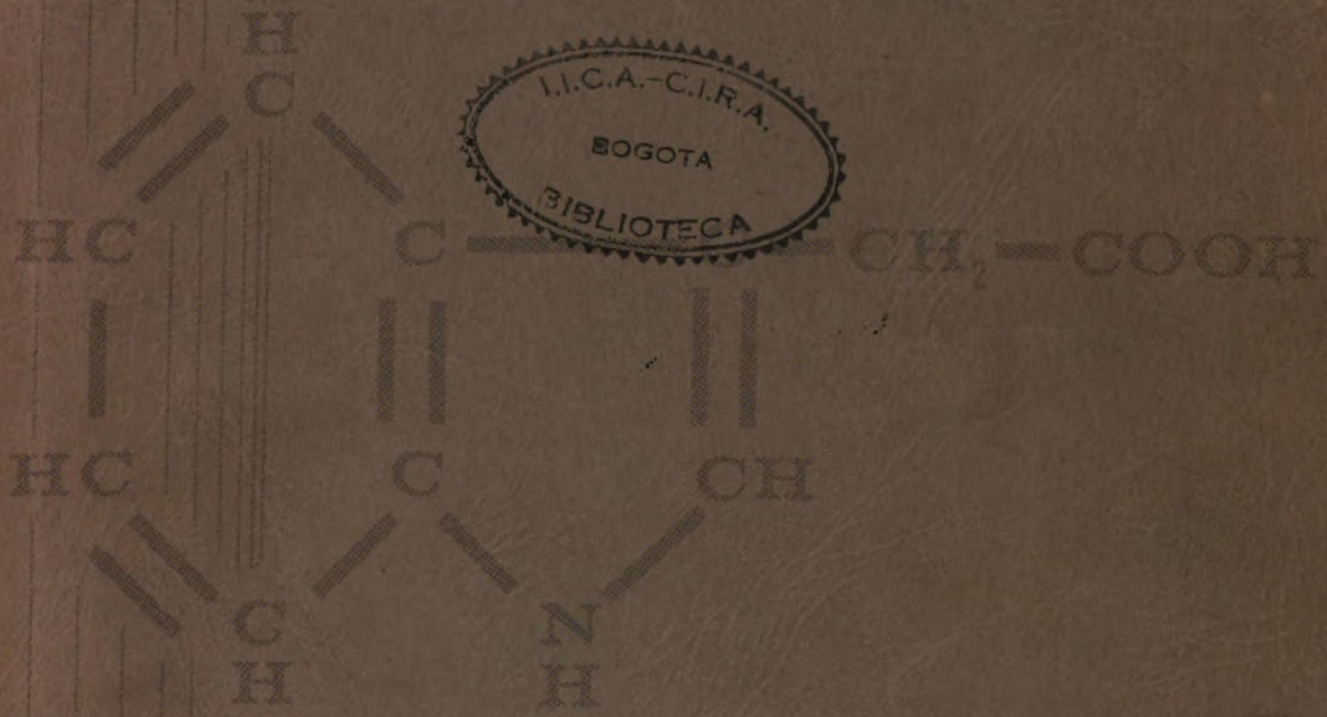


#3960-1

manual de laboratorio de **FISIOLOGIA VEGETAL**



Ludwig E Müller

87m 1964

INTERAMERICANO DE CIENCIAS AGRICOLAS, TURRIALBA, COSTA RICA



C 216A 571 M9587m 1964

manual de laboratorio de FISIOLOGIA VEGETAL

Ludwig E Müller

INSTITUTO INTERAMERICANO DE CIENCIAS AGRICOLAS DE LA O.E.A.
Turrialba, Costa Rica
1964

PRIMERA EDICION 1964



03343

I. I. C. A. - C. I. R. A. BIBLIOTECA	
COMPRADO A	<u>IICA</u>
OBSEQUIO DE	
JUL. 13. 1963	
FECHA	PRECIO <u>\$ 2.50</u>

EDITORIAL SIC



1964

IICA
581.1
157

SERIE: Textos y Materiales de Enseñanza N° 14

Este libro ha sido publicado por el Servicio de Intercambio Científico, del Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la Organización de los Estados Americanos. Es parte del Programa de publicación de Textos y Materiales de Enseñanza para las Facultades de Agronomía de América Latina, financiado con una donación de la Fundación Kellogg.

Marzo de 1964

Turrialba, Costa Rica

CONTENIDO

	Pág. N°
PREFACIO	VII
INTRODUCCION	IX
CAPITULO I. Difusión y osmosis	1
1. Movimiento Browniano	1
2. Factores que influyen en la velocidad de la difusión	3
3. Demostración y medición de la osmosis	8
4. Actividad y equilibrio osmótico	10
5. Plasmólisis	12
CAPITULO II. Coloides e imbibición	14
6. Algunas propiedades de los coloides	14
7. Imbibición	18
8. Algunos factores que influyen en la imbibición	22
CAPITULO III. Superficie y adsorción	25
9. Fenómenos superficiales	25
10. Adsorción	27
CAPITULO IV. Relaciones entre la planta y el agua	29
11. Capacidad de campo y punto de marchitez permanente	29
12. Presión radical y gutación	32
13. Conducción del agua	35
14. Tejidos protectores de las plantas	38
15. Estomas y transpiración	41
16. Algunos factores que influyen en la transpiración	46
CAPITULO V. Nutrición mineral	48
17. Efecto del CO ₂ liberado por las raíces sobre el ambiente radical	48
18. Demostración de la necesidad de algunos elementos para el desarrollo de las plantas	50
19. Demostración del antagonismo	54
CAPITULO VI. Pigmentos vegetales	58
20. Pigmentos de los cloroplastos	58
21. Antocíanos	62
CAPITULO VII. Enzimas	65
22. Algunas enzimas de las plantas	65
23. Algunos factores que influyen en las reacciones enzimáticas	68

	Pág. N°
CAPITULO VIII. Fotosíntesis	72
24. Necesidad de clorofila en la fotosíntesis	72
25. Importancia de los estomas en la fotosíntesis	74
26. Necesidad de luz en la fotosíntesis.	76
27. Influencia de la intensidad de la luz y de la concentración del CO ₂ en la fotosíntesis	78
CAPITULO IX. Respiración	81
28. Respiración aeróbica	81
29. Respiración anaeróbica	85
30. Cociente respiratorio y medición de la respiración	88
31. Fermentación alcohólica	92
CAPITULO X. Algunos constituyentes de las plantas	95
32. Reacciones cualitativas de las proteínas	95
33. Carbohidratos	98
CAPITULO XI. Crecimiento y reguladores de crecimiento	101
34. Zonas de crecimiento	101
35. Necesidad de agua y de luz para el crecimiento	105
36. Efecto de algunos reguladores de crecimiento sobre el desarrollo de las plantas	109
37. Período de reposo en semillas y yemas	112
38. Dominancia apical y abscisión de hojas	115
39. Inducción de raíces	118
CAPITULO XII. Movimiento de las plantas	122
40. Nutación	122
41. Tropismos	124
42. Nastias	128
INFORMACION SOBRE LOS MATERIALES NECESARIOS PARA LOS EXPERIMENTOS EN ESTE MANUAL	131
FIGURAS	151
APENDICE	161

PREFACIO

La finalidad de este manual es proporcionar a quienes se interesan por la fisiología vegetal, ayuda y guía en la realización de experimentos en esa rama de la botánica. Se procuró estructurarlo en forma que estimule al mismo tiempo el aprendizaje de las técnicas y la artesanía de la experimentación. Los experimentos que se incluyen pueden servir para ilustrar la parte teórica de un curso de fisiología vegetal y para facilitar su interpretación.

La introducción que aparece al principio de cada ejercicio de experimentación tiene como único objeto revisar en forma breve los conocimientos teóricos correspondientes. Sin embargo, para la buena comprensión e interpretación de los resultados que se obtienen en cada experimento, se requiere un conocimiento amplio de los fundamentos de la fisiología vegetal, así como de otras ciencias afines como la química y la física.

De entre los innumerables experimentos disponibles se trató de seleccionar e incluir los más apropiados para un manual de esta clase. Para evitar que el manual resulte demasiado extenso, solamente se incluye un experimento, sencillo e ilustrativo, para cada tópico de la fitofisiología aun cuando para una mejor comprensión de ciertos fenómenos fisiológicos sería ventajoso y hasta deseable llevar a cabo más de un experimento sobre un mismo tema.

No se incluyen algunos estudios importantes como la identificación de productos intermedios de la fotosíntesis y de la respiración, porque ellos requieren un equipo muy complicado y costoso, y exigen además demasiado tiempo y experiencia.

Aunque una guía muy detallada no es ideal para desarrollar un pensamiento crítico, por considerar que generalmente se dispone de tiempo limitado, en este manual se ha procurado redactar las instrucciones en forma precisa a fin de evitar errores, pero sin que se elimine del todo la iniciativa del experimentador.

Muchos de los experimentos que se sugieren, además de esclarecer los fundamentos de la fisiología, son también importantes en la explicación de las bases fisiológicas de la agricultura. Debido mayormente a limitaciones de espacio, no ha sido posible incluir en este manual experimentos con orientación ecológica.

El orden de los experimentos no debe considerarse rígido, sino que debe modificarse para adaptarlo a las necesidades y facilidades de que se dispone localmente. Si el período asignado al curso de fisiología no es suficientemente largo, es recomendable comenzar con los experimentos de larga duración, a fin de que se disponga del tiempo necesario para hacer todas las observaciones del caso y poder apreciar claramente los resultados.

El autor recibirá muy complacido los comentarios y críticas que tiendan al mejoramiento de este trabajo, que fue hecho especialmente para los estudiantes de las Facultades de Agronomía y de Ciencias de las Universidades Latinoamericanas.

En forma muy especial, el autor desea expresar su gratitud a la Fundación Kellogg y al Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA, por la ayuda otorgada, a través de su Programa de Textos y Materiales de Enseñanza, que hizo posible la preparación del manuscrito y la publicación de esta obra.

Agradece además al Dr. Carlos Enrique Fernández, por sus sugerencias; al Ing. Edilberto Camacho V., por la revisión del manuscrito; a su esposa por su constante ayuda; y particularmente a sus estudiantes por haberlo alentado a escribir esta publicación y por haber contribuido a que se introdujeran numerosas mejoras en los procedimientos.

INTRODUCCION

Antes de comenzar un experimento se recomienda estudiar cuidadosamente la parte correspondiente del texto. Debe tenerse una idea clara de la finalidad que se persigue y comprender bien la razón de cada paso experimental. Por lo general es necesario seguir fielmente las instrucciones de cada experimento, pues de otro modo los resultados que se obtengan pueden ser distintos a los esperados. En caso de efectuarse cambios en el procedimiento deben anotarse todos los detalles de tales cambios. Es muy importante tener los materiales y aparatos listos antes de comenzar con el trabajo práctico para evitar molestias y atrasos durante la experimentación.

Aunque muchos de los experimentos pueden hacerse individualmente, para algunos es aconsejable la cooperación de varios experimentadores; tales experimentos pueden efectuarse por parejas o en pequeños grupos de participantes, según el número de éstos y la disponibilidad del material. En tal caso es conveniente que mientras una persona efectúa el trabajo experimental, otra tome los datos, y que al final del experimento se proceda a intercambiar los resultados. Para anotar los datos de un experimento no debe esperarse hasta que éste se haya terminado, sino que deben irse anotando tan pronto como se van obteniendo, aunque en ese momento tal vez no pueden interpretarse.

Los datos experimentales deben ser tan completos como sea posible y estar tomados con el mayor cuidado y exactitud. Debe considerarse que todos los datos son producto de una investigación y que por lo tanto no pueden estar equivocados, lo cual quiere decir que los experimentos siempre "funcionan". Deben esperarse ciertas variaciones en los resultados, debido tanto al error experimental como a las diferencias en el comportamiento de una a otra planta, aun de la misma especie, ya que las funciones de los organismos no tienen lugar con la misma precisión de un aparato físico. Sin embargo, si los resultados obtenidos no corresponden con los esperados, ello debe atribuirse a otros factores, no considerados al interpretarlos, o a errores en la técnica u orientación al ejecutar el experimento, lo que hace necesario su repetición. Si se desea interpretar estadísticamente los datos obtenidos en alguno de los experimentos, puede calcularse la desviación estándar o el coeficiente de variación, siguiendo las indicaciones dadas en el Apéndice.

En la experimentación fisiológica mucho depende del testigo, el cual nunca debe faltar. La única diferencia entre éste y el o los tratamientos debe ser el factor o los factores que se están estudiando. Es bueno recordar constantemente que cada experimento sólo sirve para estudiar cierta fase de los muchos procesos fisiológicos que tienen lugar simultáneamente en la planta, y que estos factores inevitables introducen también variación en los resultados. Se debe considerar siempre la planta como un conjunto de factores que actúan simultáneamente, y en tal sentido efectuar la interpretación de los resultados obtenidos.

Muchos de los experimentos pueden terminarse en el transcurso de un período de laboratorio. Para algunos es necesario la preparación previa de ciertos materiales, y otros requieren observaciones posteriores a ciertos intervalos de tiempo. En cada experimento se indican los intervalos más apropiados para las observaciones; según las circunstancias se pueden cambiar esos intervalos para adaptarlos a las condiciones locales existentes.

El trabajo de un laboratorio de fisiología vegetal es en muchos aspectos igual al de un laboratorio de química. Por consiguiente deben tomarse las mismas precauciones que rigen en este último; en especial se recomienda:

1. Mantener todo el equipo, mesas, gavetas, aparatos, etc. en perfecto estado de limpieza y orden. El aseo es requisito indispensable para una experimentación exitosa.
2. La cristalería debe estar escrupulosamente limpia. Después de su uso debe lavarse con un detergente y cepillo, enjuagándola luego repetidas veces con agua de grifo y finalmente, por lo menos dos veces, con agua destilada. La cristalería que aún parezca sucia (si el agua se escurre en gotas de las paredes en lugar de cubrir la superficie uniformemente) debe limpiarse con una mezcla limpiadora (véase Apéndice). Se seca la cristalería al aire, dejándola escurrir sobre un soporte apropiado, p. e. malla de alambre o tabla vertical con estaquillas.

3. Al preparar materiales, ya sea una disolución o una mezcla de reactivos, es necesario su rotulación inmediata; la información debe incluir, además del nombre de la substancia, la fecha y otros datos pertinentes. Esto también es válido para las plantas y aparatos usados en los experimentos. Teniendo este cuidado se evitan confusiones y se facilita el trabajo considerablemente.
4. Recuérdese que los reactivos generales servirán para otros experimentos y cursos, por lo cual debe evitarse su contaminación. En vez de introducir la pipeta en el frasco para tomar la cantidad deseada de reactivo, se vacía una cantidad aproximada en un pequeño recipiente, y de él se toma lo necesario. Nunca deben devolverse a su recipiente original los reactivos que sobran de un experimento o de una pesada. Al destapar un frasco no ponga el tapón con su parte cónica en contacto con la mesa o mostrador para evitar contaminación; es preferible mantenerlo entre los dedos mientras que el líquido se transvasa. Devuelva inmediatamente cada frasco a su lugar original, especialmente los que contienen reactivos generales.
5. Tenga cuidado al trabajar con líquidos inflamables. No los caliente sobre una llama abierta, ni sobre un calentador eléctrico en el cual la resistencia esté expuesta; sus vapores mezclados con el aire pueden ser explosivos o nocivos. Cuando tales vapores se desprenden el trabajo debe efectuarse en una campana (capilla o vitrina) con ventilación apropiada.
6. Al calentar tubos de ensayo, agite constantemente su contenido; nunca dirija la boca del tubo hacia su cara o hacia sus compañeros. Nunca vierta agua en ácido sulfúrico. Al botar líquidos corrosivos, lave la pila con suficiente agua para evitar los efectos destructivos sobre la tubería de drenaje. Mantenga bicarbonato de sodio a mano para neutralizar cualquier gota de un ácido concentrado que caiga sobre las mesas, la ropa o el piso.
7. Al pipetear líquidos corrosivos, como ácidos concentrados, o muy venenosos, nunca lo haga tomando la pipeta directamente en la boca. Emplee un dispositivo de goma especial para pipetear (p. e. "Propipette"). Si no se tiene uno disponible, use una manguera de goma larga entre la pipeta y la boca. Para mayor seguridad puede intercalarse en la misma manguera un pequeño recipiente hecho de un tubo corto de vidrio llenado con algodón. Fíjese que la punta de la pipeta esté siempre sumergida.
8. Mantenga las balanzas lo más limpias posible. Los materiales no deben pesarse directamente sobre los platillos de las balanzas, sino sobre un papel o en un recipiente apropiado. El papel glasín es muy bueno para pesar la mayoría de las sustancias. Nunca toque las pesas con los dedos; use las pinzas indicadas. De ser necesario las pesas deben limpiarse con un pedazo de tela suave, nunca con un abrasivo.

Capítulo I

DIFUSION Y OSMOSIS

Experimento 1.

Fecha

MOVIMIENTO BROWNIANO

Introducción

Según la teoría cinética, las partículas, moléculas o iones de todas las sustancias, ya sean gases, líquidos o sólidos, se encuentran en movimiento constante en todas las direcciones. Bajo condiciones idénticas la intensidad de este movimiento es grande en los gases, menor en los líquidos y mucho menor aún en los sólidos. Cualquier aumento de temperatura acrecienta la velocidad con que se mueven las partículas de una sustancia debido al aumento de su energía cinética.

El movimiento de las partículas de un gas o de una sustancia disuelta en un solvente es libre. Como resultado del movimiento constante en que se encuentran, las partículas de éstos se distribuyen uniformemente en el espacio disponible, es decir, las sustancias se difunden. La velocidad de la difusión depende de varios factores, algunos de los cuales serán estudiados en el Experimento 2.

El movimiento de una partícula es muy errático debido a los constantes choques que sufre con las demás partículas. En una disolución (sustancia sólida o soluto disuelta en forma de iones o moléculas en un líquido o solvente) las partículas del soluto no sólo chocan entre sí sino que también chocan constantemente con las moléculas del solvente. En cualquier momento el efecto aditivo de los choques recibidos por una partícula del soluto con las del solvente puede ser mayor en un lado que en los otros, causando un movimiento direccional. Sin embargo, inmediatamente después el ímpetu puede producirse en otro lado, dando lugar a un cambio de dirección del movimiento de la partícula. Aunque la velocidad de una partícula puede ser momentáneamente alta, la velocidad media de la difusión es muy baja a consecuencia de los repetidos choques y cambios de dirección.

Objetivo

Cualquier partícula, hasta de un tamaño máximo de aproximadamente 5μ , muestra en forma perceptible este movimiento constante cuando se encuentra suspendida en un solvente. Con la ayuda de un microscopio se observará este movimiento, conocido con el nombre de "Movimiento Browniano" en recuerdo de su descubridor Robert Brown. El movimiento existe siempre, cualquiera que sea el material en observación, ya se trate de una sustancia inerte o de protoplasma de una célula viva. En disoluciones de azúcar, sal y proteína en agua el movimiento no es perceptible debido a que las partículas (moléculas) de dichas sustancias no son visibles con el microscopio óptico.

Procedimiento y resultados

Mezcle un poco de tinta china con una gota de agua colocada en el centro de un portaobjeto y cúbralo con un cubreobjeto. Observe al microscopio con el máximo aumento que éste permita.

Los diferentes tamaños de las partículas de carbón permiten apreciar fácilmente la correlación inversa entre su tamaño y su velocidad.

Observe bien el movimiento irregular de las partículas, y por medio de un dibujo represente el curso de una de ellas en un lapso determinado.

Dibujo:

Discusión de los resultados:

¿Por qué el movimiento de las partículas es continuo? ¿Existe alguna condición bajo la cual el movimiento cese por completo?

¿En qué consiste el mecanismo de la difusión?

Experimento 2.

Fecha

FACTORES QUE INFLUYEN EN LA VELOCIDAD DE LA DIFUSION**Introducción**

La dirección de la difusión de una sustancia es determinada únicamente por la diferencia de su concentración (diferencia de presión de difusión) en las diferentes partes del espacio disponible, y no por otras sustancias que se difunden al mismo tiempo en la misma dirección o contrariamente; cada sustancia se difunde independientemente de otra hasta que todas se encuentren distribuidas uniformemente. Aunque la dirección de la difusión permanezca inalterada, la velocidad e intensidad sí son afectadas por varios factores.

En el experimento anterior se vio que las partículas pequeñas alcanzan en promedio mayor velocidad que las de tamaño más grande. En consecuencia, la velocidad de la difusión es inversamente proporcional al tamaño y masa de las partículas cuando todos los demás factores permanecen constantes.

Con un aumento de temperatura se acelera el movimiento de las partículas, y por consiguiente éstas se difunden más rápidamente; la velocidad de la difusión de una sustancia es directamente proporcional a la temperatura en grados absolutos (grados Kelvin).

Gracias a su movimiento constante las partículas de una sustancia se distribuyen uniformemente en el espacio disponible. Si hay una concentración mayor de partículas en un punto, habrá más choques entre sí, lo que hará que se muevan hacia las regiones de menor número; las sustancias se difunden de una región de mayor concentración a una de menor concentración. La velocidad de esta difusión depende de la gradiente, la cual está determinada por la diferencia entre las concentraciones de la sustancia en las dos regiones y por la distancia que las separa.

Al disolverse un material sólido, como por ejemplo un cristal, en un solvente, su concentración en los alrededores inmediatos de la sustancia aún sin disolverse es muy grande; lo mismo puede decirse de una disolución concentrada de un colorante en contacto con agua. Por lo tanto, al iniciarse la difusión la gradiente de concentración es muy pronunciada y por consiguiente la difusión muy rápida. Luego, conforme aumenta la distancia entre las partículas que se difunden y su punto de origen, decrece la concentración de éstas y la velocidad de la difusión disminuye proporcionalmente con el tiempo.

Esto significa que las partículas de una sustancia pueden difundirse rápidamente de un lado a otro de una célula, distancia relativamente corta, pero para su traslado por medio de la difusión a través de un tejido entero o planta, el tiempo necesario será relativamente mucho más largo.

Objetivo

En este experimento se estudiarán los factores que intervienen en la velocidad de la difusión, anteriormente mencionados, como:

- A. Tamaño de las partículas
- B. Temperatura
- C. Concentración
- D. Velocidad de la difusión con relación al tiempo

Existen otros factores que también pueden hacer variar la velocidad de difusión, tales como la presión a que está sujeto el sistema; la densidad de las sustancias y su solubilidad; cualquier fuerza de adsorción entre las partículas, p. e. de naturaleza eléctrica o coloidal, que impide su libre movimiento, etc.

Procedimiento y resultados

Para el estudio de la difusión en este experimento se usará un gel en lugar de agua pura. En esta forma se impide que el contenido de los tubos pueda mezclarse a consecuencia de movimientos involuntarios; por otra parte, debido a la gran cantidad de agua que hay entre las micelas coloidales, el gel no constituye un gran obstáculo para el movimiento de las partículas que se difunden. Debe recordarse que es necesario preparar los tubos con la gelatina anticipadamente para que ésta se encuentre solidificada al iniciar el experimento.

A. Influencia del tamaño de la partícula

Tome cuatro tubos con gelatina, y llene unos 2 cm del espacio libre en cada uno con una disolución de los colorantes que se indican a continuación. Asegúrese de que queda un espacio libre de 1 cm aproximadamente sobre las disoluciones una vez que los tubos han sido bien tapados.

- Tubo 1. 0.01M Crisoidina Y (Peso molecular 248)
 2. 0.01M Eosina Y (Peso molecular 691)
 3. 0.01M Rojo de Congo (Peso molecular 697) (Tiene propiedades coloidales)
 4. 0.01M Eritrosina B (Peso molecular 897)

Anote en cada tubo el colorante agregado y la hora y fecha de iniciación. Después de transcurridos los días indicados en el Cuadro que sigue, y siempre a la misma hora, determine la velocidad de la difusión, midiendo las distancias recorridas por las partículas en cada tubo. Las medidas pueden efectuarse fácilmente invirtiendo los tubos, asegurándose antes de que estén bien tapados. La exactitud de las medidas debe ser de ± 1 mm; conceda especial importancia a las medidas del primer día.

Calcule teóricamente las distancias recorridas por difusión por medio de la ecuación siguiente:

$$d = a \cdot \sqrt{t}$$

d = distancia recorrida

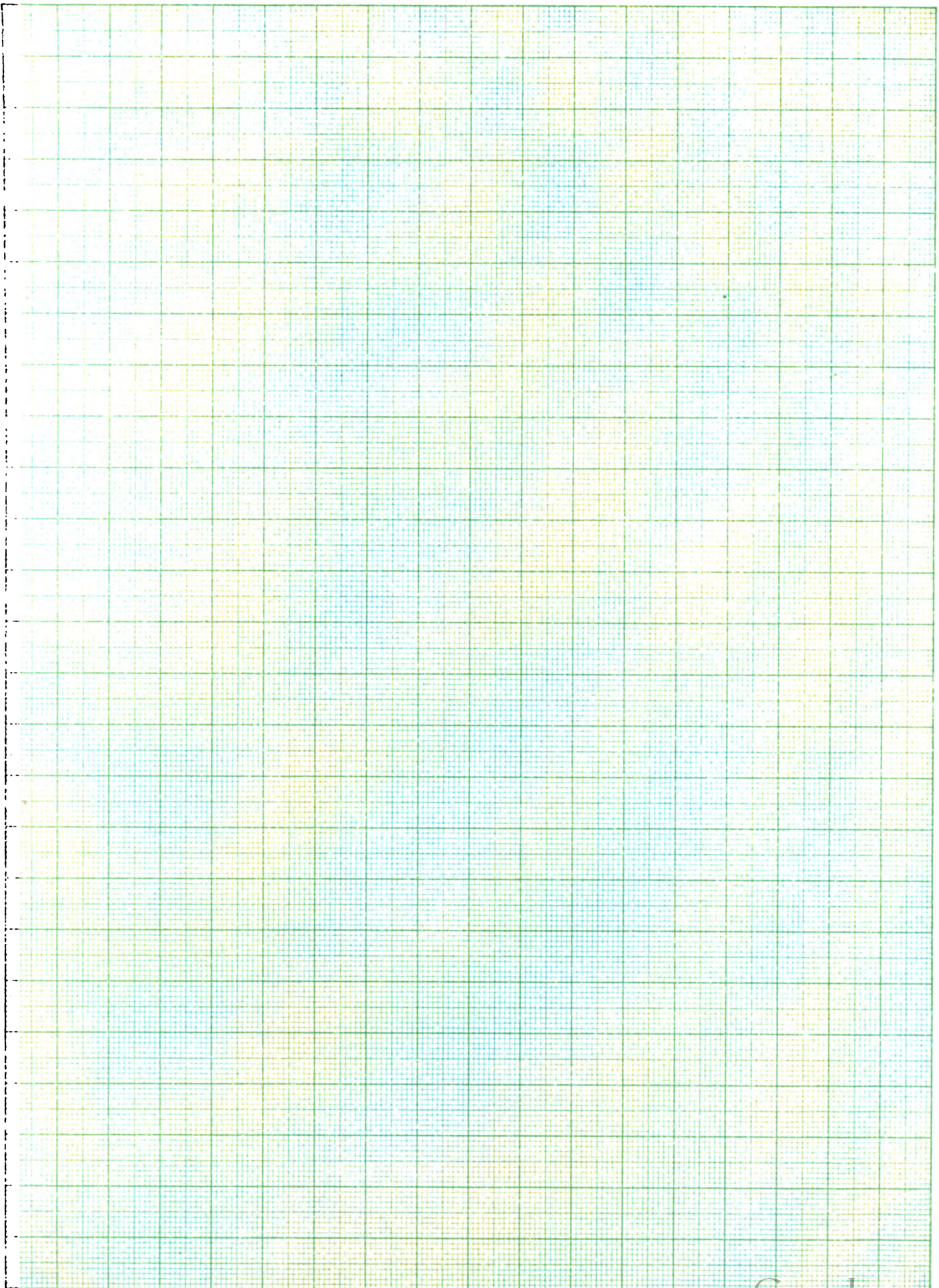
a = factor de proporcionalidad; en este caso la distancia del primer día

t = tiempo (en días)

Colorante	Distancia en mm después de								
	1 día	2 días		4 días		6 días		8 días	
		medida	calculada	medida	calculada	medida	calculada	medida	calculada
Crisoidina Y									
Eosina Y									
Eritrosina B									
Rojo de Congo									

Haga un gráfico en papel milimetrado, anotando la distancia en la ordenada, y el tiempo en la abscisa. Use lápices de color para los diferentes colorantes.

Discusión de los resultados:



B. Efecto de la temperatura

Tome dos tubos con gelatina y llene el espacio libre con una disolución de eosina Y o eritrosina B al 0.01M. Coloque uno de los tubos en un refrigerador; deje el otro sobre la mesa. Mida la distancia a que se difunde el colorante en ambos tubos, haciendo las lecturas siempre a la misma hora en los intervalos indicados. Anote la temperatura del interior del refrigerador y del ambiente de la mesa. Con los valores obtenidos calcule el coeficiente de temperatura * para 10°C.

Tratamiento	Tempe- ratura	Distancia en mm después de				Coeficiente de temperatura (Q_{10})
		1 día	2 días	3 días	4 días	
Mesa						
Refrigerador						

Discusión de los resultados:

* El coeficiente de temperatura o coeficiente térmico Q_{10} de cualquier proceso, químico, físico o fisiológico, es el número de veces que aumenta la velocidad o intensidad del proceso por cada 10 grados de aumento de temperatura.

C. Influencia de la concentración

Tome dos tubos con gelatina y en forma similar, en un tubo llene el espacio libre con una disolución de eosina Y al 0.01M y en el otro con una disolución del mismo colorante diluida 10 veces, o sea al 0.001M. Compare las distancias recorridas por la eosina en un día, varios días y una semana:

Disolución:	Distancia en mm después de				
	1 día	2 días	3 días	4 días	1 semana
Concentrada					
Diluida					

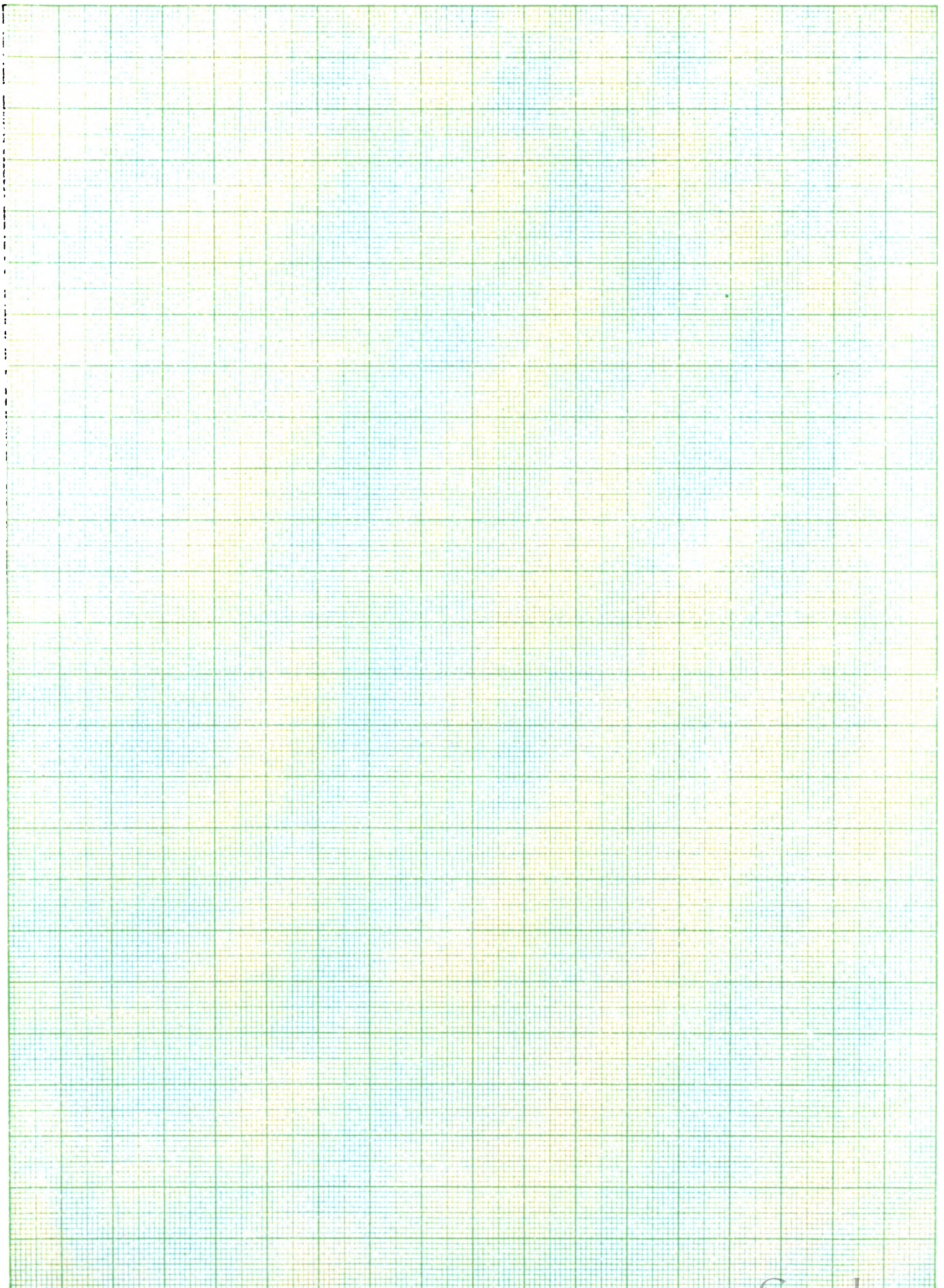
Discusión de los resultados:

D. Velocidad de la difusión con relación al tiempo

En la probeta graduada vierta unos 10 ml de una disolución de eosina Y al 0.01M en el espacio libre que queda sobre la gelatina. Tape el cilindro. Anote la lectura inicial (la gelatina al enfriarse se contrae un poco) y efectúe las lecturas siguientes, utilizando la graduación del cilindro como medida relativa de la distancia de difusión del colorante. Montenga el cilindro en un lugar en que la temperatura sufra la menor fluctuación posible.

Tiempo	Distancia
30 min.	
1 hora	
2 horas	
3 horas	
6 horas	
12 horas	

Tiempo	Distancia
1 día	
2 días	
4 días	
1 sem.	
2 sem.	
4 sem.	



Haga un gráfico en papel milimetrado con los datos obtenidos, anotando la distancia recorrida en la ordenada, y el tiempo en la abscisa. Repita el gráfico en papel logarítmico.

Discusión de los resultados:

¿Por qué el rojo de Congo (peso molecular 697) se comportó de manera tan diferente de los demás colorantes?

¿Por qué se utilizaron en la primera parte del experimento disoluciones con igual molaridad y no con igual porcentaje?

Basándose en los resultados de la última parte de este experimento, ¿cuánto tiempo tardaría una sustancia para llegar de las hojas a las raíces en un árbol de 10 m de altura, suponiendo que el traslado se efectuara exclusivamente por difusión?

Experimento 3.

Fecha

DEMOSTRACION Y MEDICION DE LA OSMOSIS**Introducción**

Si en un recipiente se coloca una capa de agua pura sobre una disolución de azúcar, el azúcar se difundirá en el agua y ésta en la disolución. Si se interpone entre la disolución de azúcar y el agua una membrana con poros tan finos que solamente permitan el paso de las moléculas del agua, pero que impidan el paso del azúcar (membrana diferencialmente permeable o semipermeable), una mayor cantidad de agua pasará a través de la membrana hacia el lado en que su concentración es menor (disolución de azúcar), que la que pasa de la disolución de azúcar hacia el lado del agua pura. Como resultado se produce un aumento en el volumen de la disolución de azúcar, la cual se diluye constantemente. Si se opone resistencia al aumento del volumen, poniendo la disolución de azúcar en un recipiente cerrado, se desarrolla una presión. Tal difusión de agua, o de cualquier otro solvente, principalmente en una dirección, a través de una membrana semipermeable, se denomina osmosis, y la presión que se desarrolla, presión osmótica; la osmosis es pues, una forma especial de difusión.

La magnitud de la presión osmótica depende de la gradiente o diferencia entre las concentraciones de la sustancia disuelta a ambos lados de la membrana semipermeable, alcanzando su grado máximo cuando se encuentra el solvente puro en uno de los lados de la membrana.

De acuerdo con la ley de Vant'Hoff, bajo condiciones ideales una disolución 1 molal * de una sustancia no ionizable, como azúcar, es capaz de desarrollar teóricamente una presión osmótica de 22.4 atmósferas a 0°C. Esta presión que se ejerce sobre las paredes del recipiente, solamente se forma, según se ha mencionado, cuando la disolución está encerrada sin posibilidad de expansión de su volumen. Cuando el espacio es ilimitado, como en el caso de un osmómetro, la disolución se expande hasta que su ascenso queda finalmente contrarrestado por la gravedad (peso del líquido en el tubo o presión hidrostática). (Una atmósfera es equivalente a una columna de agua de 10.33 m o de 76 cm de mercurio).

Aun después de que la presión osmótica ha alcanzado su valor máximo, continúa la difusión de agua a través de la membrana semipermeable. Pero ahora el agua se difunde con igual intensidad tanto hacia la disolución como desde ésta hacia afuera, a través de la membrana, estableciéndose el equilibrio entre ambos lados, y cesando la difusión neta, es decir, la difusión en una dirección principalmente. Hay que tener en cuenta que la concentración inicial de la disolución disminuye progresivamente con el aumento del volumen, de tal manera, que la presión registrada en el osmómetro corresponde a la concentración final y no a la inicial de la disolución.

Objetivo

En la primera parte de este experimento se efectuará una demostración de la osmosis. Para tal fin se utilizarán disoluciones de dos sustancias que en contacto forman un precipitado insoluble y poroso que sirve de membrana semipermeable.

En la segunda parte una de estas membranas, que por sí misma es muy frágil, se sostendrá por medio de un material poroso permeable, como celofán, para poder medir en forma demostrativa la presión desarrollada en un osmómetro.

Procedimiento y resultados**A. Demostración de la osmosis**

1. Membrana formada por ferrocianuro de cobre.
Llene un frasco con una disolución al 2% de sulfato de cobre en agua destilada. Eche, sin agitar, un cristal de ferrocianuro de potasio y observe bien durante algún tiempo lo que sucede.

* Véase APENDICE

2. Membrana formada por silicatos.

Llene varios tubos de ensayo con una disolución al 50% de silicato de sodio. En cada tubo ponga un cristal distinto de sales de metales que forman silicatos insolubles, como calcio, aluminio, hierro, magnesio, bario, cobalto, manganeso, etc. y observe.

B. El osmómetro

Corte un pedazo de tubo de celofán de unos 12 a 15 cm de largo. Con un hilo fuerte cierre un extremo herméticamente, teniendo cuidado de no cortar el celofán con el hilo. Llene el tubo arreglado así con una disolución que contiene azúcar al 0.1 molal y ferrocianuro de potasio al 0.125M. Con otro hilo amarre ese depósito de celofán a un tubo de vidrio cuyo extremo inferior está rodeado por un tubo corto de goma para facilitar la unión (Figura 1). A este hilo se le darán cuantas vueltas sean necesarias para asegurar una conexión hermética. Evite la formación de burbujas dentro del sistema. Lave el depósito de celofán por fuera muy cuidadosamente con agua y sumérjalo en su totalidad en una disolución de sulfato de cobre al 0.25M sin que toque las paredes o el fondo del recipiente. Fije el tubo de vidrio en posición vertical por medio de una prensa sostenida en un soporte.

Observe el ascenso de la disolución en el tubo de vidrio y mida la altura máxima que alcanza el menisco. Calcule a cuántas atmósferas corresponde este valor a la temperatura (medida) ambiente del osmómetro, expresada en grados absolutos. Divida el valor obtenido entre el factor $\frac{T}{273}$, siendo T la temperatura del ambiente expresada en grados absolutos, para obtener la presión a 0°C. Calcule también los valores de la presión a 50°C y a -25°C.

Discusión de los resultados:

¿Cómo se explica el "crecimiento" rítmico de las membranas? ¿Hasta qué punto continúa ese "crecimiento"?

Al comenzar el experimento con el osmómetro ¿hubo también difusión de agua a través de la membrana desde la disolución de azúcar hacia el medio exterior? (No hay que tomar en cuenta la concentración del sulfato de cobre y la del ferrocianuro de potasio, ya que las dos se equilibran; ambas sustancias sirven solamente para formar y mantener la membrana semipermeable, sostenida por el tubo de celofán, sin interferir en los fenómenos osmóticos).

Si en lugar de la disolución de azúcar se hubiera usado una de igual molalidad de cloruro de sodio, que es un electrólito (se disocia en iones al formar la disolución), ¿cuál hubiera sido la altura máxima (teórica) que hubiera alcanzado el menisco (en comparación con la teórica del azúcar)?

Experimento 4.

Fecha

ACTIVIDAD Y EQUILIBRIO OSMOTICO**Introducción**

Se sabe que la actividad osmótica de una sustancia no depende del tamaño de las partículas, sino exclusivamente del número de éstas en un determinado volumen, es decir, de su concentración. En el caso de la disolución de una sal o de cualquier otra sustancia que esté disociada en iones, ésta tiene una actividad osmótica mayor que la que le corresponde por su molalidad, por cuanto cada ion representa una partícula osmóticamente activa. Siendo la actividad osmótica independiente del tamaño de la partícula, un ion de litio (peso atómico 6.94) ejerce el mismo efecto que, por ejemplo, una molécula de azúcar o sacarosa (peso molecular 342) o de almidón (peso molecular mayor de 50.000). Por el tamaño relativamente enorme de las moléculas o partículas coloidales, el número de éstas en determinado volumen es relativamente bajo, y en consecuencia la actividad osmótica es sumamente reducida en comparación con la de una verdadera disolución.

Por lo tanto la transformación de azúcares solubles en almidón dentro de una célula resulta en una fuerte reducción de la concentración osmótica, mientras que el proceso inverso, o sea el desdoblamiento del almidón en azúcar, tendrá un efecto contrario. Estos cambios osmóticos son la base del mecanismo de la apertura y cierre de los estomas; también contribuyen a mantener constante la concentración osmótica de una célula (osmoregulación), por ejemplo durante la formación de azúcares en el transcurso del proceso fotosintético.

Debido al metabolismo, en una célula vegetal ocurren cambios constantes por absorción de sales nutritivas, formación de carbohidratos durante la fotosíntesis, transformaciones enzimáticas, etc.; todos estos procesos inducen cambios en la concentración osmótica de la célula y consecuentemente afectan la osmosis.

Si en un sistema cerrado ocurre la combinación o precipitación de una sustancia osmóticamente activa, su concentración será menor en el lugar de la precipitación, resultando una gradiente. Por medio de la difusión se establece nuevamente el equilibrio; sin embargo, si la precipitación es continua, la difusión seguirá hasta que no hayan más partículas de la sustancia en disolución, lo que resultará en una disminución de la concentración osmótica hasta llegar a cero.

Este fenómeno de la inactivación de una sustancia en un sistema osmótico tiene mucha importancia en los procesos vitales, como p. e. en la absorción y acumulación de elementos nutritivos en las raíces.

Objetivo

En la primera parte del experimento se observará la actividad osmótica de la sacarosa en comparación con la del almidón, que es una sustancia coloidal (macromolecular).

En la segunda parte se estudiará la influencia de la inactivación de las partículas de un soluto por combinación con las de otra sustancia en la concentración osmótica del sistema.

Procedimiento y resultados**A. Demostración de la actividad de la sacarosa y del almidón**

Tome dos zanahorias grandes y haga un hueco cónico de una profundidad de 3 a 4 cm en el corazón de cada una de ellas, dejando paredes delgadas pero intactas. Llene la cavidad de una de las zanahorias con sacarosa y la de la otra con almidón. Mantenga las zanahorias verticalmente en un soporte durante el experimento. Anote las observaciones después de varias horas, un día y varios días.

Anotación de observaciones:

Tiempo	Zanahoria con sacarosa	Zanahoria con almidón
1. horas		
2. días		
3. días		

B. Difusión y precipitación

Corte dos pedazos de tubo de celofán de aproximadamente 10 a 12 cm de largo. Cierre herméticamente un extremo de cada pedazo con un hilo fuerte. Llene uno con agua destilada y cierre su otro extremo también con un hilo, formando así una bolsita o saco lleno de agua. El otro, llénelo con una disolución de almidón al 2% y cierre su extremo en igual forma. Lave esta bolsita por fuera muy cuidadosamente con mucha agua, para eliminar cualquier traza de almidón.

Prepare suficiente disolución de yodo para llenar dos frascos adecuados con tapa de rosca. Introduzca cada bolsita en un frasco con la disolución de yodo, extienda sobre la boca de cada uno un pedazo de papel (hoja) de aluminio y ciérrelos muy bien con su respectiva tapa; de otro modo el yodo se evaporaría rápidamente. Mantenga los frascos en la oscuridad. Haga observaciones después de varias horas, dos días y una semana, y al final del experimento saque la bolsa con agua del frasco para verificar su color.

Anotación de observaciones:

Tiempo	Frasco con bolsa de agua	Frasco con bolsa de almidón
1. horas		
2. días		
3. días		

Discusión de los resultados:

¿Cómo se explica el cambio del tamaño y consistencia de la zanahoria con sacarosa?

¿Cuál es la diferencia entre difusión y osmosis?

¿Qué función desempeña el tubo de celofán en este experimento?

Experimento 5.

Fecha

PLASMOLISIS**Introducción**

Generalmente a la célula vegetal se le considera como un sistema osmótico perfecto. La pared celular no forma parte de este sistema, ya que es completamente permeable a cualquier disolución o sustancia; solamente las membranas del protoplasma, la capa exterior y la interior de éste, son semipermeables. El protoplasma encierra el o los vacúolos, cuyo jugo está constituido por una disolución de sales, ácidos orgánicos, azúcares, etc., sustancias todas osmóticamente activas.

El protoplasma puede ser bastante permeable a ciertas sustancias, lo que explica la absorción de iones por las células absorbentes de las raíces y su transporte de célula a célula en los tejidos. Otras sustancias, como la sacarosa, no son fácilmente absorbidas y en este caso la célula se comporta como un sistema osmótico casi perfecto.

Colocando una célula flácida en agua pura o en una disolución muy diluida, de menor concentración que el jugo celular (disolución hipotónica), habrá difusión neta de agua a través del protoplasma hacia la región de mayor concentración de soluto, es decir hacia el vacúolo (endosmosis). Este aumento de volumen y presiona la capa protoplasmática contra la pared celular. El proceso continúa hasta que la pared celular, poco elástica, no cede más. En este estado ejerce una presión sobre el contenido celular, llamada presión de turgencia o turgor; la célula se encuentra saturada de agua hasta su capacidad máxima, es decir, completamente turgente (Figura 2A).

Por el contrario, colocando una célula en una disolución de mayor concentración que la del jugo celular (disolución hipertónica), la difusión será en sentido inverso, es decir, el jugo celular pierde agua a la disolución rodeante (exosmosis).

Al reducirse el volumen vacuolar por la pérdida de agua, disminuye al mismo tiempo la presión de turgencia hasta que desaparece del todo. El protoplasma se contrae alrededor del vacúolo y empieza a separarse de la pared celular. Este fenómeno se llama plasmólisis, y justamente cuando empieza la separación del protoplasma de la pared (Figura 2B), se le refiere como plasmólisis incipiente. El proceso continúa hasta que el jugo celular llega a estar tan concentrado por la pérdida de agua como la disolución en que la célula fue colocada (Figura 2C). Una vez que se ha establecido este equilibrio se dice que el jugo celular y la disolución alrededor de la célula son isotónicos.

Objetivo

Si se coloca una célula en una disolución que produce una plasmólisis incipiente, esta disolución es apenas ligeramente más concentrada que el jugo celular y, por lo tanto, la molalidad de la disolución será casi igual a la molalidad (concentración osmótica) del jugo celular. Así, por medio de la plasmólisis es posible calcular aproximadamente la concentración osmótica (valor osmótico) del jugo de una célula o de un tejido, poniéndolos en contacto con una serie de disoluciones de diferentes concentraciones, tal como se hará en este experimento. También se observará que la plasmólisis es generalmente un proceso reversible, siempre que no se hayan empleado como agentes plasmolizantes disoluciones muy concentradas, de sustancias tóxicas, o de compuestos fácilmente absorbibles por el protoplasma.

Procedimiento y resultados

Prepare disoluciones de sacarosa con las siguientes molalidades: 0.10; 0.15; 0.20; 0.25; 0.30; 0.35; 0.40; 0.45 y 0.50. Transfiera unas gotas de la disolución más débil a un portaobjeto, coloque en ésta un pedacito de tejido de epidermis que tenga el pigmento antocfano en el jugo celular, y cúbralo con un cubreobjeto. Haga preparaciones similares con las demás disoluciones (no se olvide de identificar los portaobjetos). Tenga cuidado de que el tejido esté siempre en buen contacto con la disolución.

Después de 5 ó 10 minutos observe al microscopio y anote con cuál molalidad hay por lo menos un 30% de las células plasmolizadas.

Finalmente sustituya la disolución que causó plasmólisis en casi todas las células, por agua de grifo, enjuagando bien el tejido para remover la disolución de sacarosa. Seque con papel de filtro el exceso de agua, cúbralo de nuevo con un cubreobjeto y observe el tiempo necesario para que la plasmólisis desaparezca (deplasmólisis).

Molalidad que causó plasmólisis:

Tiempo necesario para la deplasmólisis:

Discusión de los resultados:

¿Observó usted algún cambio en la intensidad de la coloración del jugo de las células plasmolizadas?
¿Cómo lo explica?

¿Qué ocupó el espacio entre la pared celular y el protoplasma en las células plasmolizadas?

¿Por qué no es aconsejable usar una disolución de cloruro de sodio o de urea en vez de azúcar corriente (sacarosa)?

Capítulo II

COLOIDES E IMBIBICION

Experimento 6.

Fecha

ALGUNAS PROPIEDADES DE LOS COLOIDES

Introducción

Las disoluciones o mejor dicho dispersiones coloidales, llamadas a veces también sistemas coloidales, consisten de partículas (micelas) relativamente grandes, de un tamaño aproximado entre 0.001μ y 0.1μ , de una sustancia sólida, líquida o gaseosa (fase dispersa) dispersadas en un líquido (fase continua). Si las partículas son de un tamaño menor, se obtendrá una disolución verdadera y si fueran mayores, una suspensión. Lo importante es que las partículas coloidales no sean lo suficientemente grandes para precipitarse ya que una de las características de una dispersión coloidal es cierta estabilidad del sistema.

Las partículas coloidales son generalmente de tamaño mayor que el de las moléculas, pues consisten de agregados moleculares. Solamente las proteínas y otras sustancias de estructura "macromolecular" pueden formar una dispersión coloidal aun cuando se hallen en disolución molecular, o sea, que representan al mismo tiempo una disolución verdadera.

En un sistema coloidal es de suma importancia la gran superficie de las partículas en comparación con igual volumen del mismo material no subdividido. Muchas de las propiedades de los coloides están relacionadas con esta gran superficie.

Las partículas de la mayoría de los coloides poseen carga electrostática o eléctrica, cuando se trata de iones, ya sea carga positiva o -más comúnmente- negativa cuando el medio de dispersión es el agua. Por regla general esta carga es del mismo signo en todas las partículas de una dispersión coloidal, lo que da origen a la repulsión mutua entre ellas y a que se mantenga el estado de dispersión.

Aunque las micelas tengan carga en su superficie, el sistema en sí no tiene carga. Esto se debe a que las moléculas de agua también están cargadas, pues constituyen dipolos (un polo positivo y un polo negativo). Al ordenarse alrededor de las partículas coloidales (adsorción) equilibran así la carga de éstas.

Si las micelas pierden su carga también pierden agua adsorbida, lo que resulta en una reducción de su capa de hidratación. Por lo tanto pueden acercarse más unas a otras y como la fuerza de repulsión también se ha reducido o eliminado, debido a su movimiento (Browniano), chocan y se aglomeran para precipitarse. Existe precipitación cuando el fenómeno es reversible, o sea que al restablecerse la carga las partículas se suspenden de nuevo. Si el proceso es irreversible, como p. e. en el caso de proteínas y de protoplasma, se denomina coagulación o floculación. Un efecto similar puede producirse también por deshidratación por medio de ciertos solventes orgánicos, o por calentamiento cuando se trata de coloides termolábiles. Con el protoplasma la coagulación ocurre a temperaturas relativamente bajas.

Si se pasa un haz luminoso potente a través de una dispersión coloidal, observando de lado, claramente puede notarse su delineamiento. Las micelas desvían (difractan) o reflejan los rayos de la luz, razón por la cual el líquido parece opaco; este fenómeno se denomina efecto de Tyndall.

Objetivo

En la primera parte del experimento se estudiará la influencia de la capa de agua de hidratación sobre la estabilidad de un sistema, por medio de la deshidratación de coloides hidrófilos (que tienen afinidad con

el agua). La diferencia entre precipitación y coagulación se demostrará por medio del uso de distintos coloides. Se comprobará también que las partículas de dispersiones coloidales son tan pequeñas que pasan a través de papel de filtro, pero son visibles por la dispersión de luz al ser iluminados con un haz luminoso fuerte.

En la segunda parte se demostrará el efecto de la temperatura sobre la estabilidad de algunos sistemas coloidales. Como se ha mencionado anteriormente, en el caso del protoplasma, temperaturas relativamente bajas son letales. Al morir por coagulación a causa de una temperatura excesivamente alta o baja, el protoplasma se vuelve permeable y deja que se difundan hacia afuera muchas sustancias del jugo celular, tales como los pigmentos antocianos. Su difusión sirve por lo tanto como indicación de la muerte de las células del tejido.

Procedimiento y resultados

A. Efecto de la deshidratación

Prepare:

1. Disolución acuosa de goma arábica al 3%
2. Disolución de clara de un huevo suspendida en unos 50 ml de agua
3. Disolución acuosa de gelatina al 2%

Vierta unos 5 ml de cada disolución en tubos de ensayo y agregue acetona poco a poco hasta que el contenido de los tubos se ponga turbio, lo que significa que las partículas están coaguladas o precipitadas. No use una cantidad excesiva de acetona. Luego agregue agua destilada a los tubos para ver si los coloides se pueden suspender de nuevo.

Coloide	Suspensión de nuevo:	
	Si	No
1. Goma arábica		
2. Clara de huevo		
3. Gelatina		

Discusión de resultados:

B. Tamaño de las partículas coloidales y efecto de Tyndall

Filtre 10 ml de la disolución de gelatina a través de un papel de filtro. Recoja el filtrado en un tubo de ensayo y agregue acetona. Observe si ocurre precipitación.

Coloque un tubo de ensayo lleno de la disolución de clara de huevo en un rayo de luz fuerte, por ejemplo un rayo solar o de un proyector. Observe de lado el efecto de Tyndall (turbidez).

Discusión de los resultados:

C. Efecto de la temperatura

1. Vierta de 10 a 15 ml de las disoluciones coloidales anteriores en tubos de ensayo. Caliente hasta que el contenido hierva. Observe cualquier cambio en la apariencia de las disoluciones.
2. Corte trozos de unos 4 a 5 cm de largo y 1 x 1 cm de sección transversal de la raíz de una remolacha roja. Lave los trozos cuidadosamente con agua de grifo para remover los contenidos de las células heridas.

Caliente agua de grifo en un vaso hasta una temperatura exacta de 70°C (use un termómetro). Retire el agua del fuego y ponga un trozo de remolacha en el vaso. Después de un minuto exacto saque el pedazo de remolacha y colóquelo en un tubo de ensayo; agregue agua fría de grifo hasta cubrirlo.

Enfríe el agua del vaso a 65°; 60°; 55°; 50°; 45°; 40°; 35°C y repita el proceso con cada una de esas temperaturas.

En otro vaso con agua de grifo ponga unos pedazos de hielo para obtener una temperatura de 0°C. Sumerja un trozo de remolacha por un minuto y luego introdúzcalo en un tubo de ensayo con agua fría de grifo.

Deje en el compartimiento de congelación de un refrigerador un trozo de remolacha hasta que esté congelado. Luego colóquelo en un tubo de ensayo con agua fría de grifo.

Agite los tubos y observe después de una, dos y cuatro horas en cuales tubos hay difusión del pigmento antociano hacia el agua que está alrededor del trozo de remolacha.

Difusión después de	Temperatura en °C									Congelado
	70	65	60	55	50	45	40	35	0	
1 hora Si										
1 hora No										
2 horas Si										
2 horas No										
4 horas Si										
4 horas No										

Discusión de los resultados:

¿Cuál es el efecto de la acetona sobre las dispersiones coloidales?

¿Qué sucede al pasar una corriente eléctrica a través de un sistema coloidal? ¿Cómo se denomina el proceso basado en este principio?

Enumere algunos sistemas coloidales hidrófilos de las plantas.

Experimento 7.

Fecha

IMBIBICION**Introducción**

Al poner coloides, como p. e. celulosa, gelatina, semillas, en estado seco en contacto con agua, ésta es adsorbida. Tal adsorción de un solvente por una sustancia coloidal se denomina imbibición.

Las primeras moléculas de agua, atraídas por la diferencia de carga, empiezan a ocupar en forma ordenada el espacio alrededor de cada micela. Con este ordenamiento las moléculas ocupan menos espacio que cuando estaban desordenadas. Al mismo tiempo las micelas comienzan a separarse unas de otras debido al agua intercalada entre ellas. Mientras que el volumen del material coloidal aumenta por la imbibición, el volumen total del sistema disminuye por el arreglo definitivo de las moléculas del agua alrededor de las micelas.

Capas sucesivas de agua son atraídas luego cada vez con mucho menor fuerza, hasta que ésta desaparece por completo, es decir se alcanza un estado de equilibrio o saturación.

Por consiguiente al comienzo de la imbibición la fuerza de atracción es muy grande. Si se limita el espacio disponible para el coloide, esa fuerza se transforma en presión (presión de imbibición) cuyos valores iniciales son muy altos; en el caso de algunas semillas secas excede de 1000 atmósferas, pero disminuye rápidamente al progresar la imbibición, llegando a cero en el estado de saturación.

Cuando existe una fuerza de cohesión apreciable entre las micelas, mayor que la que atrae a las capas exteriores de agua, la imbibición se detiene antes de que las partículas se separen por completo. En este caso la imbibición es limitada y tal estado del coloide se llama gel. Por otra parte, en la imbibición ilimitada las partículas coloidales se separan por completo, moviéndose libremente en el solvente, dando por resultado una dispersión (disolución) coloidal o sol. En el caso de la cola de carpintero, lo mismo que en el de otras sustancias coloidales, como gelatina, agar, etc., la forma de imbibición, limitada o ilimitada, depende de la proporción del coloide con el agua y también de la temperatura. Con una concentración suficientemente alta de esas sustancias la imbibición es limitada cuando la temperatura es baja. Al subir la temperatura, la mayor energía cinética de las partículas vence finalmente la cohesión entre ellas, alcanzando un movimiento libre y el gel se transforma en un sol. Al enfriarse, se invierte el proceso, formándose nuevamente el gel. Con algunos coloides esto ocurre a una temperatura distinta a la que los licuó.

Cuando las moléculas de agua quedan adsorbidas en arreglo bien definido y fijo pierden su movimiento libre y se disipa la energía cinética que poseían. Como resultado se produce un aumento en la temperatura del sistema.

Muchos coloides son capaces de adsorber no solamente agua en estado líquido, sino también en forma de vapor. Un ejemplo es el hinchamiento de la madera en tiempo húmedo; igualmente, muchos órganos vegetales en estado deshidratado, como semillas, embeben agua en forma de vapor.

La absorción de agua por una sustancia porosa, como arcilla cocida o tiza, no es imbibición, pues el reemplazo del aire en los poros por el agua no provoca aumento de volumen o el desarrollo de una presión.

Objetivo

El estudio de la imbibición permite observar lo siguiente:

- A. Contracción del volumen total del sistema mientras que el volumen del coloide aumenta.
- B. Aumento de temperatura del sistema coloidal durante la imbibición.
- C. Al limitar el espacio disponible durante la imbibición, se desarrolla una presión.
- D. En muchos sistemas coloidales la energía cinética de las partículas determina que su estado sea gel o sol; esto se comprobará transformando uno en otro por medio de calentamiento.

- E. Mientras que en algunos coloides como las semillas, la imbibición es limitada, en otros, como la cola de carpintero, es ilimitada.
- F. La absorción de agua por una sustancia porosa, como la tiza, no es una forma de imbibición.

Procedimiento y resultados

A. Cambios del volumen

Pese de 70 a 80 g de semillas de frijol previamente secadas a 105°C durante varias horas y enfriadas en un desecador. Póngalas en un matraz aforado de 250 ml y agregue agua destilada recién hervida y enfriada en cantidad suficiente para cubrir bien las semillas, y agite un rato vigorosamente para sacar cualquier burbuja de aire que haya. Complete después el volumen con la misma clase de agua exactamente hasta la marca del matraz. Marque en la pared exterior del matraz la altura hasta donde llegan las semillas.

Llene otro matraz de 250 ml con agua exactamente hasta su marca; este matraz servirá como testigo para detectar cambios de temperatura durante el experimento.

Observe cualquier cambio en el volumen total del sistema y de las semillas, después de 2, 6 y 12 horas.

Anotación de observaciones:

B. Aumento de temperatura

Seque unos 30 g de almidón a 105°C durante varias horas. Enfrélo en un desecador hasta la temperatura ambiente. Mida 30 ml de agua y tome su temperatura. Ponga el almidón seco en una botella termos. Introduzca el termómetro y tome la temperatura del almidón. Después, manteniendo la botella termos inclinada, vierta rápidamente el agua sobre el almidón y agite vigorosamente con el termómetro por tres o cuatro segundos, pero sin exceder este límite. Después de 10 segundos saque el termómetro, lea rápidamente la temperatura, y sumérjalo inmediatamente otra vez en la mezcla. Repita la lectura a los 20 y a los 45 segundos, y a los 2 minutos.

Temperatura del almidón	Temperatura del agua	10 seg.	Temperatura después de 20 seg.	45 seg.	2 min.

C. Presión de imbibición

Prepare una pasta muy suave de yeso y llene con ella una pequeña caja de cartón u otro recipiente hasta la mitad. Rápidamente coloque un puñado de semillas de frijol bien secas en el centro de la pasta y vierta sobre ellas el resto de la pasta hasta llenar el molde. Cuando el yeso esté firme, quite el molde y mantenga el bloque bien mojado durante algún tiempo. Observe después de varias horas.

Anotación de observaciones:

D. Efecto de temperatura

Llene un recipiente adecuado hasta la mitad con una disolución de agar al 3% y déjelo enfriar. Cuando el agar está solidificado (gel) caliente el recipiente lentamente en un baño de agua caliente hasta que su contenido empiece a licuarse. Con un termómetro mida la temperatura exacta del agar ya líquido. Enfríelo nuevamente muy despacio, agitando el agar de vez en cuando con el termómetro. Cuando empiece la transformación de sol a gel, determine la temperatura otra vez.

Temperatura a la cual el agar se transformó en sol:

Temperatura a la cual el agar se transformó en gel:

E. Imbibición limitada e ilimitada

En un recipiente apropiado ponga unos 30 g de semillas secas de frijol y cúbralas ampliamente con agua. En otro recipiente similar ponga una cantidad igual de cola de carpintero y cúbrala también con suficiente agua. Agregue un poco de timol a ambos recipientes y manténgalos en un lugar moderadamente caliente (30° a 35°C). Observe después de uno y de dos días los cambios de volumen de ambos coloides.

Anotación de observaciones:

F. Absorción de agua por una sustancia porosa

Tome una barra de tiza, pésele, mida su diámetro y su longitud y calcule su volumen. Sumerja la tiza en un recipiente con agua y después de dos días tome otra vez su peso, después de secar ligeramente su superficie. Repita también la determinación del volumen.

	Tiza seca	Tiza embebida
Peso (g)		
Diámetro (mm)		
Largo (mm)		
Volumen (ml)		

Discusión de los resultados:

¿Cuáles son los coloides que se encuentran en semillas?

¿La imbibición se realiza con una fuerza débil o fuerte?

¿En qué forma podría la capacidad de adsorción de agua de un coloide ser ventajosa para una planta?

Experimento 8.

Fecha

ALGUNOS FACTORES QUE INFLUYEN EN LA IMBIBICION**Introducción**

El proceso de la imbibición muestra muchas analogías con la osmosis, y al igual que a ésta la afectan varios factores, tales como la configuración de la molécula de la sustancia coloidal, su carga electrostática o eléctrica, la orientación de las micelas dentro del sistema, su afinidad específica al solvente, etc.

Como se vio en el experimento anterior, la temperatura tiene mucha importancia sobre la condición sol-gel; además influye en la velocidad de la imbibición, la cual es directamente proporcional a la temperatura, lo que puede explicarse principalmente con base en el aumento de la energía cinética de las moléculas con la elevación de la temperatura.

El agua es embebida por un coloide solamente cuando su presión de difusión es mayor que la del agua en el coloide, siendo la intensidad de imbibición proporcional a la diferencia de presión de difusión. Esto significa que cualquier adición de un soluto al agua, que reduce la presión de difusión de ésta en comparación con agua pura, necesariamente reduce el grado de imbibición (estado de equilibrio) de las partículas coloidales así como la velocidad del proceso.

Algunos coloides tienen grupos ácidos y básicos incorporados en la misma molécula, como por ejemplo proteínas (grupo básico $-NH_2$; grupo ácido $-COOH$). Tales sustancias se denominan anfóteras; según la reacción del medio pueden tener carácter ácido - en un medio alcalino - o comportarse como bases si la reacción es ácida. Existe una determinada reacción en la cual sus moléculas no están cargadas eléctricamente por haber iones ácidos e iones básicos en proporción igual. Este valor de pH se llama punto isoeléctrico y es característico para cada sustancia; muchas proteínas tienen el punto isoeléctrico en la parte ácida de la escala de pH.

La precipitación o coagulación ocurre más fácilmente cuando las partículas no tienen carga eléctrica neta, es decir, cuando se encuentran en el punto isoeléctrico. Los coloides hidrófobos, con poca afinidad para el agua (liófilos cuando se trata de un solvente cualquiera), tienen la tendencia de flocular en el punto isoeléctrico, mientras que los con mucha afinidad al agua, los hidrófilos (liófilos) tienen además otro factor estabilizante, el agua de hidratación, lo que evita una aglomeración aunque la carga eléctrica haya sido neutralizada. Sin embargo, su estabilidad también es mínima en el punto isoeléctrico.

Objetivo

Se investigará el efecto de tres factores importantes en la imbibición: temperatura, concentración de solutos en el solvente y el punto isoeléctrico.

Puede apreciarse que en las semillas el grado de imbibición es directamente proporcional a la temperatura del ambiente.

Si se aumenta la concentración de solutos en el solvente, el grado de imbibición disminuye proporcionalmente.

Utilizando un coloide hidrófilo (gelatina), se determinará su punto isoeléctrico por medio de la deshidratación de las partículas coloidales usando un solvente orgánico en una serie de disoluciones amortiguadas de diferente reacción.

Procedimiento y resultados**A. Efecto de la temperatura y de un soluto sobre la imbibición**

Pese seis grupos iguales de 30 o 40 g de semillas de frijol o de maíz, previamente secadas durante varias horas a $50^{\circ}C$ y luego enfriadas.

Ponga cada grupo en un recipiente. Llene tres de estos recipientes con agua de grifo, cubriendo las semillas ampliamente con el solvente. De los otros tres recipientes llene uno con una disolución de cloruro de sodio al 5%, otro con una al 15% y el último con una al 30%. A cada recipiente agregue un poco de timol para evitar el crecimiento de hongos y bacterias. Coloque uno de los recipientes con las semillas en agua en el refrigerador, otro con agua en una incubadora a 40°C y deje los demás sobre la mesa. Usando un termómetro verifique la temperatura en los diferentes ambientes.

Después de dos días decante el líquido, seque las semillas con papel absorbente y pese los grupos nuevamente. Calcule el porcentaje de agua embebida por las semillas con los diferentes tratamientos.

Tratamiento	Temperatura	Pesos de los lotes		Aumento %
		secos	embebidos	
Agua - refrigerador				
Agua - mesa				
Agua - incubadora				
NaCl 5%				
NaCl 15%				
NaCl 30%				

Discusión de los resultados:

B. Punto isoeléctrico

Prepare una serie de disoluciones amortiguadoras con valores aproximados de pH de 3,2; 3,8; 4,4; 4,7; 5,0; 5,6; 5,9; 6,7; si es posible compruebe con indicadores o con un potenciómetro. Con una pipeta transfiera 4 ml de cada disolución amortiguadora a diferentes tubos de ensayo. No se olvide de lavar la pipeta cada vez y de indicar en los tubos el pH de la disolución que contienen. Agregue a cada tubo 2 ml de una disolución de gelatina al 5%. Mezcle bien.

Agregue con una bureta, agitando constantemente, suficiente alcohol etílico hasta que se produzca una ligera turbidez. Anote la cantidad de alcohol usada y repita la operación con cada tubo. Trate de obtener el mismo grado de opacidad en todos los tubos. Procure evitar un exceso de alcohol.

	pH							
	3,2	3,8	4,4	4,7	5,0	5,6	5,9	6,7
ml alcohol								

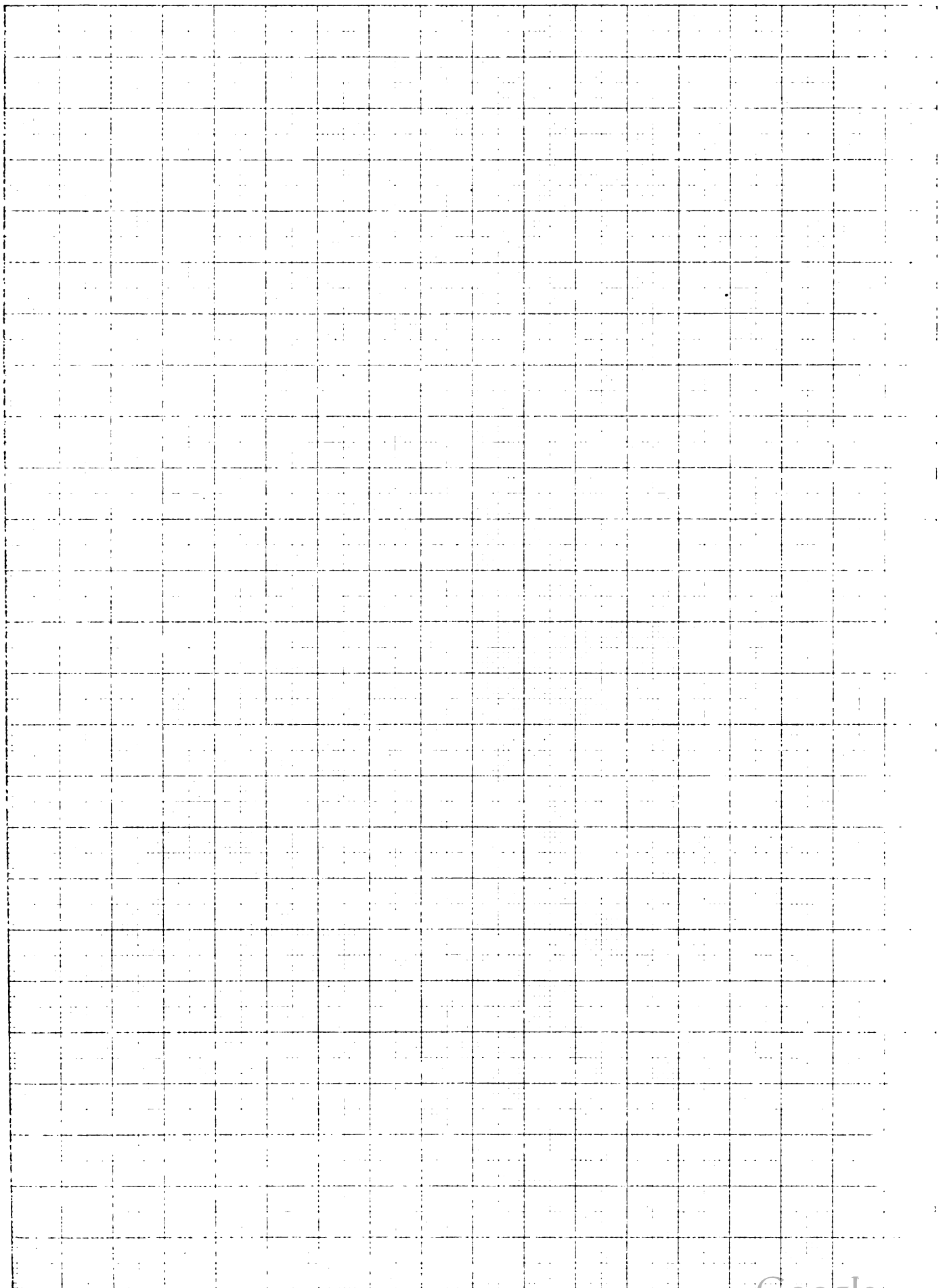
Con los datos forme un gráfico y determine con la mayor exactitud posible el punto isoeléctrico de la gelatina usada.

Discusión de los resultados:

¿Cuál fue el coeficiente de temperatura para 10°C (Q₁₀) en la imbibición?

¿La imbibición de las semillas es un proceso puramente físico, biológico, o una combinación de los dos? ¿Cómo procedería usted para comprobar su contestación?

La variación del pH del protoplasma de una célula vegetal tiene un ámbito muy limitado en comparación con el del jugo celular. ¿Qué efectos podría tener un cambio grande en la reacción del protoplasma?



Capítulo III

SUPERFICIE Y ADSORCION

Experimento 9.

Fecha

FENOMENOS SUPERFICIALES

Introducción

En un sólido las moléculas están tan cerca unas de otras que la fuerza de atracción entre sí, llamada fuerza de cohesión, es tan grande que no les permite ningún movimiento. La cohesión disminuye rápidamente conforme las moléculas se separan, y probablemente a distancias de 1 a 2 veces el diámetro de éstas es ya casi insignificante. En los líquidos la distancia entre las partículas es un poco mayor que en los sólidos, razón por la cual las moléculas muestran movimiento libre; sin embargo, la fuerza de atracción es aún suficientemente grande para impedir su completa separación. En un gas, la energía cinética de cada partícula es bastante grande para vencer la poca fuerza de cohesión existente entre ellas -por estar tan separadas- lo que permite un movimiento independiente de cada una.

En el interior de un cuerpo la fuerza de cohesión entre las partículas es igual en todas las direcciones, pero en la superficie la fuerza sobre las partículas que forman ésta es desigual, siendo la fuerza mayor hacia el interior del cuerpo. Este fenómeno es especialmente notorio cuando están en contacto superficies de dos sustancias de propiedades muy distintas como p. e. la superficie de un líquido con un gas. En tal caso la fuerza de cohesión sobre las partículas de la superficie es unilateral -no existiendo fuerza de atracción entre las partículas del líquido y las del gas- lo que tiende a contraer las partículas superficiales, reduciéndose la superficie a un mínimo: la fuerza de atracción unilateral resulta en tensión superficial. Si las partículas no son esféricas, pueden colocarse ordenadamente en la superficie y estarán más compactas, mientras que en el interior del líquido no tienen ordenación alguna.

La tensión superficial depende de varios factores, como p. e. la naturaleza del líquido, la temperatura y la presencia de sustancias disueltas. El agua pura tiene una tensión superficial relativamente grande (unas 72 dinas por centímetro lineal de superficie a 20°C contra el aire) la cual disminuye con el aumento de temperatura (a 100°C unas 59 dinas), llegando a cero en el punto de la temperatura crítica. El alcohol etílico tiene una tensión superficial de unas 22 dinas a 20°C; mezclas de agua y alcohol etílico tienen valores intermedios. Una disolución de un detergente en agua muestra valores generalmente entre 25 y 30 dinas. Las sustancias que tienen mayor atracción entre sí que para el agua tienden a acumularse en la superficie, como por ejemplo detergentes o aceite en agua. Esto tiene como consecuencia una reducción de la tensión superficial del agua con la sustancia disuelta en mayor proporción como debiera ser de acuerdo con la concentración total de la sustancia en la disolución. La disposición especial y las propiedades distintas de las partículas en las superficies tienen gran importancia para la vida, estando muchos procesos metabólicos relacionados con fenómenos superficiales ya que el protoplasma está constituido por una mezcla íntima de lípidos, grasas y otras sustancias en una disolución acuosa de proteínas.

Objetivo

La tensión superficial permite el ascenso de agua en un tubo capilar o su absorción en material poroso, la acción de jabones y detergentes, la formación de gotas, etc. En este experimento se estudiarán algunos de estos fenómenos tales como: la acción de compuestos orgánicos que son en parte polares (tienen un grupo hidrófilo como -OH, -COOH, -CHO, -SH, etc.) y en parte no polares (contienen también un grupo no polar, hidrófobo, como -CH₃, -CH₂CH₃, -C₆H₅, etc.) los cuales reducen la tensión superficial del agua; la extensión sobre la superficie de agua de películas monomoleculares de sustancias no miscibles con ésta; el tamaño de gotas en relación a la tensión superficial (la gota se cae cuando la gravedad vence a la tensión superficial).

Procedimiento y resultados

- A. Tome una cápsula de Petri y después de limpiarla bien llénela con agua limpia. Pase un alfiler o aguja varias veces por entre los dedos para engrasarla un poco. Con muchísimo cuidado coloque el alfiler en la superficie del agua. Si se hunde, repita el proceso, haciendo flotar el alfiler en un pedazo pequeño de papel periódico, el cual se hunde pronto dejando el alfiler a flote; o use unas pinzas finas.

Con el alfiler flotando efectúe los siguientes experimentos:

1. Añada poco a poco alcohol etílico de 95% al agua y observe.
 2. Después de lavar cuidadosamente la cápsula, haga flotar otra vez el alfiler sobre agua. Toque el agua a unos 5 a 8 mm del alfiler con un fósforo u otro palito de madera mojado con aceite.
 3. Después de lavar otra vez muy bien la cápsula repita la operación agregando esta vez, gota a gota, una disolución concentrada de un detergente en agua.
- B. Coloque un cristal grande de alcanfor en la superficie del agua en la cápsula de Petri, que previamente ha sido bien lavada.

Observe lo que sucede. Luego toque el agua cerca del cristal con el fósforo mojado con aceite.

- C. Llene una pipeta pequeña con agua y déjela vaciarse gota por gota. Cuente el número de gotas en 1 ml. Repita el procedimiento, usando esta vez alcohol etílico de 95% y luego una disolución de detergente en agua.

	Agua	Alcohol etílico	Agua con detergente
Nº de gotas por ml			

Discusión de los resultados:

¿Por qué detuvo el aceite el movimiento del alcanfor?

¿Por qué se mojan mejor las hojas al aplicar una disolución de un fungicida que contenga un detergente que sin éste?

¿Qué pasaría al colocar un pato en agua que contenga una cantidad regular de un detergente? ¿Por qué?

Experimento 10.

Fecha

ADSORCION**Introducción**

La tensión superficial se desarrolla en la superficie de cualquier líquido en contacto con un gas. Tensiones similares existen también en el límite (interfaz) entre dos líquidos o líquido y sólido. En tal caso se habla de tensión interfacial en lugar de superficial. Solamente cuando esta tensión no existe (valor 0), los líquidos son completamente miscibles.

Las sustancias que disminuyen la tensión superficial tienden a acumularse en la superficie de los líquidos, y aquellas que disminuyen la tensión interfacial tienden a acumularse en el límite entre los líquidos. Esta acumulación se denomina adsorción. La fuerza de adsorción o adhesión atrae partículas o moléculas desiguales, de diferente naturaleza. (La atracción mutua de partículas iguales se denomina cohesión.)

La adsorción existe no solamente en el límite entre dos líquidos, sino también p. e. en el límite entre líquido y sólido y gas y sólido. Un ejemplo del último sería la adsorción de ciertos gases en la superficie de carbón activado.

Un líquido moja a un sólido solamente si la fuerza de adsorción entre líquido y sólido es mayor que la fuerza de cohesión entre las moléculas del líquido. Las fuerzas responsables de la adhesión son en parte muy parecidas a las que determinan la cohesión entre partículas iguales. Frecuentemente son también de importancia las cargas electrostáticas o eléctricas en las superficies. La mayoría de los sólidos, como por ejemplo partículas de arena y de arcilla, o la celulosa y la pared celular, etc., al estar en contacto con agua presentan una carga negativa en su superficie. Por lo tanto, una sustancia que tenga una carga positiva, como el azul de metileno (catión), es fácilmente adsorbida por una sustancia con carga opuesta, como la celulosa. La eosina es una sal (eosinato de sodio) que tiene el fundamento colorante en el anión, por lo tanto tiene carga negativa. En consecuencia no es adsorbida por la celulosa por tener carga igual y pasa con el agua a través de papel de filtro. La celulosa sirve de este modo para separar estos dos colorantes de una mezcla, dándose a este principio el nombre de cromatografía, muy utilizada en bioquímica para la separación de muchos compuestos orgánicos en cantidades relativamente pequeñas, tales como azúcares, aminoácidos, pigmentos vegetales.

El fenómeno de adsorción es muy importante en la vida de las plantas. La mayor parte de los elementos minerales en el suelo está disponible en forma de cationes adsorbidos en la superficie de las partículas de arcilla y de la materia orgánica. El primer paso de su incorporación a la planta ocurre por adsorción en la superficie de las raicillas y pelos radicales. Dentro de cada célula existen también muchas superficies p. e. entre el protoplasma y la pared, entre el núcleo, los plastidios, los condriosomas, el vacúolo y el citoplasma, lo que permite acumulación de sustancias por adsorción.

Objetivo

Un buen ejemplo de adsorción es el descoloramiento de una disolución de un colorante por medio de carbón activado.

En caso de que exista una diferencia de carga, como p. e. entre el azul de metileno y la celulosa, la fuerza de adsorción puede ser muy grande. Esto se demuestra al tratar de lavar el colorante de la celulosa por medio de agua caliente.

La cromatografía sobre papel se demostrará sumergiendo una tira de papel de filtro con un extremo en una mezcla de dos colorantes de propiedades distintas.

Procedimiento y resultados

- A. Prepare una disolución de eosina al 0.1%. Tome 2 ml de ésta y añádalos a 100 ml de agua. Después de mezclar, divida la disolución en dos partes. A una parte agregue 0.5 g de carbón activado. Agítelo por unos 15 segundos y después filtre. Compare el color del filtrado con el de la otra mitad de la disolución.

	Disolución original	Filtrado
Color		

B. Prepare una disolución de azul de metileno al 0.1%. A 100 ml de agua agregue 2 ml de esa disolución y 2 ml de la de eosina (véase Parte A). Mezcle bien.

1. Sobre un embudo coloque dos papeles de filtro, uno encima de otro. Filtre parte de la mezcla; compare el color del filtrado con el color original. Observe también el color del papel de filtro.

	Disolución original	Filtrado	Papel de filtro
Color			

2. Vacíe el resto de la mezcla de los dos colorantes en un frasco alto y angosto. Corte una tira de papel de filtro de unos 5 cm de ancho y de unos 15 a 25 cm de largo (las medidas deben ajustarse al tamaño del frasco). Introduzca un extremo de la tira en la disolución, sin que toque las paredes del frasco. El otro extremo, fíjelo por doblamiento en la boca del frasco. Observe el ascenso del agua y de los colorantes. Cuando el agua ha subido de unos 5 a 10 cm, saque la tira del recipiente. Después de una nueva observación, lave el papel con agua caliente y anote cuál colorante se lava y cuál se adhiere fuertemente.

	Distribución de los colorantes:	
	Azul de metileno	Eosina
Posición en la tira con respecto al frente del agua		

¿Cuál colorante se lavó?

Discusión de los resultados:

¿Cuál es la explicación de que el filtrado tuviera un color distinto al de la mezcla original?

¿Cómo se llama el proceso que permite la separación de muchas sustancias en forma similar?

¿Qué se entiende por cromatografía de gases?

Capítulo IV

RELACIONES ENTRE LA PLANTA Y EL AGUA

Experimento 11.

Fecha

CAPACIDAD DE CAMPO Y PUNTO DE MARCHITEZ PERMANENTE

Introducción

La cantidad de agua en un suelo es muy variable. Inmediatamente después de una lluvia fuerte o de una irrigación su contenido es muy alto. En tal caso el agua llena la mayor parte del espacio poroso, el cual consiste de poros de forma irregular y de diferentes tamaños, desde grandes hasta muy pequeños (capilares). Gradualmente el exceso de agua se filtra hacia abajo por la fuerza gravitacional, uniéndose a la capa freática. La cantidad de agua que queda retenida en los poros finos después de la percolación, expresada como porcentaje del peso seco del suelo, se denomina capacidad de campo. La mayoría de los suelos tardan para llegar a su capacidad de campo desde pocas horas hasta uno o dos días después de la adición del agua, tiempo necesario para la filtración del exceso y el establecimiento del equilibrio capilar.

No es posible mantener uniforme el contenido de agua de un suelo a un nivel inferior al de la capacidad de campo por adición de ella. La lluvia o irrigación permiten solamente subir el contenido de agua hasta la capacidad de campo en determinado volumen de suelo, de acuerdo con la cantidad de agua agregada. Adiciones sucesivas no aumentan el contenido de agua en la parte previamente regada, sino que aumentarían proporcionalmente el volumen del suelo que alcanza la capacidad de campo.

La planta puede aprovechar fácilmente el agua del suelo cuando su contenido está en la capacidad de campo o cerca de este valor. Al secarse el suelo el agua desaparece primeramente de los capilares grandes y luego de los más finos. Esto da por resultado que el agua restante queda retenida cada vez con mayor fuerza, siéndole a la planta más y más difícil absorberla.

El primer síntoma que muestra una planta cuando no hay suficiente agua disponible es el marchitamiento, debido a la pérdida de turgencia de las células. El marchitamiento puede ser causado por varias razones; bajo condiciones de una transpiración excesiva las raíces quizás no sean capaces de absorber suficiente agua, o los vasos quizás no puedan transportarla con suficiente rapidez a las hojas, ocurriendo marchitamiento aun cuando el suelo tenga todavía mucha agua aprovechable. La planta pronto recuperará su turgencia cuando disminuya la intensidad de la transpiración. Este fenómeno, llamado marchitamiento "temporal" o "transitorio", se observa principalmente en los higrófitos cuando están expuestos a condiciones desfavorables.

El marchitamiento también ocurre cuando se agota el agua disponible del suelo, y en este caso es "permanente"; la planta no es capaz de recuperarse aunque esté en una atmósfera saturada de agua.

El punto crítico en el cual las plantas no pueden aprovechar más agua del suelo tiene lugar cuando ésta queda retenida con una fuerza de aproximadamente 15 a 16 atmósferas, siendo este valor casi igual para todas las plantas. El contenido de agua que queda en el suelo cuando la planta está marchita permanentemente, expresada como porcentaje del peso seco del suelo, se denomina punto de marchitez permanente o coeficiente de marchitez permanente. Al igual que con la capacidad de campo el valor del coeficiente de marchitez no es muy exacto, sino que más bien representa una zona transitoria. Suelos ricos en coloides, como las arcillas, retienen mayor cantidad de agua con una fuerza superior a 15 atmósferas que los suelos con pocos coloides debido a su mayor espacio capilar, producto de las innumerables partículas muy pequeñas.

La diferencia entre los valores de la capacidad de campo y de punto de marchitez permanente representa la cantidad de agua aprovechable por la planta, y el valor del punto de marchitez permanente la cantidad no aprovechable.

Objetivo

Puesto que la capacidad de campo depende tanto de la estructura del suelo como del perfil, lógicamente es imposible reproducir con exactitud las condiciones de campo al efectuar dicha determinación en suelo traído al laboratorio, pues al sacarlo del campo sus propiedades físicas sufren cambios profundos. Por lo tanto los valores obtenidos en este experimento son apenas aproximaciones, pero sin embargo permiten ciertas conclusiones al comparar entre sí distintos tipos de suelos.

Con los mismos suelos se efectuará también la determinación del punto de marchitez permanente por medio del cultivo de plantas, las cuales gradualmente extraen el agua disponible. Los resultados permiten apreciar claramente las diferentes cantidades de agua no aprovechable retenidas por los distintos tipos de suelo analizados.

Procedimiento y resultados

A. Capacidad de campo

Haga varias perforaciones con un clavo en los fondos de cuatro latas de tamaño apropiado. Llénelas después con los siguientes tipos de suelo:

1. Suelo arenoso
2. Suelo limoso
3. Suelo arcilloso
4. Suelo orgánico

Después de compactar los suelos (golpeando el fondo de las latas repetidas veces contra una superficie), agregue poco a poco suficiente agua a la superficie del suelo hasta que el agua apenas empiece a salir por las perforaciones del fondo. Tape las latas y déjelas reposar unos dos días sobre papel absorbente.

Luego saque de cada lata una muestra de 50 a 100 g de la capa superficial del suelo. Ponga cada muestra en una bolsa de papel previamente pesada, tome el peso exacto con el suelo mojado y después seque los suelos en una estufa a 105°C durante un día. Después de enfriarlos, vuelva a pesar.

Tipo de suelo	Peso de la bolsa	Peso del suelo				Capacidad de campo
		húmedo		seco		
		con bolsa	sin bolsa	con bolsa	sin bolsa	
1. Arenoso						
2. Limoso						
3. Arcilloso						
4. Orgánico						

Discusión de los resultados:

B. Punto de marchitez permanente

Con cada suelo usado anteriormente llene una bolsa de polietileno hasta un poco más de la mitad. Arrolle los bordes de las bolsas para formar macetas y después de regar bien, siembre dos o tres semillas o plantitas de maíz (semillas germinadas) juntas en el centro de cada bolsa. Continúe regando hasta que las plantitas hayan alcanzado una altura de unos 10 cm. Espere unos días más y luego cierre la boca de la bolsa alrededor de los tallitos y manténgala así con una banda de goma o con un hilo. Tenga cuidado de no apretar demasiado los tallitos.

Tan pronto como las plantas estén bien marchitas, aun en una atmósfera saturada de agua, sáquelas de cada bolsa con todas sus raíces. Después de introducir una muestra representativa (50 a 100 g) de suelo de cada bolsa plástica en una bolsa de papel previamente pesada, determine el peso húmedo del suelo. Proceda a tomar el peso seco en igual forma como se hizo al determinar la capacidad de campo.

Tipo de suelo	Peso de la bolsa	Peso del suelo				Punto de marchitez permanente	Cantidad de agua aprovechable como % del total
		húmedo		seco			
		con bolsa	sin bolsa	con bolsa	sin bolsa		
1. Arenoso							
2. Limoso							
3. Arcilloso							
4. Orgánico							

Discusión de los resultados:

¿Qué importancia tiene la determinación de la capacidad de campo en la irrigación de los suelos?

¿Por qué se marchitan las hojas viejas más rápidamente?

Si alguien le diera a usted un recipiente con una planta marchita, ¿cómo podría usted averiguar si la marchitez es transitoria o permanente?

Experimento 12.

Fecha

PRESION RADICAL Y GUTACION**Introducción**

Con pocas excepciones las plantas obtienen su provisión de agua del suelo, absorbiéndola principalmente en la región en que se encuentran los pelos radicales de las raicillas. Existen dos tipos distintos de absorción de agua, pasiva y activa, siendo la última de mucho menor importancia en lo que se refiere a la cantidad total de agua absorbida.

La absorción pasiva se debe fundamentalmente a la transpiración. Conforme la planta pierde agua aumenta el déficit de presión de difusión en las células de las hojas (mesofilo). Este déficit se traduce en una tensión sobre la columna de agua de los vasos (xilema) y se extiende hasta las células de las raíces. Cuando en estas células el déficit de presión de difusión es mayor que el del suelo, entra agua en dichas células, las cuales realmente sólo desempeñan una función auxiliar o pasiva. Debido a la tensión en el sistema, el agua finalmente llega hasta las hojas; la tensión puede alcanzar fácilmente valores hasta de unas 15 a 16 atmósferas (punto de marchitez permanente).

La absorción activa se debe a fenómenos de osmosis. El jugo celular de los pelos absorbentes tiene normalmente una concentración osmótica mayor que la solución del suelo (solución edáfica), por lo tanto los pelos tienen la posibilidad de absorber agua hasta ponerse turgentes. En la raíz existe un gradiente de concentración osmótica de los jugos celulares en las diferentes capas de la corteza; su valor aumenta gradualmente hasta llegar a las células más internas (endodermis). Gracias a este gradiente el agua se difunde de célula a célula hasta llegar al cilindro central. Por un mecanismo desconocido entra luego a los vasos del xilema bajo cierta presión, llamada presión radical, la cual raras veces excede valores de 1 a 2 atmósferas, y puede no existir del todo en algunas especies de plantas.

Si las condiciones son desfavorables para la transpiración, no hay absorción pasiva de agua, pero la absorción activa puede continuar. La presión que se forma en el xilema puede resultar en una pérdida de agua de la planta cuando ésta tiene poros llamados hidatodos, situados principalmente en los ápices y dientes del borde de las hojas. Esta pérdida de agua líquida de una planta intacta se llama gutación. Realmente no se trata de agua pura sino de una disolución muy diluida de sales, aminoácidos, azúcares, etc. Las condiciones que estimulan la absorción activa del agua, como alta temperatura del suelo, amplia disponibilidad de agua, transpiración reducida por alta humedad relativa, etc. también favorecen la gutación.

Artificialmente es posible producir gutación en la parte aérea de las plantas en que normalmente ocurre ese fenómeno. Para ello, después de separar el vástago de las raíces, se obliga la entrada de agua en el tallo a una presión que simula la presión radical.

Si se corta el tallo o tronco de una planta cerca de la base, con frecuencia se nota después de corto tiempo una exudación, debida a la presión radical. La aparición del exudado se nota con mayor intensidad y prontitud si la planta no estaba transpirando muy activamente antes de cortarla. De otro modo, la tensión que existió en el xilema hasta podría producir un efecto contrario y el tocón absorbería un líquido que se vertiera sobre él. Conviene mencionar que no todas las plantas presentan exudación, pues en algunas especies no hay presión radical aparente.

Objetivo

La exudación puede demostrarse cortando el tallo de una planta. La cantidad de líquido exudado puede medirse, por unidad de tiempo, recogiendo en una probeta graduada.

La presión radical puede medirse conectando un manómetro al tocón. Al efectuar esta medida debe considerarse que existen varios factores que influyen en la presión desarrollada. La falta del vástago como fuente de sustancias orgánicas puede ser la causa de que la presión cese tarde o temprano, pues siendo un proceso activo, consume energía.

En la segunda parte del experimento se observará la gutación y la importancia de algunos factores ambientales que afectan este fenómeno. Entre estos factores se incluirá la disponibilidad de agua en el suelo, la temperatura del suelo y la importancia de la concentración osmótica de la solución edáfica.

Procedimiento y resultados

A. Demostración de la exudación

Tome una planta apropiada, cultivada en una maceta, y corte el vástago aproximadamente a 5 cm sobre el nivel del suelo. Por medio de un tubo de goma conecte el tocón con un tubo "T" de vidrio en tal forma que el brazo lateral del tubo "T" quede en posición horizontal. Sobre el brazo vertical coloque un pedazo de tubo de goma con una prensa de tornillo. (La Figura 3 ilustra este arreglo). Llene el tubo "T" con agua y cierre la prensa. Debajo del brazo lateral coloque un pequeño recipiente de vidrio, preferiblemente con graduación. Riegue la maceta liberalmente una vez. Haga observaciones diarias siempre a la misma hora para estimar la cantidad de savia exudada.

	D í a s:							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Exudado en ml								

B. Medición de la presión radical

En igual forma que en la Parte A, fije un tubo "T" a otra planta. Después de llenarlo con agua, conecte el brazo lateral con un manómetro (véase Figura 3). Ajuste el mercurio del manómetro a la marca O. Para facilitar la lectura puede usarse una tira de papel milimetrado colocada sobre la tabla de sostén. Al iniciar el experimento riegue la maceta abundantemente con agua una vez y observe el ascenso del mercurio al final de los siguientes períodos:

	2 horas	6 horas	12 horas	1 día	2 días	4 días	8 días
Altura del mercurio en cm							

Discusión de los resultados:

C. Gutación y algunos factores que la afectan

Tome cuatro macetas con plantitas de maíz de unos 10 cm de altura. En una de las macetas el suelo debe estar bien seco. Riegue las demás macetas muy abundantemente según las indicaciones siguientes:

1. Con agua de grifo tibia (35° a 40°C).
2. Con agua de grifo helada (0°C).
3. Primeramente con agua tibia y después de aparecer la gutación, con una disolución de sales al 20% (NaCl al 10% y KNO_3 al 10%).

Cubra cada maceta con un frasco de vidrio invertido y observe. Si fuera necesario repita los tratamientos después de un rato. De ser posible cuente las gotas durante cierto período de tiempo como medida de la intensidad de la gutación en los diferentes tratamientos. Preste especial atención a lo que sucede con las gotitas gutadas que permanecieron sobre los hidatodos en el tratamiento 3.

Anotación de observaciones:

	Tratamientos:			
	Seco	Con agua tibia	Con agua fría	Con disolución de sales
Gotas/ minuto				

Discusión de los resultados:

Si hubo cambio en el manómetro después de secarse la maceta, ¿cómo lo explica? ¿Qué pasaría si se regara la maceta con una sustancia muy tóxica como alcohol? ¿Con una disolución de NaCl y KNO_3 al 10%? ¿Por qué es necesario usar en este caso una mezcla de sales con preferencia a una disolución de una sal simple?

¿En qué ambiente ecológico cree usted que la gutación es ventajosa para la planta?

¿Qué haría usted para estimular la gutación de una planta en el campo?

Experimento 13.

Fecha

CONDUCCION DEL AGUA**Introducción**

La cantidad de agua perdida por transpiración es muy variable. Bajo condiciones favorables una planta puede transpirar varias veces su contenido total de agua en pocas horas, lo que significa que el agua perdida a través de los órganos de transpiración debe ser reemplazada rápidamente. En consecuencia existe un movimiento de agua a través de la planta, inducido principalmente por la transpiración, tal como se explicó en el experimento anterior.

La cantidad de agua transportada y la velocidad con la cual se efectúa el transporte dependen de varios factores externos e internos (propios de la planta). El más importante de los factores internos es la estructura anatómica. No todos los tejidos de un tallo o tronco participan en la conducción del agua. Se puede demostrar que el agua circula principalmente por ciertas células muertas especializadas, que constituyen los vasos (tráqueas y traqueidas) del xilema de los haces conductores. En plantas con vasos grandes la velocidad del ascenso puede alcanzar valores hasta de 40 m por hora y aún mayores, mientras que en otras con poros difusos (vasos uniformes y pequeños), la velocidad máxima es a veces apenas una fracción de ese valor.

Varias teorías tratan de explicar el ascenso del agua (mejor sería decir savia bruta, pues no se trata de agua pura sino de una disolución de muchas sustancias orgánicas e inorgánicas) en las plantas. Como la presión radical alcanza por lo general solamente una o dos atmósferas, esto permitiría elevar una columna de agua a una altura máxima de 20 m. Tomando en cuenta también la resistencia que ofrecen los vasos de tamaño capilar al movimiento del agua, ese valor se reduce más aún. Debe recordarse que muchas plantas, como las coníferas, no presentan presión radical medible. Por esa razón la presión radical no puede ser considerada como la única fuerza elevadora del agua.

En el transcurso de la transpiración las células parenquimatosas de la hoja pierden agua en forma de vapor a los espacios intercelulares, el cual luego se difunde a través de los estomas hacia la atmósfera. La pérdida de agua origina un aumento en la concentración osmótica y por lo tanto de la fuerza de succión; como consecuencia esas células absorben agua de los vasos adyacentes debido al déficit de presión de difusión. El sistema vascular, que representa una columna de agua continua desde la raíz hasta las hojas, queda en esta forma bajo tensión, lo que resulta en un movimiento de agua desde las raíces hasta las hojas.

La fuerza de cohesión del agua, que excede de 350 atmósferas, es lo suficientemente grande para resistir la tensión desarrollada. Como las paredes celulares están siempre embebidas de agua, y los vasos se hallan a su vez rodeados por células parenquimatosas vivas, la entrada de aire a dichos vasos es casi imposible, manteniéndose por lo tanto la cohesión del agua. Por eso se dice que esta forma de ascenso del agua se debe a la cohesión, y que la fuerza impulsora del proceso es la transpiración, siendo el sol en última instancia la fuente de energía necesaria.

Objetivo

Sumergiendo en agua una rama con la parte leñosa (xilema) cubierta con parafina u otra sustancia impermeable al agua, se nota que las hojas se marchitan, aunque la corteza (floema) se mantenga descubierta. Por otra parte, si se cubre solamente la corteza, no ocurre tal marchitamiento. En esa forma queda comprobada la importancia de las partes xilemática y floemática de los haces conductores en la conducción del agua.

Otra forma de comprobación sería introduciendo una rama o tallo en agua teñida con un colorante. Si se corta el tallo al cabo de cierto tiempo se observará que se han coloreado principalmente los vasos del xilema. Este experimento también permite estudiar la velocidad aproximada del ascenso del agua en la planta.

En la segunda parte se demostrará la importancia de la transpiración en la conducción del agua. Si se conecta una rama por medio de un tubo de vidrio largo a un recipiente con agua, la transpiración causa el ascenso del agua en el tubo. Se puede comprobar que la fuerza elevadora es realmente de carácter físico, y no debida a las células parenquimatosas vivas, pues una superficie porosa embebida con agua también puede causar el ascenso del agua en el tubo, en igual forma como ocurre en la rama viva.

Procedimiento y resultados

A. Tejidos conductores de agua

1. Corte dos ramas leñosas de un árbol o arbusto bajo agua. Con mucho cuidado sin lastimar la madera, remueva unos 2 ó 3 cm de corteza de una de las ramas. Después de secarla rápidamente con papel absorbente, sumerja la parte leñosa expuesta en parafina derretida que no esté muy caliente (Figura 4 A). Tenga cuidado de no cubrir el corte de la corteza. Introduzca la base de la rama, preparada de esa manera, en un recipiente con agua.

En la misma forma quite la corteza del extremo de otra rama, séquela y vierta parafina derretida sobre la parte descubierta (Figura 4 B). En caso de que se haya cubierto accidentalmente el corte en la base de la parte leñosa, recorte ésta de manera que el xilema quede expuesto nuevamente. Sumerja también esta rama en agua y después de unos días observe cuál se marchitó.

Discusión de los resultados:

2. Prepare 100 ml de una disolución de fucsina ácida al 0.5% en agua. Obtenga una planta herbácea, preferiblemente con tallo translúcido y con flores blancas. Corte el tallo justamente sobre el punto de la inserción de las raíces, manteniendo todo el tiempo el tallo de la planta sumergido en agua. Introdúzcalo luego rápidamente en la disolución coloreada. Observe el ascenso del agua y anote el tiempo transcurrido hasta cuando el colorante llegue a las flores o al ápice. Después corte el tallo en varios lugares y examine con un lente de aumento o con un microscopio cuáles de los tejidos se colorearon.

Discusión de los resultados:

B. Transpiración como fuerza impulsora del agua en la planta

1. En un Erlenmeyer hierva agua durante unos minutos. Déjela enfriar tapando la boca con un vaso de precipitación invertido. Este proceso expulsa el aire y otros gases disueltos.

Corte una rama leñosa de un arbusto o árbol bajo agua hervida para evitar la entrada de aire en los vasos. Dejando el corte constantemente bien mojado, amarre un pedazo de tubo de goma a la rama. Inviértala y llene este tubo inmediatamente con agua hervida. Llene también un tubo de vidrio, de pared gruesa, con agua hervida, usando como "tapón" provisional un pedazo de tubo de goma con una prensa (véase Figura 5 A). Llene un recipiente pequeño con agua hervida. Conecte el tubo de vidrio con el tubo de goma fijado en la rama, quitando al mismo tiempo el "tapón" del otro extremo. Introduzca el lado libre del tubo de vidrio en el recipiente. En caso de que haya entrado alguna burbuja de aire, repita el procedimiento. Fije la rama en posición vertical con una prensa y un soporte. Finalmente llene el recipiente más o menos hasta la mitad con mercurio limpio (Figura 5 B).

2. Llene una palangana pequeña, pero honda, de plástico flexible, con una pasta muy suave de yeso. Golpee la palangana varias veces contra la superficie de la mesa para eliminar cualquier burbuja de aire que pueda haber. Introduzca la boca de un embudo pequeño de vidrio en la pasta antes de solidificarse, sumergiendo el borde unos 2 a 3 cm en el yeso, pero teniendo cuidado de no acercarlo demasiado al fondo de la palangana. Deje endurecer bien el yeso durante unas horas. Después saque el yeso del molde y conecte el tubo del embudo por medio de un tubo de goma a una trompa (aspirador) o a una bomba de vacío. No olvide incluir en el último caso un frasco grande, sin nada, que sirve de trampa para evitar la entrada de agua a la bomba. Sumerja el yeso en agua hervida y aspire hasta que el yeso esté completamente impregnado de agua y ésta aparezca en el embudo. Llene el embudo completamente con agua hervida; conéctelo por medio de un tubo de goma con un tubo largo de vidrio, previamente llenado con agua en igual forma como se hizo en el caso de la rama (Figura 5 C). Si alguna burbuja entra en el sistema repita el proceso. Observe y compare el ascenso del mercurio en las dos preparaciones. Si al comienzo la velocidad del ascenso no es grande, exponga la rama y el yeso a la corriente de aire de un ventilador.

Discusión de los resultados:

¿Por qué no es aconsejable el uso de un colorante básico, como azul de metileno, en este experimento?

¿Por qué las flores marchitas se recuperan mejor recortando los tallos debajo de agua, que cortándolos en el aire y sumergiéndolos inmediatamente después en agua?

Mencione razones por las cuales en este experimento no se puede lograr un ascenso de agua tan grande como en un árbol.

TEJIDOS PROTECTORES DE LAS PLANTAS

Introducción

El agua es sumamente importante para la vida de las plantas, porque sus células solamente en estado de completa o casi completa saturación pueden llevar a cabo las funciones normales de metabolismo.

Por lo general el aire no está saturado de agua, es decir, su humedad relativa es menor del 100%. Con sólo un pequeño déficit de humedad en el aire las células de una planta necesitarían una fuerza bastante grande (alto valor o concentración osmótica) para poder retener el agua, tan importante para su vida. Pocas plantas terrestres, entre ellas algunas algas y líquenes y varios musgos y helechos, pueden resistir una sequía fuerte. En estado de desecación estas plantas son capaces de mantener las funciones vitales, aunque en proporciones muy reducidas. Luego, tan pronto como disponen de suficiente agua, se hinchan y reanudan las funciones normales de metabolismo. Estos cambios pueden repetirse rítmicamente sin causarles daño. En las demás plantas las células no resisten desecación, haciéndose necesario protegerlas en alguna forma.

Las plantas terrestres han sufrido diversas adaptaciones para reducir la pérdida de agua. En una planta herbácea todas las partes expuestas al aire están cubiertas por una capa fina e impermeable, llamada cutícula. Por razón de su alto contenido de cutina, sustancia grasa similar a la suberina del corcho, se reduce considerablemente el paso del agua desde las células epidermales hacia la atmósfera. Además, la presencia de cera, pelos, etc., también ayuda a la planta a reducir aún más la pérdida de agua.

Con pocas excepciones la epidermis no puede seguir el crecimiento en grosor de los tallos, troncos, ramas o tubérculos, y en su lugar, debajo de la epidermis o a partir de ésta, se desarrolla otro tejido superficial: el corcho (súber). Este tejido está formado por células suberizadas (sus paredes están incrustadas con suberina), impermeables al agua, dando una protección muy eficaz contra la pérdida de ésta.

Objetivo

En este experimento se estudiará la importancia, tanto de la cutícula como del corcho, en la reducción de la pérdida de agua. El grosor de la cutícula varía con la especie y también de acuerdo con las condiciones ambientales, y hasta de hoja a hoja de la misma planta; en hojas al sol la cutícula es más gruesa que en las hojas sombreadas. Por lo tanto, es de esperar que plantas acuáticas (hidrófitos) y plantas de ambiente muy húmedo (higrófitos), que tienen una cutícula muy delgada, tengan menos protección y pierdan más agua que las plantas de clima seco (xerófitos), que tienen una cutícula gruesa e impregnada con ceras.

El corcho es un tejido sumamente eficaz para reducir la pérdida de agua por estar constituido de varias capas de células impermeables; pero como se verá más adelante, no puede impedir del todo la pérdida, porque está interrumpido por poros (lenticelas) que permiten cierto intercambio de gases.

Procedimiento y resultados

- A. Tome una rama (u hojas) de una planta acuática. Séquela cuidadosamente con papel absorbente y pésela inmediatamente. Pese también unas hojas recién separadas de un higrófito, mesófito y xerófito. Ponga todas las hojas a secar sobre un cedazo en un lugar fresco y seco. Repita las pesadas según el plan siguiente, calculando la pérdida de agua como porcentaje del peso fresco.

Material	Peso inicial (g)	%	Peso (g) después de:									
			1 hr.	%	2 hrs.	%	6 hrs.	%	12 hrs.	%	24 hrs.	%
Planta acuática		100										
Hojas de higrófito		100										
Hojas de mesófito		100										
Hojas de xerófito		100										

Discusión de los resultados:

- B. Tome unas diez hojas de una planta suculenta y quite la epidermis junto con la cutícula a cinco de estas hojas usando para ello unas pinzas finas; inmediatamente pese los dos grupos y colóquelos sobre un cedazo en un lugar seco. Repita las pesadas según el plan propuesto a continuación.

Quite la cáscara de una papa pequeña y pésela. Para fines comparativos pese otra papa de un tamaño parecido. Vuelva a pesarlas según los intervalos indicados y calcule la pérdida de agua de cada una. Exprese también los resultados como porcentaje del peso inicial.

Material	Peso inicial (g)	%	Peso (g) después de:							
			1 día	%	2 días	%	4 días	%	6 días	%
Hojas intactas		100								
Hojas sin cutícula		100								
Papa intacta		100								
Papa sin cáscara		100								

Discusión de los resultados:

¿Por qué se secó la planta acuática tan rápidamente?

En el presente experimento, ¿cuál tejido, cutícula o corcho, ha sido un protector más eficaz contra la pérdida de agua? Cite los datos como prueba.

¿Por qué no se seca la papa pelada completamente? Obsérvela muy bien antes de dar una explicación. De ser posible, al finalizar el experimento, haga un corte a través de la nueva superficie y examine al microscopio.

Experimento 15.

Fecha

ESTOMAS Y TRANSPIRACION**Introducción**

Transpiración es la evaporación o pérdida de agua en forma de vapor de una planta viva. Como las hojas son los órganos que más transpiran en comparación con el resto de la planta, la transpiración foliar es la más importante. Existen dos formas de transpiración foliar: cuticular y estomática.

Generalmente la pérdida de agua por la cutícula es muy inferior a la pérdida a través de los estomas. La pérdida por la cutícula no es regulable y depende del grosor y de la composición de ésta. En hojas de una estructura xerófitica, que tienen una cutícula muy gruesa y a veces cubierta de cera, la transpiración cuticular frecuentemente no representa ni el 1% del agua perdida por los estomas.

La transpiración estomática puede ser regulada por medio de los estomas, los cuales se cierran cuando hay un déficit apreciable de agua en la planta. Es influenciada por varios factores, tanto propios de la planta como ambientales. Las plantas adaptadas a un ambiente seco (xerófitos) tienen con frecuencia los estomas hundidos en la epidermis o agrupados en cavidades en la hoja, la cual a veces tiene además una densa cobertura pilosa. Todos estos factores tienden a disminuir considerablemente la pérdida del agua.

Por el contrario, las plantas que viven en un ambiente continuamente húmedo (higrófitos) tienen adaptaciones tales como estomas elevados, pelos y emergencias vivas, que favorecen la transpiración.

El número de estomas por unidad de superficie de la hoja varía según la especie y las condiciones ambientales bajo las cuales se desarrolló la planta. Existen plantas con estomas solamente en la cara superior de la hoja (hojas epistomáticas), como algunas plantas acuáticas (hidrófitos) que tienen hojas flotantes (*Nymphaea*); otras tienen estomas en ambos lados de la hoja (anfistomáticas). Sin embargo, son más numerosas las plantas que tienen mayor número o todos sus estomas (hipostomáticas) en el envés de las hojas (cara inferior).

Por lo general el área de los poros de todos los estomas no excede del 1% o 2% de la superficie total de la hoja. A pesar de esto, una hoja puede transpirar casi tanta agua como la que se evaporaría de una superficie de agua igual a la de la hoja. Este fenómeno se debe a la difusión a través de orificios pequeños. La cantidad de una sustancia que se difunde por un orificio es esencialmente proporcional al perímetro de éste y no a su superficie. Esto se explica en la forma siguiente: atravesado el orificio, las moléculas se dispersan hacia todos los lados en forma de un hemisferio, debido a que su concentración es mayor directamente sobre el poro y menor hacia afuera del borde. Por eso el número de moléculas que escapan por el orificio cerca del borde es mayor como también su velocidad. En poros pequeños la proporción de partículas que se difunden hacia los lados es grande en comparación con el total, mientras que en poros grandes resulta muy reducida, con una disminución proporcional de la intensidad de difusión. Al aumentar el número de estomas por unidad de superficie aumenta también la transpiración hasta alcanzar un punto en el cual la interferencia de los estomas vecinos se hace tan grande, que no permite un aumento apreciable de la cantidad de agua transpirada, aunque aumente el número de estomas.

Objetivo

Usando un colorante fuerte que se difunde en gelatina a través de un pequeño orificio, se puede demostrar la forma hemisférica en que se difunden las partículas a través de los poros. Si existen varios orificios pequeños separados por una distancia corta, se nota que la cantidad de colorante difundida es relativamente grande, y no muy inferior a la que podría difundirse a través de un solo orificio grande.

Para comparar la transpiración de hojas con la evaporación de una superficie igual de agua se corta una hoja y su pecíolo se inserta en un recipiente con agua. Se mide la cantidad de agua perdida por transpiración y la evaporada en otro recipiente con la superficie de agua expuesta. En el caso del recipiente con la hoja hay que tomar precauciones para impedir la evaporación del agua en que está sumergida.

Cuando el agua es abundante los estomas están abiertos en presencia de la luz y cerrados en la oscuridad. Sin embargo, una hoja expuesta a la radiación solar intensa en un día caluroso tiene frecuentemente los estomas cerrados por el déficit de agua. Este hecho puede comprobarse por medio de la estimación com-

parativa de la transpiración, basada en el método del papel impregnado con cloruro de cobalto. La sal, completamente seca, es de color azul. Como es muy higroscópica absorbe agua rápidamente, cambiando su color a rosado; la velocidad del cambio es proporcional a la cantidad de agua absorbida.

Cuando se trata de una planta que tiene todos los estomas en el envés de las hojas, este método también permite sacar conclusiones sobre la magnitud de la transpiración cuticular en la pérdida total de agua.

El grado de apertura de los estomas puede estimarse por medio de la penetrabilidad de líquidos de diferente viscosidad.

Procedimiento y resultados

A. Difusión a través de orificios

Prepare medio litro de una disolución de gelatina al 5%. Antes de que se solidifique, agregue un poco de timol para su preservación. Distribuya la gelatina en dos recipientes apropiados. Cuando sus contenidos estén firmes, corte dos discos de una lámina plástica delgada; el diámetro de los discos debe ser unos pocos centímetros mayor que el de los recipientes. Inserte los discos en el recipiente hasta llegar a la superficie de la gelatina, eliminando cualquier burbuja que quede debajo. La parte sobresaliente del plástico se dobla de manera que quede pegada a la pared del recipiente, formándose así un recipiente dentro de otro (Figura 6).

Por medio de un estilete o aguja perfora el centro del disco plástico en uno de los recipientes. En el otro disco haga una serie de perforaciones a una distancia aproximada de 1.5 cm entre ellas, en línea recta. Tenga cuidado de no perforar los huecos a mayor profundidad de 1 mm.

Prepare 100 ml de una disolución de fucsina ácida al 0.5%. Vierta una cantidad suficiente de ésta en cada recipiente hasta cubrir por completo los discos plásticos. Tenga cuidado de que el colorante no penetre entre el plástico y la gelatina o por entre el plástico y la pared del recipiente. Tape los recipientes con papel de aluminio o con un pedazo de plástico para impedir la evaporación.

Espere hasta que la distancia recorrida por el colorante en la gelatina sea de unos 3 cm. Con mucho cuidado remueva el disco plástico perforado después de quitar la disolución del colorante. Caliente las paredes de los recipientes rápidamente sobre una llama hasta que sus contenidos salgan fácilmente al volcarlos sobre un papel, al igual que un pudín. Corte el primer bloque de gelatina exactamente en el punto en el cual se inició la difusión y el segundo en dirección de la serie de huecos.

Represente en forma gráfica los dos aspectos de la difusión:

B. Transpiración en comparación con la evaporación

Tome cinco vasos con una capacidad de 50 ml. Llénelos con agua hasta 2 o 3 cm más abajo del borde y aplique los siguientes tratamientos:

1. Sin tratamiento, superficie de agua libre.
2. Cubra la superficie de agua con una capa delgada de aceite mineral.
3. Cubra el vaso con algodón, sin que éste entre en contacto con el agua.
4. Inserte el pecíolo de una hoja en el agua y después cubra la superficie del agua con aceite mineral. (La hoja debe haber sido cortada debajo de agua y haber permanecido en ésta).
5. Repita el tratamiento 4, pero con anterioridad cubra cuidadosamente ambas caras de la hoja con vaselina.

Pese los recipientes y déjelos en un lugar que tenga buena iluminación. Determine aproximadamente la superficie del agua y de las hojas. Después de los intervalos indicados, pese nuevamente.

Tratamiento N°	Peso inicial (g)	Peso (g) después de 2 días	Superficie cm ²	Pérdida de agua en g/cm ²
1				
2				
3				
4				
5				

Discusión de los resultados:

C. Importancia de los estomas en la transpiración *

Escoja y señale en un arbusto o árbol pequeño hojas bajo las siguientes condiciones:

1. En sombra intensa
2. Bajo poca sombra
3. Expuestas a la luz del cielo, sin iluminación directa por el sol
4. Expuestas a pleno sol

a. Estimación de la transpiración

Sin quitar las hojas de la planta, saque del frasco correspondiente dos papeles impregnados con cloruro de cobalto, bien azules, y coloque los papeles lo más rápidamente posible contra ambas caras de la primera hoja escogida; cúbralos inmediatamente con vidrios de igual tamaño, los cuales se fijan por medio de prensas de ropa (Figura 7). No olvide tapar el frasco inmediatamente cada vez que se saquen papeles. Repita el proceso con las demás hojas, anotando la hora exacta en que se colocaron los papeles en cada una. Observe las hojas a menudo para determinar el tiempo necesario para que el papel cambie su color a rosado.

En caso de que se haya usado una planta hipostomática, el cambio debe de ocurrir primeramente en el envés de la hoja. Trate de medir el tiempo necesario para que el papel en contacto con el haz de la hoja cambie su color a causa de la transpiración cuticular. Debido a la humedad del aire que penetra entre los vidrios ocurre un cambio gradual que empieza desde el margen del papel.

Determine la distribución de los estomas en la hoja en la manera siguiente: vierta unas gotas de una disolución de colodión en ambas caras. Después de que se haya secado bien, quite la película formada y examine la distribución de los estomas bajo un microscopio. Aunque con cierta limitación, este método permite también medir el grado de la apertura de los estomas.

b. Estimación de la apertura de los estomas

Después de haber obtenido los datos necesarios, quite los vidrios y papeles de las hojas. En las mismas hojas o en otras de iguales posiciones con respecto a la luz que reciben, estime en forma relativa la apertura de los estomas. Para ese fin coloque con un gotero unas gotas de Nujol puro, primero en el haz, y luego en el envés de la misma hoja, en un punto diferente del tratado en el haz. Si no hay infiltración, la cual es fácilmente apreciable por el cambio del color del parénquima de la hoja a un verde más intenso en el área infiltrada, siga probando las mezclas una por una en orden decreciente de concentración del aceite, hasta llegar al xilol puro.

Posición de la hoja	Tiempo necesario para producir el cambio del papel de cobalto		Líquido o mezcla que penetró	
	en el haz	en el envés	en el haz	en el envés
1.				
2.				
3.				
4.				

* Nota: Este experimento sólo se puede llevar a cabo en un día de buen tiempo; la superficie de las hojas debe estar completamente seca.

Observaciones de la película formada por el colodión

Discusión de los resultados:

¿Podría usted citar una combinación de factores climáticos bajo los cuales las hojas en otra posición (¿cuál?) hubieran mostrado transpiración máxima?

¿Cuál es el mecanismo responsable del movimiento estomático?

¿Cómo se explica el efecto del algodón sobre la evaporación del agua?

¿Qué analogía tiene este experimento con una hoja densamente cubierta de pelos (hoja lanuda)?

ALGUNOS FACTORES QUE INFLUYEN EN LA TRANSPIRACION

Introducción

Además de la apertura de los estomas existen otros factores, principalmente ambientales, que influyen en la intensidad de la transpiración. Dichos factores son muy variables, siendo predominantemente gobernados por la radiación solar.

Con los demás factores constantes, la intensidad de la transpiración depende de la diferencia de presión del vapor de agua entre el interior de las hojas y en la atmósfera. Entre más pronunciada sea la gradiente, mayor será la pérdida de agua.

Ordinariamente el aumento simultáneo de la temperatura de la hoja y del aire incrementa considerablemente la transpiración. Esto se explica porque estando la hoja siempre saturada de agua, al subir la temperatura la presión del vapor se eleva considerablemente en ella, mientras que su presión en el aire sólo tiene un pequeño aumento. La mayor diferencia de presión de vapor de agua origina una transpiración elevada. Lo anterior explica también por qué una hoja calentada por la absorción de radiación solar puede transpirar aun cuando el aire tenga una humedad relativa de 100%.

Si no existiera ningún movimiento del aire, el agua transpirada saturaría poco a poco la atmósfera alrededor de las hojas, lo que necesariamente reduciría la intensidad de transpiración. Sin embargo, cualquier aumento pequeño de la temperatura de la hoja por absorción de radiación solar provoca una corriente de convección, la cual reemplaza el aire saturado de las inmediaciones de las hojas. El viento es aun más eficaz en la remoción constante de las capas de aire saturadas alrededor de los órganos aéreos, contribuyendo de esa manera a una mayor transpiración.

Objetivo

En este experimento se estudiará la influencia de dos factores ambientales importantes, la temperatura de la hoja en relación con la del aire, y el efecto de una corriente de aire, así como la combinación de ambos. Para medir la transpiración se utilizará un potómetro. El movimiento de una burbuja a través del tubo capilar del potómetro indica la velocidad de la transpiración (realmente la absorción) de agua de una rama cortada.

Procedimiento y resultados

Corte una rama leñosa debajo de agua hervida y enfriada. Sin dañar la corteza, introduzca su base en uno de los agujeros abiertos en el tapón de goma del frasco; en el otro agujero se inserta un tubo capilar (Figura 8). Sumerja el otro extremo del tubo capilar del potómetro en un recipiente con agua y manteniéndolo sumergido tape el frasco previamente llenado por completo con agua hervida con el tapón con la rama, de manera que no quede ninguna burbuja en el sistema (véase Figura 8). Deje el potómetro preparado en un lugar fresco, bien iluminado.

Después de unos diez a quince minutos saque del recipiente con agua el extremo del tubo capilar y espere hasta que se haya formado una pequeña burbuja en el tubo; después sumérjalo de nuevo.

1. Mida la distancia recorrida por la burbuja en un intervalo apropiado (testigo).
2. Exponga la rama a una corriente de aire (ventilador).
3. Ilumine la rama con un bombillo que emita mucha radiación infraroja (a suficiente distancia para no causar daño a las hojas por exceso de calor). Mida la transpiración en igual forma.
4. Como último tratamiento combine iluminación y ventilación. No olvide esperar de cinco a diez minutos después de someter la rama a un nuevo tratamiento para darle suficiente tiempo de adaptarse a las nuevas condiciones. Expresé la velocidad de la burbuja en milímetros por minuto.

Tratamiento	Tiempo	Velocidad mm/min.	Comparación con el testigo
1. Testigo			100%
2. Ventilación			
3. Iluminación			
4. Iluminación y ventilación			

Discusión de los resultados:

¿Afecta el viento la humedad relativa del aire? ¿Cómo explica usted su efecto sobre la transpiración?

¿Puede una planta transpirar en un ambiente con humedad relativa de 100%?

¿Cuáles son los factores que hay que tomar en consideración al comparar los datos obtenidos con los que se obtendrán bajo condiciones de campo?

Capítulo V

NUTRICION MINERAL

Experimento 17.

Fecha

EFFECTO DEL CO₂ LIBERADO POR LAS RAICES SOBRE EL AMBIENTE RADICAL

Introducción

Las plantas terrestres dependen casi exclusivamente del suelo para su provisión de sustancias nutritivas minerales, las cuales son absorbidas por medio de las raíces. Solamente una pequeña porción de la cantidad total de cada uno de los elementos nutritivos del suelo es fácilmente aprovechable por las plantas; la mayor parte de cada uno de ellos se encuentra en forma de minerales o de compuestos insolubles o muy poco solubles, o en la materia orgánica aún sin descomponerse.

Antiguamente se pensaba que solamente las sales y los iones disueltos en la solución edáfica podían ser absorbidos por la planta. Hoy día se sabe que además de esta fuente existe otra, de mayor importancia. Se trata de los iones, especialmente cationes como K⁺, NH₄⁺, Mg⁺⁺, Ca⁺⁺, etc., adsorbidos en las superficies de las partículas coloidales del suelo, principalmente arcillas y materia orgánica. Para poder absorber estos cationes es necesario sustituirlos por otros, proceso que se denomina intercambio iónico.

Durante el proceso respiratorio las raíces absorben oxígeno y liberan anhídrido carbónico. En contacto con el agua del suelo, el segundo forma ácido carbónico que se disocia en parte en iones H⁺ y HCO₃⁻ o CO₃⁻⁻. Como en las partículas coloidales existe preferencia de adsorción de cationes de hidrógeno, las plantas pueden reemplazar (intercambiar) fácilmente los demás cationes de las partículas del suelo por los de hidrógeno, los cuales muestran bastante tenacidad en su adhesión una vez adsorbidos por los coloides.

La primera fase de la absorción de los iones de sales nutritivas después del intercambio consiste en su adsorción (aún reversible) en la parte exterior o espacio libre aparente, de las células radicales. Luego los iones son transportados al interior de las células, proceso irreversible, para el cual hace falta energía, que se origina en la respiración.

Al aumentar constantemente la proporción de H⁺ en los coloides, el suelo se vuelve cada vez más ácido por lo que puede ser necesaria una aplicación de cal para sustituir los cationes de hidrógeno acumulados y elevar así el pH del suelo a su valor original. Por otra parte, debe tomarse en cuenta que el ácido carbónico liberado por las raíces tiene cierta importancia porque ayuda a disolver los minerales del suelo, acelerando así su descomposición, con lo cual puede aumentar la disponibilidad de ciertos elementos nutritivos.

Objetivo

Este experimento tiene como fin demostrar el aumento de la concentración de cationes de hidrógeno debido a la actividad respiratoria de las raíces de las plantas. El aumento total de la acidez en el medio (agua), no es sin embargo muy grande, por cuanto los frascos están abiertos, dando lugar a la pérdida de CO₂ hacia la atmósfera. Además, tanto la respiración como el crecimiento radical resultan muy reducidos en intensidad por la falta de sales nutritivas.

Procedimiento y resultados

En un frasco de vidrio ponga unos dos litros de agua de grifo y agréguele unas diez gotas de fenolftaleína. Si fuera necesario, ajuste el pH con una disolución de carbonato de potasio al 2%, añadiéndola gota a gota hasta que aparezca justamente el color morado, característico del indicador; evite exceso de carbonato.

Con el agua así preparada llene dos frascos de cultivo de color ámbar hasta unos pocos centímetros más abajo de la boca. Con un tapón de corcho tape bien uno de estos frascos, el cual servirá como testigo.

De plántulas de maíz germinadas previamente sobre papel de filtro seleccione tres bien vigorosas. Con un poco de algodón sostenga las tres plántulas a la altura de la semilla en las ranuras de un tapón. Después de introducir las raíces cuidadosamente en la disolución, sin quebrarlas, ajuste el tapón. Si fuera necesario mantenga las plántulas en posición correcta por medio de una banda de goma. (Figura 9).

Coloque los frascos en un invernáculo (invernadero) u otro lugar con suficiente iluminación. Al final de una semana tome por medio de una pipeta una parte alícuota de 15 ml de cada frasco. Agréguele dos o tres gotas de fenolftaleína, observe y anote el color. Añada, gota a gota, una disolución de NaOH al 0.001 N, y cuente el número de gotas necesarias para devolver a la disolución su reacción inicial, es decir, hasta que aparezca el color del indicador. No olvide agitar bien después de agregar cada gota. Repita después de dos semanas.

Tratamiento	T I E M P O			
	1 semana		2 semanas	
	Color	Nº de gotas de NaOH	Color	Nº de gotas de NaOH
Frasco sin planta				
Frasco con planta				

Discusión de los resultados:

¿Cuáles son los efectos de un cultivo intensivo sobre la reacción del suelo?

¿Qué finalidad tiene en los análisis de suelos el uso de una disolución extractora, por ejemplo un ácido diluido, en la determinación de los elementos nutritivos "disponibles"?

¿Por qué no se usó una solución nutritiva completa en lugar de agua para efectuar este experimento?

Experimento 18.

Fecha

DEMOSTRACION DE LA NECESIDAD DE ALGUNOS ELEMENTOS PARA EL DESARROLLO DE LAS PLANTAS**Introducción**

Para su desarrollo normal las plantas requieren cierto número de elementos llamados elementos esenciales. Cuando uno de éstos falta, o si su concentración no es suficientemente alta en el medio en el cual crece la planta, ésta muestra pronto los efectos de la carencia de ese elemento y hasta puede morir. Si la deficiencia de un elemento es leve, frecuentemente el único efecto resultante es una reducción en la productividad o en el crecimiento. Cuando la carencia es muy marcada se presentan síntomas visibles, tales como deformación o clorosis de las hojas, asociada frecuentemente con defoliación prematura. La deficiencia de un elemento se manifiesta por medio de síntomas muy característicos, los cuales por regla general son distintos para los diferentes elementos. También existen diferencias de acuerdo con las especies de plantas, tanto en la forma en que se presentan los síntomas, como en su tolerancia a la carencia; algunas plantas pueden ser muy afectadas por una deficiencia, mientras que otras no muestran ningún síntoma, aunque crezcan bajo condiciones idénticas.

Uno de los medios más eficaces para provocar deficiencias en plantas es el cultivo de ellas en soluciones nutritivas. Una solución completa, que contenga todos los elementos esenciales en combinación bien balanceada, permite a la planta desarrollarse normalmente. Por lo general, si se omite uno de esos elementos, poco tiempo después (el intervalo depende del elemento y de diversas condiciones) aparecen los síntomas típicos de la carencia. Las deficiencias de algunos elementos, como las de nitrógeno, potasio, hierro y varios otros, son más fáciles de producir, puesto que la planta necesita una cantidad relativamente grande o un suministro constante de ellos. Para la provocación de otras deficiencias, especialmente las del grupo de los llamados "elementos menores" o mejor oligoelementos, se requieren precauciones muy especiales, ya que una concentración sumamente baja (a veces una pequeñísima cantidad) es suficiente para un desarrollo normal.

Objetivo

Se cultivarán plantitas de maíz en una solución nutritiva completa, y en soluciones en las cuales se omite cada vez un elemento. Al final del experimento, por comparación del crecimiento de la parte aérea y de las raíces de plantas de cada tratamiento, se estudiará el efecto de la deficiencia de cada uno de los elementos en el desarrollo de las plantas, y se efectuarán observaciones visuales de los síntomas que aparecen.

En este experimento solamente se incluyen aquellas deficiencias que más fácil y rápidamente pueden hacerse aparecer con soluciones nutritivas incompletas. En el caso de otros elementos hay ocasiones en que pequeñísimas cantidades que se encuentran en forma de impurezas en los reactivos usados, o la reserva en las semillas empleadas, son suficientes para un desarrollo prácticamente normal de las plantitas, al menos por algún tiempo.

Procedimiento y resultados

Prepare un litro de cada una de las soluciones nutritivas que se indican luego y proceda en la forma siguiente: llene matraces aforados con capacidad de un litro, hasta la mitad con agua destilada. Para cada tipo de solución nutritiva agregue las cantidades necesarias de las disoluciones madres (las cifras en el cuadro son mililitros de disolución madre para un litro de la solución nutritiva). Complete el volumen a un litro y mezcle bien.

Llene los frascos de cultivo hasta unos cuatro o cinco centímetros más abajo de la boca. Entre plántulas de maíz previamente germinadas escoja las que tengan raíces por lo menos de 10 cm de largo. En forma similar a como se hizo en el experimento anterior, fije tres plántulas por medio de un poco de algodón en cada tapón y coloque éstos cuidadosamente en los frascos, sin dañar las raíces (Figura 9).

Incluya en la serie un frasco con agua destilada y otro con agua de grifo. Coloque los frascos en un lugar con suficiente luz, preferiblemente un invernáculo. Agregue de vez en cuando agua destilada para que el nivel de las soluciones se mantenga constante.

Disolución madre	Completa	SOLUCION NUTRITIVA				
		Sin N	Sin P	Sin K	Sin Mg	Sin Fe
A. 1 M $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 236 g/l	5	-	7.5	7.5	5	5
B. 1 M KNO_3 101 g/l	5	-	-	-	5	5
C. 1 M $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 247 g/l	4	0.5	3	3	-	2
D. 1 M KH_2PO_4 136 g/l	1	-	-	-	1	1
E. 0.01 M $\text{CaH}_4(\text{PO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 2.5 g/l	-	50	-	50	5	-
F. 0.5 M K_2SO_4 87 g/l	-	10	10	-	-	-
G. 0.01 M $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1.7 g/l	-	200	-	-	-	-
H. 0.1% Quelato de hierro*	1	1	1	1	1	-
I. Oligoelementos**	1	1	1	1	1	1

* La concentración del quelato de hierro depende de su composición y de la marca de la casa que lo produce. Con algunos productos debe aumentarse la concentración hasta 1%.

** La disolución de oligoelementos tiene la siguiente composición: $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1.8 g; H_3BO_3 3 g; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.3 g; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.1 g; H_2MoO_4 0.1 g; agua destilada hasta completar un litro.

Después de que las plántulas de algunos tratamientos hayan alcanzado una altura de unos 20 a 25 cm, anote su apariencia en cada tratamiento; observe especialmente si existen síntomas visibles de deficiencias. Cuando éstos aparezcan bien marcados, remueva los tapones con cuidado y saque las plantitas de los frascos. Separe el vástago (parte aérea) de las raíces y mida el largo del tallo junto con las hojas, y de la raíz más larga. Seque las raíces con papel absorbente y péselas, lo mismo que el vástago; trabaje rápidamente. Calcule el promedio de las medidas de las tres plántulas de cada frasco. Si por alguna razón una plantita presenta diferencias notorias con las demás del mismo frasco, descártela; sin embargo, es de esperar que se presenten pequeñas variaciones entre ellas.

Junte el material de las tres plántulas de cada tratamiento y ponga los vástagos y las raíces separadamente en bolsas de papel. Seque el material a 105°C durante un día. Efectúe las pesadas después de que las muestras se hayan enfriado. Anote los resultados de todos los tratamientos y calcule también el porcentaje, tomando como base los datos obtenidos de las plantitas que crecieron en la solución completa.

Tratamiento	Largo total (cm):				Peso fresco (g):				Peso seco (g):			
	Raíces	%	Vástago	%	Raíces	%	Vástago	%	Raíces	%	Vástago	%
Completa		100		100		100		100		100		100
-N												
-P												
-K												
-Mg												
-Fe												

Tratamiento	Peso fresco (g): Plantas enteras	%	Peso seco (g): Plantas enteras	%
Completa		100		100
-N				
-P				
-K				
-Mg				
-Fe				

Haga una breve descripción de los síntomas visibles de las deficiencias observadas en cada tratamiento:

Discusión de los resultados:

¿Cómo coincidieron los síntomas visibles de las deficiencias que aparecieron en este experimento con los generalmente descritos?

Cite varias razones que expliquen por qué la falta de fósforo no tuvo efecto más notorio en este experimento.

Con soluciones nutritivas preparadas con cenizas de plantas, se observa que una planta de frijol crece mientras que una de maíz se muere. ¿Por qué?

DEMOSTRACION DEL ANTAGONISMO**Introducción**

A veces el desarrollo de una planta no es normal a pesar de que todos los elementos esenciales están disponibles en cantidades suficientes y de que las demás condiciones son favorables. Sin causa aparente pueden aparecer síntomas patológicos muy pronunciados, como clorosis, defoliación o muerte de la planta. Un análisis detallado de las condiciones del suelo, en el cual crece la planta, puede revelar que se trata de efectos de toxicidad debida a la acumulación excesiva de uno o varios elementos, incluyendo los no esenciales. La concentración de la parte soluble de algunos elementos en el suelo no debe variar mucho pues existe un ámbito limitado entre deficiencia y toxicidad.

Igualmente perjudiciales son las disoluciones de solamente una sal, tanto para las plantas como para los animales. No importa si en este caso se trata de una sal compuesta de elementos esenciales o no esenciales. Tan pronto como también hayan sales de otros elementos se reduce considerablemente el efecto nocivo de la primera, es decir, al mezclar en proporciones adecuadas dos o más sales, que individualmente son muy tóxicas, se reduce mucho el efecto perjudicial de cada una de ellas. Por regla general, en tal caso pueden tolerarse concentraciones mucho mayores que la de una sola sal.

El efecto de reducir la toxicidad de un elemento por la presencia de otro se denomina antagonismo. Casi todos los elementos son hasta cierto grado antagónicos entre sí, aunque existen algunos pares de elementos entre los cuales el antagonismo es especialmente pronunciado, como p. e. potasio-magnesio, hierro-manganeso, boro-calcio. Se llama medio balanceado el que contiene las sales en tal proporción que se obtiene un efecto antagónico máximo que corresponde a un grado mínimo de toxicidad.

Al tratar de explicar el antagonismo debe tomarse en cuenta que éste puede ser de varios tipos.

Generalmente el protoplasma de una célula se encuentra bien balanceado con respecto a las especies de iones que contiene. Cualquier variación en su cantidad y tipo resultará en trastornos; especialmente se producirán cambios en el estado de hidratación y permeabilidad. Los cationes monovalentes, como los de litio, de sodio y también de potasio, tienden a hinchar el protoplasma, mientras que los divalentes, como los de calcio y de magnesio lo contraen.

Existe también la posibilidad de que un ion menos tóxico reduzca la absorción o acumulación de otro más nocivo. Tal sustitución puede tener lugar entre pares de iones distintos como Ca^{++} y Cu^{++} , o entre los químicamente próximos como SO_4^{--} y SeO_4^{--} o PO_4^{--} y AsO_4^{--} .

El antagonismo también es importante para la estabilidad de ciertas emulsiones coloidales como las que existen en el protoplasma.

Objetivo

Usando unos trocitos de raíz de remolacha roja, introducidos en disoluciones de sales simples y en mezclas de éstas, puede demostrarse el efecto de éstas sobre la permeabilidad del protoplasma. Al producirse una toxicidad por falta de antagonismo, el pigmento antociano se difunde desde las células hacia el exterior.

Si se cultivan plántulas de maíz en soluciones nutritivas no balanceadas, el efecto nocivo se nota claramente por una reducción marcada del crecimiento. Agregando una cantidad de nitrato de potasio a una solución nutritiva completa, el efecto antagónico de los demás elementos presentes no deja desarrollar los síntomas de toxicidad de ese compuesto, lo que sí ocurre en la solución que solamente contiene nitrato de potasio, aunque en menor cantidad.

Las sales de algunos metales pesados, tales como mercurio, plomo, cobre, etc. son mucho más tóxicas que el nitrato de potasio, lo que también se comprobará.

Procedimiento y resultados

A. Efecto del antagonismo sobre la permeabilidad del protoplasma

Corte cinco trozos de raíz de remolacha roja, de unos 5 cm de largo y 1 x 1 cm de sección transversal. Lávelos bien con agua de grifo. Ponga los trozos en tubos de ensayo y cúbralos con los líquidos y disoluciones siguientes:

Tubo 1.	Agua de grifo
Tubo 2.	Agua destilada
Tubo 3.	Cloruro de sodio al 2%
Tubo 4.	Cloruro de calcio al 0.2%
Tubo 5.	Una disolución que contenga cloruro de sodio al 2% y cloruro de calcio al 0.2%

Observe en cuáles de los tubos hay difusión del pigmento antociano, dando un color rojizo al líquido circundante.

Tubo	Observaciones después de:			
	2 horas	4 horas	12 horas	24 horas
1.				
2.				
3.				
4.				
5.				

Discusión de los resultados:

B. Efecto del antagonismo sobre el crecimiento de las plantas

Soluciones nutritivas:

1. a) Prepare un litro de una solución nutritiva completa, según las instrucciones dadas en el experimento anterior, pero en vez de 5 ml de la disolución madre de nitrato de potasio, agregue 15 ml.

- b) Prepare un litro de solución que contenga solamente 5 ml de la disolución madre de nitrato de potasio.
2. a) Prepare un litro de la solución nutritiva completa y agregue 1 ml de una disolución de sulfato de cobre al 0.01 M.
- b) Prepare una solución que consista de 1 ml de la disolución de sulfato de cobre al 0.01 M, agregado a un litro de agua destilada.

Vacíe las soluciones en diferentes frascos, y en forma similar a la de los experimentos anteriores, coloque plántulas de maíz en las ranuras de los tapones, fíjelas, e inserte éstos en los frascos (Figura 9).

Cuando en algunos tratamientos las plantitas hayan alcanzado una altura de 20 a 25 cm compare su apariencia en todos los tratamientos y anote. Coseche las plántulas, y separe el vástago de las raíces. Mida el largo del tallo junto con las hojas, y la raíz más larga. Seque las raíces con papel absorbente y péselas, lo mismo que el vástago. Trabaje rápidamente. Calcule el promedio de las medidas de las tres plántulas de cada frasco. En forma similar a la del experimento anterior, seque las plántulas y anote el peso seco.

Tratamiento	Largo total (cm):				Peso fresco (g):				Peso seco (g):			
	Raíces	%	Vástago	%	Raíces	%	Vástago	%	Raíces	%	Vástago	%
Completa + KNO ₃		100		100		100		100		100		100
KNO ₃ solo												
Completa + CuSO ₄												
CuSO ₄ solo												

Tratamiento	Peso fresco (g): Plantas enteras	%	Peso seco (g): Plantas enteras	%
Completa + KNO ₃		100		100
KNO ₃ solo				
Completa + CuSO ₄				
CuSO ₄ solo				

Anotación de observaciones:

Discusión de los resultados:

¿Por qué muestra el agua destilada de ciertos alambiques metálicos un efecto tóxico y no así el agua de grifo?

¿Qué conclusiones permite sacar este experimento sobre la aplicación de cantidades relativamente grandes de un fertilizante químico simple? ¿Qué ventajas tendría en este sentido uno compuesto (completo)?

¿Por qué las sales de elementos pesados son por lo general más tóxicas en soluciones nutritivas que -en la misma concentración- en el suelo?

Capítulo VI

PIGMENTOS VEGETALES

Experimento 20.

Fecha

PIGMENTOS DE LOS CLOROPLASTOS

Introducción

Los cloroplastos de las plantas "superiores" contienen siempre varios pigmentos, clorofila a, clorofila b, algunas xantofilas y carotinas. Todos estos pigmentos son insolubles en agua, pero se disuelven fácilmente en algunos solventes orgánicos, como ciertos alcoholes, acetona, bencol, cloroformo, éter, etc. Las xantofilas tienen un color amarillento u ocre, las carotinas son principalmente anaranjadas, la clorofila a es verde azulada y la clorofila b verde amarillenta. Existen varias plantas que contienen solamente clorofila a, como las algas azules, las diatomeas, las algas rojas y pardas, y también una orquídea saprófita. Sin embargo, muchas de las algas mencionadas contienen en los plastidios pigmentos adicionales, tales como otras clorofilas (c, d, e), fucoxantina (amarillo-pardo), ficoeritrina (rojizo) y ficocianina (azulado) que comunican sus respectivos colores a las algas.

Cuando los cloroplastos pierden parte de su contenido de clorofilas predominan los pigmentos amarillentos, causando un cambio de coloración, tal como ocurre durante la maduración de muchos frutos o con las hojas al envejecer, al transformarse los cloroplastos en cromoplastos. Lo mismo sucede cuando se coloca una planta verde durante algún tiempo en la oscuridad, lo que comprueba que, con algunas excepciones, la luz es esencial para la formación y el mantenimiento de las clorofilas en las plantas.

Los carotinoides (carotinas y xantofilas) solamente absorben en la parte verde-azul y violeta del espectro visible, mientras que las clorofilas tienen dos máximas de absorción, una en la parte roja y otra en la parte azul (clorofila a aproximadamente 660 $m\mu$ y 430 $m\mu$; clorofila b 645 $m\mu$ y 455 $m\mu$). Estas últimas muestran además fluorescencia marcada, emitiendo luz de color rojo intenso. La fluorescencia se debe a la reemisión de luz, para lo cual se utiliza energía electromagnética de onda más corta, que es transformada en luz de mayor longitud de onda pero de menor energía.

Las clorofilas son poco estables in vitro, especialmente bajo iluminación intensa. El átomo central, el magnesio, es fácilmente reemplazado tanto por hidrógeno, dando lugar a las feofitinas respectivas, pigmentos de color pardo-oliva, como también por cobre, lo que imparte un color verde azulado muy estable.

Objetivo

Como la separación cuantitativa de los pigmentos de los plastidios es un tanto difícil, no se tratará de obtenerlos en forma pura, sino que este experimento se limitará a demostrar su presencia y a estudiar algunas de sus características principales.

Al iluminar un extracto alcohólico crudo de los pigmentos con un haz de luz fuerte se nota claramente la fluorescencia. La cromatografía sobre papel del extracto alcohólico permite reconocer fácilmente la presencia de los pigmentos amarillentos y verdes. Las carotinas migran con igual velocidad que el solvente mientras que las clorofilas se quedan atrás. Utilizando las pequeñas diferencias con respecto a su solubilidad en solventes orgánicos con diferentes contenidos de agua, se tratará de separar los pigmentos. La molécula intacta, tanto de la clorofila a como de la b, es insoluble en agua; pero al saponificarlas (hidrolizar el éster) en clorofilina, alcohol metílico y fitol (también un alcohol), los dos grupos carboxil de la clorofilina permiten luego su disolución en agua. También se demostrará la facilidad de la sustitución del átomo central por hidrógeno y cobre.

Procedimiento y resultados

Tome de 5 a 8 g de hojas verdes frescas. Sumérijalas unos dos minutos en agua hirviendo, a la cual se ha agregado previamente un poco de carbonato de calcio. Seque las hojas con papel absorbente y tritúrelas en un mortero de porcelana con la ayuda de un poco de arena de cuarzo. Agregue un poco de alcohol etílico (etanol) de 95% y siga triturando. Decante y filtre la disolución de pigmentos a través de un papel de filtro. Agregue nuevamente un poco de alcohol al macerado y repita el proceso. No use más de unos 80 a 100 ml de alcohol en total.

- A. Vierta parte del extracto preferiblemente en un frasco con lados planos y paralelos. Ilumínelo con luz fuerte por medio de un haz paralelo (aparato de proyección, lámpara de microscopio, etc.) Observe la fluorescencia de las clorofilas.
- B. De la misma disolución transfiera unos 20 a 30 ml a una cápsula de Petri pequeña. De un pliego de papel de filtro corte una tira de unos 15 cm de ancho y de 25 a 30 cm de largo (según la altura del frasco), y con la ayuda de una engrapadora forme un cilindro hueco.

Introduzca el cilindro en el extracto sin que toque la pared de la cápsula. Espere hasta que el extracto haya ascendido de 2 a 3 cm en el papel y entonces quítelo y séquelo. Introduzca luego el cilindro, con la parte que contiene los pigmentos hacia abajo, en un frasco grande en cuyo fondo se ha colocado 0.5 cm de alcohol etílico (Figura 10). Tape bien y observe el ascenso de los diferentes pigmentos en el papel. Cuando éstos queden suficientemente separados interrumpa el experimento, saque el cilindro del frasco, quite las grapas y observe y anote la secuencia de los pigmentos en el cromatograma.

Discusión de los resultados:

- C. En un embudo de separación añada a unos 10 ml del extracto crudo de los pigmentos igual volumen de gasolina blanca. Luego agregue agua destilada, gota a gota, agitando continuamente hasta que la mezcla se ponga ligeramente turbia. Después de agitar bien, espere la separación de los dos solventes. Si fuera necesario, agregue unas gotas más de agua, agitando de nuevo.

Para una separación más completa proceda a lavar cada fase. Deje escurrir el alcohol del embudo en otro recipiente. A la gasolina restante agregue unos 15 ml de alcohol etílico y unas gotas de agua; agite y espere que los solventes se separen. Una las dos porciones de alcohol. Recoja la fase de gasolina con sus pigmentos en un recipiente aparte.

En el embudo agregue a la fase alcohólica unos 15 ml de gasolina; mezcle bien y espere la separación. Escurra el alcohol y una las dos porciones de gasolina. Repita el proceso si es necesario. Guarde los extractos para una comparación posterior.

Discusión de los resultados:

- D. En un embudo de separación, tome unos 20 a 25 ml de la fase de gasolina que contiene las clorofilas y las carotinas (Parte C), y agregue igual volumen de una disolución de hidróxido de potasio al 30% en alcohol etílico de 95%. Evite que se mezclen los dos líquidos. Observe el anillo de color pardo en la zona interfacial.

Luego mezcle bien. Observe el cambio de verde a pardo, y luego nuevamente a verde, al pasar los colorantes de la fase de gasolina a la fase alcohólica alcalina. Fíjese también en el color de la gasolina. Deje escurrir la fase alcalina y mezcle una parte con agua para comprobar la solubilidad de las clorofilas en agua. Compare los colores de la fase de gasolina, de la fase alcohólica alcalina y de las fases obtenidas en C., con el color del extracto crudo original.

Discusión de los resultados:

- E. Diluya el extracto alcohólico crudo con alcohol etílico de 95% hasta que colocado en un tubo de ensayo aparezca un verde claro, bien transparente. Con esta disolución haga las siguientes mezclas:

- 1) 5 ml del extracto + 1 ml H₂O (control)
- 2) 5 ml del extracto + 1 ml hidróxido de sodio al 5%
- 3) 5 ml del extracto + 1 ml ácido acético glacial
- 4) 5 ml del extracto + 1 ml CuSO₄ al 5% + 1 ml ácido acético glacial

NOTA: Si la concentración de clorofilas en el extracto es muy alta, la coloración típica de las feofitinas no aparece bien clara en el tubo 3.

Anotación de observaciones:

TUBO 1	TUBO 2	TUBO 3	TUBO 4

¿Por qué las clorofilas son de color verde?

¿Cómo explica usted el cambio del color verde en las hojas de algunas plantas a un color pardo, cuando se les sumerge en agua hirviendo?

¿Por qué no se formaron feofitinas en el tubo 4?

Experimento 21.

Fecha

ANTOCIANOS**Introducción**

Además de las clorofilas y carotinoides, muchas plantas poseen otros pigmentos, tales como antocyanos, hidroxiflavonas, flavonoles e hidroxiflavanonas. Los últimos son derivados oxidados de la flavona, una sustancia incolora. Según el grado de sustitución del anillo con grupos hidroxil la coloración se intensifica de amarillento hasta anaranjado u ocre. Las hidroxiflavonas, las hidroxiflavanonas y los flavonoles son solubles en agua y se encuentran con frecuencia en el jugo celular, tanto en hojas como en frutos y especialmente en flores (a veces en combinación con cromoplastos), impartiendoles su color característico. También se encuentran incrustados en ciertas maderas.

El grupo de los antocyanos está formado por sustancias de constitución química muy parecida, como cianina, pelargonina, delphinina, etc., cada una con un color un poco distinto que varía desde azul a morado o rojizo; también hay compuestos incoloros. Por lo general, una planta contiene varios de estos pigmentos en una mezcla difícilmente separable.

Igual que los derivados de la flavona, todos los antocyanos son glucosidos hidrolizables, constituidos por un componente colorante, el aglicón (en este caso las antocianidinas respectivas), en combinación con una o varias moléculas de azúcares como glucosa, galactosa, ramnosa, etc. Por ser solubles en agua, los antocyanos siempre están disueltos en el jugo celular. Para su extracción es necesario matar el tejido, ya que la semipermeabilidad del protoplasma vivo impide su difusión hacia el exterior de la célula (véanse los Experimentos 6 y 19).

La presencia de los antocyanos comunica a los órganos vegetales, tales como flores, hojas, frutos, tubérculos, etc. un color azul, violáceo o rojizo. Para su síntesis son necesarios no solamente factores genéticos sino también ciertas condiciones ambientales favorables, como alta intensidad lumínica, temperatura baja, carencia de ciertos elementos nutritivos como fósforo o magnesio, etc.

Objetivo

En este experimento se comprobará que las diferencias de coloración no se deben exclusivamente a la presencia de uno u otro antociano, o a un cierto tipo de mezcla de éstos, sino también a la reacción del jugo celular. Uno solo de estos pigmentos es capaz de desarrollar diferentes coloraciones según la reacción (pH) del medio, correspondiendo los colores rojo, violáceo y azulado a reacción ácida, neutra y básica, respectivamente.

Conviene mencionar que los distintos tipos de antocyanos tienen diferente color en un pH determinado.

El tratamiento con amoníaco tiende a intensificar la coloración de las hidroxiflavonas y los flavonoles en flores amarillentas y también a producir esa coloración a partir de la flavona en las flores blancas que la contienen.

Procedimiento y resultados

- A. Prepare un extracto de antocyanos en la forma siguiente: hierva por algunos minutos de 20 a 30 g de un raspado de raíz de remolacha roja (también puede utilizarse repollo rojo o flores rojas o azules), con unos 100 ml de agua destilada. Enfrie el extracto un poco y filtre.

Tome unos 5 ml del extracto en un tubo de ensayo. Por medio de un papel indicador determine su pH. Después agregue, gota por gota, una disolución de ácido acético al 0.2 N. Tan pronto como se note un cambio en el color (compare continuamente con el extracto original) no agregue más ácido. Efectúe una nueva determinación de la reacción, y luego continúe con la adición del ácido para ver si ocurren otros cambios.

En otro tubo de ensayo repita el procedimiento, añadiendo esta vez una disolución de hidróxido de sodio al 0.1 N. En este caso deben ocurrir varios cambios sucesivos hasta que la disolución adquiere finalmente un color amarillento.

Tratamiento	Color	Reacción (pH)
Extracto original		
Con la adición de ácido acético		
Con la adición de hidróxido de sodio		

Discusión de los resultados:

- B. El cambio de color de los antocyanos a consecuencia de una variación de la reacción del medio puede inducirse en los órganos vegetales mismos. Para esta comprobación se utilizarán flores rojas, azules y blancas.

En un frasco pequeño con agua introduzca unas flores rojas, azules y blancas. Coloque el frasco en una cápsula de Petri de mayor tamaño que la base del frasco con las flores, y vierta en la cápsula un poco de hidróxido de amonio concentrado. Tape todo con un frasco de vidrio invertido para crear una atmósfera de vapores de amoníaco alrededor de las flores.

Repita el procedimiento, pero en lugar del hidróxido de amonio agregue un poco de ácido clorhídrico concentrado.

Tratamiento:	Cambios de color observados en las flores:		
	Rojas	Azules	Blancas
Con hidróxido de amonio			
Con ácido clorhídrico			

Discusión de los resultados:

¿Cómo explica usted que existan plantas cuyas flores varían en su coloración: rosadas al abrirse y azuladas cuando son viejas?

¿Qué analogía existe entre los antocianos y los indicadores usados en la química?

¿Cómo explica usted que en algunas flores blancas el hidróxido de amonio produce una coloración amarillenta, mientras que en otras no ocurre ningún cambio?

Capítulo VII

ENZIMAS

Experimento 22.

Fecha

ALGUNAS ENZIMAS DE LAS PLANTAS

Introducción

Las reacciones químicas en las células tienen lugar a gran velocidad debido a la presencia de enzimas (enzimas), llamadas también a veces fermentos. Las enzimas pueden considerarse como catalizadores biológicos o biocatalizadores, en analogía a los catalizadores de la química inorgánica, pero están sujetas a cierto desgaste al actuar; sin embargo, algunas son muy eficientes, siendo una molécula de la enzima suficiente para catalizar varios millones de moléculas del sustrato. Las reacciones enzimáticas son casi todas reversibles, catalizadas por la misma enzima en ambas direcciones, según las condiciones predominantes.

En la célula vegetal existe un número grande de enzimas, las cuales son independientes de la célula viva pero indispensables para ella, estando su acción regulada con una coordinación perfecta. Por lo general las enzimas consisten de dos partes, la apoenzima y la coenzima. La apoenzima, de carácter proteico, es responsable de la especificidad para un sustrato, mientras que la coenzima o grupo prostético es responsable de la reacción misma; las dos partes pueden separarse y al unirlos se restablece la actividad enzimática. El hecho de que un componente consista de proteína, explica la poca resistencia de las enzimas al calentamiento. La presencia de activadores, como los iones de algunos metales, es a veces esencial para su funcionamiento perfecto.

Generalmente, las enzimas reciben su nombre según el sustrato sobre el cual actúan, y se forma agregando al nombre del sustrato el sufijo -asa. Según la reacción que catalizan, se distinguen varias clases o grupos: hidrolasas, que inducen hidrólisis, como las carbohidrasas, esterases (lipasas), proteasas, etc., y las que efectúan otros tipos de reacciones, como catalasas, oxidasas, dehidrogenasas, desmolasas, transferasas, etc.

La invertasa es una hidrolasa muy abundante en la levadura. Hidroliza el azúcar corriente (sacarosa, un disacárido) en glucosa y fructuosa, permitiendo así su utilización en la fermentación alcohólica.

Las oxidasas, que catalizan la oxidación de sustancias por activación del oxígeno molecular, son proteidos que contienen metales como hierro o cobre, lo que las hace susceptibles a la acción de inhibidores como cianuros. Son enzimas muy abundantes, lo mismo que las peroxidasas; estas últimas utilizan el peróxido de hidrógeno (agua oxigenada) para la oxidación. Muchos sustratos son oxidados por estas enzimas, incluyendo aminas aromáticas y fenoles, algunos de los cuales al ser oxidados forman compuestos coloreados.

La catalasa, muy común en las plantas, excepto en algunas bacterias (bacterias), es otra enzima de ese grupo. En vez de utilizar el oxígeno del peróxido de hidrógeno para la oxidación, desintegra este compuesto tan venenoso para los organismos, en agua y oxígeno molecular. En presencia de oxígeno gaseoso, los organismos que carecen de esta enzima (anaerobiontes obligados) mueren debido a la acumulación del peróxido de hidrógeno en sus células.

La oxidación de un compuesto orgánico es con frecuencia un proceso de dehidrogenación, efectuado por ciertas enzimas llamadas dehidrogenasas (deshidrasas), que transfieren el hidrógeno del sustrato a un receptor.

Experimento 23.

Fecha

ALGUNOS FACTORES QUE INFLUYEN EN LAS REACCIONES ENZIMATICAS**Introducción**

Como la actividad de una enzima es de naturaleza química, hay varios factores que influyen en ella.

Dentro de ciertos límites, la velocidad de una reacción enzimática es directamente proporcional a la concentración de la enzima presente. Cuando la reacción ha progresado un tiempo es probable que se produzcan cambios en su velocidad, debido a que la concentración del sustrato disminuye, pudiendo convertirse luego en un factor limitante; o a que la acumulación de los productos retarda o inhibe el proceso.

La presencia de agua es esencial, no solamente para su utilización en reacciones como la hidrólisis, sino también como medio, pues la mayoría de las reacciones enzimáticas tienen lugar solamente en disolución acuosa. El agua también ejerce efectos indirectos, cambiando p. e. la viscosidad del protoplasma, la velocidad de la difusión, etc.

Otro factor importante es la temperatura. Al elevarse ésta aumenta la velocidad de la reacción hasta alcanzar un valor óptimo, que, por lo general, está muy cerca de la temperatura máxima, más allá de la cual se inactivan las enzimas por exceso de calor. También puede producirse inhibición con la adición de ciertos venenos. Sin embargo, algunas sustancias matan las células sin dañar a la mayoría de las enzimas; p. e. varios solventes orgánicos como acetona, toluol, son solamente venenos celulares, mientras que otras sustancias inactivan también a las enzimas.

El pH óptimo es muy diferente para cada enzima. Algunas pueden desarrollar su actividad solamente en un intervalo de reacción muy limitado, mientras que otras no son muy afectadas por cambios del pH.

Objetivo

Este experimento sirve para demostrar la importancia de algunos de los factores mencionados. La inactivación irreversible de enzimas por exceso de calor es muy fácil de observar, hirviendo p. e. la amilasa (diastasa) antes de agregarla a una disolución de almidón. Igual efecto que el calor, tiene sobre esta enzima el cobre, metal que en forma de ion inhibe completamente su actividad (veneno enzimático), mientras que la presencia de toluol no la altera (veneno celular).

La velocidad de la reacción de la amilasa en relación con la reacción del medio (pH) es también fácil de demostrar, efectuando la hidrólisis bajo regulación del tiempo en una serie de disoluciones amortiguadoras de reacciones distintas.

Las enzimas son en su mayoría muy específicas, alterando solamente un sustrato o muy pocos. Así, la amilasa no puede hidrolizar p. e. la inulina, un polisacárido de fructosa, mientras que actúa rápidamente sobre el almidón, polisacárido de glucosa.

Procedimiento y resultados

Prepare un extracto de amilasa en la forma siguiente: en un mortero triture unos 10 a 30 g de semillas apenas germinadas, preferiblemente de cebada o maíz, con un poco de arena de cuarzo. Poco a poco agregue agua hasta completar un total de unos 100 ml; filtre a través de un papel poroso.

A. Efecto de temperatura alta y de inhibidores

Con una pipeta transfiera unos 5 ml de extracto de amilasa a cada uno de cuatro tubos de ensayo. Haga hervir el contenido del primer tubo y enfríe luego. En el segundo tubo eche un cristal de sulfato de cobre y disuélvalo; en el tercero, agregue unas cinco gotas de toluol. El cuarto tubo se usa como testigo.

Al terminar las preparaciones, añada a todos los tubos unos 2 ml de una disolución de almidón al 1% y póngalos luego en un baño de agua caliente (40° a 45°C). Cada cinco minutos efectúe una prueba de almidón en la forma siguiente: con una varilla de vidrio limpia, transfiera unas gotas del tubo que contiene

la disolución testigo a un vidrio colocado sobre un papel blanco. Agregue igual cantidad de una disolución de yodo en yoduro de potasio y observe la aparición del color característico. Tan pronto como la prueba resulte negativa, repítala con los demás tubos.

Anotación de observaciones:

Discusión de los resultados:

B. Efecto del pH

Prepare una serie de disoluciones amortiguadoras con los siguientes valores de pH: 2.6; 3.0; 3.6; 4.0; 4.6; 5.0; 5.6; 6.0; 6.6 y 7.0. Transfiera 4 ml de cada disolución a tubos de ensayo. Agregue a todos 3 ml de una disolución de almidón al 1% y luego, rápidamente, unos 4 ml del extracto de amilasa; anote el tiempo (con reloj).

En forma similar a la descrita en A, determine con intervalos de uno o dos minutos la presencia de almidón en los tubos con un pH de 4.6 y 5.0. Tan pronto como la reacción resulte negativa en uno o ambos tubos, anote el tiempo transcurrido y proceda con los tubos de pH 4.0 y 5.6, determinando también el tiempo necesario para la digestión completa del almidón en cada uno. Continúe luego en igual forma con los demás tubos hasta terminar con todos. Dibuje un gráfico, indicando en la abscisa la reacción del medio en los tubos, en orden creciente, y en la ordenada el tiempo transcurrido para completar la reacción.

	Reacción (pH):									
	2.6	3.0	3.6	4.0	4.6	5.0	5.6	6.0	6.6	7.0
Tiempo en minutos										

Discusión de los resultados:

C. Especificidad

Ponga en un tubo de ensayo unos 5 ml de la disolución de almidón al 1% y agregue una cantidad igual de extracto de amilasa. En otro tubo, haga lo mismo, pero en vez del almidón use una disolución de inulina al 1%. Coloque luego los tubos en un baño de agua caliente (40° a 45°C). Después de unos cinco minutos efectúe la reacción de Fehling con el contenido de ambos tubos.

Anotación de observaciones:

Discusión de los resultados:

¿Cuáles sustancias intermedias se forman al hidrolizar almidón?

¿Cuáles son las condiciones necesarias para una máxima síntesis de una enzima en un cultivo artificial de una levadura?

¿Cuál es el efecto de una enzima sobre la energía de activación de una reacción química?

Capítulo VIII

FOTOSÍNTESIS

Experimento 24.

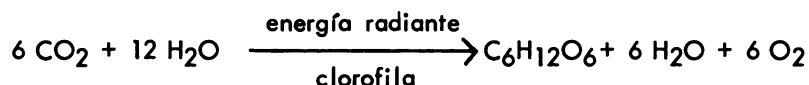
Fecha

NECESIDAD DE CLOROFILA EN LA FOTOSÍNTESIS

Introducción

Fotosíntesis es el proceso en el cual la planta verde absorbe energía radiante (electromagnética) y la utiliza para producir compuestos orgánicos a partir de compuestos inorgánicos, o sea, que la planta almacena esta energía en forma de energía química potencial. Los productos de la fotosíntesis no solamente proporcionan el material para los procesos básicos del metabolismo, sino también los compuestos y la energía necesaria para la síntesis de sustancias orgánicas muy complejas, como lípidos, proteínas, polisacáridos, etc., que son necesarios para el crecimiento.

El proceso fotosintético consiste esencialmente en la reducción del anhídrido carbónico por medio de hidrógeno, obtenido del agua con la ayuda de la energía radiante. La reacción puede resumirse en la forma siguiente:



Se trata en realidad de una serie de procesos físicos y complicadas reacciones químicas. Pueden distinguirse dos fases principales:

En la primera, la energía radiante es absorbida por medio de las clorofilas y utilizada en parte para la hidrólisis del agua, fase también llamada reacción de Hill. Mientras que la planta verde dispone de un mecanismo por medio del cual es capaz de utilizar el agua como fuente de hidrógeno, algunos microorganismos necesitan hidrógeno gaseoso o ácido sulfhídrico. El ion de hidrógeno producido durante la hidrólisis reduce la coenzima II (nucleótido de trifosfopiridina, TPN) y los aniones OH^- ceden electrones a la molécula de clorofila para reemplazar los electrones perdidos, transformándose así en radicales $-\text{OH}$, a partir de los cuales se forma H_2O y O_2 . Parte de la energía absorbida también es almacenada en forma de adenosin-trifosfato (ATP) por medio de las fosforilaciones.

Durante la segunda fase o reacción de Blackman, el CO_2 absorbido se combina con una pentosa (ribulosa-1,5 difosfato). A través de varias transformaciones, con el uso de energía en forma de ATP y de la coenzima II reducida, se forma finalmente una triosa, a partir de la cual pueden sintetizarse otros azúcares y también regenerarse la ribulosa.

Es de suponer que los pigmentos que siempre acompañan a las clorofilas en los plastidios (carotinoides y otros) tengan también alguna función en el proceso fotosintético, quizás transfiriendo la energía absorbida a las moléculas de la clorofila, especialmente la clorofila a, aumentando así la eficiencia del proceso. Las plantas y las partes de plantas que no tienen clorofila no son capaces de efectuar fotosíntesis.

Objetivo

A veces ocurren mutaciones de una planta con hojas parcialmente desprovistas de clorofilas (hojas variegadas). Si estas hojas se mantienen unos días en la oscuridad, se consume el almidón acumulado, y al exponerlas luego a la luz, hay fotosíntesis en las partes verdes. El azúcar producido por regla general no es utilizado o trasladado inmediatamente, sino que es transformado en almidón que se acumula durante algún tiempo en las mismas células productoras. Mediante el uso de yodo es fácil identificar este almidón, por la

coloración característica que se produce, y este experimento sirve para indicar si hubo o no fotosíntesis en las distintas partes de la hoja.

Procedimiento y resultados

Ponga una planta de *Coleus* con hojas variegadas dos o tres días en la oscuridad, y a continuación otros dos días bajo una buena iluminación. Después de ese tratamiento escoja algunas hojas con manchas blancuzcas y rojizas. Identifique las hojas, recortando con unas tijeras pequeñas marcas, o perfórelas con un punzón. Luego haga cuidadosamente un dibujo de cada una indicando las partes verdes, rojizas y blancas. Coloque las hojas en un recipiente apropiado que contenga unos 200 ml de alcohol etílico de 95%. Hierva el alcohol en un calentador eléctrico (¿por qué no es recomendable usar gas?) hasta que las hojas estén completamente blanqueadas. Sáquelas con sumo cuidado con la ayuda de unas pinzas; debido a su pérdida de agua se vuelven muy quebradizas. Transfiéralas a una palangana con una disolución acuosa de yodo en yoduro de potasio. Después de un rato observe el desarrollo del color característico resultante de la reacción del almidón con el yodo. Compare la zona coloreada con el área que era verde, la que era roja, y la que era blancuzca. Haga otro dibujo a la par del anterior.

Dibujos:

Discusión de los resultados:

¿Indica la reacción de almidón, como criterio absoluto, que hubo fotosíntesis en estas células? Dé razones.

En maíz recién germinado a veces se nota que una o más plantitas no tienen clorofila (plantas albinas). ¿Se desarrollarán tales plantas? ¿Cómo explica usted que germinaran y crecieran?

¿A qué conclusión llegó usted acerca de la función del antociano como pigmento fotosintético, observando la reacción del almidón en las áreas de la lámina que no tenían clorofila pero sí ese pigmento?

Experimento 25.

Fecha

IMPORTANCIA DE LOS ESTOMAS EN LA FOTOSINTESIS**Introducción**

El anhídrido carbónico producido durante la respiración puede ser utilizado fotosintéticamente sin que salga de la planta. Sin embargo, bajo condiciones favorables para la fotosíntesis esta fuente constituye solamente una fracción del total del CO_2 necesario. El resto proviene casi exclusivamente del aire.

La concentración de anhídrido carbónico en el aire es alrededor del 0.03% (volumen). Mientras que las plantas verdes fijan el CO_2 constantemente, los microorganismos del suelo lo liberan por su actividad en la descomposición de la materia orgánica. La respiración de plantas y de animales, la quema de leña, carbón y petróleo proporcionan CO_2 a la atmósfera. Ciertos minerales al descomponerse también liberan anhídrido carbónico pero otros procesos de meteorización pueden fijarlo. El mar representa una gran reserva de este gas y tiende a equilibrar las fluctuaciones de su concentración en el aire. Por estas constantes transformaciones (fijación y liberación) puede hablarse de un ciclo del carbono en la naturaleza.

Puesto que el carbono es el constituyente principal de los compuestos orgánicos, las plantas verdes necesitan cantidades relativamente grandes de anhídrido carbónico para la producción de esos compuestos. La cutícula, que cubre toda la superficie expuesta al aire de una planta herbácea, por ser bastante impermeable no solamente reduce la pérdida de agua, sino que también disminuye considerablemente el intercambio de gases entre la epidermis y el aire ambiental. Esto significa que la cantidad de CO_2 que puede difundirse a través de la cutícula es por regla general baja. Por lo tanto, los estomas, que interrumpen la continuidad de la cutícula, deben considerarse como principales puntos de entrada de este gas al interior de los órganos fotosintéticos. En analogía con la cantidad relativamente grande de vapor de agua que se difunde a través de poros pequeños, por los estomas entra una cantidad mucho más grande de CO_2 , que la que correspondería de acuerdo con la superficie total de los orificios de éstos.

Se ha comprobado que en algunas plantas las raíces son capaces de absorber anhídrido carbónico del suelo, el que luego es transportado disuelto en la savia bruta a través de los haces conductores hasta las hojas, donde puede ser utilizado en el proceso fotosintético; pero al igual que el CO_2 producido durante la respiración, su importancia con respecto al total de CO_2 utilizado es poca.

Objetivo

Si por alguna razón, por ejemplo carencia de agua o iluminación fuerte, los estomas se cierran, se reduce marcadamente la entrada del anhídrido carbónico a las hojas y como consecuencia la intensidad de la fotosíntesis disminuye o el proceso cesa por completo, aun cuando los demás factores sigan siendo favorables. La importancia de los estomas en el proceso fotosintético puede demostrarse fácilmente, cubriéndolos con una sustancia impermeable al anhídrido carbónico, tal como la vaselina blanca.

Procedimiento y resultados

Unos días antes de iniciar el experimento en una planta o arbusto trate de la siguiente manera algunas hojas que estén en condiciones favorables para la fotosíntesis:

1. Cubra con una capa gruesa de vaselina blanca una franja transversal en el centro del haz de una de las hojas escogidas. La franja debe tener un ancho de más o menos un tercio del largo de la lámina. Tenga cuidado de no manchar el resto de la hoja.
2. Cubra del mismo modo, en otra hoja, una franja en el envés.
3. En otra hoja cubra ambas caras, de modo que las dos franjas coincidan y formen una franja central. Tenga cuidado de cubrir también el margen.
4. Escoja y señale como testigo una hoja en la misma posición que las tratadas.

Después de dos días, recoja las hojas y para su identificación posterior márquelas debidamente, anotando la marca de cada una. Quite el exceso de vaselina de las hojas con un papel absorbente o trapo su-

ve. Después remueva el resto, impregnando el papel o el trapo con xilol o éter de petróleo. Seguidamente haga la extracción de las clorofilas con alcohol etílico de 95%, siguiendo las instrucciones impartidas en el Experimento 24. Después efectúe la reacción típica de almidón, sumergiendo las hojas en una disolución de yodo en yoduro de potasio.

Reacción de almidón:			
Hoja 1	Hoja 2	Hoja 3	Hoja 4

Verifique la distribución de los estomas en otra hoja de la misma planta, utilizando una disolución de colodión tal como se explicó en el Experimento 15.

Anotación de observaciones:

Discusión de los resultados:

¿Cuál tratamiento resultó más efectivo para impedir la entrada del anhídrido carbónico en las hojas de esta planta? Explique la razón.

¿Serán los resultados obtenidos aplicables a las hojas de cualquier planta? ¿Por qué?

Compare las condiciones que se requieren para la fotosíntesis con las de la síntesis de almidón.

NECESIDAD DE LUZ EN LA FOTOSINTESIS**Introducción**

Cualquier fuente que emite radiación electromagnética que abarca la parte visible del espectro sirve para inducir la fotosíntesis. Sin embargo, no todas las longitudes de onda de la luz son igualmente efectivas.

El espectro de acción, es decir la eficiencia que cada parte (color) del espectro, a igual intensidad, tiene en la inducción de la fotosíntesis no coincide exactamente con el espectro de absorción de las clorofilas. Mientras que este último muestra una depresión muy fuerte en la parte amarilla-verde, esta depresión es mucho menos acentuada que en el espectro de acción de la fotosíntesis. Contrariamente a lo que sucede con las clorofilas, el espectro de acción de la fotosíntesis muestra el máximo de absorción en la parte roja y un segundo valor alto, menos pronunciado, en la azul.

No toda la luz que cae sobre una hoja es absorbida. Se ha calculado que por regla general la absorción es solamente alrededor del 80%, dependiendo del grosor de la hoja y de la cantidad de pigmentos presentes. La otra parte es reflejada o transmitida. Sin embargo, la eficiencia de absorción de una planta entera en el campo es mucho menor que la de una hoja.

Algunas plantas, las heliófilas, pueden resistir la luz solar de alta intensidad, sin que aparentemente sufran daño y sin que se reduzca la intensidad fotosintética. Pero en muchas plantas, especialmente las que crecen en lugares sombreados (umbrófilas), cuando se les somete a una luz fuerte hay un decaimiento en la intensidad fotosintética o inactivación del mecanismo, hasta sufrir a veces un daño irreparable, conocido como solarización o inactivación por la luz. La deficiencia de CO_2 y la alta temperatura tienden a agravar ese efecto.

En una misma planta también se puede notar un efecto parecido entre las hojas que están bajo diferentes condiciones de iluminación. Sin embargo, el que una hoja expuesta a pleno sol muestre un efecto inhibitorio y una reducción de la intensidad fotosintética no indica necesariamente que lo mismo sucede a la planta entera, ya que debido a su posición o al autosombreamiento muchísimas hojas reciben menor intensidad de iluminación y realizan la fotosíntesis en forma óptima.

Hay que recordar que la luz ejerce también un efecto indirecto sobre la fotosíntesis al afectar el movimiento estomático.

Objetivo

Si se coloca parte de una hoja en la oscuridad, la fotosíntesis cesa inmediatamente en esa zona, mientras que la parte iluminada de la lámina sigue produciendo carbohidratos. Como se ha visto en los experimentos anteriores, en la mayoría de los casos el azúcar producido por la fotosíntesis es depositado temporalmente en forma de almidón en las mismas células productoras antes de ser trasladado a otras partes de la planta. Sirviéndose de la reacción típica del almidón con el yodo, se puede estudiar la distribución de este compuesto en la hoja y sacar conclusiones sobre la necesidad de la luz.

Usando hojas que estén recibiendo diferentes niveles de iluminación, por medio de la intensidad de la reacción de almidón se puede también observar en este experimento cierta correlación entre la intensidad de la luz y la actividad fotosintética.

Procedimiento y resultados

Tome unas cintas de papel negro, forrado con aluminio en la cara exterior, de aproximadamente 3 cm a 5 cm de ancho, según el tamaño de las hojas, y cubra con ellas la parte central de la hoja en ambas caras; fije la cinta con alfileres, teniendo cuidado de que el papel quede bien adherido a la hoja. Prepare en esa forma, unos 3 o 4 días antes de ejecutar el experimento a fin de que se agote el almidón acumulado en la

zona oscurecida, unas cuantas hojas de una planta o arbusto que estén en las siguientes posiciones con respecto a la iluminación que reciben:

1. Expuesta al sol
2. En luz difusa del día; no directamente asoleada
3. Poco sombreada
4. En sombra intensa
5. Transferida de sombra intensa a la luz solar, cortando ramas y hojas que le daban sombra.

Al mismo tiempo cubra otra hoja en condiciones favorables para la fotosíntesis con un negativo fotográfico de buen contraste.

Después del intervalo indicado recolecte todas estas hojas. Quite las cintas negras y el negativo. Después de identificarlas, marcándolas con tijeras o con un punzón, extraiga los pigmentos hirviendo las hojas en alcohol según las instrucciones dadas en el Experimento 24. Transfiera cuidadosamente las hojas blanqueadas a una disolución de yodo en yoduro de potasio y observe la reacción de almidón.

Posición de la hoja	Almidón	
	debajo de la cinta	en el resto de la hoja
1. Sol		
2. Luz difusa		
3. Sombra ligera		
4. Sombra intensa		
5. Sombra → sol		

Discusión de los resultados:

¿Por qué se usó una cinta forrada con aluminio en su cara exterior?

¿Podría en ciertas condiciones una hoja bajo sombra débil efectuar la fotosíntesis con la misma intensidad que una hoja de la misma planta expuesta a la radiación solar intensa?

Cite varios órganos de las plantas en los cuales el azúcar se transforma en almidón en plena oscuridad.

INFLUENCIA DE LA INTENSIDAD DE LA LUZ Y DE LA CONCENTRACION DEL CO₂ EN LA FOTOSINTESIS

Introducción

Hay muchos factores que afectan la fotosíntesis: además de clorofila, de CO₂ y de luz, ya mencionados, deben citarse otros, también de importancia: la temperatura, la acumulación de productos fotosintéticos, la presencia de oxígeno y de suficiente agua. Aunque el oxígeno no es directamente utilizado en la fotosíntesis, parece necesario al comienzo del proceso. Luego es producido en cantidad igual a la del anhídrido carbónico utilizado; este intercambio de gases se emplea frecuentemente para la determinación cuantitativa de la actividad fotosintética.

Puesto que la concentración de CO₂ en el aire es generalmente baja (aprox. 0.03% del volumen), cualquier variación afecta seriamente la fotosíntesis. Puede comprobarse que dentro de ciertos límites, cuando los demás factores no son limitativos, la intensidad fotosintética es directamente proporcional a la concentración de CO₂. Debe mencionarse que las plantas no son capaces de absorber o utilizar todo el CO₂ que contiene el aire, sino solamente un 70% a un 80%.

Con una iluminación muy baja es muy probable que la intensidad de la respiración sea mayor que la de la fotosíntesis, lo que significa que se libera más CO₂ del que al mismo tiempo se utiliza en la fotosíntesis. Si se aumenta la intensidad lumínica, aumenta la fotosíntesis, y se utiliza más CO₂ por lo que disminuye su salida de la planta. Con un aumento aún mayor de la iluminación se llega a un punto, llamado punto de compensación, en el cual el intercambio neto de gases entre la planta y el ambiente es cero, es decir, la intensidad de la respiración es igual a la intensidad de la fotosíntesis. Con una intensidad mayor de la fotosíntesis, debida a una intensidad más alta de la luz, el consumo de anhídrido carbónico es superior a la cantidad liberada por la respiración; en este caso hay una fotosíntesis neta, o sea una acumulación de productos fotosintéticos.

Todos los factores mencionados anteriormente pueden influir simultáneamente en la fotosíntesis. Si uno solo de ellos es limitativo se limita la intensidad del proceso y no hay aumento hasta tanto no se normalicen las condiciones de dicho factor. Hecha la corrección, el aumento continúa hasta que otro factor se vuelva a su vez limitativo. Esta correlación se denomina Ley de los Factores Limitativos, en forma análoga a la Ley del Mínimo de von Liebig en la nutrición mineral.

Objetivo

En este experimento se estudiará la importancia de la Ley de los Factores Limitativos. Se puede demostrar que si se aumenta la iluminación, la planta no puede aprovechar (para la fotosíntesis) esa mayor cantidad de energía disponible a menos que la concentración del anhídrido carbónico aumente al mismo tiempo proporcionalmente, siempre que los demás factores no sean limitativos. Esta es una correlación que con mucha frecuencia se observa en el campo.

Al utilizar el conteo de burbujas de oxígeno desprendidas del tallo de una planta acuática como medida de la fotosíntesis debe considerarse que varios factores, tales como el tamaño de las burbujas, su composición química (no consisten exclusivamente de oxígeno) y la difusión de oxígeno en el agua, influyen en la formación de las burbujas.

Si no aparecen más burbujas a baja intensidad de iluminación, esto no significa que ya se llegó al punto de compensación, pues aún puede difundirse oxígeno en el agua, sin que se formen burbujas.

Procedimiento y resultados

De una planta vigorosa de *Helodea* corte con una navajilla una ramita de unos 10 a 15 cm de largo. Inmediatamente, fíjela suavemente a una varilla de vidrio por medio de un hilo que ha sido atado anteriormente a ésta (Figura 11). Introdúzcala en un recipiente apropiado, previamente llenado con agua de grifo a la temperatura ambiente. El corte del tallo debe quedar hacia arriba, sumergido completamente. Después de introducir un termómetro, coloque el recipiente sobre una mesa larga en un soporte adecuado de manera que quede a la misma altura del objetivo de un aparato de proyección o de una lámpara fuerte.

Coloque el proyector a 4 m de distancia del recipiente, tomando como puntos de referencia la distancia entre el objetivo y la pared delantera del recipiente, enciéndalo y espere unos minutos hasta que la velocidad de las burbujas de oxígeno, que salen del corte de la ramita, sea constante. Haga tres recuentos de éstas, cada uno de un minuto de duración. Acerque el proyector (no la planta) exactamente a la mitad de la distancia, espere un tiempo adecuado y repita los recuentos. Continúe acercando el proyector en esta forma hasta llegar a una distancia de 12.5 cm. Tenga cuidado de que el agua no se caliente, ya que la temperatura también afecta la intensidad de la fotosíntesis. Si la temperatura aumenta apreciablemente, debe repetirse el experimento, usando un recipiente de mayor tamaño. Los conteos también deben repetirse cuando el tamaño de las burbujas cambia durante el experimento.

Al terminar esta parte del experimento sustituya cuidadosamente, por medio de un sifón de vidrio o de un tubo de goma, el agua por agua de grifo hervida y enfriada, teniendo cuidado de que ésta tenga la misma temperatura de la anterior. Apague la luz durante el cambio y trabaje rápidamente. Encienda otra vez la luz y espere unos minutos para que la planta se adapte a las nuevas condiciones; repita el proceso.

Sustituya luego el agua de grifo hervida por una disolución de bicarbonato de potasio al 0.5%. Haga los conteos otra vez.

Calcule la intensidad relativa de iluminación, tomando como base la intensidad a 0.125 m de distancia (igual a 1.0).

Distancia m	Intensidad relativa de iluminación	Agua de grifo				Agua hervida				Bicarbonato			
		Recuentos			promedio	Recuentos			promedio	Recuentos			promedio
		1	2	3		1	2	3		1	2	3	
4													
2													
1													
0.5													
0.25													
0.125	1.0												

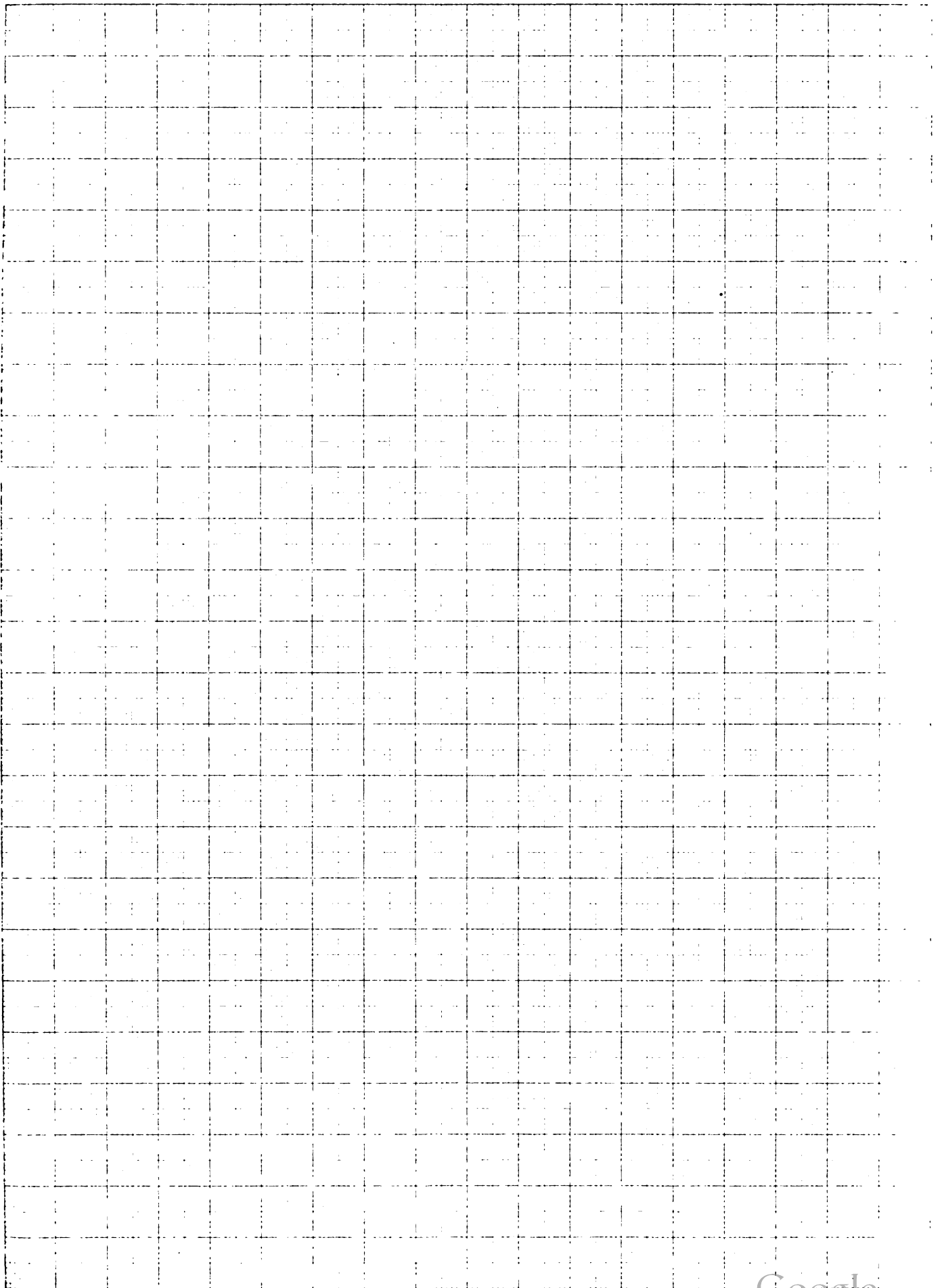
Haga un gráfico de los resultados obtenidos, anotando la intensidad relativa de la iluminación en la abscisa y el número de burbujas en la ordenada.

Discusión de los resultados:

¿A qué distancia empezó el anhídrido carbónico a ser el factor limitante en los tres tratamientos?

¿Por qué hubo una diferencia tan grande en la intensidad fotosintética con el agua de grifo hervida y sin hervir?

¿Qué conclusión puede usted sacar de este experimento sobre el punto de compensación en esta planta con respecto a la intensidad de iluminación?



Capítulo IX

RESPIRACION

Experimento 28.

Fecha

RESPIRACION AEROBICA

Introducción

Respiración es la oxidación de sustancias orgánicas en la célula viva. La respiración aeróbica se efectúa en presencia del oxígeno del aire, el cual sirve de aceptor para el hidrógeno activado, formándose agua. Los átomos de carbono de las sustancias alimenticias son oxidados y liberados en forma de anhídrido carbónico. La ecuación del proceso puede escribirse en términos generales, para la glucosa:



Es de importancia que la liberación de energía durante la respiración se efectúe en forma gradual, gracias a la acción de muchas enzimas. Este proceso consiste de una serie de pasos (más de 10), y de variados productos intermedios, antes de que se complete la oxidación del material respirado. Debe recordarse que la mayor parte de la energía no es realmente liberada en forma de calor, como se indica en la ecuación, sino convertida y utilizada en otros procesos vitales. Como resultado del proceso respiratorio la energía química potencial que reside en las uniones del azúcar es transferida a las uniones de fosfato de alta energía, y puede ser almacenada en esta forma (adenosin-trifosfato, ATP). No siempre los productos intermedios son completamente oxidados, sino que pueden servir, mediante la utilización de la energía almacenada, para la síntesis de nuevos compuestos, como proteínas, lípidos, etc.

Por lo general, la eficiencia del proceso es grande, perdiéndose realmente poca cantidad de energía en forma de calor. En materiales u órganos vegetales con una respiración muy activa, sin embargo, la temperatura puede subir marcadamente, como ocurre en algunas flores (hasta 30°C o más sobre la temperatura del ambiente), en semillas en germinación, estiércol o heno húmedo (respiración bacteriana).

Existen muchos factores que influyen en la intensidad de la respiración. Los órganos jóvenes en crecimiento respiran comúnmente mucho más que los adultos. Como factores externos (ambientales) deben mencionarse la temperatura, la concentración del oxígeno y del CO₂ en el medio ambiente, la presencia de sustancias que pueden servir como materia prima de la respiración, el grado de saturación del tejido con agua, efectos mecánicos como heridas, etc.

Objetivo

La pérdida de energía en forma de calor durante el proceso respiratorio puede demostrarse manteniendo material vegetal, que respira muy activamente, en botellas termos, lo que reduce grandemente la disipación del calor producido.

La producción de energía en la respiración está acompañada por una pérdida equivalente de material orgánico en los tejidos; cuánto más intensa es la respiración, más material se pierde. Durante la germinación de semillas la intensidad respiratoria es alta y gran parte de las reservas de ellas es utilizada como fuente de energía. A pesar de que el peso fresco de las plántulas aumenta debido a la absorción de agua, realmente se pierde materia, lo cual puede demostrarse con determinaciones del peso seco antes y después de la germinación.

La temperatura es uno de los factores ambientales más importantes que influyen en la respiración. Cuanto más alta es, mayor es la intensidad de la respiración, lo que fácilmente puede comprobarse determinando la pérdida de materia seca, poniendo lotes de semillas a germinar en ambientes con diferentes temperaturas.

Procedimiento y resultados

A. Liberación de energía en forma de calor

Con un fungicida en polvo trate una cantidad de semillas suficiente para llenar tres botellas termos hasta la mitad. Divídalas en tres lotes iguales. Llene una botella termos con un lote seco. Otro lote de semillas se expone una hora a una temperatura de unos 80°C y después de enfriarlas, se les embebe en agua durante 8 a 12 horas; déjelas escurrir y póngalas en otra botella termos. Embeba el último lote en agua durante igual tiempo que el anterior, sin exponerlo previamente a alta temperatura, e introdúzcalo, bien escudrido, en otra botella termos. Una cuarta botella termos se deja vacía para que sirva como testigo para determinar si hubo fluctuaciones de temperatura durante el experimento. Tape todas las botellas con un tapón hecho de algodón y en cada una introduzca un termómetro. Observe si hubo cambio de temperatura en las termos y haga anotaciones:

Tiempo	Temperatura en botella termos con:			Control
	Semillas secas	Semillas muertas	Semillas germinando	
1. día				
2. día				
3. día				
4. día				
5. día				

Discusión de los resultados:

B. Pérdida de materia seca y efecto de la temperatura

Pese tres lotes iguales de 50 g de semillas de maíz tratadas con un fungicida en polvo. Seque un lote en una estufa a 105°C durante 10 a 12 horas. Enfríelo y péselo.

Embeba los otros dos lotes separadamente en agua durante unas 12 horas y luego coloque las semillas de cada lote sobre varias hojas de papel absorbente en recipientes apropiados. Humedezca con agua de grifo, evitando exceso de ella, y tape los recipientes en forma que aún permita la entrada de aire. Cuando las semillas empiezan a germinar coloque uno de los grupos en un refrigerador; el otro lote, déjelo sobre la mesa en un lugar oscuro y moderadamente caliente (25° a 30°C).

Después de unas dos semanas, cuando las plántulas ya están bien desarrolladas, séquelas con un poco de papel absorbente y determine el peso fresco de cada lote. Luego expóngalas a una temperatura de 105°C durante 10 a 12 horas. Cuando estén frías, repita las pesadas (peso seco). Con los datos del primer lote calcule el contenido inicial de agua de los últimos lotes, factor que debe tomarse en cuenta al calcular la pérdida de materia seca durante la respiración y germinación.

(Peso inicial - cantidad de agua inicial = peso seco verdadero al iniciarse el experimento - peso seco después de la germinación = pérdida de materia seca).

Tratamiento	Peso inicial (g)	Peso fresco (g)	Peso seco (g)	Cantidad de agua inicial (g)	Pérdida de materia seca (g)	Pérdida de materia seca %	Temperatura
Secado 105°C	50	-			-	0	-
Agua	50						
Refrigerador	50						

Calcule el coeficiente térmico de la respiración (QR₁₀) con los datos obtenidos en este experimento:

Discusión de los resultados:

¿Por qué se utiliza la refrigeración para el almacenaje de frutas y vegetales?

Cite varias maneras en que usted procedería para disminuir la respiración de trigo almacenado en un silo.

¿Por qué las plantas pueden producir más materia seca (crecimiento) en un ambiente con días calurosos y noches frescas que en uno con días y noches calurosas?

Experimento 29.

Fecha

RESPIRACION ANAEROBICA**Introducción**

La respiración anaeróbica se caracteriza por la liberación de anhídrido carbónico sin la correspondiente absorción de oxígeno. Existen muchos microorganismos (anaerobiontes) que dependen exclusivamente de esta forma de respiración, pues solamente pueden vivir en ausencia de oxígeno, gas que resulta sumamente tóxico para ellos.

Durante la respiración anaeróbica la materia no es oxidada completamente por falta de oxígeno como aceptor del hidrógeno liberado en la segunda fase del proceso respiratorio. Pueden acumularse productos intermedios, como alcohol etílico, acetaldehído, ácidos orgánicos y otros, que a veces resultan muy tóxicos para el organismo. Con mucha frecuencia, si la provisión de oxígeno es insuficiente, puede haber tanto respiración aeróbica como anaeróbica en el mismo tejido u organismo. Luego, cuando nuevamente hay disponibilidad de oxígeno, se oxidan los productos intermedios acumulados.

En las plantas "superiores" generalmente la oxidación del substrato es completa, con la correspondiente absorción de oxígeno y liberación de anhídrido carbónico. Sin embargo, la mayoría de las plantas son capaces de efectuar temporalmente respiración anaeróbica cuando están privadas de oxígeno. En tal caso la intensidad de la respiración disminuye después de algún tiempo, y tarde o temprano las plantas u órganos mueren por sofocación, fenómeno que ocurre con frecuencia en raíces y plantas en suelos saturados de agua.

Algunas plantas son más afectadas que otras por la falta de oxígeno. Tejidos especializados, como el aerénquima, que facilita la difusión de gases hasta las partes que se encuentran en un ambiente carente de oxígeno, permiten a las plantas vivir en condiciones desfavorables para una respiración aeróbica. Muchas semillas son relativamente resistentes y pueden sobrevivir perfectamente por algún tiempo en condiciones anaeróbicas; las de arroz pueden hasta germinar y las plántulas pueden desarrollarse en condiciones desfavorables para la respiración aeróbica.

Objetivo

Manteniendo semillas en un ambiente libre de oxígeno puede demostrarse su capacidad de respirar anaeróbicamente.

La muerte de plantas en mercurio sirve para demostrar que órganos o plantas que normalmente respiran en forma aeróbica no pueden soportar por mucho tiempo condiciones anaeróbicas, por la acumulación de productos intermedios venenosos y por la poca energía liberada. La presencia del trastorno de las papas conocido con el nombre de "corazón negro" también indica respiración anaeróbica. Como con temperaturas altas la intensidad de respiración es mayor, éstas tienden a favorecer el desarrollo de dicho disturbio fisiológico cuando hay escasez de oxígeno.

Procedimiento y resultados**A. Demostración de la respiración anaeróbica en semillas**

Llene un tubo de vidrio pequeño con mercurio. Tápele con un dedo e inviértalo en un recipiente pequeño, también lleno de mercurio. Este recipiente debe estar todo el tiempo dentro de una palangana grande para evitar la pérdida accidental del metal venenoso. Si quedan burbujas en el tubito, repita el procedimiento. También es posible, después de llenar el tubito, taponarlo con un tapón de goma, excluyendo cualquier burbuja que haya. Después de invertirlo y sumergir la boca en el mercurio del recipiente, se saca el tapón con un objeto punzante.

Levante luego el tubito un poco e inclínelo, sin sacarlo del mercurio en el recipiente. Con la ayuda de unas pinzas introduzca unas tres o cuatro semillas de frijol o guisante, embebidas previamente durante varias horas en agua.

Durante varios días observe lo que sucede. Para la identificación de cualquier gas producido, coloque en la misma forma como se hizo con las semillas, unas dos o tres pastillas mojadas de hidróxido de sodio o

potasio. No las toque con los dedos, use pinzas. Al terminar el experimento no olvide lavar el mercurio varias veces con agua, secándolo cada vez con papel absorbente.

Discusión de los resultados:

B. Efecto nocivo de la respiración anaeróbica

Tome cuatro frascos con tapa de rosca y llénelos con papas grandes. Tape dos de los frascos muy bien; ponga una faja de vaselina alrededor de la tapa para asegurarse de que el intercambio de gases no es posible.

Coloque uno de los frascos tapados y uno abierto en una incubadora o lugar caliente (30° a 35°C). Mantenga los otros dos a una temperatura baja, no inferior de 6° a 8°C. (Refrigerador o lugar fresco).

Después de unos 10 a 12 días abra los frascos y corte las papas en su centro. Observe la presencia del trastorno fisiológico "corazón negro" debido a la respiración anaeróbica.

Corazón negro	Incubadora: Frasco		Refrigerador: Frasco	
	abierto	cerrado	abierto	cerrado
Sí				
No				

Discusión de los resultados:

¿Por qué es necesaria la presencia de oxígeno durante el almacenamiento de papas y de otros productos vegetales?

Indique varias maneras en que los tubérculos almacenados pueden producir alteraciones en su propio ambiente.

¿Cuál es la adaptación anatómica más importante que permite a ciertas plantas vivir en pantanos u otros lugares con poco oxígeno?

COCIENTE RESPIRATORIO Y MEDICION DE LA RESPIRACION

Introducción

La intensidad respiratoria se determina generalmente por medio de la cantidad de oxígeno absorbido o de la cantidad de anhídrido carbónico liberado (o por ambas), siendo la segunda forma la más usada. Sin embargo, ninguna de las dos representa una medida tan exacta como lo sería la determinación de la cantidad de energía liberada, mas esto resulta imposible.

Solamente en el caso de la respiración aeróbica existe intercambio de gases. La cantidad de oxígeno consumido y la cantidad de anhídrido carbónico liberado son iguales cuando p. e. una hexosa sirve de substrato para la respiración, por cuanto en este caso el cociente respiratorio (Q_R) resulta ser 1:

$$Q_R = \frac{\text{volumen de CO}_2 \text{ liberado}}{\text{volumen de O}_2 \text{ absorbido}} = \frac{1}{1} = 1$$

Cuando se utilizan grasas como materia prima para la respiración, el Q_R es menor de 1, generalmente alrededor de 0.7, pues se necesita más oxígeno para oxidar todos los átomos de carbono e hidrógeno de las grasas, ya que las moléculas de éstas contienen relativamente menos oxígeno que los carbohidratos. Un valor parecido se obtiene también con las proteínas.

Cuando ácidos orgánicos sirven de substrato el cociente respiratorio es mayor de 1; en el caso del ácido oxálico es 4. El cociente respiratorio puede usarse, con ciertas limitaciones, para sacar conclusiones sobre el material respirado.

La determinación de la cantidad de anhídrido carbónico liberado puede hacerse pasando una corriente de aire libre de este gas sobre determinada cantidad del material vegetal en estudio en un sistema cerrado. Al hacer pasar luego el aire por una disolución de un álcali, como hidróxido de bario, el CO_2 es absorbido, formándose carbonato de bario, el cual es insoluble. Por titulación de la alcalinidad restante con un ácido puede determinarse al final del experimento la cantidad de CO_2 producida por la respiración.

Objetivo

La primera parte del experimento se dedica al estudio del cociente respiratorio. Cuando dicho cociente es exactamente 1 no se produce un cambio de volumen durante la respiración aeróbica (hasta agotarse el oxígeno), igualándose la cantidad de CO_2 liberado y de O_2 absorbido. Como se verá, tal es el caso de semillas que tienen almidón como sustancia de reserva. En las que contienen principalmente grasas, el cociente será menor de 1, con el consiguiente cambio del volumen.

En la segunda parte se estudiará la diferencia de la intensidad respiratoria entre semillas secas y embebidas, para lo cual se utilizará el cambio de alcalinidad al formarse carbonatos.

En material vegetal que respira poco, como en semillas secas, la determinación de CO_2 desprendido de una muestra pequeña es bastante difícil. Si se trata de averiguar solamente en forma cualitativa si hay respiración o no, puede usarse una sustancia indicadora que cambie de color al actuar como aceptor del hidrógeno. Para tal fin se usará cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio, sustancia incolora, que por hidrogenación, debida a la actividad de ciertas enzimas respiratorias, cambia a formazona, de color rojizo. La reacción es muy usada para estimar la viabilidad de las semillas.

Procedimiento y resultados

A. Cociente respiratorio

Obtenga semillas de maíz germinadas en las cuales la radícula esté apenas visible, y escoja las 20 mejores. En una bureta de 25 ml introduzca 10 semillas y luego fíjelas con un poco de algodón en el fondo.

En otra bureta ponga las semillas restantes en igual forma. En una tercera bureta introduzca 10 semillas de *Ricinus* apenas germinadas, y fíjelas también con algodón.

En posición invertida introduzca el extremo abierto de la primera bureta con maíz en un pequeño recipiente con KOH al 25%. Fije la bureta en esa posición por medio de una prensa y un soporte. En igual posición introduzca la otra bureta con maíz en un recipiente con mercurio y fíjela. La que contiene *Ricinus* debe sumergirse también en mercurio. Una bureta sin semillas, introducida en agua, servirá como testigo para determinar cualquier cambio de volumen debido a fluctuaciones de temperatura durante el experimento.

Con la ayuda de un tubo delgado de goma, introducido sobre la salida de la llave de la bureta, ajuste con la boca el nivel del líquido en todas las buretas a la marca 0. Asegúrese de que las llaves estén herméticamente cerradas. Observe después del tiempo indicado y anote cualquier cambio de volumen que se produzca, utilizando la graduación de la bureta como medida.

Tratamiento	Observación después de:					
	6 horas	12 horas	1 día	2 días	4 días	1 semana
Testigo						
Maíz en KOH						
Maíz en Hg						
<i>Ricinus</i> en Hg						

Discusión de los resultados:

B. Medición del CO₂ liberado

Construya un aparato para la medición del CO₂ en la forma que indica la Figura 12. Consiste de tres recipientes interconectados; el primero, al lado de la entrada del aire, sirve para la absorción del CO₂ que contiene el aire; el frasco central contiene la muestra en estudio, y el tercero una disolución de hidróxido de bario, la cual absorbe el CO₂ producido por la respiración.

Llene las dos terceras partes del primer recipiente con una disolución de hidróxido de sodio al 25%, recién preparada. Llene el frasco destinado a la muestra con 400 g de semillas de maíz secas. Deje el tercer frasco vacío. Por medio de una trompa (aspirador) o una pequeña bomba aspire aire por el sistema, regulando la velocidad del flujo por medio de una prensa de tornillo hasta el punto en que le permita distinguir cada burbuja formada al pasar el aire por el líquido del primer recipiente.

Después de unos minutos interrumpa el flujo del aire e introduzca una parte alcuota (50 o 75 ml, según la capacidad del recipiente) de la disolución de hidróxido de bario en el último recipiente. Anote el

tiempo y continúe aspirando por espacio de una hora. Interrumpa otra vez el proceso, y con una pipeta saque del último recipiente una parte alícuota de 10 ml. En un pequeño recipiente, agregue a ésta unas 3 a 4 gotas de fenolftaleína en alcohol. Mezcle y titule contra una disolución de ácido clorhídrico al 0.1N hasta que justamente desaparezca el color rosado. Si no encuentra una diferencia marcada entre el valor obtenido y la titulación del blanco (véase más abajo), renueve la disolución de hidróxido de bario y repita el proceso, aumentando el tiempo considerablemente.

Luego efectúe una segunda medición usando semillas de maíz germinadas, provenientes de 100 g de semillas secas que oportunamente fueron puestas a germinar. Tenga cuidado de reducir el tiempo a unos 5 o 10 minutos y agregue unas gotas de fenolftaleína a la disolución de hidróxido de bario antes de empezar. En caso de que el color desaparezca interrumpa el experimento, anote el tiempo, aunque no sean los cinco minutos y proceda a titular. Repita la titulación de una parte alícuota igual y anote el valor obtenido. Calcule la cantidad de CO₂ producido (en mg) por cada 100 g de material en el espacio de una hora.

Titulaciones:

Blanco ml ácido	Semillas secas		Semillas germinadas	
	ml ácido	mg CO ₂ /100 g/h	ml ácido	mg CO ₂ /100 g/h

Efectúe una titulación en blanco, utilizando también 10 ml de la disolución de hidróxido de bario. Del valor obtenido reste la cantidad (en ml) de ácido gastado en la titulación de la primera muestra. Con el valor obtenido calcule la cantidad de CO₂ producida y repita la operación para la segunda muestra:

$$D \times N \times 22 = \text{mg CO}_2$$

- D = Diferencia encontrada (blanco - muestra)
N = Normalidad del ácido usado

NOTA: esta cantidad calculada se refiere únicamente al contenido de CO₂ en la parte alícuota titulada.

Discusión de los resultados:

C. Prueba de respiración

Caliente unas cuantas semillas de frijol, maíz o trigo a unos 100°C durante 15 minutos. Enfrélas y efectúe en cada una un corte que exponga el embrión.

Proceda en igual forma con otro lote de semillas sin calentar. Luego sumerja los dos lotes en una disolución acuosa al 1% de cloruro de trifeniltetrazolio y observe la aparición de un color rojizo en las semillas que respiran.

¿Qué indica el ascenso del KOH? ¿Por qué sube la disolución del KOH y qué altura máxima podría alcanzar?

¿Cambiaría la altura máxima del líquido de la bureta sumergida en KOH al introducir en ella 10 ml de CO_2 ; 10 ml de O_2 ; 10 ml de N_2 ?

¿Cómo explica usted el comportamiento del mercurio en la bureta con maíz, después de un día; después de una semana? ¿Qué habría pasado en esta bureta después de un día, si en vez de aire en la bureta hubiera existido una atmósfera de helio al empezar el experimento?

Experimento 31.

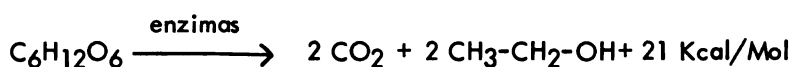
Fecha

FERMENTACION ALCOHOLICA

Introducción

Fermentación es una forma de respiración anaeróbica, llamada también respiración intramolecular. El término fermentación generalmente se reserva para la actividad de algunos microorganismos, como ciertos hongos y bacterias. Los productos de la fermentación son muy variados, según el sustrato, el microorganismo y los factores que gobiernan el proceso. Algunos de los productos más conocidos son: alcohol etílico, ácido láctico, ácido butírico, ácido cítrico y ácido acético; el tipo de fermentación se designa de acuerdo con el producto obtenido. La presencia de oxígeno gaseoso es necesaria para algunas fermentaciones, por ejemplo, la fermentación oxidativa de alcohol etílico para formar ácido acético (vinagre).

La fermentación alcohólica se efectúa en ausencia de oxígeno molecular; es un proceso muy conocido, y el vino y la cerveza son los productos primarios más importantes. El primer paso en el proceso de fermentación, la glucólisis, tiene lugar en igual forma que en la respiración aeróbica. En vez de que el ácido pirúvico formado entre en el ciclo de Krebs y sea oxidado completamente, en la fermentación alcohólica ocurre una descarboxilación de ese ácido, formándose acetaldehído; esta sustancia sirve luego, en lugar del oxígeno gaseoso del aire como aceptor del hidrógeno y se forma alcohol etílico; este proceso es mucho menos eficiente que la respiración aeróbica, en lo que se refiere a la energía liberada:



Como materia prima para la fermentación alcohólica se utilizan generalmente jugos de frutas, los cuales contienen mucha glucosa y fructuosa; igualmente es fácil de fermentar el azúcar corriente (sacarosa). Sin embargo, no todos los azúcares pueden servir como sustrato para las levaduras. Tampoco puede fermentarse almidón por cuanto las células de la levadura (*Saccharomyces*) carecen de la enzima diastasa (amilasa). Por esa razón en la fabricación de la cerveza se usa malta (cebada germinada desecada) en lugar del grano mismo, pues durante la germinación se produce gran cantidad de esa enzima en la plántula y la mayor parte del almidón se convierte en azúcares fermentables.

Durante el proceso de fermentación uno de los productos, el CO_2 , escapa constantemente, mientras que el alcohol etílico se acumula. Si la proporción de alcohol etílico en el líquido llega a cierto nivel inhibe la actividad de la levadura, aunque no todo el azúcar haya sido fermentado. El nivel de alcohol tolerado es una de las características de la raza de levadura empleada; por regla general no excede de 15% a 18%.

Objetivo

En este experimento se hará primeramente una demostración de la fermentación alcohólica, utilizando sacarosa como sustrato a fermentar. La formación de CO_2 puede apreciarse por su precipitación en forma de carbonato de bario. Al destilar, se obtiene alcohol.

Se comprobará que no todos los azúcares pueden servir de sustrato para la levadura preparando disoluciones de varios glúcidos comunes e inoculándolas con levadura.

Una disolución con una concentración demasiado alta de azúcar (miel de abejas; jaleas) no puede ser fermentada por las levaduras debido a su alta concentración osmótica, lo que permite su almacenamiento sin necesidad de esterilización. Al ser diluida, sí se fermenta, lo cual se puede comprobar fácilmente.

Procedimiento y resultados

A. Proceso de fermentación

Llene un Erlenmeyer u otro frasco apropiado hasta la mitad con una disolución de sacarosa al 10%. Agregue un poco de levadura seca y agite. Tape el frasco con un tapón de goma perforado, después de haber introducido en el hueco del tapón un tubo de vidrio en forma de "U", en posición invertida. El brazo libre de este tubo, que se dirige hacia abajo, se sumerge en un frasco que contiene una disolución saturada de

Ba(OH)_2 o de Ba(Cl)_2 (Figura 13). Observe la intensidad del proceso durante el transcurso de varios días, utilizando el flujo de burbujas por unidad de tiempo como indicador de la intensidad. Observe también la formación de carbonato de bario.

Una vez que haya cesado la formación de CO_2 reemplace el tapón con el tubo "U" por uno con un tubo doblado en ángulo agudo que entre en un refrigerante de vidrio. Por medio de tubos de goma conecte éste con la tubería de agua, teniendo en cuenta que la entrada quede en la parte baja del refrigerante. Después de colocar un recipiente debajo de la salida del refrigerante, caliente el líquido hasta que se haya destilado una pequeña cantidad de alcohol, cuya presencia puede comprobarse saboreándolo; al incendiarse se quema con una llama azul sin producir hollín.

Discusión de los resultados:

B. Utilización de azúcares y almidón por la levadura

Prepare 100 ml de una disolución al 2% de los glúcidos siguientes: sacarosa, glucosa, fructosa, maltosa, lactosa, galactosa, y almidón. Después de agregar a cada una un poco de levadura seca, agite para que ésta se disuelva. Con la primera disolución llene un tubo de ensayo completamente. Vacíe el resto de la misma en un recipiente pequeño. Tape el tubo con un dedo e introdúzcalo invertido en dicho recipiente. También es posible tapar el tubo, sin dejar burbujas, flojamente con un tapón de goma; inviértalo y saque el tapón con un objeto punzante debajo del líquido. Si se forma una burbuja debe repetirse el proceso.

Proceda en igual forma con las demás disoluciones, identificando los contenidos en los tubos o recipientes. Observe después de dos o tres días en cuáles tubos hubo fermentación.

	Sacarosa	Glucosa	Fructosa	Maltosa	Lactosa	Galactosa	Almidón
Fermentación							

Discusión de los resultados:

C. Efecto de la concentración

1. Llene una botella pequeña hasta la mitad con una disolución de sacarosa concentrada (tres partes de azúcar: una parte de agua). Agregue un poco de levadura y tape con un tapón de algodón o con una trampa similar a la usada anteriormente.

Como testigo use una disolución más diluida (una parte de azúcar: seis partes de agua).

2. En lugar de la disolución de sacarosa concentrada, use esta vez miel de abeja sin diluir y diluida con agua en proporción 1:6. Después de dos días observe si hubo fermentación en ambos casos.

	Sacarosa		Miel	
	concentrada	diluida	concentrada	diluida
Fermentación				

Discusión de los resultados:

¿Cómo explica usted la poca cantidad de energía liberada en la fermentación alcohólica?

¿Cómo se preparan bebidas tales como whiskey, coñac y ron, con un contenido tan alto de alcohol?

¿Cómo procedería usted para preparar vinagre en vez de alcohol, de un jugo de frutas?

Capítulo X

ALGUNOS CONSTITUYENTES DE LAS PLANTAS

Experimento 32.

Fecha

REACCIONES CUALITATIVAS DE LAS PROTEINAS

Introducción

El protoplasma, sustancia fundamental de la vida, está compuesto principalmente de proteínas. Las proteínas tienen moléculas relativamente grandes (macromoléculas), de estructura muy complicada; consisten aproximadamente de 50% de carbono, 7% de hidrógeno y 16% a 18% de nitrógeno; el resto lo ocupa el oxígeno, y una cantidad muy pequeña de azufre. Las proteínas forman dispersiones coloidales cuando son disueltas en agua.

Al hidrolizar proteínas puede comprobarse que están formadas por unidades más sencillas y pequeñas: los aminoácidos. Como parte esencial éstos tienen por lo menos un grupo de $-COOH$ y uno o más de $-NH_2$. Existe solamente un número limitado de aminoácidos, alrededor de 30, y por múltiples combinaciones de ellos se forman las complicadas moléculas de las proteínas. Por las numerosísimas combinaciones que son posibles, puede explicarse que cada especie o individuo, tanto animal como vegetal, pueda producir sus proteínas características y específicas.

No existe un sistema de clasificación de proteínas enteramente satisfactorio. Pueden distinguirse dos grandes grupos: proteínas compuestas y proteínas sencillas. Las proteínas compuestas o proteidos son sustancias formadas por la combinación de una proteína con algún compuesto o compuestos que no sean sales; los nucleoproteidos p. e., son combinaciones de proteínas con un ácido nucleico (nucleínico) que contiene fósforo y constituyen el material básico de los genes. Las proteínas están combinadas con carbohidratos en los glucoproteidos, con lípidos en los lipoproteidos, y los cromoproteidos se originan por combinación con un compuesto colorado como p. e. el hem.

La clasificación de las proteínas sencillas, que consisten solamente de aminoácidos, es un tanto difícil por desconocerse en gran parte su composición química. Por esa razón se prefiere una clasificación física, principalmente a base de diferencias en solubilidad.

Algunas de las proteínas sencillas importantes en los vegetales son: las albúminas, solubles en agua y en disoluciones diluidas de sales neutras; tienen un peso molecular relativamente bajo, coagulan con calor y son muy abundantes en la naturaleza. Las globulinas, que no son solubles en agua pero sí en disoluciones diluidas de sales neutras, coagulan también con calor y constituyen gran parte de las proteínas de reserva junto con las glutelinas, que son solubles en disoluciones alcalinas y en ácidos diluidos. Las prolaminas o gliadinas son solubles solamente en alcohol etílico de 70% a 80%. Todas estas proteínas aparecen principalmente como material de reserva en semillas y otros órganos.

Objetivo

En este experimento no se tratará de identificar las proteínas por su solubilidad, sino que se darán algunas reacciones químicas que sirven para identificar proteínas en general.

La primera reacción, la de biuret, es típica para los compuestos que tienen dos grupos carbamilo unidos directamente, o por átomos de C. Otras reacciones identifican solamente uno o varios aminoácidos específicos, pero por la presencia general de éstos en cada proteína es posible también utilizar estas reacciones como típicas para las proteínas enteras.

Procedimiento y resultados

- A. Tome frijoles que hayan estado en remojo durante varias horas; quite la cubierta seminal y separe los cotilédones.
- B. Agite aproximadamente 10 g de polvo de frijol (frijoles secos molidos) con unos 50 ml de una disolución de NaCl al 5%. Después que se haya sedimentado un poco decante y filtre el extracto a través de papel de filtro cualitativo.

Reacciones

1. Reacción de biuret

Tome unos 3 ml del extracto en un tubo de ensayo. Agregue 1 ml de una disolución de hidróxido de sodio al 50%. Añada luego dos gotas de sulfato de cobre al 5%. Observe el color morado violeta. Si fuera necesario caliente un poco el tubo.

2. Reacción de Millon

Coloque unos cotilédones en un tubo de ensayo. En otro eche unos 5 ml del extracto. Agregue a cada tubo unas 40 gotas de reactivo de Millon (nitrato de mercurio en ácido nítrico o sulfato de mercurio en ácido sulfúrico) y caliente con cuidado. Al añadir unas gotas de una disolución de nitrito de sodio al 2%, los cotilédones y el precipitado se tornan rojizos. Este color indica la presencia de tirosina, molécula que tiene un grupo fenólico.

3. Reacción de triptófano

En un tubo de ensayo agregue a unos 3 ml del extracto tres gotas de una disolución de formaldehído al 0.2% y después 10 gotas del reactivo de Millon (sulfato de mercurio). Mezcle bien. Con mucho cuidado añada al tubo unos cuantos mililitros de ácido sulfúrico concentrado. Mantenga el tubo en una posición un poco inclinada para que el ácido se acumule en el fondo sin mezclarse con el contenido del tubo. Observe la formación de un anillo morado entre el ácido sulfúrico y el líquido. Después mezcle el contenido del tubo gradualmente, con mucho cuidado; aparecerá un color morado intenso que indica la presencia de triptófano.

4. Reacción de xantoproteína

En un tubo de ensayo cubra unos cuantos cotilédones con ácido nítrico concentrado. Caliente un poco con mucho cuidado. El color amarillo intenso es característico de los aminoácidos cíclicos, con un núcleo de benceno, tales como: tirosina, fenilalanina y triptófano. Después de enfriar el contenido del tubo, neutralícelo con amoníaco concentrado, aplicándolo gota a gota. Sea extremadamente cuidadoso y mantenga la boca del tubo alejado de usted. El color amarillo debe cambiar a anaranjado.

5. Reacción de ninhidrina

Coloque unos cotilédones en un tubo de ensayo y cúbralos con agua; coloque en otro tubo unos cuantos mililitros del extracto. Agregue a ambos tubos unas gotas de una disolución de ninhidrina al 1% en alcohol etílico de 95%. Caliente los tubos. El color azul morado indica la presencia de proteínas. Esta reacción es típica tanto para proteínas como para aminoácidos, en los cuales sirve de base para una determinación cuantitativa.

Discusión de los resultados:

¿Por qué se utilizó una disolución de cloruro de sodio para la extracción de las proteínas de la semilla de frijol?

¿Por qué la piel de los dedos se torna amarilla después del contacto con el ácido nítrico concentrado?

¿Cuál reacción de las estudiadas considera usted como la mejor "reacción para proteínas"?

Experimento 33.

Fecha

CARBOHIDRATOS**Introducción**

Los carbohidratos recibieron su nombre por creerse que por cada átomo de carbono contenían hidrógeno y oxígeno en la misma proporción en que estos dos elementos se encuentran en el agua $(\text{CH}_2\text{O})_n$, lo cual solamente es cierto para la mayoría de los carbohidratos. También se les llama glúcidos, término que es más específico. El grupo de carbohidratos está compuesto por un número grande de sustancias muy diversas. Algunas sirven como material estructural en la pared celular, o de reserva, mientras que otras forman el material básico del metabolismo. Químicamente casi todos los carbohidratos son derivados ceto o aldehído de polialcoholes. Pueden clasificarse en monosacáridos (azúcares simples) y sus derivados, oligosacáridos (azúcares compuestos), y polisacáridos, con un peso molecular muy alto. Los dos últimos grupos se derivan de azúcares simples por condensación (pérdida de agua); pueden considerarse pues, como polímeros deshidratados de los monosacáridos.

Los monosacáridos, por lo general sólidos blancos y de sabor dulce, se distinguen por el número de átomos de carbono que los componen. Los más comunes son: triosas, tetrosas, pentosas, hexosas y heptosas. En las plantas los monosacáridos están representados principalmente por pentosas y hexosas, siendo los demás importantes casi exclusivamente como productos intermedios, transitorios, en la fotosíntesis y en la respiración.

La celulosa, un polisacárido, es el carbohidrato más abundante en el mundo, constituyendo el componente principal de las paredes celulares. Está formada por macromoléculas de cadena larga, la unidad de las cuales constituye la β -glucosa.

Mientras que la celulosa es el polisacárido estructural característico de la célula vegetal, el almidón, otro polisacárido, sirve como principal material de reserva de las plantas. Químicamente es parecido a la celulosa, pero está formado por α -glucosa. Consiste de dos fracciones, la amilosa de macromoléculas de cadena larga, y la amilopectina de macromoléculas ramificadas.

Objetivo

Existen muchas reacciones, algunas específicas y otras no, que permiten identificar ciertos carbohidratos o grupos completos de éstos. En este experimento se observarán varias de estas reacciones.

En general puede efectuarse una identificación de carbohidratos con la ayuda de timol y de ácido sulfúrico concentrado.

Las pentosas pueden ser identificadas por los compuestos coloreados que forman con orcinol o benzidina.

Los azúcares que reducen debido a la presencia de un grupo activo, pueden ser identificados por medio de las reacciones de Fehling o de Benedict, en las que se produce óxido cuproso, precipitado de color rojizo-marrón. La sacarosa no da una reacción positiva sin ser previamente hidrolizada (inversión) (véase el Experimento 22).

Al hidrolizar los polisacáridos celulosa y almidón por medio de ácidos, se obtiene glucosa, cuya presencia puede comprobarse por medio de la reacción de Fehling.

Procedimiento y resultados**A. Reacción de glúcidos en general**

Ponga en un tubo de ensayo una pizca del material en prueba (azúcar corriente, goma arábica, aserrín, fibras de papel, pulpa de fruta, etc.); añada unos 3 ml de agua destilada y de 5 a 6 gotas de timol al 5% disuelto en alcohol etílico de 95%. Mezcle bien. Luego, manteniendo el tubo en posición inclinada, con muchísimo cuidado agregue suficiente ácido sulfúrico concentrado hasta una cantidad más o menos igual al de la fase acuosa, debajo de ésta. El anillo de color rosado marrón que se forma entre el ácido y la fase acuosa indica la presencia de un glúcido. Mezclando cuidadosamente, el color se extiende y se intensifica.

B. Reacción de pentosas

En un tubo de ensayo a una pizca de una pentosa, p. e. xilosa o arabinosa, agregue de 15 a 20 gotas de agua destilada. En igual forma prepare tubos con goma arábica, glucosa y sacarosa pura. En otro tubo eche un poco de tejido macerado de una planta suculenta. Agregue a todos los tubos unos 2 ml del reactivo de Bial y de tres a cuatro gotas de una disolución al 1% de cloruro férrico en agua; ambas disoluciones deben ser de preparación reciente. Caliente los tubos y hierva su contenido lentamente por un minuto. Espere un rato. El color verde intenso indica la presencia de pentosas.

Anotación de observaciones:

C. Azúcares que reducen

Ponga en diferentes tubos de ensayo una pizca de glucosa, de fructosa, de sacarosa pura y de maltosa. Disuelva los azúcares en unos 3 ml de agua destilada. En otro tubo eche un poco de pulpa de fruta y suspéndala en igual cantidad de agua.

En un tubo aparte disuelva una pizca de sacarosa pura en unos 5 ml de agua destilada. Agregue tres gotas de ácido sulfúrico concentrado y hierva el contenido lentamente por unos minutos. Enfríelo y proceda de la manera siguiente: añada a todos los tubos, unos 5 ml de licor de Fehling y caliéntelos hasta que su contenido hierva. Observe en cuáles se forma el precipitado característico.

Anotación de observaciones:

D. Polisacáridos

1. En un tubo de ensayo suspenda una pizca de almidón y en otro una pizca de inulina en unos 3 ml de agua. Agregue a cada tubo unos 5 ml de reactivo de Fehling y efectúe la prueba.

Repita en otros tubos de ensayo, pero hierva tanto el almidón como la inulina previamente con dos gotas de ácido sulfúrico concentrado durante varios minutos.

2. Disuelva aproximadamente 1 g de algodón en unos 15 ml de ácido sulfúrico al 80%. Después de disuelto vacíe la disolución obtenida con muchísimo cuidado en un recipiente que contenga unos 100 ml de agua destilada. Tome una parte alcuota de unos 20 ml y neutralícela con NaOH al 25% gota por gota, utilizando papel tornasol como indicador. Luego efectúe la reacción de Fehling.

Anotación de observaciones:

Discusión de los resultados:

¿Por qué a la hidrólisis de la sacarosa también se le llama inversión?

¿Cómo procedería usted para producir alcohol, partiendo de celulosa?

¿Qué clase de azúcares da una reacción positiva con el licor de Fehling y cuál es el proceso químico de ésta?

Capítulo XI

CRECIMIENTO Y REGULADORES DE CRECIMIENTO

Experimento 34.

Fecha

ZONAS DE CRECIMIENTO

Introducción

El crecimiento es un proceso fisiológico muy complicado y depende de la mayoría de los otros procesos que tienen lugar en una planta, como fotosíntesis, respiración, absorción de agua y de sustancias nutritivas minerales, etc. Generalmente se le define como un aumento irreversible de volumen que puede o no estar acompañado de un incremento en materia seca. Fases separadas del crecimiento, como la multiplicación del número de células, el aumento de su tamaño o del contenido protoplasmático, se utilizan también a veces para definir este proceso.

El término crecimiento se refiere realmente a una medida cuantitativa con respecto al aumento del cuerpo de un organismo, mientras que el concepto de diferenciación es cualitativo e implica cambios estructurales que acompañan o siguen a la división y alargamiento celular. Bajo diferenciación deben entenderse tanto cambios morfológicos y anatómicos como fisiológicos. Sin embargo, es muy difícil separar crecimiento y diferenciación, pues ésta siempre acompaña al crecimiento.

Por lo general el crecimiento no tiene lugar en todas las partes de una planta. Existen ciertas zonas en las cuales se efectúa predominantemente: las zonas meristemáticas o meristemas. Estas son zonas que consisten de células embrionales que tienen -aunque quizás por mucho tiempo en estado inactivo como en las yemas- la capacidad de multiplicarse por divisiones constantes. Las divisiones celulares tienen lugar principalmente en el punto vegetativo, o sea en el meristema mismo, mientras que en la zona adyacente inferior las células se alargan rápidamente, siendo ésta la zona de mayor crecimiento. Como resultado del alargamiento y de la diferenciación subsiguiente se forman nuevos tejidos a partir de las nuevas células.

Pueden distinguirse meristemas primarios -los que persisten desde el embrión de la semilla, como meristemas apicales del vástago y de la raíz principal- y secundarios, que se forman a partir de tejido adulto, ya diferenciado, como el corcho, raíces laterales, crecimiento secundario en grosor, etc. El crecimiento que se origina a partir del meristema apical primario se denomina crecimiento primario, y cuando ocurre a partir de un meristema secundario se llama crecimiento secundario.

Las hojas se forman a partir de los esbozos o primordios foliares y tienen por regla general un crecimiento limitado. En algunas hojas, como las de las gramíneas, el ápice se desarrolla primero, continuando la hoja su crecimiento a partir de un meristema intercalar basal. En los helechos ocurre lo contrario, o sea que el ápice foliar se desarrolla de último. En la mayoría de las hojas de las dicotiledóneas el crecimiento se efectúa en forma uniforme en toda la lámina. Las divisiones celulares se detienen tempranamente, y el crecimiento de la hoja continúa por elongación o expansión de las células existentes.

Objetivo

Este experimento tiene como propósito observar la limitación del crecimiento a ciertas zonas determinadas de las plantas, las regiones meristemáticas. Por medio de marcas, hechas a intervalos pequeños y regulares en el tallo, raíz y hojas, pueden identificarse las zonas activas de crecimiento.

Procedimiento y resultados

A. Tallo

En una maceta siembre varias semillas de guisante y cultívelas en un lugar oscuro. Cuando las plántulas hayan alcanzado unos 5 a 8 cm escoja dos de las mejores y elimine las demás. Con un hilo mojado con tinta china, extendido entre los brazos de una horqueta hecha de alambre flexible (Figura 14 A), marque el tallito de una plantita desde la yema apical hasta su base a intervalos regulares de 2 mm con tinta china (Figura 14 B). Deje la otra planta como testigo. Observe después de uno y varios días en cuál región se separaron las marcas.

Anotación de observaciones:

B. Raíz

Escoja entre plántulas de maíz germinadas sobre papel de filtro dos que tengan una raíz principal de 3 a 4 cm de longitud y que hayan crecido bien rectas. En la misma forma que marcó el tallo, marque rápidamente, para evitar secamiento, toda la raíz a intervalos regulares de 2 mm también con tinta china (Figura 14 A). Fije la plántula por medio de un alfiler que perfora el endosperma sobre la pared vertical de un bloque o tabla de madera. Como testigo, para descubrir cualquier efecto nocivo de la tinta china, coloque en igual forma una plántula sin marcar al lado de la anterior. Introduzca la madera en un frasco grande de vidrio, que tenga un poco de agua en su fondo y tápelo ligeramente (véase también la Figura 17). Observe en cuál región de la raíz se efectuó el crecimiento.

Anotación de observaciones:

C. Hojas

1. En una plántula de maíz (de unos 10 a 15 cm de altura) que esté creciendo en una maceta, remueva por completo con muchísimo cuidado las hojas basales, exponiendo así la base de las hojas más jóvenes. Marque una de éstas desde el ápice hasta su base en el nudo con rayitas equidistantes (2 mm) y observe después de uno y varios días.

Anotación de observaciones:

2. Tome una planta de frijol que esté creciendo en una maceta y que tenga por lo menos el primer par de hojas bien desarrolladas. escoja una hoja joven cuyo tamaño sea la cuarta o quinta parte del normal. Con el hilo haga marcas equidistantes a 2 mm en dos direcciones de manera que se forme una cuadrícula según la Figura 14 C. Observe el crecimiento de la hoja después de uno y varios días.

Anotación de observaciones:

Discusión de los resultados:

¿Cuál es la diferencia entre crecimiento y desarrollo?

¿Qué importancia tiene la respiración para el crecimiento de una planta?

¿Cómo explica usted que la región de mayor velocidad de crecimiento se encuentre a cierta distancia del ápice, a pesar de que este último constituye la región donde ocurre el mayor número de divisiones celulares?

Experimento 35.

Fecha

NECESIDAD DE AGUA Y DE LUZ PARA EL CRECIMIENTO**Introducción**

La constitución genética (genotipo) de un organismo fija límites definidos con respecto a su crecimiento y desarrollo, o sea que regula aquellos hasta en sus más pequeños detalles. Sin embargo, el crecimiento de una planta no se efectúa exclusivamente por acción de los factores hereditarios que le han sido transmitidos por sus progenitores, sino que está también influenciado por las condiciones ambientales bajo las cuales se desarrolla. Sin embargo, los factores ambientales sólo son capaces de inducir modificaciones que no son hereditarias, ya que una planta tendrá siempre el aspecto de la misma especie, sea cual fuere su tamaño, o que produzca o no flores. Se puede decir que tanto la constitución genética como el ambiente, por medio de interacciones que afectan los procesos y condiciones internas, trabajan en forma interdependiente para producir el desarrollo y comportamiento del individuo en un lugar determinado (fenotipo).

Como el crecimiento es un proceso sumamente complicado dependiente de otros procesos, en parte ya estudiados en experimentos anteriores, no es de extrañar que exista un número grande de factores ambientales que lo afectan. El ambiente es realmente un complejo muy difícil de analizar por la interdependencia de sus factores, siendo casi imposible estudiar cada uno de ellos separadamente.

Hay que diferenciar los factores directos, como la temperatura, de los indirectos, como precipitación, concentración de CO₂ en el aire, etc., que influyen en el crecimiento a través de otros procesos a los cuales ellos afectan. Algunos factores pueden pertenecer a ambos grupos como p. e. la luz. Las clorofilas se forman solamente en presencia de luz y como estos pigmentos son esenciales para la fotosíntesis, no habrá carbohidratos disponibles para el crecimiento al no haber, por falta de luz, clorofila en los órganos asimiladores. Por otra parte, la luz también tiene un efecto directo; una intensidad muy alta tiende a reducir el crecimiento, especialmente la elongación de células, por su influencia sobre la concentración de hormonas. Aunque el crecimiento se reduce con una alta intensidad lumínica, ésta, sin embargo, favorece la diferenciación de los tejidos, lo que resulta por lo general en un mayor peso seco en comparación con una planta crecida con poca intensidad lumínica.

Cuando la intensidad lumínica es muy baja, la planta presenta los síntomas típicos de ahilamiento (etiología), o sea alargamiento excesivo de las células y de los entrenudos, reducción de la superficie foliar, y poca diferenciación.

En la práctica se sabe que una planta necesita también agua para su crecimiento. Si durante un tiempo seco el contenido de agua del suelo se acerca al punto de marchitez el crecimiento se reduce o se detiene por completo, tanto por la supresión de las divisiones celulares, como por el menor alargamiento. Para un buen crecimiento el contenido de humedad del suelo debe permanecer a un nivel no muy inferior a la capacidad de campo. La escasez de agua puede inducir también modificaciones anatómicas tales como un mayor desarrollo de los tejidos mecánicos, mayor grosor de la cutícula, etc.

Objetivo

Para poder estudiar el efecto de los factores que influyen en el crecimiento es preciso disponer de un método que permita medirlo. Existen muchas formas de efectuar tales mediciones, como p. e. determinando el aumento en el número de células o de su tamaño, el incremento de materia fresca o seca, o tomando medidas lineales de longitud, ancho o diámetro de las plantas o de sus partes. La medición lineal, además de ser muy fácil, permite la repetición de las mediciones y observaciones en la misma planta. Por esa razón se le usará en este experimento para evaluar el crecimiento de plantas de maíz. Por medio de auxanómetros puede demostrarse que no solamente la cantidad de agua disponible afecta el crecimiento, sino también la concentración de la solución edáfica; cuando esa concentración es muy alta, el suelo resulta "fisiológicamente seco", afectando el crecimiento adversamente.

En la segunda parte se estudiará el efecto directo de la luz sobre el crecimiento, comparando las características de una planta crecida en la oscuridad (ahilada), con otra que recibió una iluminación fuerte.

Procedimiento y resultados

A. Necesidad de agua

Se usan tres macetas con plántulas de maíz de unos 15 a 20 cm de altura. El suelo de una maceta debe estar seco antes de iniciar el experimento. Los auxanómetros empleados son de construcción simple (Figura 15). Consisten esencialmente de una palanca de brazos desiguales, lo que aumenta la escala, facilitando la lectura. Esta palanca es de madera liviana y gira alrededor de un tornillo delgado que la fija sobre un soporte también de madera. Una perla de vidrio y una arandela evitan que haya excesiva fricción.

Para usarlos, con muchísimo cuidado fije por medio de un pedazo de cinta plástica el extremo del hilo del primer auxanómetro al ápice de una hoja central y tierna que esté en crecimiento muy activo. Ajuste el contrapeso (plasticina) de la palanca hasta obtener una ligera tensión sobre la hoja. Después, para colocar el indicador en 0, levante o baje el tablero con la escala. Prepare los otros dos auxanómetros en la misma forma y aplique los tratamientos siguientes a las macetas:

1. Sin riego; la maceta seca.
2. Riego abundante con agua de grifo a otra maceta.
3. Riego abundante con una disolución de sales al 2% (NaCl al 1% y KNO₃ al 1%) a una tercera maceta.

Observe el crecimiento en los intervalos siguientes:

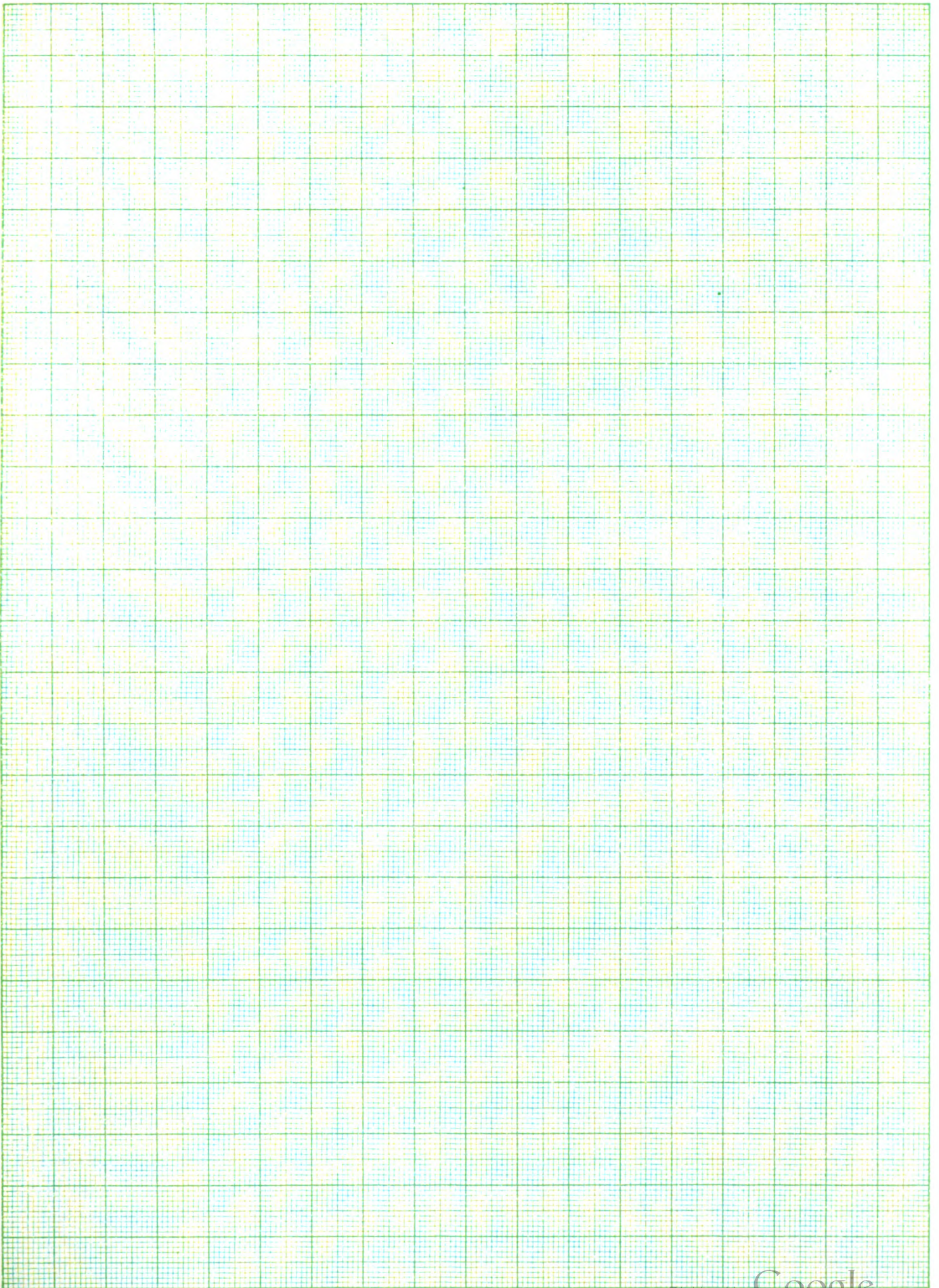
Horas	Lectura de los auxanómetros			Verdadero crecimiento en mm		
	1	2	3	1	2	3
2						
4						
8						
12						
24						
36						
48						

Cálculos:

$$\frac{l}{L} \cdot E = VC$$

- l = longitud del brazo corto, desde el punto donde se fijó el hilo hasta el centro de rotación
 L = longitud del indicador desde su extremo hasta el centro de rotación
 E = lectura de la escala en milímetros
 VC = verdadero crecimiento en milímetros

Con los datos de este cuadro haga un gráfico, usando los valores del verdadero crecimiento (ordenada) contra las horas de observación (abscisa).



Discusión de los resultados:

B. Necesidad de luz

Tome dos macetas y siembre en cada una tres semillas de maíz. Riegue bien y coloque una maceta en un lugar oscuro; deje la otra en un lugar con bastante iluminación, preferiblemente a plena luz del día.

Cuando las plántulas hayan alcanzado un tamaño de unos 15 a 20 cm, compare su aspecto en los dos tratamientos. Tome medidas del crecimiento de la parte aérea, consistentes en longitud total, peso fresco, y peso seco después de secar conjuntamente las tres plántulas de cada tratamiento en una bolsa de papel a 105°C durante un día. No olvide dejarlas enfriar antes de tomar el peso seco.

Medidas	Plántulas ahiladas				Plántulas normales			
	1	2	3	promedio	1	2	3	promedio
Largo total del tallo, incluyendo las hojas (mm)								
Diámetro del tallo en su base (mm)								
Peso fresco (g)								
Peso seco (g)	-	-	-		-	-	-	

Discusión de los resultados:

¿Por qué generalmente las plantas crecen más rápidamente durante la noche? ¿Habría mucha diferencia entre el crecimiento diurno y el nocturno si lloviera todo el día? ¿Por qué?

¿Cómo se explica la diferencia de crecimiento entre la maceta regada con agua y la regada con la disolución de las sales, si el riego fue abundante en ambas macetas?

¿Por qué los rabanitos cultivados en un clima húmedo son de calidad superior a los de un ambiente seco?

Experimento 36.

Fecha

EFFECTO DE ALGUNOS REGULADORES DE CRECIMIENTO SOBRE EL DESARROLLO DE LAS PLANTAS

Introducción

Además de elementos minerales, carbohidratos, agua, etc., la planta necesita ciertas sustancias orgánicas que podrían clasificarse como sustancias accesorias, ya que no tienen importancia como alimento, pero sin embargo tienen efectos profundos en su desarrollo. Estas sustancias se denominan hormonas (hormones), auxinas o reguladores de crecimiento; este último término incluye no solamente sustancias que estimulan el crecimiento sino también aquellas que lo inhiben.

Indudablemente el regulador de crecimiento de mayor importancia en las plantas es el ácido 3-indolacético (heteroauxina). Cantidades extremadamente pequeñas, como 5×10^{-10} g de este compuesto provocan una curvatura marcada de un coleóptilo decapitado de avena, al colocar el regulador unilateralmente sobre el tocón. Cuando este ácido se usa en concentraciones bien bajas la curvatura que provoca es proporcional a la cantidad de la hormona; por consiguiente el grado de curvatura puede emplearse como método biológico muy sensitivo para la determinación de cantidades muy pequeñas de reguladores de crecimiento. El efecto principal del ácido 3-indolacético sobre el crecimiento consiste en servir de estímulo para la elongación de las células; además, también puede promover la división celular.

Los reguladores de crecimiento no son específicos, o sea que los producidos en una planta pueden actuar en igual forma sobre cualquier otra especie. No toda la cantidad de reguladores de crecimiento de una planta está presente en forma activa, sino solamente una pequeña fracción, la parte libre; el resto queda fijo o aparece en forma de precursores.

Los reguladores de crecimiento son producidos dentro de la planta durante el transcurso del metabolismo. Parece que el ácido 3-indolacético se forma a partir del aminoácido triptófano. También existe en las plantas un mecanismo que lo destruye, regulándose así su concentración efectiva. Además de este compuesto de algunas plantas se han aislado otras sustancias de carácter hormonal, como las giberelinas, las cininas, la traumatina, y ciertas vitaminas. Se ha podido producir sintéticamente un gran número de hormonas artificiales que en las plantas ejercen efectos similares a las hormonas naturales. Como núcleo activo de éstas parece necesario un anillo de seis átomos de carbono por lo menos con una unión doble, o un arreglo de éstos equivalente a un anillo, además de un grupo ácido y de un balance entre la parte hidrófila e hidrófoba de la molécula. No se sabe a ciencia cierta si estos compuestos artificiales actúan directamente como hormonas o influyen solamente en el mecanismo hormonal natural.

La concentración de muchos de estos reguladores es bien crítica. En cantidades muy pequeñas son efectivos como estimuladores del crecimiento, mientras que en concentraciones mayores tienen un efecto contrario, es decir, lo inhiben.

Objetivo

La importancia de la concentración de los reguladores de crecimiento puede demostrarse atomizando plántulas con disoluciones que contengan diferentes concentraciones de una hormona.

También existen sustancias que sólo muestran un efecto inhibitor, o sea que pueden neutralizar el efecto estimulante de las hormonas naturales dentro de la planta. Una de estas sustancias, llamadas también antiauxinas, es la hidrazida maleica. Se verá que en las plantas tratadas con este compuesto se detiene el crecimiento de la yema apical, estimulándose a veces la brotación de las yemas laterales y la floración, así como también la caída de las hojas.

Procedimiento y resultados

Usense 10 macetas, cada una con dos plántulas de tomate u otra planta adecuada, de unos 10 cm de altura.

Prepare una disolución madre de 2,4-D (ácido diclorofenoxiacético) en la forma siguiente: en un matraz aforado de 500 ml, disuelva 0.50 g de este compuesto en 3 ml de acetona y luego complete el volumen

con agua destilada. Después de mezclar bien, tome una parte alcuota de 50 ml y dilúyala con una disolución de 6 ml de acetona en un litro de agua destilada, hasta completar el volumen total de 500 ml. Repita, utilizando cada vez la disolución recién preparada como punto de partida, hasta obtener la que contiene 1 ppM. Como testigo, se puede usar agua con igual concentración de acetona (0.6%).

En forma similar prepare una serie de disoluciones de 1000 ppM hasta 1 ppM de hidrazida maleica, a partir de una disolución madre de ésta, que consiste de 0.50 g de hidrazida maleica en 500 ml de agua destilada (en este caso se omite la acetona por completo). Como testigo para esta serie se puede usar agua destilada. Después de llenar cada vez el depósito de un pequeño atomizador con la disolución correspondiente, agregue unas gotas de una disolución concentrada de un detergente para facilitar la mojadura de las plantas.

Atomice las plantas de la primera maceta con el agua que contiene acetona al 0.6% que servirá como testigo. Atomice la segunda maceta con la disolución de 1 ppM de 2,4-D, la tercera maceta con 10 ppM y así sucesivamente hasta llegar a la de mayor concentración. No olvide identificar inmediatamente las macetas, y separar la maceta que se va a atomizar de las demás por una distancia de unos cuantos metros. Si acaso el aire está en movimiento, la atomización debe efectuarse en una caja de cartón o de madera sin tapa, colocada de lado. Evite contaminaciones; existe mucho peligro de que éstas ocurran, especialmente al atomizar las disoluciones concentradas.

Al terminar, lave el atomizador y su depósito varias veces con un poco de acetona y luego con agua y un buen detergente y después, con agua nuevamente. Repita el lavado varias veces y al final enjuague con agua destilada.

Atomice otra maceta con agua destilada sin olvidar el detergente. Continúe luego con las disoluciones de la hidrazida maleica, empezando también con la de menor concentración.

Después de tres o cuatro semanas, según el crecimiento de las plantas, mida la longitud de la parte aérea de cada plantita, calcule el promedio de longitud por maceta y el porcentaje de estimulación o inhibición con base en el testigo (= 100%). Tome también nota de la posible estimulación de las yemas laterales y del color y apariencia de las plantitas.

Tratamiento ppM	Longitud del tallo en mm			Estimulación o inhibición %	Estimulación de yemas laterales	Color y apariciencia
	1	2	promedio			
0				100		
2,4-D	1					
	10					
	100					
	1000					
hidrazida maleica	0			100		
	1					
	10					
	100					
	1000					

Prepare un gráfico con los datos obtenidos, colocando las concentraciones de las disoluciones en la abscisa y la longitud media del tallo en la ordenada.

Discusión de los resultados:

¿Cómo se explica que una hormona que en concentraciones bajas produce mayor crecimiento, pueda usarse como yerbicida?

Sugiera algunos usos prácticos para la aplicación de la hidrazida maleica en la agricultura.

¿En cuál tejido se efectúa principalmente el traslado de hormonas en la planta?

PERIODO DE REPOSO EN SEMILLAS Y YEMAS

Introducción

En plantas intertropicales de regiones sin estación seca marcada, es frecuente que el crecimiento sea continuo durante todo el año. Sin embargo, existe también la posibilidad de un crecimiento rítmico, interrumpido por períodos de menor actividad o de completo reposo. La periodicidad es mucho más común en regiones donde hay alternación de estaciones favorables y desfavorables para el crecimiento, como estación lluviosa y seca, o verano con temperatura favorable e invierno con temperatura desfavorable. El ritmo del crecimiento puede ocurrir a causa de factores internos fijados genéticamente, o simplemente de factores ambientales desfavorables.

Condiciones similares se observan también en muchas semillas, bulbos y tubérculos. Es posible que estos órganos permanezcan en estado latente debido a condiciones ambientales desfavorables, pero tan pronto como esas condiciones cambian y hay suficiente humedad y oxígeno disponibles y la temperatura es adecuada, tiene lugar la germinación o brotación.

Sin embargo, muy comúnmente no se produce crecimiento inmediatamente después de la maduración de esos órganos a pesar de la existencia de condiciones ambientales favorables. En tal caso se habla de un verdadero período de reposo, el que se debe a condiciones en los órganos mismos. Existen varios factores internos poco conocidos aún, que pueden ser responsables de tal comportamiento, cuya acción es muy modificada por algunos estímulos externos. En muchas plantas las semillas no germinan dentro de los frutos, y ello se debe a la acción de una sustancia inhibidora en las paredes carpelares. No solamente en la fruta, sino también en las propias semillas, en el embrión o en el endosperma, pueden encontrarse inhibidores. Las semillas de este tipo no germinan sin la previa destrucción o lixiviación de estos agentes.

La luz sirve a veces de estímulo para romper el reposo, mientras que en otros casos más bien lo prolonga, inhibiendo la germinación. En algunas semillas con una cubierta seminal dura e impermeable la germinación puede acelerarse produciendo heridas en la cubierta seminal (escarificación por acción mecánica o química, como baño de ácido sulfúrico concentrado, etc.).

Objetivo

Para estudiar el efecto de una cubierta seminal muy poco permeable como factor anatómico responsable del reposo, se puede agrietar dicha cubierta en algunas semillas y comparar el tiempo necesario para su germinación con el de semillas no tratadas.

El efecto estimulador e inhibidor de algunas sustancias sobre la brotación de las yemas se demostrará por medio del tratamiento de tubérculos de papa con varios compuestos químicos. En el caso de la tiourea no solamente se produce un estímulo, sino que al mismo tiempo se crea un efecto sobre la yema terminal, la cual pierde su influencia dominante, produciéndose el consecuente incremento de los brotes laterales.

También es posible prolongar el reposo por medios químicos, tratando los tubérculos con sustancias que inhiben el crecimiento. En esa forma puede prolongarse considerablemente el estado latente (almacenamiento), reduciendo o impidiendo por completo la brotación.

Procedimiento y resultados

A. Reposo en semillas

Escoja 20 o 30 semillas con cubierta seminal bien dura. Coloque la mitad sobre varias hojas de papel de filtro en una cápsula de Petri. Moje el papel con agua destilada, evitando exceso de ella, y mantenga la cápsula en un lugar oscuro. Haga un corte en la cubierta seminal de las otras semillas con una hoja de afeitar, y remueva una porción de ella de manera que el tejido interior quede expuesto. Tenga mucho cuidado de no lastimar los tejidos del endosperma y del embrión pues si tal sucede habría que eliminar las semillas dañadas; póngalas en otra cápsula, la cual debe recibir el mismo tratamiento que la anterior.

Después de un día, dos días, cuatro días y una semana compare la germinación en ambas cápsulas y calcule el porcentaje de germinación en cada tratamiento.

	Semillas germinadas después de:				Porcentaje de germinación
	1 día	2 días	4 días	8 días	
Con cubierta intacta					
Con cubierta escarificada					

Discusión de los resultados:

B. Inhibición y aceleración de la brotación de yemas

Escoja 12 papas pequeñas que tengan los "ojos" (yemas) en buenas condiciones, preferiblemente que ya estén un poco hinchados. Divida las papas en cuatro lotes y trátelos en la forma siguiente:

1. Testigo, sin tratamiento.
2. Sumersión durante $\frac{1}{2}$ a 1 hora en una disolución acuosa de tiourea al 2%.
3. Sumersión por pocos segundos en una disolución acuosa del éster metílico del ácido α -naftalenacético (ANA) al 1%.
4. En un frasco con tapa de rosca vierta unas tres o cuatro gotas de la siguiente mezcla: 7 partes etilenclorhidrina, 3 partes dicloruro de etileno y 1 parte tetracloruro de carbono. Cubra con papel de filtro y después de colocar unos pedazos de madera en el frasco para evitar un contacto directo con el líquido, eche las papas, las cuales deben permanecer en el frasco, bien tapado, de unas 7 a 10 horas.

Después de que todos los lotes estén listos y secos colóquelos separadamente en bolsas de papel y manténgalos en un ambiente húmedo.

(En un lugar seco, es preferible sembrar las papas tratadas, ya secas, en cajas de madera que contengan arena o aserrín mojado, y mantenerlas en un lugar oscuro).

Observe después de una y varias semanas y determine el largo promedio de los brotes y el número de yemas laterales adventicias brotadas.

Observaciones después de	Testigo		Tratamiento con:					
	largo mm	Nº de yemas	tiourea largo mm	Nº de yemas	A. N. A. largo mm	Nº de yemas	Derivados de etileno largo mm	Nº de yemas
1 semana								
. . semanas								
. . semanas								

Discusión de los resultados:

¿Qué conclusión saca usted de este experimento con respecto a si las papas usadas estaban en estado latente o en verdadero reposo debido a factores fisiológicos internos?

Sugiera un método que permita producir tres o más cosechas de papas al año en un lugar tropical con condiciones climáticas adecuadas.

¿Por qué en zonas tropicales, aunque sean lugares fríos y aparentemente apropiados, no fructifican variedades de perales y manzanos provenientes de Europa o Estados Unidos de Norteamérica? Señale varias razones.

Experimento 38.

Fecha

DOMINANCIA APICAL Y ABSCISION DE HOJAS**Introducción**

En la mayoría de las plantas, tanto herbáceas como leñosas, la yema apical es responsable del crecimiento del tallo principal. Aunque en las axilas de cada hoja hay una yema, por regla general ésta permanece en reposo por lo menos durante algún tiempo, lo que da por resultado que la ramificación empiece a cierta distancia del ápice. Si por alguna razón la yema apical se muere, muy pronto empiezan a brotar las yemas axilares cercanas al ápice. Efecto similar puede producirse con la aplicación de ciertas sustancias orgánicas que eliminan la dominancia apical; en el experimento anterior se estudió el uso de la tiourea para tal fin. En el caso de muchas coníferas cuando la yema apical muere, las ramas laterales plagiótropas más cercanas al ápice se orientan en posición vertical, originándose un árbol con múltiples ejes ortótropos.

Se supone que la dominancia de la yema apical se debe a la alta concentración de las hormonas producidas en ella, las cuales se trasladan hacia abajo. La alta concentración de hormonas en la zona del tallo cercana al ápice inhibe el crecimiento de las yemas laterales, las cuales sin embargo, parecen ser estimuladas por concentraciones más bajas. Si se elimina la yema apical disminuye la concentración de hormonas en el tallo, bajando a un nivel óptimo para la brotación de las yemas laterales. Tal cosa sucede también a cierta distancia del ápice, ya que durante el traslado la concentración de hormonas se reduce gradualmente.

Además de las yemas, las hormonas son producidas en las hojas, especialmente en las que están en desarrollo. Estas hormonas también se trasladan hacia abajo, a través del pecíolo. Cuando las hojas alcanzan la madurez, la producción de hormonas disminuye considerablemente en ellas.

En la base de cada pecíolo (también en el pedúnculo de las flores) desde muy tempranamente empieza a formarse un tejido que atraviesa todo el pecíolo y que consiste de células rectangulares con paredes muy delgadas. Mientras la concentración de hormonas se mantenga alta, el desarrollo de este tejido, llamado tejido de abscisión no avanza. Tan pronto como la concentración baja, como ocurre en las hojas muy viejas, el pecíolo se separa del tallo como consecuencia del desarrollo del tejido de abscisión y de la disolución de las láminas medias de sus paredes. En regiones con una estación desfavorable para el crecimiento, la caída de hojas es muy pronunciada en muchas plantas leñosas (plantas de hojas caducas), mientras que en algunas plantas herbáceas del todo no hay defoliación.

Existen varios factores fisiológicos que aceleran o retardan la caída natural de las hojas. Además de la sequía deben citarse ciertas enfermedades o acciones parasíticas, alta humedad en el espacio radical, falta de carbohidratos o de ciertos elementos minerales, etc.

Objetivo

En este experimento se demostrará primeramente la dominancia de la yema apical. Al eliminar ésta, se provoca la brotación y el desarrollo de las yemas laterales, lo que resulta en una ramificación abundante de la planta decapitada. Puede comprobarse que la alta concentración de hormonas en el tallo fue responsable de la dominancia apical, aplicando un regulador de crecimiento artificial sobre la herida después de eliminar el punto vegetativo.

En la segunda parte se comprobará la importancia de la concentración de hormonas producidas en las hojas sobre la abscisión, removiendo la lámina foliar. Solamente si se aplican hormonas artificiales sobre el pecíolo, sustituyendo así a las que normalmente se producen en la lámina, es posible impedir su abscisión.

Procedimiento y resultados**A. Dominancia apical**

Obtenga tres plantas de tomate o de *Coleus*, de unos 20 a 25 cm de altura, con la yema apical en crecimiento activo. Deje una planta como testigo. Elimine la yema apical de las otras dos por medio de un corte con una hoja de afeitar más o menos 1 cm más abajo de la yema apical. Deje una de estas plantas sin

ningún otro tratamiento y a la otra aplíquese pasta de lanolina con hormona sobre el corte. Repita esta aplicación después de unas dos semanas. Estudie la apariencia de las tres plantas después de dos, cuatro y seis semanas.

Anotación de observaciones:

B. Regulación de la abscisión por medio de hormonas

Obtenga cinco plantas de *Coleus* sembradas en macetas o en una caja de madera.

Aplique los tratamientos siguientes:

Deje una planta intacta para que sirva como testigo. En la segunda planta recorte con una hoja de afeitar las dos terceras partes de la lámina de todas las hojas -menos de las más jóvenes, muy poco desarrolladas- dejando el resto de la lámina pegado al pecíolo. En las demás plantas, recorte completamente las láminas de todas las hojas -también con excepción de las más jóvenes- en su base, o sea en la unión con el pecíolo. En una de estas plantas aplique sobre todos los cortes de los pecíolos pasta de hormona en lanolina. En los pecíolos de otra planta aplique lanolina pura, sin hormona. Deje la última planta sin tratar.

Observe y anote el tiempo necesario para la caída de todos o casi todos los pecíolos, por lo menos en un tratamiento.

Continúe la observación por algún tiempo más.

	Testigo con lámina	Planta sin lámina	Planta con $1\frac{1}{3}$ de lámina	Planta sin lámina + hormona	Testigo sin lámina + lanolina
Caída de pecíolos después de días ..					

Discusión de los resultados:

¿Cómo se explica que una hoja joven, cuya lámina se ha dañado y está muerta, se caiga tan pronto?

¿Puede usted sugerir algunos usos prácticos, comerciales, de una defoliación inducida con sustancias químicas?

Basándose en los resultados obtenidos en este experimento, ¿cómo explicaría usted la caída anual de hojas?

INDUCCION DE RAICES**Introducción**

La mayoría de las plantas "superiores" se propagan por medio de semillas. Sin embargo, en algunas especies la propagación vegetativa, por medio de bulbillos, estolones, tubérculos, etc., sustituye a la propagación sexual. Si se mantienen partes de muchas plantas, inclusive de especies que se propagan exclusivamente por semillas, en condiciones apropiadas, estas partes se muestran capaces de producir una nueva planta. Esta particularidad es aprovechada por el hombre en la multiplicación de plantas por medio de estacas, de hojas y aun de pedazos de raíces; en esta forma se puede obtener rápidamente un número grande de plantas de constitución genética uniforme (propagación clonal).

Desde hace mucho tiempo se sabe que el enraizamiento de estacas es más rápido cuando éstas tienen hojas y especialmente yemas. Como los centros principales de la producción de hormonas son las yemas activas y las hojas jóvenes, puede presumirse que las hormonas producidas en estas partes (también en menor cantidad en hojas maduras) son trasladadas hacia la base de la estaca y provocan allí la iniciación de las raíces. La aplicación de reguladores artificiales de crecimiento a la base de estacas estimula también la iniciación de raíces, especialmente en plantas en que la concentración de hormonas naturales no es lo suficientemente alta para iniciarlas; sin embargo no pueden inducirse raíces artificialmente en partes donde normalmente no se producen.

Puesto que la concentración necesaria de la hormona para la iniciación de raíces es mayor que la que se necesita para estimular su crecimiento posterior, debe tenerse cuidado de que después de la fase de iniciación de las raíces la concentración hormonal se reduzca, pues de lo contrario puede ocurrir más bien una inhibición en el desarrollo de las raíces ya formadas. Debe mencionarse también que la concentración óptima de la hormona para la fase de iniciación de raíces varía según la especie de planta.

Aunque las hormonas constituyen un factor sumamente importante en la formación de raíces, éstas dependen en alto grado de las condiciones fisiológicas en que se encuentra la planta de la cual se toman las partes para la propagación vegetativa. Además de las hormonas existen otras sustancias también esenciales para la iniciación de raíces, cuya ausencia impide una acción positiva de las hormonas; entre las que se conocen deben mencionarse algunas vitaminas del grupo B, como la tiamina y la piridoxina. La falta de clorofila y de reservas de carbohidratos, lo mismo que de ciertos elementos esenciales, también puede limitar la formación de raíces.

Objetivo

Existen varios compuestos sintéticos, igualmente o casi tan efectivos como las hormonas naturales para estimular la iniciación de raíces. Es ya práctica común en la horticultura usar hormonas artificiales para tratar estacas antes de plantarlas, para provocar un enraizamiento más rápido y más eficiente.

En este experimento se tratará no solamente de estimular artificialmente la formación de raíces y de estudiar la importancia de la concentración del regulador de crecimiento aplicado, sino también la influencia de las hojas y yemas, de la luz, y de la clorofila en la iniciación de las raíces.

Procedimiento y resultados**A. La importancia de hojas y yemas**

Corte nueve ramitas iguales de *Coleus* o de *Tradescantia*, que tengan de 6 a 10 pares de hojas cada una. A tres estacas córtelas todas las hojas en la base del pecíolo, incluyendo las más pequeñas. Haga lo mismo con otras tres ramas, eliminando además las ramas laterales que haya, todos los brotes axilares grandes y la yema apical. De las demás ramas elimine solamente las hojas basales. Coloque cada grupo de ramas en un frasco lleno hasta la mitad con agua de grifo. Mantenga las estacas en un lugar bien iluminado, preferiblemente a la luz del día, pero protegiendo los frascos de la iluminación fuerte por medio de papel negro o tela. Observe después de una semana o hasta que aparezcan raíces abundantes en el testigo.

Número de raíces en las estacas												
Testigo				sin hojas				sin hojas y sin yemas				
1	2	3	promedio	1	2	3	promedio	1	2	3	promedio	

Discusión de los resultados:

B. Importancia de la luz

Escoja tres ramitas y quite también las hojas basales. Sumerja las ramas en un frasco de vidrio con agua de grifo y manténgalas en un lugar completamente oscuro o debajo de una caja invertida donde no penetre nada de luz. Como testigo pueden servir las plantas testigo de la parte anterior (A). Haga las mismas observaciones:

Número de raíces en las estacas												
testigo				en la oscuridad								
1	2	3	promedio	1	2	3	promedio	1	2	3	promedio	

Discusión de los resultados:

C. Importancia de la clorofila

Escoja tres ramitas de unos 10 a 15 cm de largo de *Tradescantia viridis* variegada, cuyas hojas no tengan muchas zonas blancuzcas. Elimine sus hojas basales y coloque las ramitas en un frasco con agua de grifo. Escoja otras tres ramitas con bastantes hojas variegadas y con áreas grandes sin clorofila; trátelas de igual manera y compare el número de raíces formadas en ambos grupos después de una semana o cuando hayan raíces abundantes en las ramitas más verdes.

Número de raíces en las estacas							
con hojas verdes			promedio	con hojas blancuzcas			promedio
1	2	3		1	2	3	

Discusión de los resultados:

D. Iniciación artificial

Prepare una disolución de ácido 3-indolacético disolviendo 0.1 g en 3 ml de acetona y diluyendo luego hasta un volumen total de 500 ml con agua de grifo; después de mezclar bien tome una parte alcuota de 50 ml y dilúyala hasta 500 ml con agua que contenga acetona al 0.6%. Esta disolución tendrá una concentración del 0.002%.

Sumerja durante unas 6 a 8 horas las bases de tres estacas de la misma especie de planta usada en la primera parte del experimento, en una disolución de acetona al 0.6%. Sumerja otras tres ramas parecidas en la disolución diluida de ácido 3-indolacético y tres más en la disolución concentrada, por un tiempo igual que las primeras, las cuales servirán como testigo. Después del tiempo indicado transfiera los tres lotes a recipientes separados, que contengan agua de grifo hasta la mitad. Deje otras tres ramas en la disolución concentrada durante todo el experimento; observe en cuál frasco se inician raíces primero. Cuando en el testigo hayan aparecido raíces en forma abundante, cuéntelas haciendo lo mismo en los demás tratamientos, a fin de estimar la intensidad de enraizamiento.

Número de raíces en las estacas															
en agua y acetona				sumergidas en la disolución diluida				sumergidas en la disolución concentrada				mantenidas en la disolución concentrada			
1	2	3	promedio	1	2	3	promedio	1	2	3	promedio	1	2	3	promedio

Discusión de los resultados:

¿Cuál parece ser el estímulo para la producción de raíces en las estacas? ¿En plantas enteras?

¿Qué son hormonas? ¿Cómo se distinguen de vitaminas?

Describa unos cinco usos comerciales de hormonas sintéticas en la agricultura y horticultura.

Capítulo XII

MOVIMIENTO DE LAS PLANTAS

Experimento 40.

Fecha

NUTACION

Introducción

La mayoría de los movimientos en las plantas superiores no son muy notorios por la lentitud con que ocurren, en contraste con los movimientos rápidos de los animales. En las plantas existen varios mecanismos responsables de los movimientos activos, por consiguiente se pueden distinguir: movimientos que se deben al crecimiento o elongación de las células (movimientos de curvatura), los debidos a diferencias de turgor, y los higroscópicos. Estos últimos tienen importancia sólo en órganos vegetales muertos. Algunos de los movimientos debidos a cambios de turgor son los más rápidos conocidos, como en el caso de algunas plantas carnívoras, la *Mimosa pudica*, el *Desmodium gyrans*, y otras.

Los movimientos debidos al crecimiento son causados principalmente por la diferencia de intensidad de éste en los distintos lados de los órganos. Muchos de estos tipos de movimiento pueden explicarse por la distribución desigual de hormonas y su efecto consiguiente sobre el crecimiento. En los movimientos inducidos por estímulos procedentes del ambiente, como en el caso de los tropismos y nastias, el estímulo puede ser responsable de la distribución desigual de los reguladores de crecimiento.

En el caso de los movimientos autónomos (nutaciones), que también se deben a variaciones unilaterales de la intensidad de crecimiento, no hay factor externo responsable; el estímulo se debe a ciertos procesos en el interior de las plantas mismas. Nutaciones completamente autónomas, sin embargo, no son comunes, puesto que con frecuencia hay, hasta cierto punto, influencia de factores externos (p. e. la gravedad) sobre el movimiento.

La circumnutación, o sea el movimiento autónomo en forma de espiral (helicoidal), es propio de muchos ápices de tallos y zarcillos. La yema apical se mueve en este caso alrededor de un eje central imaginario. Según la especie y las condiciones, se necesita desde menos de una hasta varias horas para que se complete una vuelta.

El movimiento de circumnutación se debe a cambios rítmicos de la posición de la zona de crecimiento en el tallo, el cual resulta retorcido. En plantas en que el movimiento es muy pronunciado, como en las volubles, por lo general el desarrollo de las hojas se atrasa bastante. Los tallos de esta naturaleza suelen ser muy frágiles por la poca formación de tejido de sostén en su parte joven. La mayoría de las plantas son levovolubles o sea que los ápices de sus tallos giran constantemente hacia la izquierda; pocas plantas, como el lúpulo, son dextrovolubles, y en otras la dirección del giro es variable.

Objetivo

La circumnutación puede demostrarse fácilmente en ápices de tallos de plantas volubles. Como el movimiento es relativamente lento y el círculo del giro pequeño, para facilitar su observación es necesario "prolongar" el ápice del tallo por medio de un pelo o fibra fina, que sirva de indicador.

Procedimiento y resultados

Obtenga una planta de frijol trepador, sembrada en una maceta que tenga ya los primeros pares de hojas. Mantenga el suelo suficientemente húmedo para asegurar un buen crecimiento. Con muchísimo cuida-

do, y usando muy poca cantidad de plastalina, fije un pedazo de una fibra fina de vidrio de unos 15 cm justamente en el ápice del tallo, de modo que quede como prolongación de éste (Figura 16).

Cerca de la maceta coloque un soporte y por medio de una prensa fije a más o menos un centímetro sobre el extremo del indicador un vidrio en posición horizontal.

Mirando verticalmente desde arriba, marque la posición de la punta del indicador sobre el vidrio. Observe el movimiento de nutación, su dirección y el tiempo necesario para una vuelta completa, por medio de marcas consecutivas hechas a intervalos de unos quince minutos.

Discusión de los resultados:

¿En qué dirección se efectuó el movimiento, tomando como base de comparación el reloj?

¿Cuál es la diferencia entre taxis, tropismo, nastia y nutación?

¿Cómo procedería usted para comprobar si el movimiento de nutación se debe realmente a un proceso de crecimiento?

Experimento 41.

Fecha

TROPISMOS**Introducción**

Los movimientos de curvatura que muestran correlación con la dirección del estímulo, se denominan tropismos; son los movimientos más abundantes en el reino vegetal. La respuesta puede ser positiva o negativa, y según el agente inductor pueden distinguirse varias clases de tropismos.

El geotropismo es la capacidad de ciertos órganos vegetales de responder con un movimiento al estímulo de la gravedad terrestre. Presentan geotropismo positivo p. e. las raíces principales, las cuales crecen en dirección hacia el centro de la tierra, mientras que el eje del vástago, debido a un geotropismo negativo, se aleja constantemente de dicho centro, creciendo en posición ortótropa (vertical). Las ramas laterales y especialmente las hojas suelen tener una posición intermedia debido a una diferencia de la reacción del lado superior e inferior con respecto al estímulo. En tal caso se habla de un plagiogeotropismo, con la orientación de los órganos a cierto ángulo con la dirección de la gravedad. El ángulo puede ser específico para distintas especies; además, es modificado por efecto de otras fuerzas, como luz, temperatura, etc. Puede ocurrir una inversión de la reacción del mismo órgano; p. e. en el maní el botón y la flor quedan erectos (geotropismo negativo) y después de la fertilización el fruto en desarrollo se dirige hacia la tierra (geotropismo positivo) para enterrarse en el suelo.

El fototropismo puede observarse en algunas flores como las del girasol, las cuales cambian su posición diariamente según la dirección de los rayos solares. La orientación de las hojas de una planta en forma de "mosaico" reduciendo o evitándose así el autosombreamiento es otro ejemplo de este movimiento. Las hojas y los tallos por lo general reaccionan en forma positiva; las raíces negativamente. El fototropismo puede explicarse hasta cierto punto por el efecto destructivo de los rayos luminosos sobre las hormonas en el lado iluminado. Al producirse una mayor concentración en el lado opuesto, se produce allí un mayor crecimiento, lo que resulta en una curvatura en dirección a la luz.

En las plantas trepadoras los zarcillos y a veces los pecíolos, al tocar un objeto sólido, responden a este estímulo con un tigmotropismo (haptotropismo), encorvándose positivamente hacia el objeto tocado. Materiales completamente lisos o líquidos (gotas de lluvia) no producen efecto alguno.

El hidrotropismo y el quimotropismo pueden observarse frecuentemente en raíces, las cuales cambian la dirección de su crecimiento al percibir estímulos correspondientes, o sea que pueden imponerse al geotropismo. Ambos tropismos también pueden provocar movimientos positivos o negativos.

Objetivo

En este experimento se estudiarán dos clases de movimientos trópicos, el geotropismo y el fototropismo. Puede comprobarse que en la raíz el lugar de percepción del estímulo geotrópico es el ápice, mientras que en el tallo el lugar de percepción no está tan bien localizado, extendiéndose sobre gran parte del tejido en crecimiento. Al aplicar una hormona en el lado superior de un tallo que ha sido puesto en posición horizontal, éste no responde al geotropismo, por cuanto la hormona artificial aplicada aumenta la concentración hormonal en el lado superior, compensando así la migración de las hormonas naturales hacia el lado inferior, y resultando una concentración hormonal más o menos igual en ambos lados del tallo, lo que impide la reacción en forma de curvatura.

El fotoperiodismo también puede demostrarse fácilmente. En cualquier planta que recibe iluminación unilateral, los órganos aéreos se orientan en dirección a la luz. Esos movimientos se deben también a una distribución desigual de hormonas, lo que se comprobará con la aplicación de una hormona artificial.

Procedimiento y resultados

A. Geotropismo

1. Escoja seis plántulas de maíz germinadas sobre papel absorbente húmedo. Las raíces deben tener una longitud de 2 a 3 cm y haber crecido bien rectas. Trabaje rápidamente para evitar que las raíces sufran daños por secamiento. Corte unos 2 mm del ápice de la raíz principal a tres plántulas. Sobre un pedazo de tabla de madera suave fije por medio de un alfiler que atraviese el endosperma, una plántula con la raíz decapitada y una intacta (testigo) en tal posición que las raíces queden hacia abajo. Fije otro par en igual forma al lado de las primeras pero con las raíces hacia arriba. Las otras dos, fíjelas en posición horizontal (Figura 17).

En un frasco grande con agua en el fondo, introduzca la tabla en posición vertical.

Tape el frasco de manera que aún permita la entrada de aire. Observe qué pasa con las raíces de las plántulas.

Anotación de observaciones:

2. Para la demostración del geotropismo negativo en el tallo pueden usarse plantas de *Coleus* en macetas. Coloque tres plantas (después de regarlas bien) en tal posición que los tallos queden horizontales. En una de las plantas frote un poco de pasta de lanolina con hormona sobre el lado superior del tallo (opuesto al que mira a la tierra), desde la yema apical hasta unos 5 cm de ésta. En la segunda planta recorte 2 mm del ápice del tallo. La tercera planta sirve como testigo. Observe el movimiento trópico y el efecto de la hormona aplicada.

Anotación de observaciones:

Discusión de los resultados:**B. Fototropismo**

1. En una maceta siembre unas semillas de rabanito; humedezca bien la maceta y déjela en un lugar oscuro. Cuando las semillas hayan germinado y tengan los cotilédones bien extendidos sobre la tierra, frote un poco de lanolina pura en los hipocótilos de algunas plántulas, siempre en un mismo lado. Repita el tratamiento a otras tantas plántulas pero usando una pasta de lanolina con hormona, también en el mismo lado. Las plántulas restantes sirven como testigos. Exponga luego la maceta a una iluminación unilateral por el lado en que las plántulas tratadas tienen la lanolina y la pasta hormonal. Observe el fototropismo y el efecto de la hormona aplicada.

Anotación de observaciones:

2. Cuando los coleóptilos de semillas de avena o de arroz, crecidas en una maceta en la oscuridad, alcanzan de unos 3 a 5 cm de alto, efectúe los tratamientos siguientes, trabajando rápidamente con luz muy difusa o luz roja: recorte unos 2 mm del ápice de varios coleóptilos y cubra otros tantos con un pequeño sombrerito hecho de papel de aluminio. Deje unas plántulas sin tratar para que sirvan como testigo. Al terminar los tratamientos, exponga la maceta a una iluminación unilateral y observe.

Anotación de observaciones:

Discusión de los resultados:

¿Cómo explica usted que tallos postrados de gramíneas se puedan "levantar" mejor que los de la mayoría de las dicotiledóneas cuando están en igual posición?

Sugiera un método que permita determinar cantidades pequeñas de hormonas vegetales.

¿Por qué en el último experimento hay que trabajar preferiblemente bajo luz roja?

Experimento 42.

Fecha

NASTIAS**Introducción**

Las nastias son otros movimientos de las plantas y se deben con frecuencia a diferencias de crecimiento en las distintas partes de un órgano. Al igual que los tropismos, son inducidas por estímulos externos, pero el movimiento no muestra correlación alguna con la dirección del estímulo, o sea que el movimiento de respuesta es siempre igual, en la misma forma y dirección. Pueden distinguirse diferentes tipos de nastias según los estímulos que las provocan.

La termonastia se debe a cambios de temperatura, a los cuales los órganos responden con un crecimiento encorvado. Las flores del tulipán (*Tulipa*) se abren completamente en un ambiente caliente, mientras que al colocarlas en un lugar frío (refrigerador) se cierran en poco tiempo, proceso que es reversible. El tulipán responde en esta forma aun a cambios de temperatura muy pequeños. Las flores del loto (*Nymphaea*) se comportan contrariamente con relación a la temperatura.

En muchas flores se observa el efecto de la fotonastia, que puede resultar en un movimiento positivo, cuando se abren con cierta intensidad lumínica, o negativo, cuando se cierran al iluminarlas, como es el caso de las flores nocturnas. Existen pues "horas fijas" en que las flores se abren o se cierran, fenómeno que inspiró a Linneo a hacer un "reloj de flores".

Además de las flores, las hojas de muchas plantas también muestran movimientos násticos. Uno de los estímulos más comunes en este caso es la luz, o sea que se trata de una fotonastia; sin embargo, en algunas plantas existe al mismo tiempo un ritmo endógeno, que puede provocar un movimiento de las hojas contrario al esperado de acuerdo con el estímulo, al ocurrir cambios en las condiciones naturales. A veces este movimiento de "dormir", llamado mejor movimiento nictinástico, se debe también a cambios de turgor de los pulvínulos en la base de los folíolos y las hojas.

La sismonastia, o sea el movimiento debido a un estímulo mecánico, sea golpe, vibración o sacudida, es propio de algunas plantas carnívoras y muy pronunciado en el caso de la *Mimosa pudica*. El movimiento es debido a diferencias de turgor en la parte superior e inferior de los pulvínulos en las bases de los folíolos, del raquis y del pecíolo de la hoja. La reacción tiene lugar poco tiempo después de la percepción del estímulo, intervalo que se llama tiempo de reacción, el cual varía de acuerdo con las condiciones ambientales; generalmente es mucho menor que un segundo.

Objetivo

El movimiento nictinástico puede demostrarse fácilmente trasladando de la luz a la oscuridad y viceversa, una de las plantas que muestran ese movimiento. El experimento también comprobará que este movimiento es realmente una nastia, al no existir ninguna correlación con la dirección del estímulo.

Para observar la sismonastia se usará *Mimosa pudica* (sentitiva o vergonzosa). Además del estímulo mecánico, el calor excesivo y ciertos vapores nocivos también pueden inducir el movimiento. Según la intensidad del estímulo, reacciona parte de la hoja, la hoja entera, o toda la planta lo cual indica un buen traslado del estímulo.

Procedimiento y resultados**A. Nictinastia**

Obtenga dos macetas, cada una con una planta de *Oxalis* un día antes de efectuar el experimento; coloque una de las macetas en un cajón a prueba de luz, y deje la otra planta en un lugar donde reciba buena iluminación.

En el momento indicado saque la planta de la oscuridad e ilumínela unilateralmente con luz fuerte. Tenga cuidado de que las hojas no se calienten. Al mismo tiempo coloque en la oscuridad la planta previamente iluminada. Observe a intervalos de 15 a 20 minutos y determine el tiempo aproximado necesario para la reacción en ambos ambientes.

	De la luz a la oscuridad	De la oscuridad a la luz
Tiempo		

Discusión de los resultados:

B. Sismonastia

Obtenga una planta bien desarrollada de *Mimosa pudica*. En lugares con baja humedad relativa del aire la planta debe ponerse por algún tiempo debajo de un recipiente o cámara en cuyo interior la humedad sea bien alta y la temperatura preferiblemente de 25° a 30°C. En este ambiente la planta reacciona mejor y más rápidamente.

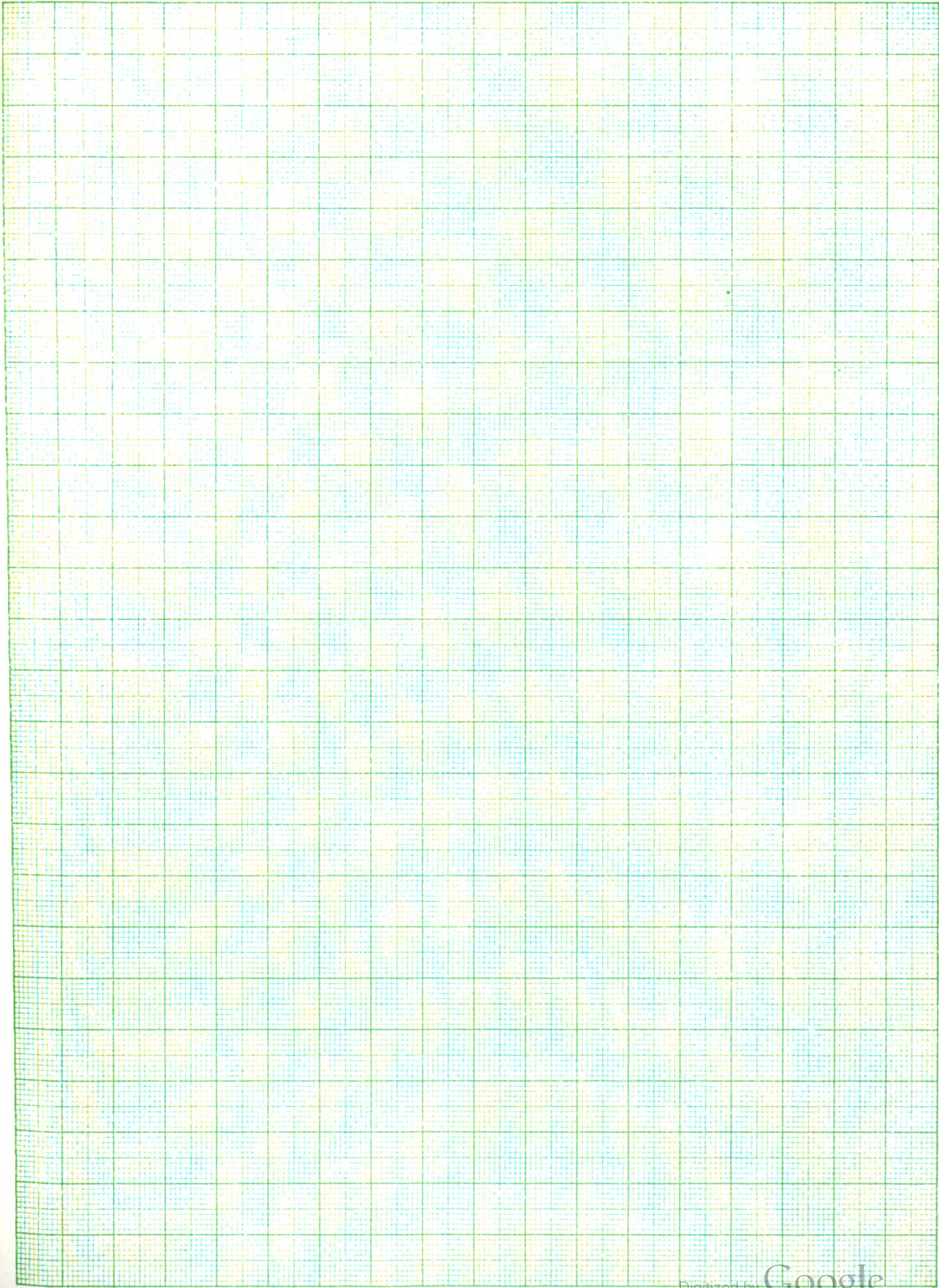
1. Toque ligeramente el folíolo más distante de una hoja y observe.
2. Toque otro, más fuertemente. Observe la velocidad con la cual se propaga el estímulo a través del raquis.
3. En otra planta o en la misma ya recuperada, queme con un fósforo un folíolo del extremo de la hoja.
4. Esta vez acerque a la planta una cápsula con amoníaco concentrado, pero sin que toque la planta.

Discusión de los resultados:

Al estudiar un movimiento, ¿cómo podría usted distinguir si se trata de un tropismo o de una nastia?

¿Cómo explica usted el mecanismo del movimiento de los folíolos?

¿Cómo podría usted determinar, al observar una nastia en el campo, si existe al mismo tiempo influencia de un ritmo endógeno?



INFORMACION SOBRE LOS MATERIALES NECESARIOS PARA LOS EXPERIMENTOS EN ESTE MANUAL

Esta lista ha sido preparada para facilitar la experimentación, indicando en forma resumida el material necesario para llevar a cabo cada experimento. Para mayor facilidad se han hecho subdivisiones en títulos a saber: materiales, accesorios, aparatos, cristalería y reactivos, incluyendo también información sobre el tiempo necesario para completar el trabajo.

El material vegetal ha sido seleccionado con preferencia de entre las plantas útiles y las ornamentales más frecuentemente cultivadas, para facilitar así su obtención. Se sugieren aquéllas que ya han dado buen resultado; sin embargo otras quizás podrían ser igualmente buenas o mejores. Si se efectúan sustituciones, es recomendable hacer una prueba preliminar para establecer su utilidad, lo cual rige también para las plantas no especificadas. Las semillas que se empleen deben tener un alto poder germinativo y deben tratarse con un buen fungicida antes de ponerlas a germinar en una cámara húmeda. Cuando sea indispensable usarlas sin tratamiento alguno, como en el Experimento 23, ello se indica en el lugar respectivo.

La lista de cristalería incluye todo lo necesario para una experimentación eficiente. Esto no significa que muchos experimentos no se puedan efectuar con menos piezas. Como el costo de la cristalería especial para laboratorio es relativamente alto, es factible hacer sustituciones con materiales más baratos. Así p. e., frascos de mermelada o de confites, o vasos corrientes, pueden reemplazar vasos de precipitación (vasos de precipitados o "beakers"), siempre que no sea necesario calentarlos. En muchos casos es posible usar varias veces una pipeta o probeta graduada para obtener el volumen deseado, o usar una pipeta graduada de volumen grande para cantidades pequeñas, siempre que la graduación lo permita. Si sólo se dispone de un matraz aforado para la preparación de una serie de disoluciones, una vez preparadas éstas, pueden vaciarse en otro recipiente, utilizándose el matraz repetidas veces después de lavar bien. En el cultivo de plantas las macetas de barro pueden sustituirse por diferentes clases de latas, p. e. las usadas con aceite de automóviles, después de limpiarlas muy bien y perforar el fondo varias veces con un clavo. En lugar de un mechero de gas puede usarse uno de alcohol, de kerosén (canfn), o de gasolina, preferiblemente que sea de presión. La lista no incluye indicaciones sobre el uso de cada artículo, pues ellas aparecen en el texto de cada experimento.

Los reactivos para la experimentación deben ser preferiblemente del grado de pureza apropiada para análisis. Cuando es permisible usar reactivos de menor pureza o de grado comercial, ello se indica oportunamente. El alcohol etílico que se utiliza en los experimentos puede ser desnaturalizado. Todas las disoluciones deben hacerse con agua destilada, a no ser que se den instrucciones en sentido contrario.

Para facilitar la orientación de la experimentación se han incluido indicaciones sobre el tiempo que se requiere para la preparación, la experimentación y las observaciones de cada experimento. Debe mencionarse que el tiempo indicado para preparación se refiere al número total de horas, días o semanas que deben estar disponibles antes de iniciarse el experimento y no necesariamente el tiempo que realmente se emplea para preparar el material; si este tiempo es de alguna importancia se especifica por aparte. Por esa razón casi todo el tiempo de preparación podrá utilizarse para otros trabajos, lo cual es también el caso con el tiempo necesario para las observaciones; cuando para éstas se emplea más tiempo del necesario para una simple lectura, ello se indica así. Todas las estimaciones son aproximadas. Algunas personas tienen mayor habilidad que otras para la experimentación, lo cual naturalmente introduce variaciones, lo mismo que si los experimentos son efectuados por una o varias personas. Como las condiciones para el crecimiento, especialmente la temperatura, son muy distintas en los diferentes lugares, el tiempo señalado para tal fin se refiere a condiciones óptimas y es de esperar mucha variación en esta estimación. También pueden haber diferencias de acuerdo con la especie de planta empleada para el experimento. Las indicaciones de tiempo no incluyen preparación de disoluciones que normalmente existen en un laboratorio de fisiología o que pueden almacenarse.

Capítulo I.

Experimento 1.

Materiales: Tinta china.

Aparatos: Un microscopio, con un aumento de por lo menos 300 a 500 x.

Cristalería: Un portaobjeto. Un cubreobjeto.

Tiempo para: Experimentación: ½ hora.

Experimento 2.

Accesorios: Una regla pequeña, subdividida en milímetros. Un lápiz de cera o etiquetas engomadas. Lápices de color. Ocho tapones de goma o de corcho, de diámetro apropiado para los tubos de ensayo, y uno para la probeta. Un termómetro de 0° a 100°C. Un mechero de gas con trípode o calentador eléctrico. Un estante para tubos de ensayo.

Aparatos: Una balanza analítica. Un refrigerador (4° a 8°C).

Cristalería: Una probeta graduada de 50 y otra de 250 ml. Ocho tubos de ensayo, aproximadamente 0.5 x 15 cm; éstos pueden hacerse de tubo de vidrio; si se usan de mayores dimensiones debe aumentarse la cantidad de gelatina preparada. Una pipeta de 10 ml. Varios matraces aforados de 100 ml. Dos vasos de precipitación o Erlenmeyers, uno de 100 y otro de 250 ml. Una varilla de vidrio.

Reactivos: Crisoidina Y (amarillenta). Eosina Y (amarillenta). Eritrosina B (azulada), sal. Rojo de Congo. También pueden servir: fucsina ácida (p. M. 586), anaranjado de metilo (p. M. 327) y verde de metilo (p. M. 420). Todos estos colorantes deben ser certificados. Al pesar las cantidades, tenga en cuenta que algunos no contienen el 100% del ingrediente activo. Disolución de gelatina al 5%: a 200 ml de agua fría, agregue 10 g de gelatina (marca "Knox" es excelente). Después de que se haya suavizado, caliéntela, agitando constantemente, hasta que toda la gelatina esté disuelta y la disolución quede clara. Llene los tubos de ensayo hasta unos 4 a 5 cm debajo del borde, con la gelatina aún líquida. Ponga los tubos a enfriar en posición vertical. Llene también la probeta hasta la marca 50, y enfríela. No permita que la gelatina se seque, pues si ello sucede se separa del vidrio.

Tiempo para: Preparación: ½ hora - varias horas.
Experimentación: 2 horas
Observaciones: Durante 1 semana y después de 2 y 4 semanas.

Experimento 3.

Materiales: Un tubo de diálisis o piel artificial de salchicha, a base de celofán.

Accesorios: Hilo fuerte. Tijeras. Un soporte con prensa. Tubo de goma, de pared gruesa. Una regla subdividida en centímetros. Un termómetro de 0° a 100°C. Un estante para tubos de ensayo.

Aparatos: Una balanza analítica.

Cristalería: Una probeta graduada de 250 ml. Dos vasos de precipitación u otros recipientes adecuados, uno de 250 y otro de 500 ml. Varios tubos de ensayo. Dos matraces aforados, uno de 100 y otro de 500 ml. Un tubo de vidrio, de por lo menos 2 m de largo (o varias piezas unidas por tubos de goma), preferiblemente con diámetro interior de 3 a 5 mm y de pared gruesa.

Reactivos: Sulfato de cobre. Ferrocianuro de potasio. Algunos cristales grandes del mismo reactivo. Disolución de silicato de sodio al 50%, grado comercial (vidrio de agua). Cristales de clo-

ruros o sulfatos de: calcio, aluminio, hierro, magnesio, bario, cobalto, manganeso, etc. Disolución de sacarosa (azúcar corriente) al 0.1 molar, conteniendo ferrocianuro de potasio al 0.125 M: en un matraz aforado de 100 ml, disuelva 5.28 g de $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ (p. M. 422.39) en suficiente agua y complete el volumen. Vierta la disolución en otro recipiente y disuelva en ella 3.42 g de azúcar corriente (sacarosa). Disolución de sulfato de cobre al 0.25 M: en un matraz aforado de 500 ml, disuelva en unos 200 ml de agua, 31.21 g de $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$ (p. M. 249.71) y complete el volumen.

Tiempo para: Experimentación: 1½ horas.
Observaciones: Durante varias horas.

Experimento 4.

Materiales: Dos zanahorias grandes. Un tubo de diálisis o piel artificial de salchicha, a base de celofán.

Accesorios: Un estante o frascos pequeños para guardar las zanahorias en posición vertical. Un chuchillo filoso, puntiagudo. Hilo fuerte. Un par de tijeras. Papel (hoja) de aluminio. Un mechero de gas con trípode o calentador eléctrico. Un cajón a prueba de luz.

Aparatos: Una balanza analítica.

Cristalería: Un vaso de precipitación o Erlenmeyer de 250 ml. Una varilla de vidrio. Una probeta graduada de 100 ml. Dos frascos para mermelada, de 8 o 16 onzas con tapa de rosca, según el diámetro del tubo de diálisis. Un matraz aforado de 1000 ml.

Reactivos: Sacarosa (azúcar corriente). Almidón de maíz o de papa. Disolución de almidón al 2%: en un recipiente adecuado agregue a 100 ml de agua fría 2 g de almidón. Lleve hasta el punto de ebullición agitando constantemente. Disolución de yodo en yoduro de potasio: en un matraz aforado de 1000 ml, disuelva 0.1 g de yodo y 0.8 g de yoduro de potasio en pocos mililitros de agua; una vez disueltos, complete el volumen.

Tiempo para: Experimentación: 1½ horas.
Observaciones: Durante 1 semana.

Experimento 5.

Materiales: Hojas con el pigmento antociano en la epidermis, de cualquier planta apropiada como p. e. *Tradescantia sp.*, *Rhoeo discolor*, *Xanthosoma sp.*, *Zebrina pendula*.

Accesorios: Un lápiz de cera o etiquetas engomadas. Una hoja de afeitar ("Gillette"). Papel de filtro. Opcional: unas pinzas puntiagudas.

Aparatos: Una balanza analítica. Un microscopio con un aumento de 300 a 500 x.

Cristalería: Una probeta graduada de 100 ml. Nueve frascos o vasos de 150 ml o 250 ml. Nueve varillas de vidrio. Portaobjetos. Cubreobjetos.

Reactivos: Disoluciones de sacarosa (azúcar corriente): en un frasco o vaso, mida 100 ml de agua de grifo y disuelva en ésta la cantidad de azúcar corriente (p. M. 342) necesaria, p. e. para la disolución al 0.5 molar, 17.1 g, etc.

Tiempo para: Experimentación: 2½ horas.

Capítulo II.

Experimento 6.

- Materiales:** Un huevo. Raíz de una remolacha roja grande.
- Accesorios:** Un mechero de gas con trípode. Opcional: un calentador eléctrico. Papel de filtro. Un cuchillo filoso. Un termómetro de 0° a 100°C. Unas pinzas grandes o espátula. Hielo. Una prensa para sostener tubos de ensayo. Un estante para tubos de ensayo.
- Aparatos:** Una balanza analítica. Un refrigerador con compartimiento de congelación. Un proyector. Un reloj con segundero.
- Cristalería:** Tres vasos de precipitación u otros recipientes de 150 ml y dos de 500 ml. Tres varillas de vidrio. Un embudo. Varios tubos de ensayo. Una probeta graduada de 100 ml. Una pipeta de 5 ml. Un gotero.
- Reactivos:** Acetona. Goma arábiga, grado comercial. Disolución de gelatina al 2%: para la manera de prepararla, véase el Experimento 2, página 132.
- Tiempo para:** Experimentación: 2 horas.
Observaciones: Durante 4 horas.

Experimento 7.

- Materiales:** Semillas de frijol.
- Accesorios:** Un mechero de gas con trípode o calentador eléctrico. Un lápiz de cera o etiquetas engomadas. Una lata o palangana plástica, pequeña. Una espátula o cuchara. Dos bolsas de papel, pequeñas. Una cajita de cartón o un molde de lata delgada, de unos 10 x 10 x 10 cm. Una botella termos. Un termómetro de 0° a 100°C. Una regla pequeña, subdividida en milímetros. Cola de carpintero, común. Una barra de tiza para escribir. Papel absorbente. Yeso.
- Aparatos:** Una estufa hasta 105°C. Una balanza analítica. Un reloj con segundero.
- Cristalería:** Un desecador con cloruro de calcio o silica-gel. Dos matraces aforados de 250 ml. Una probeta graduada de 50 ml. Un Erlenmeyer de 500 ml. Un vaso de precipitación que en forma invertida entre sobre la boca del Erlenmeyer. Un vaso de precipitación de 250 ml y otro de 400 a 600 ml. Tres vasos de precipitación u otros recipientes de unos 250 ml. Una varilla de vidrio.
- Reactivos:** Timol. Almidón de maíz o de papa. Disolución de agar al 3%: para la preparación deben seguirse las instrucciones dadas para la gelatina en el Experimento 2, página 132.
- Tiempo para:** Preparación: ½ día.
Experimentación: 2 horas.
Observaciones: Durante 1 día, y después de 2 días - ½ hora.

Experimento 8.

- Materiales:** Semillas de maíz o de frijol.
- Accesorios:** Un termómetro de 0° a 100°C. Papel absorbente. Una bolsa de papel. Un lápiz de cera o etiquetas engomadas.
- Aparatos:** Una balanza analítica. Una incubadora o estufa hasta 50°C. Un refrigerador (4° a 8°C). Un potenciómetro o serie de disoluciones de indicadores.*

* Véase APENDICE

- Cristalería:** Seis vasos de precipitación u otros recipientes adecuados de 250 ml. Un matraz aforado o una probeta graduada de 100 ml. Dos pipetas graduadas, una de 5 y otra de 10 ml. Ocho recipientes pequeños. Ocho tubos de ensayo. Dos matraces aforados de 500 ml. Una bureta de 10 o 25 ml.
- Reactivos:** Cloruro de sodio, puede usarse la sal común de mesa. Timol. Alcohol etílico (etanol) de 95%. Serie de disoluciones amortiguadoras (tampón): en un matraz aforado de 500 ml prepare una disolución de ácido acético 0.1 N, diluyendo 2.88 ml* de ácido acético glacial con agua hasta completar el volumen; agítelo bien. Prepare una disolución de acetato de sodio, disolviendo en un matraz aforado de 500 ml, 4.10 g de este compuesto [CH₃COONa] o 6.8 g de CH₃COONa·3 H₂O, y complete el volumen; mezcle bien. Pipetee las partes alícuotas correspondientes, según las indicaciones siguientes: primero de una disolución y luego de otra, en recipientes pequeños, marcados.

<u>pH</u>	<u>ml ácido acético</u>	<u>ml acetato de sodio</u>
3.2	9.7	0.3
3.8	8.9	1.1
4.4	8.0	2.0
4.7	6.7	3.3
5.0	3.3	6.7
5.6	2.0	8.0
5.9	0.6	9.4
6.7	2 gotas	10.0

Disolución de gelatina al 5%: para su preparación, véase el Experimento 2, página 132.

- Tiempo para:** Preparación: ½ día.
 Experimentación: 2½ horas.
 Observaciones: Después de 2 días - ½ hora.

Capítulo III.

Experimento 9.

- Accesorios:** Un alfiler o una aguja. Detergente (Fab, Ace, etc.). Aceite lubricante. Fósforo o mondadientes. Opcional: unas pinzas finas y papel periódico.
- Cristalería:** Una cápsula (caja) de Petri de tamaño mediano. Un gotero. Una pipeta de 1 ml. Un recipiente pequeño.
- Reactivos:** Alcohol etílico (etanol) de 95%. Alcanfor en cristales.
- Tiempo para:** Experimentación: ¾ hora.

Experimento 10.

- Accesorios:** Carbón activado. Papel de filtro. Unas tijeras. Agua bien caliente.
- Aparatos:** Una balanza analítica.
- Cristalería:** Dos probetas graduadas o matraces aforados de 100 ml. Cuatro recipientes pequeños. Una pipeta de 2 ml. Dos embudos. Un frasco alto y delgado.
- Reactivos:** Eosina Y. Azul de metileno, cloruro.
- Tiempo para:** Experimentación: 1 hora.

* Véase APENDICE

Capítulo IV.

Experimento 11.

- Materiales:** Suficiente cantidad de: arena fina; suelo limoso; arcilla; suelo con alto contenido de materia orgánica. Semillas de maíz.
- Accesorios:** Cuatro latas de 0.5 a 1 litro de capacidad. Un clavo grande. Un martillo. Cuatro tapaderas de vidrio, lata o madera. Papel absorbente (papel periódico). Una espátula grande. Ocho bolsas pequeñas de papel. Cuatro bolsas de polietileno u de otro material plástico apropiado, con capacidad para aproximadamente 1 Kg de suelo. Cuatro bandas de goma o hilo.
- Aparatos:** Una estufa hasta 105°C. Una balanza analítica.
- Tiempo para:** Preparación: ½ hora - 2 días.
 Experimentación: 1 hora - 1 día - ½ hora.
 Observaciones: Después de 3 a 5 semanas - ½ hora - 1 día - ½ hora.

Experimento 12.

- Materiales:** Dos plantas bien enraizadas, sembradas en macetas; se puede usar: *Fuchsia sp.*, *Helianthus annuus*, *Nicotiana tabacum*, *Coleus sp.*, o estacas enraizadas de muchos arbustos y árboles; algunos son mejores que otros; no use coníferas. Cuatro macetas con plantitas de maíz.
- Accesorios:** Un cuchillo filoso o una hoja de afeitar. Varios pedazos de tubo de goma. Una prensa de tornillo para tubo de goma. Papel milimetrado. Hielo. Un mechero de gas con trípode o un calentador eléctrico. Un termómetro de 0° a 100°C.
- Aparatos:** Una balanza analítica. Un manómetro ajustable; para su construcción véase la Figura 3.
- Cristalería:** Dos tubos "T". Una probeta graduada de 10 ml; puede sustituirse, graduando un tubo de ensayo pequeño a intervalos de un mililitro con una lima triangular. Tres vasos de precipitación de 500 ml. Cuatro vasos de precipitación o frascos de vidrio; la boca debe ser igual o un poco menor que el diámetro de las macetas con las plántulas de maíz. Una probeta graduada o un matraz aforado de 250 ml.
- Reactivos:** Cloruro de sodio; la sal común de mesa sirve. Nitrato de potasio.
- Tiempo para:** Preparación: Las plantas usadas en las partes A y B deben sembrarse con varios meses de anticipación; las de la parte C, 6 a 8 días antes.
 Experimentación: 2½ horas.
 Observaciones: Durante 1 semana.

Experimento 13.

- Materiales:** Tres ramas delgadas, de un árbol o arbusto, con sus partes basales bien leñosas y de un diámetro de 0.5 a 1 cm; pueden servir ramas de *Cupressus sp.*, *Eucalyptus sp.* Una planta herbácea, preferiblemente con flores blancas y con tallo translúcido, como *Impatiens sultani*.
- Accesorios:** Una palangana mediana. Un cuchillo filoso. Opcional: unas tijeras para podar. Una hoja de afeitar. Papel absorbente. Parafina. Una lata pequeña. Un mechero de gas con trípode o un calentador eléctrico. Hilo fuerte o alambre suave. Algunos pedazos de tubo de goma, preferiblemente de pared gruesa. Una prensa de tornillo para tubo de goma. Una palangana plástica, honda, de 10 a 15 cm de diámetro. Otra palangana, un poco más grande. Yeso. Una espátula. Un soporte con dos prensas.

- Aparatos:** Una balanza analítica. Un microscopio de poco aumento o lente de mano (lupa). Una trompa (aspirador accionado por agua) o una bomba de vacío. Opcional: un ventilador eléctrico.
- Cristalería:** Tres recipientes pequeños. Una varilla de vidrio. Dos vasos de precipitación de 30 ml o frascos de igual capacidad. Una probeta graduada o un matraz aforado de 100 ml. Un portaobjeto. Un cubreobjeto. Un Erlenmeyer de 1000 ml. Un vaso de precipitación que entre en forma invertida sobre la boca del Erlenmeyer. Dos tubos de vidrio de pared gruesa, con un diámetro interior de 3 a 5 mm y aproximadamente 1 m de largo. Un embudo pequeño, que entre en forma invertida en la palangana con yeso, dejando un espacio de unos 2 cm entre la pared de la palangana y el borde del embudo.
- Reactivos:** Fucsina ácida. Mercurio metálico, el de grado comercial (técnico) es bueno. Cuidado, ¡metal y vapor muy venenosos! Debe guardarse bajo una capa de agua. Puede limpiarse pasándolo a través de una tela de lino.
- Nota:** El "hongo" de yeso puede usarse repetidas veces guardándolo bien seco. Al usarlo de nuevo, se recomienda aspirar primero un poco de alcohol etílico (etanol) de 95% y luego agua hervida, para infiltrarlo más fácilmente.
- Tiempo para:** Preparación: 1 hora - varias horas.
Experimentación: 2 horas.
Observaciones: Durante varias horas y después de varios días.

Experimento 14.

- Materiales:** Rama de *Elodea (Helodea) sp.* u hojas de *Vallisneria sp.*. Hojas de un higrófito (p. e. *Impatiens sultani*), mesófito y xerófito (p. e. *Sansiviera sp.*). Hojas de una planta suculenta, como *Echeveria sp.* o *Graptopetalum sp.*. Dos tubérculos pequeños de papa.
- Accesorios:** Papel absorbente. Dos cedazos de alambre suspendidos entre tablas de madera. Un cuchillo filoso o un pelador de papas. Unas pinzas finas. Una hoja de afeitar.
- Aparatos:** Una balanza analítica. Un microscopio de 300 a 500 x.
- Cristalería:** Un portaobjeto y un cubreobjeto.
- Tiempo para:** Experimentación: 1 hora.
Observaciones: Durante varias horas y varios días, con un tiempo adicional de 1 hora para repetición de pesadas.

Experimento 15.

- Materiales:** Dos hojas de tamaño mediano con pecíolos largos; deben cortarse preferiblemente bajo agua. Un arbusto o árbol pequeño expuesto al sol, con algunas ramas u hojas en sombra intensa, p. e. interior de la planta.
- Accesorios:** Un mechero de gas con trípode. Un cuchillo. Dos bandas de goma, grandes. Una lámina delgada de plástico; una bolsa de polietileno puede servir. Unas tijeras. Papel de filtro, grande. Una aguja o un estilete. Papel (hoja) de aluminio. Algodón. Una hoja de afeitar. Vaselina blanca. Regla pequeña, subdividida en milímetros. Alambre delgado. Papel de filtro impregnado con cloruro de cobalto: recorte papel de filtro según el tamaño de los vidrios usados (más o menos 8 x 11 cm). Prepare una disolución de cloruro de cobalto, disolviendo 10 g en 200 ml de agua destilada. Sumerja los papeles en la disolución, déjelos escurrir y cuélguelos con ganchitos hechos de alambre en la estufa a una temperatura de 110°C para que se sequen. Deben guardarse inmediatamente en el frasco con el agente desecante. Dieciséis prensas de ropa. Silica-gel, granulada, con indicador.
- Aparatos:** Una balanza analítica. Un microscopio de poco aumento. Una estufa hasta 110°C. Un reloj.

Cristalería: Una varilla de vidrio. Ocho vidrios delgados de ventana, de aproximadamente 9 x 12 cm. Tres vasos de precipitación, uno de 250 y dos de 500 ml o 600 ml. Una fuente de cristalización ("crystallizing dish") de forma cilíndrica, de 10 a 12 cm de diámetro y de unos 5 cm de profundidad; también puede servir un vaso de precipitación de 1000 ml, llenándolo hasta unos 5 cm con la gelatina. Una probeta graduada o matraz aforado de 100 ml y otra de 500 ml. Cinco vasos de precipitación de 50 ml u otros recipientes apropiados. Un frasco grande con tapa de rosca, o mejor todavía, con tapa a presión, con empaque de goma; el fondo debe cubrirse con silica-gel hasta una profundidad de 3 a 4 cm para que sirva de desecador. Si el silica-gel se torna rosado, quite la tapa y el empaque y caliente por varias horas a una temperatura de 110°C. Once botellitas de gotero. Un portaobjeto.

Reactivos: Timol. Fucsina ácida. Disolución de gelatina al 5%: para su preparación véase el Experimento 2, página 132. Disolución de colodión, grado comercial es suficiente. Cloruro de cobalto II. Xilol. Aceite mineral "Nujol". Las mezclas de xilol y de Nujol deben prepararse en las siguientes proporciones:

Mezclas:

	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
Nujol											
Xilol	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

Tiempo para: Preparación: ½ hora - varias horas.
 Experimentación: 2½ horas.
 Observaciones: Después de 2 días y varios días - 1 hora.

Experimento 16.

Materiales: Una rama de arbusto o árbol, con un diámetro en su base de aproximadamente 0.5 cm; pueden servir las mismas especies que en el Experimento 13 (Véase página 136). También pueden usarse ramas o tallos de plantas herbáceas, siempre que el tallo sea suficientemente duro.

Accesorios: Un cuchillo filoso o unas tijeras de poda. Una palangana mediana. Un mechero de gas con trípode o un calentador eléctrico.

Aparatos: Un potómetro; para su construcción véase la Figura 8. Un ventilador eléctrico. Un bombillo infrarrojo con reflector y soporte.

Cristalería: Un Erlenmeyer de 1000 ml. Un vaso de precipitación que entre en forma invertida sobre la boca del Erlenmeyer.

Tiempo para: Experimentación: 1½ horas.

Capítulo V.

Experimento 17.

Materiales: Plántulas de maíz, germinadas sobre papel de filtro en una cámara húmeda. Como cámara puede servir una palangana plástica, cubierta ligeramente con un vidrio de ventana de manera que permita todavía la entrada de aire. (En lugar del papel de filtro puede usarse también papel absorbente, como toallas de papel.)

Accesorios: Dos tapones de corcho para los frascos de mermelada. Uno de los tapones debe perforarse en el centro para introducir una regla de madera, la que servirá de soporte a las plantas cuando hayan crecido; éstas pueden fijarse luego a la regla con una banda de goma o un hilo. Los tapones pueden infiltrarse con parafina derretida bien caliente, para preservarlos

mejor. Un cuchillo filoso. Una banda de goma de varios milímetros de ancho. Algodón. Una regla de madera, de 1 x 1 cm de sección transversal y de unos 20 cm de largo. Un perforador de corcho (sacabocado) de aproximadamente 0,7 cm de diámetro. Dos etiquetas engomadas o un lápiz de cera. Un mechero de gas con trípode o un calentador eléctrico.

- Aparatos:** Una balanza analítica.
- Cristalería:** Un matraz aforado de 100 ml. Un recipiente con capacidad para 2 litros. Un Erlenmeyer de 1000 ml. Un vaso de precipitación que en forma invertida entre sobre la boca del Erlenmeyer. Dos matraces aforados de 1000 ml. Dos frascos para mermelada de aproximadamente 1 litro de capacidad, de color ámbar; en caso de no disponerse de frascos ambarinos pueden usarse de vidrio claro y pintarlos por fuera con pintura negra. Una pipeta o una probeta graduada de 25 ml. Un Erlenmeyer de 50 ml u otro recipiente apropiado. Un gotero. Una pipeta de 10 ml.
- Reactivos:** Disolución de fenolftaleína al 1% en etanol de 95%, guardada en una botella gotero. Carbonato de potasio; puede servir también carbonato de sodio. Disolución de hidróxido de sodio al 0.001 N: en un matraz aforado de 1000 ml, disuelva 4.0 g de NaOH en poca agua y complete el volumen; después de mezclar bien tome una parte alícuota de 10 ml y dilúyala en otro matraz aforado de 1000 ml hasta completar el volumen con agua destilada, recién hervida y enfriada.
- Tiempo para:** Preparación: 8 a 10 días.
 Experimentación: 1 hora.
 Observaciones: Después de 1 semana - ½ hora - y de 2 semanas - ½ hora.

Experimento 18.

- Materiales:** Plántulas de maíz; véase el Experimento 17, página 138.
- Accesorios:** Ocho tapones de corcho para los frascos de mermelada; véase el Experimento 17, página 138. Un cuchillo filoso. Ocho reglas de madera, de 1 x 1 cm de sección transversal y unos 20 cm de largo. Un perforador de corcho de aproximadamente 0,7 cm de diámetro. Algodón. Ocho etiquetas engomadas o lápiz de cera. Ocho bandas de goma, de varios milímetros de ancho. Un cuchillo filoso. Una hoja de afeitar. Dieciséis bolsas pequeñas de papel. Una regla subdividida en centímetros. Papel absorbente.
- Aparatos:** Una balanza analítica. Una estufa hasta 105°C.
- Cristalería:** Varios matraces aforados de 1000 ml. Ocho frascos tipo mermelada; véase el Experimento 17, página 139. Tres pipetas graduadas, de 1 ml, de 5 ml y otra de 10 ml. Una probeta graduada de 250 ml. (Para dispensar las disoluciones madres sirven muy bien buretas con depósito, activadas por medio de bombas de goma). Ocho botellas de vidrio, de 1000 ml y una de 100 ml por si se desea guardar las disoluciones madres; en lugar de tapones esmerilados es recomendable usar los de goma o plásticos, pues algunas disoluciones cristalizan fácilmente.
- Reactivos:** Nitrato de calcio $[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}]$. Nitrato de potasio. Sulfato de magnesio $[\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}]$. Fosfato monobásico de potasio. Fosfato monobásico de calcio $[\text{CaH}_4(\text{PO}_4)_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}]$. Sulfato de potasio. Sulfato de calcio $[\text{CaSO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}]$. Quelato de hierro, p. e. "Na-Fe-Sequestrene". Cloruro de manganeso $[\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}]$. Ácido bórico. Sulfato de cinc $[\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}]$. Ácido mofbídico. Sulfato de cobre $[\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}]$. Prepare primeramente las disoluciones madres, disolviendo en un matraz aforado de 1000 ml la cantidad indicada de cada sal en suficiente agua y completando luego el volumen; en el caso del quelato de hierro prepare solamente 100 ml pues la disolución se descompone con el tiempo.
- Tiempo para:** Preparación: 8 a 10 días.
 Experimentación: 2 horas.
 Observaciones: Después de 3 a 5 semanas - 1 hora - 1 día de espera - ½ hora.

Experimento 19.

- Materiales:** Raíz de remolacha roja grande. Plántulas de maíz, véase el Experimento 17, página 138.
- Accesorios:** Un cuchillo filoso. Una hoja de afeitar. Cuatro tapones de corcho para los frascos de mermelada, véase el Experimento 17, página 138. Cuatro reglas de madera, de 1 x 1 cm de sección transversal y unos 20 cm de largo. Un perforador de corcho de aproximadamente 0.7 cm de diámetro. Algodón. Cuatro bandas de goma, de varios milímetros de ancho. Ocho bolsitas de papel. Papel absorbente. Una regla subdividida en centímetros.
- Aparatos:** Una balanza analítica. Una estufa hasta 105°C.
- Cristalería:** Cinco tubos de ensayo. Tres matraces aforados de 100 ml. Dos pipetas, una de 1 y otra de 10 ml. Varios matraces aforados de 1000 ml. Cuatro frascos tipo mermelada, véase el Experimento 17, página 139.
- Reactivos:** Cloruro de sodio químicamente puro. Cloruro de calcio $[\text{CaCl}_2]$ o $[\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}]$. Sulfato de cobre $[\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}]$, peso molecular 249.7.
- Tiempo para:** Preparación: 8 a 10 días.
 Experimentación: 1 ¼ horas.
 Observaciones: Durante 24 horas y después de 3 a 5 semanas - ¼ hora - 1 día - ½ hora.

Capítulo VI.

Experimento 20.

- Materiales:** Hojas frescas, muy verdes; deben provenir de una planta que no tenga ácidos en el jugo celular, de otro modo se obtendrá feofitinas en lugar de clorofilas.
- Accesorios:** Un mechero de gas con trípode o un calentador eléctrico. Unas tijeras. Papel absorbente. Un mortero de porcelana. Arena de cuarzo bien lavada. Papel de filtro pequeño, y un pliego grande. Una engrapadora (máquina para engrapar).
- Aparatos:** Una balanza analítica. Un proyector o lámpara para microscopio.
- Cristalería:** Tres vasos de precipitación, dos de 250 y otro de 400 ml o 600 ml. Una probeta graduada de 100 ml. Un recipiente de vidrio (cubeta), preferiblemente de paredes planas. Una cápsula de Petri pequeña. Un frasco grande y alto tipo mermelada o museo. Un embudo de separación de 125 ml. Varios recipientes pequeños. Un embudo. Cuatro tubos de ensayo. Tres matraces aforados de 100 ml. Una pipeta de 1 y una de 5 ml.
- Reactivos:** Carbonato de calcio. Alcohol etílico (etanol) de 95%. Gasolina blanca pura. Hidróxido de potasio. Hidróxido de sodio. Acido acético glacial. Sulfato de cobre $[\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}]$.
- Tiempo para:** Experimentación: 2 horas.

Experimento 21.

- Materiales:** Raíz de remolacha roja u hojas de repollo rojo. Flores azules, rojas y blancas.
- Accesorios:** Un mechero de gas con trípode o un calentador eléctrico. Papel indicador universal para un intervalo de por lo menos pH 3 a pH 10; pueden usarse también varios papeles distintos con intervalos más limitados. Papel de filtro. Un cuchillo.

- Aparatos:** Una balanza analítica.
- Cristalería:** Una probeta graduada de 100 ml. Un embudo. Dos tubos de ensayo. Una pipeta graduada de 10 ml. Un vaso de precipitación o Erlenmeyer de 250 ml. Dos frasquitos. Una cápsula de Petri pequeña; la tapa y el fondo pueden servir separadamente. Dos vasos de precipitación de 1000 ml u otros frascos apropiados. Un gotero o una pipeta pequeña. Dos matraces aforados de 500 ml.
- Reactivos:** Acido acético al 0,2 N: en un matraz aforado de 500 ml afora 5,8 ml* de ácido acético glacial con agua hasta la marca. Disolución de hidróxido de sodio al 0,1 N: en un matraz aforado de 500 ml disuelva 2,0 g de NaOH en poca agua y complete el volumen. Hidróxido de amonio concentrado. Acido clorhídrico concentrado.
- Tiempo para:** Experimentación: 1½ horas.
Observaciones: Hasta 2 horas.

Capítulo VII.

Experimento 22.

- Materiales:** Levadura seca, de buena calidad. Tubérculo de papa. Leche fresca.
- Accesorios:** Un mechero de gas con trípode. Un cuchillo. Un termómetro de 0° a 100°C. Un estante para tubos de ensayo. Una prensa para sostener tubos de ensayo.
- Aparatos:** Una balanza analítica.
- Cristalería:** Siete tubos de ensayo. Un vaso de precipitación de 250 ml. Dos matraces aforados de 500 ml. Una pipeta graduada de 5 ml. Una probeta graduada o matraz aforado de 100 ml. Si se desea guardar los reactivos: dos botellas de 500 ml; no guarde la disolución de Fehling II en una botella con tapón esmerilado, sino con uno de plástico o de goma. Dos botellas pequeñas y una botella gotero.
- Reactivos:** Toluol. Sacarosa químicamente pura. Reactivo de Fehling: I. En un matraz aforado de 500 ml disuelva 34,6 g de sulfato de cobre [$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$] en suficiente agua y complete el volumen. II. En un matraz aforado de 500 ml disuelva 173 g de tartrato de sodio y potasio y 60 g de hidróxido de sodio en suficiente agua y complete el volumen. Las disoluciones I y II pueden guardarse indefinidamente sin mezclar. Al usarse, se mezclan iguales volúmenes de ambas. Guayacol. Goma de guayaco de buena calidad. Alcohol etílico (etanol) de 95%. Peróxido de hidrógeno (agua oxigenada) al 3%, reactivo fresco. Azul de metileno, cloruro. Aceite mineral "Nujol".
- Tiempo para:** Experimentación: 1 hora.

Experimento 23.

- Materiales:** Semillas de maíz o de cebada apenas germinadas, con la radícula ya visible; véase el Experimento 17, página 138. No deben tratarse con fungicida.
- Accesorios:** Un mortero de porcelana. Arena de cuarzo bien lavada. Papel de filtro poroso (cualitativo). Un mechero de gas con trípode. Una prensa para sostener tubos de ensayo. Un estante para tubos de ensayo. Hoja de papel blanco. Un termómetro de 0° a 100°C.
- Aparatos:** Una balanza analítica. Un reloj.

* Véase APENDICE

Cristalería: Un embudo. Una probeta graduada de 100 ml. Dieciséis tubos de ensayo. Varias varillas de vidrio. Diez vasos de precipitación de 50, uno de 250 y uno de 400 ml. Un gotero. Una pipeta graduada de 5, una de 10 y una de 25 ml. Un vidrio de ventana del tamaño de la hoja de papel blanco. Dos matraces aforados de 100 ml y uno de 250 ml.

Reactivos: Sulfato de cobre [$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$], cristales. Toluol. Disolución de almidón al 1%; para su preparación véase el Experimento 4, página 133. Disolución de yodo en yoduro de potasio: en un matraz aforado de 250 ml disuelva 1.0 g de yodo y 4.0 g de yoduro de potasio en muy poca agua y después complete el volumen. Debe guardarse en botella de color ámbar o en un lugar oscuro, preferiblemente bajo refrigeración. Para usarla diluya una parte alcuota con agua hasta obtener una disolución con color de té fuerte. Reactivo de Fehling, véase el Experimento 22, página 141. Inulina. Disoluciones amortiguadoras: prepare 100 ml de una disolución al 0.5 M de ácido cítrico [$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$] (p. M. 210.14), disolviendo en un matraz aforado de 100 ml 10.51 g de este compuesto en poca agua y completando el volumen; para la disolución al 0.5 M de fosfato dibásico de sodio [Na_2HPO_4], disuelva en un matraz aforado de 100 ml 7.1 g de este compuesto (p. M. 141.97) o 17.9 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ (p. M. 358.17) en suficiente agua y complete el volumen; prepare la serie mezclando las proporciones indicadas en mililitros de ambas disoluciones:

pH	0.5 M fosfato	0.5 M ácido cítrico	Agua
2.6	0.9	3.6	15.5
3.0	1.6	3.2	15.2
3.6	2.6	2.7	14.7
4.0	3.1	2.4	14.4
4.6	3.7	2.1	14.2
5.0	4.1	1.9	14.0
5.6	4.6	1.7	13.7
6.0	5.1	1.5	13.4
6.6	5.8	1.1	13.1
7.0	6.6	0.7	12.7

Tiempo para: Preparación: 3 a 4 días.
Experimentación: 2½ horas

Capítulo VIII.

Experimento 24.

Materiales: Una planta de *Coleus sp.* sembrada en una maceta; debe ser de la variedad que tiene hojas variegadas y adicionalmente antociano, o sea que las hojas tengan áreas verdes, crema, marrones y moradas. También puede usarse la variedad que tiene hojas variegadas sin antociano; en este caso se omite la observación del área que sólo contiene este pigmento.

Nota: El experimento puede efectuarse también en el campo.

Accesorios: Un cajón a prueba de luz. Unas tijeras o un punzón. Lápices de color. Un calentador eléctrico que no tenga la resistencia expuesta. Unas pinzas grandes, una espátula o una cuchara. Una palangana achatada, preferiblemente con fondo blanco, p. e. de metal esmaltado.

Cristalería: Un vaso de precipitación de 500 ml.

Reactivos: Alcohol etílico (etanol) de 95%. Disolución de yodo en yoduro de potasio, véase el Experimento 23, esta página. Debe diluirse hasta obtener un color como el de té fuerte.

Tiempo para: Preparación: 2 a 3 días - 2 días.
Experimentación: 1 hora.

Experimento 25.

- Materiales:** Un árbol pequeño o un arbusto que acumule almidón en sus hojas, en posición favorable para la fotosíntesis. Pueden usarse también ciertas plantas herbáceas como p. e. el geranio.
- Accesorios:** Vaselina blanca. Un pedazo de tela suave o papel absorbente. Unas tijeras o un punzón. Un calentador eléctrico que no tenga la resistencia expuesta. Unas pinzas grandes, una espátula o una cuchara. Una palangana achatada, preferiblemente con fondo blanco, p. e. de metal esmaltado.
- Aparatos:** Un microscopio de poco aumento.
- Cristalería:** Un vaso de precipitación de 500 ml. Un portaobjeto.
- Reactivos:** Xilol o éter de petróleo. Alcohol etílico (etanol) de 95%. Disolución de yodo en yoduro de potasio, véase el Experimento 23, página 142; debe diluirse hasta obtener un color como el de té fuerte. Disolución de colodión; el grado comercial es bueno.
- Tiempo para:** Preparación: $\frac{1}{2}$ hora - 2 días.
Experimentación: 1 hora

Experimento 26.

- Materiales:** Un árbol pequeño o un arbusto que acumule almidón en sus hojas, en posición bien soleada, con algunas ramas en sombra intensa, p. e. en el interior de la planta.
- Accesorios:** Papel negro, forrado con aluminio en un lado, como el que se usa para proteger papeles fotográficos. Unas tijeras. Algunos alfileres. Opcional: unas tijeras de podar o un cuchillo. Un negativo fotográfico de buen contraste. Un calentador eléctrico que no tenga la resistencia expuesta. Unas pinzas grandes, una espátula o una cuchara. Una palangana achatada, preferiblemente con fondo blanco, p. e. de metal esmaltado.
- Cristalería:** Un vaso de precipitación de 500 ml.
- Reactivos:** Alcohol etílico (etanol) de 95%. Disolución de yodo en yoduro de potasio; véase el Experimento 23, página 142; debe diluirse hasta obtener un color como el de té fuerte.
- Tiempo para:** Preparación: $\frac{1}{2}$ hora - 3 a 4 días.
Experimentación: 1 hora

Experimento 27.

- Materiales:** *Elodea (Helodea) sp.*, ramas bien vigorosas de color verde oscuro; deben estar aclimatadas a la temperatura del laboratorio y mantenidas en luz difusa.
- Accesorios:** Una hoja de afeitar. Hilo. Un termómetro de 0° a 100°C. Un metro subdividido en centímetros. Un mechero de gas con trípode o un calentador eléctrico. Un tubo de goma o de vidrio en forma de sifón. Soportes consistentes en cajas, tablas, etc.
- Aparatos:** Un proyector de buena luminosidad, por lo menos de 250 vatios. Una balanza analítica. Reloj.
- Cristalería:** Una varilla de vidrio. Un recipiente por lo menos de un litro de capacidad, preferiblemente de paredes planas, como un pequeño acuario. Un Erlenmeyer de 1000 ml. Un vaso de precipitación que en forma invertida entre sobre la boca del Erlenmeyer. Una matraz aforado de 1000 ml.
- Reactivos:** Bicarbonato de potasio; en caso de no haber, úsese bicarbonato de sodio.
- Tiempo para:** Experimentación: 1½ horas.

Capítulo IX.

Experimento 28.

- Materiales:** Aproximadamente 1 Kg de semillas de maíz.
- Accesorios:** Fungicida, p. e. "Arasan". Una lata con tapa, para tratar las semillas, o una bolsa grande de papel. Papel absorbente. Algodón. Tres bolsas pequeñas de papel. Cuatro botellas termos, de tamaño mediano. Cuatro termómetros de 0° a 100°C. Para la construcción de las dos cámaras húmedas véase el Experimento 17, página 138.
- Aparatos:** Una estufa hasta 105°C. Una balanza analítica. Un refrigerador (4° a 8°C). Opcional: una incubadora hasta 35°C.
- Cristalería:** Cuatro frascos o vasos de precipitación de 500 ml aproximadamente.
- Tiempo para:** Experimentación: ½ hora - 8 a 12 horas - 1 hora.
Observaciones: Durante 5 días; después de 2 semanas - ½ hora - 8 a 12 horas - ½ hora.

Experimento 29.

- Materiales:** Unas pocas semillas de frijol o guisante embebidas en agua durante 8 a 12 horas. De 8 a 12 papas grandes.
- Accesorios:** Una palangana o una bandeja grande, no debe ser metálica. Papel absorbente. Vaselina blanca. Un cuchillo. Opcional: un tapón de goma para el tubo y un punzón. Unas pinzas.
- Aparatos:** Una incubadora hasta 40°C. Un refrigerador que alcance una temperatura no inferior a 6°C.
- Cristalería:** Un tubo pequeño de ensayo o "vial". Un vaso de precipitación de 50 ml. Dos recipientes pequeños. Cuatro frascos grandes para mermelada, con tapa de rosca o con tapa a presión, con empaque de goma (0.5 a 1 litro).
- Reactivos:** Mercurio metálico; véase el Experimento 13, página 137. Hidróxido de sodio o de potasio en pastillas.
- Tiempo para:** Preparación: 8 a 12 horas.
Experimentación: ½ hora
Observaciones: Varios días - ½ hora; después de 10 a 12 días.

Experimento 30.

- Materiales:** Aproximadamente 450 g de semillas de maíz. 100 g de semillas de maíz en germinación (véase el Experimento 17, página 138), con la radícula apenas visible, y unas 50 semillas extra. Unas 30 semillas de *Ricinus comunis*, de girasol u otra semilla rica en grasas; también deben estar apenas germinando.
- Accesorios:** Algodón. Dos soportes, cada uno con prensa doble para buretas. Un pedazo de alambre grueso del largo de las buretas. Un tubo de goma. Una bolsa pequeña de papel. Una prensa de tornillo para tubo de goma. Una cuchara. Un cuchillo filoso o una hoja de afeitar.
- Aparatos:** Una balanza analítica. Un aparato para la medición del CO₂; para su construcción véase la Figura 12 y las instrucciones dadas en "Procedimiento" de este experimento. Una trompa (aspirador accionado por agua) o una bomba de vacío. Un reloj. Una estufa hasta 105°C.
- Cristalería:** Una bureta de 10 ml y cuatro de 25 ml. Cuatro vasos de precipitación de 50 ml, uno de 150 y uno de 250 ml. Dos probetas graduadas, una de 100 y otra de 250 ml. Un Erlenmeyer de 50 ml. Una botella de gotero. Una pipeta graduada de 10 ml. Dos botellas de 1000 ml.

Un matraz aforado de 1000 ml. Una cápsula de Petri pequeña; la tapa y el fondo pueden servir separadamente.

Reactivos: Hidróxido de potasio. Hidróxido de sodio. Mercurio metálico; véase el Experimento 13, página 137. Disolución de fenolftaleína al 1% en alcohol etílico (etanol) de 95%. Disolución patrón o tipo de ácido clorhídrico al 0.1 N: en un matraz aforado de 1000 ml diluya 8.60 ml* del ácido concentrado con agua hasta la marca. Disolución de hidróxido de bario, aproximadamente 0.1 N: en una botella de 1000 ml disuelva varias cucharadas de este compuesto (unos 80 g) en agua y llene la botella con ésta. Tápela y agítela repetidas veces a intervalos cortos. Después de que se haya sedimentado el exceso, decante 250 ml de la disolución saturada y clara, viértala en otra botella de 1000 ml y llénela con agua. Mantenga la botella bien tapada. Cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio.

Tiempo para: Preparación: 3 a 4 días.
Experimentación: 3 horas.
Observaciones: Durante 1 semana.

Experimento 31.

Materiales: Levadura seca de buena calidad. Miel de abejas.

Accesorios: Dos tapones de goma perforados, uno para el Erlenmeyer y otro para la entrada del refrigerante. Dos tubos de vidrio, doblados según instrucciones. Lápiz de cera o etiquetas engomadas. Hilo o alambre. Tubo de goma. Un mechero de gas, con trípode o un calentador eléctrico. Algodón. Opcional: un tapón de goma para los tubos de ensayo y un punzón.

Aparatos: Una balanza analítica.

Cristalería: Dos Erlenmeyers, uno de 50 y otro de 500 ml. Un frasco pequeño. Un refrigerante. Una probeta graduada de 100 ml o un matraz aforado de 100 ml. Una probeta graduada de 250 ml. Siete tubos de ensayo. Siete vasos de precipitación de 50 ml u otros recipientes adecuados. Cuatro botellas pequeñas.

Reactivos: Sacarosa (azúcar corriente). Glucosa. Fructosa. Maltosa. Lactosa. Galactosa. Disolución de almidón al 2%: para su preparación véase el Experimento 4, página 133. Disolución saturada de hidróxido de bario; véase el Experimento 30, esta página; también puede servir una disolución de cloruro de bario.

Tiempo para: Experimentación: 1½ horas.
Observaciones: Varios días - ½ hora.

Capítulo X.

Experimento 32.

Materiales: Varias semillas de frijol, embebidas en agua durante algunas horas. Unos 15 g de semillas de frijol secas.

Accesorios: Papel de filtro (cualitativo). Un mechero de gas. Una prensa para sostener tubos de ensayo. Un estante para tubos de ensayo. Una hoja de afeitar.

Aparatos: Un molino eléctrico, una licuadora, o un mortero de porcelana. Una balanza analítica.

Cristalería: Varios recipientes pequeños. Una probeta graduada de 100 ml. Un vaso de precipitación de 100 ml. Una pipeta graduada de 5 ml. Varios goteros. Una varilla de vidrio. Un embudo. Siete tubos de ensayo. Si se desea guardar los reactivos, varias botellas pequeñas.

* Véase APENDICE

- Reactivos:** Cloruro de sodio químicamente puro. Hidróxido de sodio. Sulfato de cobre [CuSO₄·5 H₂O]. Reactivo de Millon: A. saturar una disolución de ácido nítrico al 10% con cristales de nitrato de mercurio. B. disuelva 1 g de sulfato de mercurio en unos 10 ml de ácido sulfúrico al 10%. C. disuelva aproximadamente 1 ml de mercurio metálico en unos 10 ml de ácido nítrico concentrado (cuidado, ¡hágalo en una campana!) y diluya la disolución obtenida con igual cantidad de agua; si el reactivo se hace viejo, puede reactivarse con un cristal pequeño de nitrato de potasio. Nitrito de sodio. Disolución de formaldehído al 0.2%: diluya el reactivo concentrado (de 36% a 40%) 200 veces. Acido sulfúrico concentrado. Acido nítrico concentrado. Amoniaco concentrado. Ninhidrina. Alcohol etílico (etanol) de 95%.
- Tiempo para:** Preparación: Varias horas
Experimentación: 1½ horas.

Experimento 33.

- Materiales:** Aserrín. Papel. Frutas. Hojas o tallo de una planta suculenta p. e. de *Agave sp.*, *Opuntia sp.*, o una crasulácea.
- Accesorios:** Algodón. Un mechero de gas. Una prensa para sostener tubos de ensayo. Un estante para tubos de ensayo. Un cuchillo. Papel tornasol u otro papel indicador del mismo intervalo (pH 7).
- Aparatos:** Una balanza analítica.
- Cristalería:** Varios tubos de ensayo. Cuatro goteros. Una probeta graduada de 100 ml. Varios recipientes pequeños. Un vaso de precipitación de 250 ml. Una pipeta graduada de 5 ml. Varias botellas pequeñas, si se desea guardar los reactivos.
- Reactivos:** Sacarosa (azúcar corriente). Sacarosa químicamente pura. Almidón. Inulina. Glucosa. Maltosa. Fructosa. Goma arábiga. Timol. Alcohol etílico (etanol) de 95%. Xilosa o arabinosa. Hidróxido de sodio. Reactivo de Bial: disuelva 0.2 g de orcinol (reactivo fresco) en 100 ml de ácido clorhídrico concentrado; no puede guardarse por mucho tiempo. Cloruro de hierro III (férico); debe guardarse en un frasco muy bien tapado. Acido sulfúrico concentrado. Acido sulfúrico al 80%: para prepararlo vierta lentamente, y con muchísimo cuidado, 80 ml del ácido concentrado en 20 ml de agua; no lo haga al contrario! Reactivo de Fehling, véase el Experimento 22, página 141.
- Tiempo para:** Experimentación: 2 horas.

Capítulo XI.

Experimento 34.

- Materiales:** Cinco semillas de guisante o de garbanzo. Varias semillas de maíz, germinadas; véase el Experimento 17, página 138. Plantas de maíz creciendo en una maceta; deben tener una altura de 10 a 15 cm. Plantas de frijol, sembradas en una maceta, por lo menos con el primer par de hojas bien desarrolladas.
- Accesorios:** Una maceta con tierra. Un cajón a prueba de luz. Una hoja de afeitar. Un marcador, véase la Figura 14 A y "Procedimiento" de este experimento. Tinta china. Una regla pequeña, subdividida en milímetros. Una tabla o bloque de madera suave. Dos alfileres.
- Cristalería:** Un vaso de precipitación de 500 o de 600 ml, u otro frasco apropiado. Una tapadera de vidrio de ventana.
- Tiempo para:** Preparación: 4 a 8 días; 2 a 3 semanas.
Experimentación: 1 hora.
Observaciones: Después de 1 día y de varios días.

Experimento 35.

- Materiales:** Tres macetas con una plántula de maíz en cada una, de unos 15 a 25 cm de altura; una de las macetas debe estar seca al comenzar el experimento. Seis semillas de maíz.
- Accesorios:** Cinta plástica ("Scotch tape"). Plasticina. Varias tablas de madera de diferente grosor. Dos macetas con tierra. Una regla subdividida en centímetros. Un cajón a prueba de luz. Dos bolsas de papel, pequeñas.
- Aparatos:** Tres auxanómetros; para su construcción véase la Figura 15 y "Procedimiento" de este experimento. Una balanza analítica. Una estufa hasta 105°C.
- Cristalería:** Una probeta graduada de 250 ml. Un vaso de precipitación de 250 ml. Una varilla de vidrio.
- Reactivos:** Cloruro de sodio, puede servir la sal común de mesa. Nitrato de potasio.
- Tiempo para:** Preparación: 2 a 3 semanas.
Experimentación: 1½ horas - 1 a 2 semanas - ½ hora - 1 día - ½ hora.
Observaciones: Durante 36 horas.

Experimento 36.

- Materiales:** Diez macetas con dos plántulas de tomate o de frijol en cada una, con una altura de 10 a 15 cm.
- Accesorios:** Detergente (p. e. "Tween 20"). Un mechero de gas con trípode o un calentador eléctrico. Una caja de cartón o de madera. Diez estacas de madera. Una regla subdividida en centímetros.
- Aparatos:** Una balanza analítica. Un atomizador pequeño, del tipo "De Vilbiss" por ejemplo.
- Cristalería:** Varios matraces aforados de 500 ml; si se usa repetidas veces uno solo, debe lavarse cada vez, primeramente con un poco de acetona y luego con detergente y mucha agua. Un matraz aforado de 1000 ml. Una probeta graduada o un matraz aforado de 50 ml. Una pipeta graduada de 10 ml. Un gotero.
- Reactivos:** 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético). Acetona. Hidrazida maleica; si este reactivo no se disuelve bien, puede calentarse un poco.
- Tiempo para:** Preparación: 2 a 3 semanas.
Experimentación: 1½ horas.
Observaciones: 2 a 3 semanas - ½ hora.

Experimento 37.

- Materiales:** Veinte o 30 semillas, según el tamaño, que tengan una cubierta seminal bien dura e impermeable; pueden servir muchas leguminosas como: *Gleditsia sp.*, *Acacia sp.*, *Vicia sp.*, *Medicago sativa*, etc. Doce tubérculos pequeños de papa, con buenos "ojos" (yemas).
- Accesorios:** Una hoja de afeitar. Papel de filtro. Pedazos de madera. Cuatro bolsas de papel. Un cajón a prueba de luz. Una regla pequeña subdividida en milímetros. Opcional: una caja de madera con arena o aserrín.
- Aparatos:** Una balanza analítica.
- Cristalería:** Dos cápsulas de Petri. Un frasco pequeño y dos de aproximadamente 500 ml. Una probeta graduada de 250 ml. Un frasco grande, tipo mermelada, con tapa de rosca. Una pipeta graduada de 10 ml. Un gotero.

Reactivos: Tiourea. Ester metílico del ácido α -naftalenacético. Etilenclorhidrina. Dicloruro de etileno. Tetracloruro de carbono. En lugar de la mezcla es posible usar solamente la cantidad indicada de dicloruro o cloruro de etileno.

Tiempo para: Experimentación: 1½ horas - 7 a 10 horas - ½ hora.
Observaciones: Durante varios días y después de 1, 2 y 4 semanas.

Experimento 38.

Materiales: Tres plantitas de tomate o de *Coleus sp.*, sembradas en macetas; deben encontrarse en crecimiento activo y tener una altura de 20 a 25 cm. Cinco plantas de *Coleus sp.* sembradas en macetas o en una caja grande.

Accesorios: Una hoja de afeitar. Un mechero de gas con trípode o un calentador eléctrico. Un termómetro de 0° a 100°C. Cinco etiquetas de madera.

Aparatos: Una balanza analítica.

Cristalería: Dos vasos de precipitación de 30 o 50 ml y uno de 250 ml. Tres varillas de vidrio. Un gotero.

Reactivos: Lanolina pura. Pasta de lanolina con hormona; prepare primeramente una pasta concentrada al 1%: en un baño de agua caliente (la temperatura no debe exceder de 55°C!) derrita 10 g de lanolina (*adepts lanae*), 70 gotas de "Tween 20" y 0.1 g de ácido 3-indolacético; agite vigorosamente durante varios minutos para homogenizarlo muy bien; retírelo del baño caliente y siga mezclando hasta que se solidifique. Pasta al 0.1%: pese 1 g de la pasta concentrada, derrítala en el baño de agua caliente con 60 gotas de "Tween 20" y 9 g de lanolina; mezcle bien durante un rato, retire del baño y siga mezclando hasta que se solidifique. Si se protege contra la luz, la pasta retiene su actividad durante algunas semanas. Puede también usarse una pasta comercial de una concentración similar de sustancias de crecimiento.

Tiempo para: Preparación: 3 a 4 semanas.
Experimentación: 1½ horas - 2 semanas - ¼ hora.
Observaciones: Durante 2 semanas y después de 4 y 6 semanas.

Experimento 39.

Materiales: 24 ramas de *Coleus sp.*, *Tradescantia sp.*, o *Zebrina pendula* con unos 6 a 10 pares de hojas. Seis ramitas de unos 10 a 15 cm de largo de *Tradescantia viridis*, de la variedad que tiene hojas variegadas; tres de estas ramitas deben tener hojas muy verdes y las otras, hojas con muchas áreas blancuzcas.

Accesorios: Una hoja de afeitar. Papel negro o pedazos de tela negra. Un cajón a prueba de luz.

Aparatos: Una balanza analítica.

Cristalería: Diez frascos, p. e. Erlenmeyers de 125 ml. Dos matraces aforados de 500 y uno de 1000 ml. Un matraz aforado o una probeta graduada de 50 ml. Una pipeta graduada de 5 ml.

Reactivos: Acido 3-indolacético. Acetona.

Tiempo para: Experimentación: 1 hora - 6 a 8 horas - ¼ hora.
Observaciones: Hasta 3 semanas.

Capítulo XII.

Experimento 40.

- Materiales:** Planta de frijol tipo trepador, u otra planta voluble, sembrada en una maceta; debe tener las primeras hojas bien desarrolladas.
- Accesorios:** Plasticina. Fibra fina de vidrio: para fabricarla caliente un tubo delgado de vidrio sobre una llama caliente; cuando esté bien suave, sáquelo de la llama y estire el tubo rápidamente todo lo que pueda. Soporte con prensa que sostenga horizontalmente. Un lápiz de cera.
- Aparatos:** Un reloj.
- Cristalería:** Un vidrio de ventana de unos 40 x 40 cm.
- Tiempo para:** Preparación: 3 a 4 semanas.
Experimentación: ½ hora.
Observaciones: Durante varias horas.

Experimento 41.

- Materiales:** Semillas de maíz germinadas; véase el Experimento 17, página 138. Tres plantas de *Coleus sp.* o de tomate, sembradas en macetas; deben encontrarse en crecimiento activo. Semillas de rabanito. Semillas de avena o de arroz.
- Accesorios:** Una hoja de afeitar. Una tabla o un bloque de madera. Seis alfileres. Dos macetas con tierra. Un cajón a prueba de luz. Papel (hoja) de aluminio.
- Aparatos:** Una lámpara fuerte que se usará cuando se carece de una ventana. También es posible colocar las plantas en una caja con un lado abierto.
- Cristalería:** Un frasco de vidrio en el cual entre la tabla de madera. Una tapadera de vidrio de ventana.
- Reactivos:** Lanolina pura. Pasta de hormona en lanolina; véase el Experimento 38, página 148.
- Tiempo para:** Preparación: 6 a 8 días; varias semanas.
Experimentación: 1 hora - 2 a 4 días - ½ hora.
Observaciones: Durante varios días.

Experimento 42.

- Materiales:** Dos macetas con plantas de *Oxalis sp.*. Una maceta con una planta bien desarrollada de *Mimosa pudica*; si las condiciones para la experimentación no son favorables (alta temperatura y alta humedad relativa del aire), se recomienda el uso de varias plantas para evitar una pérdida de tiempo por un período de recuperación demasiado largo.
- Accesorios:** Un cajón a prueba de luz.
- Aparatos:** Un reloj. Una lámpara fuerte que se usará cuando se carece de una ventana. También es posible colocar las plantas en una caja con un lado abierto.
- Cristalería:** Un frasco grande de vidrio, si se trabaja en un lugar con baja humedad relativa de aire.
- Reactivos:** Hidróxido de amonio concentrado.

Tiempo para: Preparación: 1 a 3 meses; 1 día.
Experimentación: $\frac{1}{4}$ hora.
Observaciones: Hasta 3 horas.

Nota: El tiempo de preparación indicado es sólo necesario cuando para la obtención de las plantas se siembran bulbillos o semillas respectivamente. Si se transplantan ya grandes, el tiempo se reduce considerablemente. El experimento con la *Mimosa pudica* puede muy bien efectuarse en el campo.

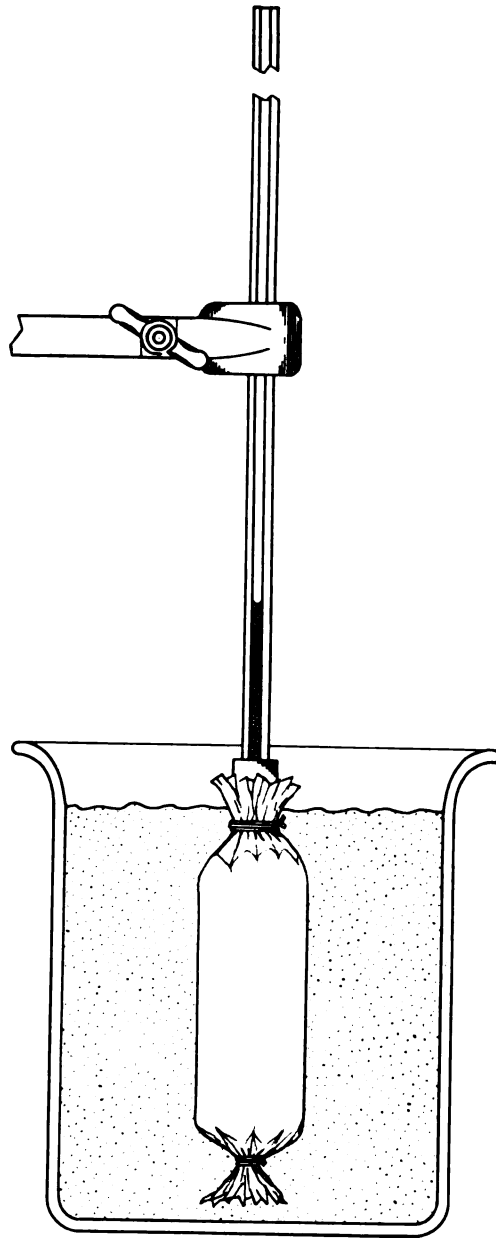


Figura 1,

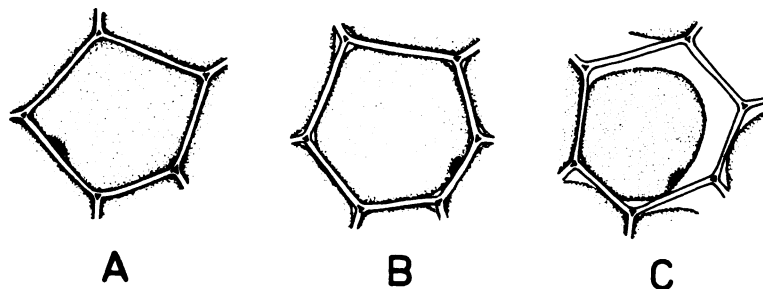


Figura 2,

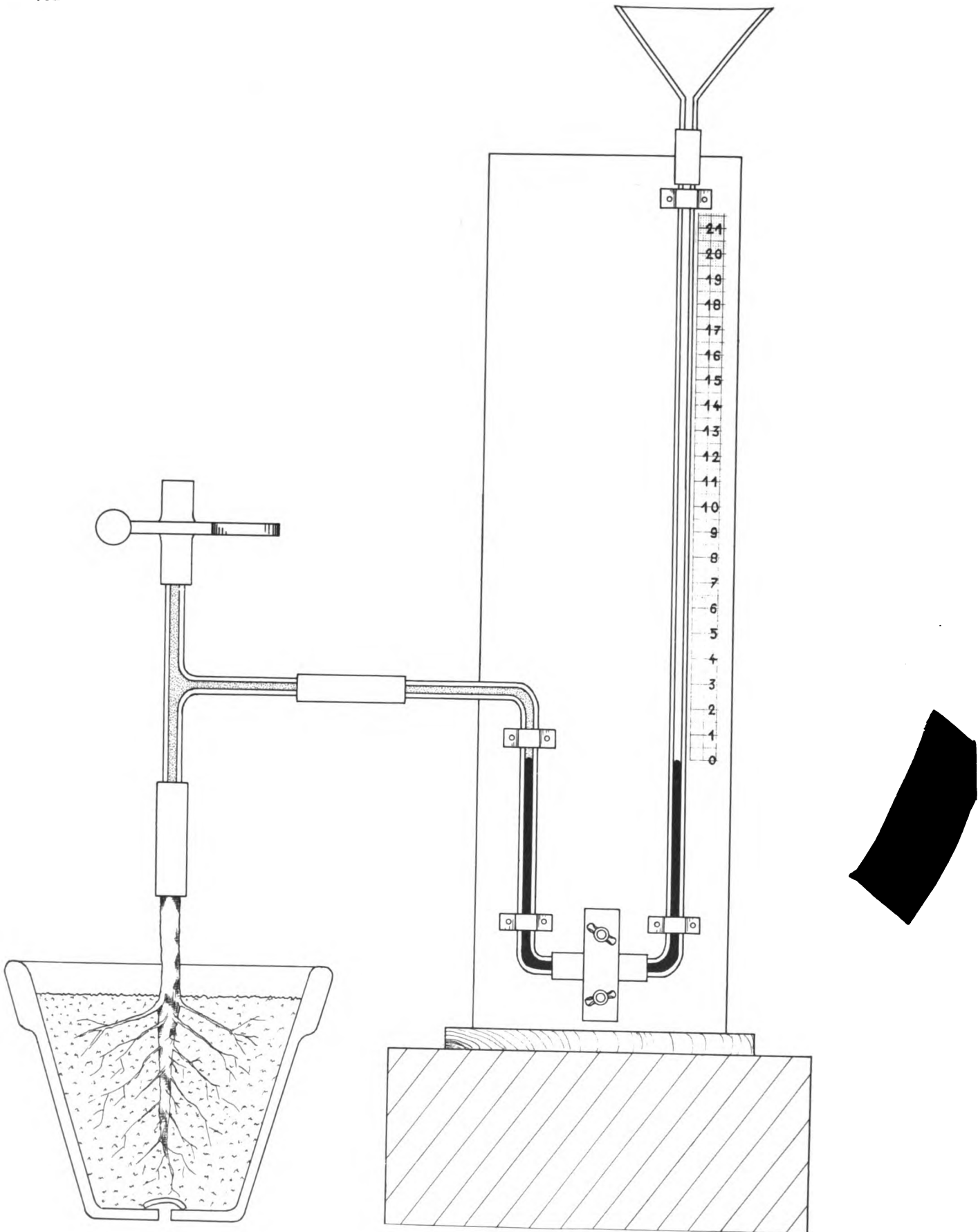


Figura 3,

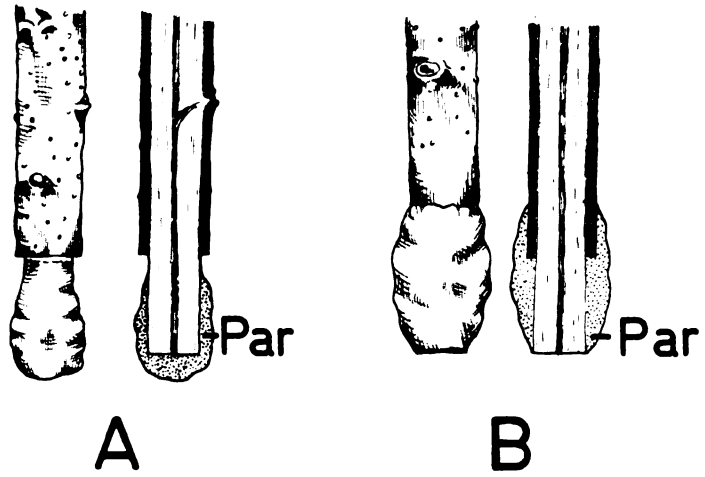


Figura 4,

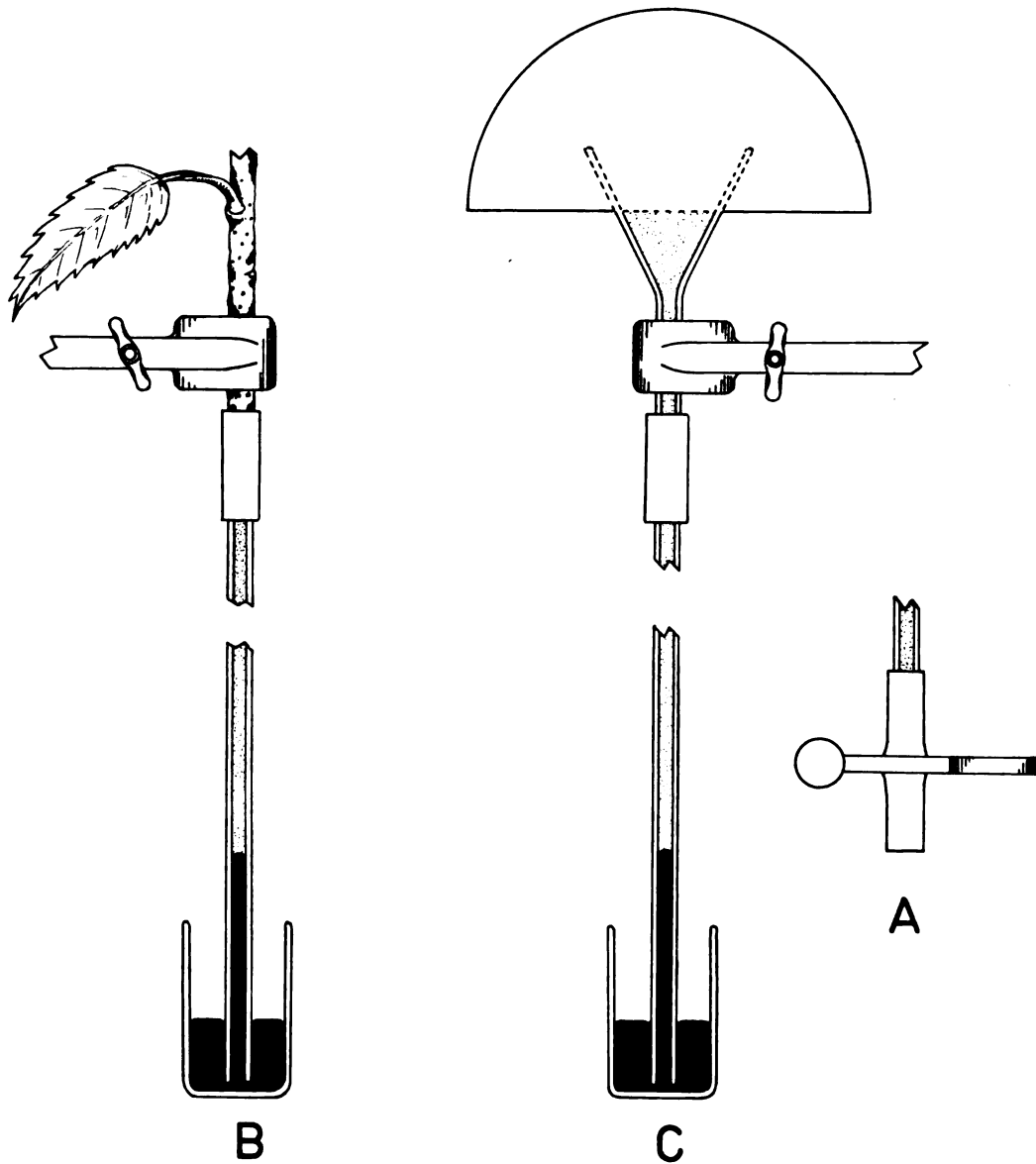


Figura 5,

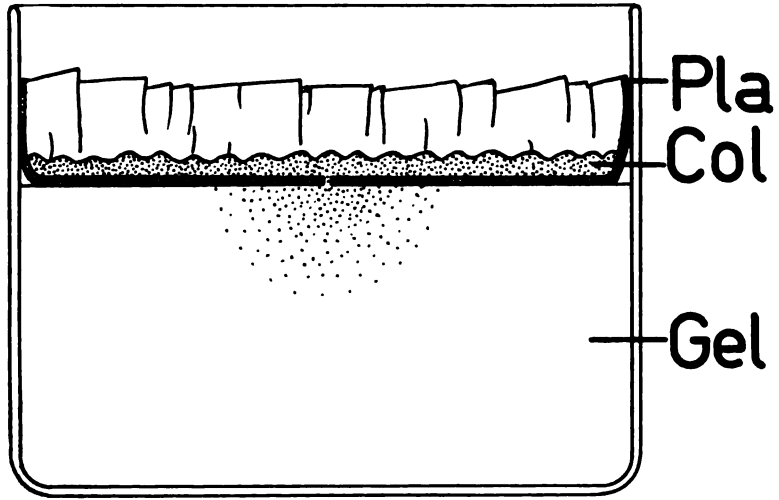


Figura 6,

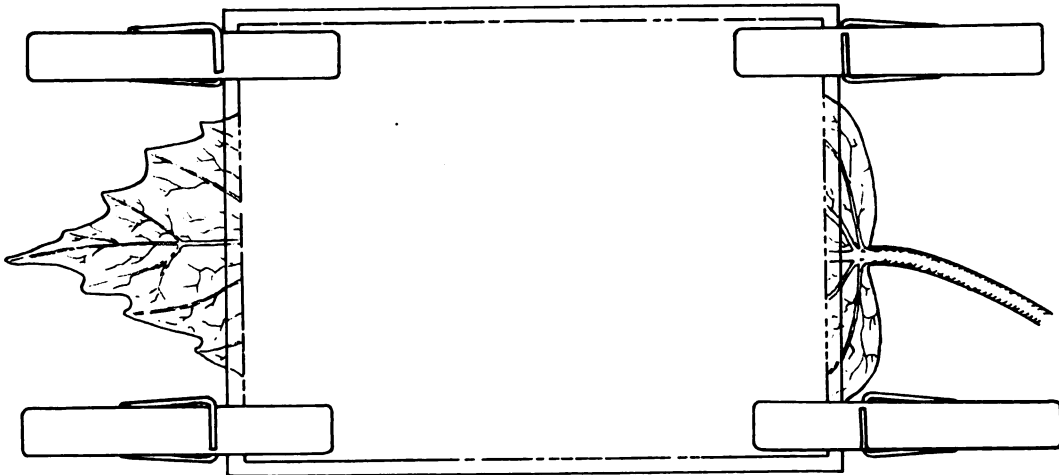


Figura 7,

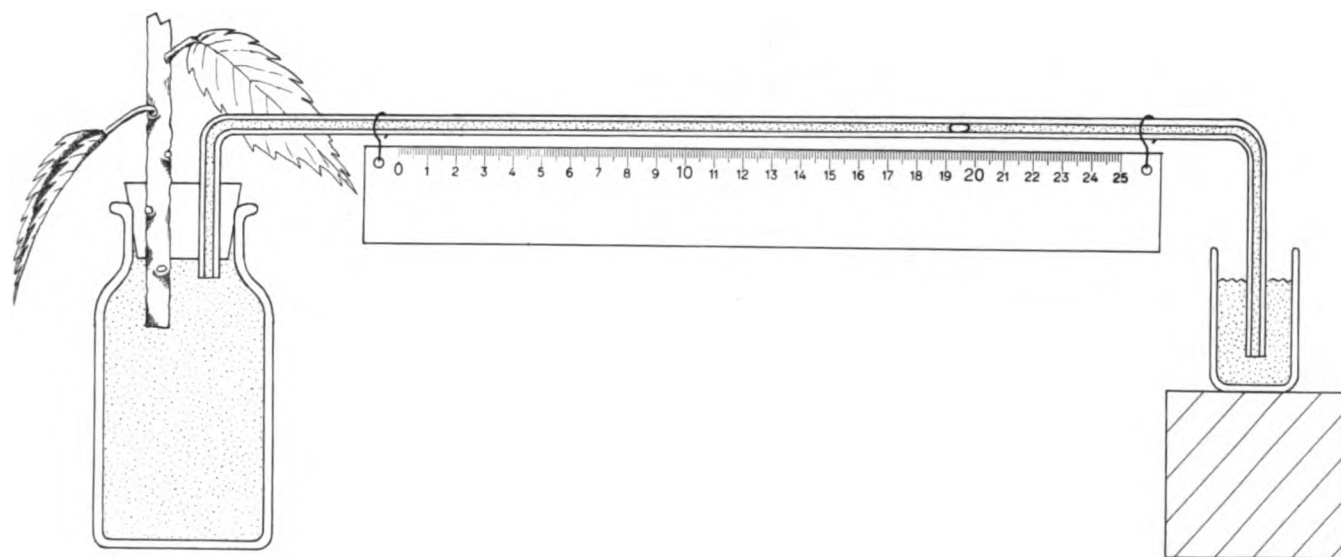


Figura 8,

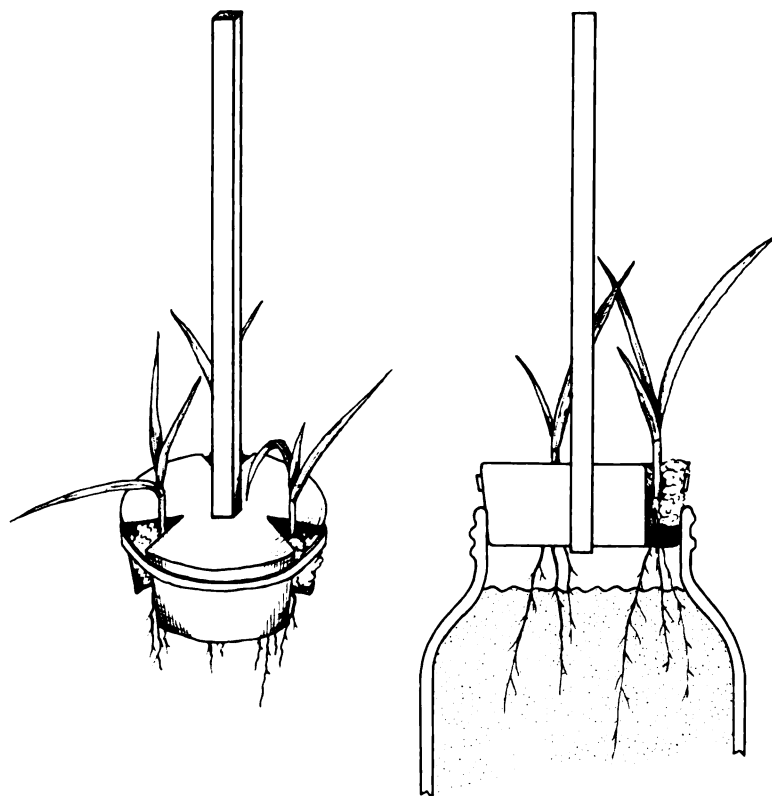


Figura 9,

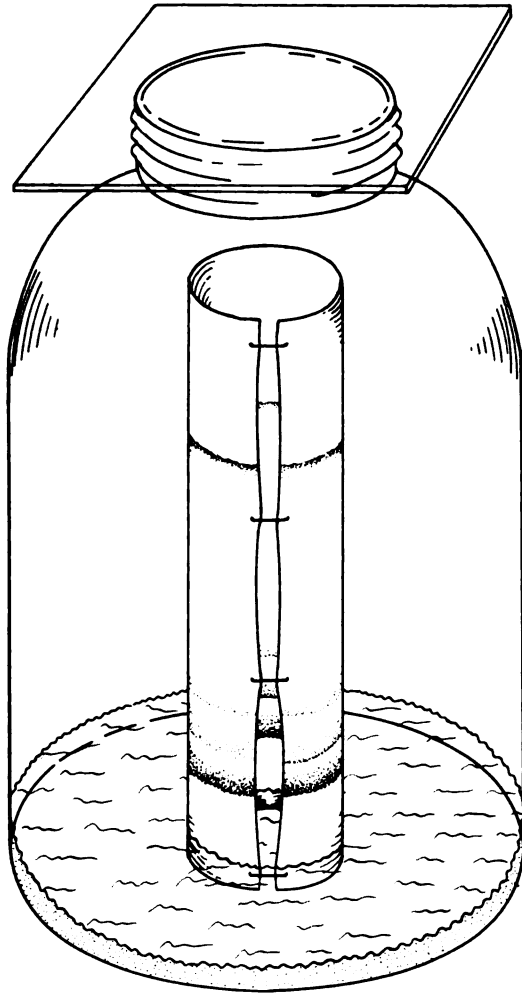


Figura 10,

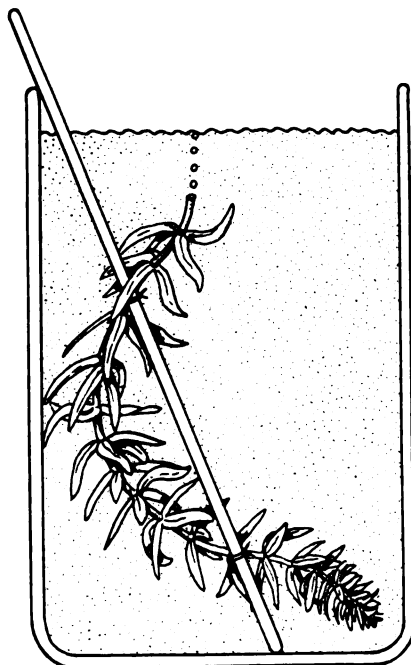


Figura 11,

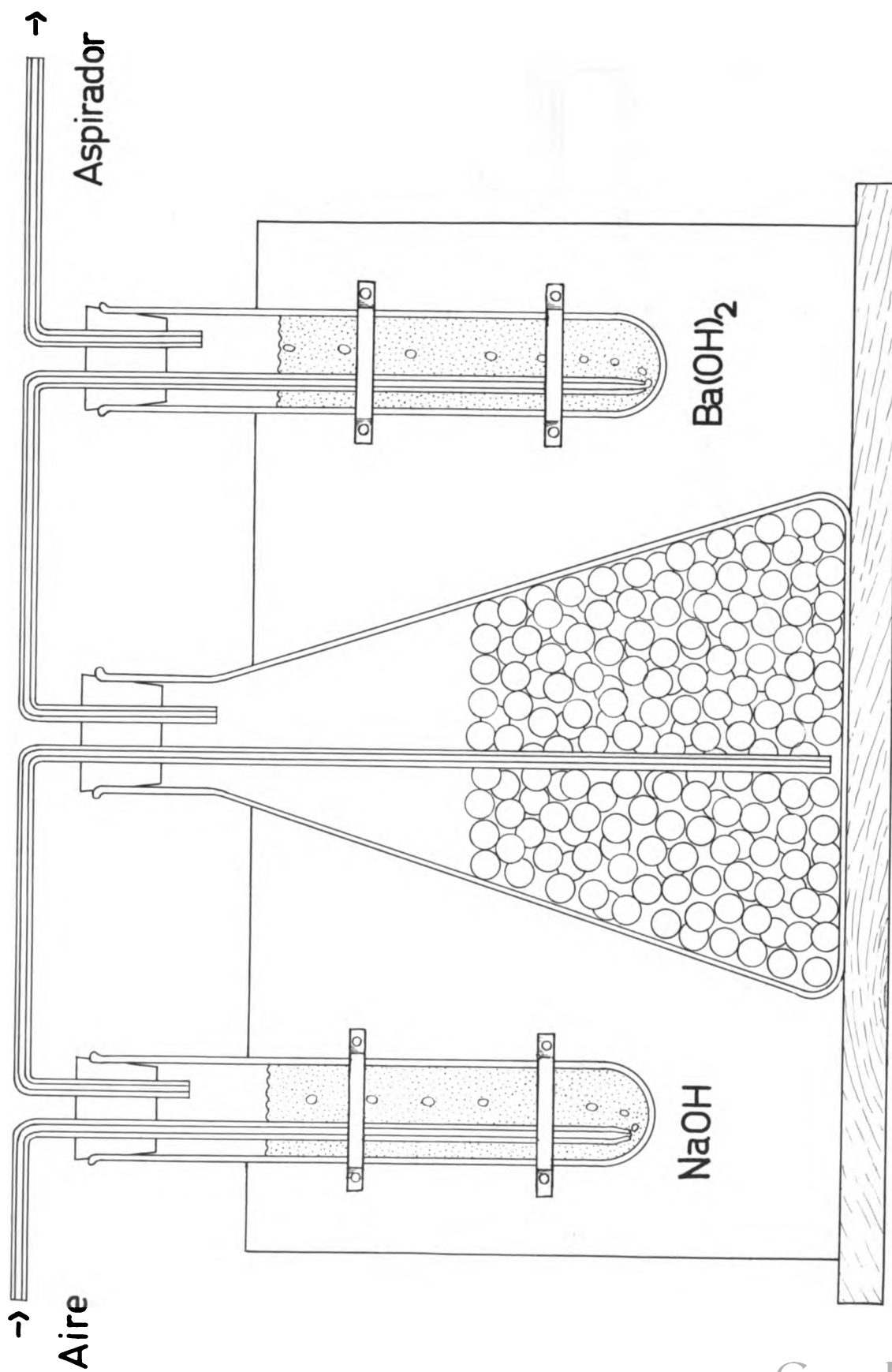


Figura 12,

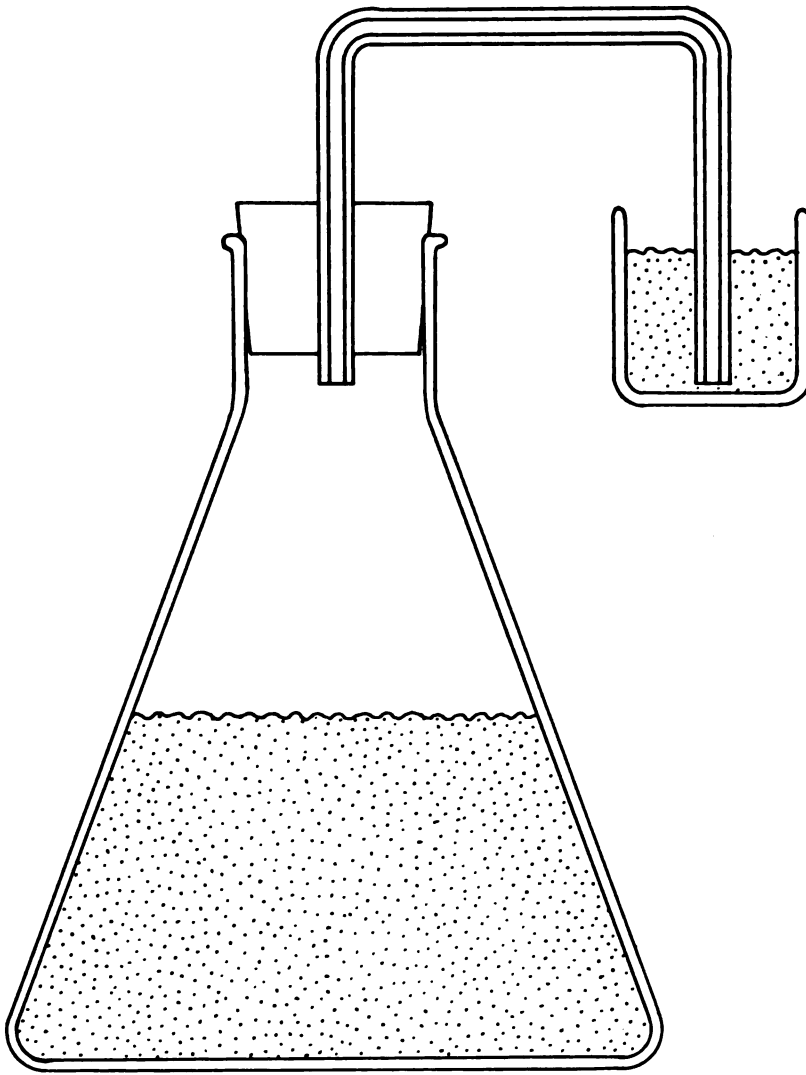


Figura 13,

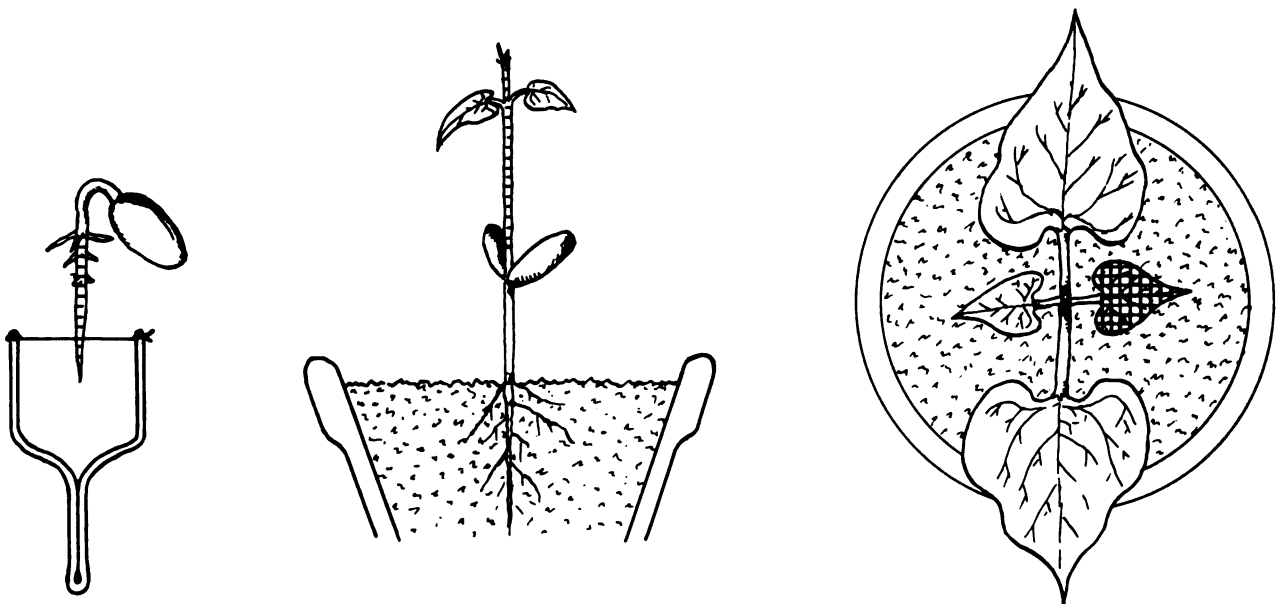


Figura 14,

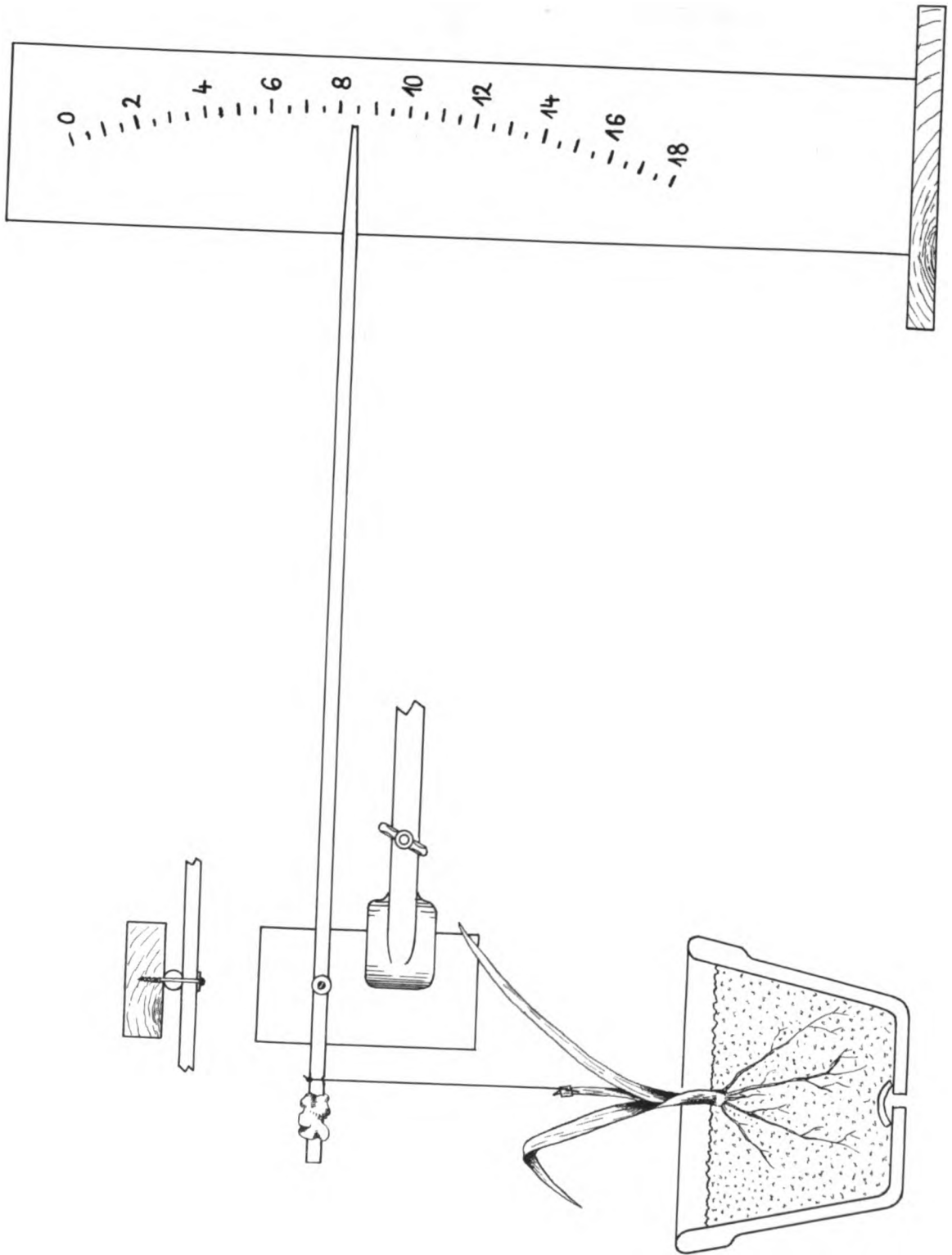


Figura 15,

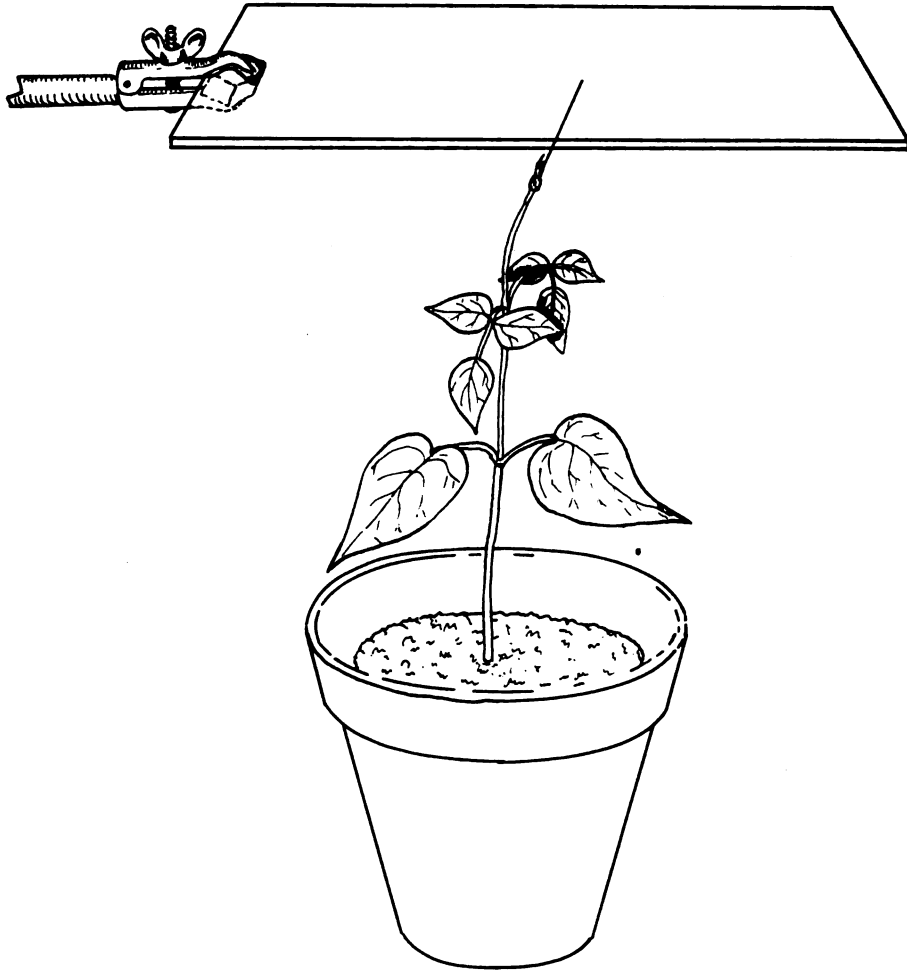


Figura 16,

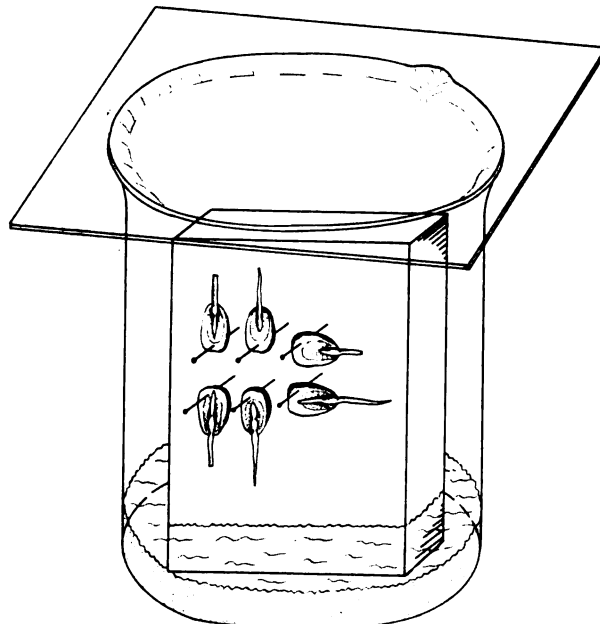


Figura 17,

APENDICE

ALGUNOS DATOS UTILES

PESOS ATOMICOS DE LOS ELEMENTOS MAS IMPORTANTES

Elemento	Símbolo	Número atómico	Peso atómico	Elemento	Símbolo	Número atómico	Peso atómico
Aluminio	Al	13	26.98	Hidrógeno	H	1	1.008
Arsénico	As	33	74.91	Hierro	Fe	26	55.85
Azufre	S	16	32.07	Litio	Li	3	6.94
Bario	Ba	56	137.36	Magnesio	Mg	12	24.32
Boro	B	5	10.82	Manganeso	Mn	25	54.94
Bromo	Br	35	79.92	Mercurio	Hg	80	200.61
Calcio	Ca	20	40.08	Malibdeno	Ma	42	95.95
Carbono	C	6	12.01	Nitrógeno	N	7	14.01
Cinc (Zinc)	Zn	30	65.38	Oxígeno	O	8	16.00
Cloro	Cl	17	35.46	Plata	Ag	47	107.88
Cobalto	Co	27	58.94	Plomo	Pb	82	207.21
Cobre	Cu	29	63.54	Potasio	K	19	39.10
Cromo	Cr	24	52.01	Selenio	Se	34	78.96
Estroncio	Sr	38	87.63	Silicio	Si	14	28.09
Fluor	F	9	19.00	Sodio	Na	11	22.99
Fósforo	P	15	30.98	Yodo	I	53	126.91

ALGUNOS INDICADORES ACIDO-BASE

Indicador	Intervalo (pH)	Cambio de Color	ml NaOH 0.01 N
Azul de timol	1.2 -- 2.8	rojo -- amarillo	10.8
Azul de bromofenol	3.0 -- 4.6	amarillo -- azul-morado	7.5
Rojo de metilo	4.4 -- 6.2	rojo -- amarillo	18.6
Púrpura de bromocresol	5.2 -- 6.8	amarillo -- purpúreo	9.3
Azul de bromotimol	6.0 -- 7.6	amarillo -- azul	8.0
Rojo de fenol	6.8 -- 8.4	amarillo -- rojo	14.2
Rojo de cresol	7.2 -- 8.8	amarillo -- rojo	13.1
Azul de timol	8.0 -- 9.6	amarillo -- azul	10.8
Fenolftaleína	8.2 -- 10.0	incoloro -- rosado intenso	--

Para su preparación, disuelva 0.05 g del indicador en la cantidad especificada de NaOH al 0.01 N y complete el volumen con agua destilada a 125 ml. En el caso de la fenolftaleína, disuelva 1 g en 100 ml de alcohol etílico de 95%.

CONCENTRACION Y NORMALIDAD DE ALGUNOS REACTIVOS IMPORTANTES

Reactivo	Fórmula	P. M.	% (Peso)	Densidad	N	g de reactivo en 1 ml	ml reactivo para 1 litro 1 N
Acido acético (glacial)	CH ₃ COOH	60.05	99.0	1.052	17.6	1.042	57.65
Acido clorhídrico	HCl	36.47	36.0	1.179	11.6	0.424	86.00
Acido nítrico	HNO ₃	63.02	67.0	1.400	14.9	0.938	67.18
Acido sulfúrico	H ₂ SO ₄	98.08	98.0	1.836	36.7	1.799	27.25
Hidróxido de amonio	NH ₄ OH	35.05	58.6	0.898	15.1	0.527	66.60

Estos datos se refieren a promedios de reactivos comerciales concentrados. Si existen en otras concentraciones y se desea calcular la cantidad del reactivo necesario para preparar un litro de una disolución patrón (tipo) puede usarse la siguiente fórmula:

$$x \text{ ml} = \frac{100 \cdot M \cdot N}{b \cdot p \cdot d}$$

x ml = cantidad de mililitros del reactivo necesarios para un litro de disolución
 M = peso molecular del reactivo
 N = normalidad deseada
 b = basicidad (equivalencia)
 p = porcentaje (en peso) del reactivo concentrado
 d = densidad del reactivo concentrado

Puede calcularse la cantidad (en gramos) de un reactivo contenido en 1 ml de la disolución concentrada del reactivo:

$$\text{g reactivo en 1 ml} = \text{densidad} \times \text{porcentaje (en peso)} \times 0.01$$

La correlación entre grados Baumé y densidad es la siguiente:

$$\text{grados Baumé} = 145 - \frac{145}{\text{densidad}}$$

DISOLUCIONES PATRONES O TIPO

Disolución molar

Una disolución uno molar (1 M) contiene un mol (peso molecular o peso formular, expresado en gramos) de un soluto en un litro de disolución. [Molaridad en peso.]

Para su preparación, pese tantos gramos de una sustancia como corresponden a su peso molecular o formular y échela en un matraz aforado con capacidad para 1 litro. Agregue suficiente agua para disolver la sustancia; luego afore hasta la marca y agite.

Disolución normal

Una disolución uno normal (1 N) contiene un peso equivalente, expresado en gramos, de un soluto en un litro de disolución. [Normalidad en peso.] Una disolución 1 N de un ácido contiene 1.008 g de hidrógeno ionizable, y una disolución 1 N de una base 17.008 g de iones hidroxil ionizables por litro. Un litro de una disolución 1 N reacciona en forma cuantitativa con el mismo volumen de otra disolución de la misma normalidad. (Mililitros \times normalidad = miliequivalentes.)

Para su preparación, pese tantos gramos de una sustancia como corresponden al peso equivalente (peso molecular dividido por la valencia con respecto al elemento o radical) y échela en un matraz aforado de capacidad para 1 litro. Agregue suficiente agua para disolver la sustancia; luego afore hasta la marca y agite.

Disolución molal

Una disolución uno molal es aquella que contiene un mol (peso molecular, expresado en gramos) de un soluto disuelto en 1000 g de un solvente. [Molalidad en peso.]

Para su preparación, pese tantos gramos de una sustancia como corresponden a su peso molecular (sin agua de cristalización) y disuélvalo en un litro de agua y agite.

Fracción molar

La fracción molar de un soluto es la relación del número de moles de éste con el número total de moles en un litro. La suma de las fracciones molares de todos los componentes de una misma disolución debe ser igual a la unidad.

ALGUNOS DATOS ESTADISTICOS

Promedio de una serie de valores

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

\bar{x} = promedio

\sum = sumatoria (suma)

x = valores individuales

n = número de valores individuales

Desviación estándar de una serie de valores Individuales

Primeramente determine el valor promedio \bar{x} , sumando todos los valores individuales x , y dividiendo el total por el número de los valores individuales n . Luego calcule la desviación de cada valor individual del promedio $(x - \bar{x})$ y eleve al cuadrado cada valor obtenido $(x - \bar{x})^2$; sume los valores obtenidos $\sum (x - \bar{x})^2$ y calcule la desviación estándar σ según la fórmula

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

La desviación estándar indica la variabilidad de cada observación. Si su valor es muy alto, disminuye la confianza que se puede tener en los datos obtenidos, y, a la inversa, cuanto menor es el valor de σ , tanto mayor la confianza en los resultados.

Coefficiente de variación

A veces conviene más trabajar con el coeficiente de variación (c. v.), el cual no es más que la desviación estándar expresada como porcentaje del promedio aritmético:

$$\text{c. v.} = \frac{\sigma}{\bar{x}} \cdot 100 \quad \text{o} \quad \text{c. v.} = \frac{\sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}}{\bar{x}} \cdot 100$$

La ventaja de su uso reside en la posibilidad de comparar los coeficientes de variación de diferentes unidades de medición entre sí, lo que no es posible con la desviación estándar.

ALGUNAS FORMULAS MATEMATICAS UTILES

Circunferencia de un círculo:

$$cf = 2 \cdot \pi \cdot r = \pi \cdot d$$

π = 3.1416

r = radio

d = diámetro

Superficie de un círculo:

$$s = \pi \cdot r^2 = \frac{1}{4} \cdot \pi \cdot d^2$$

Superficie de una elipse:

$$s = \pi \cdot a \cdot b$$

a = longitud del eje mayor

b = longitud del eje menor

Volumen de un cilindro:

$$v = \pi \cdot r^2 \cdot h$$

h = altura del cilindro

ALGUNAS UNIDADES DE MEDICION MENOS COMUNES

1 μ	micrón (micra)	= 0.001 mm
1 m μ	milimicrón	= 0.001 μ
1 Å	Ångstrom	= 0.1 m μ
1 ml (1 cm ³)	mililitro o centímetro cúbico	= 0.001 litro
1 μ l	microlitro (lambda)	= 0.001 ml
1 mg	miligramo	= 0.001 g
1 μ g	microgramo (gamma)	= 0.001 mg
1 ppm	parte por millón	= 1 parte en 1000 000 partes

SOLUCIONES LIMPIADORAS PARA LAVAR CRISTALERIA

Para su preparación pueden usarse reactivos del grado técnico de pureza. No se recomienda su uso en la experimentación con enzimas.

Mezcla para limpiar cristalería (mezcla sulfocrómica):

- Prepare una disolución acuosa saturada de dicromato de sodio y, ¡con mucho cuidado!, a 35 ml de ésta agregue un litro de ácido sulfúrico concentrado.
- Disuelva 80 g de dicromato de potasio o de sodio, bajo calentamiento, en 300 ml de agua. Enfríe, ¡con muchísimo cuidado!, bajo agitación constante, agregue un litro de ácido sulfúrico concentrado.
- Disuelva unos 6 g de dicromato de sodio o de potasio en 200 ml de ácido sulfúrico concentrado.

Mantenga la mezcla en un recipiente de vidrio, preferiblemente de forma alta y delgada, para facilitar la limpieza de pipetas y buretas. Debe estar siempre tapado con un vidrio. Toda la cristalería debe limpiarse por medio de los métodos convencionales antes de sumergirla en la mezcla limpiadora y debe estar seca para evitar que con el agua, se diluya la mezcla limpiadora.

Para su uso sumerja completamente la cristalería en la mezcla o llene con ella los recipientes o depósitos. El tiempo de contacto necesario depende del grado de contaminación y de la actividad de la mezcla: por regla general de 15 a 30 minutos son suficientes. Saque la cristalería de la mezcla, déjela escurrir bien en el mismo recipiente, o devuelva la mezcla a éste; puede usarse repetidamente. Tenga mucho cuidado de que las manos, la ropa, la mesa, etc. no hagan contacto con la mezcla, pues ésta es de carácter muy corrosivo y peligroso. Lave luego la cristalería tratada repetidas veces con agua de grifo y después por lo menos dos veces con agua destilada antes de secarla. Si es necesario, repita el procedimiento. La mezcla pierde su eficiencia con el tiempo, lo cual se puede conocer por la desaparición de los cristales del dicromato o porque adquiere un color verdoso.

A continuación se citan algunas casas comerciales de los Estados Unidos de Norte América que suministran reactivos, cristalería y aparatos para la experimentación fisiológica:

Aloe Scientific Co.
1831 Olive St.
St. Louis 3, Mo.

The Emil Greiner Co.
20-26 North Moore Street
New York 13, N. Y.

CENCO
Central Scientific Co.
237 Sheffield Street
Mountainside N. J.

E. H. Sargent Co.
4647 West Foster Ave.
Chicago 30, Ill.

Eastman Organic Chemical Department
Division of Eastman Kodak Co.
Rochester 3, N. Y.
(reactivos orgánicos solamente)

Arthur W. Thomas
Vine St. at 3 rd.
Philadelphia 5, Pa.

Fisher Scientific Co.
633 Greenwich Street
New York 14, N. Y.

Will Corporation
Box 1030
Rochester 3, N. Y.

IICA
581.1 3343
L57 Ludwig e Müller

Manual de laboratorio de fisiología vegetal.

FECHA	PRESTADO A
11-25-68	<i>[Signature]</i>
24.V-68	<i>[Signature]</i> 380
	<i>Mano Marcano</i>
	<i>[Signature]</i>
14-XII-83	<i>José Felipe García</i>

IICA
581.1 3343
L57

Ludwig e Müller

Manual de laboratorio de fisiología vegetal.

IICA
581.1 3343
L57 Ludwig e Müller

Manual de laboratorio de fisiología vegetal.

FECHA	PRESTADO A
17-25-68	<i>[Signature]</i>
24.V-68	<i>[Signature]</i> 380
	<i>Marido Mancino</i>
	<i>[Signature]</i>
14-XII-83	<i>Josio Aquino Garcia</i>

IICA
581.1 3343
L57

Ludwig e Müller

Manual de laboratorio de fisiología vegetal.

EDITORIAL SIC



1964

IICA