



PROYECTO C-BOYA

Bioensayo de toxicidad del agua



Participantes:



Número de personas:
1-2



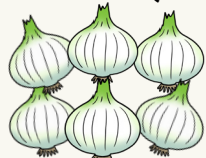
Capacitación previa:
Sí



Grado académico:
Indiferente

Materiales:

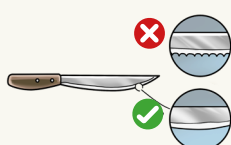
(Obtenidos en casa fácilmente):



x 6
Cebollas



x 6
Vasos pequeños de plástico o cristal (1 por cebolla)



Cuchillo filo liso (no de sierra)



x 1 Plumón indeleble

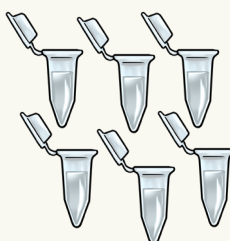


x 1 Regla



x 1 Tijera

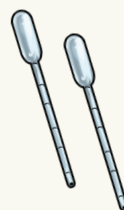
(Obtenidos con el Operador del Proyecto C-BOYA):



x 6
Tubos Eppendorf con etanol al 70%



x 6
Tubos Eppendorf con RNA later



x 2
Pipetas Pasteur

Reactivos:

AGUA DE CONTROL:



Agua de Garrafón



Agua destilada



AGUA DE EVALUACIÓN:



Doméstica



Cenote



Pozo



Residual

ACCIONES

SELECCIÓN DEL MATERIAL DE ESTUDIO



6 Cebollas a utilizar

Condición de las cebollas:



Firmes y brillantes



Con hongos



Suaves o podridas

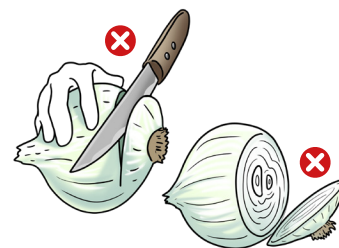
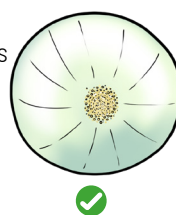
CORTE EN LA BASE DEL BULBO



1. Quitar la primera capa de la cebolla, si presenta capas secas, lastimadas o sucias.



2. Cortar la base en láminas delgadas hasta llegar al nacimiento de la raíz.



• El corte debe ser en una sola dirección y sin zigzaguear, debe estar lo más cercano al bulbo, pero si el corte es demasiado profundo, se separará el área de crecimiento y no crecerán raíces.

ACONDICIONAMIENTO DE LAS CEBOLLAS POR 48 H

1. Las cebollas previamente cortadas se colocan en vasos con agua destilada o purificada cuidando que se remoje el área de corte.

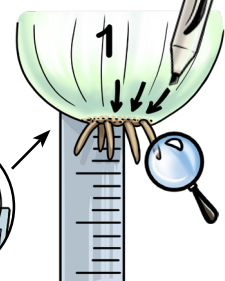
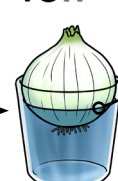
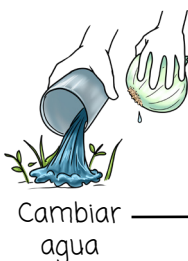


Confirma que haya crecimiento de las raíces a las 48h.

2. Las cebollas se remojan inicialmente 48 h en total, pero se cambia el agua cada 24 h, cuidando en todo momento que el área de corte esté siempre en contacto con el agua.



En las primeras horas, las cebollas absorben más agua, estar al pendiente para rellenar de ser necesario.



0h

EXPOSICIÓN DE LAS RAÍCES EN AGUA DE EVALUACIÓN

2. Cambiar el agua para iniciar la exposición.

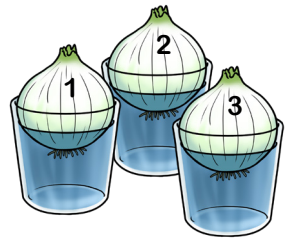
24h



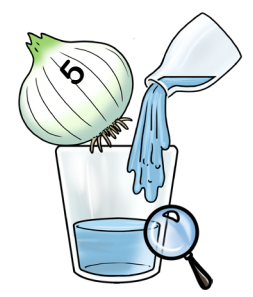
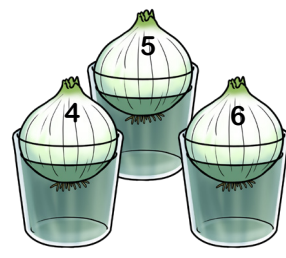
1. Desechar el agua con la que se realizó el acondicionamiento previo.



3 cebollas para: CONTROL: AGUA DESTILADA



3 cebollas para: AGUA DE EVALUACIÓN



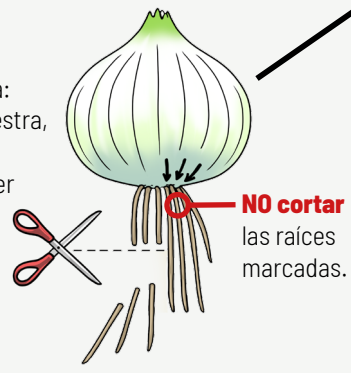
Cuidar que el área de corte de la cebolla esté en contacto con el agua todo el tiempo, si no es así, rellene.

MEDICIÓN Y CORTE

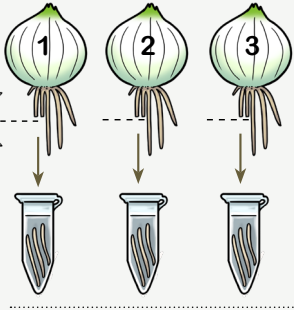


1. Toma de muestra: 3-4 raíces por muestra, un tubo de etanol, un tubo de RNA later por cebolla.

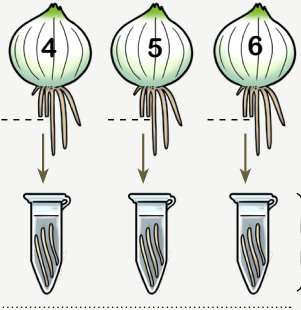
Después de las 24 horas de exposición se procede al corte de las raíces que serán utilizadas para análisis al microscopio o para la prueba de expresión génica.



CONTROL: AGUA DESTILADA



AGUA DE EVALUACIÓN



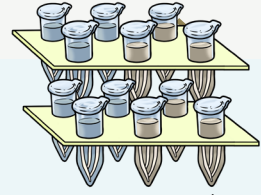
Tubos Eppendorf con etanol al 70%

Tubos Eppendorf con RNA later

2. Las raíces de cada cebolla se almacenan en tubos Eppendorf de 1.5 ml, que contienen etanol al 70% (muestras para microscopía) y RNA later (muestras para expresión génica).



Los tubos se almacenan cerrados a temperatura ambiente...



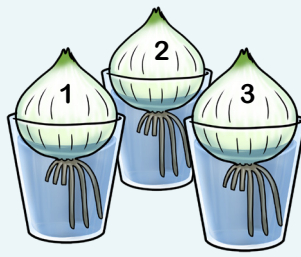
...y se entregarán al final del ensayo

EXPOSICIÓN DEL RESTO DE LAS RAÍCES EN AGUA POR 24 HORAS MÁS

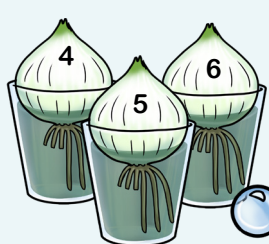


1. Regresar cada cebolla al vaso que le corresponde, rellenar con agua para asegurar que el área de corte esté siempre hidratada.

CONTROL: AGUA DESTILADA



AGUA DE EVALUACIÓN



24h

2. Esperar 24 horas, cuidando que el área de corte esté siempre en contacto con el agua.

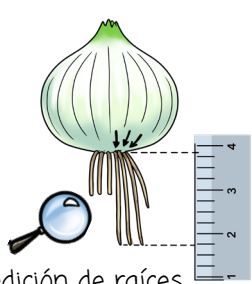
Si el agua no se ve turbia, o babosa No es necesario cambiarla cada 24 h.

MEDICIÓN DEL RESTO DE LAS RAÍCES

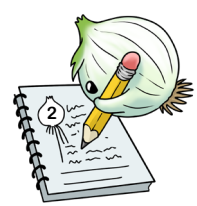
48h

Tras 48 h de exposición en agua de evaluación medir la longitud final de las raíces marcadas.

1. Proceder a la medición de las raíces de cada cebolla, los valores medidos deben ser anotados (este dato promediado será la longitud final).



Medición de raíces



Al término del ensayo se procederá a entregar los tubos Eppendorf a los operadores para su análisis en laboratorio y los datos de longitud inicial y final para el procesamiento de los datos.

