

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA



DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

Laboratorio de Cultivo de Tejidos y Análisis Minerales

PRACTICAS DE LABORATORIO

ACIDIFICACIÓN

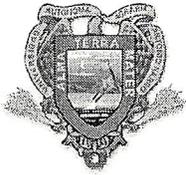
Esta práctica consiste en llevar a un nivel de pH ácido el agua de riego, por medio de Acido Sulfúrico comercial y Acido Fosfórico comercial.

Se toma una muestra de agua de volumen conocido y se pone a agitar, se toma el pH en seguida se le agrega el ácido gota a gota sin dejar de agitar, hasta lograr el pH deseado.

Se cuentan los mililitros gastados en un litro de agua y se saca por una regla de tres simple para la cantidad de agua que necesitan para el riego.

Materiales y Reactivos

Ácido sulfúrico comercial
Ácido fosfórico comercial
Agitador magnético
Barras agitadoras
Pipetas de 1 ml
Vasos de precipitado de 1000 y 2000 ml
Potenciómetro
Agua de riego.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA



DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

Laboratorio de Cultivo de Tejidos y Análisis Minerales

PRACTICAS DE LABORATORIO

DETERMINACIÓN DE FÓSFORO EN PLANTA POR MEDIO DE COLORIMETRÍA.

Reactivos y Materiales

- 1.- Solución patrón de fósforo (para curva estándar).
Disolver 0.4394g de fosfato de potasio monobásico, añadir 300ml de agua destilada y 200ml de ácido sulfúrico 1N, mezclar hasta disolver la sal y completar hasta un litro con agua destilada.
- 2.- Solución de ácido sulfúrico 1N.
Medir 28 ml de ácido sulfúrico y diluirlos en un litro de agua destilada.
- 3.- Solución de ácido sulfúrico 10N
Mida 280ml de ácido concentrado y dilúyalo a un litro con agua destilada.
- 4.- Solución de molibdato de amonio.
Disuelva 2.5g en 20ml de agua destilada, agregue 30ml de ácido sulfúrico 10N y diluya a 100ml con agua destilada.
- 5.- Solución de Sulfito de Sodio al 20%.
Pesar 20 g de la sal previamente secada a la estufa, diluir hasta 100ml con agua destilada.
- 6.- Solución de Bisulfito de Sodio al 15%.
Pesar 15g de la sal y diluir hasta 100ml con agua destilada.
- 7.- Solución de Ácido Aminonaftolsulfónico (ANSA).
Pesar .250g de ANSA, añada 7.5 ml de bisulfito de sodio al 15% y 2.5ml de sulfito de sodio al 20% si no se disuelve todo el ANSA, añada .5ml más de sulfito de sodio, dejar reposar toda la noche y filtre sobre el papel whatman #41, pasado ese tiempo, almacenar en frasco color ambar completando el volumen a 500ml.

Tubos de ensaye de 13X100

Celdillas para espectrofotómetro

Pipetas graduadas de 10, 5, 2 y 1 ml.

Gradillas
Agitador de tubos
Papel klinex

Procedimiento

De la misma muestra digerida para absorción atómica se utiliza para la determinación de fósforo.

Se toma 1 ml de la muestra y se coloca en un tubo de ensaye (perfectamente lavado con jabón libre de fósforo y enjuagado tres veces con agua destilada.

Se le agregan 5ml de una solución de molibdato de amonio y 2ml de solución de ANSA, se agita el tubo para mezclarse y se deja reposar por 20 minutos.

Se vacía a la celdilla para leerla en el espectrofotómetro o fotocolorímetro a una longitud de onda de 650nm ya sea en absorbancia o transmitancia.

Con el dato obtenido se busca la concentración parcial del fósforo por medio de la curva estándar y se ajusta a la cantidad que se pesó.

Cálculos:

$$\text{Mg/gr} = \frac{\text{Lectura} \times 10^{-3}}{\text{Gr} \times \text{dilución}}$$

Ejemplo

$$\frac{12 \times 10^{-3}}{\frac{1 \text{ g}}{100 \text{ ml}} (1 \text{ ml})} = \frac{0.012}{.01} = 1.2 \text{ mg/g de muestra.}$$

12= lectura en la curva

1g/100ml = 1 gramo de muestra en 100ml (vol que se aforó desde el principio)

1ml = lo que se tomó de muestra

$$1.2 \text{ mg/g} = 1200 \text{ ppm} = .0012 \text{ gr/1gr muestra} = .12\%$$



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA



DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

Laboratorio de Cultivo de Tejidos y Análisis Minerales

PRACTICAS DE LABORATORIO

DETERMINACIÓN DE MINERALES POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

Reactivos y Materiales

Espectrofotómetro de absorción atómica
Parrilla de calentamiento
Campana extractora
Vidrios de reloj
Vasos de precipitado de 100ml
Embudos
Papel filtro
Piceta
Pinzas para vasos
Matraces volumétricos de 100ml
Ácido perclórico al 70%
Ácido nítrico
Agua desionizada
Envases de polietileno de 100ml
Estándares de los elementos a determinar

Procedimiento

Colectar el material vegetativo (hojas), lavarlo con agua corriente y jabón, en seguida se enjuaga con agua de la llave par luego ponerse en una solución de ácido clorhídrico al 1% por uno o dos minutos, enjuagando en seguida con agua destilad por tres veces, se pone a secar en estufa a 60°C por 24 horas. El material ya seco se muele, se pesa un gramo y se coloca en un matríz erlenmeyer de 125ml se le agregan 30 ml de una mezcla de ácido nítrico y ácido perclórico al 70% en proporción 1-2 (v/v) se tapa con un vidrio de reloj y se coloca en una parrilla dentro de una campana extractora para llevar a cavo la digestión, la cual dura aproximadamente de 4 a 5 horas.

Se deja enfriar un poco y se le agrega un poco de agua desionizada, se filtra con papel waltman #42 se afora a 100ml con agua desionizada, se vacía a un envase de polietileno y se le pone una identificación.
De aquí se pasa al espectrofotómetro de absorción atómica para su análisis.

Cálculos

$$\text{ELEMENTO ug/gr} = \frac{(C)(V)(Fd)}{W}$$

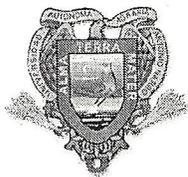
C= Lectura en el instrumento

V= Volumen de dilución

W= Peso de la muestra

Fd= Factor de dilución

$$Fd = \frac{\text{Vol aforación de la muestra}}{\text{Vol de la alícuota}}$$



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA



DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

Laboratorio de Cultivo de Tejidos y Análisis Minerales

PRACTICAS DE LABORATORIO

DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO EN PLANTA POR EL MÉTODO MICROKJELDAHL

Reactivos y Materiales

1.- Solución digestora.

1 litro de ácido sulfúrico concentrado.

25g de Sulfato de Potas

10g de Oxido de mercurio rojo

Agregar 25ml de una solución saturada de 100ml con Sulfato de Cobre y 10 g de mezcla selénica.

2.- Hidróxido de Sodio al 50%.

Pesar 500g disolverlos con cuidado en 1000ml de agua destilada, al enfriarse agregar .1g de indicador de fenoftaleína.

3.- Solución de Ácido Bórico al 2%

Pesar 21g y diluirlos en 1000ml de agua destilada tibia.

4.- Indicador.

Rojo de metilo .05g y .1g de verde de bromocresol en 100ml de alcohol etílico al 95%.

Tubos digestores

Campana extractora

Digestor rápido

Destilador rápido

Picetas

Agua desionizada

Bomba de reciclar

Pinzas para tubos

Procedimiento

Pesar 50mg de la muestra seca y molida, y se coloca en un tubo digestor junto con el papel en que se pesó, se le agregan de 3 a 5 ml de la solución digestora, se coloca en el digestor a una temperatura de 350°C dentro de una campana extractora por espacio de 45 minutos, hasta que la muestra tome un color

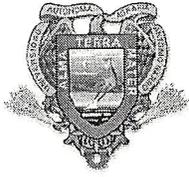
verde limón, se deja enfriar y se pasa al destilador, se hace reaccionar con NaOH al 50% y se recibe el destilado en 30ml de una solución de H₃BO₃ al 2% hasta que el volumen suba a 60ml, éste destilado se titula con H₂SO₄ 0.025N. (vire de verde a rosa)
Se utiliza un blanco en el cual se digiere el papel solo.

Cálculos

$$\%N = \frac{(\text{ml gastados de H}_2\text{SO}_4 - \text{ml gastados del blanco}) \cdot 100 \cdot X \cdot 0.014 \cdot X \cdot N}{\text{Peso de la muestra}}$$

N = Normalidad del ácido sulfúrico

$$\text{meq } N = 0.014$$



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA



DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

Laboratorio de Cultivo de Tejidos y Análisis Minerales

PRACTICAS DE LABORATORIO

TRATAMIENTO CON FIERRO.

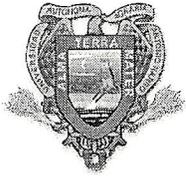
Materiales

Poliquel fierro
Probetas
Pipetas
Recipientes de un litro
Aspersoras
Agua

Procedimiento

Preparar un litro de una solución que contenga 0, 0.1, 1.0 y 2.0 % de fierro a partir de un fertilizante (Poliquel fierro) se coloca en una bomba aspersora y se asperja una determinada área foliar de un árbol frutal, se marca con una etiqueta.

Después se hace una evaluación de coloración de hojas y concentración de clorofila a los 0, 15 y 30 días de la aplicación.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA



Laboratorio de Cultivo de Tejidos y Análisis Minerales

PRACTICAS DE LABORATORIO

FERTILIZACIÓN CON ZINC.

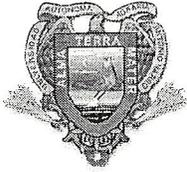
Materiales

Balanza
Aspersora
Espátula
Fertilizante de Zinc
Probetas
Agua

Procedimiento

Preparar un litro de una solución que tenga las siguientes concentraciones:
0, 1.0, 2.0 y 4.0 Kg/ha para asperjar el área foliar de una árbol frutal.

Hacer una evaluación de: determinar la longitud de los tallos y el área foliar a los 0, 15 y 30 días de la aplicación.



PRACTICAS DE LABORATORIO

HIDROPONIA

SOLUCIÓN NUTRITIVA PARA HIDROPONÍA "HOGLAND'S"

Reactivos y Materiales

Los reactivos necesarios son los enlistados al principio

Botes de plástico de 1 o 2 litros

Papel aluminio

Pipetas de 10, 5, 2 y 1 ml

Probetas de 1000 y 500ml

Agua destilada

Bombas para oxigenar

Cinta maskingtape

Marcador esterbook

Tiras de esponja

Potenciómetro portátil

HCl al 10%

NaOH 1N

I.- SOLUCIÓN COMPLETA

Macronutrientes	Conc. Sol madre	C.final cc/l
NH ₄ H ₂ PO ₄	1 M	1
KNO ₃	1 M	6
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	1 M	4
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	1 M	2
Micronutrientes.		
H ₃ BO ₃	2.86g/l	
MnCl ₂ ·4H ₂ O	1.81 g/l	
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.22 g/l	1

CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.08 g/l
H ₂ Mo ₄ H ₂ O	0.02 g/l

Solución de Hierro
 Pesar 0.08g de Na-EDTA agregar 3ml de FeCl₃ al 10%
 Llevar a 360ml con agua destilada. 10

II.- SIN NITÓGENO.

Solución completa de micronutrientes		1
Solución de fierro		10
K ₂ SO ₄	0.5M	10
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1.0M	2
KH ₂ PO ₄	0.05M	1
CaSO ₄ ·2H ₂ O	0.1M	38

III.- SIN FÓSFORO.

Solución Completa de micronutrientes		1
Solución de fierro		10
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	1M	4
KNO ₃	1M	6
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1M	2

IV.- SIN POTASIO.

Solución completa de micronutrientes		1
Solución de fierro		10
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	1M	5
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1M	2
H ₃ PO ₄	10ml/l	10

V.- SIN CALCIO.

Solución completa de micronutrientes		1
Solución de fierro		10
Urea	26.18g/l	10
KNO ₃	1M	5
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1M	2
KH ₂ PO ₄	1M	1

VI.- SIN MAGNESIO

Solución completa de micronutrientes		1
Solución de fierro		10
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	1M	4

KNO ₃	1M	5
KH ₂ PO ₄	1M	1

VII.- SIN FIERRO

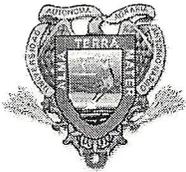
Solución completa de micronutrientes		1
NH ₄ H ₂ PO ₄	1M	1
KNO ₃	1M	6
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	1M	4
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1M	2

Procedimiento experimental

Para ésta práctica se utilizan soluciones nutritivas que contienen todos los nutrimentos, excepto el faltante en estudio, o las aplicaciones correspondientes al tratamiento. Esta solución será renovada cuando menos cada semana.

Al recipiente hidropónico de dos litros, se le agrega la solución nutritiva. Semillas de diversas plantas son previamente germinadas las plantas se desarrollan hasta alcanzar el tamaño adecuado y se siembran en el recipiente con la solución nutritiva. Los procedimientos y forma de realización son explicados durante el transcurso de la práctica.

NOTA: Esta práctica se realiza en el invernadero que se encuentra en el área de las aulas, solamente las soluciones nutritivas se preparan en el Laboratorio.



PRACTICAS DE LABORATORIO

MICROPROPAGACIÓN

Reactivos y Materiales

La lista de reactivos necesarios son los enlistados al principio de la práctica.

Vasos de precipitado de 1,000ml

Barras agitadoras

Agitador múltiple

Parrilla de calentamiento con agitador

Autoclave

Balanza analítica

Potenciómetro

Campana de flujo laminar

Incubadora

Mechero de alcohol

Pinzas de disección

Bisturí

Cajas de petri

Frascos gerber

Cubre bocas

Guantes de asbesto

Agua destilada

1.- Elaboración de soluciones stok.

REACTIVOS	GRAMOS / 100 ML
$\text{NH}_4 \text{NO}_3$	16.5
KNO_3	19.0
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3.7
KH_2PO_4	1.7
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	4.4
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.086
H_3BO_3	0.062
KI	0.0082

NaMoO ₄ 2H ₂ O	0.0025
CuSO ₄ 5H ₂ O	0.00025
CoCl ₂ 6H ₂ O	0.00025
FeSO ₄ 7 H ₂ O	0.278
Na ₂ EDTA	0.373
Tiamina	0.001
Acido Nicotínico	0.005
Piridoxina HCl	0.005
Inositol	1.0
Glicina	0.02
Sacarosa	30gr/litro
Agar	8-10 gr/litro
Ajustar pH= 5.7 a 5.8	

Procedimiento:

En un vaso de precipitado se pone una cantidad (200ml) de agua destilada y se le agregan 10ml de cada solución stok, en seguida se le agrega la sacarosa y se afora a un litro con agua destilada, se disuelve la sacarosa y se ajusta el pH con NaOH o HCl según se requiera, se le agrega el agar y se pone a calentar en la parrilla sin dejar de agitar, hasta que el contenido sea transparente, cuidando de que no hierva. Se vacían 20 ml a cada frasco (gerber) se tapan y se ponen a esterilizar en autoclave por espacio de 20 minutos, junto con las pinzas, bisturí, cajas de petri, agua y vasos solos pero tapados.

Algunos experimentos necesitan de reguladores de crecimiento y hormonas, estos se incorporan al medio antes de tomar el pH.

Desinfección del material vegetativo.

El material vegetativo se lava muy bien con agua y jabón, se enjuaga con agua destilada y se pasa a la campana de flujo laminar, allí se colocan en una solución de cloro al 10% por 15 minutos, se enjuaga tres veces con agua destilada estéril, se pasa a una caja de petri estéril y se cortan ya sea en nudos, entrenudos, yemas ápices según lo que se requiera.

Cuando ya se tiene el material completo se procede a sembrar en los frascos, se le pone fecha, nombre y tipo de medio. Se coloca en la incubadora, se revisa cada tercer día.

NOTA.: El método de desinfección varía según del material que se trate.