



Guía de Trabajos Prácticos

Cátedra de Fisiología Vegetal

FACENA

Departamento:

Área:

Carreras:

Biología

Botánica

Profesorado
y Líc. en Biología

-UNNE-



Año: 2012

Apellidos y Nombres:.....

Asistencia a los Trabajos Prácticos

	TRABAJOS PRÁCTICOS
<i>Agua</i>	Determinación del poder de absorción de agua por el método densimétrico o de Chardakow
	Efecto del agua sobre el crecimiento de los vegetales
	Permeabilidad de las membranas celulares
<i>Reguladores del crecimiento</i>	Abscisión de órganos
	Dominancia apical
	Enraizamiento de estacas
	Efecto de las Giberelinas en la germinación de semillas
	Regulación de la expresión del sexo en vegetales por aplicación de hormonas
<i>Germinación de semillas</i>	Inhibidores de la germinación de semillas
	Método de ruptura del letargo de semillas con tegumento duro
	Necesidad de luz en la germinación
	Embrión fisiológicamente inmaduro
<i>Metabolismo</i>	Factores que afectan fotosíntesis
	Respiración

Parciales	Nota	Recuperatorio	Extraordinario
Primer parcial			
Segundo parcial			

Condición

Agua

Potencial hídrico

Lectura previa

1. BIDWELL, R.G.S., (1993). Fisiología Vegetal. Primera Edición en Español, AGT Editor S.A
2. GUARDIOLA BARCENA, J.L. y A. GARCIA LUIS, (1990). Fisiología Vegetal 1: Nutrición y Transporte. Colección Ciencias de la Vida. Editorial Síntesis.
3. SORIANO, A. y E.R. MONTALDI, (1980). Relaciones hídricas. En: SIVORI E.M., E.R. MONTALDI Y O.H. CASO: Fisiología Vegetal. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires.
4. SUTCLIFFE, J. (1977). Las Plantas y el Agua: Editorial OMEGA. Barcelona.

Determinación del estado hídrico de una planta

La mejor manera de caracterizar el estado hídrico de una planta es mediante la medición del potencial hídrico de sus tejidos. Este potencial hídrico esta dado por el potencial agua de los mismos.

Potencial agua es la capacidad de la misma de efectuar trabajo y se define como: la diferencia de energía libre del agua en un sistema suelo-planta-aire, en comparación con la energía libre del agua pura y libre en condiciones estándar de presión y temperatura.

Potencia agua se puede escribir de la siguiente manera

$$\Psi_{H_2O} = \Psi_p + \Psi_o + \Psi_m + \Psi_g$$

Ψ_p = Potencial pared (toma valores positivos) por efecto de la pared celular

Ψ_o = Potencial osmótico (toma valores negativos), por unión con los solutos

Ψ_m = Potencial mátrico (toma valores negativos), por unión con coloides

Ψ_g = Potencial gravedad (toma valores positivos) por efecto de la gravedad

El Ψ_g sólo toma importancia en árboles con grandes alturas.

El Ψ_m toma importancia en suelos donde el agua se une a coloides como las arcillas, en células meristemáticas donde las organelas actuarían como coloides y en las plantas xerófitas donde las células contienen sustancias coloidales.

Salvo en los casos mencionados estos dos componentes se desprecian por lo que la expresión de Ψ_{H_2O} sería

$$\Psi_{H_2O} = \Psi_p + (-\Psi_o)$$

Una de las ventajas radica en el hecho de que midiendo el Ψ_{H_2O} de un tejido vegetal, podemos hacer determinaciones similares en el suelo y, de esta manera, utilizando las mismas magnitudes, correlacionar ambos valores.

La relación entre estos valores determina tres estados hídricos básicos: marchitez incipiente, marchitez temporaria y marchitez permanente

Métodos para determinar el potencial agua

- ❖ **Densimétrico** (Método de Chardakow)
 - Gravimétrico
 - Volumétrico
 - Presión de Vapor
 - Refractométrico
 - Cámara de Presión (Bomba de Scholander)
 - Psicrómetro
 - Sonda de Presión
 - Termómetro Infrarrojo

Determinación del poder de absorción de agua

Durante el presente Trabajo Práctico se empleará el **método densimétrico** el cual se basa en encontrar la **molalidad** de equilibrio, es decir aquella en la cual el tejido no ha intercambiado agua (equilibrio dinámico) y las soluciones no han modificado su densidad. Este mismo principio, de encontrar la molalidad de equilibrio, es el utilizado en los métodos volumétricos (no se modifica el volumen o tamaño) y gravimétrico (no se modifica el peso). Una vez obtenido la mencionada molalidad de equilibrio se reemplaza en la fórmula de van't Hoff para obtener valores de ψ_{H_2O}

El objetivo del presente trabajo práctico es:

Determinar el estado hídrico de un tejido vegetal mediante el método densimétrico

PROCEDIMIENTO:

- 1) Numere 9 tubos de ensayos y colóquelos en una gradilla.
- 2) A partir de una solución de sacarosa 1M, prepare 10 mL de las siguientes diluciones: 0,1 - 0,2 - 0,3 - 0,4 - 0,5 - 0,6 - 0,7 - 0,8 y 0,9 molal.
- 3) Agite los tubos suavemente para que la solución sea homogénea
- 4) Superponga de 3 a 4 hojas de *Eucalyptus sp.*, lo más similares posibles, y con un sacabocados practique cortes, hasta obtener **66 discos** de hojas por caja de Petri. Coloque los discos en las cajas y tápelas.
- 5) Una vez completado el número de discos en todas las cajas, saque 5 mL del tubo Nro. 1 y viértalo en la caja de Petri Nro 1. Repita el procedimiento con los restantes tubos, conservando el orden.
- 6) Agite suavemente las cajas y procure que los discos estén en contacto con la solución. Terminada esta operación, coloque los tubos y las cajas de Petri en un lugar limpio.

PRECAUCIONES:

- a) **No extraiga los discos del sacabocados con elementos punzantes,**
 - b) **No mezcle discos de diferentes características**
 - c) **Descarte los dañados.**
- 6) Deje los tubos con los discos durante una hora y media agitándolos, con sumo cuidado, de vez en cuando. Finalizado este período, agregue 2 a 3 gotas de azul de metileno al 0,1%.
- 7) Con una pipeta de 0,01 mL, extraiga un poco de cada solución que contiene los discos de hoja; luego introdúzcala cargada en el tubo de ensayo con la solución de la misma molalidad y en el centro de solución, deje escapar una gota. Observe el movimiento de la misma, es decir si se desplaza hacia arriba, hacia abajo o si permanece estacionaria. Anote con una flecha el movimiento final de la gota en el cuadro correspondiente.
- 8) Determine el ψ_{H_2O} del tejido teniendo en cuenta que el mismo es igual al potencial osmótico de la solución con la cual el tejido no ha intercambiado agua y cuyo tamaño, no ha sufrido modificación.
- 9) Utilizando la ecuación de van't Hoff determine el ψ_{H_2O} de los tejidos.

Recuerde que:

$$\psi_{H_2O} = m i R T$$

Donde: m = molalidad de la solución
 i = constante de ionización (sacarosa = 1)
 R = constante de los gases (0,083 litros.atm./m. °K)
 T = temperatura absoluta.

RESULTADOS DEL T.P.: POTENCIAL AGUA

Tubo Nro.	Molalidad de la Solución	Movimiento de la gota		
		Subió	Se mantuvo	Descendió
1	0,1 m			
2	0,2 m			
3	0,3 m			
4	0,4 m			
5	0,5 m			
6	0,6 m			
7	0,7 m			
8	0,8 m			
9	0,9 m			

RESULTADO OBTENIDOS:

$$\Psi_{H_2O} = \text{-----}$$

Crecimiento

Lectura previa

1. KRAMER, P. J. (1974). Relaciones Hídricas de Suelos y Plantas. Una Síntesis Moderna Editorial EDUTEX. México.
2. BARCELLO COLL, J.; G. NICOLAS RODRIGO; B. SABATER GARCIA y R. SANCHEZ TAMES. (1992). Fisiología Vegetal Editorial Pirámide. Madrid.
3. BIDWELL, R.G.S., (1993). Fisiología Vegetal. Primera Edición en Español, AGT Editor S.A.
4. TAIZ, L. and E. ZEIGER. 1998. Plant Pysiology. Unit III. Biochemistry and metabolism. Editorial Sinauer, USA
5. AZCON –BIETO, J & M. TALON. 2000. Fundamentos de Fisiología Vegetal. Mc Graw Hill Interamericana, Madrid

El crecimiento puede ser definido como el ***aumento irreversible de volumen de una célula, tejido, órgano o individuo, generalmente acompañado de un aumento de masa.***

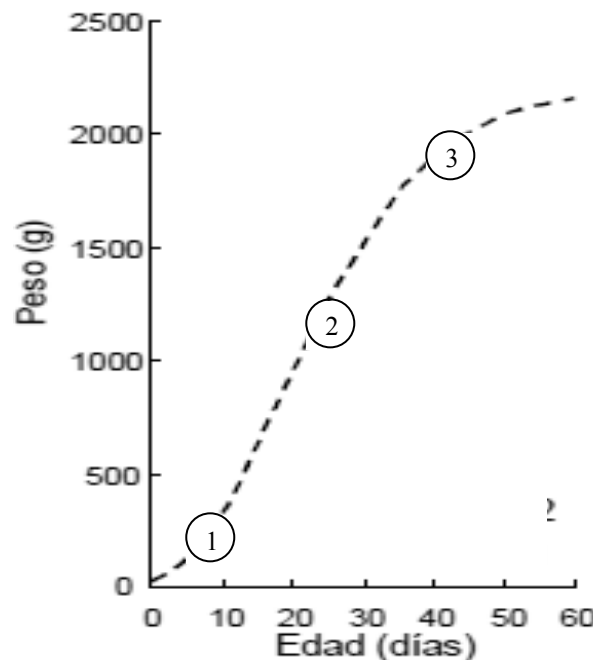
En los vegetales existen dos tipos de tejidos: los meristemáticos o embrionarios y los definitivos adultos. Durante el **crecimiento**, la formación de los tejidos de las plantas sigue básicamente tres pasos:

- División (o mitosis) de las células embrionarias para formar nuevas células,
- Agrandamiento y/o alargamiento de estas células.
- Diferenciación final en células con una función específica.

El mayor componente del crecimiento vegetal es la expansión celular por medio de la turgencia celular

Crecimiento vegetal	vs.	Crecimiento animal	
Localizado en tejidos especiales (meristemas)		Aumentan número de células en cada uno de sus órganos y tejidos	
Periódico		Continuo	
El crecimiento vegetal se ve seriamente afectado por diferentes factores.			
Factores	{	Externos	Temperatura, luz, agua, nutrientes minerales, [CO ₂] [O ₂]
		{	Internos
	Intracelulares		Constitución genética
	Intercelulares	Reguladores del crecimiento	

El crecimiento puede ser medido ya sea por medidas de longitud, peso, diámetro, volumen, número de células, contenido de nitrógeno, en función del tiempo y se representa mediante curvas denominadas sigmoides (existiendo simples, dobles y triples)



Estas curvas presentan tres fases

- 1- **Exponencial:** a iguales incrementos de las abscisas corresponden incrementos crecientes en las ordenadas (Se puede asociar a una muy activa división celular)
- 2- **Lineal:** a iguales incrementos en las abscisas los incrementos en las ordenadas son constantes (Se puede asociar con la etapa de agrandamiento celular)
- 3 **Senescente:** a iguales incrementos en las abscisas corresponden incrementos decrecientes en las ordenadas (Se puede asociar con la etapa de diferenciación celular)

También puede cuantificarse mediante

Índices de crecimiento:

Índices: Absolutos: **Relación Área Foliar (RAF)**

Relativos: **Tasa de Crecimiento Relativo (TCR);**

Tasa de Asimilación Neta (TAN).

a) Relación Área Foliar (RAF): Es el cociente existente entre el área foliar (A) y el peso seco total de la planta (P), es decir:

$$RAF = \frac{A}{P}$$

Este índice es equivalente a LAR (Leaf Area Ratio).

b) Tasa de Crecimiento Relativo (TCR): Expresa el aumento de peso seco de una planta (dp) por gramo de peso seco total alcanzado (P) y por unidad de tiempo (dt).

$$TCR = \frac{dp}{P \cdot dt}$$

Este índice es equivalente al RGR (Relative Growth Rate)

c) Tasa de Asimilación Neta (TAN): Expresa el aumento de peso seco de la planta (dp), por unidad de área foliar (A) y por unidad de tiempo (dt).

$$TAN = \frac{dp}{A \cdot dt}$$

Este índice es equivalente a NAR (Net Assimilation Rate).

Efecto del agua sobre el crecimiento de las plantas (Análisis del crecimiento)

INTRODUCCIÓN

El crecimiento vegetal se ve seriamente afectado por el déficit hídrico, entre otras cosas porque hay pérdida de turgencia, alteraciones en los procesos básicos como fotosíntesis y respiración. Prácticamente puede decirse, para recalcar la importancia del agua, que es junto con la temperatura el factor que gobierna la distribución de las plantas. Y el principal factor limitante a escala mundial para la producción de alimentos.

El objetivo de este T.P. es

Analizar el efecto del agua sobre el crecimiento de las plantas

PROCEDIMIENTO

A cada comisión de trabajo se le entregará una determinada cantidad de semillas de caupí (*Vigna sinensis*). Con ellas realice las operaciones que indique el J.T.P. Al completar el T.P. del día, la totalidad de los alumnos del curso dispondrán de los siguientes lotes experimentales:

LOTE 0: Destinado a efectuar mediciones **diarias** de:

- a) Longitud del primer par de hojas
- b) Altura de las plantas

Este lote estará constituido por macetas

- H** - Regadas periódicamente
- S** - Sometidas a sequía.

LOTE I: Destinado a medición de peso seco de las plantas, luego de una semana de la siembra. Al igual que el lote 0, habrán macetas:

H - Regadas periódicamente

S - Sometidas a sequía

LOTE II: Destinado a medición de peso seco de las plantas, luego de dos semanas de la siembra. Al igual que el lote 0, habrán macetas: **H** y **S**.

LOTE III: Destinado a medición de peso seco de las plantas, luego de tres semanas de la siembra. Al igual que el lote 0, habrán macetas: **H** y **S**. Además se usará para medir Área Foliar.

TOMA DE DATOS:

1) Longitud de las hojas: (Trabaje con el lote 0) Separe por la mitad tres (3) semillas de caupí y mida, al mm., el largo de los cotiledones del embrión. Halle el promedio. Este valor será el inicial de una serie de medidas. Ponga a germinar, en macetas, 15 semillas. Al tercer día mida, al mm., la longitud de las 2 primeras hojas de 3 plantas (pecíolo inclusive). Si todavía no han emergido desentierre 3 semillas, efectúe las mediciones y deseche las semillas utilizadas. Opere de la misma manera en los días subsiguientes, pero una vez que las plántulas hayan emergido, deje únicamente 5 por maceta y en cada una de ellas mida diariamente, al mm, la longitud de las 2 primeras hojas (pecíolo inclusive).

2) Altura de las plantas: Trabaje con el Lote 0. Una vez que las plantas han emergido, tome la altura del tallo de 5 plántulas (las mismas que utiliza para el items 1).

3) Área Foliar: Trabaje con el Lote III, separe los folíolos de las hojas y dispóngalos de forma de cubrir una superficie conocida, por ejemplo una baldosa, y por comparación calcule el área foliar.

4) Peso Seco: Utilice los Lotes: I, II y III y semanalmente proceda a cortar todas las plantas del lote correspondiente, las cuales se colocaran en sobre de papel madera o cualquier papel absorbente, que será llevados a estufa a 80 °C hasta peso constante.

CONFECCIÓN DE GRÁFICOS:

Con los datos obtenidos confeccione los gráficos que se indicarán y calcule los índices de crecimiento que indique el JTP

Resultado del T.P.: Efecto del agua sobre el crecimiento de las plantas

Cuadro 1: Toma de datos diarios del crecimiento en altura de tallo y longitud de hojas

Días de la siembra	MACETAS					
	CON HUMEDAD			CON SEQUÍA		
	Altura	Long.hoja	Peso seco	Altura	Long.hoja	Peso seco
0						
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20						
21						

Cuadro Nro. 2: PESO SECO (en mg.)

	HUMEDAD	SEQUIA
Semana 1 LOTE 1		
Semana 2 LOTE 2		
Semana 3 LOTE 3		

Cuadro Nro 3.: Área Foliar a la tercera semana

	HUMEDAD	SEQUIA
3 er. Semana		

Cuadro Nro. 4: Índices de crecimiento

	HUMEDAD	SEQUIA
RAF		
TCR 2da. y 1ra.		
TCR 3ra. y 2da		
TAN 2da y 1ra		
TAN 3ra y 2da		

MEMBRANAS CELULARES

Lectura previa

1. JENSEN W. A., 1974. La célula Vegetal. Editorial Herrera Hermanos Sucesore, México.
2. KRAMER P.J., 1974. Relaciones Hídricas de Suelos y Plantas. Cap. I Editorial EDUTEX, México.
3. BERKDOFF, A.; J. BOURGUER; P. FAVARD and J. C. LACROIX, 1986. Biología y Fisiología celular. Tomo I. Ed. Omega, Barcelona.
4. MONTALDI, E. R., 1995. Principios de Fisiología Vegetal. Ed. Sur, Buenos Aires.
5. AZCON BIETO, J y TALON, M. (2000) Fundamentos de Fisiología Vegetal. Editorial Mc Graw Hill.

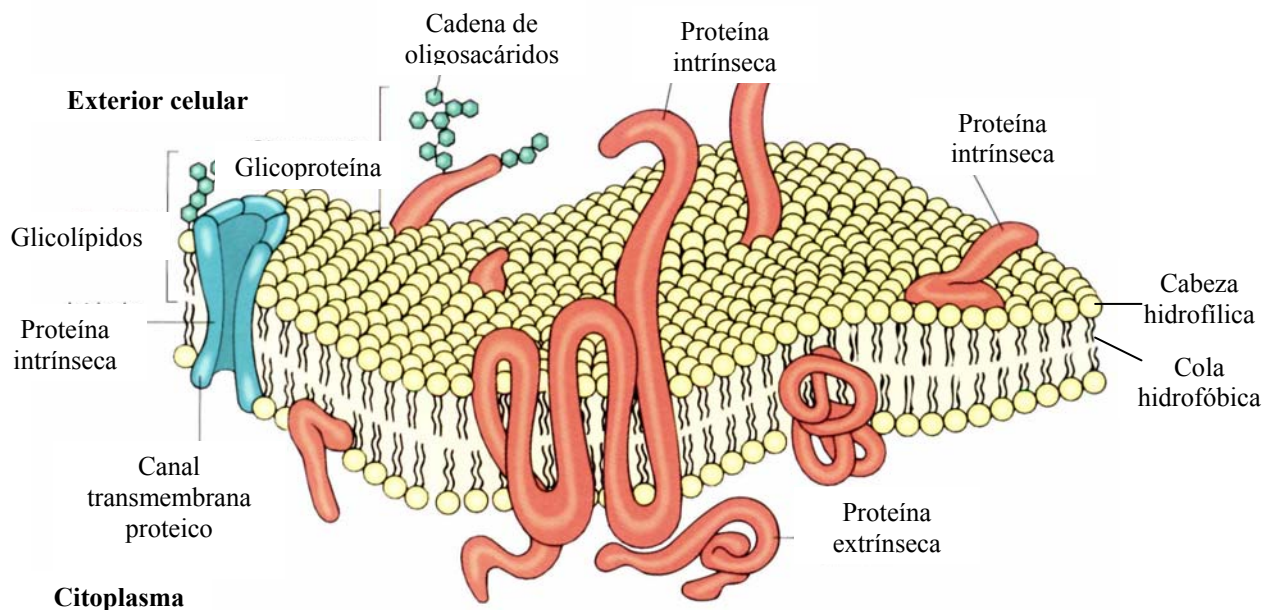
Es una envoltura continua, fina y flexible, de unos 6 a 10 nm de grosor, que rodea a la célula, separando su interior del medio externo, permitiéndole mantener su individualidad

Alguna de sus funciones son:

- Conservar la integridad estructural de la célula, manteniendo separados los medios acuosos externo e interno.
 - Regular el transporte de sustancias entre el interior y el exterior celular.
 - Catalizar reacciones químicas mediante enzimas que son proteínas de membrana.
 - Interaccionar con otras células.
 - Recepción de estímulos externos mediante receptores específicos de moléculas (hormonas, neurotransmisores, antígenos...) y partículas (virus, lipoproteínas...).
 - Transducción de señales o conversión de una señal externa en una respuesta intracelular.
- Esto es función de receptores de membrana que efectúan el acoplamiento entre los estímulos externos y la respuesta de la célula.

La mayoría de las concepciones sobre la organización de la membrana celular acepta el modelo de mosaico fluido de Singer y Nicolson (1972), de acuerdo al cual el componente continuo de la membrana es la bi-capa lipídica, (con las cabezas hidrofílicas hacia el exterior y las zonas hidrofóbicas hacia adentro de manera enfrentada), en la cual están inmersas las proteínas estructurales.

El grosor de la membrana está determinado por la distribución asimétrica de los grupos polares y no polares de la molécula proteica, siendo que la parte no polar permanecerá incluida en la parte hidrofóbica de la bi-capa lipídica u orientada en forma cruzada y que la parte polar (aminoácidos y oligosacáridos), está en contacto con el medio externo quedando como una protuberancia en la superficie. Algunas de estas proteínas pueden tener actividad enzimática o bien actuar como transportadoras de sustancias simples o minerales.



Adaptado de Botany: an introduction to plant biology / Mauseth J. D.. 2/e, Multimedia enhanced ed. 1998

De acuerdo con Gimeno y Gimeno, podemos definir la permeabilidad de una membrana como "el grado de facilidad con el que una sustancia se mueve a través de ella, al ser impulsada por una fuerza determinada".

Existen diferentes tipos de membranas, según sea su permeabilidad a diferentes moléculas, pudiéndoselas clasificar en:

1. Membranas impermeables
2. Membranas permeables
 - a- Con permeabilidad simple (porcelana porosa)
 - b- Con semipermeabilidad

{	Puras (membranas de ferrocianuro de K o Cu)
{	Selectivas (membranas celulares)

La entrada o salida del solvente (agua) de las células se cumple de acuerdo a las leyes de difusión y ósmosis.

En el caso de los solutos, la velocidad de su penetración está determinada, aparte de por las diferencias de concentraciones a un lado y otro de la membrana, por otros factores como por ejemplo: su solubilidad en lípidos, su tamaño, su carga o neutralidad.

PERMEABILIDAD DE LAS MEMBRANAS CELULARES

El objetivo de este trabajo práctico es:

Observar el efecto de la temperatura (alta y baja) y los solventes orgánicos sobre los distintos componentes de la membrana.

PROCEDIMIENTO

1- Corte 6 trozos de raíces de remolacha roja. Deben tener las siguientes dimensiones:

espesor: 0,4 cm

longitud: 5 cm

ancho: 1 cm

2- Elimine el pigmento de las células dañadas mediante lavado por 15 minutos en agua corriente.

3- Tome 7 tubos de ensayo, numérellos del 1 al 7. En cada tubo, con excepción del N° 5, coloque un trozo de raíz de remolacha.

4- Al tubo N° 6 agregue 15 ml. de agua destilada saturada con benceno.

5- Al tubo N° 7 agregue 15 ml. de agua destilada saturada con xileno.

6- En el tubo N° 5, coloque un trozo de remolacha congelado y agregue 15 ml de agua destilada.

7- En los tubos 1, 2, 3 y 4 coloque 15 ml de agua destilada.

8- Coloque los tubos dentro de un vaso de precipitado conteniendo agua en las siguientes condiciones:

Tubos N° 1, 5, 6, 7, a temperatura ambiente

Tubo N° 2 a 40 °C

Tubo N° 3 a 50 °C

Tubo N° 4 a 60 °C

9- Agite de vez en cuando suavemente los tubos y al cabo de una hora, observe la coloración que toma el agua destilada.

RESULTADOS

Cuadro 1: Resultados del Trabajo práctico permeabilidad de las membranas celulares

Tubo N°	Tratamiento	Cantidad de Pigmentos
1	Testigo	
2	40 °C	
3	50 °C	
4	60 °C	
5	Congelación	
6	Benceno	
7	Xileno	

Reguladores del Crecimiento

Reguladores de crecimiento

Lectura previa

- 1) DEVLIN, R.(1970). Fisiología Vegetal. Editorial OMEGA.
- 2) BARCELLO COLL, J.; G. NICOLAS RODRIGO; B. SABATER GARCIA y R. SANCHEZ TAMES. (1992). Fisiología Vegetal Editorial Pirámide. Madrid.
- 3) BIDWELL, R.G.S. (1993). Fisiología Vegetal. Primera Edición en Español, AGT Editor S.A.
- 4) AZCON-BIETO, J y M. TALÓN. (2000). Fundamentos de Fisiología vegetal. Editorial Mc Graw Hill.
- 5) SALISBURY, F. B. y ROSS C. W (2000) Fisiología de las Plantas. Editorial Paraninfo

Los ***reguladores de crecimiento vegetales*** son compuestos que en muy bajas concentraciones estimulan, retardan o promueven el crecimiento y se caracterizan por ser:

- ❖ Pleiotrópicos (actúan en varios procesos)
- ❖ Se sintetizan en todas las células, varían cuali y cuantitativamente según los órganos
- ❖ Regulan procesos de correlación (se recibe el estímulo en un órgano y la respuesta se da en otro)
- ❖ Interactúan entre ellos (sinergismo, antagonismo o balance de concentración).

A diferencia de las **hormonas animales** (sus equivalentes) que

- Tiene efectos específicos
- Se sintetizan en órganos o glándulas específicas
- No regulan procesos de correlación
- Reguladas por el sistema nervioso central

Los principales grupos de reguladores del Crecimiento son:

Promotores Auxinas

Giberelinas

Citocininas

Etileno

Ac jasmónico, Ac salicílico, Poliaminas, Brasinoesteroides, Oxido nítrico.

Inhibidores Acido Abscísico

Hidrazida Maleica

Morfactinas

Derivados Fenólicos,

Derivados lactonas

Retardantes del crecimiento Derivados fosfonios

Derivados carbámicos
Derivados compuestos cuaternarios de amonio
Derivados del maleámico y succínico

Las plantas responden al medio ambiente y sus cambios, mediante mensajeros primarios que son los **reguladores de crecimiento**

Un esquema simplificado de esta respuesta sería:

- Percepción del estímulo
- Producción de una señal (biosíntesis y/o liberación de una o varias fitohormonas)
- Transporte al sitio de acción
- Interacción de las señales con las células blanco a través de un receptor
- Transducción celular de la señal
- Modificación de la expresión génica
- Respuesta fisiológica (crecimiento y diferenciación)

La respuesta de los reguladores de crecimiento puede ser a corto o a largo plazo.

En estas respuestas hay una primera fase de respuesta **primaria rápida** generalmente son cambios en los contenidos iónicos de las células o del pH y luego viene una respuesta **más tardía** e irreversible que sería variaciones de rutas metabólicas y regulación de expresión génica

Auxinas

Las auxinas de la palabra griega *auxein*, "aumentar", fueron reconocidas como hormonas del crecimiento vegetal en 1881 con las experiencias de Charles y Francis Darwin estudiando la curvatura hacia la luz de hipocotilos de alpiste (*Phalaris canariensis*) y Avena (*Avena sativa*). La primera auxina endógena fue identificada en 1934 y su estructura corresponde al ácido-3-indolacético (AIA).

El mecanismo de acción de las auxinas es el alargamiento celular por la hipótesis de crecimiento ácido

El transporte de las auxinas es de tipo polar (basípeto en el tallo y acrópeto en la raíz) por las células parenquimáticas que rodean los haces vasculares. Este transporte no depende de la longitud a recorrer ni de la concentración de las auxinas (no es por difusión) y varía con la edad del tejido y la temperatura.

Entre las auxinas tenemos:

Naturales: Ácido indol acético (AIA), Ácido indol butírico (IBA), Ácido fenilacético, Ácido 4 indolacético, Ácido acetonitrilo en *Crucíferas* e indol etanol en *Cucurbitáceas*

Sintéticas; Acido Naftalen acético (ANA), acido 2,4 dicloro fenoxi acético (2,4-D), Acido 2,4, dicloro fenoxibutírico (2,4-DB), Ác. Indolpropiónico (IPA), Ác. Naftoxiacético (NOA), Acido 4-amino-3,5,6-tricloropicolínico (Picloram), Acido 2-metoxi-3,6-diclorobenzoico (Dicamba).

Entre los efectos fisiológicos que pueden presentar se encuentran:

- ❖ Abscisión de órganos
- ❖ Dominancia apical
- ❖ Enraizamiento de estacas
- Partenocarpia
- Respuesta a los tropismos

ABSCISIÓN DE ORGANOS

INTRODUCCION

Desde temprano, se forma en la base del pecíolo una zona de tejido distinto al que los rodea. Esta zona se denomina **zona de abscisión**.



Foto de Moore 1995

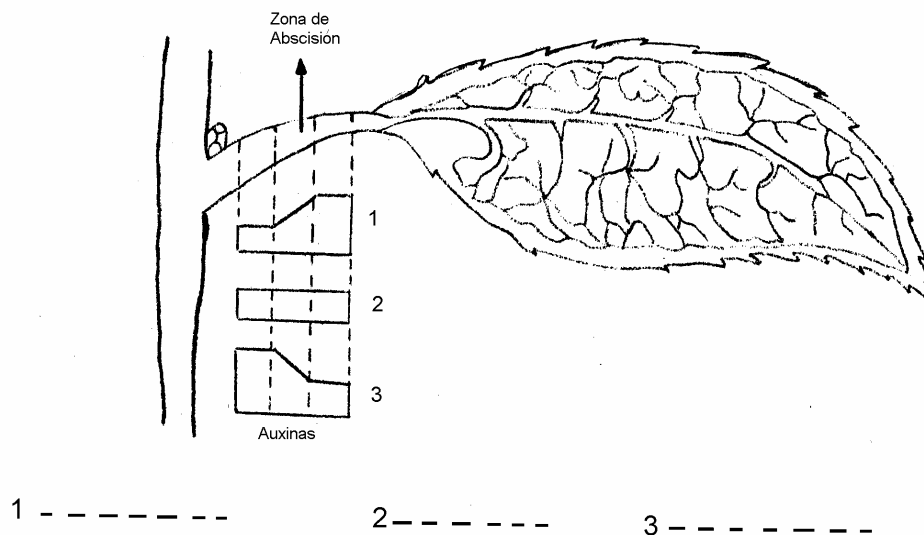
Esta zona aparece en forma de un disco de pequeñas células de paredes delgadas, regularmente alineadas y sin ningún tejido de sostén. A este nivel los únicos elementos diferenciados son los vasculares.

La zona de abscisión se diferencia después en dos capas superpuestas: una **capa de abscisión** o separación hacia la hoja y una **capa protectora** suberosa hacia el tallo.

En la capa de abscisión o separación las laminillas medias y a menudo las paredes primarias de las células se gelifican, de manera que las células ya no están soldadas entre sí y se separan.

Los factores ambientales favorecen la abscisión, en general, a través de su efecto sobre el envejecimiento de la estructura que soporta el pecíolo.

Dentro de los factores intrínsecos mas importante que regula la abscisión es la presencia de un gradiente de auxina en la zona de abscisión. Este gradiente depende en gran parte de la producción de auxinas por las hojas. Las hojas en crecimiento producen auxinas de manera que nos encontramos en el caso (1). a medida que la hoja llega a la madurez, la producción de auxina cesa y el gradiente se presenta como en (2) y posteriormente como en (3), por lo que se produce abscisión (ver ilustración).



Una consecuencia de la senectud progresiva es la producción de etileno. Este estimula la formación de enzimas que degradan la pared celular y el crecimiento de las células de la zona de abscisión próximas al tallo, acontecimiento que provoca la abscisión.

Las giberelinas, citocininas y ácido abscísico también afectan la abscisión, pero parece que el efecto de estos tres grupos de hormonas es indirecto, a través de su efecto primario sobre el envejecimiento del órgano.

Una manera de evitar la abscisión sería mantener elevado el nivel auxínico de la hoja con respecto a la del tallo. Este efecto se podría lograr mediante la aplicación de auxinas en forma exógena.

El objetivo de este T.P. es:

- **Comprender la importancia de la regulación hormonal en el proceso de la abscisión de órganos y si es posible su regulación por la aplicación de auxinas exógenas**

PROCEDIMIENTO

Tome 5 plantas de caupí (*Vigna sinensis*) y sométalas a los siguientes tratamientos:

- 1) Testigo
- 2) Recorte 2/3 partes de todas las láminas de las hojas
- 3) Recorte todas las láminas dejando solamente el pecíolo
- 4) Recorte todas las láminas dejando solamente el pecíolo e impregnando la zona de corte con vaselina o lanolina.
- 5) Recorte todas las láminas dejando solamente el pecíolo e impregnando la zona de corte con vaselina o lanolina, Utilice una pequeña hebra de algodón adherida a la zona del corte con lanolina para aplicar 100 ppm de AIA (ácido indolacético) e impedir su escurrimiento.

Cuadro N° 1: Resultados del Práctico de abscisión de órganos

Lote N°	Tratamientos	Porcentaje de pecíolos caídos: Días desde la aplicación						
		1	2	3	4	5	6	7
1	Testigo							
2	Pecíolo +1/3 lámina							
3	Pecíolosin lámina							
4	Pecíolo sin lámina + vaselina							
5	Pecíolo sin lámina + vaselina + AIA							

DOMINANCIA APICAL

INTRODUCCION

En muchas plantas es posible observar que, mientras las yemas apicales o terminales tienen un activo crecimiento, las yemas laterales permanecen - por lo menos por algún tiempo - en estado de reposo. Es lo que se denomina **dominancia apical**.

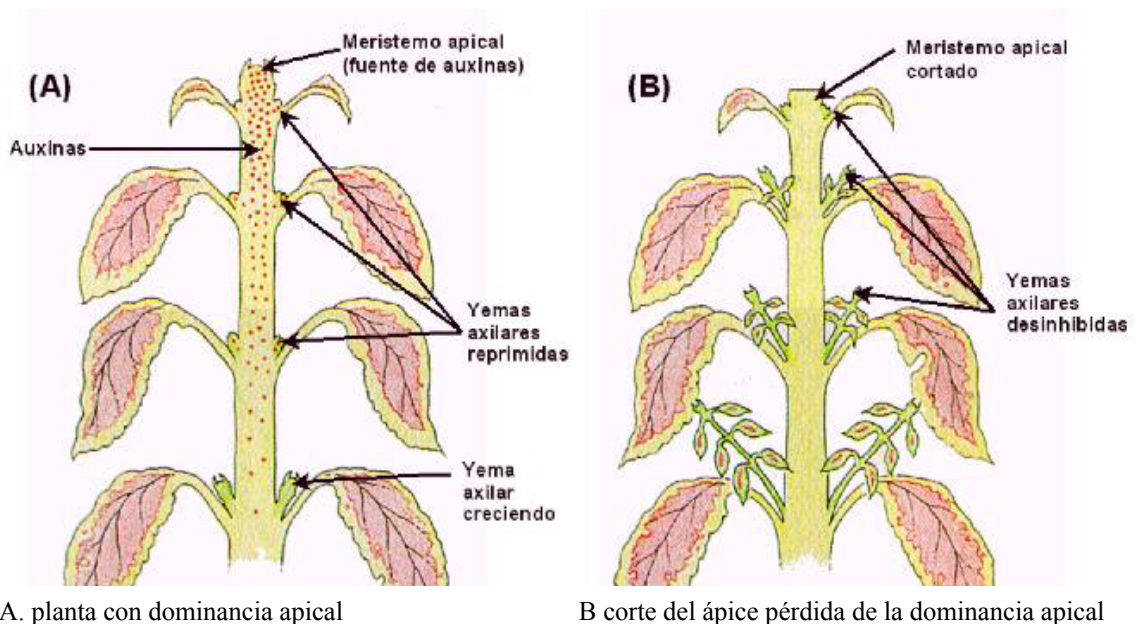


Figura modificada de Curtis, H. y Barnes, N.S. (2000). "Biología". 6 ed. Ed. Panamericana

La dominancia apical se produce debido, principalmente, a que las altas concentraciones de auxinas producidas por las yemas apicales, que están en activo crecimiento, migran hacia abajo inhibiendo el crecimiento de las yemas laterales.

Esta dominancia apical puede ser débil (forma redondeada de los árboles) fuerte (no hay ramificación ni macollaje), dependiente de la distancia al ápice (formas triangulares en coníferas).

Otra de las características de la dominancia apical es que ofrece a las plantas que la presentan la posibilidad de sobrellevar mejor algunos tipos de estrés por ejemplo estrés por insectos cortadores, a una helada intensa entre otros.

Este T.P. tiene por objetivos

- ***Comprobar si existe dominancia apical en plantas de arveja***
- ***Comprobar si la misma es producida por la presencia de auxinas en el ápice terminal***

PROCEDIMIENTO

A cada comisión de trabajo se le entregarán macetas con plántulas de arveja (*Pisum sativum*). Numerar y efectuar los siguientes tratamientos.

Maceta Nro 1: Testigo

Maceta Nro 2: Corte el tallo por debajo del primer nudo que lleva una hoja.

Maceta Nro 3: Corte el tallo como en el caso anterior y aplique pasta de lanolina.

Maceta Nro 4: Corte el tallo como en el caso anterior, aplique lanolina. Utilice una pequeña hebra de algodón y envuelva la zona de corte. Impregne el algodón con AIA (ácido indolacético) 100 ppm para evitar su escurrimiento.

Maceta Nro 5: Corte el tallo como en el caso anterior, aplique lanolina. Utilice una pequeña hebra de algodón y envuelva la zona de corte. Impregne el algodón con AG₃ (ácido giberélico) 100 ppm para evitar su escurrimiento.

Maceta Nro 6: Corte el tallo como en el caso anterior, aplique lanolina. Utilice una pequeña hebra de algodón y envuelva la zona de corte. Impregne el algodón con CIN (Cinetina) 100 ppm para evitar su escurrimiento

Al cabo de un tiempo registre el número de brotes desarrollados en las distintas macetas y su longitud.

Vuelva en el siguiente cuadro los resultados promedios obtenidos por todos los grupos de trabajo.

RESULTADOS DEL T.P.: DOMINANCIA APICAL

Maceta Nro.	Tratamientos	Nro. promedio de brotes/planta	Longitud (en mm) promedio de los brotes / planta
1	Testigo		
2	Sin yema apical		
3	Sin yema apical +lanolina		
4	Sin yema apical +lanolina + AIA		
5	Sin yema apical +lanolina + AG ₃		
6	Sin yema apical +lanolina + CIN		

ENRAIZAMIENTO DE ESTACAS

Lectura previa

1. HARTMANN, H. y D.E. KESTER (1991). Propagación de las plantas, Principios y Prácticas. Editorial Continental S.A. México.

INTRODUCCION

La mayoría de las plantas superiores se propagan por vía sexual, es decir por semillas. Muchas veces esta forma de propagación es sustituida por la propagación asexual, utilizando distintos órganos como: bulbos, tubérculos, estacas. etc.

Tipos de Estacas

Las estacas casi siempre se hacen de las porciones vegetativas de la planta, como los tallos modificados (rizomas, tubérculos, cormos y bulbos), ramas, las hojas o las raíces. Se pueden hacer diversos tipos de estacas, que se clasifican de acuerdo con la parte de la planta de la cual proceden:

- Estacas de tallo:
 - De madera dura (Especies caducifolias)
 - De madera semidura
 - De madera blanda
 - Herbáceas.
- Estacas de hoja
- Estacas con hoja y yema
- Estacas de raíz.

La emisión de raíces de las estacas depende de muchos factores, que se deben tener en cuenta para lograr buenos resultados con esta forma de propagación.

Entre los factores que afectan el enraizamiento de las estacas se encuentran: especie (recalcitrante), la edad, si es herbácea o lignificada, estado sanitario y nutricional, su ubicación en la rama (topótesis), época del año, presencia o no de yemas, grosor. Interesa también la presencia o no de vitaminas, auxinas, inhibidores, aminoácidos, etc.

De acuerdo con Hartmann y Kester (1), los cambios anatómicos que pueden observarse en el tallo durante la iniciación de las raíces pueden dividirse en cuatro etapas:

I- Desdiferenciación de células madres específicas.

II- Formación de iniciales de raíz en ciertas células cercanas a los haces vasculares, las cuales se han vuelto meristemáticas por desdiferenciación.

III-Desarrollo subsecuente de estas iniciales de raíces en **primordios de raíces** organizados.

IV- Desarrollo y emergencia de estos primordios radicales hacia afuera, a través del tallo y sus conexiones vasculares.

Para estimular la formación de raíces, suele recurrirse a distintos procedimientos, entre los que se encuentran la aplicación de reguladores del crecimiento. Principalmente del grupo de las auxinas

Existen dos métodos para promover el enraizamiento de estacas: uno lento y otro rápido.

- ***lento*** generalmente las estacas se colocan en soluciones a bajas concentraciones de la auxinas (10 hasta 500 ppm) durante 8 a 10 horas, luego se las saca de las mismas y se las deja sumergidas en agua o en un sustrato sólido –preferentemente inerte (perlita – arena).
- ***rápido*** utiliza generalmente altas concentraciones de las auxinas (1000 a 5000 ppm) donde se colocan unos minutos las estacas y luego se llevan a agua o sustrato.

En general las soluciones para enraizar que se preparan son acuosas pero las formulaciones concentradas pueden ser preparadas en soluciones alcohólicas (al 50% de Alcohol 96°). Una forma práctica es la suspensión de la hormona en talco comercial que permite manejar grandes cantidades de material vegetal.

El objetivo de este T.P. es:

Observar el efecto de una auxina en el enraizamiento de estacas utilizando el método lento

PROCEDIMIENTO

A cada comisión le serán entregadas estacas de *Populus sp* o *Salix sp*.

Divida el número total de estacas en 5 lotes, con el objeto de sumergir las bases de las mismas durante 8 horas en:

- **Lote 1:** Agua destilada
- **Lote 2:** 10 ppm de IBA
- **Lote 3:** 50 ppm de IBA
- **Lote 4:** 100 ppm de IBA
- **Lote 5:** 200 ppm de IBA

Luego de cada tratamiento coloque las estacas en frascos con agua hasta la mitad. Cada tratamiento deberá ir en frascos separados y rotulados. Ubique los frascos en condiciones de luz difusa. La conducción posterior del experimento se hará siguiendo las indicaciones del J.T.P.

Al cabo de 14 días, vuelque los resultados obtenidos en el cuadro correspondiente.

Cuadro 1: Resultados del T.P. enraizamiento de estacas

TRATAMIENTOS	Aplicación de IBA en ppm				
	H ₂ O	10	50	100	200
Número total de estacas					
Porcentaje de estacas enraizadas					
Número de raíces mayores de 1 mm					
Observaciones generales					

Giberelinas

LECTURA PREVIA

1. BARCELLO COLL, J.; G. NICOLAS RODRIGO; B. SABATER GARCIA y R. SANCHEZ TAMES. (1992). Fisiología Vegetal Editorial Pirámide. Madrid.
2. BIDWELL, R.G.S. (1993). Fisiología Vegetal. Primera Edición en Español, AGT Editor S.A.
3. AZCON-BIETO, J y M. TALÓN (2000) Fundamentos de la Fisiología Vegetal. Editorial Mc Graw Hill, Interamericana
4. SALISBURY, F. B. y ROSS C. W (2000) Fisiología de las Plantas. Editorial Paraninfo

Las **giberelinas** son reguladores de crecimiento que fueron descubiertas al estudiar el alargamiento anormal de plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) infectadas por el hongo *Giberella fujikuroi*, conociéndose en la actualidad más de 160 compuestos naturales de diferente estructura y similar actividad biológica. Se denominan con las siglas AG y un número.

Mecanismo de acción es el alargamiento celular.

Su traslado es no polar a través de floema, a diferencia de las auxinas que tienen un movimiento polar dentro de la planta

Algunos de sus efectos fisiológicos son:

- ❖ Reemplazar los requerimientos de luz en la germinación en semillas fotoblásticas
- Alargamiento de entrenudos
- Elongación del escapo floral en plantas en roseta
- Sustitución de horas de frío o días largos para floración
- Inducción de flores masculinas
- Inducción de alfa amilasas en germinación
- Retraso en la maduración de frutos
- Eliminan la dormición en yemas y semillas

EFFECTO DE LAS GIBERELINAS EN LA GERMINACION DE SEMILLAS

El objetivo de este TP es:

Estudiar si las giberelinas pueden reemplazar los requerimientos de luz en la germinación en semillas de lechuga (Lactuca sativa cv. Gran Rapid).

PROCEDIMIENTO:

Prepare los germinadores como le indicara el JTP.

Rotule las capsulas de Petri y agregue 5 ml de las siguientes soluciones

- a) agua destilada
- b) AG₃ 1 ppm
- c) AG₃ 10 ppm
- d) AG₃ 100 ppm
- e) agua destilada

Ponga 25 semillas por germinador y coloque los 4 primeros tratamientos en oscuridad inmediatamente para evitar que las semillas reciban luz y el quinto germinador déjelo en luz como testigo.

Al cabo de 7 días cuente las semillas germinadas, obtenga el poder germinativo y vuelque los resultados en el cuadro correspondiente.

RESULTADOS

Cuadro procedimiento

Especie.....

Tratamientos	Condiciones incubación	Nro. de semillas	Semillas germinadas	Poder germinativo
0 ppm	Luz			
0 ppm	Oscuridad			
1 ppm	Oscuridad			
10 ppm	Oscuridad			
100 ppm	Oscuridad			

Etileno

Lectura previa recomendada para Etileno

1. TIZIO, R.M. (1980). Reguladores del crecimiento. Aplicaciones agronómicas de los reguladores del crecimiento.. En SIVORI E.M., E.R. MONTALDI y O. H. CASO: Fisiología vegetal. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires
2. BARCELLO COLL,J.; G. NICOLAS RODRIGO; B. SABATER GARCIA y R. SANCHEZ TAMES. (1992). Fisiología Vegetal. Editorial Purámide, Madrid.
3. BIDWELL, R.G.S., (1993). Fisiología Vegetal. Primera Edición en Español, AGT Editor S.A,
4. AZCON-BIETO, J y M. TALÓN. (2000). Fundamentos de Fisiología vegetal. Editorial Mc Graw Hill.
5. SALISBURY, F. B. y ROSS C. W (2000) Fisiología de las Plantas. Editorial Paraninfo

El etileno ha sido considerado por mucho tiempo como la hormona de la madurez y el envejecimiento, pero su rol en los tejidos vegetales es mucho más amplio y diverso.

Es una de composición química simple ($\text{CH}_2=\text{CH}_2$) contrasta con la estructura más compleja de otros grupos (Giberelinas, Citocininas, Auxinas). Es la única fitohormona que es un gas y tiene la propiedad de autocatalizar su síntesis.

Su mecanismo de acción es por inducir la síntesis de nuevo mRNA y proteínas

Su traslado, al ser un gas, es por **difusión**. Como es soluble en agua se mueve con las soluciones y como es no polar pasa fácilmente por membrana

Algunos de sus efectos fisiológicos son

- ❖ Inducir la floración femenina en algunas especies
 - ◆ Inducir la epinastia
 - ◆ Promover la maduración de frutos
 - ◆ Promover la abscisión de hojas
 - ◆ Inhibir el crecimiento de tallos y raíces
 - ◆ Estimular la germinación de semillas de algunas especies

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL SEXO EN VEGETALES

Podemos agrupar las plantas, según su sexo en:

- **Hermafroditas:** cuando tienen únicamente flores bisexuales
- **Diclino:** Cuando tiene flores unisexuales (masculinas y femeninas)
 - **Monoicas:** Cuando tienen flores masculinas y femeninas en una misma planta.
 - **Dioicas:** Cuando tienen flores masculinas o femeninas en una planta.
- **Andromonoicas:** Cuando tienen flores bisexuales y masculinas en una planta.
- **Ginomonoicas:** Cuando tienen flores bisexuales y femeninas en una planta.

La expresión del sexo está regulada genéticamente y es afectada por factores ambientales como el fotoperíodo y la temperatura y también puede ser modificada, al menos temporalmente, con la pulverización de reguladores del crecimiento.

Las giberelinas, así como las bajas temperaturas, inducen en las *Cucurbitaceas*, (diclino monoicas), la formación de flores masculinas.

En cambio, el ETHREL (ácido 2-cloroetilfosfónico), que en contacto con los tejidos vegetales libera **etileno**, suprime la floración masculina aumentando la floración femenina en plantas diclino monoica. Esto permite aumentar la cantidad de frutos a cosechar en condiciones de bajas temperaturas. Se utiliza para la obtención de híbridos, que en forma más sencilla y eficiente aumenta el número de flores femeninas, los frutos y las semillas del mismo.

El objetivo de este T.P. es:

Comprobar el efecto de la aplicación de etileno (Ethrel) sobre la expresión del sexo en zapallito del tronco (Cucurbita pepo).

PROCEDIMIENTO

Cultive plantas de zapallito de tronco (*Cucurbita pepo*) en condiciones de bajas temperaturas durante su crecimiento y cuando tengan de dos a cuatro hojas verdaderas, divídalas en 4 lotes a los efectos de realizar los siguientes tratamientos:

Tratamiento I	0 ppm de Acido 2-cloroetilfosfónico
Tratamiento II	100 ppm de Acido 2-cloroetilfosfónico
Tratamiento III	200 ppm de Acido 2-cloroetilfosfónico
Tratamiento IV	400 ppm de Acido 2-cloroetilfosfónico

Aplique el ácido 2-cloroetilfosfónico hasta punto de goteo.

A medida que vayan apareciendo, cuente el número de flores expandidas, discriminando por sexo.

Vuelque los resultados obtenidos en el cuadro correspondiente y con ellos confeccione los gráficos.

Cuadro 1: Toma de datos del T.P.: Expresión del sexo

Días desde la aplicación	N° de flores en los lotes							
	T0		T1		T2		T3	
	Fem	Masc	Fem	Masc	Fem	Masc	Fem	Masc

Germinación de semillas

Germinación de Semillas

Lectura previa

- 1) GINZO, H.D.,(1980). Fisiología de la Germinación. En: Fisiología Vegetal. SIVORI, E; MONTALDI y O. CASO., Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires.
- 2) HARTMANN, H. y D.E. KESTER (1991). Propagación de las plantas, Principios y Prácticas. Editorial Continental S.A. México.
- 3) BARCELO COLL, J.; G. NICOLAS RODRIGO; B. SABATER GARCIA y R. SANCHEZ TAMES. (1992). Fisiología Vegetal. Ediciones Pirámide S.A. Madrid
- 4) BIDWELL, R.G.S., (1993). Fisiología Vegetal. Primera Edición en Español, AGT Editor S.A.

La germinación es el proceso por el cual el embrión, que se encuentra en estado latente - dentro de la semilla, reanuda su crecimiento y desarrolla en plántula.

Este proceso consta de tres etapas principales

- Imbibición de agua
- Activación y generación *de novo* de enzimas
- Elongación de las células del embrión y emergencia de la radícula

Según Hartmann y Kester, la germinación tiene tres requisitos básicos:

- La semilla debe ser **viable**, esto es, el embrión debe estar vivo y capaz de germinar.
- La semilla debe ser puesta en **condiciones ambientales** favorables, siendo los factores esenciales: agua disponible, temperatura apropiada y provisión de oxígeno.
- Cuando las **condiciones externas** son favorables, deben superarse las **condiciones internas** que impiden la germinación

La germinación de semillas como todo proceso biológico está afectada por factores internos y externos.

Entre los **factores externos** o ambientales se encuentran:

- ❖ Luz
- Temperatura
- Humedad,
- O₂, y CO₂
- Otros gases

La luz afecta de tres modos distintos: por su **intensidad**, por su **duración** y por su **composición o calidad**.

La temperatura afecta principalmente la actividad enzimática necesaria para la degradación de las sustancias de reservas

La humedad es fundamental para la imbibición de la semilla y reactivación de los sistemas enzimáticos (principalmente los vinculados a la respiración) y reparación de las mitocondrias

El contenido de O₂ y CO₂ vinculados al proceso respiratorio al 21% de O₂ y 0,03% de CO₂ la mayoría de las especies germinan, las acuáticas con tensiones menores de hasta el 8% logran germinar.

Otros gases que se liberan por los procesos propios de la actividad del suelo como butano y metano pueden ser inhibitorios y a veces la acumulación de etileno puede favorecer la germinación.

Cuando los factores externos son favorables y las semillas no germinan se dice que las mismas presentan **dormancia** y esta se debe a los factores internos o propios de la semilla.

La dormancia es una de las características adaptativas más importantes de los vegetales y es la capacidad que presentan las semillas de retener su viabilidad, lo que les permite sobrevivir a condiciones adversas.

Algunos de los **factores internos** son

- ❖ Embriones fisiológicamente inmaduros
- ❖ Inhibidores
- ❖ Presencia de tegumentos duros
- ❖ Presencia de Fitocromos
- Embriones rudimentarios
- Embriones anatómicamente inmaduros

Los resultados de la germinación, se pueden expresar de diferentes maneras, las más usuales son:

- 1) **Poder germinativo:** donde se indica el % de semillas germinadas en un tiempo dado.(7días, 14 días)

$$PG = \frac{\text{N}^\circ \text{ semillas germinadas}}{\text{N}^\circ \text{ semillas puestas a germinar}} \times 100$$

- 2) **Energía germinativa:** Es el número de días requeridos para conseguir un porcentaje determinado de semillas germinadas

FACTORES EXTERNOS QUE AFECTAN LA GERMINACIÓN

Necesidad de luz en la germinación de semillas

INTRODUCCIÓN

Las semillas tienen para germinar, requerimientos de luz muy variables según las especies, e incluso hay semillas cuya germinación resulta inhibida por la luz. La luz afecta de tres modos distintos: por su **intensidad**, por su **duración** y por su **composición**.

En la germinación de semillas uno de los aspectos de la luz que más influye es la **calidad**, esto se debe a que algunas semillas, que poseen fitocromos en sus embriones, se ven inducidas a germinar en intensidades lumínicas cercanas a los 670 nm (luz roja) o inhibidas con 730 nm (luz rojo lejano). A este tipo de semillas se las denomina **fotoblásticas**.

Cuando la luz incide positivamente en la germinación, se dice que las semillas tienen **fotoblastismo positivo**; en cambio, si la germinación se ve perjudicada en presencia de luz, estas tienen **fotoblastismo negativo**. Cuando la luz no afecta a la germinación se dice que las semillas son **no fotoblásticas**.

Esta respuesta a la luz o la presencia de fitocromos es una adaptación principalmente de semillas pequeñas que por estar cerca de la superficie no germinarán debajo de las plantas al no llegar la luz necesaria o si fueran llevadas a profundidad -como es el caso de algunas malezas- permanecerán en vida latente por años hasta volver a ser arrastradas a la superficie

Los objetivos de este T.P. son:

- *Estudiar el efecto de la luz sobre la germinación de semillas de diferentes especies.*
- *Determinar si son fotoblásticas y de que tipo.*

PROCEDIMIENTO

Se realizarán dos tratamientos: **1) Luz** y **2) Oscuridad**

- 1) Prepare los germinadores y rotúlelos con el nombre de la especie y el nombre del tratamiento.
Luego humedézcalos con agua.
- 2) Ponga las semillas que se le entregarán en dos germinadores, a razón de 25 a 100 semillas en cada uno, según la especie.
- 3) Coloque el tratamiento "oscuridad", utilizando una caja de cartón o donde el J.T.P. indique.
- 4) Coloque el tratamiento "luz" en una cámara de incubación iluminada.
- 5) Al cabo de ----- días cuente las semillas germinadas en todos los germinadores, vuelque los resultados en el cuadro correspondiente.
- 6) Calcule Poder germinativo para cada especie e indique su respuesta a la luz.

Cuadro 1: Resultados del T.P.: Necesidad de luz en la germinación

Especies	N° de semillas	Germinadas en luz		Germinadas en oscuridad		Tipo de semilla por su respuesta a la luz
		Nro.	%	Nro.	%	

FACTORES INTERNOS QUE AFECTAN LA GERMINACIÓN

Embrión fisiológicamente inmaduro

INTRODUCCION

Este tipo de dormición se debe, fundamentalmente, a una disminución en la actividad enzimática de los embriones.

En los cereales este tipo de dormición es frecuente, impidiendo que las semillas germinen luego de cosechadas, aunque el embrión este perfectamente formado y durante el almacenaje en sitio seco van perdiendo esta dormición, lo que convierte a esta dormancia en un carácter fitotécnico deseable.

El período de duración de la dormancia puede variar desde algunas semanas hasta varios meses, de ahí que existen cultivares que germinan en planta (vivíparos) y otros permanecen inalterables aún en condiciones adecuadas para la germinación.

Existen métodos artificiales para romper esta dormancia, por ej: térmicos, químicos.

El método térmico consiste en someter a las semillas secas (14 % de humedad) a 50 °C durante 7 días

Los objetivos de este T.P. son:

- *Determinar si las variedades de arroz (*Oryza sativa* L.) a utilizar presentan dormancia*
- *Si la dormancia observada es por embriones fisiológicamente inmaduros y evaluar el efecto del tratamiento térmico sobre ésta.*

PROCEDIMIENTO:

Se trabajara con semillas de arroz (*Oryza sativa* L.).

Se confeccionarán 4 lotes

- **Lote 0** Testigo
- **Lote 1** Las semillas fueron sometida a tratamiento térmico: las semillas secas (14% humedad) a 50 °C durante una semana
- **Lote 2** Las semillas serán descascaradas
- **Lote 3** las semillas será puestas en agua durante 1 hora previo al inicio del TP práctico

- 1) Prepare los germinadores en cajas Petri con algodón y papel.
- 2) Humedézcalos con agua.
- 3) Separe 20 semillas sanas de cada cultivar y cada tratamiento
- 4) Colóquelas ordenadamente dentro de cada germinador. Rotule e identifique cada germinador.
- 5) Coloque a germinar a 27 °C.

6) A los 7 días evalúe las semillas germinadas y anote los resultados en el cuadro.

RESULTADOS DEL T.P.: Embrión fisiológicamente inmaduro

Tratamientos	Variedad			Variedad		
	N° de Semillas	Germinadas		N° de Semillas	Germinadas	
		N°	%		N°	%
Testigo						
Trat. térmico						
Descascarado						
Lavado en H ₂ O						

Inhibidores de la germinación de semillas

INTRODUCCION

Uno de los factores internos que pueden producir dormancia es la presencia de inhibidores.

Estas sustancias químicas pueden ser producidas en o traslocadas a la semilla y bloquean el crecimiento del embrión.

Son inhibidores:

- **Acido abscísico:** Regulador del crecimiento
- **Inhibidores:** Sustancias derivadas del metabolismo secundario de la planta.
 - Compuestos orgánicos aromáticos (fenólicos, benzoicos, cofactores de AIA oxidasa, difenólicos)
 - o derivadas de las lactonas (cumarina, escopoletina, juglona)
- **Inhibidor β :** Acido abscísico + inhibidor

En especies tropicales y subtropicales, los inhibidores se encuentran en el pericarpio e inhiben la germinación en las estaciones secas. La eliminación manual del pericarpio o la lixiviación de los frutos es suficiente para que se inicie la germinación de las semillas. En condiciones naturales, esto ocurre en las estaciones lluviosas.

El efecto inhibitorio en la germinación se consigue también con la aplicación de reguladores del crecimiento, como el ácido abscísico o el etileno

El objetivo del presente T.P. es

- *Comprobar la presencia o acción de inhibidores [(acido ferúlico (cofactor AIA oxidasa)] en la germinación de semillas de tomate (Lycopersicon sculentum) y*
- *Determinar donde se encuentra.*

PROCEDIMIENTO

Tome frutos maduros de tomate y extraiga su jugo. Con éste prepare disoluciones de 1/2, 1/4, 1/8 y 1/16 partes de agua.

Arme 6 germinadores con algodón y papel y realice los siguientes tratamientos:

Tratamiento 1: Coloque 25 semillas de tomate y humedezca el germinador con agua destilada

Tratamiento 2: Coloque 25 semillas de tomate y humedezca con jugo de tomate sin diluir.

Tratamiento 3: Coloque 25 semillas de tomate y humedezca con jugo de tomate 1/2.

Tratamiento 4: Coloque 25 semillas de tomate y humedezca con jugo de tomate 1/4

Tratamiento 5: Coloque 25 semillas de tomate y humedezca con jugo de tomate 1/8

Tratamiento 6: Coloque 25 semillas de tomate y humedezca con jugo de tomate 1/16.

Se tomarán los resultados a los.....días de haberse iniciado la experiencia. En el cuadro correspondiente, serán confeccionados en base a los promedios de todas las comisiones.

RESULTADOS DEL T.P.: Inhibidores de la germinación

Tratamiento Nro.	Dilución	Número de semillas puestas a germinar	Semillas germinadas	
			Nro.	%
1	Agua destilada			
2	Jugo sin diluir			
3	Jugo diluido a 1/2			
4	Jugo diluido a 1/4			
5	Jugo diluido a 1/8			
6	Jugo diluido a 1/16			

Método de ruptura del letargo de las semillas con tegumento duro

INTRODUCCION

Hay muchos ejemplos donde las semillas no pueden germinar o esta se ve retrasada por tener **tegumentos duros**.

Los tegumentos pueden ser duros por:

- Impermeabilidad al agua por presencia de cutinas, ligninas, quinonas, sust pecticas insolubles (*Leguminosas*)
- Impermeabilidad al oxígeno por presencia de fenoles sustancias ávidas de O_2 que lo atrapan y no permiten que llegue al embrión (*Xanthium*),
- Resistencia mecánica a la expansión del embrión por contener un estrato de esclereidas con paredes secundarias muy lignificadas (*Brassicas*)
- Impedir la difusión de los inhibidores fuera de la semilla (Guayule).

En tales casos, para romper el letargo de las semillas debido a los tegumentos duros, se puede recurrir a diferentes métodos:

- Físicos $\left\{ \begin{array}{l} \text{Agua caliente} \\ \text{Fuego} \\ \text{Alternancia de temperaturas frío-caliente} \end{array} \right.$
- Mecánicos : Escarificado
- Químicos: $\left\{ \begin{array}{l} \text{Ácidos fuertes (SO}_4\text{H}_2; \text{HCL)} \\ \text{Álcalis fuertes (OHK; OHNa)} \end{array} \right.$

En la naturaleza esto se produce por la abrasión de las partículas de arena o la acción de insectos y/o microorganismos o el pasaje por el aparato digestivo de animales y aves que presentan sustancias acidas

. Los objetivos del Trabajo Práctico son:

- *Determinar si la presencia de tegumentos duros impiden la germinación de las semillas.*
- *Evaluar el efecto de diferentes tratamientos para promover la germinación de las mismas.*

PROCEDIMIENTOS

1) A cada comisión de trabajo se le entregarán semillas de diferentes especies. Divida la cantidad total de semillas de cada especie en 8 lotes a los efectos de realizar los siguientes tratamientos:

LOTE 1: (Testigo) ponga las semillas en el germinador sin tratamiento alguno.

LOTE 2: Escarifique en forma mecánica las semillas antes de colocarlas en el germinador. Para ello raspe su superficie con un papel de lija o sobre una superficie rugosa, sin dañar el endosperma y/o embrión.

LOTE 3: Antes de colocar las semillas en el germinador, sumérjalas en SO_4H_2 concentrado durante 30 minutos, lávelas durante 10 minutos con agua y neutralice el exceso de SO_4H_2 con $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

LOTE 4: Realice la operación anterior, pero en este caso sumérjalas en SO_4H_2 concentrado durante 60 minutos. Neutralice las semillas como en el Lote Nro. 3.

LOTE 5: Efectúe la operación anterior, pero en este caso sumerja las semillas en SO_4H_2 concentrado durante 120 minutos. Neutralice las semillas como en el Lote Nro. 3.

LOTE 6: Antes de colocar las semillas en el germinador, sumérjalas en agua caliente durante 3 minutos y luego en agua helada durante 3 minutos.

LOTE 7: Antes de colocar las semillas en el germinador, sumérjalas en agua caliente durante 60 minutos.

LOTE 8: Antes de colocar las semillas en el germinador, sumérjalas en agua durante 60 minutos.

2) Coloque los germinadores en el lugar que el J.T.P. indicará, manteniendo un orden por tratamiento y por especie.

3) Cuente el número de semillas germinadas por tratamiento y por especie diariamente, sin extraer las semillas germinadas. Considere una semilla germinada cuando la raíz emergió 5 mm fuera del tegumento.

Finalizado el T.P. se le dictarán todos los valores obtenidos y se volcaran en el respectivo cuadro Calcule el Poder germinativo y la energía germinativa

CUADRO 1: Resultados del T.P.: Germinación de semillas con tegumento duro

Especie	Tratamiento	N° Sem	N° semillas germinadas: Días							Total	PG	EG ---- PG
			1	2	3	4	5	6	7			
	Testigo											
	Esc. Mecánico											
	SO ₄ H ₂ 30'											
	SO ₄ H ₂ 60'											
	SO ₄ H ₂ 120'											
	H ₂ O cal y H ₂ O fría											
	H ₂ O caliente 60'											
	H ₂ O fría 60'											
	Testigo											
	Esc. Mecánico											
	SO ₄ H ₂ 30'											
	SO ₄ H ₂ 60'											
	SO ₄ H ₂ 120'											
	H ₂ O cal y H ₂ O fría											
	H ₂ O caliente 60'											
	H ₂ O fría 60'											
	Testigo											
	Esc. Mecánico											
	SO ₄ H ₂ 30'											
	SO ₄ H ₂ 60'											
	SO ₄ H ₂ 120'											
	H ₂ O cal y H ₂ O fría											
	H ₂ O caliente 60'											
	H ₂ O fría 60'											

CUADRO 1(cont): Resultados del T.P.: Germinación de semillas con tegumento duro

Especie	Tratamiento	N° Sem	N° semillas germinadas: Días							Total	PG	EG ---- PG
			1	2	3	4	5	6	7			
	Testigo											
	Esc. Mecánico											
	SO ₄ H ₂ 30'											
	SO ₄ H ₂ 60'											
	SO ₄ H ₂ 120'											
	H ₂ O cal y H ₂ O fría											
	H ₂ O caliente 60'											
	H ₂ O fría 60'											
	Testigo											
	Esc. Mecánico											
	SO ₄ H ₂ 30'											
	SO ₄ H ₂ 60'											
	SO ₄ H ₂ 120'											
	H ₂ O cal y H ₂ O fría											
	H ₂ O caliente 60'											
	H ₂ O fría 60'											
	Testigo											
	Esc. Mecánico											
	SO ₄ H ₂ 30'											
	SO ₄ H ₂ 60'											
	SO ₄ H ₂ 120'											
	H ₂ O cal y H ₂ O fría											
	H ₂ O caliente 60'											
	H ₂ O fría 60'											

Metabolismo

FOTOSÍNTESIS

Lectura previa

1. MONTALDI, E.R. (1980). Metabolismo Energético. En: SIVORI, E.R. MONTALDI y O. CASO. Fisiología Vegetal. Editorial Hemisferio Sur.
2. BARCELLO COLL, J.; G. NICOLAS RODRIGO; B. SABATER GARCIA y R. SANCHEZ TAMES. (1992). Fisiología Vegetal. Editorial Pirámide.
3. SALISBURY F. B. y ROSS, C. W. (1992) Fisiología Vegetal. Editorial Paraninfo
4. BIDWELL, R. G. S. (1993). La Hoja y la Atmósfera. Fisiología Vegetal. Editorial AGT. México.
5. TAIZ, L. and E. ZEIGER. 1998. Plant Pysiology. Unit III. Biochemistry and metabolism. Editorial Sinauer, USA
6. AZCON –BIETO, J & M. TALON. 2000. Fundamentos de Fisiología Vegetal. Mc Graw Hill Interamericana, Madrid

La fotosíntesis es la producción de una sustancia orgánica (glúcido simple) a partir de moléculas inorgánicas simples (CO₂ que se reduce y H₂O que se oxida) utilizando energía lumínica que se almacena como energía química y con desprendimiento de oxígeno.

Su ecuación sería



La fotosíntesis es seguramente el proceso bioquímico más importante de la Biosfera por varios motivos:

- La síntesis de materia orgánica a partir de la inorgánica se realiza fundamentalmente mediante la fotosíntesis; luego irá pasando de unos seres vivos a otros mediante las cadenas tróficas, para ser transformada en materia propia por los diferentes seres vivos.
- Produce la transformación de la energía luminosa en energía química, necesaria y utilizada por los seres vivos
- En la fotosíntesis se libera oxígeno, que será utilizado en la respiración aerobia como oxidante.
- La fotosíntesis fue causante del cambio producido en la atmósfera primitiva, que era anaerobia y reductora.
- De la fotosíntesis depende también la energía almacenada en combustibles fósiles como carbón, petróleo y gas natural.
- El equilibrio necesario entre seres autótrofos y heterótrofos no sería posible sin la fotosíntesis.

La medición de la actividad fotosintética puede realizarse mediante

- **Medición del CO₂ absorbido** (absorción infrarroja, cambio de la conductividad calórica, conductividad eléctrica, titulación, cambio de pH)
- **Medición del O₂ liberado** (modificación de la presión de O₂, solubilidad diferencial del CO₂ y el O₂)
- **Medición de la ganancia de materia seca** (modificación del PS)

El proceso fotosintético, como cualquier otro proceso fisiológico, es afectado tanto por:

Factores internos

- Capacidad fotosintética de la hoja,
- Superficie foliar,
- Demanda de fotoasimilados,
- Edad de la hoja

Factores externos

- ❖ Luz (calidad, intensidad, duración);
- ❖ [CO₂];
- Temperatura;
- [O₂];
- Agua.

El efecto de estos factores no es ejercido de forma independiente sino que existe una relación entre ellos. Esto es expresado por Blackman quien postuló el principio que dice:

"Todo proceso regulado por más de un factor, la tasa o intensidad del mismo estará limitada por uno sólo entre todos los factores que pueden actuar al mismo tiempo, siendo proporcional a la cantidad de ese factor, pero cesa la proporcionalidad cuando otro factor se hace limitante"

Factores que afectan fotosíntesis

Los objetivos del T.P. son:

- *Estudiar la influencia de dos de los factores, luz (intensidad) y concentración de CO₂ sobre la intensidad de la fotosíntesis y*
- *Observar el cumplimiento del principio de Blackman.*

PROCEDIMIENTO

Medición de la Intensidad Fotosintética.

Como material vegetal se utilizará ramas de *Elodea sp.*

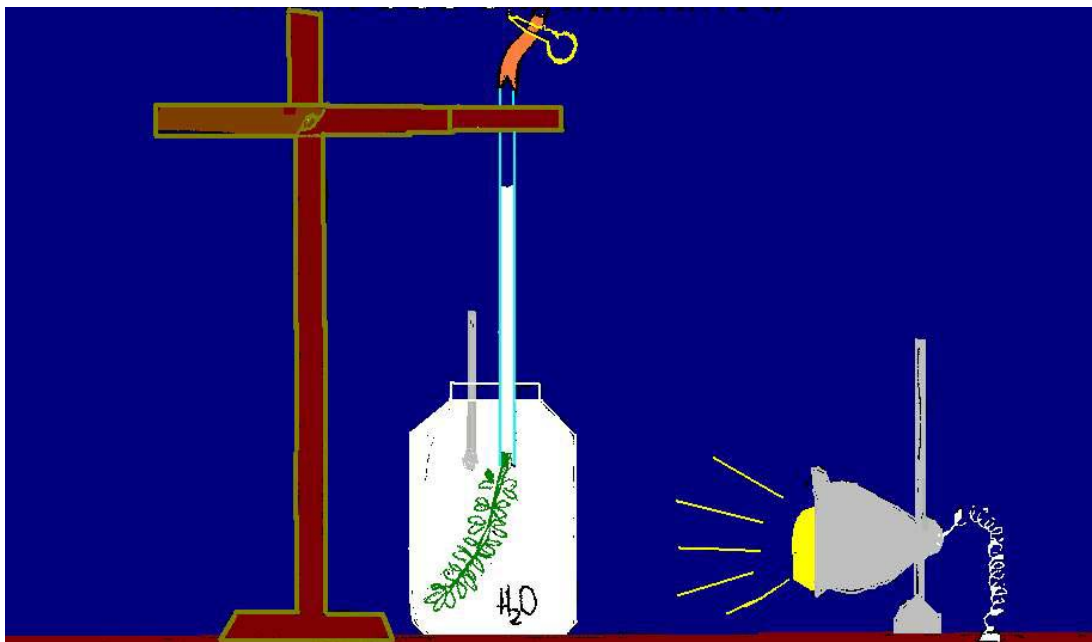
La medición se realizará en forma indirecta midiendo el volumen de agua desplazado por la cantidad de oxígeno liberado durante la fotosíntesis realizada por la ramita de *Elodea sp.*

La medición del descenso de la columna de agua se hará en 0,01 ml/20 minutos.

A tal efecto, las Comisiones de Trabajo deberán armar el dispositivo que se ilustra, efectuando los siguientes pasos:

- 1.- Llene casi hasta el borde el frasco de vidrio con agua de canilla.
- 2.- Al extremo agudo de una pipeta de 1 ml.(1/100), coloque un tubo de goma de 4 a 6 cm de largo y disponga en este último una pinza tal que obture herméticamente el mismo. Aflojando la pinza, pipetee, llenando con agua de canilla hasta aproximadamente 3/4 partes de la pipeta. Cierre con la pinza el tubo de goma de tal forma que la columna de agua de la pipeta no descienda.
- 3.- Coloque dicha pipeta en un soporte que se le proveerá de tal forma que el extremo del tubo quede introducido unos 3 a 5 cm dentro del frasco de vidrio que contiene agua.
- 4.- Escoja una ramita sana y vigorosa de *Elodea sp.* de 7 cm de longitud, introdúzcala en el frasco y debajo del agua practique con un bisturí un corte en la rama a 1 cm del lugar en que había sido cortada anteriormente.
- 5.- Coloque el extremo cortado de la ramita en el extremo de vidrio de la pipeta (introduzca 1 cm aproximadamente podando con cuidado las hojas de la *Elodea sp.*).

ESTA ULTIMA OPERACION DEBERA HACERSE DEBAJO DEL AGUA Y CON MUCHO CUIDADO PARA NO DAÑAR LA PLANTA Y LA MARCHA DEL EXPERIMENTO.



ACLARACION: Al comenzar un tratamiento determinado deje que el burbujeo producido desde la ramita de *Elodea sp* sea constante. Después de ello proceda a la medición. Si en algún tratamiento la liberación de O₂ es tan pobre que sea casi imperceptible el descenso de la columna de agua de la pipeta, cuente el número de burbujas que se producen en 3 minutos.

INFLUENCIA DE LA INTENSIDAD LUMINICA Y CONCENTRACION DEL ANHIDRIDO CARBONICO EN LA INTENSIDAD DE FOTOSINTESIS.

Para estudiar la influencia de estos factores, la ramita de *Elodea sp.* será sometida a iluminación por medio de una lámpara incandescente de 200 W, ubicada según los siguientes tratamientos:

TRATAMIENTO N° 1: distancia *Elodea sp.*/fuente iluminación:2.0 m

TRATAMIENTO N° 2: distancia *Elodea sp.*/fuente iluminación:1.0 m

TRATAMIENTO N° 3: distancia *Elodea sp.*/fuente iluminación:0.5 m

TRATAMIENTO N° 4:distancia *Elodea sp.*/fuente iluminación:0.25 m

TRATAMIENTO N° 5:distancia *Elodea sp.*/fuente iluminación:0.125 m

Calcule la intensidad relativa de iluminación tomando a la distancia de 0.125 m igual a 1. Vuelque los resultados obtenidos en un cuadro siguiendo las instrucciones del JTP, con los mismos confeccione un gráfico como lo indique el JTP.

El primer experimento se realiza con **AGUA DE CANILLA SOMETIDA A VACIO** (ésta es pobre en CO₂).

El segundo experimento se realiza con **AGUA DE CANILLA.** (esta tiene una concentración de CO₂ normal)

El tercer experimento se realiza con **AGUA DE CANILLA ENRIQUECIDA EN CO₂:** Al agua de canilla agregue 1 cucharadita de CO₃HK o reemplácela por una solución de CO₃HK al 0,5 % (medio rico en CO₂).

Con los datos confeccione el cuadro N° 1 y un gráfico con todos los tratamientos antes mencionados.

Nota: Durante el transcurso de los experimentos vigile, con un termómetro que la temperatura se mantenga constante. De no ser así, realice el experimento nuevamente.

CUADRO 1: Resultados del trabajo práctico factores que afectan fotosíntesis

		FOTOSÍNTESIS (0.01 mL de O ₂ cada 20 minutos)		
DISTANCIA FUENTE LUZ	INTENSIDAD DE LUZ (μmol/m ² /s)	AGUA CON BAJA [CO ₂]	AGUA CON [CO ₂] NORMAL	AGUA CON ALTA [CO ₂]
2 m				
1m				
0.5 m				
0.25				
0.125 m				

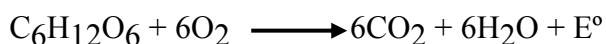
RESPIRACIÓN

Lectura previa

1. MONTALDI, E. R. (1980) Metabolismo Energético. En: SIVORI, E.R. MONTALDI y O. CASO: Fisiología Vegetal. Editorial Hemisferio Sur.
2. BARCELO COLL, J., G. NICOLAS RODRIGO, B. SABATER GARCIA y R. SANCHEZ TAMES, (1992). Fisiología Vegetal, Ediciones Pirámide S.A.
3. BIDWELL, R.G.S., (1993). Fisiología Vegetal. Primera Ed. en Español, AGT Editor S. A.
4. AZCON BIETO, J y TALON, M. (2000) Fundamentos de Fisiología Vegetal. Editorial Mc Graw Hill.
5. SALISBURY, F. B. y ROSS C. W (2000) Fisiología de las Plantas 1. Editorial Paraninfo

Las células respiran continuamente absorbiendo O₂ y eliminando CO₂.

La respiración puede ser representada globalmente por la ecuación:



El proceso global de la respiración consta de un conjunto de reacciones de oxidorreducción mediante las cuales ciertos compuestos son oxidados hasta transformarse en CO₂ y H₂O.

Como posibles sustratos a ser oxidados las células disponen de:

- Carbohidratos (sacarosa y almidón)
- Lípidos (grasas)
- Ácidos orgánicos
- Proteínas (más raramente)
-

Para conocer que sustrato se está oxidando se utiliza el Cociente respiratorio que indica el número de moléculas de O₂ necesarias para oxidar el CO₂

$$\text{CR} = \frac{[\text{CO}_2]}{[\text{O}_2]}$$

Si el sustrato es sacarosa el CR =1 si es un lípido es = a 0,7 y un ácido orgánico = 1,3, por ejemplo.

La respiración es una reacción exergónica y parte de la energía se libera como calor y otra queda atrapada en moléculas de ATP que podrán ser utilizadas posteriormente para otras funciones, como dinámica estomática y transporte de sustancias, reposición de proteínas y lípidos, mantener el gradiente electroquímico de membrana, formación de nuevos órganos.

Para hacer determinaciones de la respiración existen varios métodos.

- Respirómetros a presión constante
- Respirómetros a volumen constante (método de Warburg)
- Respirómetros a volumen constante con electrodo de oxígeno
- Titulación del CO₂ liberado

Existen diversos factores que afectan a la intensidad respiratoria

Factores externos

❖ Temperatura

- Agua
- [O₂]
- [CO₂]
- Luz
- Sales minerales

Factores internos

- Disponibilidad del sustrato
- Tipo de órgano, estado metabólico
- Edad de la planta
- Efectos mecánicos (Heridas, infección de patógenos)

Efecto de la temperatura sobre la respiración

El objetivo del presente trabajo práctico es:

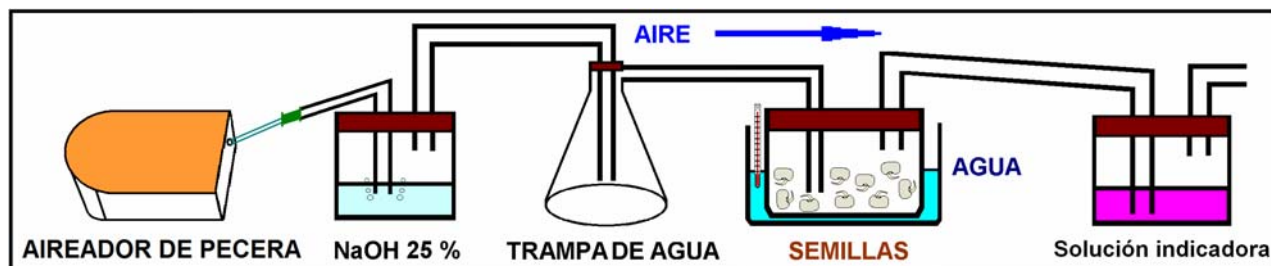
- *Evaluar de modo cualitativo el efecto de la temperatura sobre la intensidad de la respiración.*

Para determinar la intensidad respiratoria se usará una solución indicadora de CO₂, conteniendo 0,099 N de KCl y 0,01 N de NaHCO₃ y algunas gotas de indicador rojo cresol. La solución así preparada tiene un pH de 8.1 y es de color púrpura. Cuando aumenta la concentración de CO₂, ésta se vuelve ácida y la solución toma un color amarillo. Cuando disminuye el CO₂, la solución es más alcalina de color púrpura brillante.

Deje como testigo sobre la mesa de trabajo un tubo con unos ml de la solución indicadora, cerrado con un tapón de goma.

PROCEDIMIENTO

1. Siguiendo las instrucciones del J.T.P. arme el siguiente dispositivo, sin colocar el NaOH ni la solución indicadora.
2. Coloque 100 mL de NaOH al 25%, recién preparado, en el frasco correspondiente.



3. Coloque semillas con 2 días de germinación en el frasco correspondiente. Agregue agua a una temperatura de 40 °C al vaso indicado, manteniéndola a una temperatura constante mediante la adición de agua fría o caliente. Haga lo mismo con temperaturas de 30 °C y 20 °C.
4. Mediante un aireador de pecera haga circular aire por el dispositivo en el sentido indicado. Regule el flujo de aire de manera que pueda observar nítidamente cada burbuja que se genere en el recipiente conteniendo el NaOH.
5. Interrumpa el flujo de aire y coloque 10 mL de una solución de la solución indicadora en el frasco correspondiente.

Resultados del T.P.: Efecto de la temperatura sobre la respiración.

Cuadro Nro. 1: Especie.....

Temperatura	Color final de la solución indicadora	Observaciones
20 °C		
30 °C		
40 °C		