Rhizobium* este medio contenía nitrato de potasio concentrado a 8 mM.

Sol.	Elemento forma	PM	Cantidad	Stock	Conc.	Para
Stock			(g/l)	(Conc. M)	final (uM)	1L

A	Ca	CaCl ₂ H ₂ O	147.03	294.1	2	1000	0.5ml
B	P	KH ₂ PO ₄	136.09	136.09	1	500	0.5 ml
C	Fe	Fe-citrarte	335.04	6.70	0.02	10	0.5ml
D	Mg	MgSO ₄ .7H ₂ O	246.5	123.30	0.5	250	0.5ml
	K	K ₂ SO ₄	174.06	87.00	0.5	1500	
	S					500	
	Mn	MnSO ₄ .H ₂ O	169.02	0.338	0.002	1	
	B	H ₃ BO ₃	61.84	0.247	0.004	2	
	Zn	ZnSO ₄ .7H ₂ O	287.56	0.288	0.001	0.5	
	Cu	CuSO ₄ .5H ₂ O	249.69	0.100	0.004	0.2	
	Co	CoSO ₄ .7H ₂ O	281.12	0.056	0.0002	0.1	
	Mo	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	241.98	0.048	0.0002	0.1	

Los datos obtenidos del peso fresco, seco y turgente de cada segundo trifolio de las veinticinco plantas por fertilizante, se muestran en las tablas a continuación.

PESO SECO			
ETLI	STORD	TROPICI	NITRÓGENO
0.0637	0.0351	0.0857	0.1832
0.0588	0.0291	0.0668	0.1452
0.0598	0.0187	0.0266	0.2645
0.033	0.1196	0.0494	0.349
0.0619	0.0407	0.0627	0.0924
0.0602	0.0435	0.0152	0.181
0.1399	0.0446	0.1873	0.1715
0.0286	0.0154	0.1795	0.0814
0.0421	0.0154	0.031	0.2176
0.0431	0.025	0.1863	0.1199
0.041	0.0759	0.2338	0.2116
0.0235	0.081	0.1291	0.1655
0.0356	0.0424	0.0902	0.2964
0.1256	0.0776	0.0612	0.1839
0.0223	0.0739	0.0793	0.1515
0.0401		0.065	0.199
0.1315		0.2515	0.0482
		0.1572	0.2596
		0.2206	0.1885
			0.1546
			0.2164
			0.1508
			0.1793
			0.2452
			0.1338

PESO TURGENTE

ETLI	STORD	TROPICI	NITRÓGENO
0.3845	0.4542	1.1362	1.8636
0.581	0.4273	0.613	1.5615
0.5653	0.3355	0.49	3.0945
0.3848	0.8609	0.8765	3.5161
0.5758	0.4099	0.2235	1.6103
0.6206	0.3714	0.3175	2.0325
1.425	0.7147	1.476	1.645
0.3526	0.1655	1.4214	1.2447
0.5246	0.1743	0.3921	2.8836
0.2743	2.0274	2.3632	1.2605
0.4405	0.2948	2.4825	2.9142
0.2275	0.7803	1.6525	4.0288
0.4311	0.7646	0.7721	2.0632
1.125	1.0106	0.546	1.7099
0.2509	0.5325	1.3166	2.3417
0.4059	1.1533	2.428	0.66
1.405	0.417	1.296	2.5802
		1.9086	2.3522
			1.7841
			2.8409
			1.9295
			2.2611
			2.9235
			1.9546

PESO FRESCO			
ETLI	STORD	TROPICI	NITRÓGENO
0.2964	0.1802	0.5949	1.2548
0.3773	0.1853	0.4409	1.0782
0.3327	0.1206	0.1632	1.9867
0.2161	0.5806	0.3307	2.7778
0.3869	0.2023	0.4372	0.7344
0.405	0.2441	0.1018	1.3186
0.8531	0.2836	0.1995	1.2293
0.179	0.0873	1.1276	0.5808
0.261	0.0942	1.0918	1.8306
0.2017	0.1392	0.2539	0.8879
0.2833	0.4804	1.2343	1.915
0.1398	0.4047	1.424	1.307
0.2468	0.4292	0.9853	2.4531
0.726	0.3375	0.5875	1.3376
0.1858	0.4825	0.3968	1.0731
0.2645	0.1553	0.5297	1.5676
0.9212		0.3374	0.3808
		1.444	1.9563
		0.9376	1.3044
		1.2381	1.0783
			1.7703
			1.0642
			1.3352
			1.9198
			1.0768

Para graficar las tablas y comprobar si las medias comparadas eran significativamente diferentes, se sacaron los valores de desviación estándar y se hizo la prueba estadística *t student*. A continuación se explica detalladamente cómo se llevaron a cabo las pruebas previamente mencionadas.

Con los datos que se muestran en las tablas anteriores se estimaron las medias y se graficaron con sus respectivas desviaciones estándar. Las desviaciones fueron calculadas con la raíz del cuadrado de la diferencia de cada uno de los datos y la media del conjunto dividido entre el número de datos.

El error estándar se calculo dividiendo la desviación estándar entre la raíz del numero de datos.

El error estándar de la diferencia se estimo con la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados del error estándar de los conjuntos de datos puestos a comparación.

La prueba estadística *t student* fue calculada restando el error estándar de los dos grupos sometidos a esta prueba y dividiendo el resultado entre el error estándar de la diferencia.

FIJACIÓN DE NITRÓGENO			
<i>CEPA</i>	<i>ETLI</i>	<i>STORD</i>	<i>TROPICI</i>
<i>CEPA</i>			
<i>ETLI</i>		Las medias son significativamente diferentes	Las medias son significativamente diferentes
<i>STORD</i>	Las medias son significativamente diferentes		Las medias son significativamente diferentes
<i>TROPICI</i>	Las medias son significativamente diferentes	Las medias son significativamente diferentes	

PESO SECO				
<i>CEPA</i>	<i>ETLI</i>	<i>STORD</i>	<i>TROPICI</i>	<i>NITRÓGENO</i>
<i>CEPA</i>				
<i>ETLI</i>		Las medias NO son significativamente diferentes.	Las medias son significativamente diferentes.	Las medias son significativamente diferentes.

<i>STORD</i>	Las medias son significativamente diferentes.		Las medias son significativamente diferentes.	Las medias son significativamente diferentes.
<i>TROPICI</i>	Las medias son significativamente diferentes.	Las medias son significativamente diferentes.		Las medias son significativamente diferentes.
<i>NITRÓGENO</i>	Las medias son significativamente diferentes.	Las medias son significativamente diferentes.	Las medias son significativamente diferentes.	

PESO FRESCO				
<i>CEPA</i>	<i>ETLI</i>	<i>STORD</i>	<i>TROPICI</i>	<i>NITRÓGENO</i>
<i>CEPA</i>				
<i>ETLI</i>		Las medias NO son significativamente diferentes.	Las medias NO son significativamente diferentes.	Las medias NO son significativamente diferentes.
<i>STORD</i>	Las medias NO son significativamente diferentes.		Las medias NO son significativamente diferentes.	Las medias NO son significativamente diferentes.
<i>TROPICI</i>	Las medias NO son significativamente diferentes.	Las medias NO son significativamente diferentes.		Las medias NO son significativamente diferentes.
<i>NITRÓGENO</i>	Las medias NO son significativamente diferentes.	Las medias NO son significativamente diferentes.	Las medias NO son significativamente diferentes.	

PESO TURGENTE

PESO TURGENTE				
<i>CEPA</i>	<i>ETLI</i>	<i>STORD</i>	<i>TROPICI</i>	<i>NITRÓGENO</i>
<i>CEPA</i>				
<i>ETLI</i>		Las medias NO son significativamente diferentes.	Las medias son significativamente diferentes.	Las medias son significativamente diferentes.
<i>STORD</i>	Las medias son significativamente diferentes.		Las medias son significativamente diferentes.	Las medias son significativamente diferentes.
<i>TROPICI</i>	Las medias son significativamente diferentes.	Las medias son significativamente diferentes.		Las medias son significativamente diferentes.
<i>NITRÓGENO</i>	Las medias son significativamente diferentes.	Las medias son significativamente diferentes.	Las medias son significativamente diferentes.	

El uso de tres cepas diferentes de *Rhizobium etli*

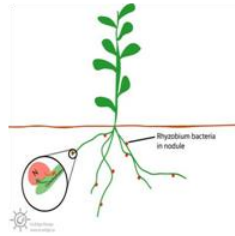
como fertilizante natural comparado con un fertilizante químico

Fernanda Tovar Villalobos, Alfredo Rangel Rebollar, Ana Paula Gartland Masana, Ana Paulina Durán Marín

Introducción:

Rhizobium, es un organismo capaz de descomponer el N_2 , haciéndolo asimilable para otros seres vivos. La bacteria y la planta establecen una simbiosis en la cual *Rhizobium* fija nitrógeno en la planta, y ésta le proporciona cadenas de carbono. [1]

De igual manera, la industria ha creado fertilizantes químicos, como el nitrato de potasio. [2]



Materiales:

- 40 plantas de frijol
- Agua destilada estéril
- Hipoclorito de sodio
- Etanol
- Matraz Erlenmeyer
- Nitrato de potasio
- Medio nutritivo (B&D) con y sin nitrato de potasio
- Cepas de *Rhizobium*
- Balanza analítica
- Cromatógrafo
- Horno
- Frascos de vidrio

Objetivo:

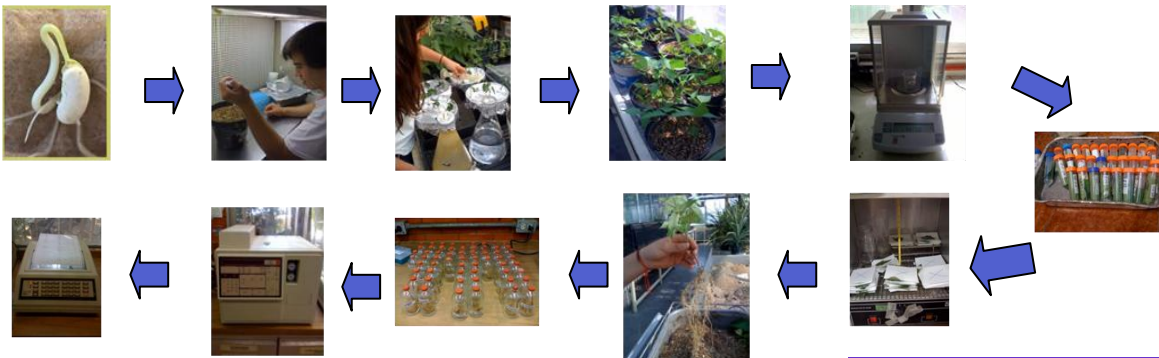
Comparar la fijación de nitrógeno entre tres distintas cepas de *Rhizobium*.

Comparar el peso fresco, turgente y seco de plantas inoculadas con tres cepas de *Rhizobium*; y a su vez, compararlo con plantas fertilizadas con nitrato de potasio, después de tres semanas de desarrollo.

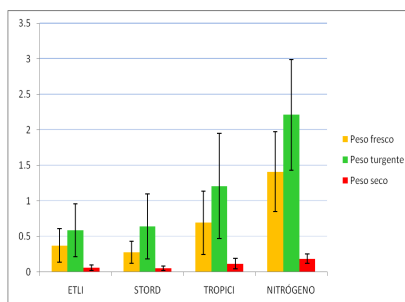
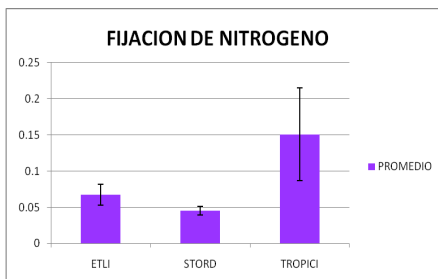
Hipótesis:

La cepa de *Rhizobium storbd*, fija más nitrógeno que las otras cepas de *Rhizobium*, proporcionando un mayor crecimiento en las plantas en comparación con las inoculadas con las otras cepas; y a su vez, con aquellas fertilizadas con nitrato de potasio.

Metodología:



Resultados:



Conclusiones:

La hipótesis fue refutada ya que el fertilizante químico fue superior a todas las cepas de *Rhizobium*, obteniendo mayores magnitudes en la estimación del peso fresco, turgente y seco. Entre los biofertilizantes, *tropici* fue el la cepa que obtuvo mayores magnitudes en la estimación del peso fresco, turgente y seco y también logro una mayor fijación de nitrógeno en las raíces de las plantas a comparación de las otras cepas.

Bibliografía

- {1} Biotecnología, IBT UNAM, 11/14/07, pg. 273 URL: http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/libro_25_aniv/capitulo_24.pdf a 27/02/2011
- {2} Anónimo, "Fertilizante", Wikipedia, la enciclopedia libre, URL <http://es.wikipedia.org/wiki/Fertilizante> a 28/02/2011