

## PRÁCTICAS DE FISIOLÓGÍA VEGETAL

### OBSERVACIÓN DE SÍNTOMAS DE DEFICIENCIA DE NITRÓGENO A TRAVÉS DEL CULTIVO DE PLANTAS DE GUISANTE (*Pisum sativum*) EN SOPORTE INERTE

#### 1. INTRODUCCIÓN

En la presente práctica utilizaremos el cultivo en soporte inerte como medio para observar algunos de los efectos que la falta de N tiene sobre la planta objeto de estudio, el guisante. Para ello, cultivaremos plantas en dos medios con diferente composición:

- a) Medio completo. En él están presentes todos los elementos esenciales para la planta
- b) Medio carente de N. En él están presentes todos los elementos esenciales excepto el N.

El objetivo es poder comparar las características de crecimiento y desarrollo de plantas con deficiencia de N y plantas crecidas en solución que contiene todos los elementos necesarios para completar su ciclo vital

#### 3. MATERIAL

- Guisantes de siembra
- 2 macetas para cada grupo de alumnos
- Soluciones madre de macro (a, b y c) y micronutrientes (d y e)
- pH-metro
- Agitador magnético
- Perlita o vermiculita
- Agua destilada
- Soluciones de ClH y NaOH para ajustar pH

#### 2. METODOLOGÍA

##### 2.1. Siembra y germinación de semillas de guisante.

Cada grupo de dos alumnos preparará 2 macetas. Para ello, lo primero es practicarles uno o varios orificios de drenaje. A continuación se llenarán con perlita o vermiculita y se les añadirá agua destilada hasta el punto de saturación (entre 80 y 100 ml). El siguiente paso es sembrar 5 semillas de guisante en cada una de las 2 macetas y rotular una de ellas como N<sup>+</sup> (con nitrógeno) y otra como N<sup>-</sup> (sin nitrógeno). Se mantendrán a unos 25°C hasta que germinen. Periódicamente se les añadirá agua destilada para evitar que se sequen pero permitiendo un buen drenaje que impida el encharcamiento.

##### 2.2. Cultivo hidropónico

Tras la germinación, y cuando las plántulas hayan desplegado el primer par de hojas, se les eliminan los cotiledones y se cultivan en soluciones diferenciales (la maceta N<sup>+</sup> se regará con solución completa y la maceta N<sup>-</sup> con solución carente de N). Las macetas se regarán periódicamente con la solución nutritiva.

**Nota.** Cuando se riega se debe procurar que la perlita quede húmeda pero que no salga agua por el orificio de drenaje

##### 2.2.1. Composición y preparación de los medios de cultivo N<sup>+</sup> y N<sup>-</sup>.

Ambas se preparan a partir de 5 “soluciones madre”. La composición de estas soluciones figura en la **Tabla 1**.

**Tabla 1.** Composición de las soluciones madre de macro (a, b y c) y micronutrientes (c y d). Diluyendo estas soluciones madre, se preparan las que se utilizarán para regar las macetas.

Solución	Composición	Concentración	PM	g/ l solución
<b>a</b>	CaCl <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O	0.1 M	147.02	14.702
	KCl	0.067 M	74.56	0.5
<b>b</b>	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> . 4H <sub>2</sub> O	0.1 M	236.15	23.615
	KNO <sub>3</sub>	0.056 M	101.10	5.66
<b>c</b>	Mg(SO <sub>4</sub> ). 7H <sub>2</sub> O	0.1 M	246.48	24.648
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.1 M	136.09	13.609
<b>d</b>	FeCl <sub>3</sub> . 6H <sub>2</sub> O	3 X 10 <sup>-2</sup> M	270.30	8.2
	EDTA. Na <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O	1.5 X 10 <sup>-2</sup> M	372.24	5.58
<b>e</b>	BO <sub>3</sub> H <sub>3</sub>	4 X 10 <sup>-2</sup> M	61.83	2.5
	MnCl <sub>2</sub> . 4H <sub>2</sub> O	7.6 X 10 <sup>-3</sup> M	197.90	1.5
	ZnCl <sub>2</sub>	7.3 X 10 <sup>-4</sup> M	136.28	0.1
	CuCl <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O	2 X 10 <sup>-4</sup> M	170.48	0.05
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> . 2H <sub>2</sub> O	2 X 10 <sup>-4</sup> M	241.95	0.05

La preparación de los medios N+ y N- a partir de las soluciones madre se muestra en la **Tabla 2**.

**Tabla 2**

ml de soluciones madre y de agua destilada que hay que adicionar por cada litro de medio que se desea preparar						
	<b>A</b>	<b>b</b>	<b>c</b>	<b>d</b>	<b>e</b>	<b>H<sub>2</sub>O destilada</b>
<b>N+</b>	-	30	20	10	1	Completar a 1 l
<b>N-</b>	30	-	20	10	1	Completar a 1 l

Una vez preparadas las soluciones según se indica en la **Tabla 2**, se debe ajustar el pH a 5.8. Para ello, se adicionará NaOH o ClH según que el pH sea menor o mayor que el deseado.

### 3. RESULTADOS

Durante el período de cultivo (3 ó 4 semanas) se harán observaciones semanales en las que se anotarán datos de las plantas en cada una de las dos macetas. Estos datos pueden incluir: n° de hojas/planta, altura media de las plantas, longitud de los entrenudos, aspecto general, coloración y todos aquéllos datos que el alumno considere de interés.

Cuando se de por terminado el cultivo, se determinará el contenido de proteínas de las plantas cultivadas en cada uno de los dos medios (N+ y N-)

Los resultados que se hayan obtenido y su discusión, se presentarán como un trabajo práctico de clase, bien de modo individual, bien en grupo.