



Semillas de maíz (*Zea mays*)

Imagen tomada de: <http://1.bp.blogspot.com/-7VZdesY0jlc/Tzp212qs84I/AAAAAAAABE4/8OIXvKD4rn8/s1600/esta+1.jpg>

PRÁCTICA DE LABORATORIO:

“OBSERVACIÓN DE REACCIONES REDOX EN LA RESPIRACIÓN DE LAS SEMILLAS DE MAÍZ (*Zea mays*) UTILIZANDO TTC”

En Apoyo al Programa de Biología I (2016)

Unidad 2. ¿Cuál es la unidad estructural y funcional de los sistemas biológicos?

Subtema: Transformación de energía

Diseñaron:

Ma. del Carmen Corona Corona (Plantel Azcapotzalco)

Sandra Saitz Ceballos (Plantel Sur)

Juan Manuel García Maldonado (Plantel Sur)

Ma. Emilia Martínez Velásquez (Plantel Sur)

Modificó: Ma. Elena Dávila Castillo (Plantel Naucalpan)

2017



Introducción

La germinación de las semillas es un proceso biológico que tiene como consecuencia el desarrollo de una nueva planta. Para que se realice este fenómeno, es necesario que la semilla, la cual se encuentra en estado de latencia (viable), recupere su actividad metabólica máxima. La semilla recupera su actividad metabólica, al entrar en contacto con el agua e hidratarse, lo cual propicia un incremento en la respiración para la síntesis de energía química (ATP); además participan otros factores externos como: humedad, temperatura y oxígeno principalmente.

Toda vez que las células embrionarias se han hidratado y con ello la maquinaria enzimática funcione de manera óptima, el metabolismo basal se incrementa en función del tiempo de **imbibición (entrada de agua a la semilla)**, por lo que las sustancias de reserva son movilizadas del endospermo o de los cotiledones hacia el embrión, para que se oxiden los carbohidratos en la glucólisis, ciclo de Krebs y fosforilación oxidativa. En esta última etapa se realizan reacciones de óxido-reducción, interviniendo en ellas moléculas como el NADH y el FADH₂, que transfieren los electrones vía citocromos hasta el oxígeno, el cual actúa como último aceptor de electrones en la respiración, generando agua como producto final de desecho.

Es importante determinar el grado de viabilidad de las semillas, ya que en la agricultura se requiere contar con semillas que garanticen el máximo de germinación para obtener una cosecha suficiente. Para determinar la viabilidad de las semillas, se utilizan varios métodos, siendo uno de ellos la reducción del 2,3,5-trifenil tetrazolium (TTC). Este método se basa en la activación del metabolismo oxidativo por parte de las células embrionarias y evidenciando la actividad de óxido-reducción al agregar TTC oxidado (2,3,5-trifenil formazán), mismo que debido a su potencial redox ($E'_{\square} = -0.08 \text{ V}$) entra en la cadena de transporte de electrones en la cresta mitocondrial, un paso previo al citocromo "C", quedando reducido, y observando un precipitado de color rosa-rojo, dependiendo del grado de reducción.

Objetivos

El alumno:

- Demostrará que durante la respiración de los embriones de semillas de maíz se reduce el TTC debido a un proceso de óxido-reducción.
- Aplicará habilidades, actitudes y valores para la obtención, comprobación y comunicación del conocimiento, al llevar a cabo investigaciones escolares sobre la transformación de energía en los sistemas biológicos.

Hipótesis



Por equipo plantear lo que va a suceder cuando se agregue TTC a las semillas de maíz a diferentes tiempos de imbibición (1, 2, 4, 6 y 8 días).

Materiales, Sustancias y Equipo

Materiales

- 5 Cajas de Petri con papel filtro
- Navaja o cúter
- Gotero

Material Biológico

- 100 semillas de maíz previamente embebidas (remojadas) a diferentes tiempos, de acuerdo a los siguientes lotes (cada lote con 20 semillas cada uno): Lote A (1 día), lote B (2 días), lote C (4 días), lote D (6 días) y lote E (8 días)

Sustancias

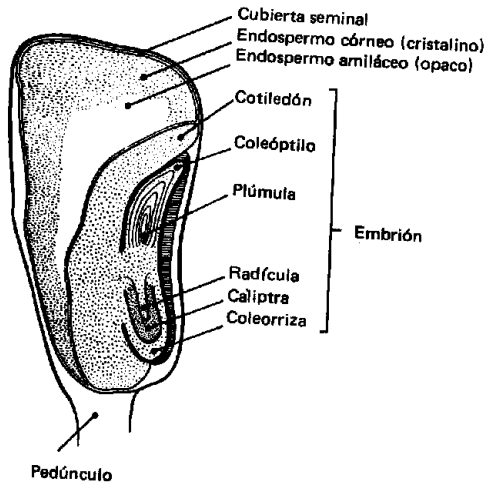
- 2,3,5-trifenil tetrazolium (TTC) al 0.1 %
- Hipoclorito de sodio al 1%
- Agua destilada

Equipo

- Microscopio estereoscópico

Procedimiento

1. Lavar las semillas para cada uno de los lotes con hipoclorito de sodio 1% durante 20 minutos y enjuagar tres veces con agua.
2. Preparar 5 lotes con 20 semillas de maíz por caja Petri, y agregar 100 ml de agua destilada a cada lote experimental. Lote A (1 día), lote B (2 días), lote C (4 días), lote D (6 días), lote E (8 días). Después del tiempo transcurrido seleccionar diez semillas de cada lote.
3. Las semillas se cortan longitudinalmente en dos mitades, con la navaja o el cúter, cuidando de que el embrión sea cortado como se muestra en el esquema.



Corte longitudinal de la semilla de maíz (*Zea mays*)
 (Córdoba, 2000)

4. Las mitades de semilla se sumergen en una disolución 0.1 % de 2,3,5-trifenil tetrazolium (TTC) y se mantienen durante 30 minutos¹.
5. Transcurrido este tiempo observar las semillas con ayuda del microscopio estereoscópico y detectar las zonas que se tiñeron.
6. Observar los cambios de color en las semillas y registrar los resultados en la siguiente tabla (**Tabla de Comparación de Coloración de acuerdo al tiempo de imbibición de las semillas de maíz -*Zea mays*-**).

Resultados

Tabla de Comparación de Coloración de acuerdo al tiempo de imbibición de las semillas de maíz (*Zea mays*)

Lote	No. de días (tiempo de imbibición)	Coloración
A	1	
B	2	
C	4	
D	6	
E	8	

¹ El tiempo que se indica dependerá de la vigencia del reactivo
 Guía de Biología I (2016)
 Seminario Bioflash



Preguntas para la discusión:

1. ¿Qué le sucede al embrión cuando entra agua a la semilla?
2. ¿Qué sucede con las funciones como la respiración cuando tienes semillas remojadas en diferentes tiempos (1, 2, 4, 6 y 8 días)?
3. ¿Qué le sucede al TTC cuando entra en contacto con el embrión de la semilla?
4. ¿Será igual en todas las semillas (1, 2, 4, 6 y 8 días) la coloración que se obtenga por el TTC?

Conclusiones

Retomar la hipótesis planteada al inicio de la práctica y argumentar si se cumplió.

Referencias

- Bryan, L. W & Wilson, K. 1981. **Principios y técnicas de Bioquímica experimental**. Ediciones Omega: Barcelona.
- Córdoba, C. 2000. **Fisiología Vegetal**. H. Blume: Madrid.