

PRÁCTICAS DE FISIOLOGÍA VEGETAL

(Guiones elaborados por los profesores de prácticas)

PRIMER CUATRIMESTRE

Lugar: Laboratorio de docencia de Fisiología Vegetal
Departamento de Biología Vegetal

Los alumnos deberán traer:

- Bata de laboratorio
- Pinzas, bisturí, tijeras
- Trapo o toallitas
- Una patata grande
- Una cebolla
- Rotulador de vidrio

SEPARACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE PIGMENTOS DE CLOROPLASTOS

Introducción

En los cloroplastos se diferencian dos tipos de pigmentos:

Clorofilas: Son pigmentos fotosintéticos cuya estructura está constituida por un tetrapirrol cerrado con varios sustituyentes laterales (Figura 1). El anillo tetrapirrólico contiene un ión Mg^{2+} en el centro complejo con los nitrógenos de dicho núcleo y un sistema de dobles enlaces conjugados cuyos electrones son los responsables de la absorción de la radiación del espectro visible. En el anillo IV se encuentra unido el fitol, una cadena hidrocarbonada que forma un enlace éster con un propionilo del anillo. En las plantas existen dos tipos de clorofilas (a y b) que se diferencian en el sustituyente R en el ciclo II del anillo tetrapirrólico (Figura 1). Las clorofilas presentan máximos de absorción próximos a los 400 y 600 nm (Figura 3). Ninguna de ellas absorbe en el verde, lo que les da su color característico.

Carotenoides: Son moléculas hidrocarbonadas de 40 átomos de carbono. Los carotenoides que participan en la fotosíntesis son de dos tipos: tipo **caroteno** y tipo **xantofila** (Figura 2). Los carotenoides tipo **caroteno** constan exclusivamente de carbono e hidrógeno. Los carotenoides tipo **xantofila** contienen oxígeno además de carbono e hidrógeno. El sistema conjugado de dobles enlaces es el responsable de la absorción de luz en el espectro visible. Su espectro de absorción muestra máximos de absorción entre los 450 nm y 500 nm, correspondientes al azul y al verde (Figura 3), por lo que la luz roja-anaranjada-amarilla que reflejan les proporciona su color característico.

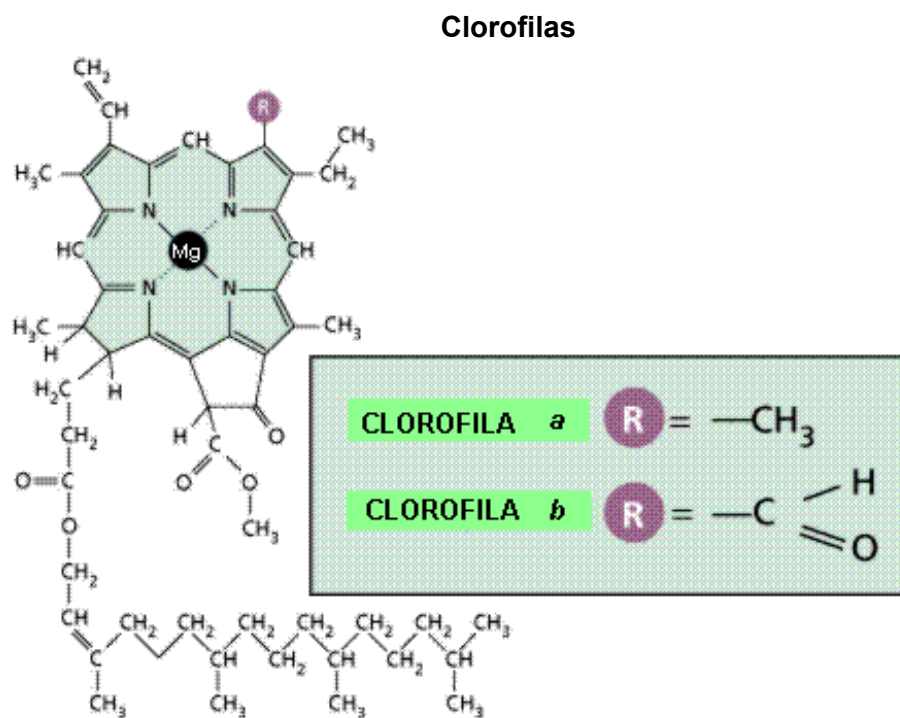


Figura 1. Estructura de la clorofila

Carotenoides

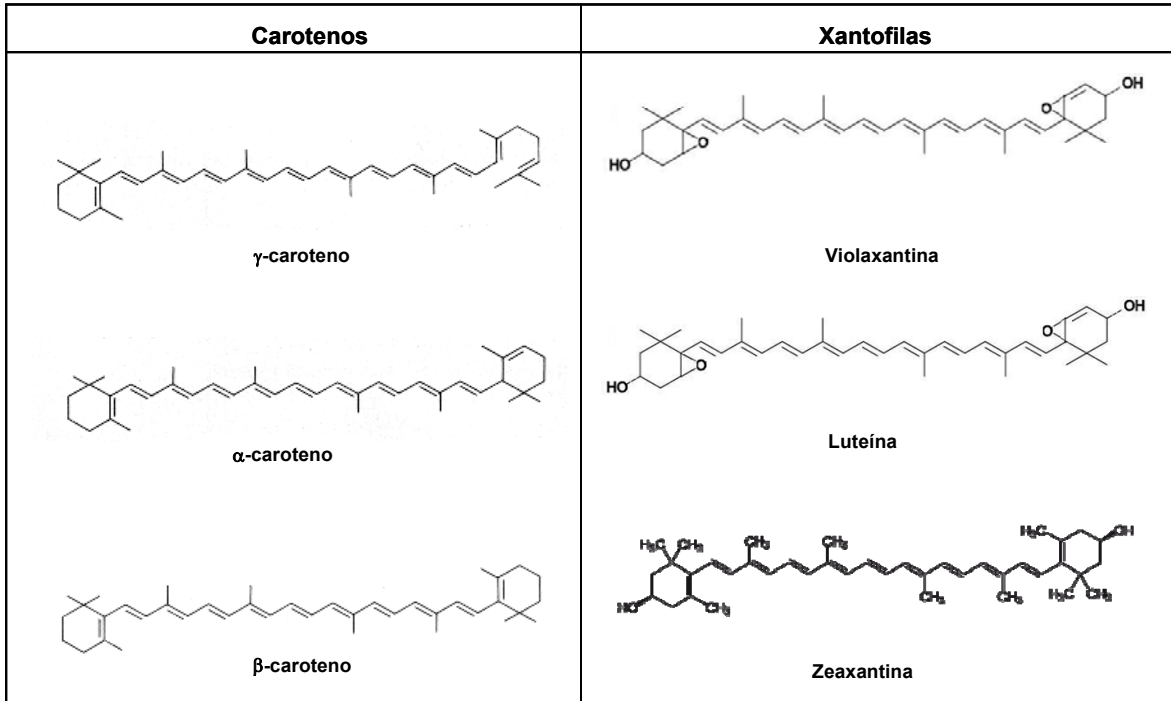


Figura 2. Estructura de algunos carotenoides

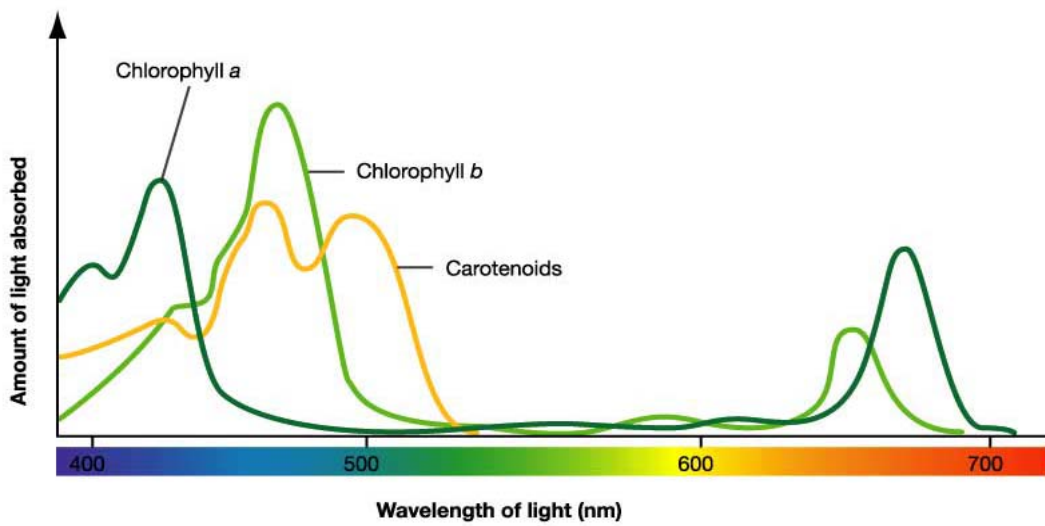


Figura 3. Espectro de absorción de algunos pigmentos fotosintéticos

PARTE 1.- Separación de pigmentos mediante cromatografía en papel

Objetivo y desarrollo de la práctica

El objetivo de la práctica es extraer y separar los diferentes tipos de pigmentos de cloroplastos por cromatografía en papel en función de su polaridad relativa. Una vez separados, se analizará su migración a lo largo de la fase estacionaria.

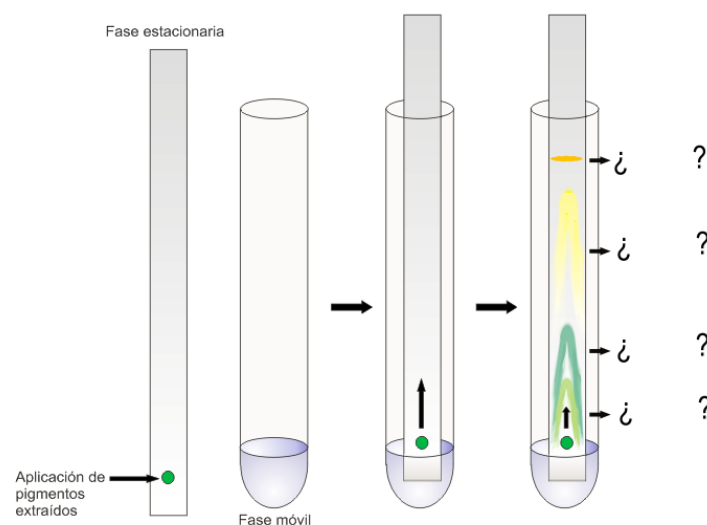
Extracción de pigmentos:

Comenzamos la experimentación con la extracción de los pigmentos de cloroplastos de 0.5 gramos de hojas frescas de espinacas o de cualquier otro material verde, con 5 ml de acetona al 80%, disgregando el tejido vegetal en un mortero, de modo que se extraigan los pigmentos y se disuelvan en acetona. Cuando la acetona está bien verde, el macerado se introduce en un tubo de centrifuga de plástico y se centrifuga a 2000 rpm durante 10 minutos. Después de centrifugar se obtiene un sobrenadante verde que contiene los pigmentos.

Realización de la cromatografía:

Se dispone de una tira de papel whatman nº1 (fase estacionaria) en la que se dibuja con lápiz una línea a 1-2 cm de uno de sus extremos. Sobre el centro de esta línea se deposita una gota pequeña del sobrenadante verde con una pipeta pasteur de vidrio. Esperamos a que se seque y aplicamos una nueva gota en el mismo punto de aplicación que la anterior, repitiendo la operación hasta añadir 7 a 8 gotas. Se introduce con cuidado la tira de papel con la muestra en un tubo de ensayo que contiene 2 ml de la fase móvil (acetona:éter de petróleo, 1:9 en volumen).

El extremo del papel que ha de quedar más próximo a la fase móvil es el que tiene la muestra. Esta no puede quedar sumergida en la fase móvil. Se deja durante unos 30 minutos en la oscuridad. Al cabo de este tiempo se saca la tira de papel del tubo, se seca y se analizan los resultados.



Nombre y Apellidos:.....

Grupo de Prácticas:.....

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Calcular la movilidad relativa de los distintos pigmentos.

Explicar razonadamente los resultados

PARTE 2.- Cuantificación de clorofilas

Objetivo y desarrollo de la práctica

El objetivo de esta parte de la práctica es extraer los pigmentos de cloroplastos de un material vegetal y determinar la cantidad de clorofila contenida en el mismo.

Extracción de pigmentos:

PROTOCOLO 1: Extracción con acetona

Extraer los pigmentos de cloroplastos de 0.5 g de hojas frescas de espinacas o de cualquier otro material verde, con 5 ml de acetona al 80%, disgregando el tejido vegetal en un mortero, de modo que los pigmentos salgan al exterior y se disuelvan en acetona. Cuando la acetona está bien verde, el macerado se introduce en un tubo de centrifuga de plástico y se centrifuga a 2000 rpm durante 10 minutos. Después de centrifugar se obtiene un sobrenadante verde que contiene los pigmentos. Ajustar el volumen final a 6 ml con acetona al 80%.

PROTOCOLO 2: Extracción con etanol

Extraer los pigmentos de cloroplastos de 0.5 g de hojas frescas de espinacas o de cualquier otro material verde cortando las hojas en segmentos de aproximadamente 0.5 cm que se introducen en un tubo de ensayo con 6 ml de etanol al 80% de modo que los segmentos queden bien sumergidos en el etanol. Incubar durante 20 minutos en un baño a 80° para que las clorofilas salgan al exterior y se disuelvan en el etanol. Al cabo de este tiempo los segmentos deberán quedar totalmente decolorados y el etanol queda de color verde.

Medida de clorofila:

Se toman 0.5 ml del sobrenadante de cada uno de los extractos y se diluye hasta 5 ml con acetona al 80% en la extracción con acetona (protocolo 1) y con etanol al 80% en la extracción con etanol (protocolo 2). Después se mide en un espectrofotómetro a longitudes de onda de 645 y 663 nm.

Para calcular las clorofilas totales aplicaremos la siguiente fórmula:

$$\text{Clorofila total } (\mu\text{g/ml o mg/l}) = (20.2 \cdot \text{DO}_{645}) + (8.02 \cdot \text{DO}_{663})$$

Nombre y Apellidos:.....

Grupo de Prácticas:.....

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Calcula los μg de clorofila que hay por gramo de hoja, extraída con cada uno de los protocolos.

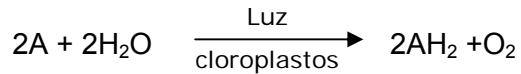
Compara los resultados obtenidos entre sí y con el resto de los grupos. ¿Qué protocolo te parece más adecuado para el tipo de material vegetal empleado? Razona tu respuesta.

Relaciona la fórmula utilizada para la cuantificación de clorofilas con los espectros de absorción de los pigmentos fotosintéticos.

REACCIÓN DE HILL

Introducción

En 1939, Robin Hill observó que, al iluminar una suspensión de cloroplastos en presencia de compuestos oxidados capaces de aceptar electrones se producía desprendimiento de oxígeno y reducción de estos aceptores según la reacción que lleva su nombre:



Este es el proceso que tiene lugar durante la fase lumínica de la fotosíntesis, en la que el aceptor de electrones es el $NADP^+$. De esta forma, el proceso de desprendimiento de O_2 en la fotosíntesis pudo ser separado del de la fijación de CO_2 .

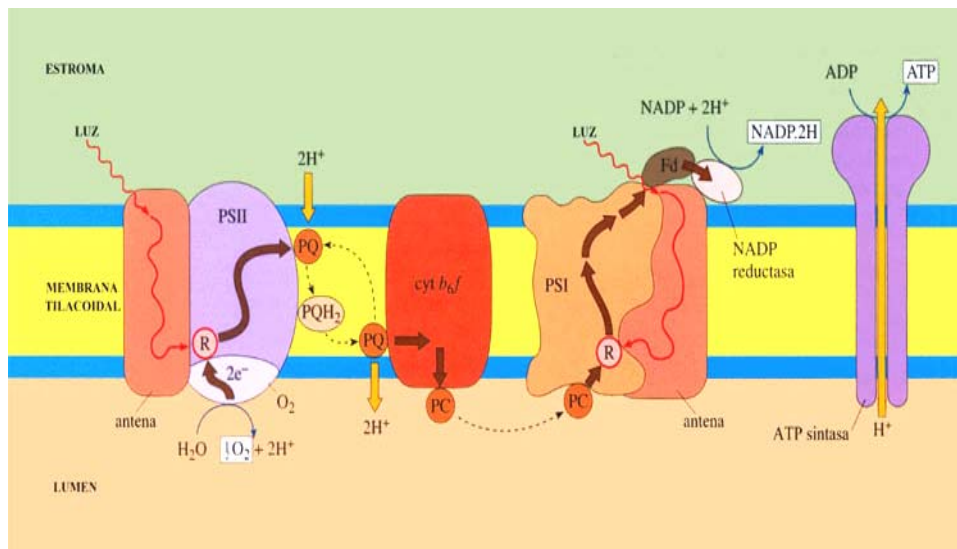
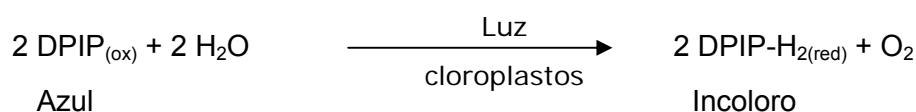


Figura 1.- Esquema del transporte electrónico fotosintético y fotofosforilación

Objetivo y desarrollo de la práctica

El objetivo de esta práctica es reproducir la reacción de Hill utilizando 2,6-diclorofenol indofenol (DPIP) como aceptor artificial de electrones y observar el efecto de diferentes factores sobre el transporte electrónico fotosintético. El DPIP, en las condiciones del experimento planteado, es azul en estado oxidado (forma quinónica) pero se decolora lentamente cuando se reduce (forma fenólica). La reacción que tiene lugar es la siguiente:



Sigue el protocolo siguiente:

Tomar 30 g de hojas de espinaca, lavarlas y secarlas. Cortar las hojas en trozos de aproximadamente 2 cm y añadirles 150 ml de tampón A (0.4M Sacarosa, 0.03M KCl, 0.02M Tricina pH 7.5) frío. Homogeneizar las hojas y filtrar a través de cuatro capas de gasa. El filtrado se reparte en tubos de centrifuga (10 ml por grupo) y se centrifuga a 2000 rpm durante 10 minutos. Se toma el precipitado (cloroplastos) y se descarta el sobrenadante con la mayoría de los componentes celulares. El precipitado de cada tubo se resuspende con una pipeta pasteur en un pequeño volumen de tampón A. Ajustar el volumen final de la suspensión a 5 ml. Un alícuota de 1 ml de esta suspensión se hierve. Otro alícuota de 1 ml se utiliza para preparar una dilución 1/3 con tampón A.

Prepara los siguientes tubos:

Tubos (Volúmenes en ml)	1	2	3	4	5
Tampón A	4.7	4.7	4.7	4.7	4.7
Cloroplastos sin tratar	0.3	0.3	0	0	0
Cloroplastos diluidos 33%	0	0	0.3	0	0
Cloroplastos hervidos	0	0	0	0.3	0
DCMU 50 μ M	0	0	0	0	0.3

Estos tubos se mantienen en frío y oscuridad hasta el momento de medir la reacción. Unos momentos antes de comenzarla, se atemperan a temperatura ambiente.

La reacción comienza al añadir 0.03 ml de DPIP 0.02% a cada tubo. Se sigue la variación de la absorbancia a 600 nm cada 2 minutos durante 10-12 minutos.

El tubo 1 se guardará en oscuridad y solo se realizará la lectura de absorbancia a tiempo 0 y a tiempo final.

El resto de los tubos estarán expuestos a un foco luminoso durante el transcurso de la reacción.

Nombre y Apellidos:.....

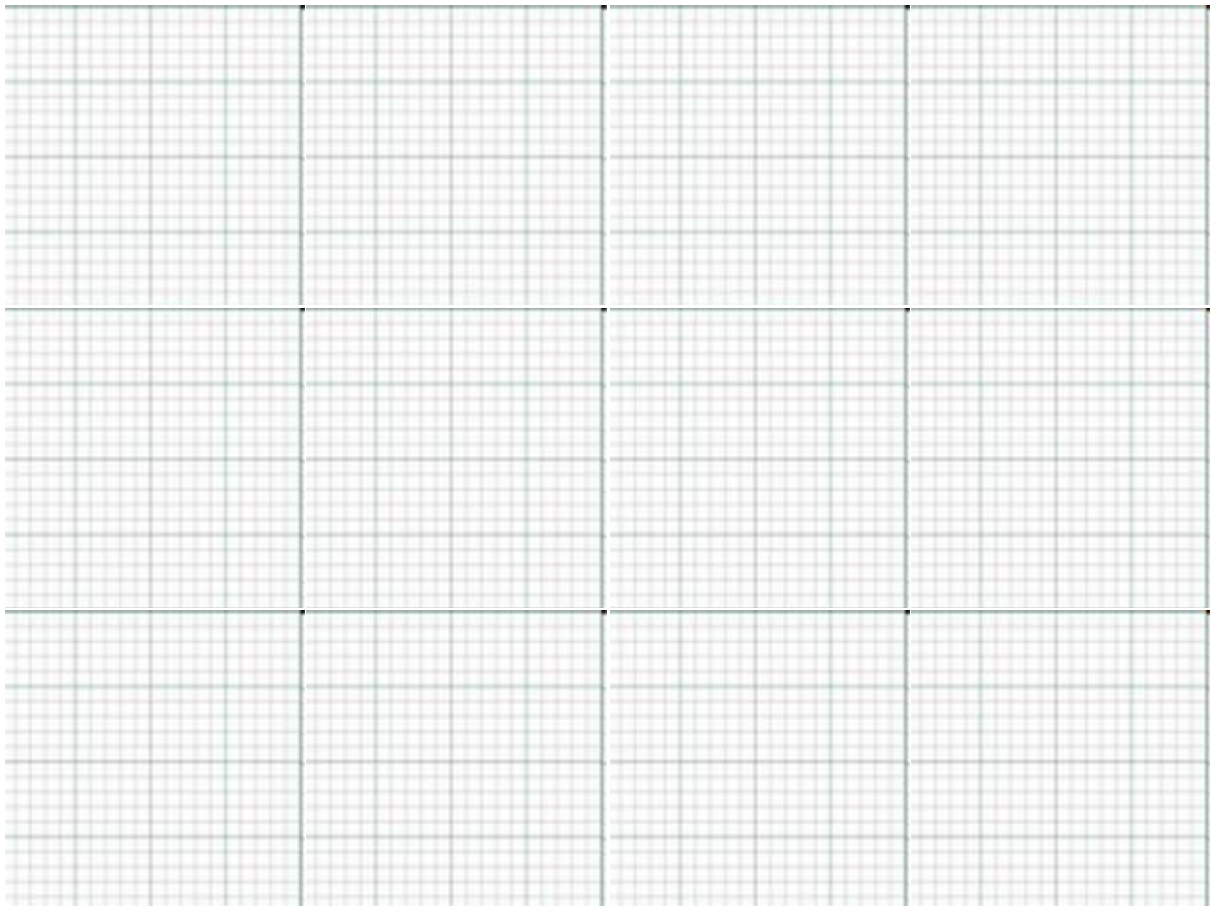
Grupo de Prácticas:.....

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Elabora una tabla en la que se representen todos los valores de absorbancia de cada uno de los tubos a tiempo 0, 2, 4, 6, 8 y 10 minutos.

Abs _{600nm}	0 minutos	2 minutos	4 minutos	6 minutos	8 minutos	10 minutos
Tubo 1		---	---	---	---	
Tubo 2						
Tubo 3						
Tubo 4						
Tubo 5						
Tubo 6						

Representa gráficamente los valores obtenidos para cada tratamiento, situando $\Delta\text{Abs}_{600\text{nm}}/\Delta\text{tpo}$ en el eje de ordenadas y el tiempo en minutos en el eje de abscisas. Dibujar todas las gráficas en el mismo papel milimetrado.



Explicar razonadamente los resultados

POTENCIAL HÍDRICO

Introducción

Los movimientos del agua dentro de una planta dependen de las diferencias de valor del potencial hídrico entre los distintos compartimentos. El potencial hídrico (Ψ) depende fundamentalmente del potencial osmótico (Ψ_o) y del potencial de presión (Ψ_p) de acuerdo con la fórmula:

$$\Psi = \Psi_o + \Psi_p$$

El valor de Ψ_o depende del contenido en solutos:

$$\Psi_o = - R \cdot T \cdot [\text{solutos}]$$

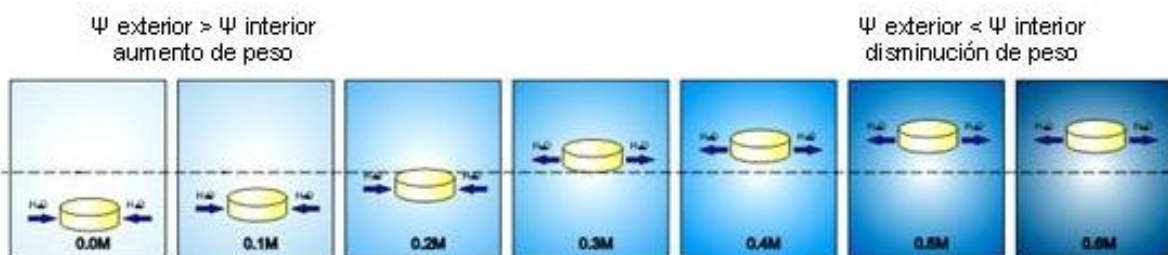
El valor de Ψ_p se corresponde con el de la presión a la que está sometida el agua:

$$\Psi_p = P$$

Se puede determinar el valor del potencial hídrico y de sus componentes en los tejidos vegetales mediante técnicas relativamente sencillas. El **objetivo** de esta práctica es determinar el valor del potencial hídrico y el del potencial osmótico utilizando dos tejidos vegetales.

Determinación del potencial hídrico en células de tubérculo de patata

Para determinar el valor del potencial hídrico en células de tubérculo de patata utilizaremos un método gravimétrico. Para ello, sumergiremos discos de patata en una serie de soluciones de sacarosa de concentración creciente, de modo que, en función de las diferencias de Ψ entre la solución externa y el interior de las células del disco, tenderá a entrar o a salir agua. Esto se traducirá en un incremento o una disminución del peso del disco, respectivamente, como se muestra en la figura:



La concentración de sacarosa con la que no se produzca variación en el peso tendrá un valor de Ψ igual al de las células de la patata.

Metodología

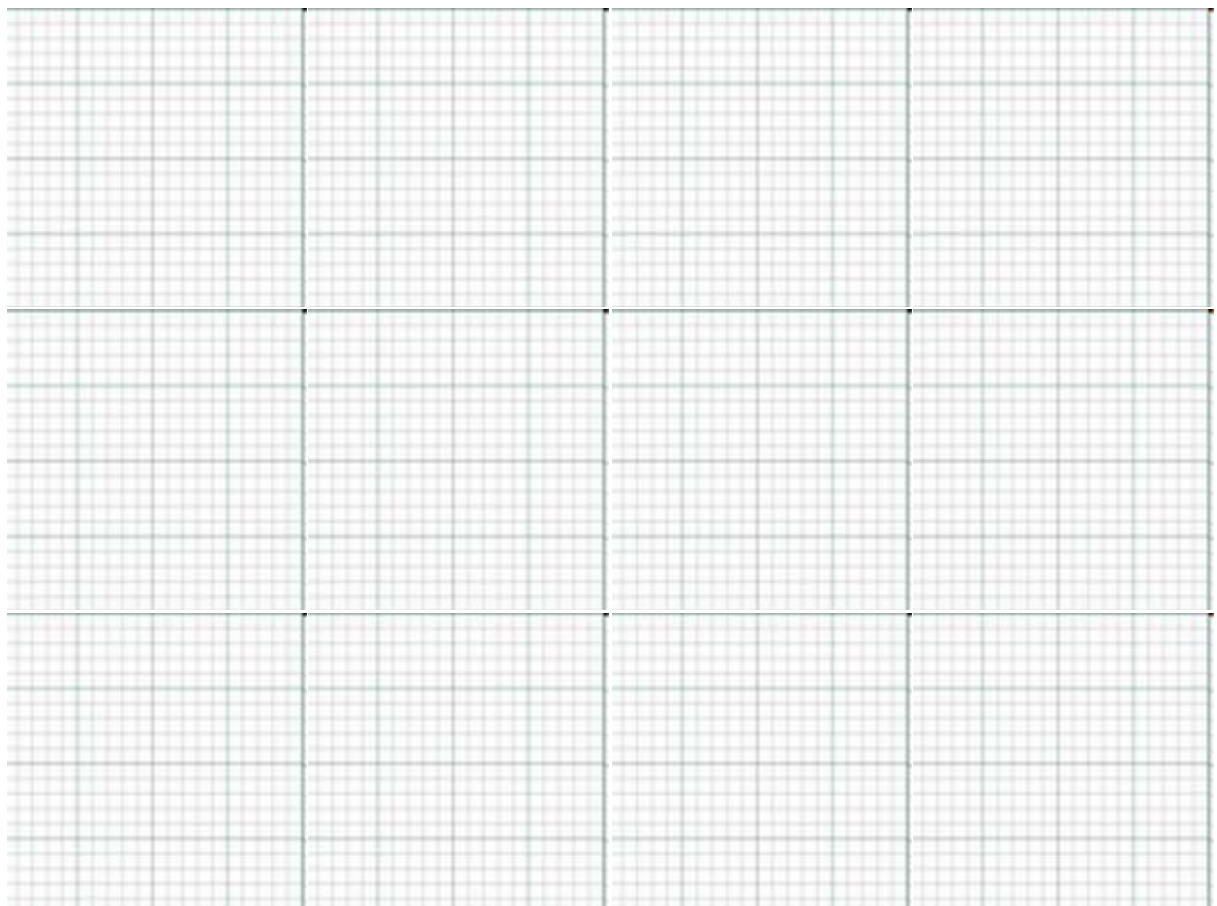
1. Preparar en placas Petri soluciones de sacarosa (20 mL de cada una) con concentraciones 0.0M, 0.1M, 0.2M, 0.3M, 0.4M, 0.5M y 0.6M. Para ello, se utilizará una solución de sacarosa 1M y agua destilada.
2. Utilizando un sacabocados, obtener cilindros de patata libres de capas suberizadas. A partir de los cilindros, cortar discos delgados de aproximadamente el mismo grosor (unos 2-3 mm). Hay que cortar 10-20 discos por cada disolución de sacarosa.
3. Pesar cada grupo de discos y anotar el valor como peso inicial.
4. Introducir cada grupo de discos en una de las disoluciones de sacarosa. Incubarlos a temperatura ambiente durante 1 hora.
5. Sacar los discos de cada disolución, secar su superficie ligeramente y pesarlos. Anotar el valor como peso final.
6. Representar gráficamente el incremento relativo de peso frente a la concentración de sacarosa.
7. Calcular el valor de Ψ para la concentración de sacarosa con la que no se produce variación neta de peso en la patata, teniendo en cuenta que:
 - Para la disolución, $\Psi_p = 0$
 - Expresando [sacarosa] en moles $\cdot m^{-3}$, el valor de Ψ_o se obtiene en pascales (Pa).
 - $R = 8.3143 J \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1}$
 - $T = 300 K$
8. Calcular el valor de Ψ para las células del tubérculo de patata.

Nombre y Apellidos:.....

Grupo de Prácticas:.....

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

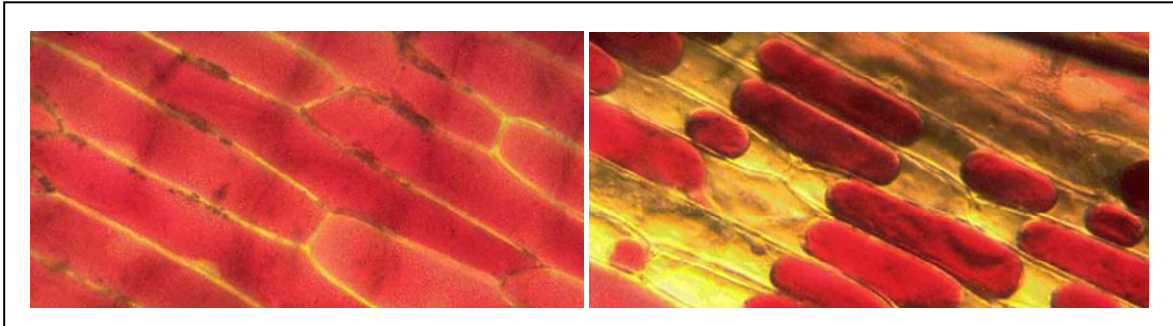
[Sacarosa]	Peso inicial	Peso final	Incremento relativo de peso
0.0M			
0.1M			
0.2M			
0.3M			
0.4M			
0.5M			
0.6M			



Cálculo del Ψ de las células de tubérculo de patata:

Determinación del potencial osmótico en células de cebolla

Para determinar el valor del potencial osmótico vamos a utilizar la epidermis interna de una hoja de bulbo de cebolla, que incubaremos en una serie de soluciones de sacarosa de concentración creciente. Como ocurría en el caso de la patata, en función de las diferencias de Ψ entre la solución externa y el interior de las células epidérmicas, tenderá a entrar o a salir agua. Cuando entra agua, aumenta la turgencia de las células; cuando sale, se contrae la vacuola y las células se plasmolizan:



Ψ exterior > Ψ interior:
Células turgentes

Ψ exterior < Ψ interior:
Células en plasmolisis

A concentraciones relativamente bajas de sacarosa, pero cuando el valor del Ψ exterior ya es inferior al del Ψ interior, se produce una pérdida leve de agua en la célula que no resulta en un cambio de volumen, sino en una reducción del valor de la presión del agua en su interior. Cuando el valor de Ψ_p llega a cero, se considera que las células se encuentran en un estado denominado **plasmolisis incipiente**. En esa situación, el valor de Ψ se iguala al de Ψ_o .

Consideramos que las células de epidermis de cebolla están en plasmolisis incipiente cuando el 50% de las mismas se encuentran plasmolizadas. La concentración de sacarosa con la que se produzca plasmolisis incipiente tendrá un valor de Ψ igual al del Ψ_o las células de cebolla.

Metodología

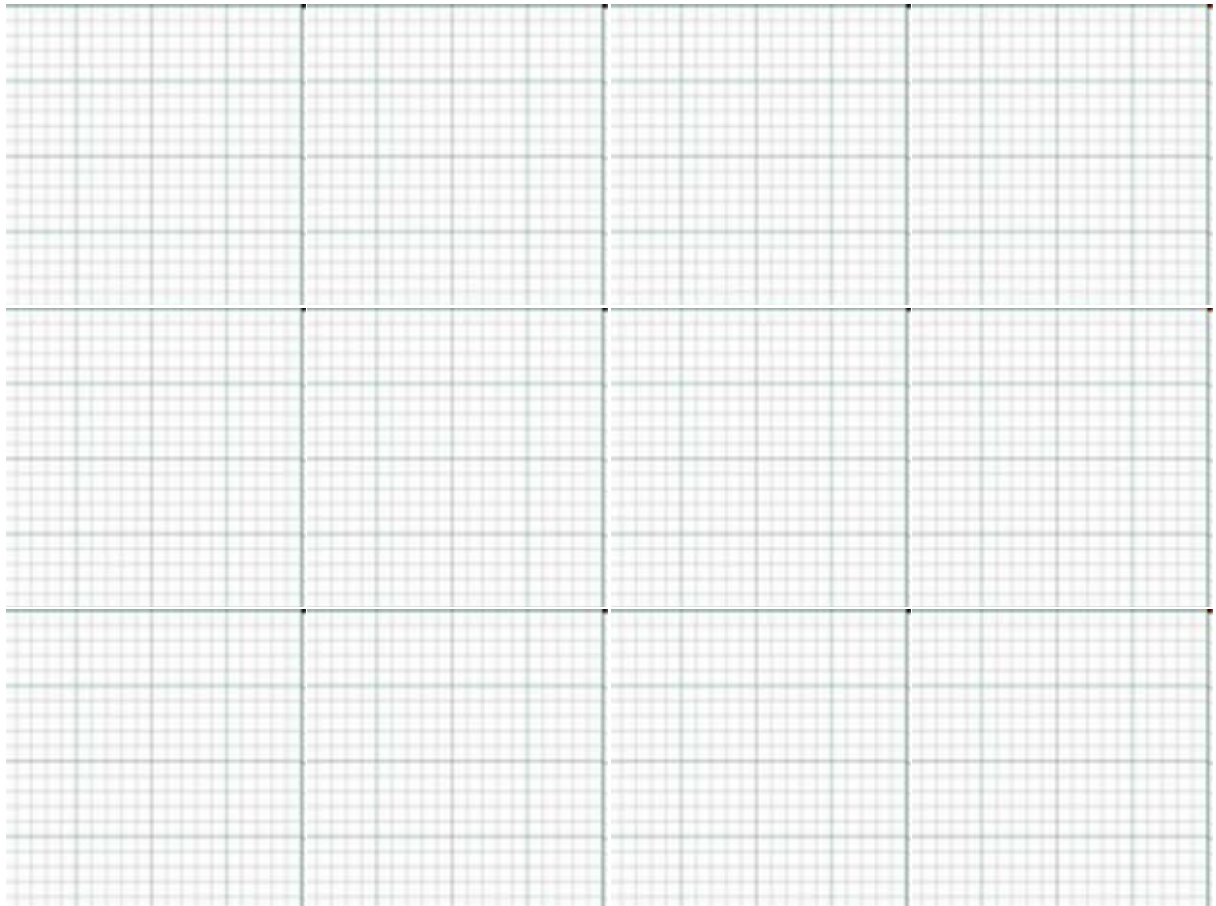
1. Preparar en tubos de ensayo soluciones de sacarosa (10 mL de cada una) con concentraciones 0.0M, 0.1M, 0.2M, 0.3M, 0.4M, 0.5M y 0.6M. Para ello, se utilizará una solución de sacarosa 1M y agua destilada.
2. Extraer la epidermis interna de la tercera hoja del bulbo de cebolla y cortar siete cuadraditos de 4-5 mm de lado.
3. Introducir los fragmentos de epidermis en las soluciones de sacarosa, cuidando que queden bien cubiertos. Incubarlos 1 hora.
4. Extraer los fragmentos de epidermis y colocarlos en portaobjetos con un poco del líquido en el que estaban sumergidos.
5. Observar 25 células y anotar cuántas aparecen turgentes y cuántas plasmolizadas. (Recomendación: comenzar por observar las muestras de 0.0M y 0.6M).
6. Representar gráficamente el porcentaje de plasmolisis frente a la concentración de sacarosa.
7. Calcular Ψ para la concentración de sacarosa con la que se produce plasmolisis incipiente.
8. Calcular el valor de Ψ_o para las células de epidermis de cebolla.

Nombre y Apellidos:.....

Grupo de Prácticas:.....

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

[Sacarosa]	Nº células plasmolizadas	% plasmolisis
0.0M		
0.1M		
0.2M		
0.3M		
0.4M		
0.5M		
0.6M		

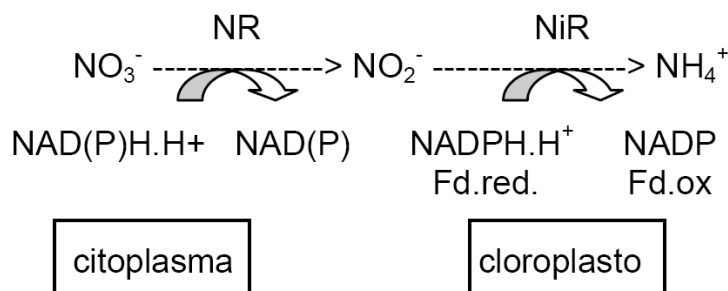


Cálculo del Ψ_0 de las células de epidermis de cebolla:

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD NITRATO REDUCTASA

Introducción

El nitrógeno que las plantas absorben en forma de nitrato se reduce a amonio en dos pasos sucesivos, catalizados respectivamente por los enzimas nitrato reductasa (NR) y nitrito reductasa (NiR) según el esquema:



El nitrato se absorbe principalmente del suelo a través de las raíces y, aunque puede ser reducido en las células de la raíz, en su mayor parte se transporta a las hojas, donde se reduce y se incorpora a aminoácidos. Las plantas responden a la disponibilidad de nitrato en el suelo modulando los niveles de actividad NR foliar.

Objetivo y desarrollo de la práctica

El **objetivo** de esta práctica es aprender a medir la actividad NR en hoja y estudiar el efecto de la disponibilidad de nitrato sobre la misma. Para ello, se partirá de hojas de plantas de cebada regadas con agua o con una solución de 1M KNO₃. La actividad NR se determinará cuantificando la cantidad de producto (NO₂⁻) formado a partir del sustrato (NO₃⁻).

Metodología:

- Cortar las hojas de cebada en trozos de 2 mm aproximadamente y pesar lotes de 0.1 g cada uno. Se harán 4 lotes en total:

Lote 1: cebada regada con agua
Lote 2: cebada regada con agua
Lote 3: cebada regada con KNO₃
Lote 4: cebada regada con KNO₃

Estas son las muestras sobre las que hará el ensayo.

- b) Poner cada lote en un tubo de ensayo y agregar a cada uno 5 ml de sustrato (9mM KNO_3 , en 0.1M tampón fosfato pH 7.5). Cada tubo se rotulará de la siguiente manera:

H_2O (O)	cebada regada con agua e incubación en oscuridad
H_2O (L)	cebada regada con agua e incubación en luz
KNO_3 (L)	cebada regada con KNO_3 e incubación en oscuridad
KNO_3 (O)	cebada regada con KNO_3 e incubación en luz

- c) Incubar los tubos durante 40 min en una cámara a 30°C. Los tubos rotulados con (O) se mantendrán en oscuridad envolviéndolos con papel de aluminio y los tubos (L) en la luz.
- d) Incubar a 80°C 10 minutos.
- e) Retirar de la cámara, tomar 1 ml de cada tubo y pasarlo a tubos nuevos marcados de nuevo como en (b).
- f) Agregar a cada tubo, en el siguiente orden: 1 ml de sulfanilamida y 1 ml de N-Naftil-etilendiamina.
- g) Preparar el blanco en un tubo (B) con: 1 ml de sustrato, 1 ml de sulfanilamida y 1 ml de N-Naftil-etilendiamina.
- h) Realizar una curva patrón para calcular la cantidad de nitrito producido en la reacción catalizada por la Nitrito reductasa. Para ello preparar los siguientes tubos:

	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5
nmoles de NO_2	0	20	50	100	200
0.5 mM NaNO_2	0 mL	0,04 mL	0,1 mL	0,2 mL	0,4 mL
H_2O	1 mL	0,95 mL	0,9 mL	0,8 mL	0,6 mL
1% sulfanilamida	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
0.02% N-naftiletildiamina	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL

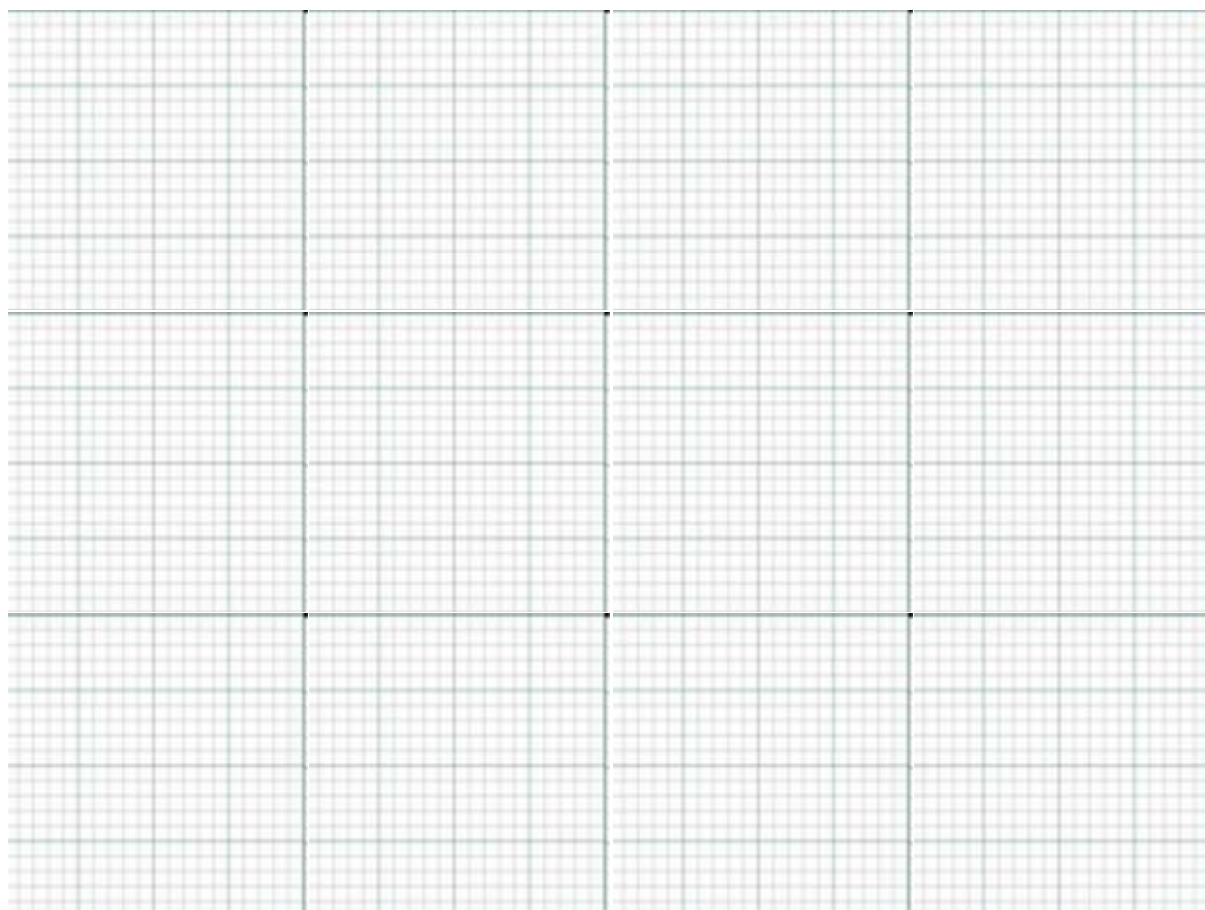
- i) Esperar 10 minutos y medir las absorbancias a 540 nm de los tubos de la curva patrón y los tubos problema, previo ajuste del cero del espectrofotómetro con el blanco (B) preparado en (f).
- j) Representar la absorbancia a 540 nm frente a los nmoles de nitrito para los tubos de la curva patrón.
- k) Por interpolación, determinar los niveles de actividad NR en los cuatro tubos problema. Una unidad de actividad NR se define como la cantidad de enzima que produce 1 nmol de nitrito por minuto.

Nombre y Apellidos:.....

Grupo de Prácticas:.....

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tubo	Curva patrón					H ₂ O		KNO ₃	
	1	2	3	4	5	O	L	O	L
nmoles de NO ₂									
Abs 540 mm									
Actividad NR									



Explica razonadamente los resultados obtenidos.

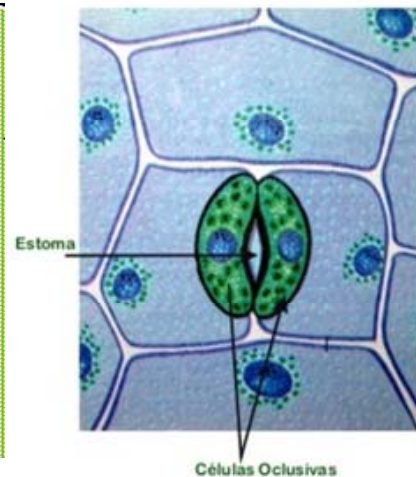
OBSERVACIÓN DE ESTOMAS Y MEDIDA DE LA TRANSPIRACIÓN

Introducción

La transpiración es la evaporación de agua desde la superficie de la planta. Tiene lugar principalmente en las hojas, que son las mayores superficies evaporantes expuestas a la atmósfera. En general, las plantas pierden por transpiración grandes volúmenes de agua. Por ejemplo, se ha determinado que ciertas variedades de maíz transpiran alrededor de 225 kg de agua para producir 1 kg de biomasa (materia seca). En principio, esta aparentemente excesiva pérdida de agua ocurre porque el CO₂, necesario para el proceso de fotosíntesis, se encuentra muy diluido en la atmósfera (0.03% en volumen) y los lugares por donde éste ingresa a la planta son los mismos por los cuales se pierde el agua desde la hoja, los estomas.

La epidermis foliar y los estomas

La epidermis es una capa o estrato simple de células que recubre enteramente la superficie foliar. Protege al tejido de la desecación y de los daños mecánicos. Está formada por varios tipos de células como las células epidérmicas tabulares típicas (no fotosintéticas), los pelos o tricomas y las células oclusivas de los estomas o células guardianas. Las células guardianas son arrañonadas y se encuentran unidas por los extremos pero se pueden separar por la parte central de la zona de contacto formando una abertura o poro denominado "ostíolo". El complejo formado por las células guardianas y el poro se denomina estoma. A menudo se aplica el término aparato estomático incluyendo también las células adyacentes, llamadas células accesorias ó subsidiarias.



La velocidad de la transpiración está relacionada con el grado de abertura de los estomas y con su ubicación y frecuencia. Además, la velocidad de transpiración depende de las condiciones ambientales en que se encuentra la planta como, por ejemplo, la disponibilidad de agua en el suelo, la temperatura y la velocidad del aire en contacto con la planta, la intensidad de luz, etc. En condiciones de baja disponibilidad de agua, la planta reduce la velocidad de transpiración mediante la síntesis de ácido abscísico (ABA), que provoca el cierre de los estomas.

Medición de la transpiración

Existen diversas metodologías que permiten estimar la velocidad de la transpiración. En las prácticas de Fisiología Vegetal se empleará el denominado “Método gravimétrico” para estudiar el efecto de diversos factores ambientales sobre la tasa transpiratoria.

El método gravimétrico consiste básicamente en pesar periódicamente, en balanza de precisión, una planta en maceta (con el suelo sellado para evitar pérdidas de agua desde el mismo) durante un periodo relativamente corto de tiempo (pocas horas). Se asume que todo cambio en el peso de la planta durante el intervalo de tiempo considerado se debe a la transpiración, comparada con la cual la incidencia de otros procesos es despreciable.

Objetivo y desarrollo de la práctica

Se va a determinar el efecto de la luz, la temperatura y la velocidad del aire sobre la tasa transpiratoria y el grado de abertura estomática en plantas que se encuentran bien provistas de humedad en el sustrato.

a) Medida de la transpiración

Cada grupo de trabajo dispondrá de 4 macetas, con plantas de 10 días de edad (con 1-2 hojas expandidas), mantenidas con riego por sub-irrigación hasta el día anterior a la práctica. Una de ellas se habrá incubado en oscuridad durante 24 horas. Antes de la primera pesada se debe cubrir con film transparente la maceta, incluyendo la superficie del sustrato expuesta al aire, para evitar pérdidas de agua por evaporación.

Después de registrar el peso inicial de cada maceta,

- una de ellas permanecerá en condiciones estándar de laboratorio (luz, 20°C),
- otra se expondrá a una corriente suave de aire dentro del laboratorio (luz, 20°C)
- otra se llevará a cámara cultivo, a 30°C y luz.
- Otra se mantendrá en oscuridad a 20°C.

Se seguirá la evolución del peso de cada maceta mediante medidas cada 30 min, hasta los 90 min. Las diferencias de peso observadas corresponderán a la masa de agua (g o ml de agua/90 min) transpirada en ese período. Representa gráficamente la evolución del peso de cada maceta, expresado en incremento relativo de peso ((peso – peso inicial)/peso inicial).

b) Observación del grado de abertura estomática

El grado de abertura estomática se va a estimar mediante observación directa al microscopio. Para ello, se obtendrán impresiones de la epidermis foliar de una planta bien regada y otra sometida a estrés hídrico.

Metodología:

- Depositar una capa de esmalte de uñas transparente sobre la superficie del envés de una hoja.
- En cuanto esté seco el esmalte, colocar encima un trozo de cinta adhesiva transparente y, con cuidado, despegarla arrastrando la capa esmalte (la impresión foliar).

- Pegar en un portaobjetos la cinta adhesiva con la impresión foliar y observarla al microscopio. Se obtendrá una imagen similar a ésta:

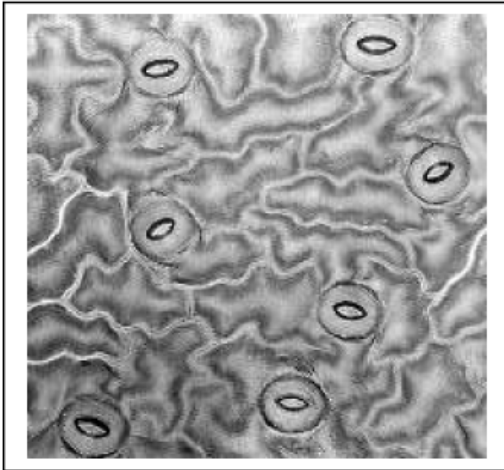


Imagen de una impresión de la epidermis de una dicotiledónea, obtenida con un microscopio óptico a 400x.

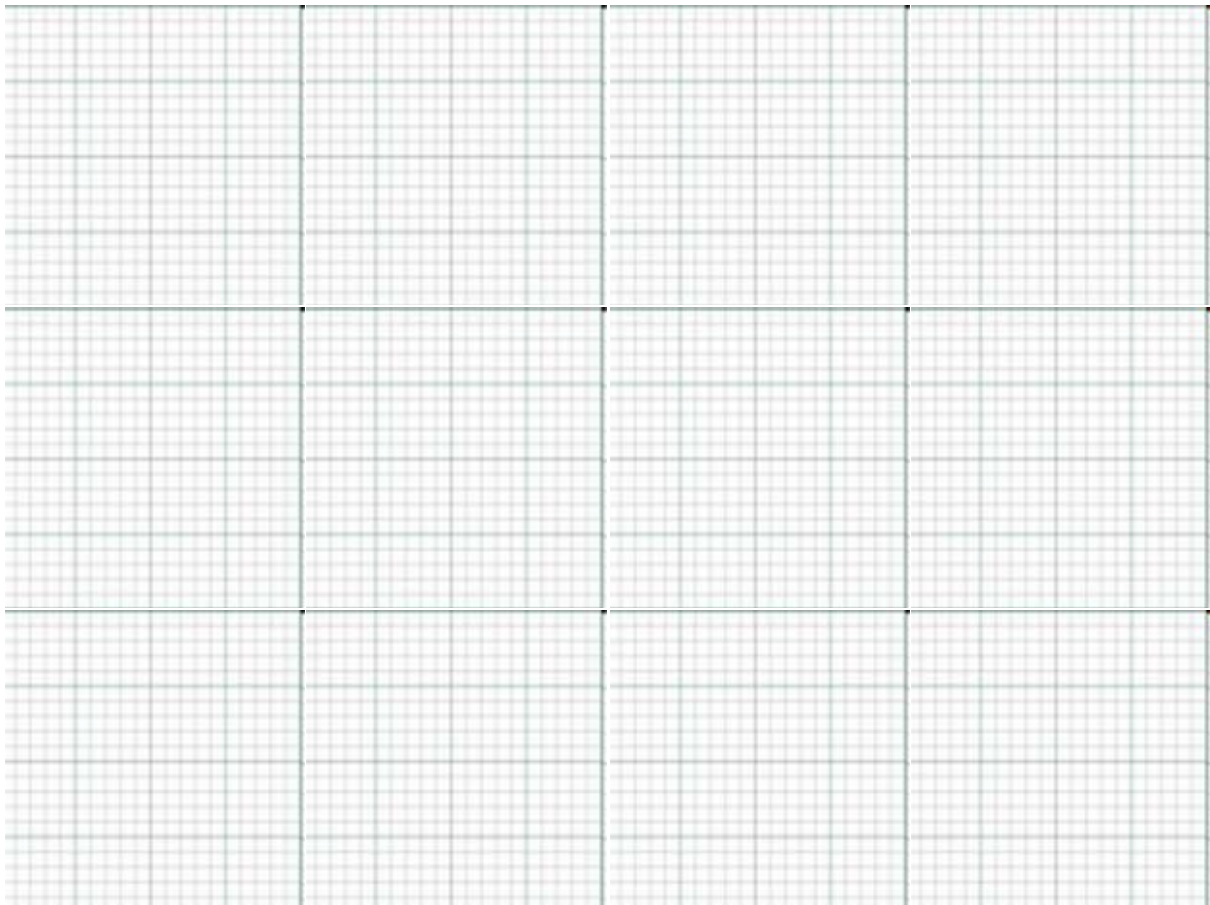
- Observar diez estomas y hacer un dibujo que represente el grado de abertura estomática en las dos plantas observadas.

Nombre y Apellidos:.....

Grupo de Prácticas:.....

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tratamiento	Incremento relativo de peso			
	0	30 min	60 min	90 min
1.- 20°C, luz, sin movimiento de aire				
2.- 20°C, luz, con movimiento de aire				
3.- 30°C, luz, sin movimiento de aire				
4.- 20°C, oscuridad, sin movimiento de aire				



Observación de estomas:

LUZ	OSCURIDAD
-----	-----------

Explica razonadamente los resultados obtenidos.