

B0645**Curso Internacional de Posgrado: Mediciones de la fotosíntesis y de la fluorescencia de la clorofila y sus aplicaciones biotecnológicas en microalgas.**

Lugar: Centro de Investigación en Ciencias del Mar y Limnología.
Escuela de Biología. Universidad de Costa Rica.

Fecha: 24 noviembre-5 de diciembre 2008.

Horario: 9 a.m.-12 m.d. y 2 p.m.- 6 p.m

Duración: 70 horas de actividad durante diez días hábiles, incluyendo clases, conferencias, prácticas en el laboratorio y seminarios de los participantes.

Coordinador: Ana Margarita Silva Benavides. Escuela de Biología y Centro de Investigación en Ciencias del Mar y Limnología, Universidad de Costa Rica. msilva@biologia.ucr.ac.cr Tel. (00506) 207 4404. Fax: (00506) 207 4216.

Profesores:

Dr. Giuseppe Torzillo. Instituto de Estudios para los Ecosistemas, Florencia, Italia.
torzillo@ise.cnr.it

M.Sc. Jenaro Acuña. Centro de Investigación en Ciencias del Mar y Limnología,
Universidad de Costa Rica. jacuna@racsa.co.cr

Dr. Hugo Perales. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, CINVESTAV-IPN,
México. hperales@yahoo.com

Dra. Ana Margarita Silva. Escuela de Biología y Centro de Investigación en Ciencias
del Mar y Limnología, Universidad de Costa Rica. msilva@biologia.ucr.ac.cr

Idiomas del curso: Español e Inglés

Requisitos:

a- El postulante debe tener conocimientos básicos en el idioma inglés, especialmente por el uso de la bibliografía y por algunas clases/conferencias de los profesores. Es recomendable que los estudiantes tengan conocimientos básicos de microalgas. Es un curso regular para estudiantes de la Universidad de Costa Rica, pero es abierto (previo pago de inscripción) a estudiantes de otras instituciones, técnicos, profesionales, académicos, interesados en el estudio de cianobacterias y microalgas y sus aplicaciones (alimento, acuicultura, tratamiento de agua, fertilizantes y energía como producción de hidrógeno y biodiesel).

b- Completar ficha de inscripción (adjunto).

c -Escribir carta de intención (explicar las razones porqué desea tomar el curso)

Fecha de inscripción: 1 de julio -30 de setiembre 2008 (Información: Dra. Ana Margarita Silva msilva@biologia.ucr.ac.cr). Tel. (506) 2-207-4404.

Número máximo de participantes: 15

Certificación:

Se entregará un certificado de aprobación del curso, emitido por la Universidad de Costa Rica.

INTRODUCCIÓN

Las microalgas son organismos fotosintéticos que contienen clorofila y pigmentos carotenoides, lo que las hace pioneras en la producción primaria de la cadena alimenticia acuática. Sostienen la producción de las pesquerías marinas y de agua dulce, así como una parte importante de la producción acuícola (moluscos, cría de larvas, etc.), asegurando un suministro estable de alimentos para el consumo humano. Asimismo, las microalgas son fuente de bioproductos de importancia económica (pigmentos, polisaturados ácidos grasos, antioxidantes) y constituyen una fuente de alimento y medicamentos.

El proceso fotosintético llevado a cabo por estos microorganismos, constituye uno de los mecanismos bioquímicos más importante para los ecosistemas acuáticos debido a diferentes razones:

- es capaz de transformar la energía lumínica en energía química que será utilizada por los seres vivos.
- ocurre la síntesis de materia orgánica a partir de materia inorgánica que se transforma en biomasa para los seres vivos.
- Ocurre liberación de oxígeno utilizado en la respiración aerobia.

Para entender los procesos fisiológicos de la fotosíntesis, es importante ensayar y monitorear varios aspectos de la fotosíntesis en el campo y en el laboratorio, usando técnicas combinadas de medición de fotosíntesis como la fluorescencia y evolución de oxígeno que proporcionan respuestas más completas del comportamiento de las microalgas al ambiente que las rodea. Así, El curso propuesto pretende ofrecer al estudiante los conceptos teóricos y metodológicos que le permitirán: a) entender los procesos fotosintéticos que ocurren en microalgas, b) entender los procesos fotosintéticos relacionados con los factores ambientales que pueden limitar su funcionamiento, y b) conocer las herramientas de medición y análisis para la realización de estudios fotosintéticos en plantas terrestres y microalgas.

Objetivos

-Estudiar el uso de metodologías utilizadas para medir la actividad fotosintética, la fluorescencia de la clorofila y el crecimiento de las cianobacterias y microalgas en condiciones de laboratorio y campo abierto.

-Proporcionar bases teóricas y prácticas para el uso de las cianobacterias y microalgas en diferentes aspectos biotecnológicos como: producción de energía (biohidrógeno y biodiesel), acualtura, alimento, producción de ácidos grasos, proteínas y pigmentos.

-Proporcionar principios generales sobre biotecnología algal en lagunas y fotobiorreactores en condiciones de campo abierto.

Metodología

Este Curso es diseñado a partir de la integración de tres componentes:

- Clases teóricas y conferencias
- Prácticas de laboratorio, discusión de resultados y lecturas seleccionadas.
- Presentación de cada participante de un seminario relacionado con cianobacterias y/o microalgas. (Para las personas que desean recibir el certificado deben realizar la presentación).

Clases teóricas:

Se proporcionará una reseña general desde el punto de vista taxonómico sobre Cyanoprocaryota, Chlorophyceae y Bacillariophyceae, principales grupos usados en el campo biotecnológico. Se explicará el concepto de la fotosíntesis como punto de partida para que el participante pueda entender los procesos fisiológicos que ocurren en cianobacterias y microalgas cuando se someten a diferentes condiciones en el laboratorio. Se explicarán conceptos teóricos relacionados con la medición de la fotosíntesis, pigmentos, evolución de oxígeno, fluorescencia, tasa de crecimiento, productividad y su aplicabilidad biotecnológica. Estos conceptos teóricos serán útiles para que el estudiante realice las prácticas en el laboratorio y obtenga las bases para la interpretación de los resultados.

Se impartirán lecciones relacionadas con la construcción y gestión de biorreactores a campo abierto para el crecimiento de cianobacterias, microalgas y sus aplicaciones biotecnológicas por parte de los profesores y conferencias proporcionadas por los participantes.

Prácticas de laboratorio:

Las prácticas de laboratorio serán un componente importante en el curso.

En las prácticas de laboratorio, los participantes trabajarán en grupos de cinco personas, con cepas de cianobacterias y microalgas. Se realizarán mediciones de extracción de pigmentos, peso seco, absorbancia, fotosíntesis (evolución de oxígeno), respiración y aplicaciones de la fluorescencia con el propósito de evaluar el estado fisiológico de los cultivos. Al final de cada práctica se hará una discusión general con los resultados obtenidos de cada grupo.

Evaluación

Para obtener el certificado y los créditos correspondientes al curso, los participantes deberán asistir a todas las secciones del curso. Se evaluará el aprovechamiento por medio de discusiones orales de los resultados de los experimentos basándose en los conceptos adquiridos en las clases teóricas, prácticas y lecturas asignadas; así como en la presentación oral sobre la experiencia de trabajo con cianobacterias y microalgas o las intenciones que tenga para trabajar con estos organismos. Se realizará un examen final.

La evaluación será asignada de la siguiente manera:

Trabajo práctico y discusión de resultados	50%
Presentación individual (15 minutos)	20%
Examen final	30%
	100 %

Valor del curso: 300 dólares para profesionales y 150 dólares para estudiantes. El valor del curso incluye: fotocopias, café y certificado de participación. No incluye boleto de avión, hospedaje, alimentación y seguro médico.

Nota: los estudiantes de la Universidad de Costa Rica debidamente matriculados no pagan inscripción.

Programa

I Lección

- Bienvenida.
- Explicación sobre la organización del curso.
- Breve caracterización taxonómica de los siguientes grupos: Cyanoprocaryota, Chlorophyceae y Bacillariophyceae y observación al microscopio.

-Principios generales sobre métodos de cultivo de microalgas: “continuos”, semi-continuo y “batch”.

-Presentación de los participantes sobre algún aspecto relacionado con cianobacterias y/o microalgas.(15 minutos máximo).

-Conceptos teóricos y prácticos sobre la dinámica de nutrientes con especial referencia en fitoplancton.

II Lección

- Introducción sobre aspectos generales de la fotosíntesis: Concepto de la fotosíntesis.
- La importancia del proceso fotosintético en el crecimiento de las microalgas.
- Se explicarán los conceptos relacionados con evolución de oxígeno, el diseño de la curva fotosintética, punto de compensación y saturación.

Medición de la fotosíntesis con electrodos de oxígeno (HANSATECH, OXYLAB) (evolución de oxígeno), punto de compensación de la fotosíntesis, intensidad de saturación de la luz en un cultivo líquido de microalgas. Diseñar una curva fotosintética con las variables medidas. Interpretación de los resultados.

III Lección.

Pigmentos fotosintéticos: Estructura, distribución y organización de los pigmentos fotosintéticos. Importancia de la medición. Procedimiento de la toma de las muestras para realizar los análisis. Aspectos teóricos sobre la medición de pigmentos. Interpretación de los resultados.

Extracción y medición de pigmentos en cianobacterias y microalgas: chlorofila *a*, *b*, ficocianinas, y carotenoides. Discusión de resultados.

IV-Lección

-Importancia económica de las cianobacterias y microalgas en el campo biotecnológico.

-Perspectivas de las aplicaciones de la biotecnología de las cianobacterias y microalgas en diferentes áreas (alimento, fertilizante, tratamiento de aguas negras, acuicultura, energía):

-(Continuación): Medición de la fotosíntesis con electrodos de oxígeno (HANSATECH, OXYLAB) (evolución de oxígeno), punto de compensación de la fotosíntesis, intensidad de saturación de la luz en un cultivo líquido de microalgas. Diseñar una curva fotosintética con las variables medidas.

Interpretación de los resultados.

V Lección

Conferencia: ¿Cómo diseñar y trabajar con biorreactores para optimizar el crecimiento de cianobacterias y microalgas y sus aplicaciones biotecnológicas?

Aspectos importantes a considerar para el crecimiento en condiciones de laboratorio de cianobacterias y microalgas: luz, dióxido de carbono, nutrientes, mezcla.

Optimización/limitación del crecimiento de cianobacterias y microalgas. Cuantificación del crecimiento microalgal: peso seco y medición de la absorbancia. Aspectos teóricos sobre el cálculo de la tasa de crecimiento. Aplicaciones prácticas de las mediciones. Importancia de ambos métodos en la determinación del crecimiento. Interpretación de los resultados.

Mediciones de peso seco y absorbancia en diferentes cepas de cianobacterias y microalgas. Se compararán y discutirán la eficiencia de los tres métodos (determinación de pigmentos, peso seco y absorbancia). Discusión de los resultados.

VI Lección

Concepto de la fluorescencia y sus aplicaciones en el estudio de la fotosíntesis y la optimización en el crecimiento de los cultivos de cianobacterias y microalgas.

Estudio de los principales parámetros para evaluar la fluorescencia (F_v/F_m , $\Delta F/F_m'$, NPQ, ETR). Interpretación de los resultados y su aplicación en los usos biotecnológicos.

Medición de la fluorescencia con el fluorómetro (PAM-2100 (Walz) en cepas de cianobacterias y microalgas en diferentes condiciones de "stress".

Construcción de la curva de transporte de electrones (ETR). Discusión de resultados.

VII Lección

Se explicará el concepto: "Chlorophyll fluorescence transient", teoría y sus aplicaciones en cianobacterias y microalgas (OJIP test).

Realizar mediciones con el fluorómetro (Handy-PEA Hansatech) en diferentes cepas de cianobacterias y microalgas sujetas a diferentes condiciones de "stress". Discusión de resultados.

VIII Lección

Conferencias: Aplicaciones de la biotecnología de cianobacterias y microalgas en producción de "energía limpia":

- a-producción de biodiesel
- b-producción de biohidrógeno.

Comparación práctica de los resultados obtenidos con los dos fluorómetros.

IX Lección

Conferencia: El uso de las cianobacterias y microalgas como alternativa biotecnológica para la remoción de metales pesados en aguas residuales y el efecto de metales pesados sobre la fotosíntesis microalgal.

Discusión general: recapitulación de resultados.

X Lección:

Examen.

Bibliografía

Falkowski PG, Raver J A. (1997). Aquatic photosynthesis, (Eds. Falkowski PG, Raver) Blackwell Science, Malden, Massachusetts 02148 USA.

Fracheboud Y Using chlorophyll fluorescence to study photosynthesis (<http://www.ab.ipw.agrl.ethz.ch/~yfracheb/flex.htm>)

Genty B, Briantais J-M, Baker NR (1989) The relationship between the quantum yield on photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim Biophys Acta* 990: 87 – 92.

Govindjee (1995) Sixty-three years since Kautsky: Chlorophyll *a* fluorescence. *Aust J Plant Physiol* 22: 131 – 160.

Hofstraat JW Peeters JCH, Snel JFH, Geel C (1994) Simple determination of photosynthetic efficiency and photoinhibition of *Dunaliella tertiolecta* by saturating pulse fluorescence measurements. *Mar Ecol Progr Ser* 103: 187-196.

Kromkamp, J.C., Forster R.M. (2003) The use of variable fluorescence measurements in aquatic ecosystems: differences between multiple and single turnover measuring protocols and suggested terminology. *Eur. J. Phycol.*, 38:103-112.

Leipner J. (2004). Chlorophyll measurements in plant biology. (<http://www.ab.ipw.agrl.ethz.ch/~jleipner/fluorescence.htm>).

Masojidek J., Koblizek M., Torzillo G. (2004). Photosynthesis in Microalgae (P: 20-40). In: Handbook of Microalgal Cultures (Richmond A. Ed.). Blackwell Science Ltd. Oxford.

Masojidek J., Torzillo G., Koblizek M., Kopecký J., Bernardini P., Sacchi A., Komenda J. (1999). Photoadaptation of two Chlorophyta (*Scenedesmus* and *Chlorella*) in laboratory and outdoor cultures: changes of chlorophyll fluorescence quenching and the xanthophyll cycle. *Planta* 209: 126-135.

Masojidek J., Torzillo G., Kopecký J., Koblizek M., Nidiaci L., Komenda J., Lukavska A., Sacchi A. (2000). Changes in chlorophyll fluorescence quenching and pigment composition in the green

alga *Chlorococcum* sp. grown under nitrogen deficiency and salinity stress. *Journal Applied Phycology*, 12: 417-426.

Maxwell, K. & G. Johnson. 2000. Chlorophyll fluorescence: a practical guide. *Journ. Of Experimental Botany*. 51 (345): 659-668.

Schreiber U & Krieger A (1996) Two fundamentally different types of variable chlorophyll fluorescence *in vivo*. *FEBS Lett* 397: 131 – 135.

Torzillo G., Bernardini P. Masojidek J. (1998). On-line monitoring of chlorophyll fluorescence to assess the extent of photoinhibition of photosynthesis induced by high oxygen concentration and low temperature and its effect on the productivity of outdoor cultures of *Spirulina platensis* (cyanobacteria). *Journal of Phycology*, 53 (345): 758-881.

Walter, D.A. 1993. Polarographic measurement of oxygen. In: *Photosynthesis and Production in a Changing Environment: a field and laboratory manual*, Ed: D.O. Hall, J.M.O. Scurlock, H.R. Bolh ar-Nordenkampf, R.C. Leegood and S.P. Long. Chapman & Hall, London. pp 168-180.

FICHA DE INSCRIPCIÓN

DATOS PERSONALES		
Apellido Nombre		Fecha de Nacimiento
Documento de identidad:		
Título :	Institución que otorgó el título:	
Institución donde trabaja:		Teléfono:
Dirección particular:		Teléfono:
Ciudad:	Provincia:	Código postal:
Fax:	E-mail:	E-mail de referencia:

LUGAR:.....FECHA:...../...../.....

FIRMA:

NOTA: adjuntar CV