



## Fijación Biológica de Nitrógeno

Para encontrar la teoría y temas relacionados con este trabajo práctico, leer el Cuaderno N° 24

[http://www.porquebiotecnologia.com.ar/educacion/cuaderno/ec\\_24\\_act.asp?cuaderno=24](http://www.porquebiotecnologia.com.ar/educacion/cuaderno/ec_24_act.asp?cuaderno=24)

**Objetivo:** Comprobar los beneficios de la Fijación Biológica de Nitrógeno atmosférico y de la inoculación. Se sugiere dividir el curso en tres grupos.

Material por grupo de alumnos:

- 20 semillas de poroto o soja
- 10 frascos de plástico con tapa para usar como macetas
- Tierra (suficiente para llenar 10 frascos)
- Inoculante (se puede conseguir una muestra en una semillera o productora de inoculantes)
- Lavandina comercial
- Agua hervida durante 15 minutos

### Procedimiento por grupo

- Esterilizar la mitad de la tierra. Una forma sencilla de esterilizarla consiste en hervir la tierra disuelta en agua durante 15 minutos en una olla de presión o durante 30 minutos en una olla común.

- Filtrar la tierra con una tela y dejarla enfriar.

- Hacer pequeños agujeros en la base de los frascos para permitir que drene el agua de riego de las macetas.

- Llenar dos de las macetas con tierra estéril y dos con tierra no estéril.

- Hacer cuatro agujeros en cada una de las tapas (suficientemente grandes como para que entren las semillas) y tapar las macetas.

- Esterilizar las semillas: diluir el cloro al 20% (un volumen de cloro por cuatro de agua) y sumergir las semillas en esta solución durante 20 minutos. Luego enjuagarlas con agua hervida o desinfectada.

- Sólo dos de los tres grupos usarán el inoculante. Inocular la mitad de las semillas según recomendaciones del fabricante.

- Sembrar las semillas según los siguientes tratamientos:

1: Sembrar 10 semillas no inoculadas en 5 macetas con tierra estéril (2 semillas por maceta).

2: Sembrar 10 semillas no inoculadas en 5 macetas con tierra no estéril (2 semillas por maceta).

3: Sembrar 10 semillas inoculadas en 5 macetas con tierra estéril (2 semillas por maceta).

4: Sembrar 10 semillas inoculadas en 5 macetas con tierra no estéril (2 semillas por maceta).



**Nota:** cuidar que las semillas queden cubiertas con tierra.

- Cultivar las plantas durante 20 días, regándolas con agua hervida (fría).

- Solicitar a los alumnos que escriban los resultados que esperan obtener al momento de hacer la siembra.
- Analizar los resultados obtenidos. Comparar las 4 tratamientos: buscar presencia de nódulos, tamaño de las plantas, color de las hojas, actividad de los nódulos (una coloración rojiza indica que estos nódulos son activos. Otros colores, como verde o blanco indican ausencia de actividad.)
- Contrastar los resultados obtenidos con los esperados.

- Cada alumno escribirá en su cuaderno la conclusión que sacan a partir de los resultados obtenidos.

**Resultados esperados:** en los tratamientos 2, 3 y 4 las plantas deberían crecer más que las del tratamiento 1, deberán ser de un color verde más intenso y presentar nódulos en sus raíces, debido a la presencia de bacterias fijadoras de nitrógeno preexistentes en la tierra o por causa de la aplicación de inoculantes. Las semillas inoculadas deberían presentar mayor número de nódulos que en el tratamiento sin inoculación. En el tratamiento 1 no deberían visualizarse nódulos porque los microorganismos preexistentes deberían haberse degradado por la esterilización.

**Importante:** si la tierra es muy rica en nitrógeno o es muy ácida, las diferencias no podrán observarse con facilidad, ya que ambos factores actúen inhibiendo la nodulación, por lo cual se recomienda que las pruebas se realicen con tierra de diferentes zonas, para asegurar el éxito de esta actividad.