

Germinación de porotos de soja *in vitro*

Para encontrar la teoría y temas relacionados con este trabajo práctico, leer el Cuaderno N° 35

http://www.porquebiotecnologia.com.ar/educacion/cuaderno/ec_24_act.asp?cuaderno=24

Esta actividad experimental incluye varios pasos, por lo que se sugiere una lectura previa con los alumnos de toda la experiencia, antes de ir al laboratorio para interpretar cada etapa, familiarizarse con la metodología a emplear, conocer los objetivos de la experiencia, y las observaciones y registros que deberán realizar. Al llegar al laboratorio, es importante identificar los materiales, organizar la tarea y ordenar el trabajo en los grupos de manera de hacer un trabajo seguro y controlado tomando todos los recaudos necesarios, fundamentalmente, al trabajar con fuego. Si los grupos deben compartir elementos de trabajo, es importante que el docente ordene los grupos para trabajar de manera organizada, sin que se amontonen alumnos y se corran riesgos.

a. Preparación de medio de cultivo

Materiales:

- 1 sobre de gelatina sin sabor, cantidad para 1 litro de gelatina. Nota: en el práctico se lo disuelve con menos líquido para que resulte más consistente.
- 20 g de azúcar
- 750 ml. de agua caliente
- Mechero de Bunsen
- Olla a presión
- 2 botellas de litro de vidrio resistente al calor, con tapa

Procedimiento

1. Dividir el agua en dos botellas de litro de vidrio y agregar la gelatina sin sabor de forma equitativa en los dos frascos.
2. Agregar en cada frasco 10 g de azúcar y mezclar hasta que la mezcla quede homogénea.
3. Esterilizar en olla a presión durante 20 minutos con las tapas de los frascos flojas Nota: si las botellas están cerradas corren riesgo de explosión. Nunca llenar las botellas por completo con el medio de cultivo porque se derramará y además no alcanzará la temperatura de esterilización necesaria.
4. Apagar el fuego y dejar que se iguale la presión interna de la olla con el exterior.
5. Abrir la olla y cerrar las botellas.

b. Preparación de material de vidrio para distribuir el medio de cultivo

Materiales: Frascos de vidrio estériles con tapa

Procedimiento

1. Distribuir 50 o 100 ml de medio de cultivo, preparado y esterilizado, en los frascos (según el volumen de los mismos).
2. Realizar este procedimiento por delante de un mechero prendido, abriendo los frascos y botella cerca de la llama (no hablar ni soplar para no contaminar).



3. Distribuir e inmediatamente cerrar los frascos también cerca de la llama.
4. Dejar que la preparación se solidifique y enfríe.

c. Desinfección de granos o porotos de soja

Materiales:

- Granos de soja comercial
- Alcohol 70% (70 ml de alcohol diluido en 30 ml de agua)
- Lavandina 20% (20 ml de lavandina comercial diluida en 80 ml de agua)
- Agua estéril (esterilizar de la misma forma que el medio de cultivo)
- Pinza de metal
- Recipientes bien limpios para desinfectar las semillas

Procedimiento

1. Usando una pinza estéril, pasar los granos de soja durante un minuto por una solución de alcohol 70%.
2. Luego sumergirlos en lavandina al 20% durante 15 minutos y por último, darles 4 lavados en agua estéril.

Nota: Tanto para la desinfección como para la siembra, la pinza se esterilizará de la siguiente manera: mojar la pinza en alcohol puro, quemarla a rojo en el mechero, dejar enfriar. Esto se realizará al inicio de cada etapa que requiera el uso de la pinza. Si la pinza se usa muchas veces para lo mismo, solo se mojará la pinza con alcohol y se quemará sin llevar a rojo. No usar guantes mientras se trabaja con el mechero.

d. Siembra

1. Sembrar con pinza estéril 4 granos por frasco de modo que el hilio (punto oscuro) quede hundido en el medio de cultivo y el resto del grano por encima del mismo.
2. Asegurarse de que los porotos queden firmes o agarrados al medio pero no totalmente hundidos (por lo menos la mitad del poroto debe salir hacia la superficie, de lo contrario no germinará). Nota: Esta etapa se realizará cerca del mechero. Esterilizar la pinza cada vez que tomo un nuevo grano
3. Tapar cada frasco con papel film (el de envolver alimentos) y dejar a una temperatura entre 24 ° y 26° (no debe ser menor a 20°C), en un lugar donde reciba luz directa durante el día.

e. Observaciones y Registro

Desde el comienzo de la actividad se aconseja que los alumnos diseñen un cuadro de 10 filas en el cual registrarán los cambios que observen durante 10 días:

1. Si hay *imbibición* de las semillas (si absorben líquido y se hinchan);
2. Si hay emergencia de raíces
3. Cuál es la longitud de la raíz y cómo va variando a lo largo de los días.
4. Una vez obtenida la germinación completa, se le pedirá a los alumnos distinguir los cotiledones (hojas de reserva) del resto de las hojas, si hay presencia de pelos en las hojas, etc.