



Universidad Veracruzana



# *Manual de prácticas de laboratorio*

## **Experiencia educativa: Fisiología vegetal**

**Autores:**

**Mtro. Tomás Carmona Valdovinos**

**Dra. Yureli García De La Cruz**

**Mtra. Clara Córdova Nieto**

**Julio de 2018**





**UNIVERSIDAD VERACRUZANA  
FACULTAD DE BIOLOGÍA XALAPA  
AVAL DE ACADEMIA PARA PRODUCTOS ACADÉMICOS**

En la ciudad de Xalapa, Echez siendo las 10 horas del 3 de julio del 2018, reunidos en sesión extraordinaria los miembros de la Academia por Área de conocimiento: Infraorganísmica. Carrera de Biología Plan de Estudios 2013: MODELO EDUCATIVO INTEGRAL Y FLEXIBLE.

Para evaluar y avalar el material de apoyo a la docencia mencionado a continuación:

<b>Nombre del producto académico:</b>	<b>MANUAL DE PRÁCTICAS DE LABORATORIO</b>
<b>Autores:</b>	<b>MTRO. TOMAS FERNANDO CARMONA VALDOVINOS MTRA. CLARA CORDOVA NIETO DRA. YURELI GARCIA DE LA CRUZ</b>
<b>Experiencia Educativa:</b>	<b>FISIOLOGÍA VEGETAL</b>
<b>Periodo de elaboración:</b>	<u>Enero - Marzo 2017</u>
<b>Periodo de modificación:</b>	<u>4 de julio de 2018</u>
<b>Periodo para su aplicación:</b>	<u>Febrero - Julio 2018</u>
<b>Área de formación:</b>	<b>DISCIPLINARIA-OBLIGATORIA</b>

Sin otro asunto que tratar, se da por terminada la sesión firmando al calce los que en ella intervinieron avalando los productos académicos.

Atentamente

"Luz de Veracruz Arte, Ciencia, Luz."

Nombres	Firmas
<b>MTRO. TOMAS FERNANDO CARMONA VALDOVINOS</b>	
<b>MTRA. CLARA CORDOVA NIETO</b>	
<b>DRA. YURELI GARCIA DE LA CRUZ</b>	

Vo.bo.

Coordinador de Academia por Área de Conocimiento:

Nombre y Firma

## ÍNDICE

Introducción.....	2
Relación de las actividades con el programa de estudio de la experiencia educativa .....	3
Normas del laboratorio de fisiología vegetal.....	4
Práctica No. 1 Contenido de humedad de semillas.....	5
Práctica No. 2 Viabilidad de semillas.....	7
Práctica No. 3 Germinación.....	9
Práctica No. 4 Crecimiento y desarrollo vegetal .....	12
Práctica No. 5 Capacidad de campo y punto de marchitez permanente.....	14
Práctica No. 6 Determinación del potencial hídrico.....	17
Práctica No. 7 Dinámica estomática.....	23
Práctica No. 8 Clorofila.....	26
Práctica No. 9 Pigmentos no fotosintéticos: antocianinas.....	29
Práctica No. 10 Acidez en frutos.....	32
Practica No. 11 Área foliar y área foliar específica.....	35

Fisiología

## INTRODUCCIÓN

La Fisiología Vegetal es la ciencia que estudia cómo funcionan las plantas, es decir, qué es lo que las mantiene vivas. Explica, mediante leyes físicas y químicas, el modo en que las plantas utilizan la energía de la luz para sintetizar, a partir de sustancias inorgánicas, moléculas orgánicas con las que construyen las complejas estructuras que forman su cuerpo (Revilla y Zarra, 2013). Como resultado de este patrón estructural de crecimiento, las plantas enfrentan varios problemas especiales de consecución de alimento y sobrevivencia que han resuelto de diversas maneras. Deben soportar no sólo los cambios ambientales predecibles sino también variaciones impredecibles del tiempo y el clima (Bidwell, 1993).

Los tres órganos básicos de las plantas son las raíces, tallos y hojas. Las raíces ayudan a la fijación de la planta, absorben y conducen agua y minerales y almacenan alimento. Las hojas son el principal órgano fotosintético de la mayoría de las plantas vasculares, y el tallo que no solo sirve de soporte sino que pueden existir diversas modificaciones como estolones, rizomas, tubérculos y bulbos. El proceso de transporte de sustancias en las plantas es impulsado por procesos físicos que ocurren en el tejido vascular o conductor y es a través de la Teoría de la Tensión Cohesión que podemos entender todos los procesos involucrados el ascenso de agua y nutrientes, en el intercambio gaseoso así como las interacciones con el suelo y el ambiente circundante (Campbell & Reece, 2007).

Asimismo, el modelo del continuo suelo-planta-atmósfera es una buena aproximación teórica y funcional, ya que analiza el flujo de agua en la planta desde el suelo como fuente hasta la atmósfera como sumidero final, teniendo en cuenta las peculiaridades de cada parte de la estructura del vegetal y las limitaciones edáficas y atmosféricas al transporte de agua. La ruptura de este continuo en cualquiera de sus partes, por diversos motivos (regulación estomática, procesos de embolia, etc.), impide el óptimo funcionamiento de la planta, limitando las posibilidades de supervivencia de la misma.

En el presente manual se han elaborado 11 prácticas de laboratorio con el objetivo de que el alumno refuerce la teoría vista en clase y a través de métodos sencillos con y sin equipo sofisticado analice los diversos aspectos relacionados con las principales funciones y procesos de una planta, desde aspectos morfológicos para diferenciar las espermatofitas o fanerógamas, la diversidad de formas y adaptaciones de grupos funcionales, así como caracterización de semillas, germinación, crecimiento, y nutrientes esenciales en el desarrollo de una planta, fotosíntesis, transpiración y producción de biomasa. Para realización de presente documento se revisaron manuales de Fisiología Vegetal de otras instituciones y se adecuaron prácticas las cuales son factibles de llevarse a cabo con los recursos con que se cuentan. La idea del manual es que las prácticas pueden llevarse a cabo en la secuencia que se desee de acuerdo al calendario escolar, los recursos y el tiempo de que se disponga.

## RELACIÓN DE LAS ACTIVIDADES CON EL PROGRAMA DE ESTUDIO DE LA EXPERIENCIA EDUCATIVA

El estudiante debe leer con anticipación cada práctica y entender todas sus partes, en algunas se requiere de preparación previa de material, se dan indicaciones generales, lista de material, objetivos y metodología a seguir, en algunos casos pueden hacerse variantes. Las prácticas se realizan en equipos de tres integrantes los cuales son responsables de todas las etapas.

Cada práctica tiene una breve introducción, la cual contiene información general como contexto a las actividades que se realizarán, se presentan los objetivos, el material requerido y la metodología a seguir. Los resultados de algunas de experiencias pueden observarse en la misma sesión de actividades, pero otras requieren de observaciones posteriores. Esto se debe, principalmente, al tiempo que requieren las plantas para su crecimiento y desarrollo, por lo que muchos procesos del vegetal no se observan inmediatamente. Una vez preparado el material, el estudiante debe realizar las observaciones con las especificidades, frecuencia y en el lapso indicado para ello.

En ocasiones por falta de espacio, los experimentos deben montarse en la casa de alguno de los integrantes, pero será responsabilidad de todos los integrantes de darle seguimiento al mismo. Los resultados deben presentarse de una manera clara, utilizando cuando sea necesario, dibujos, esquemas, fotos, gráficas, cuadros, etc. Cuando sea posible deben aplicarse análisis estadísticos e interpretarse los resultados. Al finalizar cada experiencia, se encuentra un apartado para consolidación de conocimientos; el estudiante debe responder las preguntas realizadas, en su cuaderno de prácticas.

Las experiencias se montan en equipos pequeños de tres estudiantes, con una fase inicial de trabajo individual y una etapa de observación grupal. Sin embargo, los reportes, tablas, gráficas, cálculos, discusiones, etc. sobre los resultados, deben realizarse individualmente.

## NORMAS DEL LABORATORIO DE FISILOGIA VEGETAL

1. El alumno debe llegar puntualmente a la práctica, pasados 10 minutos no podrá realizar la práctica ya que no se permitirá entrar al laboratorio, no se permitirá salir durante la práctica.
2. La inasistencia al 20% de las actividades obliga a la pérdida de la materia.
3. Es obligatorio el uso de bata, en aceptables condiciones de higiene, ropa y calzado adecuados son necesarios para realizar las actividades en el laboratorio.
4. Se prohíbe fumar, comer y beber dentro del área del laboratorio. Se recomienda lavarse las manos antes y después de cada actividad.
5. No se permite el tránsito o permanencia en el laboratorio de personas ajenas a la actividad programada.
6. Antes de realizar la práctica, se deben leer muy bien las instrucciones del manual a fin de evitar cometer errores que generalmente traen como consecuencia pérdida de tiempo (el cual no se recupera), materiales y reactivos (actualmente muy costosos).
7. El trabajo realizado en el laboratorio ya sea individual o en grupo, deberá ser de acuerdo a las instrucciones dadas al inicio de la sesión de trabajo y a las que se encuentren en la práctica correspondiente, si procede.
8. El personal técnico suministrara los reactivos y materiales que se utilizaran en cada práctica. En el caso de reactivos deben estar claramente identificados y cuando estos sean de uso común deben ser utilizados y regresados inmediatamente a su lugar o en su defecto utilizarlo solo en el sitio fijado para el reactivo en particular.
9. El alumno deberá hacerse responsable del buen uso de los materiales no desechables, como equipos y cristalería.
10. El área de trabajo debe quedar limpia y ordenada al finalizar la práctica.

# Práctica No. 1. Contenido de humedad de semillas

## Introducción

Es importante conocer la humedad de las semillas en el momento de la comercialización, ya que, si se entrega semilla con humedad por encima del óptimo se tendrán pérdidas. También es importante conocer la humedad del producto en el periodo de almacenamiento, el almacenar semillas húmedas genera un ambiente propicio para el desarrollo de hongos y bacterias, los cuales en su proceso respiratorio incrementan la temperatura del granel y la pérdida de materia seca con la consecuente pérdida de calidad.

El contenido de humedad de semillas se puede controlar por secado. Este es un sistema utilizado para prolongar el periodo de viabilidad de las semillas. La determinación del contenido de humedad de semilla se puede realizar por medios directos o indirectos. El método directo se hace a través de hornos de secado y se basa fundamentalmente en la variación de peso de la muestra. La variación de las condiciones de la prueba estará en función del tipo y especie de semilla. La determinación por medios indirectos se realiza a través de uso de aparatos de medición del contenido de humedad, estableciendo a través de la conductividad eléctrica el porcentaje de humedad de las semillas (FAO, 2016).

## Objetivos

- Determinar la cantidad de humedad en una muestra de semillas pertenecientes a tres especies.

## Material

- 50 gramos de semillas por especie (un total de tres especies de interés forestal y/o agrícola).
- Balanza analítica
- Estufa de secado
- Papel aluminio

## Método

1. El ensayo debe realizarse sobre dos muestras de unos 5 g cada una obtenidas de la muestra de trabajo.
2. Solo cuando las semillas sean grandes y/o con cubiertas gruesas, éstas deberán ser trituradas antes del secado.
3. Se pesan las muestras y después se introducen, colocadas en recipientes de papel aluminio y bien espaciadas para facilitar la circulación del aire, en una estufa que se mantiene a una temperatura de  $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  durante 17 horas.
4. Al término de ese periodo se colocan las semillas en un desecador para que se enfríen durante 30 minutos, y después se vuelven a pesar.
5. El cálculo del contenido de humedad debe hacerse sobre la base del peso en húmedo o en fresco a través de la siguiente fórmula (Willan, R.L. 1991):

$$\text{CH (\%)} = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso tras secado en estufa}}{\text{Peso inicial}} * 100$$



Fotografías: Yureli García-De La Cruz

## Resultados

1. Elabora un gráfico o una tabla con los valores de contenido de humedad de las cinco muestras y obtén el promedio porcentual.
2. Tome fotografías del procedimiento de la práctica.

## Cuestionario

Discutan lo siguiente:

- ¿qué se considera una semilla seca?, argumenten la respuesta.
- ¿qué es la condición anhidra de las semillas?.
- Si hay diferencia en el contenido de humedad de las distintas especies cultivadas, discutan a qué se deben esas diferencias.
- ¿Existe una relación entre peso de las semillas y contenido de humedad de la semilla?.
- ¿Existe una relación entre peso de las semillas y humedad de hidratación?
- ¿Qué factores morfológicos deben influir y de qué manera en el comportamiento del contenido de humedad e hidratación de las semillas?

## Referencias

- Baskin, C. C., Yrog J. M. 2001. Seeds. Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination. Academic Press. San Diego. 666 p.
- FAO. 2016. Manual de Procedimientos para la Certificación oficial de Semillas. Honduras. 21 p.
- Willan, R.L. 1991. Guía para la manipulación de semillas forestales. FAO. 20/02. Roma, Italia. 502 p.



## Práctica No. 2 Viabilidad de semillas

### Introducción

La mayoría de las plantas, utilizan semillas para reproducirse. No obstante, en muchas ocasiones, las semillas tras su maduración y dispersión no son capaces de germinar, o bien porque son latentes o bien porque las condiciones ambientales no les son favorables. En esta situación las semillas comienzan a deteriorarse lo que se manifiesta por la progresiva pérdida de su capacidad de germinar (viabilidad) y de dar lugar a plántulas sanas y vigorosas (vigor).

La prueba de viabilidad se basa en que una vez que los diferentes tejidos de la semilla se han hidratado, en el embrión se activan rutas metabólicas, en las que muchas de las reacciones químicas empleadas son reacciones de oxidación. En estas reacciones se liberan electrones capaces de reducir a ciertas sustancias químicas. Este hecho puede ser utilizado para estimar el grado de actividad metabólica de los tejidos embrionarios y por tanto de su viabilidad. Al colocar una semilla viable en contacto con una solución de tetrazolio, los electrones liberados, en los tejidos del embrión, reducirán a las sales de tetrazolio, con lo que éstos adquirirán un color rojo intenso; si la semilla no es viable, el embrión no cambiara de color (Pérez y Villamil, 2001).

### Objetivo

Determinar la viabilidad de una muestra de semillas a través del uso de sales de tetrazolio.

### Material

- Cuatro réplicas de 100 semillas de dos especies de interés forestal y/o agrícola (total 400 semillas por especie).
- 250 ml de solución de sales de tetrazolio al 1%.
- 1 frasco color ámbar
- 1 bisturí

### Métodos

1. Colocar en imbibición las semillas durante 24 horas.
2. Realizar cortes longitudinales de todas las semillas, asegurándose de dejar expuesto el embrión.
3. Tomar las semillas, descartar una mitad de cada uno y sumergir la otra mitad en las sales de tetrazolio en un frasco color ámbar colocado durante 24 horas en un sitio oscuro con ventilación.
4. Al término de este tiempo observar las partes de la semilla y determinar el número de semillas viables.
5. Dependiendo de la intensidad de tinción:
  - a) se consideran vivas, aquellas semillas teñidas de rojo carmín en todas sus estructuras principalmente en el embrión;
  - b) se consideran dudosas, aquellas teñidas parcialmente en más del 75% y las que se logren teñir débilmente;
  - c) se consideran infértiles no viables, aquellas semillas que presentan sus embriones blancos, teñidas en no más del 75%, y las que presenten a tinción de manera bandeada.



Fotografías: Yureli García-De La Cruz

## Resultados

- Determine el porcentaje de viabilidad de las semillas mediante la siguiente fórmula:  
$$\text{viabilidad (\%)} = (\text{número de granos teñidos en rojo} / \text{número total de granos}) \times 100$$
- Elabore un cuadro con los datos de la prueba de viabilidad, exprese los datos en número de semillas y en porcentaje. Incluya fotografías de cada lote de semillas.

## Cuestionario

- Elabore un esquema con las características de la semilla estudiada.
- Discuta si hay o no diferencias en el % de viabilidad entre especies.

## Referencias

- FAO. 2016. Manual de Procedimientos para la Certificación oficial de Semillas. Honduras. 21 p.
- Lambers, H., F. S., Chapin III & Pons, T. L. 2008. Plant physiological ecology. 2d. ed. Springer. New York. 604 p.
- Pérez-García, F.; Pita-Villamil, J.M. 2001. Viabilidad, vigor, longevidad y conservación de semillas. Ministerio de agricultura, pesca y alimentación. Madrid, España. 16 p.
- Willan, R.L. 1991. Guía para la manipulación de semillas forestales. FAO. 20/02. Roma, Italia. 502 p.

## Práctica No. 3 Germinación

### Introducción

De acuerdo a la ISTA (Internacional Seed Testing Association) la germinación es el surgimiento y desarrollo de la plántula a una etapa en la que el aspecto de sus estructuras esenciales indica si es o no es capaz de desarrollarse en una planta satisfactoria en condiciones favorables en el campo.

Si una semilla es viable, y no presenta latencia, germinará cuando se la ponga en las condiciones adecuadas de humedad, luz y temperatura. Por ello se acepta que la capacidad germinativa de un lote de semillas es un reflejo directo de su viabilidad.

Para la realización de este tipo de ensayos, las semillas se disponen sobre papel de filtro humedecido con agua destilada, en cajas Petri o en bandejas; incubándose, a continuación, en cámaras de germinación con control de temperatura e iluminación. La emergencia de la radícula es el criterio que se suele utilizar para determinar si una semilla ha germinado, expresándose los resultados obtenidos como porcentaje de semillas germinadas (porcentaje de viabilidad).

### Material

- 4 lotes de 100 semillas
- Microscopio de disección
- 4 cajas Petri
- Papel absorbente
- Agua
- Etiquetas

### Métodos

1. Coloque en imbibición los cuatro lotes de semillas durante 60 minutos.
2. Numere y prepare las cajas Petri con tres capas de papel absorbente
3. Coloque en cada caja un lote de semillas, procurando colocarlas equidistantes una de otra.
4. Tome diariamente y a la misma hora, la lectura de número de semillas germinadas, considere germinada a una semilla cuando la radícula sea visible.
5. Coloque las cajas en un lugar ventilado con iluminación natural indirecta.
6. Si es necesario agregue agua para mantener húmedo el papel absorbente.

### Objetivo

Determinar la germinación de una muestra de semillas de una especie forestal o de interés agrícola.



Fotografías: Yureli García-De La Cruz

## Resultados

Elabore un cuadro donde se marquen las siguientes variables: fecha, iniciando por el día en que se montó el experimento, el número de caja Petri, y de cada una el número de semillas germinadas y número de semillas no germinadas, el experimento debe detenerse cuando haya germinado la última semilla o hasta que se esté seguro que ya no hay más germinación.

Elabore dos gráficas, una curva acumulativa de germinación expresada en porcentajes a través del tiempo para los datos conjuntos de las tres cajas y otro sobreponiendo las gráficas individuales de cada caja.

## Cuestionario

1. Describa las características morfológicas de la especie estudiada en función de sus características germinativas.

Discuta lo siguiente:

2. El comportamiento de las gráficas acumulativas de germinación.
3. Si hay o no diferencia entre el manejo global de datos y el manejo separado por caja.
4. El significado del punto en el tiempo donde se inicia la germinación.
5. El significado del punto en el tiempo en donde ya no hay más semillas germinadas.
6. Investigue en la literatura y describa a que se debe que las semillas floten o se sumerjan.
7. Integre en un esquema los datos de germinación para su especie estudiada y deles una interpretación ecológica.

## Referencias

- Lambers, H., F. S., Chapin III & Pons, T. L. 2008. Plant physiological ecology. 2d. ed. Springer. New York. 604 p.
- Nobel, P. S. 2009. Physicochemical and Environmental Plant Physiology. 4d. ed. Academic Press. San Diego. 474 p.
- Taiz, L. & Zieger, E. 2002. Plant Physiology, 3rd Ed. Sinauer Associates Ltd. Sunderland, Mass. 792 p.
- Willan, R.L. 1991. Guía para la manipulación de semillas forestales. FAO. 20/02. Roma, Italia. 502 p.

Fisiología Vegetal 2018

# Práctica No. 4 Crecimiento y desarrollo vegetal

## Introducción

El desarrollo y el crecimiento son una combinación de eventos a diferentes niveles, desde el nivel biofísico y bioquímico hasta el orgánico, que dan como resultado la producción integral de un organismo. El término crecimiento se refiere al incremento en tamaño, dejando fuera cualquier concepto cualitativo tal como “desarrollo total” o “maduración” que claramente carecen de relación con un proceso de aumento o incremento. El desarrollo puede definirse como cambio ordenado o progreso, a menudo hacia un estado superior, más ordenado o más complejo. En tal forma el desarrollo puede tener lugar sin que haya crecimiento y el crecimiento sin desarrollo, pero a menudo los dos están combinados en un solo proceso. (Bidwell, 1979).

## Objetivo

Investigar la cinética de crecimiento de los órganos de un vegetal.

## Material

- 50 semillas de alguna especie forestal o de interés agrícola.
- 10 macetas de plástico de 15 cm de diámetro y 15 cm de alto.
- 3 kg de suelo rico en materia orgánica.
- etiquetas

## Métodos

1. Coloque las semillas a remojar durante una hora.
2. Llena las macetas con el sustrato, quite las partículas gruesas del suelo. Etiquete las macetas.
3. Riegue a saturación las macetas.
4. Siembre cinco semillas por maceta a una profundidad de 1 cm.
5. Registre la fecha de inicio del experimento y realice mediciones diarias una vez que los cotiledones son visibles.

Variables: altura, diámetro basal, número de hojas, largo de la hoja, largo del pecíolo, ancho de la lámina.

Mida en secuencia ontogenética todos los días (durante dos meses) el largo de cada uno de los entrenudos y la variable mensurable elegida a cada hoja, para no confundirse marque cada hoja de manera que las identifique perfectamente.



Fotografías: Yureli García-De La Cruz

## Resultados

1. Elabore una tabla de resultados para cada planta en función del tiempo.
2. Obtenga las tasas de crecimiento diarias y viértalas en una tabla para las características de la hoja.
3. Grafique los datos en función del tiempo.
4. Analice la forma de la curva de crecimiento de las estructuras vegetales.

## Cuestionario

1. Discuta cual es la diferencia entre crecimiento y desarrollo.
2. Observe los resultados en una secuencia ontogenética e interprete la cinética de crecimiento de la especie.
3. Que puede discutir acerca del tamaño final de las estructuras.
4. Discuta si los órganos estudiados: tallo y hoja presentan el mismo comportamiento a través del tiempo.

## Referencias

- Bidwell, R. G. S. 1993. Fisiología Vegetal. AGT Editor S. A. México. 784 pp.
- Lambers, H., F. S., Chapin III & Pons, T. L. 2008. Plant physiological ecology. 2d. ed. Springer. New York. 604 p.
- Nobel, P. S. 2009. Physicochemical and Environmental Plant Physiology. 4d. ed. Academic Press. San Diego. 474 p.
- Taiz, L. & Zieger, E. 2002. Plant Physiology, 3rd Ed. Sinauer Associates Ltd. Sunderland, Mass. 792 p.

# Práctica No. 5 Capacidad de campo y punto de marchitez permanente

## Introducción

La capacidad de campo es el contenido de agua de un suelo, después que ha sido mojado abundantemente y se ha dejado drenar libremente, evitando las pérdidas por evapotranspiración. Normalmente este contenido de agua se toma alrededor de 24 a 48 horas después de un riego o lluvia abundante, teniendo la precaución de cubrir el suelo con un plástico para evitar la evaporación. Por otro lado, el punto de marchitez permanente. Es el contenido de agua de un suelo al cual la planta se marchita y ya no recobra su turgencia al colocarla en una atmósfera saturada durante 12 horas (Silva *et al.*, 2015).

## Objetivos

- Determinar la capacidad de campo en una muestra de suelo.
- Determinar el punto de marchitez permanente en una muestra de plantas.



Fotografía: Yureli García-De La Cruz

## Material

- 5 recipientes de plástico con capacidad de 100 ml.
- 5 coladores
- 5 vasos de plástico con orificios en la parte basal.
- 5 muestras de suelo de la región de aprox. 100 g.
- Balanza analítica o digital.
- 1 probeta de 150 ml
- Agua
- Semillas de maíz, frijol o alguna especie de rápido crecimiento.
- Bolsas negras de polietileno de aprox 15 x 15 cm.



## Métodos

### Capacidad de campo:

1. Pesar cinco muestras de suelo de 100 g y vaciar cada muestra en vasos de plástico, los cuales también deberán ser pesados por separado.
2. Pesar las bolsas negras de polietileno.
3. Saturar las muestras con 100 ml de agua.
4. Las muestras deberán ser cubiertas con una bolsa para evitar la evaporación del suelo y dejar únicamente libre la parte basal donde están los orificios para que se filtre el agua.
5. Cada vaso deberá colocarse en un colador y un recipiente donde quedará el agua filtrada del suelo.
6. Después de 2 hrs pesar las muestras de suelo y determinar la cantidad de agua filtrada.
7. Después de 24 hrs repetir el pesado de la muestra y la determinación de la cantidad de agua filtrada.



Fotografía: Yureli García-De La Cruz

### Punto de marchitez permanente

8. Retirar las bolsas negras de polietileno de cada muestra y sembrar cinco semillas en cada vaso de plástico que se utilizó para la prueba de capacidad de campo.
9. Colocar los vasos a temperatura ambiente y esperar a que emerjan las plántulas. Éstas tendrán una restricción hídrica durante el experimento hasta que se marchiten de manera permanente.
10. Extraer cuidadosamente las plantas marchitas (incluyendo las raíces) de cada vaso de plástico y pesar nuevamente el suelo seco. Se vuelven a pesar las muestras de suelo sin las plantas.

## Resultados

La **capacidad de campo** se determina como:

CC (ml agua)= cantidad de agua inicial – cantidad de agua infiltrada después de 24 hrs.

% de humedad del suelo a capacidad de campo:

$$\frac{\text{peso fresco a CC} - \text{peso suelo seco}}{\text{peso del suelo seco}} \times 100$$

- Registrar el número de días que transcurrieron desde la siembra hasta la marchitez.

Nota: Se determina el % de humedad del suelo en el **punto de marchitez permanente** de acuerdo a la fórmula anterior.

## Referencias

- Bidwell, R. G. S. 1993. Fisiología Vegetal. AGT Editor S. A. México. 784 pp.
- Silva, P.; Silva, H.; Garrido, M.; Acevedo, E. 2015. Manual de estudio y ejercicios relacionados con el contenido de agua en el suelo y su uso por los cultivos. Universidad de Chile. Santiago de Chile. 82 p.

## Práctica No. 6 Determinación del potencial hídrico

### Introducción

El agua viaja desde las zonas donde el potencial hídrico es mayor (menos negativo) hacia las zonas donde este es menor (más negativo). El potencial hídrico se define según la ecuación:  $\Psi_w = p - s$  donde “ $\Psi_w$ ” es el potencial hídrico; “ $p$ ” es la presión de turgor o la fuerza hidrostática ejercida en la célula vegetal contra la pared celular y es de signo (+), y “ $s$ ” es la presión osmótica, que es una medida de la concentración de los solutos (Taiz y Zeiger, 2006 en: Moreno, 2009).

La principal fuerza motora que impulsa al agua en su viaje a la parte aérea es la pérdida de agua en las hojas por transpiración. Esto supone que las hojas son los órganos de las plantas que presentan los potenciales hídricos más negativos (Zyalalov, 2004 en: en: Moreno, 2009).

De acuerdo con los requerimientos de agua, las plantas pueden ser consideradas como hidrófitas si están adaptadas a vivir total o parcialmente sumergidas en el agua (en general no toleran potenciales hídricos más negativos de -5 a -10 bares); como mesófitas si están adaptadas a un aporte moderado de agua (en general no toleran potenciales hídricos más negativos de -20 bares) y como xerófitas si están adaptadas a ambientes áridos (en general no toleran potenciales hídricos más negativos de -40 bares) (Nilsen y Orcutt, 1996 en: Moreno. 2009).

### Objetivos

1. Observar los cambios de turgencia que ocurren en las células vegetales cuando están en contacto con medios hipertónicos, hipotónicos e isotónicos.
2. Determinar el potencial hídrico de tejidos vegetales mediante los métodos gravimétricos y densimétrico.
3. Evaluar cada método en busca de fuentes de error.
4. Calcular el contenido hídrico de un tejido celular.
5. Diferenciar entre contenido de agua y potencial hídrico.



Fotografía: Yureli García-De La Cruz

## Material

- Cebolla morada
- Cubre objetos
- Papas
- Gotero
- Hojas de zebrina
- Pipeta Pasteur
- Soluciones de sacarosa (0.1M, 0.2M, 0.3M, 0.4M, 0.5M, 0.6M, 0.7M y 0.8 M).
- Porta objetos
- Azul de Metileno
- Sacabocados
- Balanza
- Tubos de ensayo
- Microscopio

## Métodos

### Experimento 1. Cambios de turgencia celular.

1. Corte trozos de epidermis de cebolla morada y hojas de zebrina.
2. Ponga cada trozo en un portaobjeto.
3. Añada en cada portaobjeto, con un gotero, soluciones de sacarosa de: 0.15 M, 0.35 M, 0.40 M, 0.80M; espere unos minutos y luego coloque sobre el tejido un cubreobjeto. Trabaje rápidamente, pero con cuidado para que el tejido no se deshidrate
4. Observe al microscopio, las condiciones celulares en cada solución.
5. Describa los cambios celulares observados entre las soluciones.

## Métodos...

### Experimento 2. Determinación del potencial hídrico mediante el método del cambio de masa (gravimétrico).

Este método consiste en sumergir trozos iguales de un tejido suculento, previamente pesados, en soluciones de potencial hídrico conocido. Pasado un tiempo se vuelve a determinar la masa de cada trozo. Aquel trozo que no cambie de masa, tendrá el mismo potencial hídrico de la solución en la cual había sido sumergido.

### Procedimiento

1. Tome ocho tubos de vidrio y llénelos, hasta aproximadamente la mitad, con soluciones de sacarosa de 0.1M, 0.2M, 0.3M, 0.4M, 0.5M, 0.6M, 0.7M y 0.8 M.
2. Identifique previamente los tubos con la concentración solución de sacarosa añadida.
3. Tome un sacabocados y extraiga ocho (8) trozos de papa de aproximadamente 2 cm de largo. Mantenga todas las secciones en una placa de petri tapado para evitar la deshidratación del tejido.
4. Péselos en forma individual y anote la masa inicial.
5. En la medida que vaya pesando, sumerja el cilindro de papa en cada solución de sacarosa. Coloque la gradilla con los tubos de ensayo en el espacio destinado para tal fin.
6. Después de 24 horas, extraiga el cilindro de papa y elimine cuidadosamente el exceso de líquido con papel absorbente. Pese nuevamente y anote la masa final.
7. Registre la temperatura ambiente.

### Métodos...

Complete la siguiente tabla:

Efecto de la concentración de sacarosa en la variación del tejido de la masa vegetal.

Concentración (M)	Masa inicial (g)	Masa final (g)	Cambio de masa (final – inicial)	% de cambio de masa
0.1				
0.2				
0.3				
0.4				
0.5				
0.6				
0.7				
0.8				

8. Determine el cambio de masa en porcentaje, mediante la fórmula:

$$\% \text{ de cambio de masa} = \frac{\text{masa final} - \text{masa inicial}}{\text{masa inicial}} \times 100$$

Nota: cuando el resultado de negativo, significa que el tejido perdió masa.

9. Grafique la relación entre el cambio de masa y la concentración de sacarosa. Interpole concentración de sacarosa donde el cambio de masa haya sido cero.

10. Con la concentración de sacarosa obtenida en el paso anterior determine el potencial hídrico del tejido vegetal siguiendo las instrucciones dadas para su cálculo.

### Experimento 3. Determinación del potencial hídrico mediante el método de Chardakov (densitométrico).

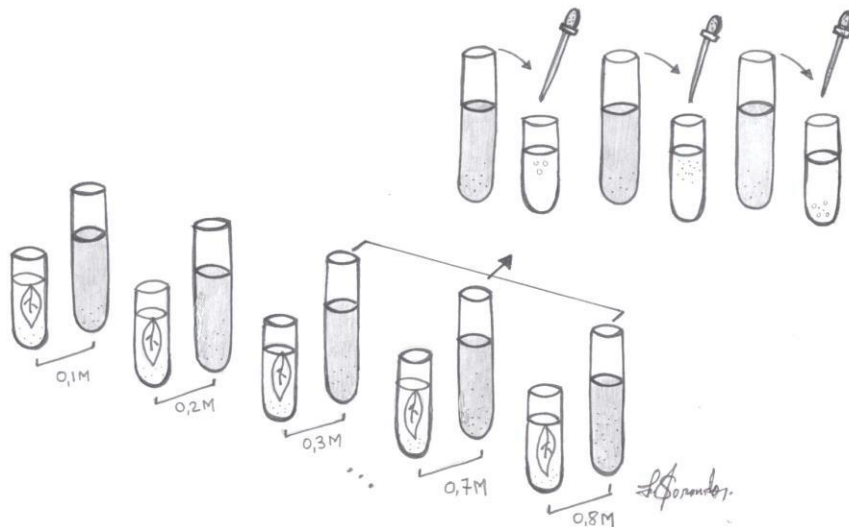
Este método se basa en los cambios de densidad que ocurren en soluciones de potencial hídrico conocido cuando se introducen en ellas trozos de tejido vegetal. Si la densidad de una de las soluciones no cambia, entonces se asume que el tejido vegetal tiene el mismo potencial hídrico de dicha solución.

#### Procedimiento

1. Tome dieciséis tubos de ensayo y por pares llénelos, hasta aproximadamente la mitad, con soluciones de sacarosa de concentraciones 0.1M, 0.2M, 0.3M, 0.4M, 0.5M, 0.6M, 0.7M y 0.8 M. Identifique cada tubo de ensayo con la concentración correspondiente.

### Métodos...

2. Con ayuda del sacabocados extraiga ocho (8) trozos de papa de aproximadamente 2 cm de largo y colóquelo en uno de los tubos que forman un par, para una concentración de sacarosa. En la medida que vaya cortando, sumerja el cilindro de papa en uno de los tubos por par para cada solución de sacarosa.
3. Coloque la gradilla con los tubos de ensayo en el espacio destinado para tal fin.
4. Después de 24 horas, gradualmente por solución, extraiga los trozos de papa y elimínelos.
5. Agregue una gota de azul de metileno al tubo de ensayo que contenía el material vegetal.
6. Usando una pipeta Pasteur o un gotero largo, vierta una gota de la solución de sacarosa coloreada en la no coloreada, pero de la misma concentración, con cuidado de no agitar.
7. Observe si la gota se va hacia el fondo, hacia la superficie o si permanece en el mismo sitio (Figura 4). Aquella concentración en la cual la gota se difunde se considera la solución isotónica. Anote los resultados en la tabla a continuación.
8. Anote la temperatura ambiente.
9. Calcule el potencial hídrico del tejido vegetal siguiendo las instrucciones dadas.



10. Elabore una tabla donde indique el movimiento de la gota con respecto a la concentración de la solución de sacarosa.

## Métodos...

### Cálculo del potencial hídrico

En una solución abierta, a presión atmosférica, el potencial de presión ( $\Psi_p$ ) siempre toma el valor de cero, de manera que su potencial hídrico ( $\Psi$ ) es igual al potencial osmótico ( $\Psi_\pi$ ).

Mediante la ecuación de Vant Hoff se puede calcular el potencial osmótico:

$$\Psi_\pi = -iRTC$$

Donde:

$i$  = Constante de ionización de la solución: sacarosa = 1, NaCl = 1.8

$R$  = Constante general de los gases: 0.082 l.atm/K.moles

ó 0.083 l.bar/K.moles ó 0,0082 MPa/Kmol

$T$  = Temperatura absoluta en °K ( $K = °C + 273$ )

$C$  = Concentración de la solución: moles de soluto / litro de agua.

Ahora bien, en un medio isotónico el potenciales hídricos de la solución es igual al potenciales hídricos del tejido, existiendo un equilibrio hídrico entre el medio y el tejido vegetal. Entonces al calcular el potencial hídrico de la solución isotónica tendremos el potencial hídrico del tejido vegetal, ya que en este único caso se cumple que:  $\Psi$  solución =  $\Psi$  tejido.

### Experimento nº 4. Determinación del contenido de agua de un tejido vegetal

#### Procedimiento:

1. Extraer un cilindro de papa de aproximadamente 2 cm y pesarlo rápidamente (MF).
2. Colocar la muestra vegetal en un tubo de ensayo con agua destilada de manera que quede bien sumergido. Tapar el tubo.
3. Mantener el tubo tapado y en nevera por 24 hs.
4. Extraer el trozo de papa, secándola cuidadosamente con papel absorbente y pesarlo (MT)
5. Colocar el tejido vegetal en un sobre y llevar a estufa de secado por 48 horas a 85 C, posteriormente pesar (MS).
- 6.- Calcular el contenido relativo de agua mediante la formula  
$$CRA = [(MF - MS)/(MT - MS)] \cdot 100$$

Donde: MF: masa fresco, MT: masa turgente, MS: masa seca
- 7.- Relacione el contenido de agua del tejido con el potencial hídrico.

## Cuestionario

1. ¿Cuál es el potencial hídrico del tejido vegetal?
2. ¿Por qué el tejido gana o pierde masa? ¿Qué ocasiona este comportamiento?
3. ¿Qué concentraciones corresponden a un medio hipotónico y cuales a un medio hipertónico?
4. ¿Por qué la gota coloreada baja?
5. ¿Qué concentraciones corresponden a un medio hipotónico y cuáles a un medio hipertónico?
6. ¿Qué significa que un medio sea isotónico, hipertónico e hipotónico? ¿Cuál es el sentido de movimiento de agua cuando las células están en contacto con cada una de ellas?
7. ¿Cómo se modifica el potencial hídrico celular y cada uno de sus componentes cuando las células se encuentran en contacto con un medio iso, hiper e hipotónico?
8. Si una célula A con un potencial hídrico de  $-1.5$  MPa se ponen en contacto con una célula B con un potencial hídrico de  $-0.4$  MPa. En cuál de las dos es mayor el potencial hídrico? ¿Hacia dónde ocurre el movimiento del agua? ¿Qué potencial hídrico tiene cada célula cuando se alcanza el equilibrio hídrico?.
9. ¿Qué similitudes y diferencias existen entre los métodos evaluados para determinar el potencial hídrico de un tejido vegetal?

## Referencias

- Azcon-Bieto, J. 2000. Fundamentos de Fisiología Vegetal. Mc. Graw Hill. Interamericana. Universidad de Barcelona. Madrid. 522 p.
- Lambers, H., Chapin, III F. S. & Pons, T. L. 2008. Plant physiological ecology. 2d. ed. Springer. New York. 604 p.
- Nobel, P. S. 2009. Physicochemical and Environmental Plant Physiology. 4d. ed. Academic Press. San Diego. 474 p.
- Taiz, L. & Zieger, E. 2002. Plant Physiology, 3rd Ed. Sinauer Associates Ltd. Sunderland, Mass. 792 p.



## Práctica No. 7 Dinámica estomática

### Introducción

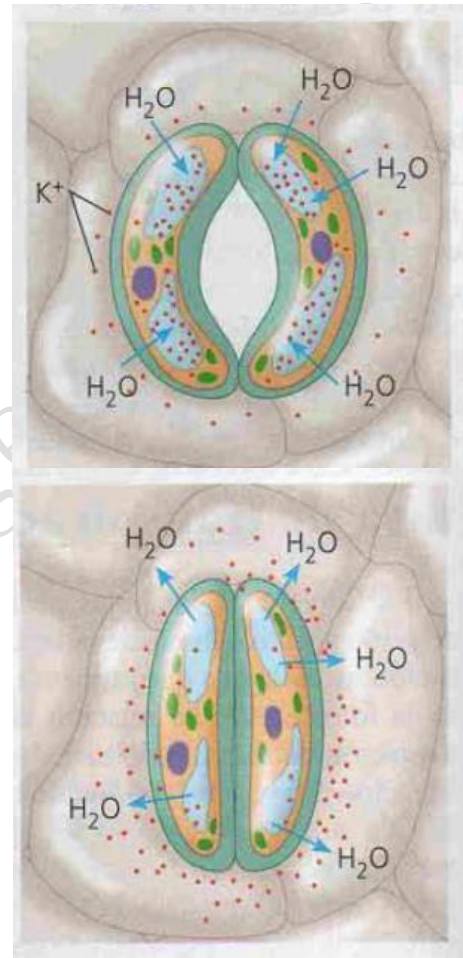
Los estomas son poros delimitados por dos células oclusivas, que se sitúan en la superficie de las hojas de todas las plantas terrestres. Los poros se cierran para evitar la pérdida de agua, o transpiración, y se abren para captar el dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) que será fijado por la planta durante la fotosíntesis. La apertura y cierre del estoma dependen del intercambio de iones entre las células oclusivas y las células epidérmicas adyacentes (Serna, 2010). Hay distintos factores externos e internos que controlan la presión osmótica de las células oclusivas: la luz, el  $\text{CO}_2$ , el pH, el ácido abscísico, contaminación, concentración de vapor de agua (Alonso, 2011).

### Objetivos

1. Observar estructura y disposición de los estomas en diversos tipos de plantas.
2. Inducir el movimiento estomático bajo diferentes condiciones.

### Material

- Microscopio compuesto
- Portaobjetos
- 1 pincel
- Barniz transparente para uñas
- Cinta diurex
- Tres matraces Erlenmeyer.



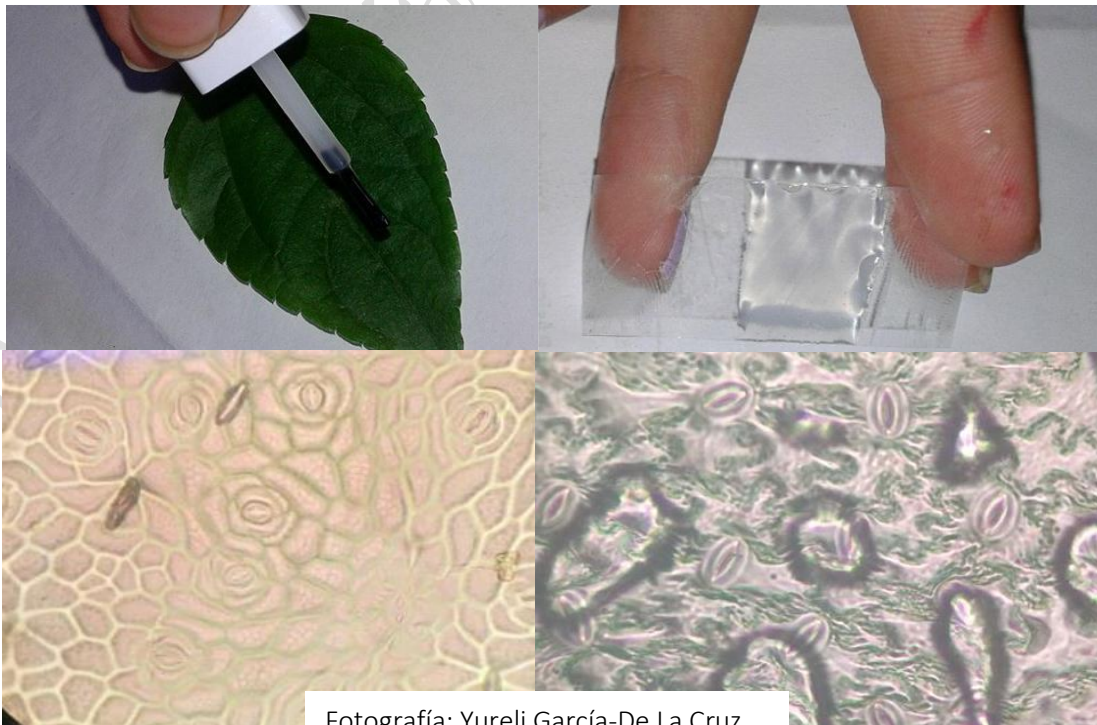
Fuente: Campbell & Reece, 2007

### Material...

- Un vaso de precipitado de 2,000 ml.
- Algodón
- Un cigarro
- Navajas
- 3 plantas del experimento de crecimiento y desarrollo vegetal.

## Métodos

1. Una hora antes de iniciar la práctica, regar la maceta.
2. Coloque con el pincel una capa de barniz sobre una sección de la hoja, tanto en el haz como en el envés. Procure que ésta sea delgada y uniforme.
3. Compruebe que se haya secado el barniz y con un pedazo de diurex colóquelo sobre el barniz, presiónelo ligeramente y desprenda.
4. Pegue el diurex sobre el portaobjeto, colóquelo en el microscopio y observe.
5. Tomar fotografías de lo estomas.
6. **Baja concentración de CO<sub>2</sub>**. Colocar dentro de un matraz la hoja de una planta, sin desprender la hoja de la planta, dejándola por dos horas.
7. **Alta concentración de CO<sub>2</sub>**. Llenar de humo de cigarro un matraz y colocar dentro de dicho matraz la hoja de una planta, sin desprenderla de la planta, dejándola así por dos horas.
8. Transcurridas las dos horas, cortar las hojas de ambos tratamientos y obtener la epidermis inferior de las dos hojas bajo el agua para evitar la deshidratación de las dos preparaciones. Observarlas al microscopio y contar el número de estomas en el campo de observación.
9. **Sequía**. Cortar una hoja de una planta y esperar 20 minutos. De esa hoja realizar una preparación de la epidermis inferior y contar el número de estomas abiertos y el número de estomas en el campo de observación.
10. **Alta humedad**. Colocar una hoja de dicotiledónea y obtener una preparación de epidermis inferiores bajo el agua; en esta preparación contar el número de estomas abiertos y el número total de estomas en el campo de observación.



Fotografía: Yureli García-De La Cruz

## Resultados

1. Reportar las fotografías de la estructura y número de estomas en haz y envés en una tabla:

Responda a las siguientes preguntas:

1. ¿Qué determina la apertura y cierre de los estomas?
2. ¿Encontraste diferencias en el número de estomas presentes en ambas caras de la hoja? Si/No. En caso de haber encontrado diferencias, ¿a qué crees que se deba?
3. ¿Qué otros factores, además de el agua y el CO<sub>2</sub>, influyen en la dinámica estomática?
4. Explicar el efecto de la concentración del CO<sub>2</sub> en movimiento estomático.

En la siguiente tabla aportar los datos que se te piden de estomas abiertos y total de estomas en el envés de las hojas de dicotiledónea, observados bajo cuatro condiciones diferentes:

Número de estomas	Condición			
	Baja concentración de CO <sub>2</sub>	Alta concentración de CO <sub>2</sub>	Sequía	Humedad
Total				
Abiertos				

## Referencias

- Alonso, J. R. 2011. Manual de Histología Vegetal. Ediciones Mundi-Prensa. España. 326 p.
- Campbell, N.A. & Reece, J.B. 2007. Biología general. Editorial Médica Panamericana, S.A. 1392 p.
- Serna, L. 2010. Estomas y canales de aniones. Investigación y Ciencia 405. <<https://www.investigacionyciencia.es/revistas/investigacion-y-ciencia/informe-especial-salvar-la-tierra-506>>

## Práctica No. 8 Clorofila

### Introducción

Hay alrededor de medio millón de cloroplastos por milímetro cuadrado de superficie de una hoja. Los cloroplastos se encuentran principalmente en las células del mesófilo, el tejido del interior de la hoja (Campbell & Reece, 2007). Las hojas pueden llegar a contener hasta 1 g de clorofila  $m^{-2}$ , aunque esta concentración es muy variable entre especies y sobre todo depende, entre otros factores, del estado nutricional, la edad o la historia lumínica previa de la planta. Como se ha mencionado anteriormente la función primordial de la clorofila es la de absorber energía lumínica. La absorción por tanto, depende en gran medida de la concentración de clorofila y de otros pigmentos accesorios. Pero también depende obviamente de la cantidad de luz disponible y de la calidad de la misma, esto es, que contenga suficiente radiación comprendida en la banda de absorción (Manrique, 2003).

### Objetivo general

- Determinar la cantidad de clorofila presente en hojas.

### Material

- 1 mortero
- 1 embudo
- Disco de papel filtro o gasa

- Acetona al 80%
- 1 probeta de 100 ml
- 2 vaso de precipitado de 250 ml
- 1 pipeta de 5 ml
- 1 espectrofotómetro y celdas

### Material biológico

- Hojas enteras, sanas, verdes
- Hojas con síntomas de clorosis



Fotografías: Yureli García-De La Cruz

## Métodos

1. Triturar una muestra de hojas sanas (aprox 5 g) en el mortero, agrega 20 ml de acetona, muela el tejido.
2. Transfiera el extracto en el embudo, al cual se le deberá colocar papel filtro.
3. Llene una celda del espectrofotómetro con el extracto de clorofila y lea la absorbancia a 645 y 663 nm (nanómetros). El blanco analítico deberá ser acetona al 80%.
4. Repita todo el proceso anterior con hojas con síntomas de clorosis y haga las lecturas de absorbancia correspondientes.
5. Anote los resultados de las absorbancias y calcule la concentración de clorofila, usando las siguientes fórmulas:

$$\text{Clorofila } a = ((12.7 \times A_{663}) - (2.69 \times A_{645}))$$

$$\text{Clorofila } b = (22.9 \times A_{645}) - (4.68 \times A_{663})$$

$$\text{Clorofila total} = (20.2 \times A_{645}) + (8.02 \times A_{663})$$

Donde:

A645= lectura de la absorbancia a 645 nm (unidades: mg/l(litro))

A663= lectura de la absorbancia a 663 nm (unidades: mg/l)

6. Para representar el contenido de clorofila en mg por gramo de tejido extraído se utilizan las siguientes fórmulas:

$$\text{Clorofila } a = ((\text{contenido de clorofila } a \text{ expresado en mg/l) (V))/ \text{ pf}$$

$$\text{Clorofila } b = ((\text{contenido de clorofila } b \text{ expresado en mg/l) (V))/ \text{ pf}$$

$$\text{Clorofila total} = ((\text{contenido de clorofila total expresado en mg/l) (V))/ \text{ pf}$$

Donde:

V= volumen final del extracto de clorofila – acetona al 80%.

pf= peso fresco en gramos del tejido foliar

## Resultados

- Elaborar una tabla con los resultados del contenido de clorofila a, b y total en hojas sanas y con clorosis.
- Compara los resultados y explica si hubo diferencias en los contenidos de clorofila entre los tipos de hoja.

Cuestionario:

¿Por qué es importante conocer el contenido de clorofila a y b en plantas?

La presencia de clorosis en plantas ¿qué determina?

## Referencias

- Campbell, N.A. & Reece, J.B. 2007. Biología general. Editorial Médica Panamericana, S.A. 1392 p.
- Manrique, E. 2003. Los pigmentos fotosintéticos, algo más que la captación de luz para la fotosíntesis. Ecosistemas 12(1): 1-11.

# Práctica No. 9 Pigmentos no fotosintéticos: antocianinas

## Introducción

Las antocianinas se encuentran ampliamente en el reino vegetal. Son responsables de la gama de colores que abarcan desde el rojo hasta el azul. Están presentes en los diferentes órganos de las plantas, tales como frutas, flores, tallos, hojas y raíces (Castañeda y Guerrero, 2015). Las antocianinas poseen diferentes funciones en la planta como son la atracción de polinizadores para la posterior dispersión de semillas y la protección de la planta contra los efectos de la radiación ultravioleta y contra la contaminación viral y microbiana. Estos pigmentos representan un potencial para el reemplazo competitivo de colorantes sintéticos en alimentos, productos farmacéuticos y cosméticos y para la obtención de productos con valor agregado dirigidos al consumo humano (Garzón, 2008).

## Objetivos

- Determinar variaciones del color de un extracto de antocianinas a diferentes valores de pH.
- Determinar variaciones del color de las flores por efecto de la atmósfera que las rodea.

## Material

- 30 g de pétalos de flores azules o col morada.
- 1 vaso de precipitado de 200 ml
- 2 vasos de precipitado de 30 ml
- Embudo con soporte
- Papel filtro
- 1 pipeta de 5 ml
- 1 mechero con trípode y rejilla
- 
- Flores rojas, azules y blancas (2 de c/u)
- 3 vasos de precipitado de 100 ml
- 3 vasos de precipitado de 1,000 ml
- 3 cápsulas Petri
- Medidor de pH

## Reactivos

- Ácido acético 0.2 N
- Solución NaOH 0.1 N
- 2 cuentagotas
- 
- NH<sub>4</sub>OH concentrado
- HCL concentrado
- 2 pipetas de 2 ml



## Métodos

Tejidos intactos

También es posible detectar cambios de color en las antocianinas dentro de las células mismas.

1. Introduzca una flor azul, una roja y una blanca por separado en un vaso pequeño de precipitado (100 ml) con agua. Coloque sobre éste una cápsula Petri en la cual se ha añadido un poco de  $\text{NH}_4\text{OH}$  concentrado.
2. Rápidamente cubra todo con un vaso de precipitado de 1 litro para crear una atmósfera de vapores de amoníaco.
3. Repita el mismo procedimiento con otro grupo de las mismas flores, y agregue un poco de  $\text{HCl}$  concentrado para crear una atmósfera ácida.

## Métodos

1. En un vaso de precipitado de 200 ml coloque 30 g de pétalos de flores azules con 100 ml de agua, hiérvalos en un mechero por algunos minutos. Si se desea una coloración más intensa, conviene macerarlos previamente.
2. Deje enfriar un poco el extracto y filtre.
3. En dos vasos de precipitado de 30 ml, coloque 10 ml del extracto y determine el pH de la solución.
4. Al primer vaso con extracto agregue gota a gota la solución de ácido acético (0.2 N) y observe cualquier cambio de color respecto al original.
5. Efectúa una nueva determinación de pH y continúe con la adición de ácido para ver si ocurren otros cambios.
6. Al segundo vaso que contiene el extracto filtrado añada  $\text{NaOH}$  (0.1 N) de gota en gota y mida el pH de la solución al ocurrir un cambio de color.



Fotografías: Yureli García-De La Cruz



## Resultados

Complete la siguiente tabla

Cuadro 1. Variaciones del color de un extracto de antocianinas a diferentes valores de pH.

Tratamiento	Color	pH
Extracto original		
Extracto + ácido acético		
Extracto + NaOH		

Anote las observaciones de la segunda parte experimental

Cuadro 2. Variaciones del color de las flores por efecto de la atmósfera que las rodea

Tratamiento	Flor roja	Flor azul	Flor blanca
HCl			
NH <sub>4</sub> OH			

¿Qué efecto tienen los reactivos utilizados en el cambio de color y pH de las flores?

## Referencias

- Castañeda-Sánchez, A.; Guerrero- Beltrán, J.A. 2015. Pigmentos en fruta y hortalizas rojas: antocianinas. Temas selectos de Ingeniería de Alimentos 9: 25-33.
- Fernández, G. y Johnson, M. 1986 Fisiología vegetal experimental. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. Costa Rica. 428 p.
- Garzón, G. 2008. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. Acta Biológica Colombiana 13(3): 27-36.

## Práctica No. 10 Acidez en frutos

### Introducción

El fruto pasa a lo largo de su vida por una serie de etapas, características por una secuencia de continuos cambios metabólicos. Así, después de la polinización y madurez, la vida de las frutas puede dividirse en tres etapas fisiológicas: crecimiento, maduración y senescencia, sin que sea fácil establecer cuando acaba una y empieza la otra. La etapa más importante y compleja en el desarrollo de la fruta, el proceso de maduración, puede dividirse a su vez, en dos fases: la fase de maduración fisiológica y la de maduración organoléptica (en inglés, denominados como "maturation" y "ripening" respectivamente). La primera inicia antes de que termine el crecimiento celular y finaliza más o menos cuando el fruto tiene las semillas maduras para producir nuevas plantas. La maduración organoléptica hace referencia al proceso por el cual las frutas adquieren características sensoriales que las definen como comestibles. Los índices más utilizados para seguir la maduración son el color, la firmeza, el test de almidón y la acidez titulable (Brezmes, 2002)

La acidéz titulable es un indicador que expresa el contenido de ácidos libres en una matriz, el cual se expresa como el porcentaje del ácido predominante de la matriz, en el caso de los frutos ácido cítrico. Dicha acidez puede incluir la acidez natural y la desarrollada (NOM-FF-6-1982).

### Objetivos

Evaluar parámetros químicos (acidez titulable) de calidad de diferentes frutos en diferentes estados de madurez.

### Material

1 cuchillo

- Servitoallas
- Papel higiénico
- Extractor de jugo
- Exprimidor de jugo
- 3 gasas o tela de manta
- 1 tela limpiadora desechable
- 3 embudos de cuello corto
- 3 matraces Erlenmeyer de 125 ml
- 1 bureta de 50 ml
- 1 soporte con pinzas para bureta
- 3 pipetas volumétricas de 10 ml
- 1 potenciómetro

### Material biológico:

- Seleccionar tres tipos de frutos diferentes, por ejemplo: manzana, jitomate, papaya, naranja o limón.

### Método 1.

1. Extraiga el jugo de tres muestras.
2. Filtre el jugo a través de algodón, gasa o manta. Reciba las muestras en cada uno de los matraces Erlenmeyer de 250 ml.
3. Distribuya 50 ml de jugo o cantidades conocidas en diferentes vasos de precipitado de 200 ml y mida el pH.
4. Afore a 100 ml o una cantidad conocida con agua destilada.
5. Tome una alícuota de 10 ml, coloque una barra de agitación, ponga su muestra en una parrilla de agitación y titule con NaOH 0.1 N hasta que el potenciómetro marque 8.2.
6. Registre la cantidad de mililitros que se requirieron para titular su muestra hasta un pH de 8.2.
7. Reporte sus resultados en miliequivalentes/volumen de jugo o gramos de tejido vegetal, calculados de la siguiente manera:  
ml de NaOH x normalidad de NaOH/peso de la muestra

### Método 2.

1. **Por el método volumétrico.** Utilice un volumen conocido del jugo de su producto o una dilución de éste. Adicione 2 o 3 gotas de fenolftaleína y titule con la solución de NaOH 0.1 N a un punto fin de pH= 8.2 (momento en que ocurre un cambio de color del indicador). En el caso de productos de color rojo u otro que no permite ver el vire, utilice un pHmetro. La acidez puede calcularse con la siguiente ecuación. Reporte la deducción de esta ecuación:

$$\% \text{ acidez} = \frac{\text{ml NaOH} \times N_{(\text{NaOH})} \times \text{factor} \times 100}{\text{g o vol de jugo ml de muestra titulada}}$$

donde:

$N_{(\text{NaOH})}$  = concentración de la solución

factor (factor apropiado al ácido predominante en la muestra)

### Ejemplo:

Ácido	Factor
Málico	0.067
Orálico	0.045
Cítrico anhidro	0.064
Tartárico	0.075
Acético	0.060
Láctico	0.90

Fuente: Norma Oficial Mexicana NOM-FF-6-1982

### Ejercicio

1. Represente en una tabla o gráfico el % de acidez de las tres muestras.
2. Indica el tipo de ácido presente en cada fruta utilizadas en la práctica.
3. ¿Por qué es importante determinar la acidez en frutos?
4. ¿Qué relación guarda este análisis con la madurez fisiológicas de los frutos?

### Referencias

Brezmes Llecha, J.J. 2002. Diseño de una nariz electrónica para la determinación no destructiva del grado de maduración de la fruta. Universitat Politècnica de Catalunya, España.

DOF: 10/06/1982. Norma Oficial Mexicana NOM-FF-6-1982, Productos Alimenticios no industrializados, para uso humano -fruta fresca- terminología, así como el Aviso de la Declaratoria de Vigencia, y otras.

# Práctica No. 11 Área foliar y Área Foliar Específica

## Introducción

El ambiente luminoso al que se encuentran expuestas las plantas afecta su crecimiento y desarrollo, y determina su morfología foliar y su fisiología, hasta el punto de que únicamente sobreviven las plantas cuya fotosíntesis está adaptada a dichas condiciones de luz. En este contexto, existen tipos de adaptaciones: la de las plantas de sol (o heliófilas) y la de las plantas de sombra (o esciófilas). También existen adaptaciones en los árboles; así, en un mismo árbol hay hojas de sol y de sombra, que corresponden a emplazamientos soleados o sombreados, respectivamente. El Área foliar (AF) y el Área foliar específica (AFE) son dos rasgos funcionales que se emplean para estimar el crecimiento vegetal, así como en la determinación de etapas fenológicas, la estimación del potencial de rendimiento biológico y agronómico, en el cálculo del uso eficiente de la radiación solar, así como en el cálculo del uso eficiente del agua y de la nutrición mineral (Sonnentag et al. 2008).

El área foliar se define como la superficie que ocupa una hoja (medido en unidad de área,  $\text{mm}^2$ ,  $\text{cm}^2$ ). El área foliar específica es la relación entre área y peso foliar (se expresa en  $\text{m}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$  o  $\text{cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ , y está estrecha y positivamente asociada con las tasas de crecimiento relativo (RGR) (explicando hasta un 80% de la variación de RGR) (Villar et al., 2004).

## Objetivos

Determinar el área foliar y determinar el área foliar específica de una muestra de hojas con diferentes adaptaciones lumínicas.



Fotografías: Yureli García-De La Cruz

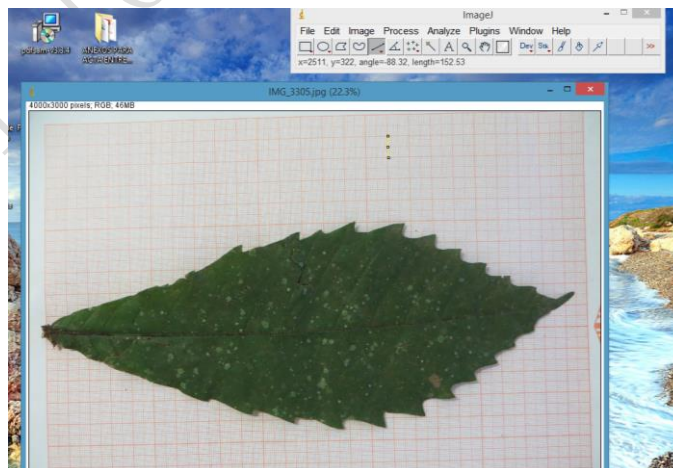
## Material

- 40 hojas enteras sanas (recién colectadas) de cuatro especies adaptadas a la sombra (10 hojas por especie).
- 40 hojas enteras sanas (recién colectadas) de cuatro especies adaptadas al sol (10 hojas por especie).
- 4 hojas milimétricas
- 1 lap top con el software Image J (descarga gratis en: <http://rsbweb.nih.gov/ij/>)
- 1 estufa de secado a 80°C
- 8 sobres de papel de estraza
- 1 balanza granataria o analítica
- 1 desecador

## Métodos

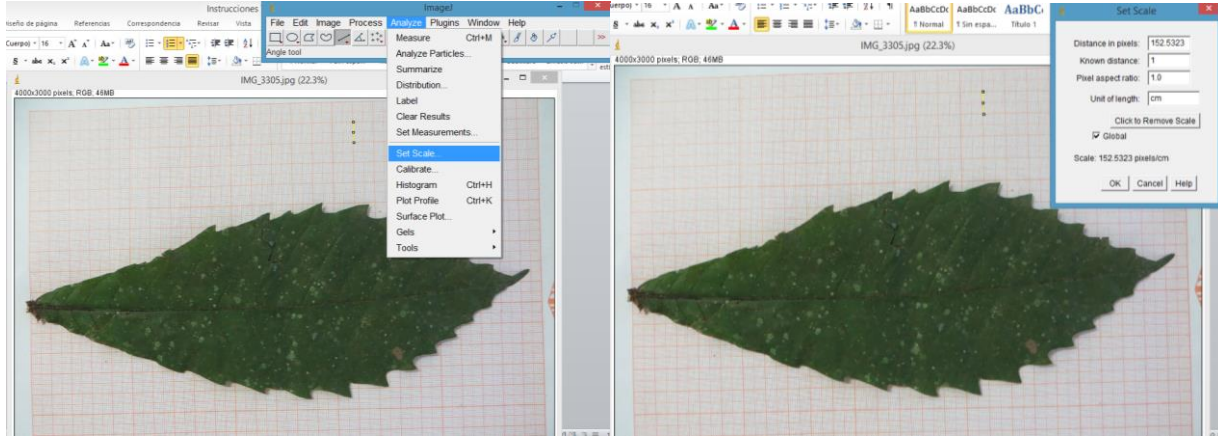
### Área foliar:

- Numera cada hoja con un plumón indeleble. Coloca cada una sobre el papel milimétrico y toma una fotografía.
- Descarga las fotografías de las 80 hojas en dos carpetas y separar las de sol y las de sombra.
  1. Abrir el software Image J
  2. Dar clic en File, Open (seleccionar su fotografía en jpg)
  3. En la barra de herramientas dan clic en \*Straight\* ( / ), el quinto ícono de izquierda a derecha. Luego dan clic en la fotografía y seleccionan el espacio que ocupa 1 cm, para eso el fondo con papel milimétrico.



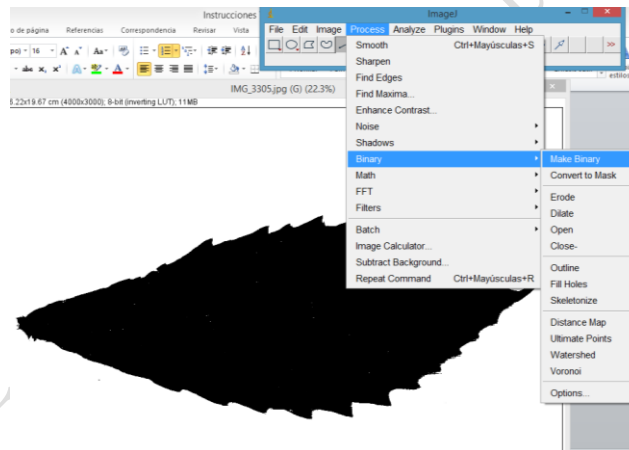
## Métodos (continúa)...

### 4. Analyze---Set Scale

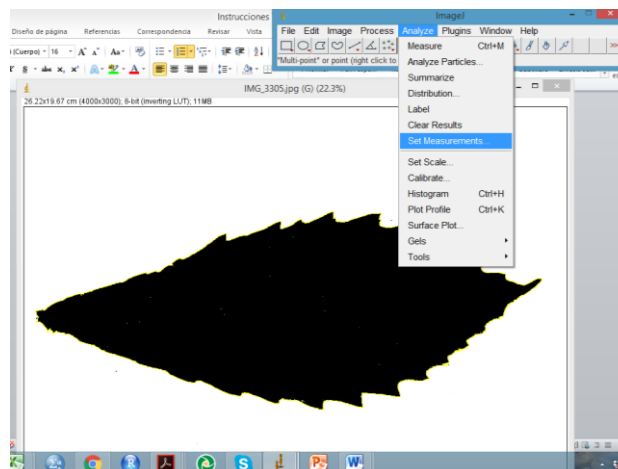


5.

Convertir la fotografía en una imagen en blanco y negro.

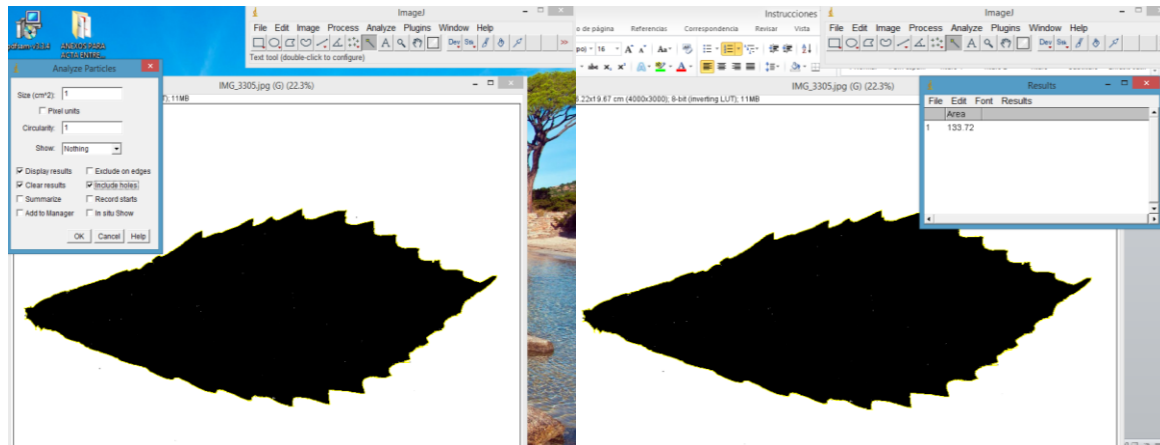


6. Indicar las mediciones que necesitan. En este caso, requerimos "Area".



## Métodos (continúa)...

7. Seleccionar la hoja con el octavo icono de izquierda a derecha (parece una varita mágica) y calcular el área que ocupa



8. Repetir el procedimiento para las hojas y vaciar los datos a una hoja de Excel.

### Área foliar específica (AFE):

1. Pesar cada hoja (peso fresco) y colocarlas en las bolsas de papel en grupos de 10 hojas.
2. Meter todas las muestras en una estufa previamente calentada a 80°C durante 48 horas.
3. Después del transcurrido el tiempo, apagar la estufa y sacar las muestras.
4. Colocarlas en un desecador durante al menos 15 minutos y pesar cada hoja seca.
5. Calcular el AFE de cada hoja mediante la siguiente fórmula:  $\text{área foliar/peso seco de la hoja}$
6. Calcular el contenido de humedad de las hojas:

$$((\text{Peso fresco de la hoja} - \text{Peso seco de la hoja}) / \text{Peso seco}) * 100$$

### Ejercicio

1. Determina el AF y el AFE de las cuatro especies y expresa a través de una tabla o gráfica los promedios  $\pm$  y error estándar.
2. Determina a través de un análisis estadístico si existen diferencias significativas entre especies y entre condiciones lumínicas, expresa dichas diferencias a través de letras o asteriscos en la tabla o gráfica.
3. Con respecto al AF, AFE y contenido de humedad ¿se registraron diferencias significativas entre especies u hojas adaptadas al sol?
4. ¿Qué implicaciones tienen el empleo de ambos rasgos funcionales en la fisiología vegetal?



## Referencias

Saldaña, A., Meave, J.A. & Sánchez-Velásquez, L.R. 2009. Seedling biomass allocation and vital rates of cloud forest tree species: responses to light in shade house conditions. *Forest Ecology and Management* 258: 1650–1659.

Sonnentag, O., Talbot, J.; Chen, J.M.; Roulet, N.T. 2008. Using direct and indirect measurements of leaf area index to characterize the shrub canopy in an ombrotrophic peatland. *Agric. Forest. Meteorol.* 144:200-212

Villar, R., Ruiz-Robledo, J., Quero, J.L., Pooter, H., Valladares, F. & Marañón, T. 2004. Tasas de crecimiento en especies leñosas: aspectos funcionales e implicaciones ecológicas. Pp. 191-227. En: Valladares, F. *Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante*. Ministerio de Medio Ambiente, EGRAF, S. A., Madrid.

Fisiología Vegetal 2018