

## Cuaderno N° 5, edición 2021

### Introducción al mejoramiento tradicional y la biotecnología moderna

#### El mejoramiento vegetal

Las plantas que hoy se cultivan son distintas de sus antepasados silvestres, ya que el ser humano ha modificado y seleccionado sus propiedades a lo largo de más de diez mil años en función de sus necesidades.

La civilización moderna basa su agricultura en agroecosistemas, ecosistemas fuertemente alterados por las actividades humanas con el objetivo de la producción de alimentos, en los que la biodiversidad se ha reducido para maximizar los rendimientos multiplicando la producción de alimentos para satisfacer necesidades humanas. Muchas de las especies (animales, vegetales, microorganismos) que predominan en estos sistemas resultan de la selección artificial vinculada al manejo agrícola.

Un agroecosistema es controlado con el objetivo definido de producir alimentos, y a diferencia de un ecosistema natural (como el que se encontraría en un parque nacional), es de naturaleza artificial y se encuentra en constante evolución junto al mejoramiento de las prácticas agrícolas.

La gran mayoría de los cultivos que siembra el agricultor en la actualidad han sido generados por los métodos convencionales, como los cruzamientos selectivos, en centros dedicados a la producción de nuevas variedades. En las últimas décadas, la ingeniería genética se sumó a las prácticas convencionales como una herramienta más para mejorar o modificar los cultivos. La incorporación de los cultivos transgénicos (OGMs) en los agroecosistemas ha ayudado a hacerlos más sustentables a partir de la asociación con métodos

de cultivo conservacionistas, como la siembra directa y un control más focalizado de los insectos plaga respetando otros insectos benéficos.

#### Técnicas tradicionales de mejoramiento de plantas

Existe gran diversidad de fenotipos en las plantas, tanto en características como en sus funciones, determinada por la variabilidad genética y la interacción de estos genotipos con el ambiente.

Diferentes factores favorecen la diversidad genética y la variedad de características entre individuos de una misma especie o de diferentes especies. Entre estos factores se puede mencionar la reproducción sexual y las mutaciones (cambios en el ADN) que aumentan la diversidad sobre la que actúa la selección natural. A esto se suma la acción del ser humano que, a través de la selección artificial y la hibridación (cruzamientos selectivos), aprovecha esta diversidad y promueve la reproducción y supervivencia de determinadas especies o variedades que le resultan favorables.

Todos estos mecanismos, naturales e inducidos por el ser humano, se incluyen en lo que se denomina técnicas tradicionales de mejoramiento vegetal, que se detallan a continuación:

1. *Selección artificial y cruzamientos selectivos:* El ser humano selecciona las plantas que le ofrecen más ventajas (mejores frutos, mayor crecimiento, mayor resistencia a enfermedades, etc.), y realiza cruzamientos selectivos entre esas variedades para obtener descendencia con mejores rendimientos. La variabilidad en germoplasma y ambientes generan la gran diversidad en los vegetales, que es la base para la selección. Por ejemplo, las diferentes coles (brócoli, coliflor, repollo, repollito de Bruselas, y otros) son descendientes de una especie original, obtenidas por el ser humano mediante selección artificial.

Además, desde que es agricultor, el ser humano no solo ha seleccionado, sino que también ha trasladado especies vegetales de un lugar a otro, a otras condiciones ambientales, introduciendo especies en lugares donde antes no existían.

**2. Hibridación (intervarietal, interespecífica, intergenérica):** El ser humano realiza cruzamientos no solo entre diferentes variedades de una misma especie, sino también interespecíficos (entre especies) e inclusive intergenéricos (entre diferentes géneros). Estos cruzamientos generan híbridos: mezcla entre dos especies o géneros diferentes, pero sexualmente compatibles que dan como resultado una descendencia cuya combinación de genes será al azar, diferente de la de los progenitores. Esta técnica es una de la que más contribuyó a incrementar la diversidad.

**3. Mutagénesis inducida (agentes mutagénicos):** Esta técnica se utiliza desde mediados del siglo XX. Por medio del uso de sustancias químicas o radiaciones se inducen mutaciones al azar en el genoma de las plantas que generan cambios en su fenotipo.

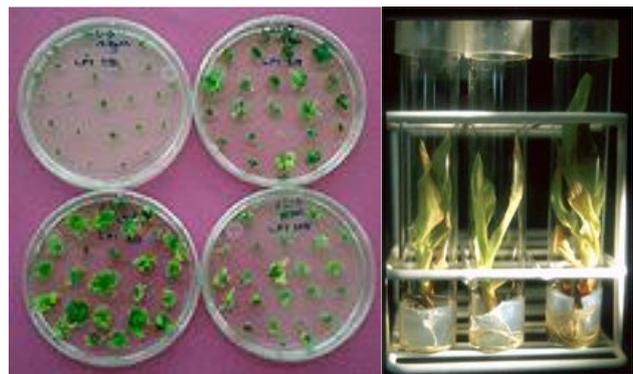
**4. Polinización y fertilización in vitro:** Existen barreras sexuales entre organismos de diferentes especies y géneros. El ser humano puede cruzar estas barreras a través de la polinización (traslado del polen que contiene las gametas masculinas de la planta, hacia la estructura reproductiva femenina). Cuando el ser humano aprende a polinizar artificialmente estas plantas y se genera la unión de las gametas, se pueden cultivar los embriones *in vitro*.

**5. Cultivo in vitro de células, tejidos y órganos vegetales:** También se cultivan células, tejidos u órganos en medios nutritivos en frascos. Esta técnica acompaña otras técnicas de mejoramiento vegetal. El cultivo *in vitro* es posible debido a que

las plantas tienen una propiedad denominada totipotencialidad celular: toda célula viva e íntegra de una planta, sin importar el grado de especialización alcanzado, es capaz de regenerar una planta entera igual a la original (ver Cuaderno N° 35 y N° 56).

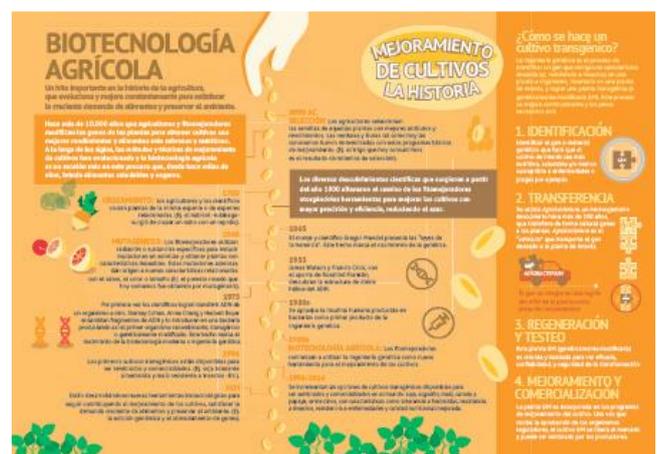
**6. Obtención de haploides:** cultivo *in vitro* de estructuras sexuales haploides que generan organismos haploides que pueden aportar caracteres agronómicos importantes.

**7. Variación somaclonal (cultivo in vitro o a campo):** mediante cultivo de células o tejidos *in vitro* se pueden generar variaciones.



Cultivo *in vitro* de plantas

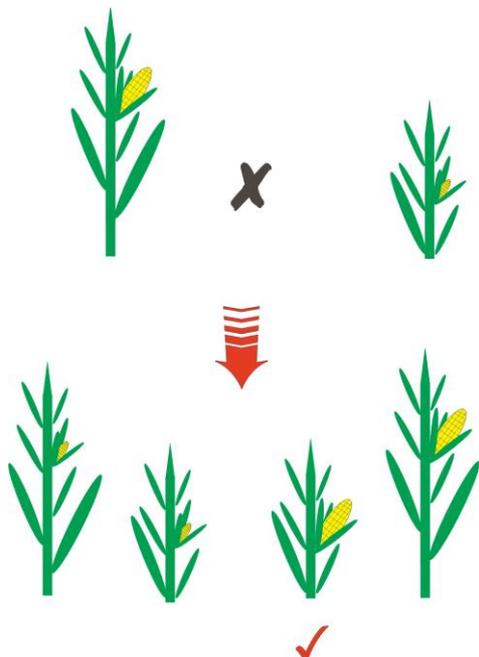
## La historia del mejoramiento de cultivos



Infografía 10.000 años de mejoramiento de cultivos disponible en: <http://argenbio.org/recursos-10000-años-mejorando-los-cultivos>

### Selección y cruzamiento tradicional

A través de los cruzamientos tradicionales se mezclan genes de plantas de la misma especie que presentan diferentes variantes para una misma característica, como el tamaño del choclo en este caso.



De la diversidad que se obtiene, el mejorador selecciona el que más le conviene y lo vuelve a cruzar, y así sucesivamente hasta obtener la planta deseada. La planta que resulta de cruzamientos sexuales tiene una combinación genética diferente de la de los progenitores. Esta recombinación es al azar.

El método de cruzamiento y selección se repite sucesivamente de manera de lograr, en la variedad final, la incorporación de los genes que llevan información para los rasgos deseados y la eliminación de aquellos relacionados con las características no deseadas. Este proceso de generación de nuevas variedades ha sido (y continúa siendo) muy útil en la agricultura y ha originado las variedades que se cultivan.

Hoy en día hay una gran variedad de maíces

híbridos más vigorosos, con mejores características agronómicas y más beneficiosos desde el punto de vista alimenticio, como la disposición, el tamaño y la calidad de los granos.

Las diferentes variedades de maíz (Dent, Sweet, Popcorn, Flint, Pod, etc.) son producto de procesos de selección artificial, sumados a procesos de selección natural y mutaciones que el ser humano fue aprovechando y seleccionando hasta llegar a domesticarlo.

### La mutagénesis

A fines de la década de 1920, los investigadores descubrieron que se pueden inducir mutaciones (cambios en el ADN) exponiendo a las plantas a agentes mutágenos físicos (rayos X y gamma, neutrones, protones, etc.) o químicos (etilmetanosulfonato, azida sódica, etc). Estas mutaciones ocurren al azar en el genoma y generan una enorme variabilidad que puede dar lugar a la aparición de características interesantes, las que son seleccionadas por el mejorador. Así se obtuvo el pomelo rosado, a partir del pomelo blanco mutagenizado por radiación. Otros cultivos modificados por mutagénesis son: trigo, arroz, lechuga y porotos, por nombrar algunos.

En estos casos, las mutaciones no son dirigidas. Los agentes mutagénicos inducen una gran cantidad de variaciones en diferentes cromosomas, en forma proporcional a la dosis del agente que se empleó para causar las mutaciones. Estas mutaciones que se inducen son al azar, no se sabe qué tipo de mutaciones o dónde en el genoma de la planta ocurren, pero dan nuevas variedades que pueden ser aprovechables porque ofrecen caracteres nuevos interesantes.

### La biotecnología moderna

Mediante las técnicas tradicionales de hibridación, se mezclaron durante varios años miles y miles de

genes y muchas generaciones de plantas con el fin de obtener una característica deseada. La biotecnología acelera este proceso permitiendo a los científicos identificar e insertar solamente los genes deseados en una planta, logrando de ese modo los resultados buscados en tan sólo una generación (ver Cuaderno N°67). La biotecnología es una herramienta más segura y eficiente para el mejoramiento de especies respecto a las técnicas tradicionales, puesto que elimina gran parte del azar presente en el mejoramiento tradicional.

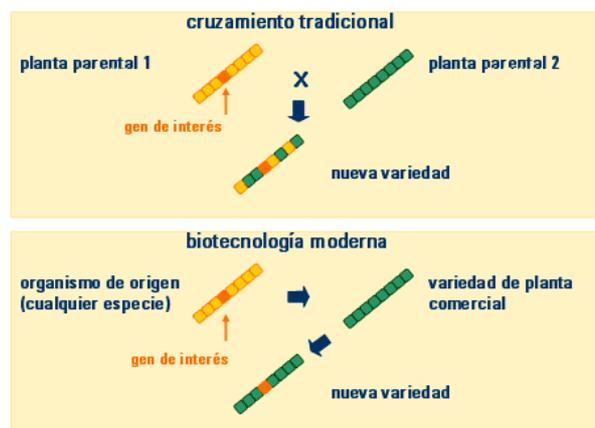
La biotecnología moderna es una tecnología, que permite modificar los atributos de los organismos vivos mediante la introducción de material genético que ha sido trabajado “*in vitro*” (fuera del organismo). Esta metodología ofrece tres ventajas fundamentales respecto a las técnicas convencionales de mejoramiento genética basadas en la hibridación:

- Los genes que se van a incorporar pueden provenir de cualquier especie, emparentada o no (por ejemplo, un gen de una bacteria puede incorporarse al genoma de la soja). En la planta mejorada genéticamente se puede introducir un único gen nuevo preservando en su descendencia el resto de los genes de la planta original.

- El mejoramiento mediante el uso de la biotecnología moderna demora mucho menos tiempo que el necesario para el mejoramiento por cruzamiento. De esta forma se puede modificar propiedades de las plantas de manera más amplia, más precisa y más rápida.

- Mediante el cruzamiento tradicional se genera un híbrido que combina al azar genes de ambos organismos parentales, entre ellos el gen de interés que codifica para la característica deseada. Mientras que, mediante las técnicas de la biotecnología moderna se pasan uno o unos pocos genes, que codifican una característica específica conocida. La nueva planta está integrada por todos los genes originales de la planta más el o los genes

introducidos.



Comparación del cruzamiento convencional con la biotecnología moderna.

### **Perspectivas de la biotecnología agrícola**

La biotecnología moderna está avanzando en desarrollos que tendrían beneficios para productores, consumidores e industrias, entre ellos:

- Aumento de la productividad y calidad de los cultivos.
- Resistencia a enfermedades y plagas.
- Tolerancia a herbicidas, sequías, salinidad y temperaturas extremas.
- Alimentos más nutritivos, como frutas y cereales con mayor contenido de vitaminas.
- Vacunas comestibles, como bananas que contengan la vacuna contra la hepatitis B.
- Alimentos más saludables, como aceites con menor contenido de ácidos grasos indeseables, papas que absorban menos aceite, frutas con más antioxidantes y maní libre de alérgenos.
- Alimentos que contribuyan a reducir el desperdicio como las manzanas y papas con pardeamiento retardado.
- Producción de fármacos, bio-combustibles y plásticos biodegradables.

### **Edición génica**

La última herramienta desarrollada para contribuir al mejoramiento de cultivos es la edición génica, que permite hacer cambios dirigidos en una

secuencia específica del ADN de un organismo (ver Cuaderno N°78).

Gracias a la edición génica, en lugar de tener que esperar a que ocurra un determinado cambio en el ADN, o tener que inducir cambios al azar para luego poder seleccionar una característica deseada, hoy es posible lograr ese cambio de manera específica en una determinada secuencia de ADN, para obtener la característica que se busca de manera precisa y más rápidamente.

### Consideraciones metodológicas

Los temas abordados en este Cuaderno se adaptan al trabajo con alumnos de entre 13 y 17 años ya que incorporan conceptos de Ecología, como los ecosistemas, sus estructuras y funciones, y conceptos vinculados con la reproducción sexual y la diversidad de características. Es posible vincular con conceptos como diversidad genética, selección natural y selección artificial, mutaciones, y evolución. Tanto con alumnos de entre 13 y 17 años es posible incorporar conceptos vinculados con el cultivo in vitro de células, así como la reproducción asexual en vegetales.

A través de este Cuaderno se pretende introducir conceptos básicos que permitan comparar las técnicas tradicionales y las técnicas que emplea la biotecnología moderna para el mejoramiento vegetal. En este sentido es importante dejar en claro que la biotecnología moderna no reemplaza, sino que complementa las técnicas que emplea la agricultura tradicional.

Otro aspecto interesante para incluir en la clase a partir de este Cuaderno es el concepto de agroecosistema y los efectos de la agricultura tradicional en el ambiente, y dejar en claro que la biotecnología moderna aporta soluciones puntuales a problemas particulares. Vinculado con este punto, es importante que los alumnos puedan

comprender el hecho de que los alimentos que son producto de la actividad agrícola no son “naturales”, independientemente de la técnica empleada para su obtención (mejoramiento convencional o biotecnología) o del sistema utilizado para su producción (convencional, orgánico o conservacionista) ya que implican la intervención humana que se inició con el comienzo mismo de la agricultura hace más de 10 mil años.

Otro aspecto a tratar es el hecho de que no existe riesgo cero; es decir que los alimentos, sea cual fuere el método de obtención, implican ciertos riesgos calculables, pero que no implican peligro si se los consume de forma apropiada (por ejemplo, en lo que respecta a su higiene y cocción). En el Cuaderno se presenta un esquema que compara ambas técnicas de mejoramiento vegetal que requiere de un trabajo de interpretación y análisis con los alumnos.

Se sugiere realizar la Actividad N°2 del Cuaderno N°1 para trabajar este esquema ya que, si bien las representaciones gráficas son herramientas útiles para la enseñanza, en ocasiones resultan difíciles de interpretar por los alumnos y pueden obstaculizar la comprensión. Por eso, es recomendable dedicarle un tiempo al análisis de esquemas para favorecer su interpretación y, en consecuencia, la comprensión de los conceptos que se pretende transmitir a través de su utilización. Se sugiere explicitar los códigos y simbolismos que se emplean y construir equivalencias con otros lenguajes (traducir los textos en esquemas y los esquemas en textos).

Asimismo, es importante el análisis de los gráficos y poner énfasis en diferenciar la información que se “lee” en el gráfico y lo que es posible “interpretar” a partir de esa información. La interpretación de un gráfico implica examinar los datos representados en función de la información

previa con la que cuentan, y sacar conclusiones acerca de la situación o el proceso particular que se analiza.

### Actividades

#### Actividad 1. Comprensión de conceptos

A partir del texto responder las siguientes consignas:

1. ¿A qué se denomina agroecosistema y en qué se diferencia de un ecosistema natural? *Rta.* Un agroecosistema o sistema agrícola difiere de un ecosistema "natural" tanto en su estructura como en su función. Los agroecosistemas son sistemas modificados por el hombre, caracterizados por el uso de prácticas agrícolas para la producción de alimentos, fibras y otros productos de uso humano. Un ecosistema natural emplea recursos disponibles en el entorno para el desarrollo de las especies del lugar sin intervención humana.

2. Mencionar los factores naturales que contribuyen a la diversidad de los seres vivos sobre la que actúa la selección natural. *Rta.* Reproducción sexual, mutaciones.

3. ¿Cómo interviene el ser humano en la diversidad o selección de determinadas especies? *Rta.* A través de la selección artificial y la hibridación (cruzamientos selectivos) el ser humano aprovecha la biodiversidad y promueve la reproducción y supervivencia de determinadas variedades o caracteres que le resultan favorables.

4. Las plantas con flores de colores vistosos resultan convenientes para un agricultor ya que le puede ofrecer mayores ventas e ingresos. Explicar cómo sería posible obtener plantas con flores vistosas por el proceso de selección artificial y cómo sería posible hacerlo con técnicas de ingeniería genética. *Rta.* El agricultor debería seleccionar aquellas plantas que tienen flores más vistosas y cruzarlas con otras de flores menos

vistosas pero que tienen caracteres que las hacen mejor adaptadas al sistema de producción, y luego cruzar los descendientes una y otra vez hasta obtener las plantas deseadas, con flores más vistosas y bien adaptadas a las condiciones de producción. Mediante técnicas de biotecnología moderna, si se identifica el gen que le confiere a las plantas el color o la estructura deseada para las flores, se podría aislar, clonar y transferir ese gen a las plantas que se desee comercializar, para luego seleccionar las transformadas que expresarán la característica deseada, manteniendo el resto de sus características.

5. ¿En qué consiste la mutagénesis y cómo afecta las características de los organismos? *Rta.* La mutagénesis es la inducción de mutaciones mediante diferentes agentes (físicos o químicos). La mutación es una alteración en el ADN. Debido a que el ADN determina las características del organismo, un cambio en el ADN puede provocar un cambio (favorable o no) en los rasgos del organismo.

6. ¿Qué diferencia se podría establecer en la especificidad o precisión de los cambios que se introducen mediante técnicas tradicionales y mediante biotecnología moderna? *Rta.* Las técnicas de ingeniería genética que emplea la biotecnología moderna permiten introducir cambios de forma más precisa ya que se agrega un gen específico y conocido, en lugar de mezclar o modificar genes de manera azarosa.

#### Actividad 2. Los ecosistemas

- Definir qué es un ecosistema.
- Diferenciar entre ecosistema natural y agroecosistema.

*Nota para el docente:* a partir de una investigación acerca de los ecosistemas, sus características y diversidad, se sugiere construir con los alumnos un

cuadro comparativo para establecer una comparación entre un ecosistema natural, un agroecosistema y un sistema urbano, considerando factores como: uso de energía, relación entre productores y consumidores, uso de recursos, diversidad de especies y descomposición y manejo de residuos.

### Actividad 3. Cultivos *in vitro*

La siguiente actividad presenta un texto introductorio y una investigación del INTA en el tema del cultivo *in vitro*. La realización de esta actividad se sugiere para abordar el tema del cultivo *in vitro* y sus utilidades en el mejoramiento vegetal. Se sugieren enlaces que se pueden consultar para ampliar la información y se plantean preguntas para analizar la actividad.

#### a. Introducción

Una de las formas de conservar con la mayor integridad posible la variabilidad genética de poblaciones seleccionadas es mediante la preservación de germoplasma. Los métodos de conservación *ex situ* se basan en el mantenimiento del material biológico en bancos de semillas, bancos de cultivo *in vitro*, colecciones de plantas (en campo, viveros o jardines botánicos).

En general, los bancos de semillas constituyen uno de los métodos más convenientes para la conservación de germoplasma *ex situ*, porque permiten almacenar una gran variabilidad genética en forma económica y práctica.

Otro método de conservación de germoplasma *ex situ*, es mediante el cultivo *in vitro* de tejidos. En estos casos, la conservación de los genotipos se realiza mediante el mantenimiento de plantas vivas o mediante el cultivo *in vitro* de ápices o de nudos.

El estudio y la caracterización de las diferentes variedades o materiales (germoplasma) es de

utilidad en investigaciones básicas y aplicadas de áreas que incluyen, entre otras, la genética, la citogenética y el mejoramiento genético, la bioquímica y la patología.

#### b. Conservación de germoplasma de papa

El banco de germoplasma de la EEA Balcarce tiene como objetivos coleccionar, conservar, distribuir, caracterizar y evaluar las especies de papa silvestres y cultivadas nativas de nuestro país. La disponibilidad de germoplasma es imprescindible para el mejoramiento genético ya que se requiere de variabilidad para aquellos caracteres que limitan la producción del cultivo de papa.

El valor de las especies silvestres de papa, así como de los cultivares locales andinos, radica en que poseen resistencia a diversos patógenos (virus, bacterias, hongos, insectos, nematodos) y a estrés ambiental (sequía, frío, calor) así como variabilidad para factores asociados con la calidad, por lo que la conservación de estos recursos en el mediano y largo plazo es necesaria a fin de disponer de fuentes de variabilidad genética.

La papa y sus congéneres silvestres poseen una amplia distribución, desde el sur de los Estados Unidos hasta la isla de Chiloé y se conocen más de 200 especies entre silvestres y cultivadas. En nuestro país las especies silvestres se encuentran desde el litoral Atlántico hasta la Prepuna y Puna en la región Andina y desde el NE y NO del territorio hasta la provincia de Río Negro. Los cultivares nativos se encuentran únicamente en el NO argentino, principalmente en las provincias de Jujuy y Salta.

En las especies silvestres se produce la pérdida de genotipos y/o poblaciones como consecuencia del sobrepastoreo, incorporación de nuevas áreas de cultivo, infraestructura urbana y vial, lo que diezma la vegetación natural ocasionando la

pérdida de materiales valiosos. El abandono de los cultivos tradicionales, en algunos casos su reemplazo por otras alternativas, la migración de la población rural hacia centros poblados, así como la presencia de plagas y enfermedades, son algunas de las causas que han reducido el cultivo de las variedades andinas.

Con el objetivo de disponer de materiales genéticos para el programa argentino de mejoramiento de papa, en la década del setenta se iniciaron actividades orientadas a disponer de una colección de especies emparentadas con la papa cultivada. Como resultado de las actividades desarrolladas, actualmente se dispone de una colección que incluye todas las especies silvestres y la mayoría de los materiales cultivados nativos del país.

Las especies silvestres se conservan como semilla sexual bajo condiciones controladas de humedad y temperatura y los materiales cultivados se conservan *in vitro*. Además, se realiza la regeneración y multiplicación de los materiales conservados en aquellos casos en los que no se dispone de suficiente semilla, ya que como consecuencia del uso y distribución del germoplasma es necesario reponer las existencias de los mismos.

El Banco de Germoplasma de Papa de Balcarce integra la Red de Bancos Activos del INTA, que totalizan nueve bancos distribuidos en las distintas áreas agroecológicas del país y un Banco Base, con sede en el Instituto de Recursos Biológicos (IRB) del INTA Castelar que conserva duplicados de todas las colecciones activas. Con este objetivo anualmente se regenera parte de la colección de papa a fin de disponer de un duplicado en el Banco Base. Actualmente, en el Banco de conservación *in vitro* del IRB se mantiene "en custodia" un duplicado de seguridad de la colección *in vitro* de papa del Centro Internacional de la Papa (CIP).

La utilización efectiva de estas especies requiere de la descripción y evaluación de la variación existente en los materiales conservados. En una primera etapa se deben identificar las distintas especies que integran la colección, detectar la variación intra e interespecífica para diversos caracteres e identificar características de importancia agronómica. Como resultado de estas actividades, que integran a distintos grupos de trabajo, no solo de la Unidad Integrada Balcarce, se han identificado nuevas especies, genotipos resistentes a algunos de los patógenos que afectan al cultivo de la papa, variabilidad morfológica, agronómica, bioquímica y molecular.

Fuente: Ing. Agr. Andrea Clausen M.Sc. (INTA)  
Para más información:

<https://inta.gob.ar/documentos/banco-activo-de-germoplasma-de-la-eea-balcarce>

### ***c. Preguntas para el análisis de la actividad***

1. Investigar qué significan los conceptos *in situ* y *ex situ*.
2. ¿A qué se denomina germoplasma? ¿De qué forma se puede conservar?
3. ¿Cuáles son algunos objetivos de la conservación de germoplasma?
4. ¿Cómo podría contribuir la conservación de germoplasma al mejoramiento de especies vegetales?
5. ¿Cuál es el cultivo al que se refiere el trabajo del INTA, y cómo se conservan? *Rta.* Papas silvestres y cultivadas nativas de la Argentina. Las especies silvestres se conservan como semilla bajo condiciones controladas de humedad y temperatura y los materiales cultivados se conservan *in vitro*. Además, se realiza la regeneración y multiplicación de los materiales conservados en aquellos casos en los que no se dispone de suficiente semilla.
6. ¿Cuál es el valor que se le atribuye a las especies silvestres de papa que se conservan en el INTA?

*Rta.* Poseen resistencia a diversos patógenos (virus, bacterias, hongos, insectos, nematodos) y a estrés ambiental (sequía, frío, calor) así como variabilidad para características asociadas a la calidad.

7. ¿Cuáles son las causas que atribuye este texto a la pérdida de genotipos y poblaciones de las especies silvestres?

8. ¿Cuál es el objetivo de la conservación de germoplasma? *Rta.* Disponer de fuentes de variabilidad genética para el programa argentino de mejoramiento de papa.

9. Investigar qué proyectos de bancos de germoplasma se llevan a cabo en el INTA de Pergamino. Para hacerlo se puede consultar el siguiente sitio: <https://inta.gob.ar/recursosgeneticos>

#### **Actividad 4.** Experiencia de laboratorio.

Cultivo de porotos de soja *in vitro* (ver Cuaderno N° 35).

El objetivo de esta actividad es ensayar un cultivo *in vitro* que es simple de realizar y que requiere de material de fácil acceso. Se sugiere que los alumnos elaboren una tabla en la que puedan registrar a lo largo de 10 días los cambios que observan en las semillas, en el medio de cultivo, en las plantas, etc. y que respondan a las consignas que siguen.

#### **Preparación de medio de cultivo:**

##### Materiales:

- 1 sobre de gelatina sin sabor (el necesario para realizar 1 litro de gelatina, aunque en el práctico se lo disuelva con menos líquido para que resulte más consistente)
- 20 g de azúcar
- 750 ml de agua caliente
- Mechero de Bunsen
- Olla a presión
- Dos botellas de litro de vidrio resistente al calor, con tapa
- Frascos de vidrio estériles con tapa

*Nota:* si se dispone de los materiales, el medio de cultivo se puede preparar también con 30 gramos de sacarosa, 7 gramos de agar-agar, por medio litro de agua destilada y esterilizar en olla a presión o autoclave.

#### Procedimiento

- 1- Dividir el agua en dos botellas de litro de vidrio y agregar la gelatina sin sabor de forma equitativa en las dos botellas.
- 2- Agregar en cada botella 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 las botellas flojas. ¡Atención! Si las botellas están cerradas existe riesgo de explosión. Nunca llenar las botellas 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.
- 6- Distribuir 50 o 100 ml de medio de cultivo, preparado y esterilizado, en frascos de vidrio estériles (según el volumen de los mismos). ¡Atención! Realizar este paso delante de un mechero prendido, abriendo los frascos y botellas cerca de la llama (sin hablar ni soplar para no contaminar).
- 7- Inmediatamente cerrar los frascos también cerca de la llama. Dejar que la preparación se enfríe y solidifique.

#### **Desinfección de granos o porotos de soja**

##### Materiales:

- Granos de soja comercial
- Alcohol puro
- Solución de 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- Esterilizar la pinza: 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, las siguientes veces solo se mojará la pinza con alcohol y se quemará sin llevar a rojo.
- 2- Usando una pinza esterilizada, poner los granos de soja durante un minuto en una solución alcohol 70%. Luego sumergirlos en lavandina al 20% durante 15 minutos y por último, darles 4 lavados en agua estéril.

### **Siembra**

#### Procedimiento

- 1- Sembrar con pinza estéril 4 semillas 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. Por lo menos la mitad del poroto debe salir hacia la superficie, de lo contrario no germinará.
- 2- Asegurarse que los porotos queden firmes o agarrados al medio de cultivo, pero no totalmente hundidos. Esterilizar la pinza cada vez que se tome una nueva semilla.
- 3- Tapar cada frasco con papel film (el que se usa para envolver alimentos) y dejar a temperatura entre 24 °- 26° (no menor a 20°C) en un lugar que reciba luz directa durante el día.

### **Preguntas para el análisis de la experiencia**

1. Investigar cuál puede ser la utilidad del cultivo *in vitro*. *Rta.* Propagación masiva de plantas, clonación de individuos elite durante todo el año, obtención de plantas libres de virus, producción de semillas, conservación de germoplasma, obtención

de metabolitos secundarios, producción de nuevos híbridos, mejora genética de plantas, germinación de semillas, producción de haploides, estudios fisiológicos diversos.

2. Si el cultivo de semillas de soja se realizara en un laboratorio de investigación, ¿cuál podría ser el objetivo? *Rta.* Conservar semillas como fuente de material genético, estudiar sus características y mejorar las semillas mediante ingeniería genética, emplearlas como fuente de genes para transformar otras especies, realizar estudios fisiológicos (funciones), propagar las plantas de soja, entre otros.

3. ¿Qué función cumplen la gelatina y el azúcar donde se siembran las semillas? *Rta.* Son el medio de cultivo que les provee de nutrientes, agua y sostén a las semillas.

4. ¿Por qué se debe esterilizar el medio de cultivo y los materiales de trabajo, y tapar con film los frascos? *Rta.* Para evitar la contaminación con microorganismos del ambiente.

5. ¿Por qué se requiere una temperatura no menor a 20°C, y luz? *Rta.* Son las condiciones en que la semilla y, luego la planta de soja, se desarrollan. La luz se necesita una vez que la semilla germina y la plántula empieza el proceso de fotosíntesis.

### **Material de consulta**

- Ecología. El vínculo entre las ciencias naturales y las sociales. Eugene P. Odum. (1978). Compañía Editorial Continental S:A: de C:V: México.

- Sitio Español con textos de biología, esquemas, diapositivas, animaciones, y ejercitación.

[http://ecoescuela/recursosdigitales/biogenio\\_ov](http://ecoescuela/recursosdigitales/biogenio_ov)

- Ediciones INTA Biotecnología y Mejoramiento Vegetal. Editores Dra. Viviana Echenique, Dra.

Clara Rubinstein, Ing. Agr. Luis Mroginski-Argenbio –Consejo Argentino para la Información y el Desarrollo de la Biotecnología.

<http://argenbio.org/recursos/biblioteca>

- Especies Silvestres y Mejoramiento Genético de la Papa. Elsa L. Camadro. Estación Experimental Agropecuaria Balcarce (INTA) y Facultad de Ciencias Agrarias - Universidad Nacional de Mar del Plata. Vol 6. N°35 (1996).

<https://cienciahoy.org.ar/especies-silvestres-y-mejoramiento-genetico-de-la-papa/>

"El Cuaderno" de PQBio es una herramienta didáctica creada y desarrollada por el equipo pedagógico de ArgenBio. Su reproducción está autorizada bajo la condición de que se aclare la autoría y propiedad de este recurso pedagógico por parte del Programa Educativo Por Qué Biotecnología – ArgenBio.