

Prácticas
de
Laboratorio

2022

Ecofisiología

Alvaro Barreto
Diana Aguilera
Gabriela Gaxiola



UNAM

ESCUELA
NACIONAL DE
ESTUDIOS
SUPERIORES

UNIDAD

MÉRIDA

I	Ecofisiología de Plantas	1
1.	Determinación del potencial hídrico	2

Parte I

Ecofisiología de Plantas

Determinación del potencial hídrico en tejido con el método gravimétrico

1.1. Introducción

El agua presenta un rol importante en la vida de la planta. Además, es considerada un nutriente porque es la forma en que las plantas absorben y asimilan los átomos de hidrógeno durante la fotosíntesis. Por otra parte, una de sus principales funciones es la de transporte, distribución de nutrientes, y metabolitos en la planta (Kirkham, 2014).

La principal magnitud que rige los movimientos del agua es el potencial químico (μ), esto es la variación de energía libre (ΔG) del agua en un punto a causa de los cambios en el volumen molar del agua. El potencial hídrico (Ψ) se deriva de el potencial químico, en otras palabras, Ψ es la cantidad de trabajo que hay que proporcionar a una unidad de masa de agua vinculada a los tejidos de una planta, para transformarla a un estado de referencia como es el agua pura (con similar presión atmosférica y temperatura) con su valor fijado en cero (Roger, 2001).

La conexión entre μ y Ψ es:

$$\Psi = \frac{\mu_w - \mu_w^*}{V}$$

Donde:

- Ψ = es el potencial hídrico y es expresado en unidades de presión como pascal;
- μ_w = el potencial químico del agua en el sistema bajo consideración;
- μ_w^* = potencial químico del agua pura a presión atmosférica y a la misma temperatura que el sistema en consideración;
- V = volumen molar del agua ($18 \text{ cm}^3/\text{mol}$), es decir, el volumen de un mol de agua.

Desde, Ψ es una expresión de estado de ΔG del agua, este es afectado por todos los factores en el cual cambian la ΔG o actividad química de las moléculas de agua.

En consecuencia Ψ es incrementado por: (1) desarrollo de presión hidrostática (turgencia); y (2) incremento de temperatura. Ψ es disminuido por: (1) adición de sólidos; (2) fuerzas mátricas que adsorben agua; (3) presión negativa; y (4) reducción de temperatura.

1.1.1. Componentes del potencial hídrico

El término potencial hídrico fue propuesto por Slatyer et al. (1960), en sus estudios de las relaciones planta-suelo-agua.

En un sistema particular, el potencial hídrico puede ser expresado como la suma de cuatro componentes:

$$\Psi = \Psi_p + \Psi_s + \Psi_m + \Psi_g$$

Donde:

- Ψ_p = potencial de presión. Es el resultado de la presión hidrostática en la célula, que ocurre cuando la presión celular equilibra la diferencia de potencial hídrico entre el ambiente que rodea a la célula y el citoplasma;

- Ψ_s = potencial osmótico. Es consecuencia a la presión de solutos disueltos, disminuye la energía del agua y siempre es negativo;
- Ψ_m = potencial mátrico. Es producto de fuerzas en las superficies de los sólidos. Su principal contribución es la fuerzas que retienen las moléculas de agua por capilaridad, adsorción e hidratación, en la superficie de las paredes celulares y el citoplasma;
- Ψ_g = componente gravitacional. Es producto de la diferencia en energía potencial como resultado de la diferencia en altura con el nivel de referencia. Por lo general aumenta 0.01 MPa/m por encima del nivel del suelo.

El potencial mátrico en las células por lo general su efecto es muy pequeño que puede ser ignorado, sin embargo, es particularmente importante en las primeras etapas de la absorción de agua por parte de las semillas secas (llamada imbibición) y cuando se considera el agua retenida en los suelos (Hopkins et al., 2009). El componente gravitacional suele ser considerado cuando se mide el movimiento en los árboles. Por lo tanto, el potencial hídrico puede ser definido como:

$$\Psi = \Psi_p + \Psi_s$$

En relación a la idea anterior, podemos replantear la fuerza motriz del movimiento de agua como el **gradiente del potencial hídrico** (Fig. 1.1), en otras palabras, el agua se desplazará de una región de Ψ menos negativo hacia una región de Ψ más negativa.

La forma de calcular Ψ_s para muchas soluciones biológicas es con la relación de van't Hoff:

$$\Psi_s = -CiRT$$

Donde:

- C = concentración de soluto expresada en moles
- i = constante de ionización, para la sacarosa es igual a 1

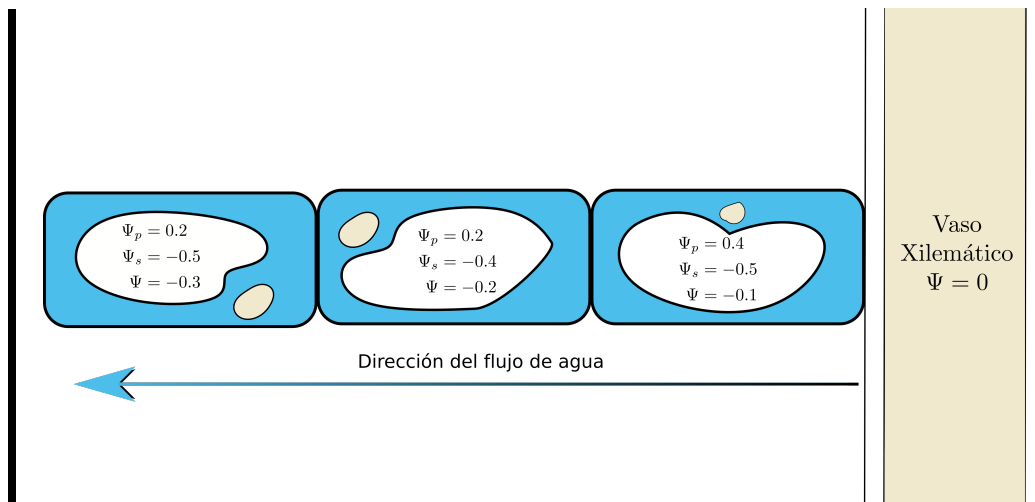


Figura 1.1: Diagrama en el que se ilustran las contribuciones del potencial osmótico (Ψ_s), el potencial de presión (Ψ_p) y el potencial hídrico (Ψ) al movimiento del agua entre las células (Adaptado de Hopkins et al. 2009). Los valores de Ψ se expresan en MPa.

- R = constante de gases, su valor es 0.00831 Kg MPa/mol/K
- T = Temperatura en grados Kelvin ($^{\circ}\text{C} + 273$)

1.1.2. Medición del potencial hídrico

El potencial hídrico para diferentes tejidos en plantas puede ser medido por los siguientes métodos:

1. Psicrométrico de termopares
2. Método de cámara de presión
3. Método gravimétrico
4. Método sonda de presión

1.1.3. Principio

Las células vegetales ajustan constantemente su estado hídrico a consecuencia de los cambios en el contenido de agua del entorno y a variaciones del estado metabólico. Cuando una célula se encuentra en un entorno isotónico, se puede decir que la célula se encuentra en **plasmólisis incipiente** (Fig. 1.2) que dicha condición el protoplasto apenas llena el volumen celular. En consecuencia, cuando una célula se encuentra en dicho estado el Ψ_p equivale a cero y el Ψ de la célula es igual al Ψ_s (Nobel, 2020). Cabe considerar, por otra parte que si la célula se encuentra en una solución hipotónica (agua destilada), es decir, una solución con menor contenido de solutos, debido a esto el agua entrará a la célula y provocará una dilución en el contenido vacuolar generando un mayor potencial de presión. El agua dejará de entrar a la célula cuando el Ψ_s y Ψ_p se equilibren, en consecuencia el potencial hídrico equivale a cero ($\Psi = 0$). Por otra parte, cuando la célula está sumergida en una solución hipertónica, es decir, una solución con mayor cantidad de solutos; el gradiente del Ψ favorece la pérdida de agua en la célula. Dicha condición se le conoce como plasmólisis generando que el protoplasto se separe de la pared celular.

De este modo cuando un tejido se sumerge en soluciones con potencial osmótico conocido estos cambiarán su peso, ya que el volumen celular cambia dependiendo de la concentración osmótica de la solución. Por lo tanto, en esta práctica vamos a conocer el potencial osmótico de la papa *Solanum tuberosum* para estimar el punto isosmótico.

1.2. Objetivo general

Determinar el potencial hídrico en papa *Solanum tuberosum*.

1.3. Objetivo específico

1. Determinar el peso de los tejidos en papa *Solanum tuberosum* con diferentes soluciones de sacarosa.
2. Evaluación del potencial hídrico en tejidos de papa *Solanum tuberosum*.

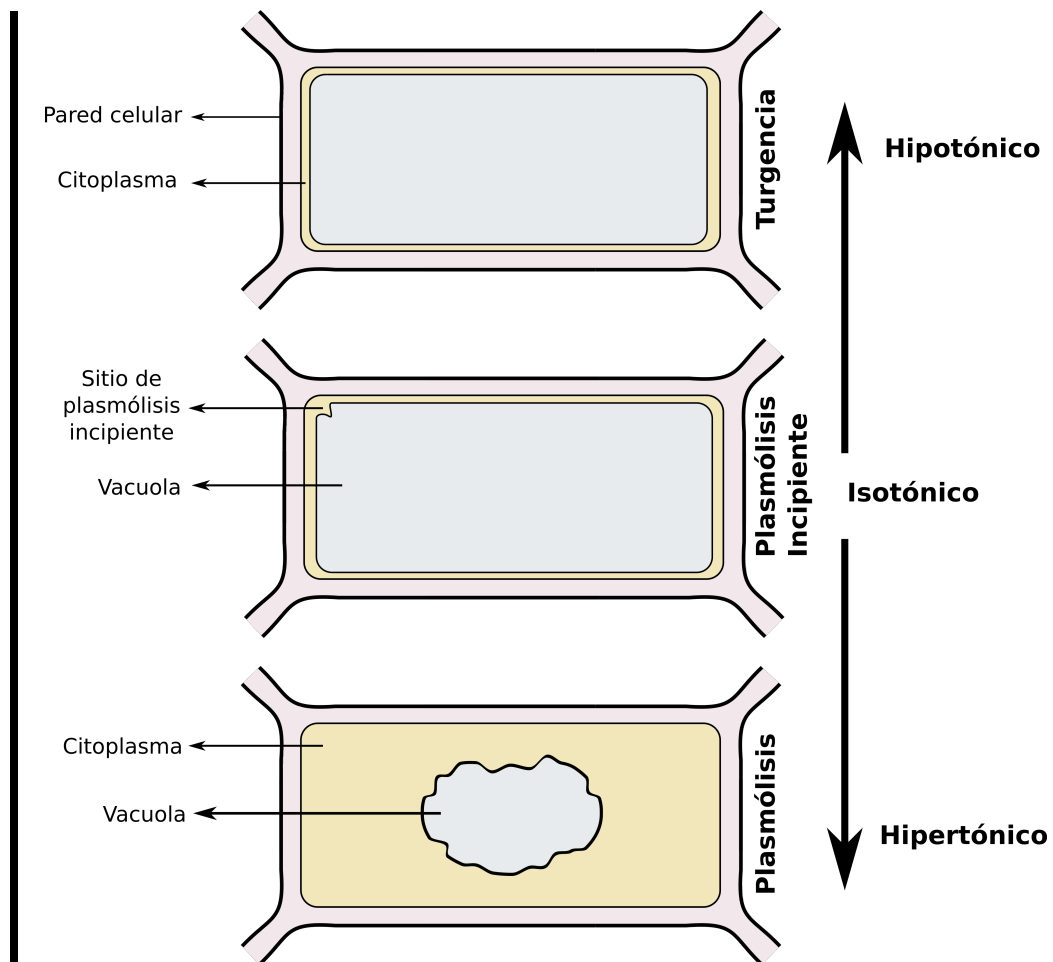


Figura 1.2: Estado de la célula cuando se encuentra en diferentes condiciones del medio extracelular.

1.4. Materiales

1.4.1. Material requerido

1. 10 tubos cónicos
2. Nueve vasos de precipitados
3. Piceta de agua destilada
4. Probeta de 100 mL

5. Cinta adhesiva
6. Agua destilada
7. Sacarosa (masa molecular 342.3 g/mol)
8. Azul de metileno
9. Papa

1.4.2. Material por grupo

1. Balanza analítica
2. Papel secante
3. Azul de metileno

1.5. Metodología

1.5.1. Preparación de reactivos

Necesitamos calcular la cantidad de sacarosa para preparar 100 mL de solución en las siguientes concentraciones molares ¹ : **0.05, 0.1, 0.2, 0.25, 0.3, 0.4, 0.5, 0.7, 0.8 M.**

El peso molecular de la sacarosa es de 342.3 g/M. Por lo tanto, primero calculamos cuántos gramos se necesitan para obtener 1 L de solución a 0.05 M.

¹Una solución 1 molar (1 M) contiene el peso molecular de una sustancia (en gramos) por 1L de solución.

Lo resolvemos por una simple regla de tres:

$$\frac{342,3 \text{ g}}{1 \text{ M}} = \frac{x \text{ g}}{0,05 \text{ M}}$$

Se obtiene:

$$x \text{ g} = \frac{342,3 \text{ g}}{1 \text{ M}} \times 0,05 \text{ M} = 17,12 \text{ g}$$

Por tanto, para preparar 1L de sacarosa a 0.05M, se requiere 17.12g sacarosa.

Establecemos una segunda regla de tres para calcular la cantidad de sacarosa necesaria para preparar 100 mL de un solución 0.05 M.

$$\frac{17,12 \text{ g}}{1000 \text{ mL}} = \frac{x \text{ g}}{100 \text{ mL}}$$

Resolviendo la expresión:

$$x \text{ g} = \frac{17,12 \text{ g}}{1000 \text{ mL}} \times 100 \text{ mL} = 1,71 \text{ g}$$

Por lo tanto, para preparar 100 mL de una solución de sacarosa a 0.05 M, se necesita disolver 1.17 g de sacarosa en un volumen final de 100 mL de agua destilada.

Para las siguientes concentraciones los pesos estimados son:

0.05 M = 1.71 g	0.25 M = 8.56 g	0.5 M = 17.12 g
0.1 M = 3.42 g	0.3 M = 10.27 g	0.7 M = 23.96 g
0.2 M = 6.85 g	0.4 M = 13.69 g	0.8 M = 27.38 g

1.5.2. Procedimiento

- Tomar 10 secciones homogéneas de un tubérculo de papa (Ver la figura 1.3).
- Pesar cada sección en la balanza analítica (peso inicial).
- Introduzca una sección por cada concentración de sacarosa y agregar una gota de azul de metileno. Dejar incubar por 45 minutos.
- Después del tiempo de incubación, remover las secciones y secar el exceso de solución con papel absorbente.
- Pesar las secciones de papa en el orden que fueron colocadas.
- Anotar los datos en el cuadro 1.1 y calcular el porcentaje de cambio en peso de cada muestra.

1.6. Resultados

Cuadro 1.1: Datos de cambio de peso en porciones de papa incubadas en diferentes soluciones de sacarosa.

Solución sa- carosa (M)	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Δ peso [†] (g)	Porcentaje Δ peso [‡]
0.00				
0.05				
0.10				
0.20				
0.25				
0.30				
0.40				
0.50				
0.70				
0.80				

[†] Δ peso = Peso final - Peso inicial.

[‡] Porcentaje Δ peso = Δ peso / Peso inicial \times 100

- Elaborar un gráfico (fig. 1.4) del porcentaje de cambio en peso del tejido en función de la concentración de sacarosa (M).
- Determinar la concentración de sacarosa en la cual no se presentó un cambio en el peso del tejido.
- Calcular el Ψ_s de la solución con la ecuación de van't Hoff.

1.7. Cuestionario

1. ¿De que forma el concepto de potencial hídrico ayuda a explicar los movimientos de agua en los tejidos vegetales?
2. Cuando una célula está totalmente turgente, ¿cuál de las siguientes opciones equivale a cero?
 - Potencial osmótico
 - Potencial hídrico
 - Presión de turgencia

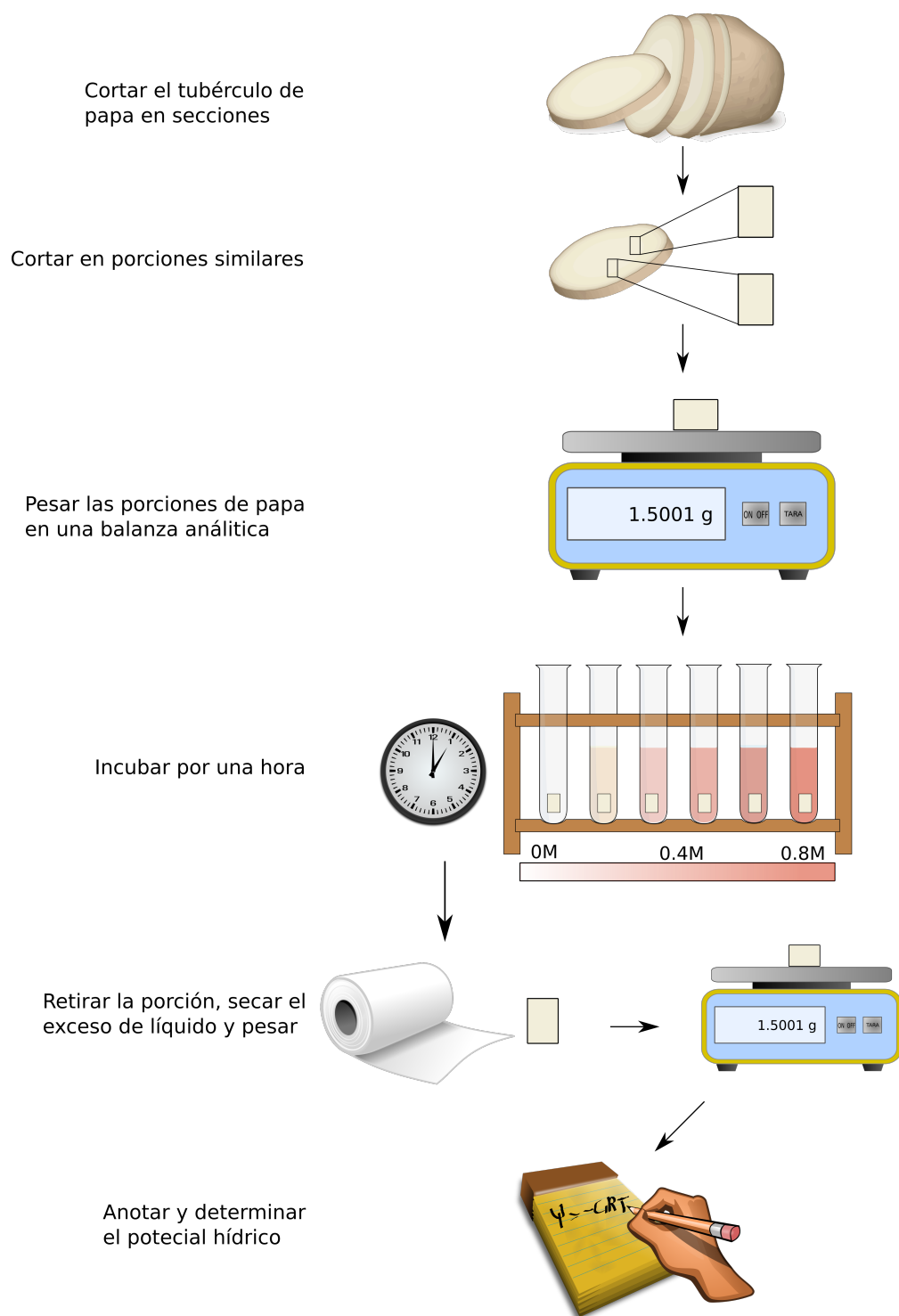


Figura 1.3: *Diagrama de procedimientos para el método volumen/peso para la determinación del potencial hídrico en tejido de papa.*

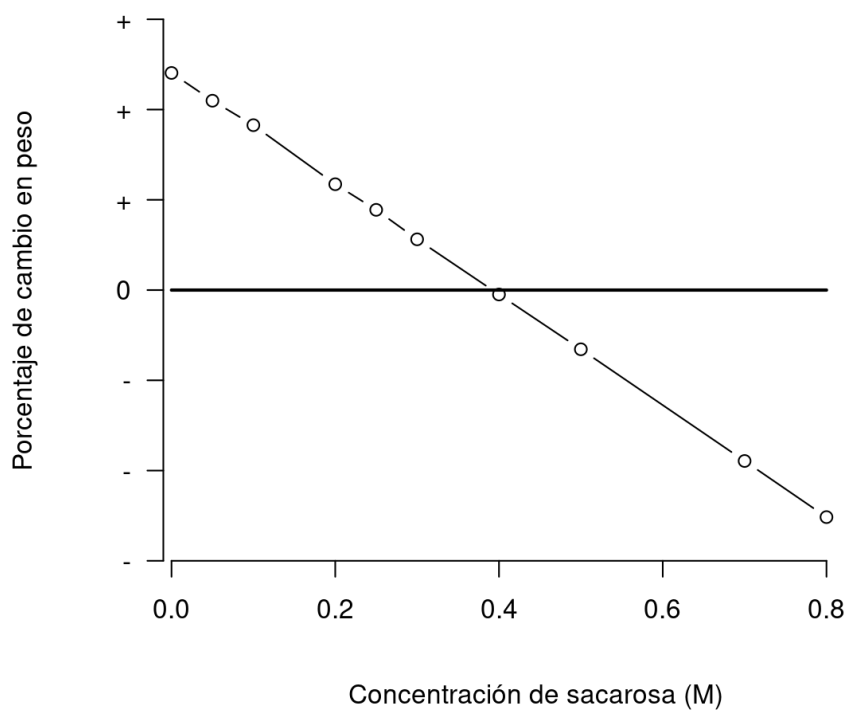


Figura 1.4: *Representación del cambio en peso en función de la concentración de sacarosa.*

- Dürr, C., Dickie, J. B., Yang, X.-Y., and Pritchard, H. W. (2014). Literature references and germination trait values for different group of plant species. Supplement to: Dürr, C et al. (2014): Range of critical temperature and water potential values for the germination of species worldwide. *Agricultural and Forest Meteorology*, 200, 222-232, <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2014.09.024>.
- Hopkins, W. G. et al. (2009). Introduction to plant physiology. John Wiley & Sons.
- Kirkham, M. B. (2014). Principles of soil and plant water relations. Academic Press.
- Nobel, P. S. (2020). 9 - plants and fluxes. In Nobel, P. S., editor, Physicochemical and Environmental Plant Physiology (Fifth Edition), pages 491–569. Academic Press, San Diego, fifth edition edition.
- Roger, M. J. R. (2001). Handbook of plant ecophysiology techniques. Springer.
- Slatyer, R., Taylor, S., et al. (1960). Terminology in plant-and soil-water relations. Nature, London, 187:922–924.