

P2. SUBCULTIVO DE SECCIONES NODALES DE PATATA

Objetivos

- Iniciar un subcultivo a partir de cultivos estériles
- Determinar los efectos de variables ambientales y reguladores de crecimiento sobre los cultivos

Material

Para cada cámara de flujo laminar

- Cultivos in vitro de patata
- Cajas Magenta con los distintos medios de cultivo
- Placas de Petri estériles
- Pinzas y bisturí
- Pulverizador con alcohol al 70%
- Mechero de alcohol (o esterilizador eléctrico)
- 2 tubos con alcohol 80% y 2 tubos con agua destilada estéril
- Rotulador

Procedimiento.

A partir de plántulas de patata (*Solanum tuberosum* L) cultivadas in Vitro se procederá a iniciar su subcultivo en condiciones asépticas sobre medios de cultivo diferentes. Para ello, una vez trasladado todo el material necesario a la cámara de flujo laminar procederemos a:

1. Esterilizar pinzas y bisturí a la llama y enfriarlas en los tubos de agua destilada estéril (este proceso se repetirá frecuentemente para evitar la contaminación cruzada de los explantos)
2. Extraer una plántula ya desarrollada y depositarla sobre una placa de Petri abierta.
3. Descartar el ápice y las raíces y trocear la planta en secciones uninodales asimétricas de 1.5 cm aproximadamente de manera que el tallo por encima de la yema axilar sea notablemente más corto que el tallo por debajo de esta.
4. Anotar el número de secciones obtenidas por cada plántula.
5. Introducir cinco secciones uninodales en cada caja Magenta con medio de cultivo para el ensayo.
6. Rotular adecuadamente las cajas Magenta.
7. Llevar las cajas a la cámara de cultivo adecuada (según las condiciones experimentales seleccionadas).

8. Transcurrido el tiempo de duración previsto en el experimento, proceder a la toma de datos finales. Es conveniente registrar porcentajes de contaminación, altura de los tallos, número de hojas (nudos), aspecto general de la planta, número y aspecto de las raíces, presencia de ramificaciones... y cualquier otro valor que se considere importante.