

FIJACIÓN BIOLÓGICA DE NITRÓGENO Y SUS APLICACIONES PRÁCTICAS

Objetivos del curso:

El objetivo del curso es introducir y actualizar al estudiante en los aspectos básico y aplicados de la Fijación Biológica de Nitrógeno Atmosférico (FBN). El curso proporcionará conocimientos y técnicas actualizadas con la finalidad de que el estudiante adquiera una formación que le permita desarrollar en el futuro líneas de investigación independientes en esta área científica y en otras relacionadas, así como acceder a cursos avanzados de especialización en el área.

Programa de teórico:

Ciclo global del nitrógeno y su importancia. Transformaciones biológicas del nitrógeno. Fertilizantes nitrogenados. La fijación biológica de N₂.

Sistemas biológicos fijadores de nitrógeno atmosférico (N₂) y su importancia relativa en ecosistemas naturales y modificados. Bacterias fijadoras de vida libre. Bacterias que forman asociaciones fijadoras: Rizocenosis, Simbiosis asociativas (Anabaena-Azolla) y Rizoendosimbiosis (Frankia).

Microorganismos endófitos fijadores de N₂ (Acetobacter, Herbaspirillum) en caña de azúcar, arroz, sorgo y otras especies de interés económico. Aislamiento, cultivo, identificación y principales líneas de investigación.

La simbiosis Rhizobium - leguminosa. Géneros Rhizobium, Bradyrhizobium y Azorhizobium (formación de nódulos caulinares). Taxonomía de Rhizobium e identificación.

Eventos tempranos en el establecimiento de la simbiosis Rhizobium - leguminosa.

Bases moleculares del proceso de infección: genes nod, nod D y nod ABC, su regulación. Especificidad simbiótica. Genes de la fijación biológica de N₂, organización y función. Regulación de la expresión de los genes fix y nif.

Enzima nitrogenasa. Componentes. Sustratos e inhibidores de su actividad.

Funcionamiento. Métodos de evaluación de la nitrogenasa.

Fisiología de la fijación de N₂ y metabolismo del C en los nódulos. Leghemoglobinas. Fosfoenolpiruvato carboxilasa.

Factores ambientales que afectan la ondulación y fijación simbiótica de N₂ efecto del nitrógeno químico sobre la formación y fijación de N₂ en los nódulos. Barrera a la difusión de O₂. Dinámica de las poblaciones de rizobios en los suelos, competencia y persistencia.

Determinación de la necesidad de inoculación de las leguminosas en campo.

Selección de cepas de Rhizobium para inoculantes.

Biotecnología de la producción de inoculantes de rizobios para leguminosas. Equipos e insumos. Tipos de inoculantes. Control de calidad de los inoculantes y estándares mundiales.

Métodos de inoculación de semillas de leguminosas. Evaluación de los inoculantes en campo. Legislación.

Programa de práctico:

Manipulación de cultivos rizobios.

Colecta de nódulos y conservación. Medios de cultivo. Aislamiento de rizobios y autenticación. Métodos de conservación de cultivos de rizobios.

Conteo de rizobios en medio sólido y líquido.

Conteo de rizobios viables y totales. Densidad óptica. Determinación del número más probable (NMP) por el método de infección en plantas para suelos e inoculantes.

Caracterización e identificación de cepas de Rhizobium.

Caracterización fisiológica y bioquímica de cultivos de rizobios. Resistencia a

antibióticos. Técnica de ELISA. Métodos de biología molecular aplicados en la identificación de cepas de rizobios.

Cuantificación de la fijación simbiótica de N₂.

Métodos: reducción de acetileno, nitrógeno total y determinación de ureídos. Métodos isotópicos (¹⁵N).

Selección de cepas de Rhizobium.

Sistemas de crecimiento de plantas en condiciones controladas: tubos, botellas de Leonard, bolsas de crecimiento. Esterilización superficial de semillas y siembra aséptica. Diseño y evaluación de la eficiencia en fijación simbiótica de N₂ en experimentos realizados en condiciones controladas y en campo.

Producción y uso de inoculantes.

Preparación de inoculantes en el laboratorio, planta piloto e industria. Control de calidad de los inoculantes. Legislación vigente. Inoculación de semillas de leguminosas y peleteado. Conteo de rizobios viables sobre las semillas inoculadas.

Carga horaria:

30 horas de teórico.

20 horas de práctico.

Coordinador del curso:

Margarita Sicardi (Prof. Agregado, Grado 4).
CIN. Facultad de Ciencias.

Evaluación:

El sistema de evaluación del curso comprende: monografías individuales sobre temas específicos, cuestionarios escritos individuales y examen escrito final.