



UNIVERSIDAD DE LA SERENA
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA

GUÍA DE TRABAJOS PRÁCTICOS DE FISIOLOGÍA VEGETAL 2011

COORDINADOR CURSO : Dr. Francisco A. Squeo

PROFESORES LABORATORIO : Mag. Nancy Olivares

ALUMNO:

CARRERA: PEDAGOGÍA EN BIOLOGÍA Y CIENCIAS NATURALES

Web: <http://www.biouls.cl>

NOTA: *El informe de cada paso práctico debe ser entregado a más tardar una semana después de realizado el último registro.*

PAUTAS PARA REDACTAR UN INFORME CIENTÍFICO

Un factor esencial en cualquier investigación científica es la comunicación de los resultados a otros interesados en el campo que se investiga. Por lo tanto, la preparación de los informes de trabajos prácticos y seminario, en la forma de un ensayo científico, es considerada como parte importante de su entrenamiento en este curso.

En este curso, es aconsejable que el estudiante se ciña a un formato y estilo como el que se usa en las revistas científicas, para la preparación de informes de laboratorio y seminario. Las normas adoptadas por las revistas no son necesariamente las mejores; de tal modo que no implica que deben ser totalmente aceptadas. Sin embargo, en el interés de uniformar criterios, es aconsejable seguir las prácticas de ciertas revistas de divulgación científica.

Por lo tanto, a Ud. se le instruirá en detalle de la organización encabezamiento de sección, métodos de presentación de datos, formas de citas y listados de referencia.

La siguiente es una breve guía, la cual podría ser de ayuda para su trabajo.

Título

Es importante que el nombre:

- a) dé una idea clara del contenido y/o objetivos del trabajo.
- b) sea, a la vez, breve.

Autor (es)

Indicar nombre y apellido de los autores, así como su filiación institucional.

Resumen

Esta sección será una breve condensación de todo el ensayo, estableciendo de que forma fue hecho, que procedimientos generales se usaron, cuales fueron los hallazgos más importantes y las conclusiones extraídas de los resultados. Precaución: limitar sus conclusiones a aquellos postulados que pueden ser inferidos directamente de los resultados de su investigación (escribir el resumen en pasado). Esta sección puede aparecer antecediendo a la introducción.

Introducción

Esta sección podría contener:

- a) Una descripción de la naturaleza del problema y el estado del problema al comienzo de la investigación.
- b) Un breve descripción de los hallazgos mas significativos realizados por otros autores y que se relacionan con la investigación realizada.
- c) Los objetivos de la investigación.

Materiales y métodos

Describir en detalle los materiales, equipos empleados y los métodos seguidos en la investigación. Esta sección podría ser escrita en forma completa y explícita de manera que un investigador competente pueda repetir sus experimentos. Para su informe de laboratorio Ud. debe extraer la información pertinente de la guía de laboratorio y de una revisión bibliográfica.

Resultados

Las observaciones y datos experimentales son registrados en esta sección. Estos deben ser explicados con palabras y apoyados por representaciones gráficas. Una recomendación importante, es graficar los datos siempre que sea posible, ya que las relaciones son más fácilmente visualizables en una representación gráfica que en una tabla.

Recordar que algunos datos que no pueden ser graficados sobre coordenadas pueden, sin embargo, ser expresados en tablas o histogramas. En esta sección tiene importancia el análisis estadístico de los resultados.

Discusión

Discutir los principales aspectos de la investigación (hallazgos - descubrimientos). Presentar la evidencia para cada conclusión. Fundamentar los resultados inesperados y excepciones, comparar sus resultados o interpretaciones con aquellos de otro profesional investigador y otros miembros de su clase. Obviamente esta sección podría incluir información pertinente de libros, literatura periódica y otros recursos. Indicar el significado de los procesos o fenómenos estudiados y relacionar sus resultados a los encontrados por otros. En suma cada pregunta planteada podría ser respondida en esta sección.

Literatura citada

Esta es la última sección de un ensayo científico. Las referencias son anotadas alfabéticamente por autor o número consecutivo (optativo); y deben corresponder exclusivamente a los trabajos citados en el texto. En el ejemplo, la referencia N°4 corresponde a un libro y el resto son artículos publicados en revistas. Ejemplo:

- 1.- Arroyo, M.T.K., J. Armesto y C. Villagrán 1979. Phenological patterns in Chilean Andes. *Oecologia* 123:224-235.
- 2.- Gutiérrez, J., L. Aguilera y R. Moreno 1989. Seed germination in *Atriplex* species. *Revista Chilena de Historia Natural* 39: 22-34.
- 3.- Rubinstein, B. y A. Leopold 1982. Effects of amino-acid on bean leaf abscission. *Plant physiol.* 37: 398-401.
- 4.- Salisbury, F. B y C.W. Ross. 1994. *Fisiología Vegetal*. Grupo Editorial Iberoamérica, México.
- 5.- Seyfried, M. S. y S. Schwinning. (2005). Ecohydrological control of deep drainage in arid and semiarid regions. *Ecology* 86: 277-287.
- 6.- Squeo, F.A., J.R. Ehleringer, N.C. Olivares y G. Arancio. 1994. Variation in leaf energy balance components of *Encelia canescens* along a precipitation gradient in north-central Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 67: 143-155.
- 7.- Squeo F.A., Y. Tracol, D. López, J.R. Gutiérrez, A.M. Cordova y J.R. Ehleringer (2006). ENSO effects on primary productivity in Southern Atacama desert. *Advances in Geosciences* 6: 273-277.

Los trabajos citados en el texto deben indicar apellido del autor y año, en caso de existir 2 ó mas trabajos citados del mismo autor y año se coloca una letra luego de la fecha. Cuando existen más de dos autores se indica el apellido del primer autor seguido de "et al.". Los nombres científicos deben ir con letra cursiva (itálica) o subrayados.

Ejemplos:

La floración en la cordillera de los Andes está limitada a los meses de verano (Arroyo et al., 1979) y la germinación de semillas de *Atriplex* en primavera (Gutiérrez et al., 1989). Para especies arbustivas del desierto de Atacama, Squeo et al. (1994) postulan que cambios en el ángulo foliar permiten explicar una reducción en la carga calórica.

Rubinstein y Leopold (1982) proponen un efecto mensajero de algunos amino-ácidos. Esta teoría es puesta en cuestionada por Salisbury y Ross (1994).

Squeo et al. (1991) postulan que..., mientras que otros autores (p.e., Arroyo et al., 1979; Gutiérrez et al., 1989;...) dicen otra cosa.

EJEMPLO DE RESUMEN DE SEMINARIO BIBLIOGRÁFICO

Universidad de La Serena
Facultad de Ciencias
Departamento de Biología

Torres, R., F.A. Squeo, C. Jorquera, E. Aguirre y J.R. Ehleringer. 2002. Evaluación de la capacidad estacional de utilizar eventos de precipitación en tres especies de arbustos nativos con distintos sistemas radiculares. *Revista Chilena de Historia Natural* 75: 737-749.

Se evaluó la capacidad estacional de utilizar un evento de precipitación en tres especies arbustivas con diferentes sistemas radiculares (dimórficos: *Balbisia peduncularis*, *Senna cumingii*; profundo: *Haplopappus parvifolius*) en la Quebrada El Romeral, Norte Centro de Chile. El sitio posee un clima tipo mediterráneo árido con influencia de neblinas costeras y una precipitación promedio anual de 80 mm en los últimos 30 años. La utilización de precipitación artificial (i.e., 25 mm en otoño, invierno y primavera) por parte de las plantas se estimó por la composición de isótopos de hidrógeno ($\delta^2\text{H}$) en el agua del xilema y los potenciales hídricos de pre-alba (Ψ_{pa}) antes y después del riego. Los resultados indican que las tres especies utilizan una mezcla de dos fuentes de agua (agua superficial proveniente de las precipitaciones, y en mayor proporción, agua subterránea). A excepción de invierno, sólo las especies de sistemas radiculares dimórficos son capaces de reducir su déficit hídrico después de la aplicación de la precipitación artificial. La reducción en las precipitaciones observada en los últimos 100 años afectaría diferencialmente la productividad de las especies con sistema radicular dimórfico, y en especial al arbusto forrajero *Balbisia peduncularis*.

Expositor: Rodrigo Ordenes

TRABAJO PRÁCTICO: USO DEL COMPUTADOR EN FISIOLÓGÍA VEGETAL

En la ciencia moderna, los computadores son una herramienta esencial. En este trabajo práctico usted se familiarizará con algunas aplicaciones básicas. En particular interesa que el alumno se familiarice con las planillas de cálculo (Excel). En necesario que usted practique lo aprendido en forma individual, y que utilice estas herramientas para la preparación de sus informes.

Temas a tratar:

- 1) Identificación de los archivos
- 2) Ingreso de datos (títulos, columnas y filas)
- 3) Descriptores estadísticos básicos (funciones: contar, suma, promedio, desviación estándar, error estándar)

Operadores básicos (“+”, “-”, “*”, “/”)

contar =CONTAR(A1:A20)

sumar =SUMA(B1:B20)

raíz cuadrada =RAIZ (B22)

promedio =PROMEDIO(G7:G11)

desviación estándar =DESVEST(G7:G11)

error estándar (desviación estándar / raíz cuadrada del número de datos) =DESVEST(G7:G11) / RAIZ (CONTAR(G7:G11))

Logaritmo base 10 =LOG(G12)

- 4) Confección de gráficos (selección de datos, títulos, leyendas)
- 5) Regresión lineal

NOTA: es deseable que los alumnos traigan un disquete virgen (o un “pentdrive”), para poder llevarse en forma digital los ejercicios realizados en el laboratorio.

En el informe debe indicar todas la operaciones realizadas, incluyendo las funciones utilizadas, y un ejemplo de gráfico.

Experiencia 2.

Tome 2 tubos con gelatina y llene el espacio libre con una disolución al 0.01 M de Eritrosina. Coloque uno de los tubos a 0° C (refrigerador), deje otro a 10° C (estufa 2). Mida la distancia (en mm) a que se difunde el colorante en ambos tubos haciendo las lecturas siempre a las mismas horas en los intervalos indicados. El tubo con Eritrosina 0.01M de la experiencia 1 (20° C) forma parte de esta experiencia. Con los valores obtenidos calcule el coeficiente de temperatura para cada 10° C (Q10). El coeficiente de temperatura o coeficiente térmico Q10 de cualquier proceso químico o fisiológico, es el número de veces que aumenta la velocidad o intensidad del proceso, por cada 10 grados de aumento de temperatura. Interprete sus resultados.

Tabla 2. Efecto de la temperatura sobre la distancia recorrida por difusión en soluciones de eritrosina. d= distancia, Q10=coeficiente térmico.

TRATAMIENTO	Día 1		Día 3		Día 5	
	d	Q10	d	Q10	d	Q10
Refrigerador a 0°C						
Estufa a 10° C						
Estufa a 20° C						

Experiencia 3.

Tome un tubo con gelatina y llene el espacio libre con una disolución de Eritrosina diluida 10 veces respecto a la experiencia 1 (i.e., 0.001 M). Deje el tubo a 20° C. Registre las distancias (en mm) recorridas por eritrosina en 1, 2, 3, 4, 7 y 10 días, y compare sus resultados con los obtenidos con la eritrosina 0.01 M. Anote sus valores en la tabla 1.

Análisis de resultados.

Experiencias 1 y 3: Para cada colorante, haga un gráfico en papel milimetrado con los datos obtenidos, anotando la distancia recorrida (mm) en la ordenada y el tiempo (días) en la abscisa. Repita el gráfico transformando sus datos (logaritmo). Compare la curva teórica con sus resultados experimentales.

Luego de realizar el análisis de los resultados obtenidos en su trabajo práctico, discútalos. Finalmente escriba sus conclusiones, las que deben incorporar, además, una discusión del siguiente temario.

- 1.- Defina el proceso de Difusión y establezca los factores que lo determinan.
- 2.- ¿Porque algunos colorantes se comportan de manera diferente a lo esperado?.
- 3.- ¿Qué factores controlan la intensidad de la difusión y su dirección? Explique por qué decrece con el tiempo.
- 4.- ¿Cuál es la diferencia entre difusión y flujo de masa?
- 5.- Si la velocidad de difusión de un gas es inversamente proporcional a la raíz cuadrada de su peso molecular, calcule cuál sería la velocidad de difusión del H₂, O₂ y CO₂.
- 6.- Basándose en los resultados de la experiencia 3 ¿Cuánto tiempo tardará una sustancia para llegar de las hojas a las raíces de un árbol de 45 m de altura, suponiendo que el traslado se efectuará exclusivamente por Difusión?.

B.- IMBIBICIÓN

La imbibición desempeña un papel proporcionalmente grande en el movimiento de agua dentro de muchos tejidos jóvenes en crecimiento activo. El potencial mátrico (Ψ_m) es un componente importante del potencial hídrico en algunos órganos (p.e., semillas secas) o estructuras subcelulares (p.e., pared celular). El agua de la pared celular es de origen imbibitorio en su mayor parte, y cumple un papel importantes en, por

ejemplo, regular la evaporación desde las células del mesófilo a las cavidades subestomáticas. El fenómeno imbibitorio desempeña un papel mucho más importante en el movimiento del agua, en las células cuyas vacuolas son pequeñas o faltan, o cuyo interior se halla ocupado por sustancias coloidales hidrofílicas, que en las células provistas de grandes vacuolas.

A continuación se proponen una serie de experiencias que relacionan el comportamiento del "imbibiente" y del "embebedor", y los diversos factores que están influyendo en la dinámica del proceso.

Experiencia 1. Rol del líquido en la Imbibición.

Coloque un trozo de cochayuyo seco en agua y éter pesándolo previamente. Repita lo mismo con un trozo de gelatina. a) Después de 24 horas, determine el peso de cada trozo b) Determine la cantidad de líquido embebido por gramo de sustancia.

Explique los resultados obtenidos.

TRATAMIENTO	Cochayuyo		Gelatina	
	Peso Inicial	Peso Final	Peso Inicial	Peso Final
En agua				
En éter				

Experiencia 2. Aumento de volumen

Coloque porotos y almidón insoluble en agua (volumen conocido). Después de 24 horas, determine el aumento de volumen de la sustancia. Explique como calculó el cambio de volumen.

Poroto		Almidón Insoluble	
Volumen Inicial	Volumen Final	Volumen Inicial	Volumen Final

Experiencia 3. Efectos osmóticos sobre la imbibición.

En recipientes (tubos o vasos) que contiene soluciones de 4 M, 2M, 1M, 0,5M de NaCl y el control con agua destilada. Agregue en cada una 5 granos de trigo seco previamente pesados (Pi, en gramos).

Después de 48 horas, remueva los granos y obtenga el peso final (Pf, en gramos). Represente sus resultados en una curva de agua embebida/gramos de trigo vs concentración. Interprete.

	Concentración				
	4M	2M	1M	0,5M	H ₂ O _d
Peso inicial (Pi)					
Peso final (Pf)					
(Pf-Pi)/Pi					

- ¿Qué condiciones se requieren para que ocurra imbibición?
- ¿Qué es presión de imbibición? Describa un experimento para demostrarla.

Experiencia 4

Pese 30 gr. de almidón soluble y seco y coloquelos dentro de una botella "thermos" limpia y seca. A continuación agregue 30 ml de agua a temperatura ambiente (tome la temperatura inicial). Mezcle con varilla de vidrio y determine la máxima temperatura alcanzada por la mezcla.

Temperatura inicial	
Temperatura final	

a) ¿Cual es la fuente de energía calórica desarrollada durante el proceso de imbibición?

C.-OSMOSIS

Osmosis es el movimiento de agua a través de una membrana semipermeable. Tales membranas dejan pasar libremente a través de ellas a ciertas sustancias e impiden el libre paso a otras sustancias.

Las membranas plasmáticas y vacuolar son semipermeables dejando pasar libremente Al agua, pero excluyendo a otras moléculas tales como la sacarosa.

Experiencia 1.- Demostración de la Presión Osmótica mediante un Osmómetro.

La osmosis puede ser medida con un osmómetro que posee una membrana de celofán. (permeable al agua pero no a la sacarosa). En el interior se coloca una solución concentrada de sacarosa, y el osmómetro se coloca dentro de un vaso con agua destilada.

Monte la experiencia al comienzo del periodo de laboratorio e indique la posición de la solución de sacarosa en el capilar con un lápiz de cera. Mida la posición de la solución en el capilar respecto al tiempo cero cada 10 minutos. ¿Hay una difusión neta de agua a través del celofán? ¿Que sucedería con el nivel en el capilar si el osmómetro fuera colocado en una solución más concentrada de sacarosa? ¿Por que?.

Experiencia 2.- Determinación del Potencial Osmótico de una célula

El potencial osmótico de ciertos órganos o partes del vegetal pueden ser estimados fácilmente y muy rápidamente mediante la determinación del punto de plasmólisis incipiente. Cuando las células son colocadas en una solución ligeramente hipertónica con respecto a su contenido celular, ellas perderán un pequeño porcentaje de su agua. Supongamos que las células tienen inicialmente un potencial de presión positivo (presión de turgor) y pierden suficiente agua hacia la solución hipertónica externa de manera que sus potenciales de presión se reducen a cero. En este punto, el protoplasto de cada célula deja de ejercer presión sobre la pared que lo rodea. Cualquiera pérdida posterior de agua, por pequeña que sea, inicializará el colapso de la célula, condición que se conoce como **plasmólisis incipiente**. Cuando el potencial de presión es reducido a cero, el potencial hídrico de la célula es igual a su potencial osmótico ignorándose, en este caso, cualquier efecto del potencial mátrico. Si las células han alcanzado el equilibrio con la solución que los baña, su potencial hídrico (y potencial osmótico) es igual al de la solución. El potencial hídrico de la solución es igual al potencial osmótico de ella, dado que en una solución el potencial de presión es cero. Por lo tanto, a plasmólisis incipiente y en equilibrio, las condiciones son: $\Psi_{cél.} = \Psi_{sol.} = \Psi_{sol}$, donde $\Psi_{cél}$ y Ψ_{sol} representan el potencial hídrico en la célula y en la solución externa, respectivamente, y $\Psi_{cél}$ y Ψ_{sol} representan los potenciales osmóticos dentro y fuera de las células. La ventaja de esta condición es que, si nosotros podemos encontrar una solución que justamente provoque plasmólisis incipiente, el potencial osmótico de ella (del cual podemos calcular su concentración y otras propiedades) nos da una buena estimación del potencial osmótico del tejido.

El procedimiento más común utilizado para la determinación del punto de plasmólisis incipiente es observar un gran número de células bajo el microscopio, y determinar en cual solución se observa la mitad de las células contadas mostrando protoplastos que se han ligeramente separado de sus paredes.

Realice el siguiente experimento en grupos para determinar la concentración de solutos en células vivas. Monte epidermis de *Rhoeo discolor* (u otro material entregado por su ayudante) en gotas de solución de sacarosa de 0.22 M, 0.26 M, 0.30 M, 0.34 M y 0.38 M. Monte una hoja en cada concentración sobre un portaobjeto. Examine las hojas al microscopio después de 30 a 40 minutos, y revise la presencia de células plasmolizadas. Determine la concentración en que se produce plasmólisis incipiente; en este punto la concentración de soluto dentro y fuera de la célula es la misma, y no hay flujo neto de agua dentro o fuera de las células.

- 1.- ¿Cuál es la importancia de la concentración osmótica en las células vegetales?, ¿Cual es su significado en relación a la turgidez de la planta?
- 2.- Defina osmósis. Describa para ilustrarla un experimento diferente al citado.
- 3.- ¿Cuál es la importancia del potencial de presión en el crecimiento de la célula y de la planta?
- 4.- Explique si la intensidad de la osmósis depende de la naturaleza química del soluto, de su tamaño molecular o de su peso molecular.
- 5.- ¿Qué es plasmólisis? ¿Tiene alguna importancia biológica?
- 6.- Analice 3 funciones del agua en las plantas.
- 7.- Relacione los conceptos "potencial hídrico" y "DPV". Explique los dos términos.
- 8.- ¿Qué importancia biológica tienen los fenómenos de difusión, ósmosis e imbibición?

Experiencia 3.- Medición del potencial osmótico con el método psicrométrico.

Una medición más exacta del potencial hídrico o de sus componentes se puede realizar con una cámara psicrométrica conectada a un microvoltímetro. El valor de voltaje que se lee en el microvoltímetro es proporcional al potencial hídrico de la muestra, pero también es altamente dependiente de la temperatura de la cámara. Raramente se encuentran dos cámaras con las mismas características por lo que se debe hacer una curva de calibración individual.

Haga una curva de calibración con soluciones de NaCl de 0.1, 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 Molal manteniendo constante la temperatura la cámara a 20°C. A continuación mida el potencial hídrico de *Rhoeo discolor* u otro material entregado por su ayudante. Compare sus resultados con los encontrados en la experiencia 2.

Concentración de NaCl (M)	Potencial hídrico (MPa)		Cámara N°= mV
	20°C	10°C	
0,1	-0,454	-0,439	
0,2	-0,900	-0,868	
0,5	-2,241	-2,158	
1,0	-4,550	-4,366	
1,5	-6,986	-6,684	
2,0	-9,570	-9,130	

Nota: Solución 1 Molal= 58.44 gr NaCl en 100 gr de agua destilada.

D. POTENCIAL XILEMÁTICO

Entre los parámetros hídricos importantes para entender el movimiento del agua en los vegetales es el potencial xilemático (potencial hídrico del xilema). El componente más importante del potencial xilemático es el potencial de presión, el que usualmente tiene valores menores que cero (tensión). Para evaluar la magnitud del potencial xilemático se utiliza una bomba de Scholander (bomba de presión).

Experiencia 1.

En este laboratorio usted aprenderá a usar la bomba de Scholander utilizando como material de ensayo ramas y hojas recién cortadas de *Prosopis chilensis* u otro material indicado por su ayudante. Ponga atención a la explicación inicial y tome precauciones durante el uso de la bomba. Recuerde que está trabajando con altas presiones.

Retire con cuidado el floema de la parte proximal de la rama (u hoja) usando una hoja de afeitar o cuchillo cartonero. Coloque la rama en el tapón de goma e introduzca el tapón en la tapa de la bomba. Cierre la tapa. Cambie la llave de paso del Nitrógeno desde la posición OFF a CHAMBER, observe con una lupa el extremo cortado de la ramilla. Cuando vea la primera gota de xilema, cierre inmediatamente la llave de paso y lea en el manómetro. La presión que usted aplica para extraer la primera gota corresponde a la tensión que tenía la rama al momento de cortarla. Luego de anotado el valor, lleve la llave de paso a la posición OPEN. Espere hasta que el manómetro indique que la cámara esta vacía antes de sacar la tapa. Realice una medición del potencial hídrico foliar utilizando la técnica psicrométrica (Experiencia C-3). Exprese sus medidas en MPa. Compare y discuta sus resultados.

- 1.- Busque y describa otros métodos para conocer el potencial hídrico de un tejido.
- 2.- Investigue en la bibliografía si distintos tipos de hoja (i.e., xerófilas, mesófilas, hidrófilas) presentan un potencial osmótico similar.
- 3.- Señale los factores que influyen en el potencial osmótico que se desarrolla en las raíces.
- 4.- Señale que factores influyen en el potencial hídrico de una planta.
- 5.- ¿Esperaría usted que dentro de una población el potencial hídrico fuera el mismo para todos los individuos? Analícelo.

TRABAJO PRACTICO: **TRANSPIRACIÓN**

La transpiración en los vegetales puede definirse como la pérdida de agua en forma de vapor desde su superficie, causado por evaporación desde las células del mesófilo.

La transpiración puede tener lugar a través de todas las superficies del vegetal, pero preferentemente ocurre a nivel de las hojas. El agua que se evapora desde las paredes celulares del parénquima esponjoso tiende a saturar el aire en los espacios intercelulares del mesófilo. Si el aire que circunda la hoja no se encuentra saturada de vapor de agua y los estomas se encuentran abiertos, se producirá una difusión de vapor desde los espacios intercelulares al medio exterior. Claramente, una cantidad significativa de transpiración ocurrirá sólo si los estomas están abiertos, puesto que la epidermis de la hoja está cubierta de una capa de cutina casi impermeable al agua. Cuando los estomas están cerrados, la transpiración declina o se detiene totalmente.

El proceso transpiratorio se considera necesario para el movimiento de agua en los vegetales, desde las raíces, a través del tallo hacia las hojas, y una consecuencia de la entrada de CO₂ por los estomas.

La tasa transpiratoria puede de esta manera relacionarse con la condición en que se encuentran los estomas (abiertos o cerrados), y con la ubicación y frecuencia de ellos en la superficie foliar. La distribución de los estomas en las plantas varía de una especie a otra. Generalmente, ellos son más frecuentes en la epidermis inferior de la hoja, y son escasos o están ausentes en la epidermis superior. Los estomas ocupan un pequeño porcentaje del área foliar total, alrededor de un 1%.

La difusión del vapor de agua desde los poros u ostiolos es proporcional al perímetro más que el área de ellos, de manera que la pérdida de agua desde la superficie foliar es considerable. Tan pronto como la apertura elíptica del ostiolo se hace evidente, la difusión de vapor de agua desde los bordes alcanza su valor máximo debido a que el perímetro no sufre cambios apreciables con una mayor apertura. Los estomas por lo tanto, controlan la transpiración sólo cuando están totalmente cerrados o casi cerrados. La transpiración es también influenciada por las características del medio, tales como intensidad de luz, viento, concentración de CO₂, etc.

Experiencia 1.- OBSERVACIONES DE ESTOMAS EN DICOTILEDÓNEAS Y MONOCOTILEDÓNEAS

Remueva la epidermis de una hoja de cardenal (*Pelargonium zonale*) u otro material adecuado, en la forma demostrado por el ayudante. Esta técnica supera la epidermis del resto del mesófilo de las hojas.

Móntelos en un porta-objetos con una gota de agua. Compare la epidermis superior con la inferior. ¿Dónde se ubican los estomas?. Localice las células de guarda. Confeccione un esquema de la epidermis que muestre varias células epidérmicas y sus estomas.

Las preparaciones de especies mono y dicotiledóneas empléelas para determinar el número de estomas por unidad de área. Use el aumento mayor del microscopio y cuente el número de estomas visibles en 10 campos diferentes y determine el promedio de estomas. Calcule el número de estomas por decímetro cuadrado de área foliar. Trace la hoja sobre un pedazo de papel y determine su área.

1. Describa como se forman los estomas, dibuje sus componentes, describa la estructura de las células de guarda y su relación con la función de los estomas.
- 2.- Infórmese acerca de la distribución de los estomas en las hojas y su significado funcional.
- 3.- Defina la transpiración.
- 4.- Indique la diferencia entre transpiración y gutación
- 5.- ¿Es la transpiración la única función de los estomas? Explique.

Experiencia 2.- MECANISMO DE CIERRE ESTOMÁTICO.

Siguiendo el procedimiento delineado en el experimento 1, aísle la epidermis con estomas del material vegetal, indicado por el ayudante, y colóquelas en una gota de agua y cúbrala con un cubreobjetos.

Localice bajo el microscopio los estomas y sus células oclusivas. Bajo estas condiciones los estomas se encontrarán abiertos. Es posible cerrar los estomas aumentando la concentración externa de solutos y la concentración de CO_2 . Esto puede ser realizado haciendo fluir una cierta cantidad de bebida carbonatada bajo el cubre-objetos.

Coloque una gota de una bebida gaseosa en un extremo del cubreobjetos y coloque un trozo pequeño de toalla de papel en el extremo opuesto. El líquido absorbido por la toalla de papel arrastrará la bebida gaseosa bajo el cubreobjetos. ¿Qué sucede a medida que aumenta la concentración de CO_2 alrededor de los estomas?. Explique qué posible mecanismo está operando en los estomas.

Experiencia 3.- PERDIDA DE AGUA POR TRANSPIRACIÓN

Coloque el macetero con una planta en buen estado sobre una balanza. Previamente esta planta ha sido muy bien regada y encerrada en una bolsa de plástico que impedirá la evaporación del suelo que contiene el macetero. Determine su peso a media hora de intervalo y anote sus datos en una hoja.

Estos datos deben ser registrados durante todo el día. Con sus datos determine la velocidad de pérdida de agua en ml/hr. Junto a lo anterior, realice la misma operación pero utilizando una planta sin envolver el macetero en una bolsa de plástico. ¿Qué planta pierde más agua?, ¿Por qué es necesario encerrar el macetero en una bolsa de plástico?.

Experiencia 4.- OBSERVACIONES DE HOJAS DE ESPECIES DE DISTINTOS AMBIENTES.

Observe cuidadosamente en los microscopios de demostración dos tipos de hojas especializadas. Dibújelas. ¿Cómo es la epidermis de una hoja que habita en un ambiente xérico? ¿Cómo es la epidermis de una hoja que habita en un ambiente méxico?, ¿Cómo se modifica el mesófilo bajo estas dos condiciones?.

Experiencia 5.- EFECTO DE LAS CONDICIONES AMBIENTALES SOBRE LA TRANSPIRACIÓN.

Su ayudante describirá el instrumento llamado potómetro (Potare= agua; metro= medir), y su uso para medir transpiración en hojas de Pitosporo (*Pittosporum torido*) u otro material adecuado. Determine la tasa de transpiración promedio en un período de 20 minutos bajo condiciones de luz y aire del laboratorio. Repita la medición mientras el potómetro es iluminado con una lámpara. Repita el experimento por tercera vez mientras provoca una corriente de aire.

¿Cuál de los siguientes factores tiene mayor efecto en la tasa transpiratoria y cuál menor: viento, temperatura, luz, humedad? ¿Cómo podrá Ud. probar su hipótesis?.

Experiencia 6.- CUANTIFICACIÓN DE TRANSPIRACIÓN UTILIZANDO UN SISTEMA PORTÁTIL DE FOTOSÍNTESIS COMO POROMETRO.

El sistema portátil de fotosíntesis (CI-301PS, CID Inc.) permite determinar, además de la tasa de fotosíntesis, la tasa de transpiración y la resistencia estomática de una hoja encerrada en la cubeta del instrumento.

Siga las indicaciones del ayudante (ver manual) en lo referente a la conexión del sistema. Recuerde que es un equipo delicado. Si no sabe o no entendió vuelva a preguntar.

La fuente de aire será externa al laboratorio (concentración de CO_2 ca. 350 ppm).

a) En equipo registrará la humedad que existe en una muestra del aire que sale de la cubeta. ¿De qué depende la concentración en el aire de la cubeta? ¿Cuanto aire esta pasando a través de la cámara?

TRABAJO PRACTICO: **NUTRICIÓN MINERAL**

Como todos los seres vivos, el principal constituyente de los vegetales es el agua, llegando incluso a un 95% de su peso fresco en los tejidos suculentos. En el 5% restante podemos encontrar, en mayor proporción, los elementos Carbono, Hidrógeno, Oxígeno y Nitrógeno formando principalmente compuestos como carbohidratos, proteínas y lípidos en solución. El resto de la materia seca esta constituida por elementos minerales esenciales para el desarrollo del vegetal. Estos son absorbidos del suelo en forma de iones y están presentes como tales en la planta, o bien en combinaciones orgánicas.

De Saussure, en 1804, fue uno de los primeros investigadores que reconoció la necesidad que muestran las plantas por estos elementos contenidos en el suelo. Liebig (1840) fue otro investigador destacado en el estudio del papel esencial desempeñado por los componentes inorgánicos.

Sachs y Knop, en 1860, determinaron experimentalmente el contenido mineral de las plantas empleando cultivos en medio líquido, demostraron que existen elementos esenciales para la planta y éstos son: C - H - O - N - P - K - Ca - S - Mg - Fe. Se aceptó que estos 10 elementos constituían todos los que la planta necesita para su normal crecimiento y desarrollo. Sin embargo se sabe que hay otros elementos que, aunque son necesarios en concentraciones muy pequeñas, son indispensables para el crecimiento de la mayor parte de los vegetales: los Micronutrientes (o elementos traza).

Experiencia 1.-

Prepare 11 frascos de 1 litro cada uno recubriéndolos con papel aluminio, de manera que su interior quede totalmente hermético al paso de la luz. Enseguida prepare los tapones correspondientes con 2 perforaciones para cada uno de los frascos. En cada uno de los frascos coloque las soluciones que se indican en la tabla 4 y complete a un litro con agua destilada.

Posteriormente, selecciones 2 plántulas de maravilla (o poroto) de 3 semanas y coloquelas en los tapones, protegiendo el tallo con el algodón hidrófobo. Preocupese que las raíces de las plantas estén en contacto con la solución.

Coloque los frascos en un lugar apropiado (invernadero) y registre las condiciones iniciales de cada planta en cada tratamiento en la Tabla 1.

Tabla 1. Condiciones iniciales de los tratamientos

Tratamiento:				
Réplica:	Planta 1	Planta 2	Planta 1	Planta 2
Tamaño de los cotiledones				
Aspecto de los cotiledones				
Longitud del tallo (epicotilo)				
Longitud de la raíz				

Resultados

Los resultados de este trabajo práctico serán compartidos entre todos grupos que participan en el laboratorio. Usted es el responsable del montaje y posterior evaluación de un subconjunto del total de los tratamientos. En su informe debe analizar todos los tratamientos por lo que es importante que mantenga al

día la tabla general de datos.

Semanalmente y durante un mes, registre para cada uno de los tratamientos: el incremento en longitud del tallo, aparición y desarrollo de hojas, estado de los cotiledones, síntomas de deficiencia (por ejemplo, aparición de clorosis, necrosis). Anote esos resultados en la tabla 2, copia de la cual debe quedar en el invernadero.

Expresar los resultados semanales en forma gráfica.

Al final del experimento determine la longitud, peso fresco y peso seco del tallo y raíces (Tabla 3), y describa el aspecto que presentan las hojas nuevas y viejas, tallos y raíces.

- 1.- Describa los síntomas de deficiencia de cada elemento observado en las plantas de maravilla y poroto.
- 2.- Explique las deficiencias en crecimiento y efectos observados en las soluciones completas con fuentes diferentes de Fe.
- 3.- Explique la acción específica de cada elemento en las plantas.
- 4.- Defina que es un fertilizante
- 5.- ¿Qué elemento mineral del suelo es absorbido en mayor cantidad por las plantas

Tabla 2. Resultados semanales de los tratamientos

Tratamiento:			Grupo:			
SEMANA	PLANTA	Longitud Tallo	Número de hojas	Aspecto Cotiledones	Aspecto Hojas viejas	Aspecto Hojas nuevas
Semana 1	Planta 1					
	Panta 2					
Semana 2	Planta 1					
	Panta 2					
Semana 3	Planta 1					
	Panta 2					
Semana 4	Planta 1					
	Panta 2					

Tabla 3. Resultados finales de crecimiento. Indicar valores promedio por tratamiento.

TRATAMIENTOS	TALLO			RAIZ		
	PF	PS	Longitud	PF	PS	Longitud
Completo Fe EDTA						
Completo FeCl3						
- Ca						
- S						
- Mg						
- K						
- N						
- P						
- Fe						
- Micronutrientes						
Completo + Na						

Tabla 4. Composición de la Solución Nutritiva de Hogland y soluciones con deficiencia.

TRATAMIENTO	Completo Fe EDTA	Completo FeCl3	- Ca	- S	- Mg	- K	- N	- P	- Fe	-Micronu- trientes	Completo + Na
Ca(NO3)2	10	10	0	10	10	10	0	10	10	10	5
KNO3	10	10	10	10	10	0	0	10	10	10	10
MgSO	4	4	0	0	0	4	4	4	4	4	4
KH2PO4	2	0	2	2	2	0	2	0	2	2	2
FeEDTA 5mg/ml	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2
Micronutrientes	2	0	2	2	2	2	2	2	2	0	2
NaNO3	0	0	20	0	0	10	0	0	0	0	10
MgCl2	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0
Na2SO4	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0
NaH2PO4	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
CaCl2	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	5
KCl	0	0	0	0	0	0	10	2	0	0	0
FeCl3 (5mg/ml)	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0

La solución de Micronutrientes contiene (por litro): 2,86 gr de H3B03; 1,81 gr de MnCl2.4H20; 0,11 gr de ZnCl2; 0,05 gr. de CuCl2.2H20; y 0,025 gr. de Na2Mo04.2H20.

TRABAJO PRACTICO: FOTOSÍNTESIS

El color dominante en el mundo es el verde. La mayoría de las plantas verdes deben su color a la Clorofila, pigmento que es capaz de capturar energía radiante y transferirla en energía química.

La fotosíntesis se divide por convención en dos etapas (que pueden ocurrir o no en forma simultánea): la fase clara ($2\text{H}_2\text{O} + 2\text{NADP}^+ + 3\text{ADP} + 3\text{Pi} + 8-12$ fotones $\rightarrow \text{O}_2 + 2\text{NADPH} + \text{H}^+ + 3\text{ATP} + 3\text{H}_2\text{O}$) y la fase oscura (en que NADPH y ATP es usado para incorporar CO_2 a moléculas orgánicas).

El CO_2 es normalmente incorporado en el ciclo de Calvin (Plantas C_3) por intermedio de la enzima rubisco (ribulosa 1,5 difosfato carboxilasa), siendo el primer aceptor el ácido 3 fosfoglicérico (3PGA). En las llamadas plantas C_4 y CAM, el CO_2 es capturado inicialmente por la PEP carboxilasa (fosfoenolpiruvato carboxilasa); siendo la diferencia entre ellas, en que las C_4 transfieren el CO_2 incorporado a otro compartimiento (mesófilo \rightarrow vaina del haz; desfase espacial), y las CAM lo acumulan como ácido málico (en vacuolas durante la noche; desfase temporal) En los dos casos se produce una descarboxilación y el CO_2 es incorporado en el ciclo de Calvin por la rubisco (durante el día). En la mayoría de las plantas las sustancias orgánicas sintetizadas como producto de la fotosíntesis son almacenadas temporalmente como almidón dentro del cloroplasto.

NOTA: Desarrolle un protocolo del paso práctico.

Experiencia 1.- Detección de Fotosíntesis por gravimetría.

Corte discos de hojas que le proporcionara el ayudante, mediante un sacabocados de diámetro no mayor de 19 mm.

Su sistema experimental consistirá de tres grupos con 5 discos cada uno. Uno servirá como control de la situación inicial, y los otros dos se someterán al ensayo (3 y 24 hrs)

Obtenga el peso fresco inicial (PFI) y peso seco inicial (PSi) del Control, que corresponden a los discos del sistema testigo pesados en fresco y luego de ser secados en una estufa a 75°C por 24 hrs, respectivamente. Registre sus valores en la Tabla 1.

Luego de obtener el peso fresco inicial (PFI) de los dos grupos restantes, se colocan cuidadosamente sobre agua destilada en una placa petri. La fase pilosa debe estar en contacto con el agua para evitar el cierre estomático. Luego se instalan en la cámara climática (20°C , alta radiación) por 3 y 24 horas. Una vez transcurrido el tiempo de experimentación, se obtiene el peso fresco final (PFf) y el peso seco final (PSf). Utilice la relación PFI/PSi del testigo para calcular los PSi de cada tratamiento.

Tabla 1.- Resultados de detección de fotosíntesis por gravimetría.

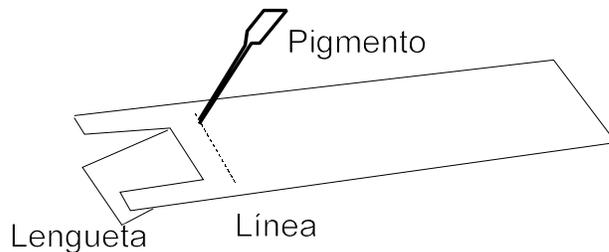
Peso	Control (0 hr)	3 hrs	24 hrs
Fresco Inicial (PFI)			
Fresco Final (PFf)			
Seco Inicial (PSi)			
Seco Final (PSf)			

Experiencia 2.- Extracción de pigmentos foliares, cromatografía y fluorescencia de la clorofila.

a) Preparación del extracto: Elimine las grandes venas de las hojas. En un mortero con un poco de arena y polvo de CaCO_3 (para neutralizar los ácidos orgánicos) macere completamente 2 gr de hojas frescas.

Incorpore unos 7 ml de acetona, o más si es necesario y continúe moliendo hasta obtener un líquido bien concentrado. A continuación filtre en un embudo Buchner para mover los restos celulares. Unas gotas del extracto así obtenido se utilizará en la cromatografía en papel y el resto en fluorescencia.

b) Cromatografía: Prepare la cámara cromatográfica agregando 10 ml de toluol a una base de cápsula Petri y tape con la otra para obtener un ambiente saturado. En una tira de papel filtro (Whatman N°1 de 15 x 4 cm) haga un corte de 2.5 x 0.7 cm a modo de la lengüeta o mecha se pueda poner en contacto con el líquido de la cápsula. unos 5 mm por encima de la base de la lengüeta, trace transversalmente una línea suave con lápiz mina. Con una pipeta Pasteur, deposite cuidadosamente el extracto obtenido sobre la línea utilizando una pipeta Pasteur fina. Seque con aire caliente. Repita la operación hasta lograr una mancha concentrada.



Procediendo rápidamente, abra la cápsula Petri cuyo interior está saturado, sumerja la lengüeta en el toluol y tape nuevamente la cámara cromatográfica. Saque el papel cromatográfico del solvente cuando los pigmentos lleguen a un centímetro del borde de contacto (aproximadamente 10 mín.). Marque los límites de cada color con un lápiz mina. Calcule el Rf de los pigmentos separados en la cromatografía a partir del centro de la mancha; utilice para ello la fórmula siguiente:

$$R_f = \frac{\text{distancia recorrida por la sustancia}}{\text{distancia recorrida por el solvente}}$$

Anote la características de Rf y color de cada pigmento separado con el solvente usado. Identifique los pigmentos con esos antecedentes.

- 1.- Indique la fórmula estructural de los pigmentos encontrados y señale en qué parte de la célula vegetal se ubican.
- 2.- ¿Cual es la estructura de la clorofila? ¿En qué difieren la a y la b?
- 3.- ¿Qué factores intervienen en la síntesis de la clorofila?
- 4.- ¿Se mantendrá el Rf de un compuesto si se cambian los solventes en una cromatografía

c) Fluorescencia. Purificación del extracto: El extracto obtenido en el punto a) se coloca en un embudo de decantación que contiene 10 ml de éter de petróleo, la mezcla se agita rotando el embudo suavemente permitiendo de vez en cuando la salida de aire; luego se agregan 10 ml de agua destilada. La mezcla se agita nuevamente por rotación hasta lograr la separación de dos fases. La fase superior de éter de petróleo contiene los pigmentos; elimine cuidadosamente la fase agua-acetona (fase inferior) abriendo la llave de paso del embudo. Diluya una pequeña cantidad del extracto foliar 10 : 1 con éter de petróleo.

- 1.- ¿Cuál es el color de la solución cuando se coloca contra la luz?
- 2.- ¿Cuál es el color de la solución cuando se mantiene contra un fondo oscuro y se ilumina lateralmente?.
- 3.- ¿Cuál es la diferencia entre fluorescencia y fosforescencia?
- 4.- ¿Cómo se transfiere la energía de una molécula a otra?
- 5.- ¿Qué ocurre con la luz que incide en cloroplastos de las plantas?
- 6.- ¿Dónde se localizan las antocianinas dentro de la célula?

El color rojo se debe a la fluorescencia de la clorofila, normalmente en la reacción clara de la fotosíntesis la energía luminosa es atrapada por la clorofila y convertida en energía química; que es utilizada para la fosforilación del ADP a ATP y reducción del NADP a NADPH. En ausencia de la maquinaria fotosintética (como ocurre en el extracto de éter de petróleo), la energía absorbida no puede ser transferida y es re-emitida como luz visible no utilizable. La luz absorbida es re-emitida desde un nivel energético levemente inferior (longitud de onda mas larga) que la luz primariamente absorbida.

Experiencia 3.- Cuantificación de fotosíntesis utilizando un analizador infrarrojo de CO₂ (IRGA).

El sistema portátil de fotosíntesis (CI-301PS, CID Inc.) permite determinar la tasa de fotosíntesis, de transpiración y la resistencia estomática de una hoja encerrada en la cubeta del instrumento. La evaluación se puede hacer utilizando un sistema de flujo de aire abierto o uno cerrado. ¿Cuales son los supuestos es cada caso?. Haga un esquema de cada uno de los sistemas.

Siga las indicaciones del ayudante (ver manual) en lo referente a la conexión del sistema. Recuerde que es un equipo delicado. Si no sabe o no entendió vuelva a preguntar.

En el sistema de flujo de aire abierto, la fuente de aire será externa al laboratorio (concentración de $\text{CO}_2 \approx 340 \text{ ppm}$).

a) En IRGA registrara la concentración de CO_2 que existe en la muestra de aire. ¿De que depende la concentración en el aire de la cubeta? ¿Cuanto aire esta pasando a través de la cámara?

b) Evalúe el intercambio de gases (fotosíntesis / transpiración) de sus plantas sometidas a los distintos tratamientos de nutrientes (Práctico de Nutrición Mineral).

Para esto utilice hojas jóvenes totalmente expandidas.

Experiencia 4: Clorofila - CO_2 - Estoma en la Fotosíntesis.

De una planta de *Pelargonium* variegado (u otro material vegetal adecuado) que a sido mantenida dos días en oscuridad para que consuma el almidón de reserva, seleccione 3 hojas jóvenes de edad y tamaño comparable. NO LAS CORTE. Coloque en cada hoja una etiqueta atada con hilo y escrita con lápiz mina. Una de las hojas se encierra en un matraz Erlenmeyer de tamaño adecuado, que contiene 50 ml de soda cáustica. El pecíolo se envuelve con algodón embebido en agua de cal y se cierra el matraz con un tapón de corcho perforado y abierto lateralmente, untado previamente en vaselina. Se sujeta el matraz con un soporte cuidando de no romper el pecíolo, ni dejar que el limbo toque la soda cáustica. El envés de otra hoja es untada con vaselina. El conjunto se expone a la luz artificial, colocando una lámpara a 20 cm. de la planta.

Al cabo de 4 horas se sacan las dos hojas tratadas más la de control. ELIMINE la vaselina de la hoja. Se mojan completamente con agua y se colocan en un fondo oscuro bajo un trozo de vidrio. Se pone papel transparente sobre el vidrio y se marca la silueta de la hoja, así como los límites entre la zona verde y la decolora. Extraiga los pigmentos con alcohol (en la forma que le indicará el ayudante) e identifique con lugol la presencia de almidón. Junto con lo anterior haga un nuevo dibujo de la hoja indicando las áreas en que hubo resultado positivo para el almidón, las hojas utilizadas deben ser jóvenes.

TRABAJO PRACTICO: REGULADORES DEL CRECIMIENTO - GERMINACIÓN

A) REGULADORES DEL CRECIMIENTO

El crecimiento de las plantas no sólo esta determinado por la absorción de sustancias minerales a través de las raíces y por los hidratos de carbono sintetizados en las hojas, sino también por ciertas sustancias químicas que actúan como agentes específicos y correlacionan el crecimiento entre las diversas partes de las plantas. Estos agentes son la hormonas vegetales o fitohormonas. Hill señala que una hormona es una sustancia orgánica que se produce dentro de la planta y que en bajas concentraciones promueve, inhibe o modifica cualitativamente el crecimiento.

Experiencia 1.- Efecto del ácido indol-butírico (AIB) en la formación de raíces.

Corte estacas de la planta que se le indique en el laboratorio, de 10 a 15 cm y con 3 a 6 nudos. Haga el corte basal inmediatamente debajo de un nudo y el corte superior sobre el nudo. Elimine las hojas inferiores pero deje 3 a 4 de las superiores.

Todas las estacas cortadas deben ser lavadas en un solución de agua más antimicótico luego introduzca por unos segundos 10 estacas en cada uno de los vasos que contengan 100 ml de una de las siguientes soluciones de AIB en etanol: 1, 10 100 y 500 ppm, y etanol puro. El tiempo de inmersión en la solución puede ser mayor en especies muy leñosas. En caso de usar especies poco leñosas se debe eliminar las dosis de 100 y 500 ppm, e incorporar 2.5 y 5 ppm. En caso de utilizar la hormona diluida en agua (y no en etanol), el tiempo que deben estar las estacas dentro de la solución es cercano a la media hora. A un conjunto adicional de estacas coloquele enraizante comercial (por ejemplo, ácido naftalén-acético (ANA)) en la base de la estaca. ¿Que concentración de hormona tiene el enraizante comercial?

Plante las estacas en maceteros con un sustrato inerte (arena, vermiculita) y cubralas con una bolsa plástica para reducir la pérdida de agua. Registre cuidadosamente cada semana hasta detectar la aparición de raíces. Al cabo de un mes aproximadamente, saque las estacas con cuidado de no romper las raíces y observe la presencia de raíces adventicias, primordios radicales y anomalías. Anote lo observado en cada tratamiento en la tabla 1.

- 1.- ¿Cual es, a su juicio, la concentración de AIB más efectiva?
- 2.- ¿Que ocurre con la concentración de 500 ppm?
- 3.- En el caso de la hormona comercial ¿Cual es el objetivo de utilizar el ANA diluido en un polvo?. Fundamente sus respuestas.

Tabla 1. Enraizamiento de estacas. Indicar la proporción de estacas que se encuentra en las siguientes condiciones.

Efectos	Concentración de AIB (ppm)					ANA
	0	1	10	100	500	
Estacas sin primordios ni raíces adventicias						
Estacas con primordios						
Estacas con raíces de más de 1 mm						
Nº raíces / estaca						
Estacas con anomalías (partiduras excesivas, engrosamiento excesivo, necrosis, etc.)						

Nota sobre la solución de Auxina: El PM de AIA es 175.19 y del ácido indol-butírico (AIB) es de 203.24 g. La solución una vez preparada dura aproximadamente 2 semanas. Se debe guardar en refrigerador y frasco oscuro.

EXPERIMENTO 2: Abscisión foliar.

El término abscisión foliar, indica el proceso de separación de las hojas del cuerpo de la planta, por desintegración o separación de las células de la llamada "capa de abscisión". Esta está formada por una o más capas de células que sufren división transversal y que se ubican a través del pecíolo, cerca de su base. La separación de las células parenquimatosas en esta zona resulta de la solución de las láminas medias y, a veces, también de la pared celulósica.

Producida la disolución anteriormente mencionada, el pecíolo continúa adherido sólo por los elementos vasculares. Luego estos se quiebran de golpe bajo la presión de la gravedad o por acción del viento y la hoja cae. Por lo general los haces vasculares que quedan abiertos se cierran mediante la acumulación de gomas o tilosas.

La abscisión foliar se puede demorar o inhibir mediante la aplicación de ciertos reguladores de crecimiento. (Por ejemplo: el ácido indolacético (A.I.A.) y el ácido naftalenacético) sobre las láminas foliares o sobre la superficie de un pecíolo laminado.

La eficacia de los reguladores de crecimiento para evitar abscisión foliar sugiere que la caída de las hojas es otro proceso fisiológico regulado por hormonas.

Procedimiento:

Selecione una planta de *Geranium* (u otro material adecuado) y elija 6 hojas; elimínelas el limbo o lámina y sobre los extremos cortados de 3 pecíolos agregue lanolina pura y en los otros 3 lanolina + AIA (1000 ppm). Tres hojas intactas servirán como segundo control. No olvide rotular correctamente todos los pecíolos.

Observe a los 3, 6, 9, 12 y 15 días el número de pecíolos que han caído. Si es necesario puede alargarse el período de observación.

- 1.- ¿En qué forma el A.I.A. inhibe la abscisión de las hojas?
- 2.- ¿Qué otro proceso, aparte de la abscisión, controla el ácido indolacético en el pecíolo?
- 3.- ¿Cuál es la relación entre la posición de las hojas en el tallo y la respuesta del pecíolo al A.I.A.?
- 4.- Explique los resultados de este experimento y la importancia en el proceso de la caída de las hojas anualmente.
- 5.- Señale una definición de auxina y caracterícela respecto a:
 - a) distribución en la planta
 - b) movilidad
 - c) biosíntesis
- 6.- Indique seis efectos fisiológicos de las auxinas
- 7.- Haga una lista de las principales auxinas sintéticas

PROTOCOLO PARA LA PREPARACION DE SOLUCION DE AUXINA:

Para preparar una solución de AIA 100 ppm, disuelva 100 mg de AIA en 2 a 5 ml de alcohol absoluto y lentamente, sin dejar de agitar, agregue agua destilada tibia hasta completar unos 950 ml. Luego, una vez fría la solución, afores a 1 litro. El PM de AIA es 175.19 y del ácido indol-butírico (AIB) es de 203.24 g. La solución una vez preparada dura aproximadamente 2 semanas. Se debe guardar en refrigerador y frasco oscuro.

Preparación de lanolina con AIA: Pese la cantidad de lanolina que necesita, póngala en un frasco de boca ancha y sumérjala en agua caliente (50° a 60°C) para derretir la lanolina. Disuelva la cantidad deseada de auxina en alcohol absoluto y agregelo a la lanolina revolviendo bien para obtener una mezcla homogénea. Deje enfriar antes de usar. Llene una jeringa desechable con la pasta de lanolina, eso facilitará su aplicación.

c) VIABILIDAD DE LAS SEMILLAS

Experiencia 3.- Ensayo de viabilidad (Test del Cloruro de Tetrazolium).

Uno de los ensayos utilizados para determinar la viabilidad se basa en la observación de que la semilla respira por lo que es capaz de reducir el Cloruro de 2,3,5- Trifeniltetrazolium desde el estado incoloro a color rojo carmín. Si la semilla no es viable no se observara ningún cambio de color.

Se trabajará con semillas de maíz o poroto que han sido previamente embebidas en agua destilada por 24 horas. Selecciones 10 semillas sin hervir, y 10 semillas hervidas. Corte longitudinalmente las semillas en dos mitades a lo largo del embrión (practique el corte con un par de semillas extras).

Coloque las mitades en cápsulas de petri que contengan una solución al 1% de Cloruro de Tetrazolium. Deje las cápsulas en oscuridad a 35° C por 3 horas, luego examine y anote para cada grupo, el número de semillas cuyos embriones se han teñido de color rojo carmín.

RESULTADOS

a) Calcule el porcentaje de viabilidad de la siguiente forma:

% de viabilidad = N° de semillas coloreadas X 100 / N° Total de semillas

b) Compare los porcentajes obtenidos con semillas hervidas y sin hervir

1.- Dibuje la mitad de la semilla para mostrar el embrión tenido.

2.- Investigue la reacción de Cloruro de 2,3,5-Trifeniltetrazolium.

3.- Investigue sobre el fenómeno de latencia en las semillas.

Experiencia 4.- Escarificación de semillas.

Un tipo frecuente de latencia seminal interna es la impuesta por las cubiertas seminales (testa) que son impermeables al agua u oxígeno. Se puede romper este tipo de latencia al eliminar parcial o totalmente la testa con algún tratamiento físico o químico (el proceso se llama escarificación). La impermeabilidad de la testa no siempre se debe a la capa mas externa. Finalmente las testas duras podrían causar la latencia, independientemente de su grado de impermeabilidad, al restringir mecánicamente la expansión del embrión y a pesar de que esta pueda recibir un adecuado suministro de oxígeno y agua.

TRATAMIENTOS

a) Escarificación con lija: con una escofina o lija gaste una porción de la testa de 25 semillas, hasta romperla, cuidando de no dañar el embrión.

b) Escarificación ácida: con mucha precaución, sumerja 25 semillas en ácido sulfúrico concentrado. Deje las semillas por 5 minutos o hasta que tomen un aspecto blanquecino-gelatinoso. Luego lavar con abundante agua.

c) Los controles estarán constituidos por las semillas integras, sin escarificación.

Luego siembre cada tratamiento en una placa petri con papel secante, previamente esterilizada. La tapa más pequeña debe quedar arriba para regar sin abrir la cápsula. Lleve las cápsulas a la cámara climática (25° C) y controle diariamente hasta completar una semana. Para regar utilice una pinzeta con agua destilada.

¿Cuál es el porcentaje de germinación en cada caso? Grafique sus resultados.

Experiencia 5.- Presión de Imbibición.

Debido a la naturaleza coloidal de algunos componentes de las semillas, una de las primeras etapas en el proceso germinal consiste en la absorción de grandes cantidades de agua que supera el volumen original de la semilla seca. Este proceso se conoce por el nombre de imbibición y está dado por el carácter altamente hidrófilo de los coloides.

Para demostrar la presión de imbibición, proceda a llenar hasta la mitad un embudo de vidrio de 15 cm. de diámetro y provisto de un papel filtro con yeso (CaSO_4). Agregue 40 ml de agua por cada 100 gr de yeso. Distribuya 15 semillas de poroto sobre la superficie, luego agregue más yeso hasta 0,5 cm del borde. Una vez que se establezca el sistema (de 10 a 15 mín.) remueva el cono de yeso del embudo e inviertalo en una bandeja con una capa delgada de agua. Observe cada cierto tiempo y describa los resultados.

1.- ¿Que es la presión de imbibición?

2.- ¿Cómo puede medirse la presión de imbibición?

3.- ¿Cuáles son las presiones de imbibición máximas conocidas que pueden desarrollarse en los tejidos vegetales?

TRABAJO PRACTICO: TÉCNICAS DE INVERNADERO

La propagación de plantas en invernadero es una actividad muy atractiva para los jóvenes, puesto que les permite aprender haciendo. En este práctico usted deberá considerar todos las etapas en la preparación de plantas.

- 1) Sustrato. Prepare una mezcla de tierra de hoja y arena en proporción 1 : 1.
¿Cual es la importancia de utilizar un sustrato esterilizado? ¿Cuales son las principales alternativas de sustratos?
 - 2) Maceteros. Prepare maceteros (bolsas negras), agregando el sustrato húmedo. ¿Como asegura el drenaje?
 - 3) Preparación de plántulas en “speedlings” (germinadoras). Una parte de las semillas producidas en el práctico de Reguladores del Crecimiento serán colocadas en una bandeja germinadora.
¿Cual es el grado de compactación del sustrato? ¿Como asegura la humedad en este sistema?
 - 4) Montaje de plantas en maceteros. Para esta experiencia se utilizarán las estacas producidas en el práctico Reguladores del Crecimiento.
¿Que cuidados debe tener al momento de la plantación?
- 1.- ¿Cual es la importancia del tamaño de la maceta en el desarrollo de la planta?
 - 2.- ¿Que técnicas existen para asegurar el riego en un invernadero?
 - 3.- ¿Cual es la importancia de la temperatura y humedad relativa dentro de un invernadero?
 - 4.- Que pasos se deben dar para llevar una planta desde invernadero a terreno? (aclimatación)
 - 5.- Diseñe un invernadero básico para una unidad escolar. ¿Que materiales necesita? ¿Cuanto es su costo aproximado?