



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

Actualización de la práctica de
Fotosíntesis para el módulo de
Bioquímica Celular y de los Tejidos I.

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

Química Farmacéutica Bióloga

P R E S E N T A:

Soto Olivares Abril Valeria

Directora: Mtra. Leonor Aguilar Santelises

Asesora: M. en C. Araceli García del Valle



CDMX, 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE
MEXICO

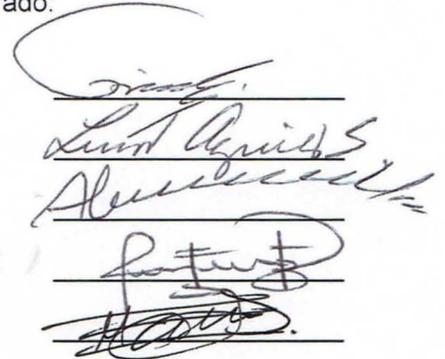
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES "ZARAGOZA"

DIRECCIÓN

**JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN
ESCOLAR
PRESENTE.**

Comunico a usted que la alumna SOTO OLIVARES ABRIL VALERIA,
con número de cuenta 308342426 de la carrera de Q. F. B.,
se le ha fijado el día 25 del mes de Septiembre de 2019 a las 13:00 hrs.,
para presentar examen profesional, que tendrá lugar en la sala de exámenes
profesionales Campus II de esta Facultad, con el siguiente jurado:

PRESIDENTE	Q.F.B. GRACIELA ROJAS VÁZQUEZ
VOCAL	MTRA. LEONOR AGUILAR SANTELISES
SECRETARIO	M. en C. ARACELI GARCÍA DEL VALLE
SUPLENTE	M. en C. CLAUDIA FABIOLA MARTÍNEZ RODRÍGUEZ
SUPLENTE	MTRA. MARÍA CATALINA CÁRDENAS ASCENCIÓN



El título de la tesis que se presenta es: **Actualización de la práctica de
Fotosíntesis para el módulo de Bioquímica Celular y de los Tejidos I.**

Opción de titulación: **Tesis Experimental**

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad de México, a 28 de Agosto de 2019.

DR. VICENTE JESUS HERNÁNDEZ ABAD
DIRECTOR
ZARAGOZA
DIRECCION

RECIBI:
OFICINA DE EXÁMENES PROFESIONALES
Y DE GRADO

Vo.Bo.

DRA. RAQUEL RETANA UGALDE
JEFA DE LA CARRERA DE Q.F.B.

"Resistir no sólo es la capacidad de soportar la dureza de la vida, sino también la habilidad y la sabiduría de transformar esa dureza en algo glorioso".

Vince Lombardi

"Haz lo que todos dicen que no podrás. Rompe las barreras si es que quieres ser recordado y cuando alguien te diga que no puedes hacer algo, sólo sonríe"

Ray Lewis

"La diferencia entre una persona exitosa y los demás no es la fuerza o la falta de conocimiento sino la falta de ganas"

Vince Lombardi

Agradecimientos.

Quiero agradecer a la Universidad Nacional Autónoma de México, en especial a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza por darme los recursos para mi formación académica, científica y profesional; a todos los profesores que compartieron sus conocimientos y enseñanzas que me hicieron crecer como persona y académicamente.

A las maestras que me apoyaron para la realización, revisión, retroalimentación y culminación de este proyecto a mi directora de tesis la Mtra. Leonor Aguilar Santelises, mi asesora de tesis la M. en C. Araceli García del Valle, la M. en C. Margarita Cruz Millán, la Q.F.B. Graciela Rojas Vázquez, la M. en C. Claudia Fabiola Martínez Rodríguez, y la Mtra. Catalina Cárdenas Ascención.

Este proyecto se desarrolló en los Laboratorios L-320 y L-402 de Bioquímica Celular y de los Tejidos I en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza Campus II, ubicada en Batalla 5 de Mayo S/N, Iztapalapa, Ejercito de Oriente, 09230 Ciudad de México, con el apoyo de DGAPA a través del programa PAPIIME proyecto PE211918.

Dedicatoria.

A mis padres Rosario Olivares y Mario Soto por todo el apoyo que me han dado a lo largo de mi vida por impulsarme, creer, confiar en mí y dejarme crecer cumpliendo mis sueños y aspiraciones (inclusive cuando yo dude que podría lograrlo), gracias por todas las acciones que han hecho para que esto sea posible la compañía, las desveladas para llevarme a la escuela, la preparación de los desayunos y el lunch, las risas compartidas para hacer más ligera la carga, las celebraciones de los logros durante toda mi vida, dándome fuerza y enseñándome a no darme por vencida y que si puedo creerlo mi mente puede hacerlo. No hay palabras para agradecer todos los aprendizajes, consejos, valores, felicidad, risas y amor que me han brindado, y a pesar de que a veces el camino no ha sido fácil sé que lo tengo todo si los tengo a ustedes. Esto es solo una pequeña parte de todo el amor, respeto y admiración que siento por ustedes y espero que se sientan tan orgullosos de mi como yo de ustedes. Simplemente esto es por y para ustedes, los amo infinitamente.

A mis hermanos Patricia Soto y Alberto Soto por todo el apoyo, confianza, consejos, platicas, enojos, risas y amor que me han tenido desde que empezamos a compartir aventuras en esta vida, además de ser mis cómplices desde niños con los que puedo contar siempre. Saben que los amo mucho, y eso nada lo cambiaría por que son muy importantes para mí, ya que sin ustedes no sería la persona que soy ahora.

A mis padrinos Consuelo Olivares y José Ortiz por todo el apoyo, confianza, amor y consejos que me han dado a lo largo de toda mi vida, por ser mis amigos con los que puedo contar en todo momento, gracias por todo lo que me han enseñado de esta vida, por las pláticas, risas, recetas y galletas compartidas. Porque simplemente son una parte importante de quien soy ahora.

A Antonio Ortiz no me queda más que agradecerte por que estuviste para escucharme cuando lo necesite, por los consejos y el apoyo que me diste además de recordarme quien soy y lo que puedo ser capaz de lograr y que la diferencia entre lo ordinario y lo extraordinario es ese pequeño extra.

A Lluvia Ramírez por tus consejos, platicas, apoyo y conocimientos que haz compartido conmigo, eso es invaluable para mí.

A Cachis por ser mi amigo fiel desde la primaria, de ti aprendí lo que es el amor incondicional, a tener fortaleza aunque los problemas sean o parezcan muy difíciles y que uno puede encontrar la felicidad y tranquilidad en cosas sencillas de la vida. Gracias por ser mi mejor amigo.

A mis tíos, primos y sobrinos que me brindaron el apoyo en este camino compartiendo mis logros y alegrías, también por los consejos y palabras de aliento que nunca me faltaron, además del interés que demostraron para resolver mis dudas o problemas que se me han presentado.

A mi amiga Isabel Espinosa mi cómplice en la escuela casi desde el comienzo de la aventura para conseguir el sueño de ser Q.F.B. gracias por las risas, consejos, apoyo, chistes, por hacer que lo que parecían horas y tareas infinitas se volvieran divertidas, por hacer las horas libres y las clases amenas aguantando mis locuras todo el día, por las tardes de té, además de ser la causante de entrar a mis clases y también porque saliéramos de ellas, gracias por los regaños y la confianza que siempre tenías en mí de poder lograr hasta lo que parecía imposible.

A mi amiga Maricarmen Lara por todo el apoyo que me diste en la escuela, por hacer que las clases y horas de estudio fueran más divertidas y fáciles de aprender, además de todas esas horas platicando por escucharme y darme consejos para siempre terminar nuestras pláticas riéndonos, por todas las risas y los chistes en Arizona, es bueno saber que en ti siempre puedo tener a una amiga con quien puedo contar siempre.

A mi amiga Karen Loza gracias por todo el apoyo, las anécdotas, por encontrar a la persona que me daba consejos y aclaraba mi mente cuando me sentía perdida, además de ser quien sabe cómo subirme el ánimo y pasarla siempre riendo, de enseñarme que cuento con una amiga que defiende lo que piensa y a sus amigos sin tener o querer cambiar lo que son.

A mis amigos Rodrigo Flores, German Valdovinos, Rodolfo Pérez y Ulises Urbina muchas gracias amigos porque fueron y serán mis cómplices de muchas aventuras, de ser quienes me acompañaban a la hora de la comida, por ser los socios de los dulces, además de todas las horas compartidas estudiando, preparando proyectos, haciendo tareas y no hay que olvidar el preparar las exposiciones. Gracias por apoyarme, cuidarme y formar parte de este gran equipo que tenemos, sin olvidar que siempre podre encontrar en ustedes grandes personas y amigos con algo que nos caracteriza siempre reír cuando estamos juntos.

A todos mis amigos que por no mencionar sus nombres son menos importantes, gracias a todos los que han estado involucrados en parte de este proyecto hasta el final. A mis amigos que el destino a cruzado nuestros caminos y que en mi vida han estado apoyándome en mis logros y fracasos sin nunca faltarme palabras de ánimo, consejos, ayuda, forma de resolver problemas, regaños, felicitaciones, risas, alegría y/o algún abrazo. Pues todos ustedes han sido parte imprescindible de la persona en que me he convertido y es para mí una dicha poder contar con muy buenos amigos.

Para las personas que son parte de mí que a pesar que ya no estén físicamente, sé que cuento con mis ángeles.



Por mi raza hablara el espíritu.



ÍNDICE

Introducción.....	1
Marco Teórico o fundamentación	4
FOTOSÍNTESIS.....	4
ESTRUCTURA DE LAS PLANTAS.....	4
Clorofilas.....	7
Clorofila a.....	8
Clorofila b.....	8
Carotenoides.....	8
Cromatografía	9
Reacciones dependientes de la luz (Fase Luminosa o Fotoquímica).	11
Fotosistema II.	14
Fotosistema I	15
Reacción y reactivos de Hill	16
Luz solar y su papel en la fotosíntesis.	17
Luz y el espectro electromagnético	17
Luz visible	18
Radiación Ultravioleta	18
Absorción por moléculas.....	21
Reacciones de Oxido-Reducción (Redox)	22
Reacciones independientes de la luz (Fase oscura o biosintética).	22
El ciclo C3 (Plantas C3).	23
Ciclo de Calvin.	23
Fotorrespiración	26
Plantas C4	28
Plantas CAM.	31
Características de la espinaca	32

Planteamiento del problema	34
Objetivos	35
Objetivo general	35
Objetivos particulares.....	35
Metodología.....	36
Metodología Experimental.....	36
Resultados	42
Obtención de cloroplastos observados al microscopio	42
Acción de la intensidad de la luz.	43
Acción de la temperatura.	48
Acción de la longitud de onda.	53
Cromatografía y lectura de los pigmentos.....	58
Cuaderno de apuntes de fotosíntesis.....	65
Análisis de resultados.....	66
Conclusiones.....	71
Referencias	72
Anexos	75
ANEXO 1. Formato de la práctica de fotosíntesis para el laboratorio de Bioquímica celular y de los tejidos I.....	75
ANEXO 2. Capturas de pantalla de cómo se encuentra el cuaderno de apuntes en la plataforma Moodle.....	97
ANEXO 3. Cuaderno de apuntes de fotosíntesis.	98

Introducción.

En el mundo todos los organismos necesitan materiales y energía para mantener su elevado nivel de complejidad y organización para vivir, como la homeostasis, crecer y reproducirse. Estos adquieren los materiales que necesitan, llamados nutrientes, del aire, el agua o el suelo, o incluso de otros seres vivos. Los nutrientes incluyen minerales, oxígeno, agua y demás sustancias químicas que construyen los bloques de las moléculas biológicas. Para que esto ocurra y se pueda mantener la vida, los organismos deben obtener energía, que es la capacidad para realizar trabajo, lo cual incluye efectuar reacciones químicas, producir hojas en primavera o contraer un músculo. Las plantas y algunos organismos unicelulares captan directamente la energía de la luz solar y la almacenan en moléculas muy energéticas, como los azúcares, mediante un proceso llamado fotosíntesis, tales organismos se denominan autótrofos. Los organismos que no pueden realizar la fotosíntesis, como los animales y los hongos, deben obtener energía ya almacenada en las moléculas de los cuerpos de otros organismos y son llamados heterótrofos.¹

La fotosíntesis es el proceso por el cual la energía solar se convierte en energía química. En esta transformación intervienen varios tipos de moléculas; unas a través de la evolución se han especializado en atrapar la energía luminosa, y otras son las responsables de fijar el CO₂ y sintetizar los carbohidratos. De hecho, el proceso fotosintético se inicia con la captura de energía luminosa y termina con la formación de carbohidratos; en el camino se forman el oxígeno molecular y ATP.²

El proceso fotosintético es muy complejo, y se le suele dividir en 3 etapas:²

1. Una etapa de radiación, en la cual la maquinaria fotosintética atrapa la energía luminosa.²
2. Una etapa llamada fotoquímica; y en la cual se obtiene una separación de cargas o sea las primeras reacciones de oxidorreducción.²
3. Finalmente la etapa bioquímica, en la cual ocurren las reacciones de transferencia de electrones, y se sintetizan los carbohidratos, y que también comprende la síntesis de ATP.²

En la actualidad casi todas las formas de vida del planeta, dependen de los azúcares producidos por organismos fotosintéticos como fuente de energía y liberan la energía de esos azúcares mediante la respiración celular, empleando el producto de la fotosíntesis, es decir, el oxígeno.¹

Con base en lo anterior y considerando la importancia de la fotosíntesis se propuso realizar un cuaderno de apuntes del tema de fotosíntesis tratando de explicar de forma sencilla y esquematizada diferentes aspectos involucrados en el tema, además de proponer y realizar una práctica de fotosíntesis para ser implementada en el Laboratorio de Bioquímica Celular y de los Tejidos I (BCT I), en la que se incluye el aislamiento de cloroplastos y observación de la capacidad fotosintética de algunas plantas, además de la separación de los pigmentos fotosintéticos y obtención de su espectro de absorción, con la finalidad de observar, actualizar, facilitar y ayudar a comprender la importancia de las diversas reacciones del proceso fotosintético como tal ya que están relacionadas con el funcionamiento vital

de todos los seres vivos; además de que el tema de fotosíntesis es un contenido importante del módulo de BCT I, que se imparte en el cuarto semestre de la carrera de Q.F.B. de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.

Marco Teórico o fundamentación

FOTOSÍNTESIS

La palabra fotosíntesis tiene en su nombre raíces de origen griego *photo* que significa “luz”, *syn* que es equivalente a “con” y *thesis* que expresa “conclusión o posición”. Podríamos definirla como un proceso mediante el cual organismos como las plantas verdes, a partir de moléculas sencillas como el dióxido de carbono (CO₂) y agua (H₂O) transforman la energía de la luz solar en energía química que se almacena en los enlaces de la glucosa (C₆H₁₂O₆) y libera oxígeno molecular (O₂). La reacción química general para la fotosíntesis es: ^{1, 3, 4.}



Esta reacción química, omite el hecho de que en realidad intervienen docenas de enzimas que catalizan varias reacciones individuales las que se pueden dividir en reacciones dependientes de la luz (que ocurren dentro de las membranas de los tilacoides) y reacciones independientes de la luz (que se realizan en el estroma circundante). Cada grupo de reacciones se lleva a cabo dentro de una región diferente del cloroplasto; pero las dos reacciones se enlazan mediante moléculas portadoras de energía.^{1.}

ESTRUCTURA DE LAS PLANTAS

Aunque la fotosíntesis se lleva a cabo en los procariontes como las cianobacterias, en los gránulos asociados con la membrana plasmática, y en los eucariontes como las plantas y algas verdes en los cloroplastos, revisaremos algunos aspectos de la estructura de las hojas de las plantas.

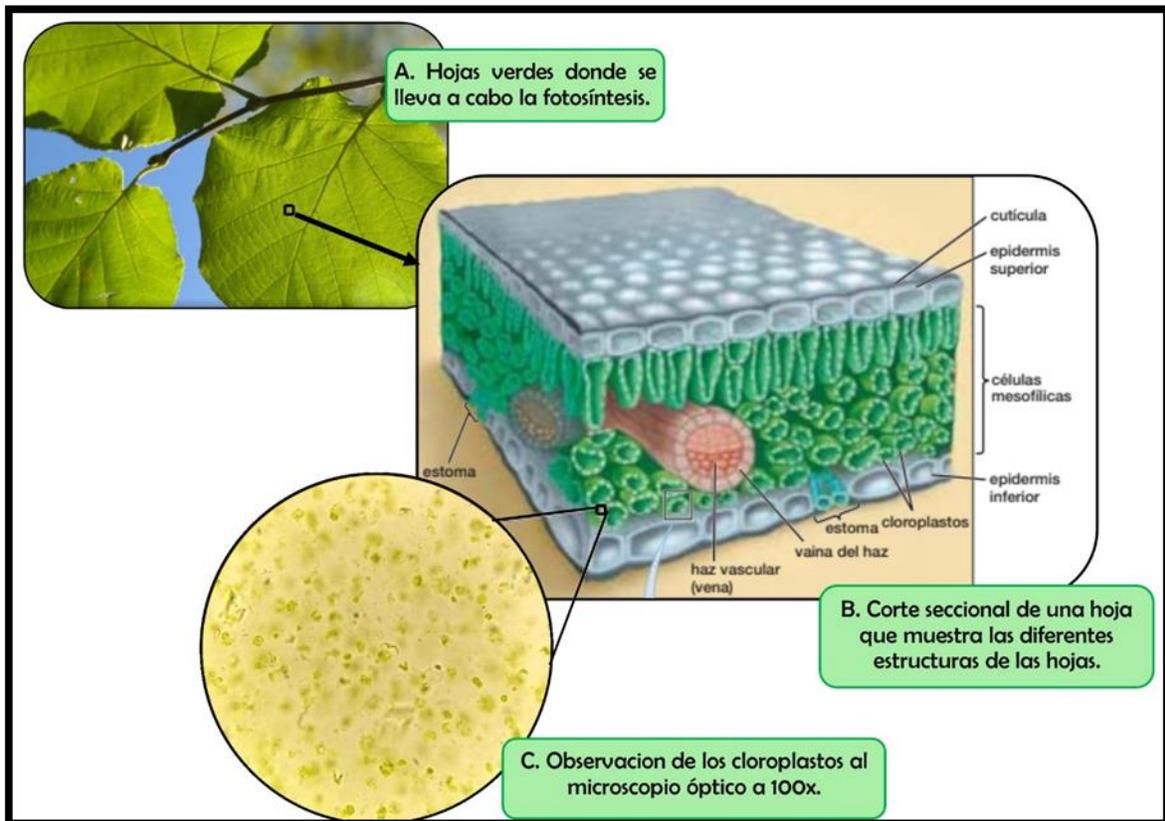


Figura 1. Estructura de las hojas. A) Hojas verdes donde se lleva a cabo la fotosíntesis ⁵, B) Corte seccional de una hoja verde y diferenciación de todas sus estructuras ¹, C) Observación en el microscopio de cloroplastos aislados en el objetivo de 100x.

La forma aplanada de las hojas hace que la superficie de las hojas esté expuesta a los rayos solares y el hecho que sólo cuenten con unas cuantas células de espesor garantiza que la luz pueda llegar hasta los cloroplastos (Figura 1).

Cloroplastos (Figura 2): Las plantas superiores contienen una gran variedad de plástidos que son orgánulos exclusivos de células vegetales y están relacionados con procesos metabólicos importantes como de síntesis y almacenamiento de sustancias. Los cloroplastos son organelos fotosintéticamente activos, que consisten en una doble membrana una externa que es muy permeable y una

membrana interna que posee moléculas transportadoras que regulan el tráfico molecular, además encierra el estroma y otras estructuras que más adelante se mencionaran, los cloroplastos están presentes predominantemente en hojas y tejido verde; la presencia de altas concentraciones de clorofila les da su apariencia verde. Su función está relacionada con la captación de energía solar y la fijación de carbono atmosférico durante el proceso de fotosíntesis.^{1,6,7,8.}

En las hojas las células contienen de 1 a 1000 cloroplastos, que varían considerablemente en forma y tamaño que se caracterizan por ser cuerpos discoidales o elipsoidales que llegan a medir de 2 μm por 5 μm .^{9,10}

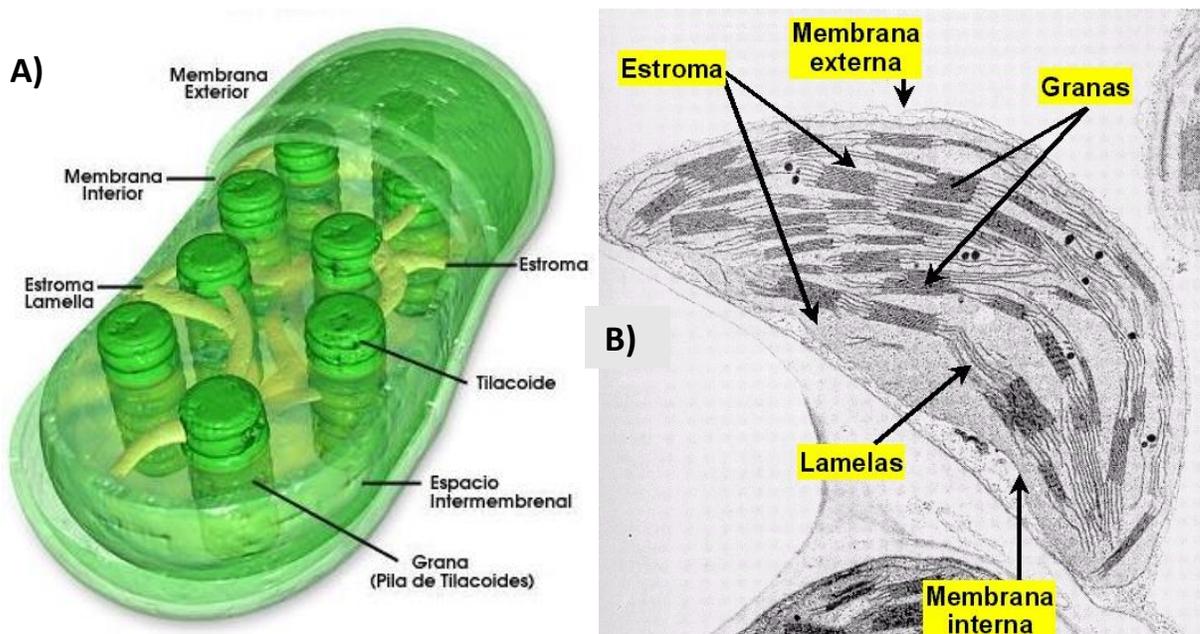


Figura 2. Estructura de un cloroplasto. A) Esquema de un cloroplasto característico de plantas superiores ¹¹. B) Microfotografía de un cloroplasto¹².

PIGMENTOS: Los cloroplastos contienen varios tipos de moléculas de pigmentos que absorben diferentes longitudes de onda de la luz, estos se mencionan a continuación.¹

1) Clorofilas: El fotorreceptor principal de la fotosíntesis es la clorofila, tiene una estructura molecular de tetrapirrol cíclico de las porfirinas, es similar al grupo hemo de las globulinas y citocromos, una diferencia es que en la clorofila el ion metálico central es el Mg (II), en vez de Fe (II) o Fe (III), otra diferencia es que la clorofila tiene un anillo de ciclopentanona (anillo V) fusionado al anillo III del tetrapirrol. En su estructura hay una cadena lateral hidrofóbica de fitol que contiene unidades isoprenoides (unidades de 5 átomos de carbono que son base de bloques constitutivos básicos de muchos tejidos) y que ancla las moléculas de la clorofila a la región hidrofóbica de la membrana tilacoide (Figura 3).^{10,13.}

La diferencia entre clorofilas es que en la clorofila a, posee un grupo metilo unido al anillo II y la clorofila b tiene unido un grupo aldehído en lugar del metilo antes mencionado de la clorofila a (Figura 3).^{6,10,13.}

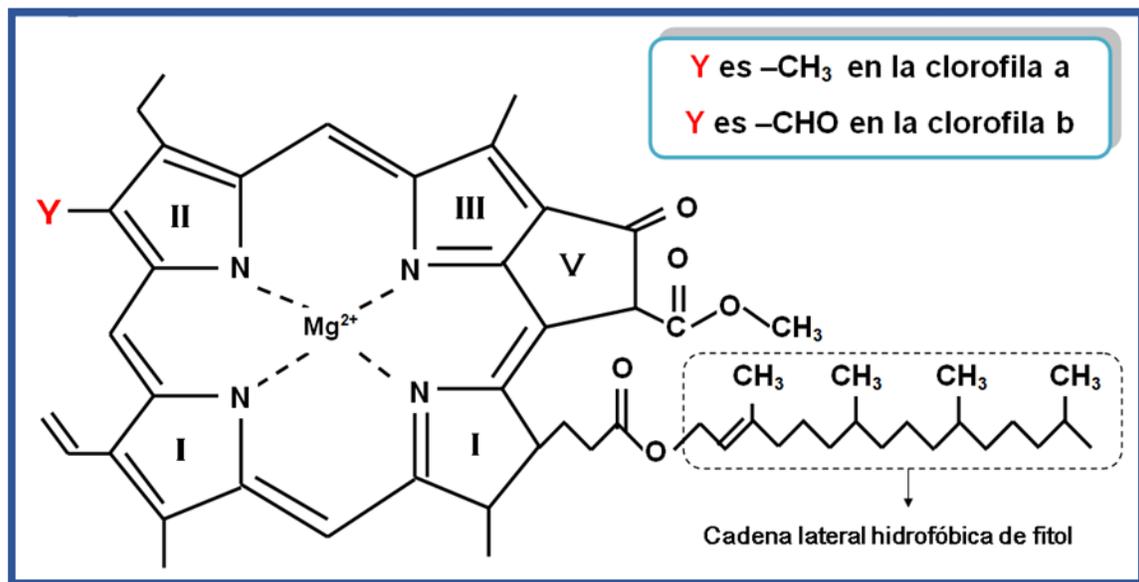


Figura 3. Estructura química de la clorofila a y b

Los eucariontes como plantas y algas verdes contienen clorofila a y b, y los procariontes como las cianobacterias sólo tienen clorofila a, además de que otras bacterias fotosintéticas que no son las cianobacterias tienen bacterioclorofilas.^{13.}

1.1) Clorofila a: este pigmento se encuentra en todos los organismos fotosintéticos que producen oxígeno, desempeña un papel principal en la fotosíntesis en los eucariontes, ya que son las moléculas que captan la energía luminosa e impulsa directamente los acontecimientos fotoquímicos de la fotosíntesis. La clorofila absorbe intensamente las luces violeta, azul y roja; pero refleja la luz verde, dando así el color verde a las hojas. ^{1,6,13.}

Dentro de los pigmentos vegetales se encuentran los denominados pigmentos accesorios, que son moléculas que absorben longitudes de onda adicionales de energía luminosa para “completar” el espectro de absorción, cubriendo las regiones espectrales donde las clorofilas no absorben fuertemente y después transferir esa energía a la clorofila a, para que sea ocupada para los procesos fotoquímicos que está impulsa. ^{1,10.}

1.2) Clorofila b: actúa como pigmento accesorio absorbiendo energía luminosa y pasándola a la clorofila a. ^{6.}

2) Carotenoides: son moléculas isoprenoides que se encuentran en todos los cloroplastos, son pigmentos accesorios, absorben la luz color verde y azul, pero a la vista son pigmentos en color amarillo o naranja pues reflejan longitudes de onda de ese color. Estos pigmentos están presentes en las hojas, pero su color está enmascarado por la abundante cantidad de clorofila que es de color verde. ^{1,6.}

La función principal de los carotenoides en las plantas es brindar protección a las plantas de los daños que producen los radicales libres por exposición al sol. ^{14.}

Los carotenoides más comunes que se encuentran en las plantas verdes son el beta-caroteno que brinda el color naranja y amarillo en los vegetales además de tener actividad provitamina A en los humanos, y también están las xantofilas donde la más conocida es la luteína. ^{15,16.}

Otros pigmentos que se encuentran en frutos, hojas y flores son los flavonoides que se dividen en flavonoles, catequinas y antocianinas, estas últimas son las

responsables de la gama de colores que van desde el rojo hasta el azul y se encuentran por ejemplo en las flores Nochebuenas. ¹⁷.

CROMATOGRAFÍA

La cromatografía es una técnica de separación, que se utiliza para la identificación de sustancias, y también para separar los componentes de una mezcla. Es una técnica económica, ya que pese a no ser una técnica potente no requiere de ningún tipo de equipamiento especializado. El método consiste en desplazar los componentes por un papel o placa adsorbente, a diferente velocidad, por medio de un disolvente, aprovechando sus distintas solubilidades en el mismo. El movimiento de los componentes se logra por medio de una corriente de gas o líquido.^{18,19}

El fluido, líquido o gas, y la mezcla que se quiere separar se mueven simultáneamente a través del material adsorbente. Los diversos componentes se han de detener en forma diferencial para poder extraer y analizar. Las sustancias se pueden separar por efecto de la gravedad, por presión gaseosa, por capilaridad o por aplicación de una diferencia de potencial eléctrico¹⁹.

Existen diversos métodos de separación por medio de esta técnica de cromatografía: en columna, de papel, de capa fina y de gases, etc.¹⁹

- Cromatografía por adsorción sólido- líquido: Se utiliza un líquido como eluyente y un sólido estacionario como medio de detención (gel de sílice, óxido de aluminio, celulosa, almidón, etc).¹⁹
- Cromatografía de adsorción de gases: La muestra problema en estado gaseoso pasa por una columna en espiral. Los componentes se detectan sobre el relleno de la columna por medio de métodos de ionización.¹⁹
- Cromatografía de partición líquido-líquido: Diferentes solutos se pueden distribuir entre dos líquidos inmiscibles. Todo ello, de acuerdo con una proporción, que depende de sus solubilidades relativas en los dos líquidos, de acuerdo con la ley de distribución de un soluto entre dos disolventes no miscibles. Se establece un

equilibrio entre las dos disoluciones saturadas. La cromatografía es utilizable para la separación de mezclas de compuestos de polaridad media y alta.^{19,20}

Una de las aplicaciones de la cromatografía líquido-líquido es la cromatografía en papel. En donde se coloca una o unas gotas de solución cerca del borde inferior de un soporte absorbente, como una tira de papel de celulosa de elevada pureza recubierta de una capa de agua asociada a las fibras de celulosa, denominada fase estacionaria. El solvente llamado fase móvil se añade debajo del punto de la muestra. A medida el solvente se eleva en el soporte, los componentes de la muestra en el punto también se desplazan hacia arriba, con una velocidad que depende de que tan fuerte se adsorbieron al soporte. En la adsorción, los solutos se adhieren a una superficie. De algún modo, hay una extracción continua entre el soporte y el solvente, que también se llama solvente transportador. Los solutos atraídos con más fuerza hacia el solvente que hacia el soporte se moverán a mayor velocidad.^{18,19,21}

Como medida en cromatografía sobre papel se emplea el R_f (Retention factor), el cual se define como el cociente de dividir el recorrido de la sustancia por el disolvente, esto es, la distancia media desde el origen hasta el centro de la mancha dividida por la distancia que media desde el origen hasta el frente del disolvente (Figura 4).²¹

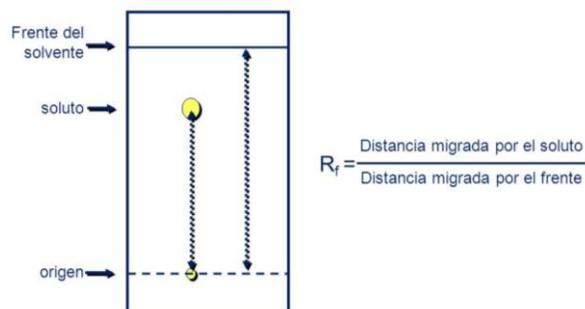


Figura 4. Cálculo del R_f .²²

REACCIONES DEPENDIENTES DE LA LUZ (Fase Luminosa o Fotoquímica).

El proceso de fotosíntesis comienza en las membranas de los tilacoides donde se encuentran unos conjuntos de proteínas, clorofilas y pigmentos accesorios, que se denominan fotosistemas y es aquí donde se llevan a cabo las reacciones de la fase luminosa. Hay dos tipos de moléculas de clorofila, las clorofilas tipo antena que se encargaba de absorber la luz, para pasar esta energía de excitación a un par especializado de clorofilas dentro de una pequeña región del fotosistema, y estas son denominadas como centro de reacción (Figura 5) y así iniciar las reacciones químicas de la fotosíntesis. Cada fotosistema contiene aproximadamente de 250 a 400 moléculas de clorofila y carotenoides.^{1,13.}

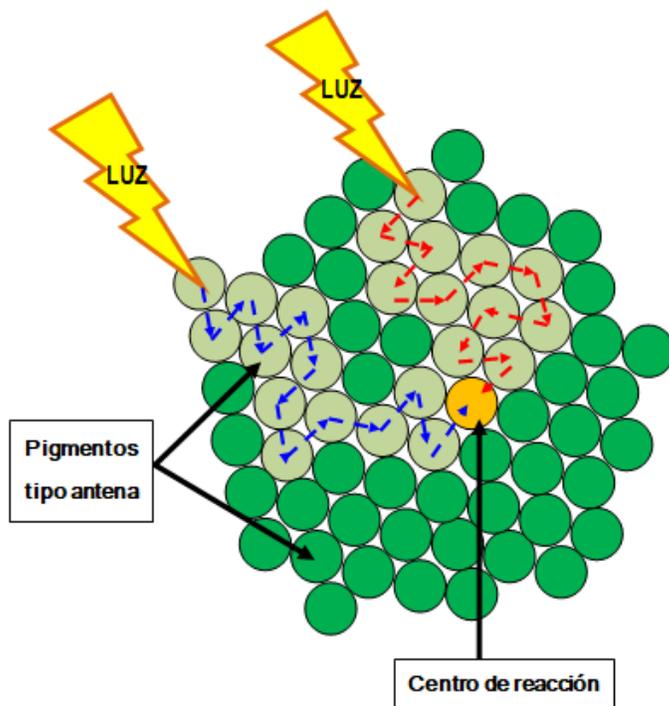
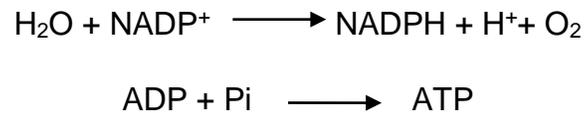


Figura 5. Estructura de una unidad fotosintética donde se observan los dos tipos de clorofilas.

Cada tilacoide contiene miles de copias de dos tipos de fotosistema donde se llevan a cabo reacciones redox (con transferencia de electrones) ambos se activan con luz y funcionan de manera simultánea además de que cada fotosistema está asociado con una cadena transportadora de electrones diferentes, está el fotosistema I (PSI)

que proporciona energía para llevar a cabo la reducción del NADP⁺ a NADPH, las clorofilas del centro de reacción de este fotosistema se denomina P₇₀₀ donde P significa pigmento y 700 es debido a que absorbe luz a la longitud de onda menor de 700 nm para iniciar la reacción y P₇₀₀^{*} representa el estado excitado de este pigmento, también está el fotosistema II (PSII) en el cual se realiza la oxidación de agua (o fotólisis) para producir oxígeno y aquí las clorofilas del centro de reacción se denominan P₆₈₀ por que la longitud de onda mayor absorbida para iniciar la reacción es a 680 nm, y P₆₈₀^{*} es la representación del estado excitado de esta molécula. En las reacciones redox involucradas se encuentra acoplada la fosforilación de ADP a ATP en un proceso llamado fotofosforilación que se representa con las siguientes reacciones:^{1,6,13.}



Ninguna clorofila del centro de reacción es tan fuerte como para transmitir electrones a la siguiente sustancia de la secuencia de reacción, pero la absorción de luz de ambos fotosistemas es suficiente para llevar a cabo las reacciones.^{13.}

Con lo mencionado anteriormente, se observará con mayor detenimiento la secuencia de reacciones dependientes de la luz, donde se podrá ver la secuencia en la Figura 6 que también se le conoce como esquema Z, donde la “Z” se encuentra acostada.

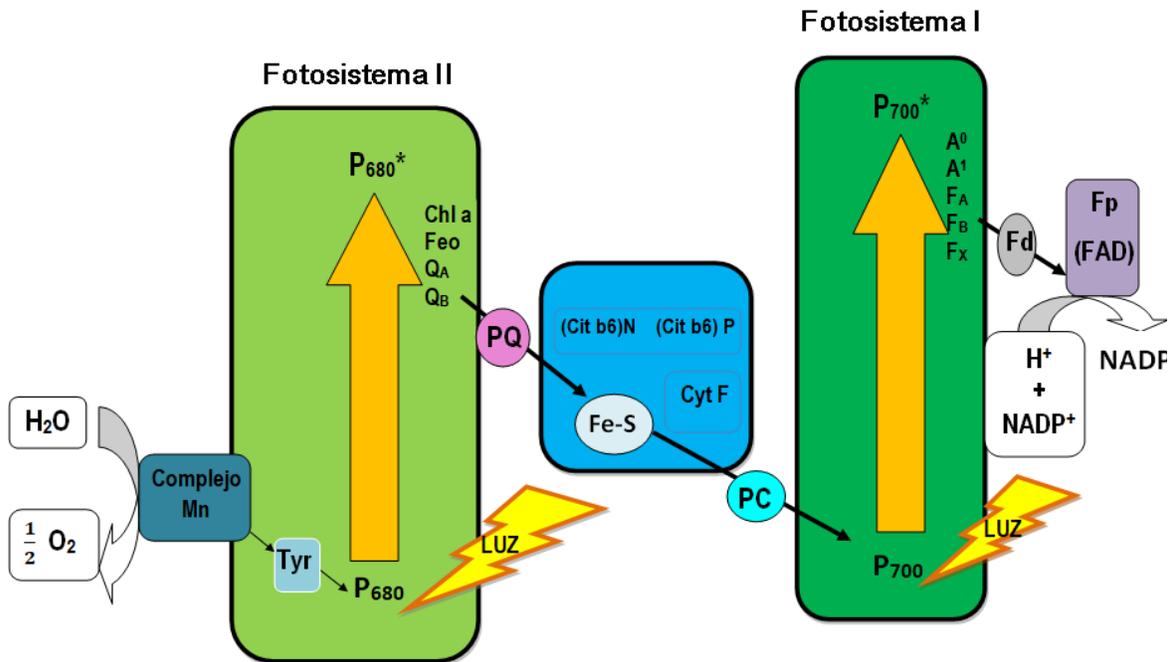


Figura 6. Esquema Z de la fotosíntesis

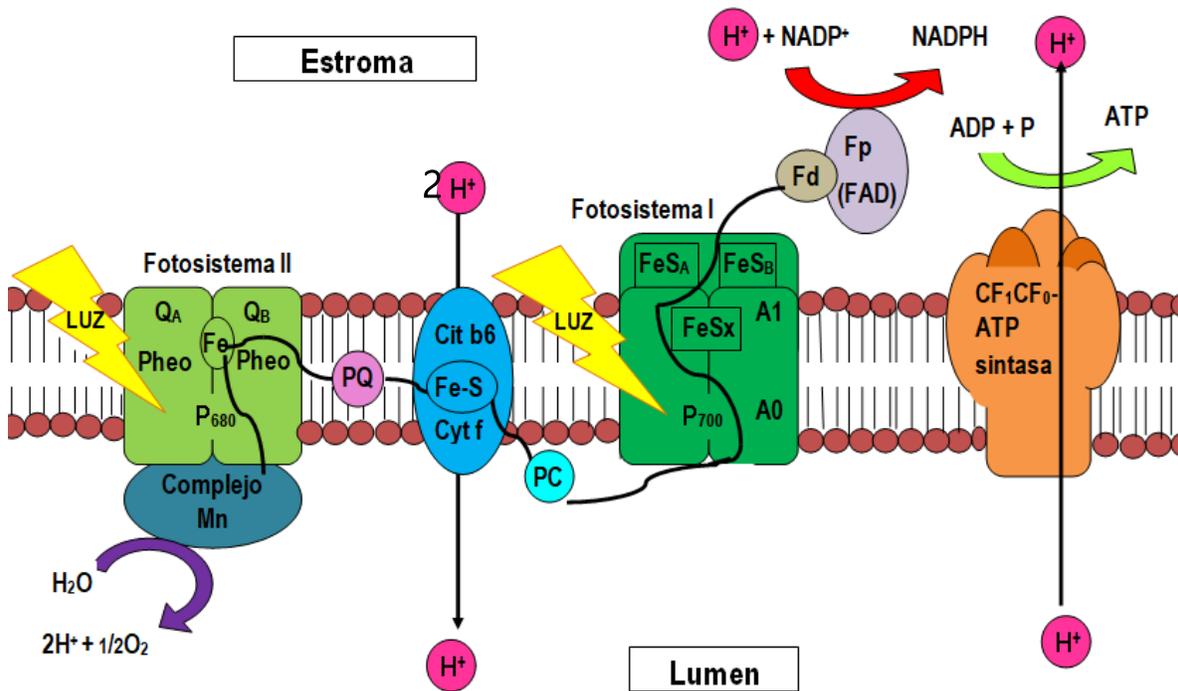


Figura 7. Esquema Z, secuencia de reacciones que se llevan a cabo en el estroma y el lumen y cómo se encuentran los fotosistemas en la membrana tilacoide.

FOTOSISTEMA II.

Para entender de una manera más fácil el proceso se comenzará a explicar por el fotosistema II. Las reacciones dependientes de la luz inician con la captación de fotones absorbidos por el fotosistema II, que después serán transferidos esos electrones al fotosistema I mediante una cadena transportadora de electrones. Es importante saber que a pesar de que la oxidación del agua para producir oxígeno constituye la fuente última de electrones en la fotosíntesis, los electrones que se producen en ese proceso se utilizarán para “llenar el vacío” cuando la absorción de un fotón de luz provoque la donación del electrón del PSII a la cadena transportadora de electrones. Para que esto ocurra hay una serie de pasos ya que se necesitan 4 electrones para la oxidación del agua además de que P680* sólo acepta un electrón a la vez, entonces interviene un complejo proteico de manganeso y otros complejos proteicos para oxidar dos molécula de agua, que pasarán por 5 estados de oxidación el S_0 (el más reducido), S_1 , S_2 , S_3 y S_4 (el más oxidado), para obtener una molécula de oxígeno, cuatro protones (que permanecerán en la luz del tilacoide para favorecer el gradiente de pH que impulsa la síntesis de ATP) y cuatro electrones (Figura 8), que se transferirán del agua al PSII por cada cuánto de luz, el donador inmediato de electrones a la clorofila P680 es un residuo de tirosina (Tyr) donde ciertas quinonas (QA y QB) serán intermediarias para acomodar los electrones donados por una molécula de agua (Figura 6 y 7).^{1,6,10,13.}

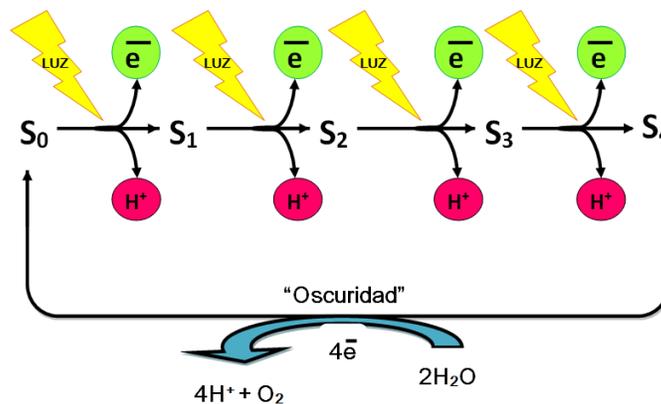


Figura 8. Estados de oxidación de las moléculas de agua para la producción de oxígeno.

La cadena transportadora de electrones que une el PSII con el PSI consta de feofina (Feo), plastoquinona (PQ), un complejo de citocromos vegetales b6-f (tiene citocromo tipo b que es el citocromo b6, y el citocromo c conocido como citocromo f), la proteína plastocianina (PC) que tiene el ion cobre, que es el que actúa como transportador de electrones como Cu(II) y Cu(I) en forma oxidada y reducida respectivamente, y por último está la forma oxidada de P₇₀₀ (Figura 6 y 7).¹³

A medida que los electrones van pasando por la cadena transportadora de electrones del PSII al PSI, van perdiendo o liberando energía provocando que haya un bombeo de iones hidrógeno (H⁺) a través de la membrana tilacoidea del estroma hacia el Lumen del tilacoide y esto provoca un gradiente quimiosmótico llevando a los iones hidrógeno del lumen del tilacoide moverse hacia el estroma pasando a través de canales especiales acoplados a las enzimas ATP sintasas (CF₁CF₀-ATP sintasa) más la energía del flujo de H⁺ impulsan la síntesis de ATP a partir de ADP más fosfato. Aproximadamente por el movimiento de tres iones H⁺ a través de la ATP sintasa se sintetiza una molécula de ATP, y por cada molécula de NADPH que se sintetiza se producen dos moléculas de ATP (Figura 6 y 7).^{1,6,13}

FOTOSISTEMA I

La absorción de un fotón por el P₇₀₀ conduce a la liberación de un electrón energizado que pasará por la cadena transportadora de electrones, teniendo como primer aceptor de electrones una molécula de clorofila a (A₀) y después pasa a la ferredoxina ligada (F_A y F_B) que es una proteína de hierro y azufre que es hidrosoluble móvil, cada una cede un electrón a la flavoproteína que se llama ferredoxin-NADP oxidoreductasa (FAD) que utiliza dos electrones y un protón del estroma para reducir el NADP⁺ a NADPH. (Figura 6 y 7).^{6,13}

La transferencia de electrones desde la ferredoxina al NADP⁺ se denomina ruta de transporte electrónico acíclica. En algunas ocasiones el transporte cíclico de electrones del FSI se acopla con la ATP sintasa para generar ATP en vez de producir NADPH, esto ocurre cuando hay una proporción alta de NADPH/NADP⁺ en

la célula para aceptar todos los electrones generados por la excitación de P_{700} si no que se utilizan para bombear más protones a través de la membrana tilacoide y generar ATP (Figura 9).^{6,13.}

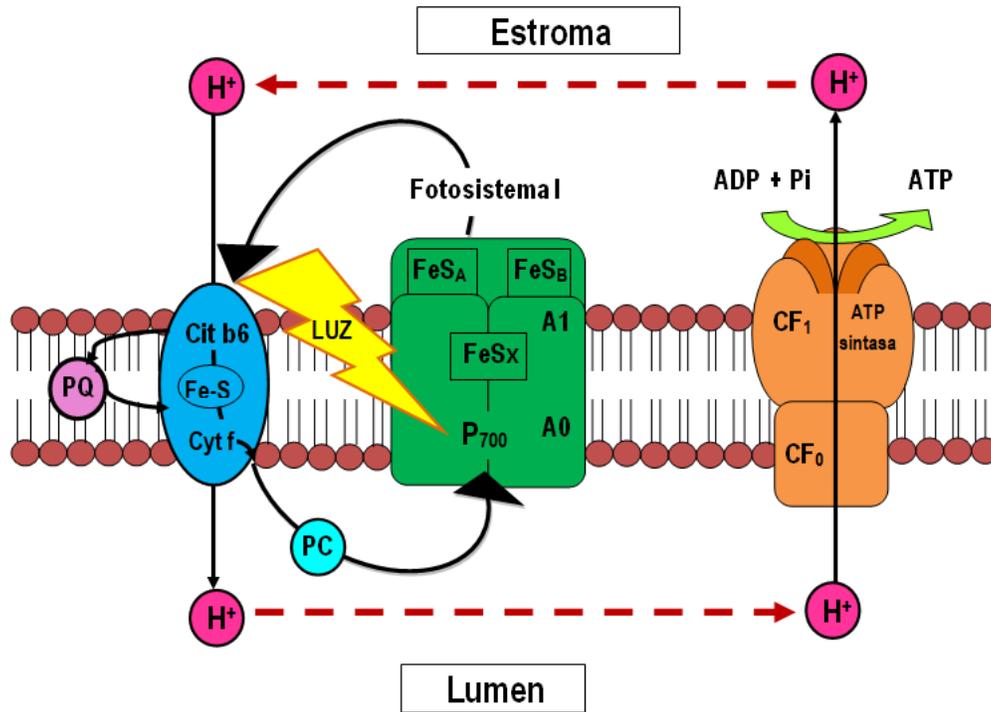


Figura 9. Transporte cíclico de electrones del fotosistema I.

REACCIÓN Y REACTIVOS DE HILL.

Mediante las llamadas reacciones fotoquímicas de la fotosíntesis, o de transferencia de energía, la energía lumínica se transforma en química y es utilizable para la reducción del CO_2 y otros procesos.^{24.}

Estas reacciones se inician con la absorción de luz por los pigmentos fotosintéticos que se encuentran en los tilacoides y como resultado de este tiene lugar la fotólisis del agua, con la consiguiente liberación de oxígeno. Los electrones provenientes de la fotooxidación de la molécula de agua se transportan a través de un conjunto de

componentes intermediarios o transportadores de electrones. Con lo que ocurre en los fotosistemas I y II los electrones alcanzan la energía suficiente para que puedan acoplarse la síntesis de ATP y de NADPH.^{23,24.}

Mediante la reacción de Hill es posible demostrar y caracterizar la relación del transporte de electrones con la reacción lumínica de la fotosíntesis. El NADP⁺, receptor natural final de la cadena de transporte de electrones, toma dos electrones y dos protones y es reducido a NADPH y H⁺. En la reacción de Hill el receptor final es sustituido por los denominados reactivos de Hill; entre los cuales se encuentran la quinona, el 2,6-diclorofenol-indofenol (DCPIP), el hexacianato férrico de potasio III y el cianuro férrico de potasio. Cuando se emplean los aceptores artificiales de electrones adquieren una coloración en estado oxidado, azul el DCPIP y amarillo el ferrocianuro de potasio, y cuando se reducen se tornan a incoloros, por lo que su reducción puede seguirse por la disminución de la absorción de luz en un espectrofotómetro a una longitud de onda adecuada.^{23,24,25.}

LUZ SOLAR Y SU PAPEL EN LA FOTOSÍNTESIS.

-Luz y el espectro electromagnético. - La luz que emite el sol o una bombilla incandescente, es una forma de energía radiante. Cuando se hace pasar por un prisma la luz blanca de una bombilla eléctrica ordinaria, la luz se separa en un espectro continuo o arcoíris de colores. La luz y los demás tipos de radiación se componen de paquetes individuales de energía llamadas fotones.^{1,6,13,26.}

Hay diversos tipos de energía radiante, radiación electromagnética como luz visible, rayos gamma, la radiación ultravioleta y la radiación infrarroja, estas viajan en modo de ondas (Figura 10). Estas ondas se describen mediante los términos de:

Longitud de onda: Representada por la letra griega lambda (λ) que es la distancia entre la cresta de una onda y la cresta de la onda siguiente.^{1,6,13,26.}

Frecuencia: Se representa con la letra griega nu (ν) es el número de ondas que pasan por un punto del espacio determinado en un segundo.^{1,6,13,26.}

La energía de un fotón corresponde a su longitud de onda, los fotones de longitud de onda corta son muy energéticos (de frecuencia alta); y la longitud de onda más larga tiene menor energía (de frecuencia menor) (Figura 10).^{1,6,13,26.}

Luz visible. - El espectro electromagnético abarca longitudes de onda que están comprendidas desde aproximadamente 400nm (luz violeta) hasta alrededor de 750nm (luz roja). Cada color específico de la luz visible: rojo, naranja, amarillo, verde, azul, índigo y violeta, tienen una longitud de onda y una frecuencia diferente. La mezcla de todas las longitudes de onda de la luz visible da por resultado luz blanca.^{1,6,13,26.}

Radiación Ultravioleta. - La radiación ultravioleta UV tiene longitudes de onda más cortas que las de la luz visible.^{26.}

Gama completa de radiaciones electromagnéticas.

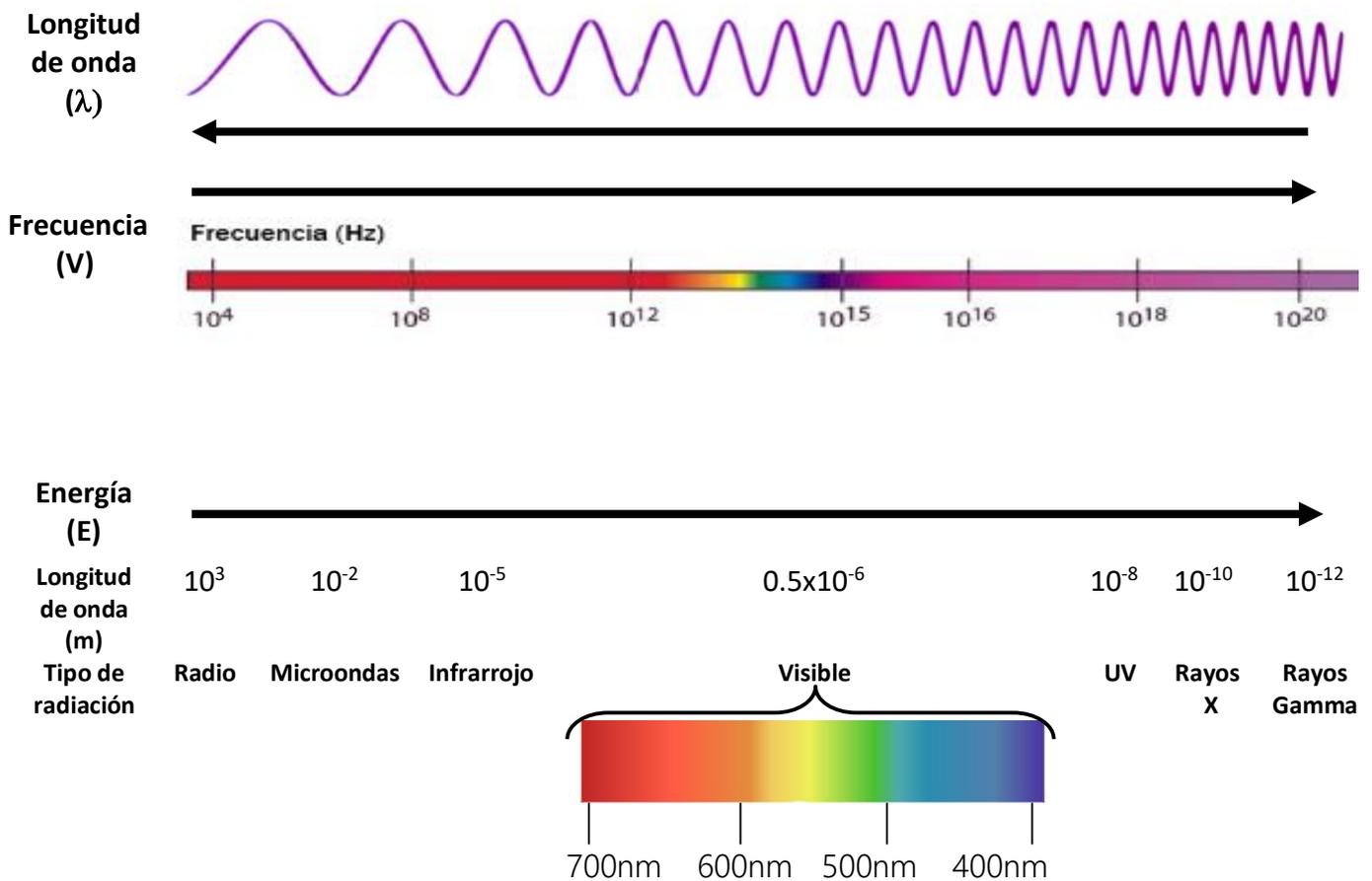


Figura 10. Radiaciones electromagnéticas y comportamiento de los fotones. Entre mayor sea la longitud de onda, menor es la frecuencia y la energía.

Cuando una molécula, por ejemplo un pigmento fotosintético, absorbe un fotón de luz está absorbiendo un cuanto de energía y pueden suceder varias cosas:

1. Que la molécula la absorba (se capta, puede calentar el objeto o impulsar procesos biológicos como la fotosíntesis) y posteriormente la reemita como un fotón de longitud de onda mayor, al regresar a su estado fundamental.¹

2. Que produzca transiciones y cambios electrónicos, vibracionales y rotacionales, manifestados como calor o cambios en la molécula como puede ser la emisión de un electrón.
3. Que se disperse.¹
4. Que se refleje (rebote en el objeto).¹
5. Que se transmita (que pase a través del objeto).¹

Los cloroplastos contienen diversos tipos de moléculas de pigmentos, como por ejemplo las clorofilas a y b, además de los “pigmentos accesorios”. Los pigmentos en conjunto tienen la función de ser fotorreceptores y absorber la luz visible en la fotosíntesis. Cada pigmento tiene un patrón de absorción y a estos se les conoce como espectro de absorción (Figura 11). La clorofila es el pigmento clave captor de luz en los cloroplastos, este absorbe intensamente las luces violeta, azul y roja; pero refleja la luz verde, dando así el color verde a las hojas (Figura 11). Los pigmentos accesorios, absorben longitudes de onda adicionales de energía luminosa y complementan el espectro de absorción, cubriendo las regiones espectrales donde las clorofilas no absorben fuertemente para que esta energía sea transferida a la clorofila a y la utilice en las reacciones en las que interviene. Los carotenoides absorben la luz verde y azul, y reflejan colores amarillo o anaranjados (Figura 11).^{1,10,13,27.}

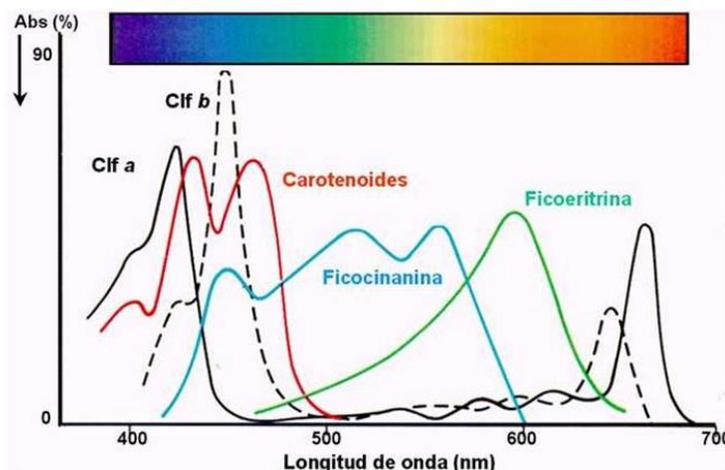


Figura 11. Espectro de absorción de los diferentes pigmentos fotosintéticos. Las dos clorofilas absorben longitudes de onda en la región violeta, azul y roja, mientras que los carotenoides en longitudes de onda violeta, azul y verde.^{27,28.}

- **Absorción por moléculas.** La teoría del orbital molecular dice que cuando dos átomos forman un enlace químico, los electrones de ambos participan en el enlace y ocupan un nuevo orbital; un orbital molecular. Los orbitales atómicos de los átomos que se enlazan se combinan para formar un orbital molecular de baja energía y un orbital molecular de antienlace de alta energía. Los enlaces covalentes pueden ser sigma (σ) o pi (π). De acuerdo con la teoría del orbital molecular, a cada orbital de enlace σ le corresponde un orbital de antienlace σ^* ; y a cada orbital de enlace π tiene su orbital de antienlace π^* . La absorción de radiación ultravioleta visible promueve transiciones electrónicas $\sigma \rightarrow \sigma^*$ (requiere mayor energía) y $\pi \rightarrow \pi^*$ (Figura 12).²⁹ →

Cuando una molécula absorbe un cuanto de energía, se impulsa un electrón desde su orbital de estado basal (el nivel de energía más bajo) a un orbital superior. Para que se produzca la absorción, la diferencia de energía entre los dos orbitales debe ser exactamente igual a la energía del fotón absorbido. Las moléculas complejas suelen absorber energía a varias longitudes de onda como la clorofila y las que no son absorbidas son las que dan el color a las hojas.^{6,29}

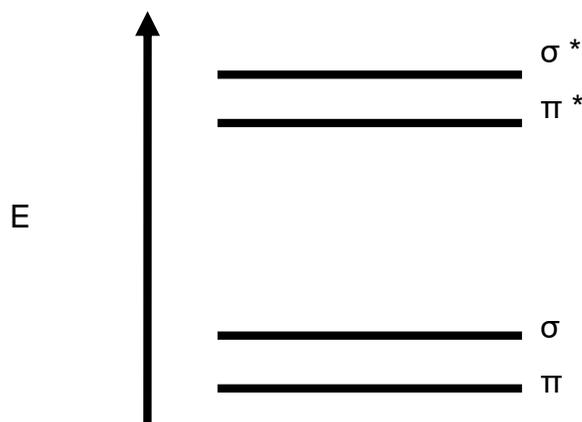


Figura 12. Diagrama de energía de orbitales moleculares.

- **Reacciones de Oxido-Reducción (Redox):** Son consideradas como reacciones de transferencia de electrones. En una oxidación implica la pérdida de uno o más electrones de un átomo o moléculas y una reducción implica una ganancia de electrones. En una reacción existen; el agente reductor que es aquel que dona electrones y el agente oxidante es aquel que acepta los electrones es por eso por lo que siempre que haya una oxidación habrá una reducción asociada, a lo que se le llama reacción óxido-reducción o redox y las sustancias o átomos involucrados se llaman par redox.¹³ En los sistemas biológicos existe un grupo de moléculas llamado transportadores biológicos que pueden ser oxidados en un lugar y reducidos en otro, siendo capaces de transportar electrones de un lado a otro a través del citoplasma, un ejemplo es la nicotinamida-adenin-dinucleótido fosfato (NADP) y el adenosín trifosfato (ATP).

REACCIONES INDEPENDIENTES DE LA LUZ (Fase oscura o biosintética).

Durante las reacciones independientes de la luz, las portadoras energizadas (ATP y NADPH) se mueven hacia el estroma, donde su energía impulsa el ciclo C3. Esto produce gliceraldehído- 3-fosfato (G3P), que se usa para sintetizar glucosa y otros carbohidratos. Después, los transportadores agotados ADP y NADP⁺ se vuelven a cargar usando las reacciones dependientes de la luz para convertirse en ATP y NADPH.^{1,3,30,31,32}

Aceptor de hidrógeno + CO₂ + Energía química del ATP + Enzimas → Glucosa

El ATP y/o NADPH generados fotosintéticamente se usan en una variedad de procesos metabólicos, incluida la asimilación de CO₂, en el ciclo Benson-Calvin, metabolismo de nitratos, lípidos, aminoácidos y síntesis de pigmentos y la modulación de la expresión génica. Diferentes condiciones de estrés puede disminuir la eficiencia de la generación de ATP y NADPH inducida por la luz.³³

Las plantas se pueden clasificar en tipo C3, C4 y CAM, esta clasificación se debe a las reacciones metabólicas que realizan para llevar a cabo la fijación del carbono.

EL CICLO C3 (Plantas C3).

El proceso de captar seis moléculas de dióxido de carbono del aire y fijar el carbono de estas moléculas a la ribulosa-1,5-bisfosfato por medio de la enzima rubisco y usarlas para sintetizar glucosa (azúcar de seis carbonos) tiene lugar en una serie de reacciones conocidas como ciclo de Calvin-Benson o como ciclo C3. Este ciclo requiere CO₂ (comúnmente del aire); el azúcar, *bifosfato de ribulosa* (RuBP); enzimas para catalizar cada una de sus múltiples reacciones; y energía en forma de ATP y NADPH. Toda la energía utilizada en este ciclo fue captada de la luz solar durante las reacciones dependientes de la luz de la fotosíntesis.^{1,34.}

Algunos ejemplos de este tipo de plantas son: Espinaca, arboles, arroz, trigo, avena, soya, papa y cebada.^{9,35,36}

CICLO DE CALVIN.

La ecuación de la reacción general es relativamente simple ya que implica muchos pasos para que esta reacción ocurra.^{13.}



Este ciclo es más fácil de entender si se divide en tres fases: la fijación del carbono, la síntesis del gliceraldehido-3-fosfato (G3P), y la regeneración de ribulosa-1,5-bisfosfato (RuBP).^{1,6.}

- 1. Fijación del carbono:** en este paso se condensan seis moléculas de ribulosa -1,5-bisfosfato (RuBP) con seis moléculas de CO₂ para formar el 2-carboxi-3-

cetorribitol-1,5-bisfosfato que se hidroliza rápidamente para formar dos moléculas de 3-fosfoglicerato (3-PG), esta reacción es catalizada por la enzima ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa (Rubisco) que está en la membrana tilacoide en el lado del estroma. (Figura 13, paso 1).^{6,10,13.}

2. Síntesis del gliceraldehido-3-fosfato (G3P): doce moléculas de 3-fosfoglicerato producidas se van a fosforilar a expensas de doce moléculas de ATP y la enzima fosfoglicerato cinasa para formar 1,3-bis-fosfoglicerato (BPG), que será reducida con una enzima y doce moléculas de NADPH para producir doce moléculas de gliceraldehido-3-fosfato (G3P). (Figura 13, paso 2 y 3).^{6,10,13.}

3. Regeneración de ribulosa-1,5-bisfosfato (RuBP): Este proceso se puede dividir en cuatro pasos:

3.1) Preparación: se inicia con la conversión de algunas moléculas de G3P por medio de la enzima triosa fosfato isomerasa para obtener dihidroxiacetona fosfato (DHAP) (Figura 13, paso 4), esta se va a condensar con porciones de G3P la reacción será catalizada por aldolasa para formar fructosa-1,6-bisfosfato (FBP) (Figura 13, paso 5), que se hidrolizará con la enzima fructosa 1,6-bisfosfatasa obteniendo fructosa 6-fosfato (F-6-P) (Figura 13, paso 6), una de estas moléculas llevará a cabo una serie de reacciones hasta obtener glucosa (Figura 13, paso 7 y 8).^{6,10,13.}

3.2) Reacomodo: Con los productos G3P, DHAP y F-6-F ocurrirán un reacomodo de las cadenas de carbono a través de una serie de reacciones catalizadas por transcetolasa, aldolasa y sedoheptulosa bisfosfatasa para obtener los productos Xilulosa-5-fosfato (Xu-5-P) y Ribosa-5-fosfato (R-5-P) (figura 13, paso del 9 al 12).^{6,10,13.}

3.3) Isomerización: es la conversión de la Xilulosa-5-fosfato con la xilulosa-5-fosfato isomerasa, y de la Ribosa-5-fosfato catalizada por la ribosa-5-fosfato isomerasa a ribulosa-5-fosfato (Ru-5-P) (Figura 13, paso 13 y 14).^{6,10,13.}

3.4) Fosforilación: en este paso se regenera la molécula de ribulosa-1,5-bisfosfato con la que se inició el ciclo de Calvin, esto ocurre por la fosforilación de la Ru-5-P catalizada por la enzima fosforribulosa cinasa además de consumir 6 moléculas de ATP (Figura 13, paso 13 y 14).^{1,13.}

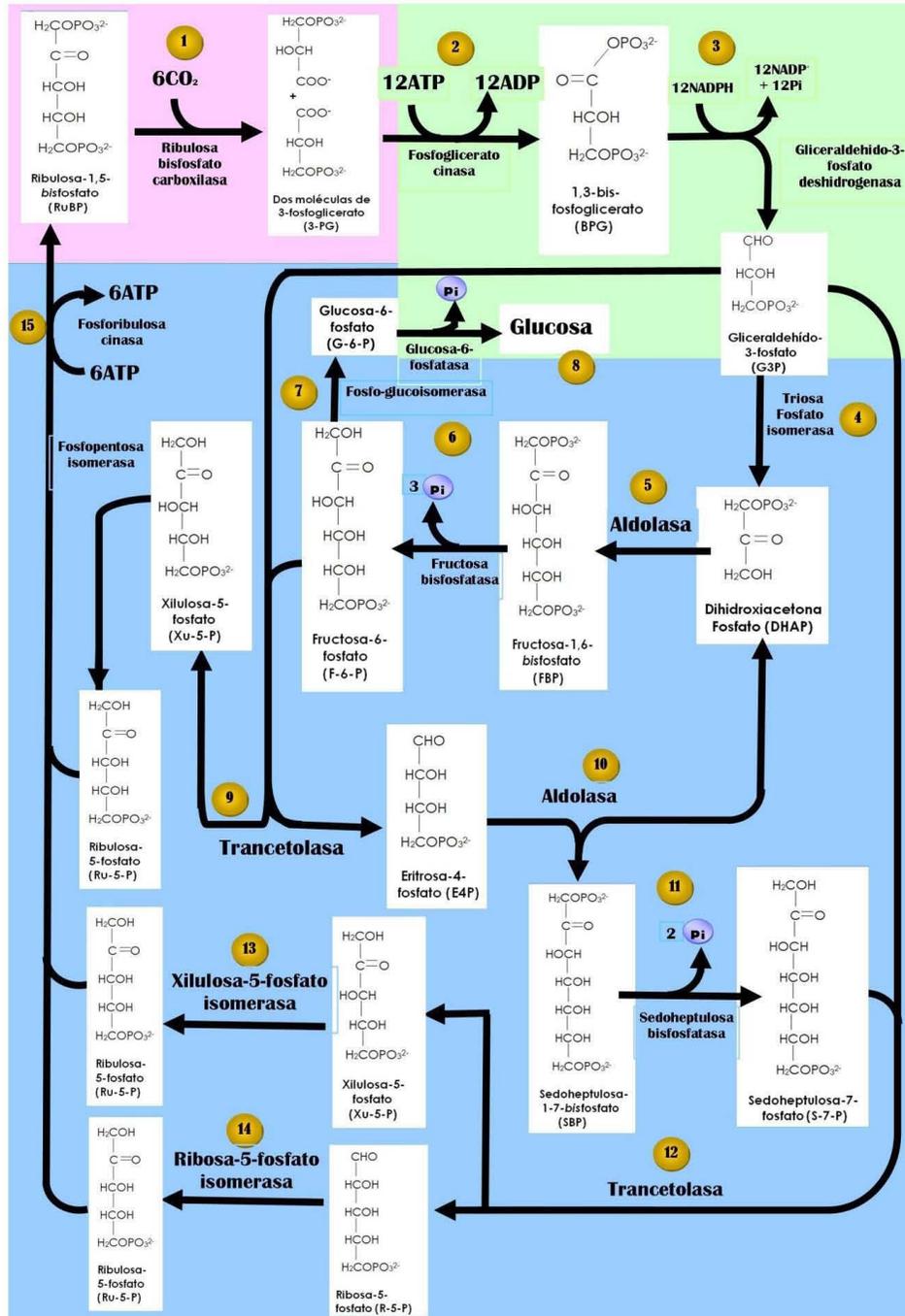


Figura 13. Ciclo de Calvin, ciclo reductor de las pentosas fosfato o ciclo C_3 .^{21,22.}

FOTORRESPIRACIÓN

Hay ocasiones en que las condiciones para las plantas no son favorables para llevar a cabo la fotosíntesis como cuando hay niveles bajos de CO_2 y niveles altos de O_2 , cuando la hoja no tiene suficiente agua o hace mucho calor en el ambiente, estos factores provocan que la planta cierre sus estomas para disminuir la evaporación del agua, pero esto provoca que también disminuya la entrada de CO_2 y la liberación del oxígeno producido en la fotosíntesis. Para este tipo de situaciones todas las plantas llevan a cabo un proceso metabólico llamado fotorrespiración, este proceso se lleva a cabo cuando la enzima rubisco que no es muy selectiva que por lo general actúa como carboxilasa ligada al CO_2 , esta vez actuará como oxigenasa ligada al O_2 (ejemplo de una inhibición competitiva) y nos dará como resultado una molécula de 3-fosfoglicerato y una de fosfoglicolato, esta se va a hidrolizar dando como resultado glicolato que va a salir del cloroplasto para difundir hacia los peroxisomas para que después de una serie de reacciones se obtenga glicina que va a difundirse hacia las mitocondrias donde ocurrirá una serie de reacciones en las que dos moléculas de glicina se convertirán en CO_2 y glicerato que llegará al cloroplasto y será fosforilada por ATP para obtener 3-fosfoglicerato que puede ser utilizado para realizar el ciclo de Calvin (Figura 14).^{4,6,10,13.}

La fotorrespiración es una vía fundamental para las plantas para que parte del carbono sea utilizado aunque la enzima rubisco fijó oxígeno, aunque el precio de este proceso es que no haya producción de energía útil, exista un gasto mayor de ATP y NADPH, además de que no se realice la síntesis de glucosa en las reacciones independientes de la luz.^{4,6,10,13.}

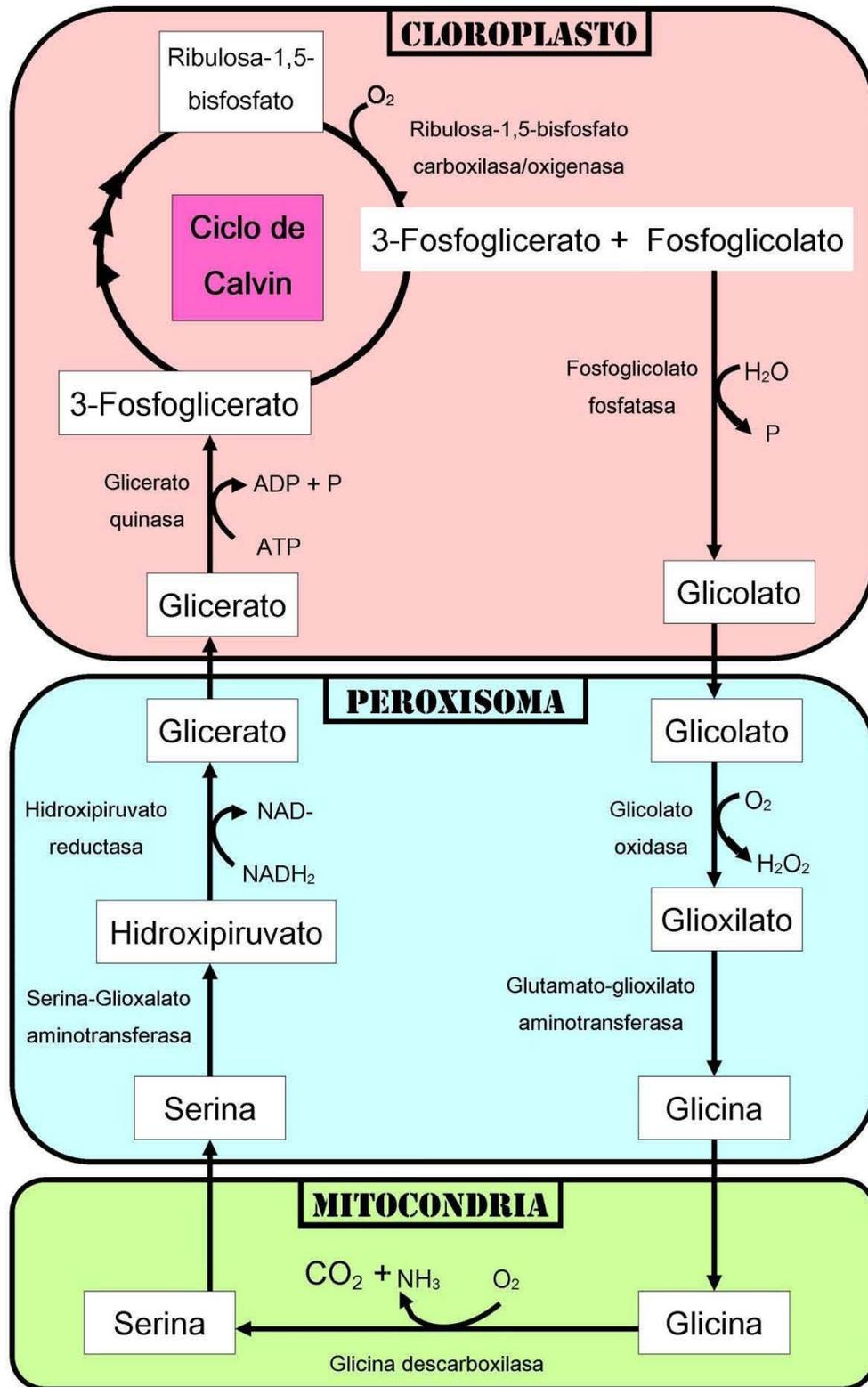


Figura 14. Esquema del proceso de la fotorrespiración.

PLANTAS C4

Las plantas han tenido que evolucionar, principalmente las que se encuentran en climas relativamente cálidos y secos donde se han tenido que adaptar a intensidades luminosas y temperaturas altas, además de sequías. Estas plantas se conocen así porque el oxalacetato, que es una molécula de cuatro carbonos desempeña un papel destacado en la ruta bioquímica conocida como vía de Hatch-Slack o ruta C4, que evita el proceso derrochador de la fotorrespiración. Algunos ejemplos de las plantas C4 son: Maíz, rosas, trigo sorgo, y caña de azúcar. ^{1,6,27,36,37.}

Las plantas C4 tienen en sus hojas dos clases de células fotosintetizadoras: las células mesofílicas y las de la vaina del haz, que ambas tienen cloroplastos en su interior, a comparación de las plantas C3 que sólo tienen cloroplastos en las células mesofílicas donde se lleva a cabo la fotosíntesis (Figura 15). ^{1,6.}

Células en las hojas de planta C3

Células en las hojas de planta C4

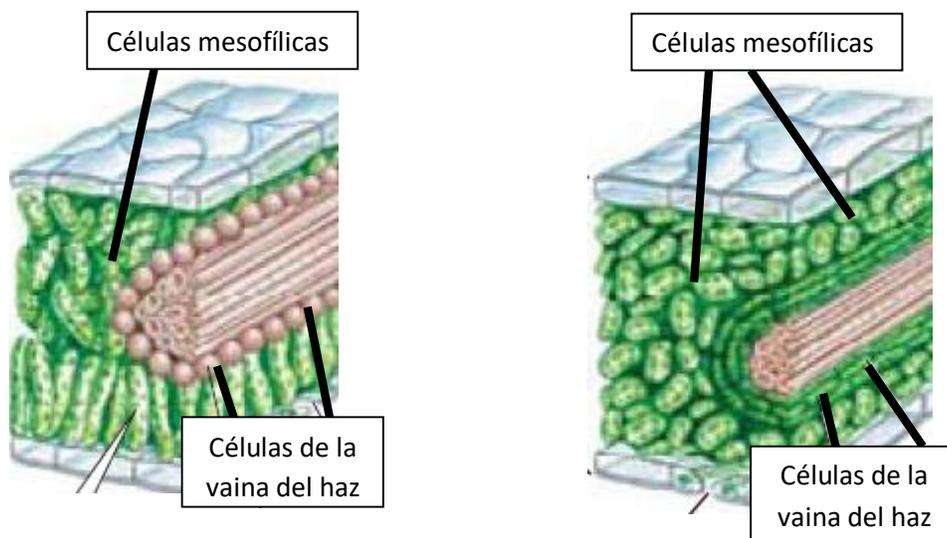


Figura 15. Diferencia de las células en las plantas C3 y C4. ^{1.}

Estas plantas sólo abren sus estomas por la noche cuando baja la temperatura del aire y es menor el riesgo de perder agua, en este momento es cuando incorporan el CO₂. ^{6.}

Los cloroplastos que están dentro de las células mesofílicas de las plantas C4 y se encuentran en contacto con el aire cuando los estomas de las hojas están abiertos incorporarán CO_2 que reaccionará con el fosfoenolpiruvato (PEP) interviniendo la enzima fosfoenolpiruvato carboxilasa que es muy selectiva para el CO_2 a comparación de la rubisco y se forma oxalacetato y P_i . El oxalacetato con la oxidación de NADPH será reducido a malato que después será transportado a través de canales a las células de la vaina del haz donde se descarboxilará para formar piruvato y CO_2 en una reacción donde se reduce el NADP^+ a NADPH, el CO_2 que se obtuvo reacciona con la Ribulosa-1,5-bisfosfato, para comenzar el ciclo de Calvin. El piruvato es transportado de regreso a las células mesofílicas donde es fosforilado hidrolizándose ATP para obtener AMP y PP_i , regenerando de nuevo el fosfoenolpiruvato que puede reaccionar con CO_2 y comenzar de nuevo otra ronda de la vía C4 (Figura 16).^{1,6,9,13,37.}

Aunque en la vía C4 se utilicen dos ATP más que el ciclo de Calvin por cada CO_2 incorporado a la glucosa, el hecho que haya abundante luz ayuda a producir el ATP extra necesario en las reacciones de la fase luminosa.^{13.}

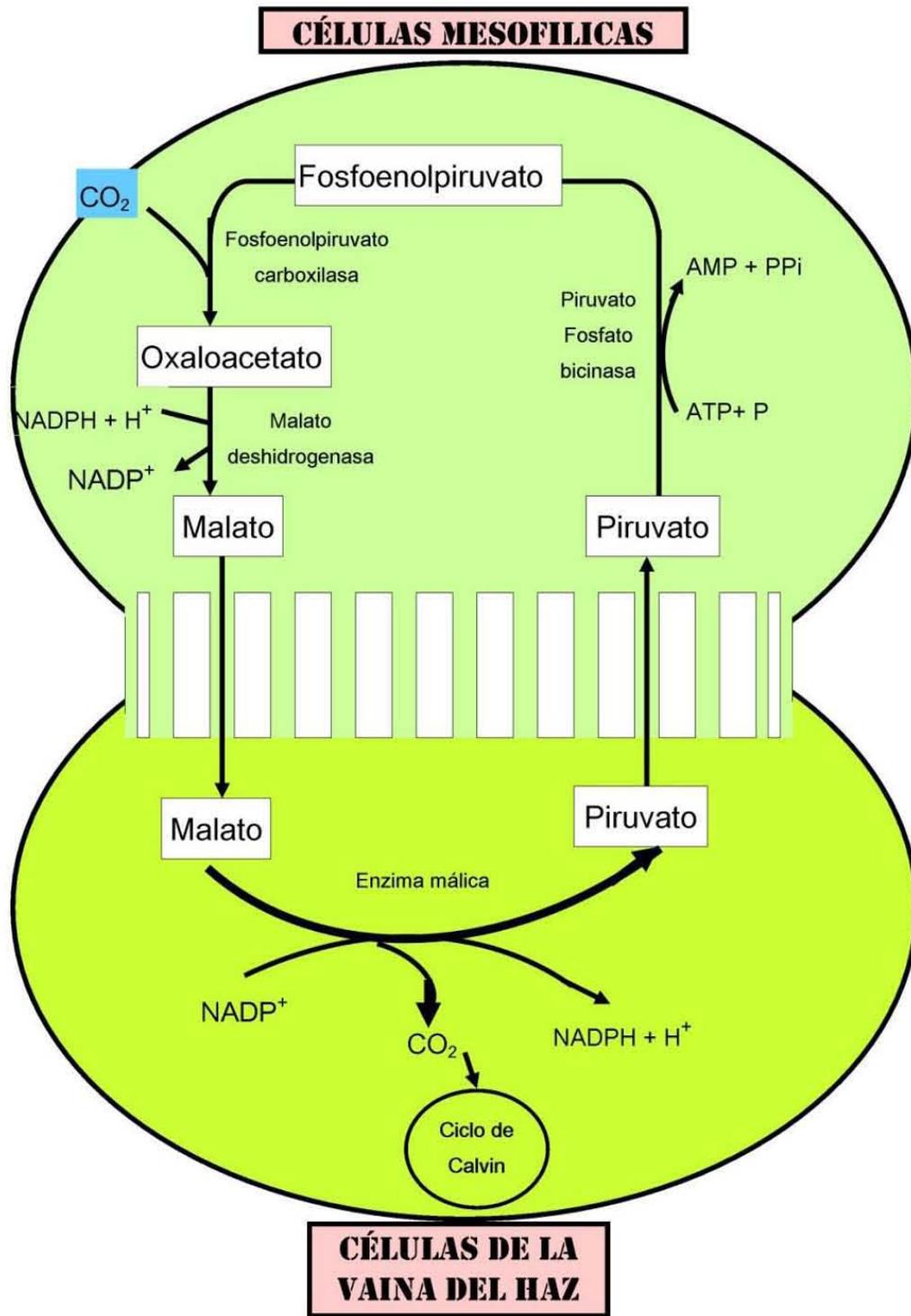


Figura 16. Vía de Hatch-Slack o vía C4.

PLANTAS CAM.

Existen las plantas conocidas CAM que utilizan un metabolismo del ácido crasuláceo, llamado así porque fue descubierto en plantas de la familia Crassulaceae. Quienes llevan a cabo este metabolismo son las plantas almacenadoras de agua (llamadas suculentas o carnosas), diversos cactus, la piña y otros tipos de plantas con flores, suelen crecer en regiones de intensidad luminosa alta y un aporte de agua limitado. El CAM es muy parecido al metabolismo que emplean las plantas C₄, las plantas CAM para no tener una pérdida considerable de agua a causa de la evaporación del agua en la hoja, lo que hacen es que durante la noche cuando el ambiente está más fresco abren sus estomas para absorber el CO₂ de la atmósfera que se incorporará al oxalacetato mediante la fosfoenolpiruvato carboxilasa para almacenarlo como malato en las vacuolas para que a la mañana siguiente durante el día cuando los estomas están cerrados el malato acumulado durante la noche se dirija hacia los cloroplastos, donde sufrirá una descarboxilación y donde se obtendrá CO₂ para llevar a cabo el ciclo de Calvin, donde se obtendrá piruvato y las reacciones de la fase luminosa proveerán ATP, NADPH y H⁺ (Figura 17).^{6,10,37.}

La cantidad de PEP que se necesita para almacenar el suministro de CO₂ se obtiene de la degradación de almidón por medio de la glucólisis y el piruvato que se obtuvo en la descarboxilación del malato se usará para resintetizar almidón.^{6,10,37.}

La diferencia más significativa entre el metabolismo C₄ y el CAM es la separación de las reacciones de la carboxilación del PEP y el ciclo de Calvin en las plantas C₄ los dos procesos están separados por dos tipos de células y en las plantas CAM están separados temporalmente en el día y en la noche y se llevan a cabo dentro de las células mesofílicas (Figura 16 y 17).^{6,10.}

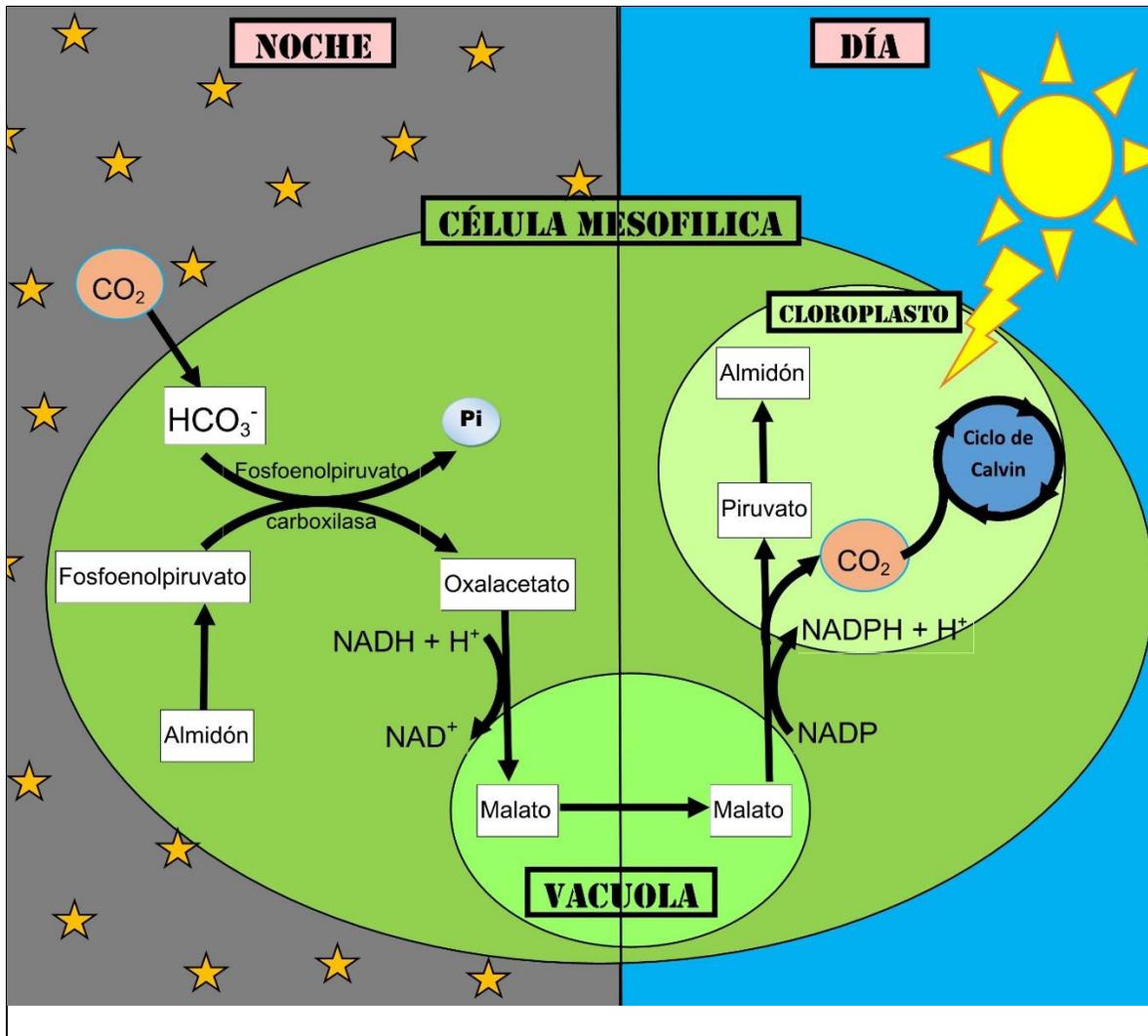


Figura 17. Metabolismo del ácido crasuláceo o CAM.

CARACTERÍSTICAS DE LA ESPINACA.

Nombre científico: *Spinacea oleracea*

Esta planta es una verdura de hoja verde que consiste en un pequeño tallo corto alrededor del cual crece un manojo de hojas sagiformes, lisas, que forman un ramillete, es una planta rica en Hierro y en otros múltiples nutrientes.^{38,39.} (Figura 18)

Cultivo y cosecha

Las semillas se pueden sembrar durante todo el año, aunque la época ideal resulta la primavera. Se recomienda realizar una pre-siembra en semillero, enterrando bien las semillas y sin regarlas hasta que germinen, manteniéndolas en un lugar cálido y a la sombra. Las espinacas son exigentes en cuanto a la tierra donde crecen pues requieren tierra muy rica en nutrientes y especialmente en nitrógeno, de buena estructura física, ligeramente suelta y con pH neutro, ya que tanto la alcalinidad como la acidez perjudican cada una a su manera. Un buen drenaje, también es fundamental.³⁸

La espinaca prefiere climas frescos con temperatura promedio de 15 a 18°C tolerando extremos promedios de 4 a 24°C; temperaturas prolongadas a las temperaturas extremas puede afectar el desarrollo comercial de la planta.³⁹

Si bien gusta de la luz, es importante no someterla al sol intenso de las horas cercanas al mediodía. Es mejor que “tome sol” durante las primeras horas de la mañana, Muchos cultivares de espinaca muestran una reacción foto periódica ya que los días largos estimulan la floración, lo que puede ser alterado a su vez por el factor temperatura.^{38,39}



Figura 18. Espinacas.

Planteamiento del problema

Debido a que cada día en el mundo hay nuevos descubrimientos y por lo tanto, nuevos conocimientos y avances tecnológicos, es importante actualizar de forma periódica la información que se les brindará a los alumnos ya que un profesional siempre debe estar actualizado y a la vanguardia, es por eso que con este proyecto se busca actualizar un tema de suma importancia para los seres vivos como lo es el tema de fotosíntesis, que está incluido en el temario de la materia de Bioquímica Celular y de los Tejidos I (BCT I) de la carrera de Química Farmacéutico Biológica (Q.F.B.) en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. En esta actualización, se propone realizar una práctica acerca del tema de fotosíntesis para que más adelante se pueda implementar en el laboratorio de BCT I en la cual se pueda observar la capacidad fotosintética de algunas plantas a partir del aislamiento de cloroplastos o sus pigmentos, facilitando así el comprender, observar, profundizar y facilitar el aprendizaje del tema de fotosíntesis por los alumnos en el laboratorio de BCT I.

Objetivos

Objetivo general

Actualizar la práctica de fotosíntesis para el laboratorio del módulo de Bioquímica Celular y de los Tejidos I (BCT I).

Objetivos particulares

- Elaborar una propuesta de protocolo con la metodología experimental de la práctica de fotosíntesis para el módulo de BCT I.
- Llevar a cabo la propuesta del protocolo de la práctica de fotosíntesis para comprobar su funcionamiento.
- Probar el protocolo de la práctica de fotosíntesis con alumnos y profesores del laboratorio de BCT I.
- Redactar la práctica con el método ya probado detallando lo que se realizó para que sea reproducible por los alumnos y que tenga el formato de las prácticas ya incluidas en el manual del laboratorio de BCT I.
- Realizar un cuaderno de apuntes donde se expliquen diferentes aspectos del proceso fotosintético, conteniendo las estructuras donde se lleva todo este proceso, además de las interacciones y reacciones involucradas en él.
- Ubicar en la plataforma virtual Moodle de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, del módulo de la materia Bioquímica Celular y de los tejidos I, el cuaderno de apuntes para que esté disponible como material de apoyo para los estudiantes que cursan la materia.

Metodología

- 1) Se realizó una búsqueda bibliográfica y hemerográfica de manera presencial y digital.
- 2) Se revisó y seleccionó la información tanto para redactar el cuaderno de fotosíntesis, elaboración de imágenes, esquemas, cuadros, reacciones además del material y condiciones necesarias experimentales para el laboratorio de BCTI.
- 3) Se elaboró una propuesta del protocolo con la metodología experimental de la práctica de fotosíntesis para el módulo de BCT I, además de conseguir el material y reactivos necesarios para la práctica.
- 4) Se llevó a cabo la parte experimental de la práctica para comprobar su funcionamiento y realizar las correcciones pertinentes.
- 5) Se estandarizó y realizó la práctica con alumnos del laboratorio de BCT I y se le hicieron correcciones a la práctica.
- 6) Se entregó y revisó la práctica propuesta.
- 7) Al mismo que se fue llevando a cabo la parte experimental se fue redactando el cuaderno de apuntes de fotosíntesis además de ir seleccionando la información se realizaron los esquemas, imágenes y cuadros del material.
- 8) Se realizaron las revisiones y correcciones al cuaderno de fotosíntesis.
- 9) Al ser aprobado se colocó el cuaderno de apuntes de fotosíntesis en la plataforma virtual Moodle de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza y se tiene listo para su incorporación en la plataforma de la Red Universitaria de Aprendizaje (RUA).

Metodología Experimental

a. Aislamiento de cloroplastos.

- 1) Se pesó 10g de espinacas, se lavaron, secaron y cortaron para macerarlas en un mortero frío con 20 mL de buffer Tris-HCl 0.01M pH 7.3 más 10 mL de NaCl 0.9%.

- 2) Se filtró el homogeneizado a través de papel filtro de poro abierto para después centrifugarlo a 3500rpm por 10 minutos.
- 3) Se decantó el sobrenadante y se resuspendió el botón con 10 mL de buffer Tris-HCl frio.

b. Observación de cloroplastos al microscopio.

Se tomó una gota de la suspensión de cloroplastos, y se colocó sobre un portaobjetos y se le puso un cubreobjetos limpio para observar en el microscopio con los objetivos de 10x, 40x y 100x.

c. Preparación de la curva estándar.

Se forró una serie de seis tubos con papel aluminio rotulados como indica la tabla A, éstos serán usados para desarrollar la curva estándar. A cada tubo se le adicionó el volumen correspondiente de la solución indicada.

Tabla A. Elaboración de la curva estándar de reactivo de Hill en el transporte de electrones.

Tubo	Blanco	1	2	3	4	5
mL de solución						
Buffer Tris-HCl 0.01M pH7.3	9mL	9mL	9mL	9mL	9mL	9mL
NaCl 0.9%	1mL	1mL	1mL	1mL	1mL	1mL
Agua destilada	1 mL	0.9 mL	0.8 mL	0.7 mL	0.6 mL	0.5 mL
Suspensión de cloroplastos	0.2 mL	0.2 mL	0.2 mL	0.2 mL	0.2 mL	0.2 mL
Adicionar el 2,6 diclorofenolindofenol hasta el momento que se vaya a leer la curva en el espectrofotómetro.						
2,6- diclorofenolindofenol al 0.02%.		0.1mL	0.2 mL	0.3 mL	0.4 mL	0.5 mL
Agitar cada tubo y leer en el espectrofotómetro a 625nm.						

Experimento 1: Acción de la intensidad de la luz.

- 1) Se realizó el aislamiento y observación de cloroplastos, además de preparar la curva estándar como se indica anteriormente en los puntos a, b y c.
- 2) Se prepararon 4 tubos que se utilizarían como muestras problema (cada uno se utilizó para una intensidad de luz diferente), se cubrieron por separado los tubos con papel aluminio y cada uno se preparó adicionando: 9 mL de buffer TRIS-HCl, 1 mL de NaCl, 0.65 mL de agua, 0.2 mL de suspensión de cloroplastos y 0.35 mL de 2,6-diclorofenolindofenol. Cada tubo se preparó en el momento que se utilizaba.
- 3) Para el tiempo cero se agitaba el tubo preparado se pasaba a una celda y se leía la absorbancia en el espectrofotómetro, una vez hecha la lectura la muestra se colocaba en su tubo de ensayo.
- 4) Para las siguientes lecturas se colocaba el tubo en una gradilla a una distancia de 15 cm de un foco encendido de 25 Watts (Figura 19). Cada dos minutos se vaciaba el contenido del tubo de ensayo a una celda revisando que la muestra no estuviera muy caliente para leer y se determinaba la absorbancia en el espectrofotómetro, al término de cada lectura se regresaba la muestra al tubo y se continuaba el experimento hasta completar 14 minutos. Este sistema se colocó adentro de una caja.
- 5) Se repitieron los pasos 3 y 4 con los diferentes tubos preparados, probando con los focos de 45, 73 y 100 Watts respectivamente.



Figura 19. Forma de montar el sistema para determinar acción de la intensidad de la luz.

Experimento 2: Acción de la temperatura

- 1) Se realizó el aislamiento y observación de cloroplastos, además de preparar la curva estándar como se indica anteriormente en los puntos a, b y c.
- 2) Se prepararon 7 tubos que funcionaban como muestras problema (cada uno se utilizó para una temperatura diferente) se cubrieron por separado los tubos con papel aluminio y cada uno se preparó adicionando: 9 mL de buffer TRIS-HCl, 1 mL de NaCl, 0.65 mL de agua, 0.2 mL de suspensión de cloroplastos y 0.35 mL de 2,6-diclorofenolindofenol. Cada tubo se debe preparar en el momento que se utilice.
- 3) Para el tiempo cero se agitó muy bien el tubo con la muestra y se pasó a una celda y se hizo la primera lectura en el espectrofotómetro, una vez hecha la lectura la muestra se colocaba en su tubo de ensayo.
- 4) Para las siguientes lecturas se colocó el tubo dentro de un baño de agua de 5°C a una distancia de 20 cm de un foco encendido de 73 Watts (Figura 20). Cada dos minutos se vaciaba el contenido del tubo de ensayo a una celda y se determinaba su absorbancia en el espectrofotómetro, al término de cada lectura se regresaba la muestra al tubo para continuar el experimento hasta completar 14 minutos. Durante el experimento se cuidó que la temperatura del baño de agua continuara constante y que al momento de leer en el espectrofotómetro la muestra no estuviera muy fría o caliente. Este sistema se colocó dentro de una caja.
- 5) Se repitió el paso 3 y 4 con los otros tubos preparados, pero cambiando el baño de agua con temperaturas de 5, 15, 25, 45, 60 y 70°C respectivamente.



Figura 20. Forma de montar el sistema para determinar acción de la temperatura.

Experimento 3: Acción de la longitud de onda

- 1) Se realizó el aislamiento y observación de cloroplastos, además de preparar la curva estándar como se indica anteriormente en los puntos a, b y c.
- 2) Se utilizaron 5 tubos de ensayo, cada uno se forró con capas de papel celofán de diferente color: azul claro (3 capas), rojo (2 capas), verde bandera (2 capas), morado (1 capa) y amarillo (3 capas).
- 3) Asimismo se prepararon 5 tubos que se utilizaron como las muestras problema (cada uno se utilizó para una longitud de onda diferente), se cubrieron por separado los tubos con papel aluminio y cada uno se preparó adicionando: 9 mL de buffer TRIS-HCl, 1 mL de NaCl, 0.65 mL de agua, 0.2 mL de suspensión de cloroplastos y 0.35 mL de 2,6-diclorofenolindofenol. Cada tubo se preparó en el momento que se utilizó.
- 4) Para el tiempo cero de cada muestra problema se agitó muy bien el tubo y se pasó a una celda para hacer la primera lectura en el espectrofotómetro y una vez hecha la lectura la muestra se colocó en el tubo de ensayo forrado con papel celofán correspondiente.
- 5) Para las siguientes lecturas los tubos con la muestra forrados con celofán se colocaron en una gradilla a una distancia de 20 cm de un foco encendido de 73 Watts (Figura 21). Cada dos minutos se vaciaba el contenido del tubo de ensayo a una celda y se determinaba la absorbancia en el espectrofotómetro cuidando que la muestra no estuviera muy caliente al momento de leer, al término de cada lectura se regresaba la muestra al tubo correspondiente y se continuó el experimento hasta completar 14 minutos. Este sistema se ubicó adentro de una caja.



Figura 21. Forma de montar el sistema para determinar la acción de la longitud de onda.

Experimento 4: Cromatografía y espectro de absorción de los pigmentos.

Preparación del extracto de pigmentos:

- 1) Se pesó 1.5 g de espinacas se lavaron las hojas, se secaron y cortaron en trozos pequeños para macerar con 4 mL de acetona hasta decolorar las hojas.
- 2) Se vació el contenido del mortero en un tubo de ensayo, se tapó, se agitó y se dejó reposando 10 minutos.
- 3) Se agregaron 4 mL de éter de petróleo al tubo de ensayo, se agitó y se dejó reposar 10 minutos.
- 4) Se separó en un tubo la capa superior de éter de petróleo (extracto de pigmentos).

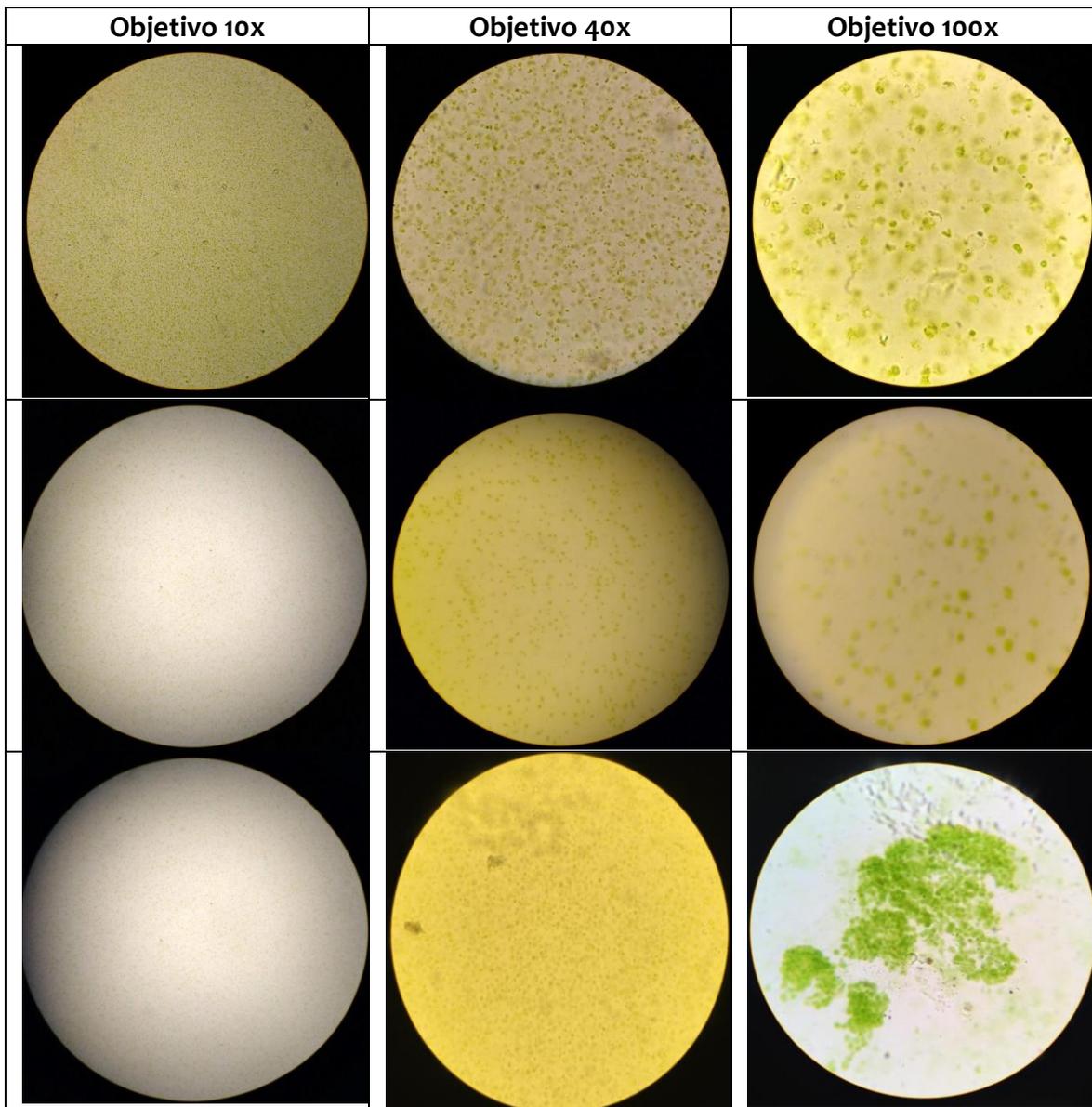
Cromatografía y lecturas de absorbancia:

- 5) Se recortó una tira de papel filtro de poro abierto de 2.5 cm de ancho por 22 cm de largo, se realizaron dos marcas con un lápiz en la orilla de la tira de papel a una altura de 2 cm, se aplicó con un capilar la muestra colocándola entre las dos líneas marcadas teniendo cuidado de no llegar a las orillas del papel, la aplicación de la muestra se debe de repetir de 8 a 10 veces dejando secar la muestra entre cada aplicación.
- 6) Se colocó la tira en un frasco con tapa, preparado con 30 mL de la fase móvil de acetona-éter de petróleo en una proporción 10:90, teniendo cuidado de que la tira de papel no toque las paredes del frasco.
- 7) Al terminar de correr la cromatografía, se sacó la tira de papel marcando la línea del disolvente y se realizaron las mediciones para sacar los R_f de cada pigmento.
- 8) Se cortaron las diferentes bandas de colores que quedaron en la cromatografía y los pedazos de papel de cada banda se colocaron en 3 mL de etanol 71.5° respectivamente y se dejaron reposar por 15 minutos.
- 9) Transcurrido el tiempo se pasó el etanol de cada tubo en una celda diferente para hacer un barrido en el espectrofotómetro registrando las absorbancias cada 10nm desde los 400 hasta los 750nm. El blanco de ajuste fue etanol 71.5° y se utilizó para ajustar a cero de absorbancia cada vez que se hacía el cambio de longitud de onda.

Resultados

OBTENCIÓN DE CLOROPLASTOS OBSERVADOS AL MICROSCOPIO.

Durante todos los experimentos se estuvo obteniendo y observando al microscopio los cloroplastos extraídos de las hojas de espinaca que iban a ser utilizados en los diferentes experimentos de acción de la intensidad de la luz, la temperatura y longitud de onda y estas fueron algunas fotos de lo observado con los objetivos de 10x, 40x y 100x.



ACCIÓN DE LA INTENSIDAD DE LA LUZ.

El experimento se realizó por triplicado, en las tablas 1, 3 y 5 se presentan los resultados de absorbancia y concentración en microgramos del 2,6-diclorofenolindofenol (DCPIP); estos datos se emplearon para construir las curvas estándar graficando la absorbancia contra concentración de DCPIP (Gráficas 1, 3 y 5). Los datos de absorbancia que se fueron obteniendo cada dos minutos en los experimentos se interpolaron para conocer la concentración en microgramos a los diferentes tiempos y a las diferentes intensidades de luz, estos datos fueron anotados en las tablas de resultados (Tablas 2, 4 y 6). Para conocer la cantidad de DCPIP reducido se realizaron una serie de restas en las cuales siempre a la concentración del minuto cero se le fue restando las concentraciones que se fueron obteniendo cada dos minutos hasta el minuto 14, estos valores se anotaron en las tablas de resultados (Tablas 2, 4 y 6), estas restas nos indican la cantidad de DCPIP reducido desde el comienzo a cierto tiempo transcurrido del experimento. Los valores de las últimas restas de la concentración del minuto cero menos el valor del minuto 14 de los diferentes focos (celdas marcadas de color naranja en las tablas de resultados), se utilizaron para realizar una gráfica de columnas para poder comparar la cantidad de DCPIP reducido con cada diferente intensidad de luz (Gráficas 2, 4 y 6).

Experimento 1

Tabla 1. Resultados de la curva estándar del experimento 1 de la acción de la intensidad de la luz.

	Blanco	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5
Concentración (μg)	0	21	42	63	84	105
Absorbancia	0	0.099	0.246	0.364	0.478	0.591

Gráfica 1. Curva estándar 1 de la acción de la intensidad de luz.

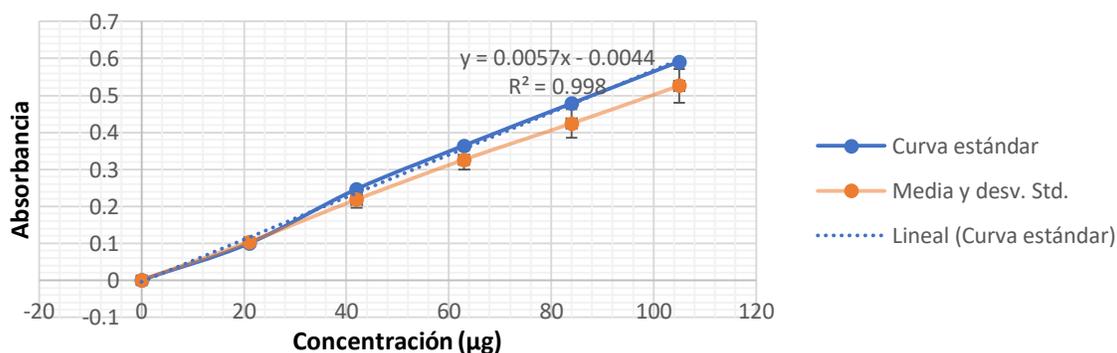
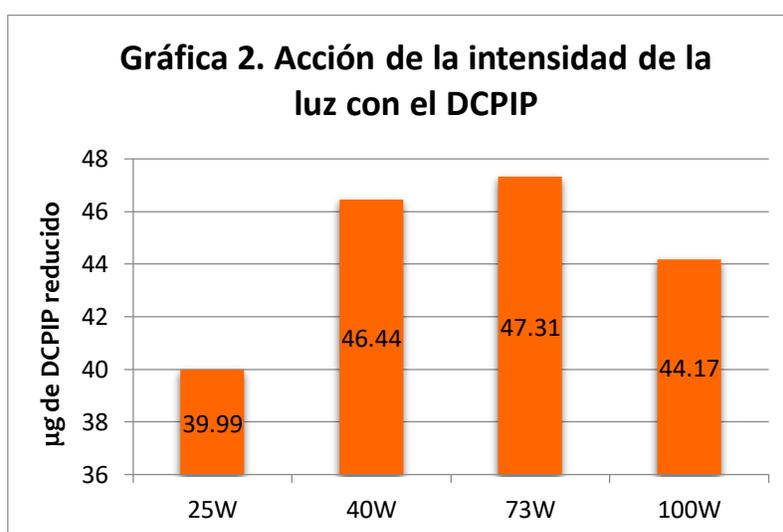


Tabla 2. Resultados del experimento 1 de la acción de la intensidad de la luz.

	Tiempo	Minuto cero	Minuto dos	Minuto cuatro	Minuto seis	Minuto ocho	Minuto diez	Minuto doce	Minuto catorce
25W	Absorbancia	0.413	0.355	0.320	0.295	0.271	0.235	0.210	0.184
	µg de DCPIP	72.87	62.74	56.63	52.27	48.08	41.79	37.43	32.88
	Resta de concent. (µg)		10.13	16.24	20.6	24.79	31.08	35.44	39.99
40W	Absorbancia	0.411	0.363	0.328	0.290	0.251	0.214	0.178	0.145
	µg de DCPIP	72.52	64.14	58.03	51.39	44.58	38.12	31.84	26.08
	Resta de concent. (µg)		8.38	14.49	21.13	27.94	34.4	40.68	46.44
73W	Absorbancia	0.368	0.311	0.270	0.222	0.186	0.151	0.126	0.097
	µg de DCPIP	65.01	55.06	47.90	39.52	33.24	27.13	22.76	17.70
	Resta de concent. (µg)		9.95	17.11	25.49	31.77	37.88	42.25	47.31
100W	Absorbancia	0.411	0.367	0.328	0.279	0.240	0.196	0.184	0.158
	µg de DCPIP	72.52	64.84	58.03	49.47	42.66	34.98	32.89	28.35
	Resta de concent. (µg)		7.68	14.49	23.05	29.86	37.54	39.63	44.17

	25 Watts	40 Watts	73 Watts	100 Watts
µg de DCPIP reducido	39.99	46.44	47.31	44.17



Experimento 2

Tabla 3. Resultados de la curva estándar del experimento 2 de la acción de la intensidad de la luz.

	Blanco	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5
Concentración (µg)	0	21	42	63	84	105
Absorbancia	0	0.100	0.1197	0.310	0.406	0.503

Gráfica 3. Curva estándar 2 de la acción de la intensidad de luz.

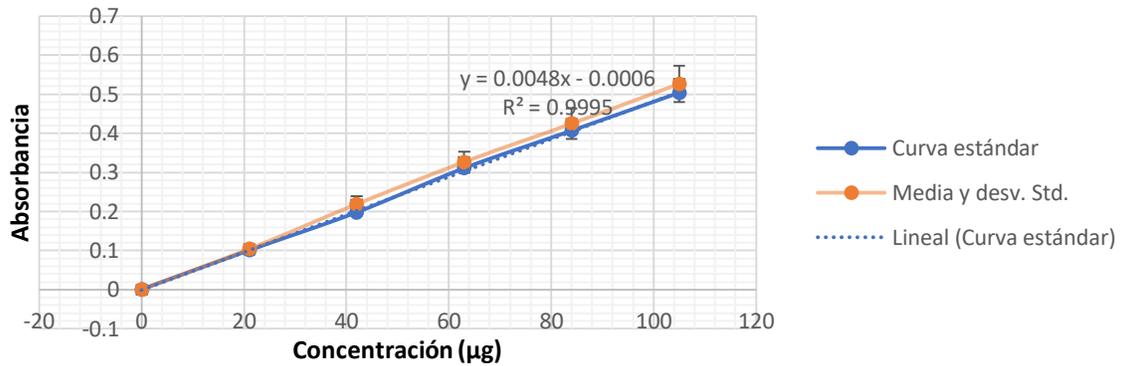
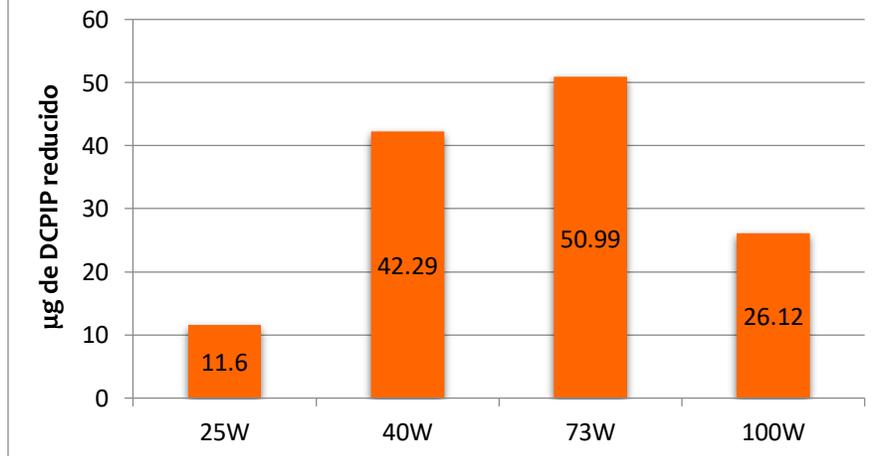


Tabla 4. Resultados del experimento 2 de la acción de la intensidad de la luz.

	25 Watts	40 Watts	73 Watts	100 Watts
µg de DCPIP reducido	11.6	42.29	50.99	26.12

Gráfica 4. Acción de la intensidad de la luz con el DCPIP



Experimento 3

Tabla 5. Resultados de la curva estándar del experimento 3 de la acción de la intensidad de la luz.

	Blanco	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5
Concentración (µg)	0	21	42	63	84	105
Absorbancia	0	0.111	0.211	0.305	0.388	0.485

Gráfica 5. Curva estándar 3 de la acción de la intensidad de la luz.

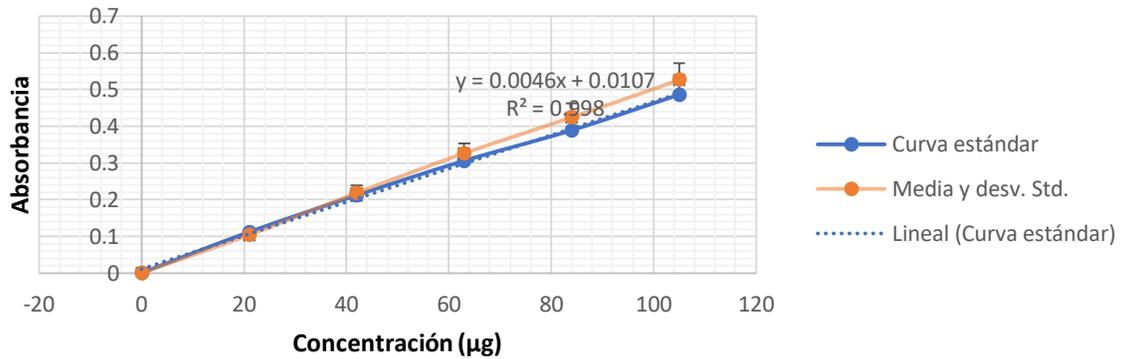
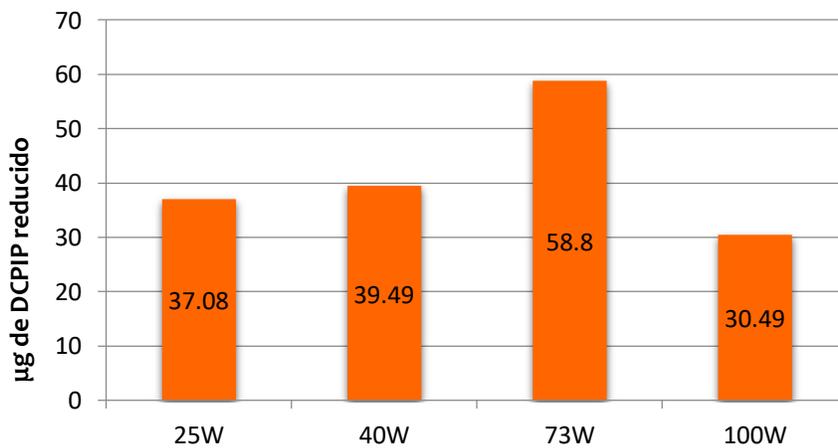


Tabla 6. Resultados del experimento 3 de la acción de la intensidad de la luz.

	25 Watts	40 Watts	73 Watts	100 Watts
µg de DCPIP reducido	37.08	39.49	58.8	30.49

Gráfica 6. Acción de la intensidad de la luz con el DCPIP



Media y desviación estándar de la acción de Intensidad de luz.

En la tabla 7 se presentan la media y desviación estándar de las absorbancias obtenidas en las tres curvas realizadas para la interpretación del efecto de la intensidad de luz, y en la tabla 8 y gráfica 7 se muestran la media y desviación estándar de los resultados obtenidos de μg de DCPIP reducido al evaluar la Intensidad de luz.

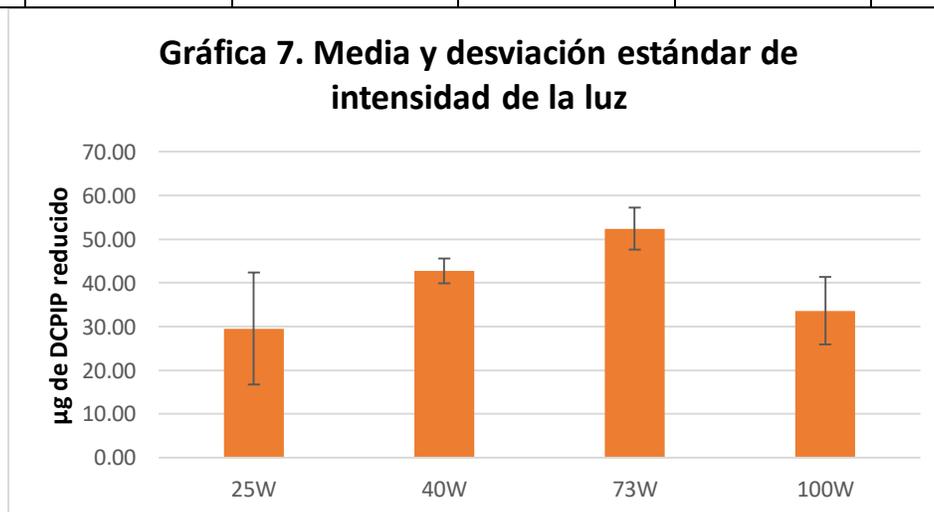
Tabla 7. Valores de media y desviación estándar de las curvas estándar de la acción de Intensidad de luz.

Concentración	Absorbancia				
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Media	Desv. Std
21 μg	0.099	0.1	0.111	0.103	0.005
42 μg	0.246	0.197	0.211	0.218	0.021
63 μg	0.364	0.31	0.305	0.326	0.027
84 μg	0.478	0.406	0.388	0.424	0.039
105 μg	0.591	0.503	0.485	0.526	0.046

Tabla 8. Valores de media y desviación estándar de μg de DCPIP reducido en la valoración de Intensidad de luz

	μg de DCPIP reducido				
	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3	Media	Desv. Std
25W	39.99	11.6	37.08	29.55	12.75
40W	46.44	42.29	39.49	42.74	2.86
73W	47.31	50.99	58.8	52.37	4.79
100W	44.17	26.12	30.49	33.59	7.69

Gráfica 7. Media y desviación estándar de intensidad de la luz



ACCIÓN DE LA TEMPERATURA.

El experimento se realizó por triplicado, en las tablas 9, 11 y 13 se presentan los resultados de absorbancia y concentración en microgramos del 2,6-diclorofenolindofenol (DCPIP); estos datos se emplearon para construir las curvas estándar graficando la absorbancia contra concentración de DCPIP (Gráficas 8, 10 y 12). Los datos de absorbancia que se fueron obteniendo cada dos minutos en los experimentos se interpolaron para conocer la concentración en microgramos a los diferentes tiempos y a las diferentes temperaturas, estos datos fueron anotados en las tablas de resultados (Tablas 10, 12 y 14). Para conocer la cantidad de DCPIP reducido se realizaron una serie de restas en las cuales siempre a la concentración del minuto cero se le fue restando las concentraciones que se fueron obteniendo cada dos minutos hasta el minuto 14, estos valores se anotaron en las tablas de resultados (Tablas 10, 12 y 14), estas restas nos indican la cantidad de DCPIP reducido desde el comienzo a cierto tiempo transcurrido del experimento. Los valores de las últimas restas de la concentración del minuto cero menos el valor del minuto 14 de las diferentes temperaturas (celdas marcadas de color rosa en las tablas de resultados) se utilizaron para realizar una gráfica de columnas para poder comparar la cantidad de DCPIP reducido con las diferentes temperaturas (Gráficas 9, 11 y 13).

Experimento 1

Tabla 9. Resultados de la curva estándar del experimento 1 de la acción de la temperatura.

	Blanco	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5
Concentración (µg)	0	21	42	63	84	105
Absorbancia	0	0.116	0.220	0.348	0.466	0.605

Gráfica 8. Curva estándar 1 de la acción de la temperatura.

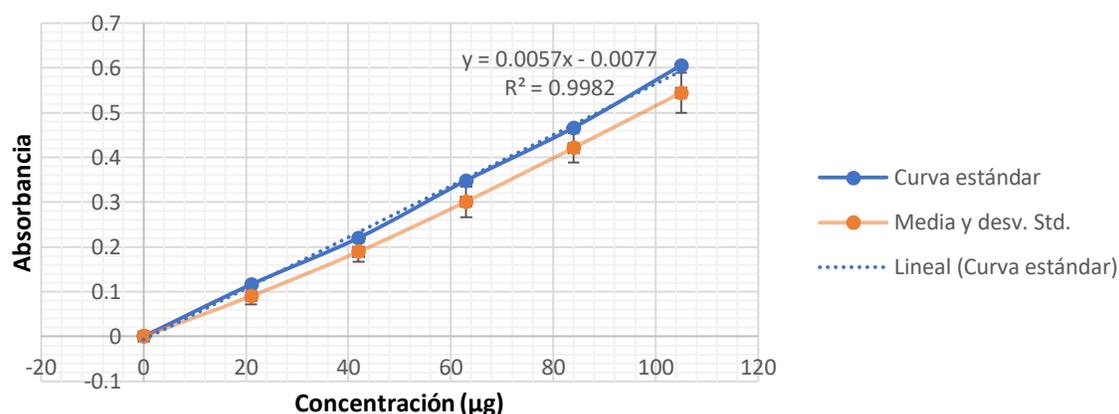
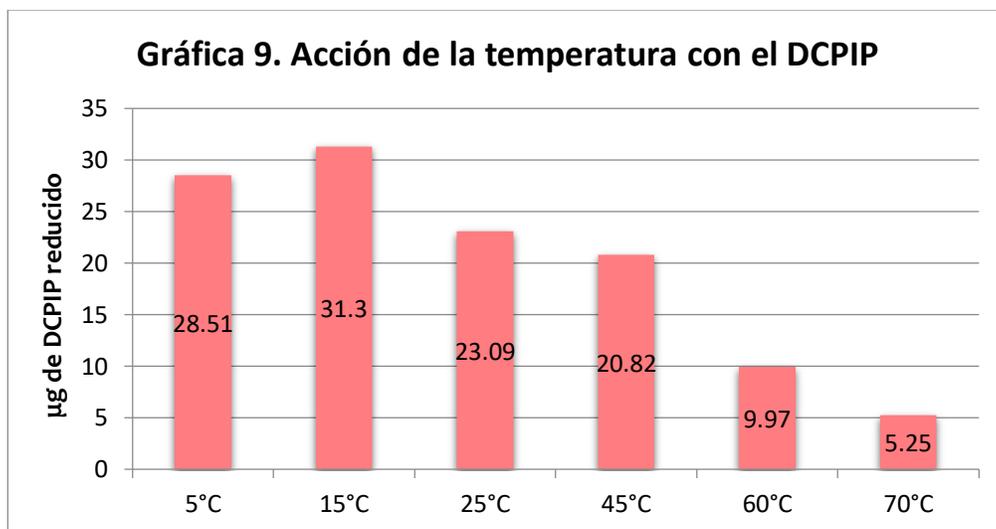


Tabla 10. Resultados del experimento 1 de la acción de la temperatura.

	Tiempo	Min. 0	Min. 2	Min. 4	Min. 6	Min. 8	Min. 10	Min. 12	Min. 14
5°C	Absorbancia	0.424	0.370	0.348	0.324	0.299	0.283	0.270	0.261
	µg de DCPIP	75.50	66.05	62.20	58.01	53.64	50.84	48.56	46.99
	Resta de concent. (µg)		9.45	13.3	17.49	21.86	24.66	26.94	28.51
15°C	Absorbancia	0.428	0.389	0.362	0.335	0.319	0.303	0.285	0.249
	µg de DCPIP	76.19	69.37	64.65	59.93	57.13	54.34	51.19	44.89
	Resta de concent. (µg)		6.82	11.54	16.26	19.06	21.96	25	31.3
25°C	Absorbancia	0.408	0.374	0.353	0.340	0.322	0.309	0.297	0.276
	µg de DCPIP	72.70	66.75	63.08	60.81	57.66	55.38	53.29	49.61
	Resta de concent. (µg)		5.95	9.62	11.89	15.04	17.32	19.41	23.09
45°C	Absorbancia	0.424	0.370	0.336	0.329	0.320	0.306	0.305	0.305
	µg de DCPIP	75.50	66.05	60.11	58.88	57.31	54.86	54.68	54.68
	Resta de concent. (µg)		9.45	15.39	16.62	18.19	20.61	20.82	20.82
60°C	Absorbancia	0.460	0.409	0.409	0.405	0.403	0.403	0.402	0.403
	µg de DCPIP	81.79	72.87	72.87	72.17	71.82	71.82	71.65	71.82
	Resta de concent. (µg)		8.92	8.92	9.62	9.97	9.97	10.14	9.97
70°C	Absorbancia	0.447	0.421	0.418	0.417	0.413	0.415	0.415	0.417
	µg de DCPIP	79.52	74.97	74.45	74.27	73.57	73.92	73.92	74.27
	Resta de concent. (µg)		4.55	5.07	5.25	5.95	5.6	5.6	5.25

	5°C	15°C	25°C	45°C	60°C	70°C
µg de DCPIP reducido	28.51	31.3	23.09	20.82	9.97	5.25



Experimento 2

Tabla 11. Resultados de la curva estándar del experimento 2 de la acción de la temperatura.

	Blanco	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5
Concentración (µg)	0	21	42	63	84	105
Absorbancia	0	0.074	0.171	0.269	0.389	0.497

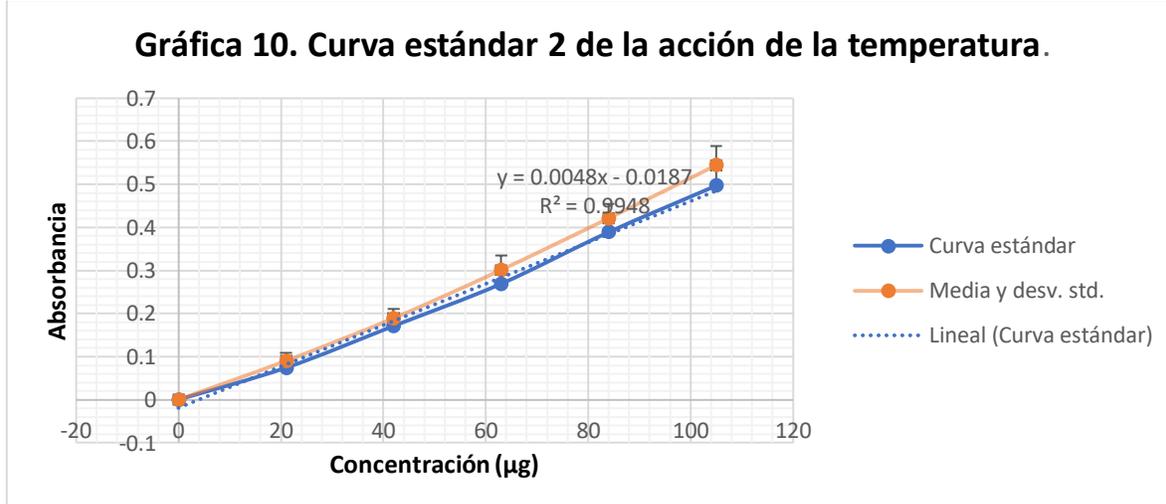
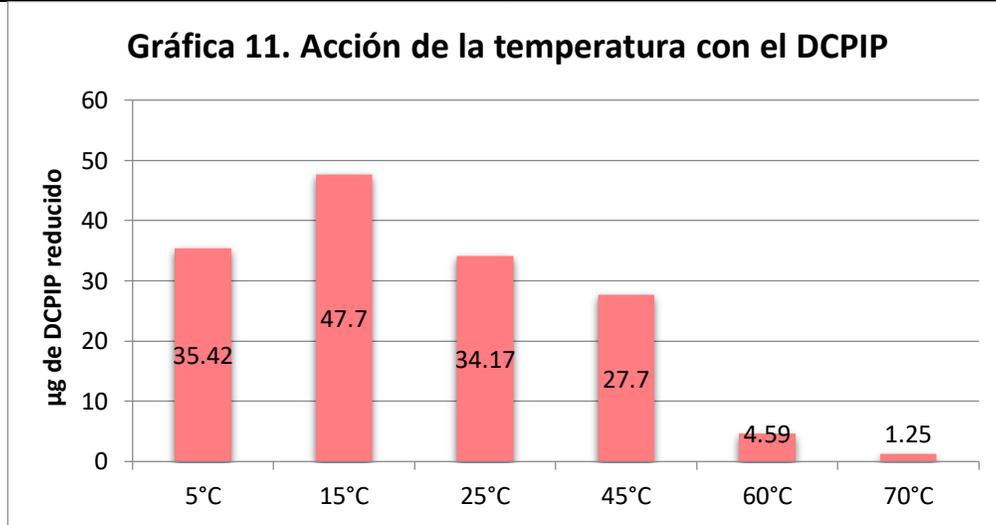


Tabla 12. Resultados del experimento 2 de la acción de la temperatura.

	5°C	15°C	25°C	45°C	60°C	70°C
µg de DCPIP reducido	35.42	47.7	34.17	27.7	4.59	1.25



Experimento 3

Tabla 13. Resultados de la curva estándar del experimento 3 de la acción de la temperatura.

	Blanco	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5
Concentración (µg)	0	21	42	63	84	105
Absorbancia	0	0.079	0.177	0.286	0.407	0.529

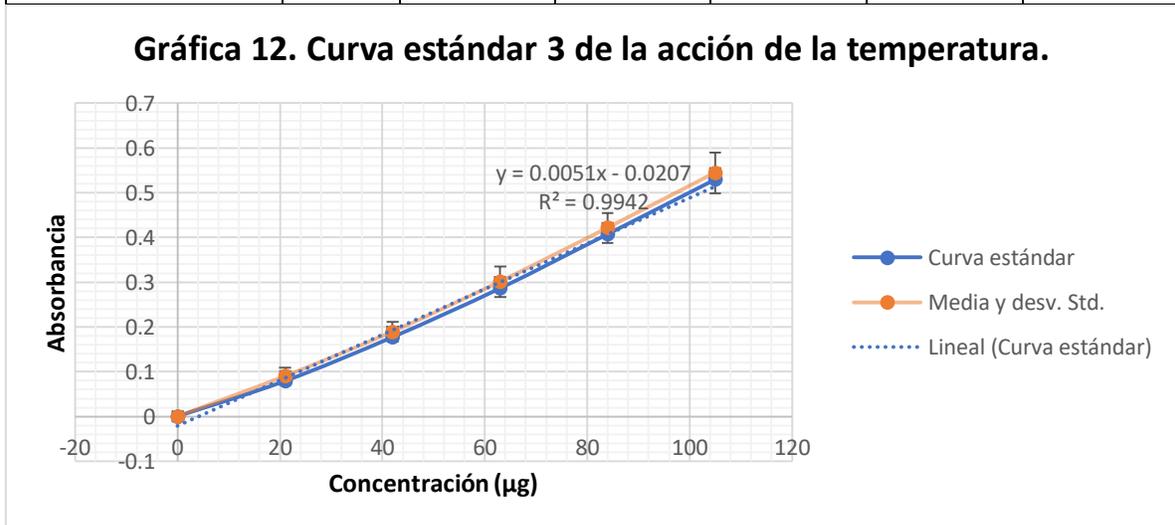
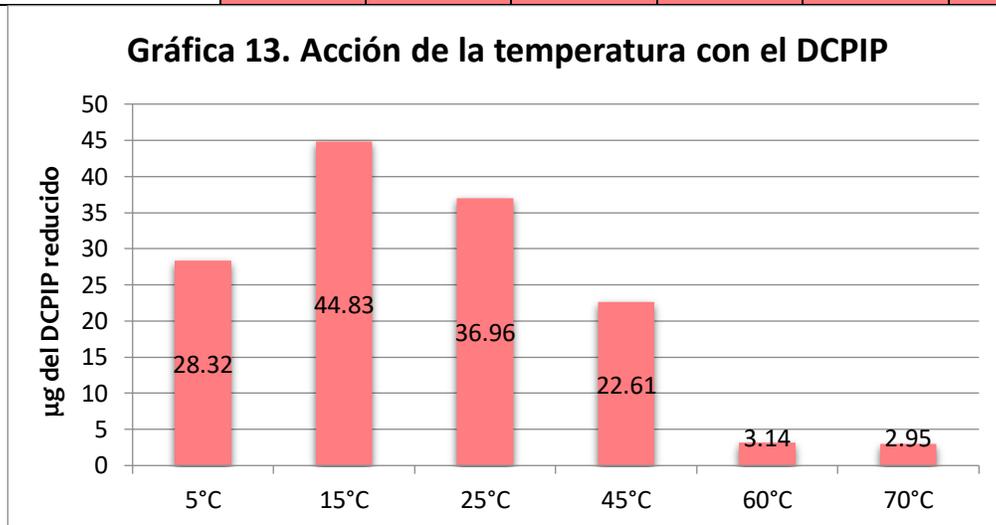


Tabla 14. Resultados del experimento 3 de la acción de la temperatura.

	5°C	15°C	25°C	45°C	60°C	70°C
µg de DCPIP reducido	28.32	44.83	36.96	22.61	3.14	2.95



Media y desviación estándar de la acción de la temperatura.

En la tabla 15 se presentan la media y desviación estándar de las absorbancias obtenidas en las tres curvas realizadas para la interpretación del efecto de la temperatura, y en la tabla 16 y gráfica 14 se muestran la media y desviación estándar de los resultados obtenidos de µg de DCPIP reducido al evaluar la temperatura.

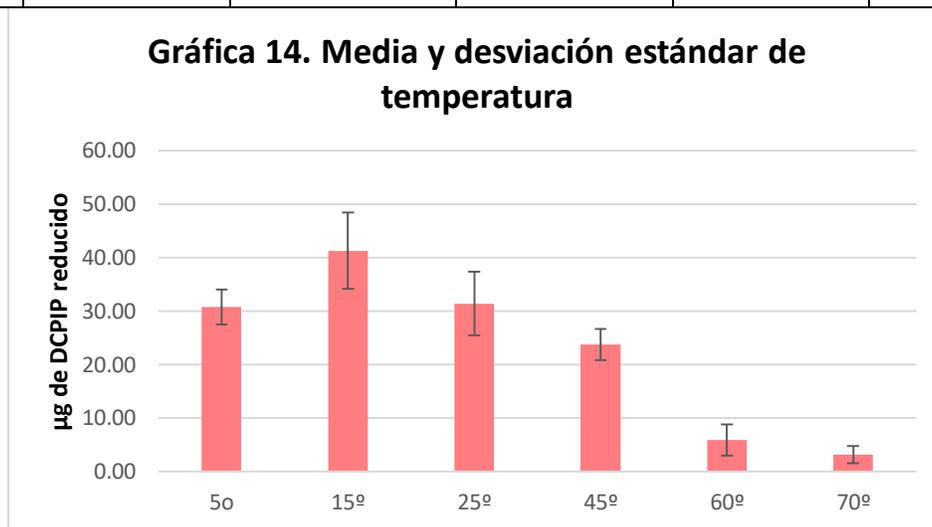
Tabla 15. Valores de media y desviación estándar de las curvas estándar de la acción la temperatura.

Concentración	Absorbancia				
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Media	Desv. Std
21 µg	0.116	0.074	0.079	0.090	0.019
42 µg	0.22	0.171	0.177	0.189	0.022
63 µg	0.348	0.269	0.286	0.301	0.034
84 µg	0.466	0.389	0.407	0.421	0.033
105µg	0.605	0.497	0.529	0.544	0.045

Tabla 16. Valores de media y desviación estándar de μg de DCPIP reducido en la valoración de temperatura.

	μg de DCPIP reducido				
	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3	Media	Desv. Std
5°	28.51	35.42	28.32	30.75	3.30
15°	31.3	47.7	44.83	41.28	7.15
25°	23.09	34.17	36.96	31.41	5.99
45°	20.82	27.7	22.61	23.71	2.91
60°	9.97	4.59	3.14	5.90	2.94
70°	5.25	1.25	2.95	3.15	1.64

Gráfica 14. Media y desviación estándar de temperatura



ACCIÓN DE LA LONGITUD DE ONDA.

El experimento se realizó por triplicado, en las tablas 17, 19 y 21 se presentan los resultados de absorbancia y concentración en microgramos del 2,6-diclorofenolindofenol (DCPIP); estos datos se emplearon para construir las curvas estándar graficando la absorbancia contra concentración de DCPIP (Gráficas 15, 17 y 19). Los datos de absorbancia que se fueron obteniendo cada dos minutos en los experimentos se interpolaron para conocer la concentración en microgramos a los diferentes tiempos y a las diferentes longitudes de onda, estos datos fueron anotados en las tablas de resultados (Tablas 18, 20 y 22). Para conocer la cantidad de DCPIP reducido se realizaron una serie de restas en las cuales siempre a la concentración del minuto cero se le fue restando las concentraciones que se fueron obteniendo cada dos minutos hasta el minuto 14, estos valores se anotaron en las tablas de resultados (Tablas 18, 20 y 22), estas restas nos indican la cantidad de DCPIP reducido desde el comienzo a cierto tiempo transcurrido del experimento.

Los valores de las últimas restas de la concentración del minuto cero menos el valor del minuto 14 de las diferentes longitudes de onda (celdas marcadas de diferentes colores en las tablas de resultados) se utilizaron para realizar una gráfica de columnas para poder comparar la cantidad de DCPIP reducido con las diferentes temperaturas (Gráficas 16, 18 y 20).

Experimento 1

Tabla 17. Resultados de la curva estándar del experimento 1 de la acción de la longitud de onda.

	Blanco	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5
Concentración (µg)	0	21	42	63	84	105
Absorbancia	0	0.120	0.255	0.387	0.513	0.629

Gráfica 15. Curva estándar 1 de la acción de la longitud de onda

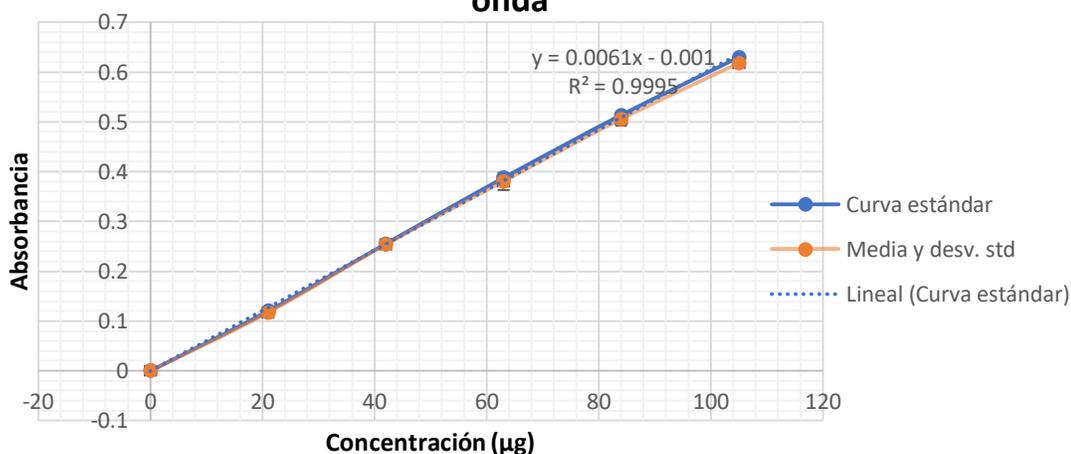
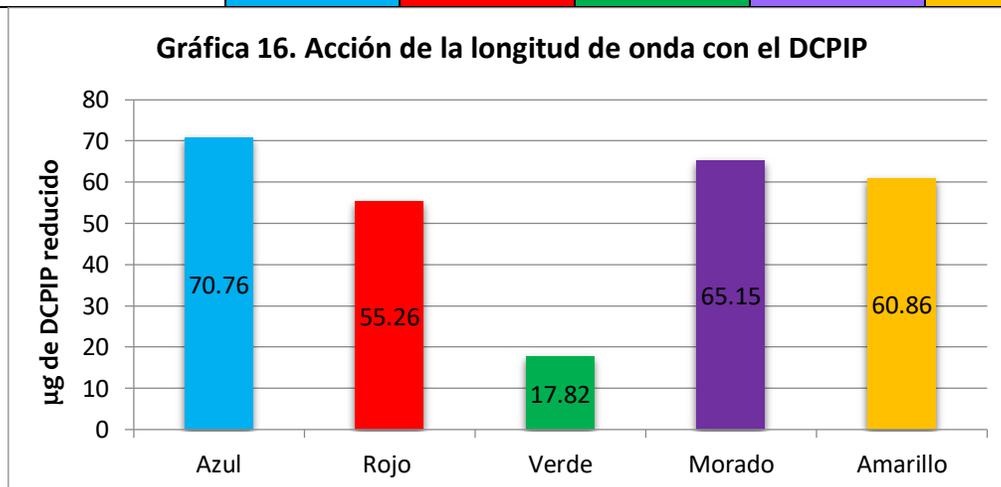


Tabla 18. Resultados del experimento 1 de la acción de la longitud de onda.

Tubos de color	Tiempo	Minuto cero	Minuto dos	Minuto cuatro	Minuto seis	Minuto ocho	Minuto diez	Minuto doce	Minuto catorce
Azul	Absorbancia	0.530	0.326	0.268	0.229	0.187	0.152	0.120	0.101
	µg de DCPIP	87.58	53.93	44.36	37.93	31.00	25.23	19.95	16.82
	Resta de concent. (µg)		33.65	43.22	49.65	56.58	62.35	67.63	70.76
Rojo	Absorbancia	0.445	0.362	0.309	0.262	0.228	0.180	0.148	0.110
	µg de DCPIP	73.56	59.87	51.13	43.37	37.76	29.85	24.57	18.30
	Resta de concent. (µg)		13.69	22.43	30.19	35.8	43.71	48.99	55.26

Verde	Absorbancia	0.467	0.399	0.391	0.386	0.378	0.373	0.369	0.359
	µg de DCPIP	77.19	65.97	64.49	63.83	62.51	61.68	61.02	59.37
	Resta de concent. (µg)		11.22	12.7	13.36	14.68	15.51	16.17	17.82
Morado	Absorbancia	0.490	0.322	0.265	0.227	0.185	0.152	0.120	0.095
	µg de DCPIP	80.98	53.27	43.87	37.60	30.67	25.23	19.95	15.83
	Resta de concent. (µg)		27.71	37.11	43.38	50.31	55.75	61.03	65.15
Amarillo	Absorbancia	0.476	0.358	0.307	0.258	0.218	0.178	0.144	0.107
	µg de DCPIP	78.67	59.21	50.80	42.71	36.12	29.52	23.91	17.81
	Resta de concent. (µg)		19.46	27.87	35.6	42.55	49.15	54.76	60.86

	Azul	Rojo	Verde	Morado	Amarillo
µg de DCPIP reducido	70.76	55.26	17.82	65.15	60.86



Experimento 2

Tabla 19. Resultados de la curva estándar del experimento 2 de la acción de la longitud de onda.

	Blanco	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5
Concentración (µg)	0	21	42	63	84	105
Absorbancia	0	0.114	0.246	0.371	0.482	0.599

Gráfica 17. Curva estándar 2 de la acción de la longitud de onda

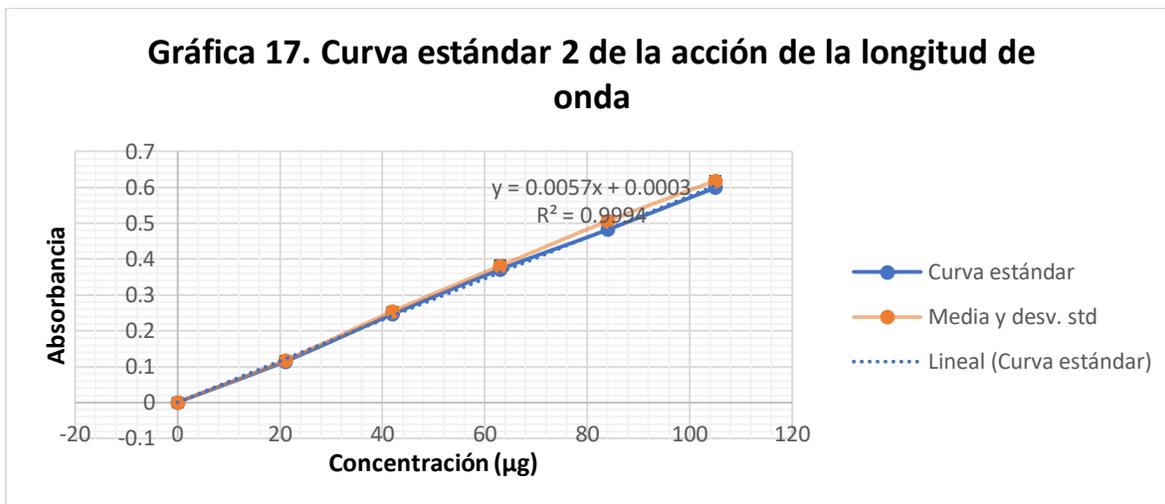
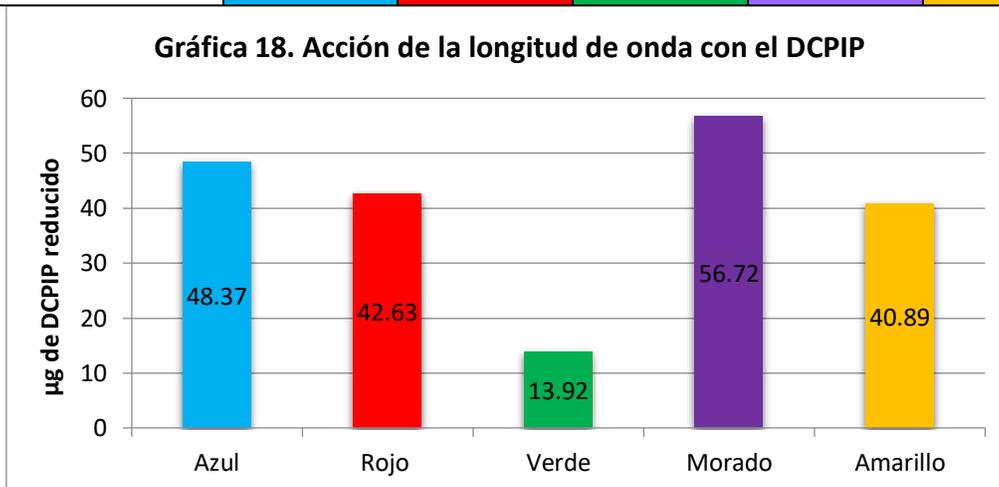


Tabla 20. Resultados del experimento 2 de la acción de la longitud de onda.

	Azul	Rojo	Verde	Morado	Amarillo
µg de DCPIP reducido	48.37	42.63	13.92	56.72	40.89

Gráfica 18. Acción de la longitud de onda con el DCPIP



Experimento 3

Tabla 21. Resultados de la curva estándar del experimento 3 de la acción de la longitud de onda.

	Blanco	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5
Concentración (µg)	0	0.021	0.042	0.063	0.084	0.105
Absorbancia	0	0.117	0.260	0.383	0.521	0.625

Gráfica 19. Curva estándar 3 de la acción de la longitud de onda

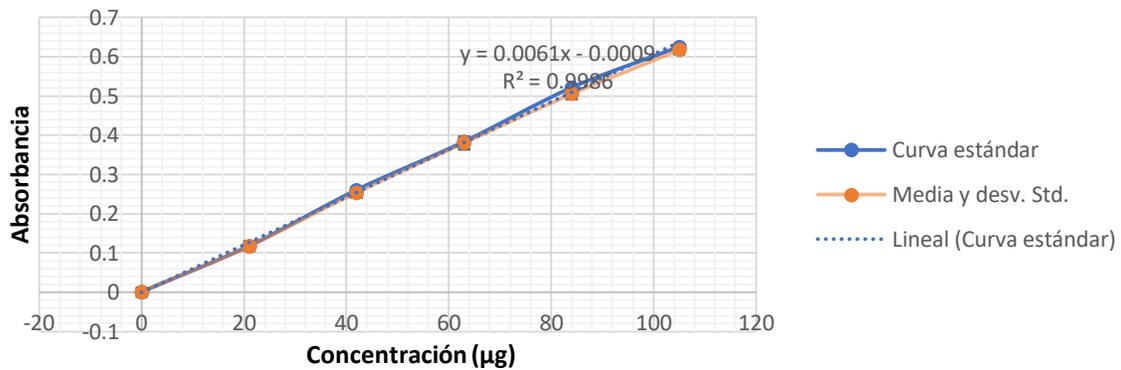
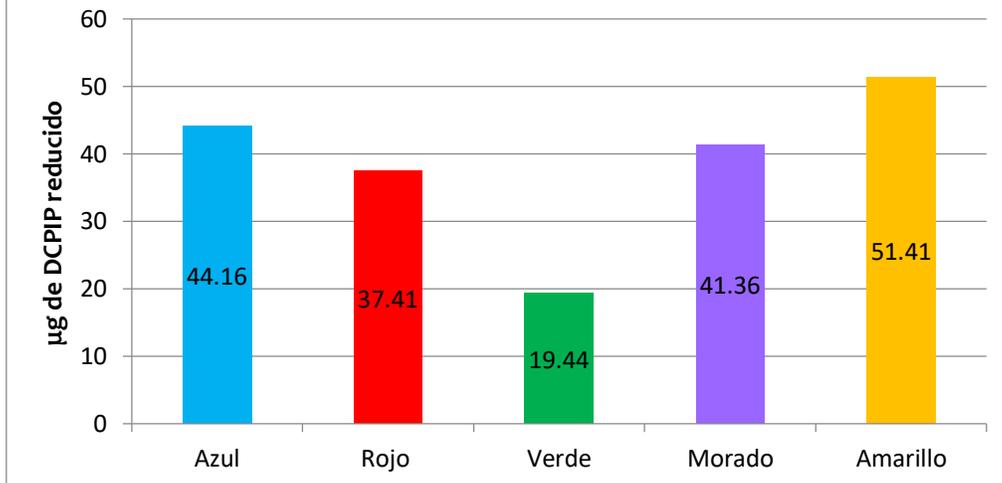


Tabla 22. Resultados del experimento 3 de la acción de la longitud de onda.

	Azul	Rojo	Verde	Morado	Amarillo
µg de DCPIP reducido	44.16	37.41	19.44	41.36	51.41

Gráfica 20. Acción de la longitud de onda con el DCPIP



Media y desviación estándar de la acción de la longitud de onda

En la tabla 23 se presentan la media y desviación estándar de las absorbancias obtenidas en las tres curvas realizadas para la interpretación del efecto de la longitud de onda y en la tabla 24 y gráfica 21 se muestran la media y desviación estándar de los resultados obtenidos de µg de DCPIP reducido al evaluar la Longitud de onda.

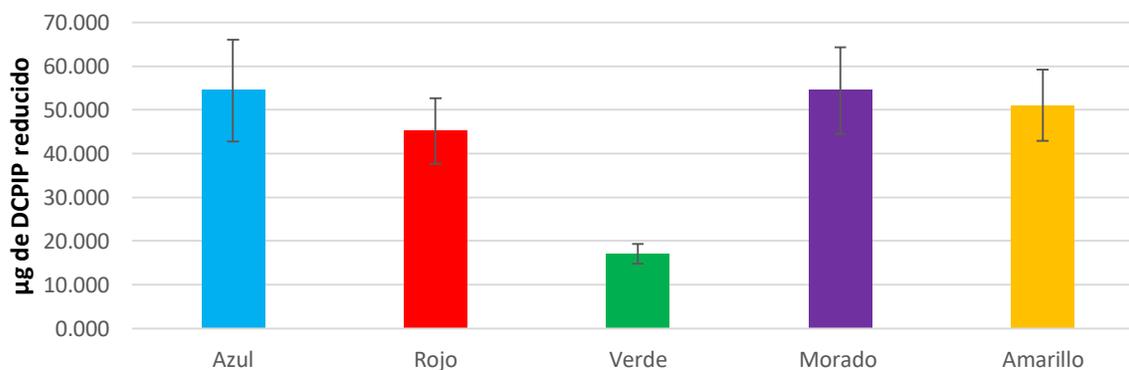
Tabla 23. Valores de media y desviación estándar de las curvas estándar de la acción la longitud de onda.

Concentración	Absorbancia				
	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Media	Desv. Std
21 µg	0.12	0.114	0.117	0.117	0.002
42 µg	0.255	0.246	0.26	0.254	0.006
63 µg	0.387	0.371	0.383	0.380	0.007
84 µg	0.513	0.482	0.521	0.505	0.017
105µg	0.629	0.599	0.625	0.618	0.013

Tabla 24. Valores de media y desviación estándar de µg de DCPIP reducido en la valoración de la longitud de onda.

	µg de DCPIP reducido				
	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3	Media	Desv. Std
Azul	70.76	48.37	44.16	54.43	11.67
Rojo	55.26	42.63	37.41	45.10	7.49
Verde	17.82	13.92	19.44	17.06	2.32
Morado	65.15	56.72	41.36	54.41	9.85
Amarillo	60.86	40.89	51.41	51.05	8.16

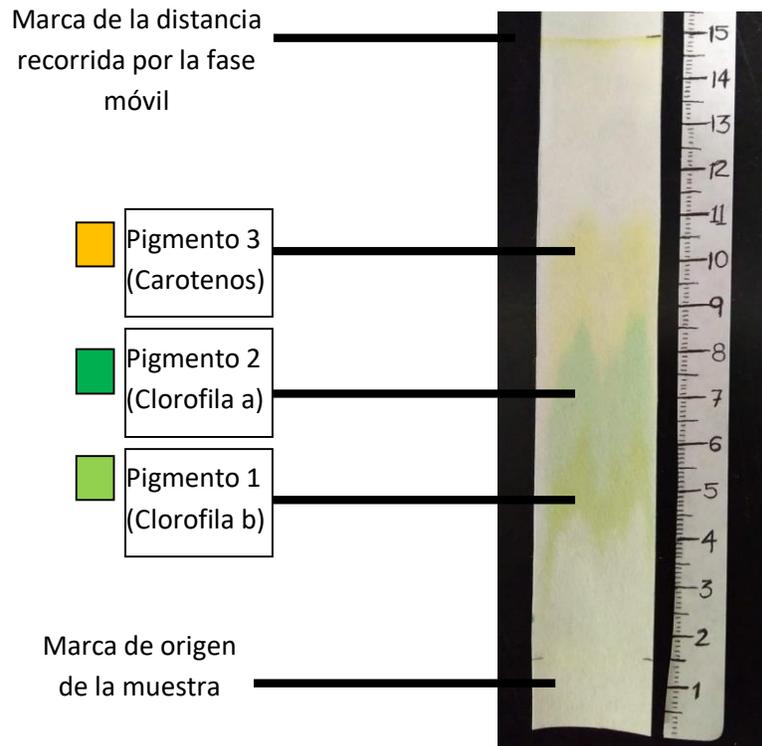
Gráfica 21. Media y desviación estándar de longitud de onda



CROMATOGRAFÍA Y LECTURA DE LOS PIGMENTOS.

Después de realizar la elución de la muestra se midió su R_f a cada una de las bandas de pigmentos separadas, y cada banda se extrajo del papel usando etanol 71.5°, a cada solución de pigmento se le realizó un barrido espectrofotométrico en el rango visible (400-750nm) tomando lecturas cada 10 nm y se anotaron los valores en las diferentes tablas de resultados (Tablas 25, 26 y 27), y se realizaron gráficas de absorbancia contra longitud de onda (nm) (Gráficas 22, 23 y 24) de los tres pigmentos de cada cromatografía

Primera cromatografía en papel de pigmentos de espinaca.



Cálculo del Rf en la primera cromatografía.

Fórmula para calcular el Rf.

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida por el producto}}{\text{Distancia recorrida por la fase móvil}}$$

Pigmento 1 (Clorofila b):

$$R_f = \frac{3.5 \text{ cm}}{13.5 \text{ cm}} = 0.26$$

Pigmento 2 (Clorofila a):

$$R_f = \frac{4.8 \text{ cm}}{13.5 \text{ cm}} = 0.36$$

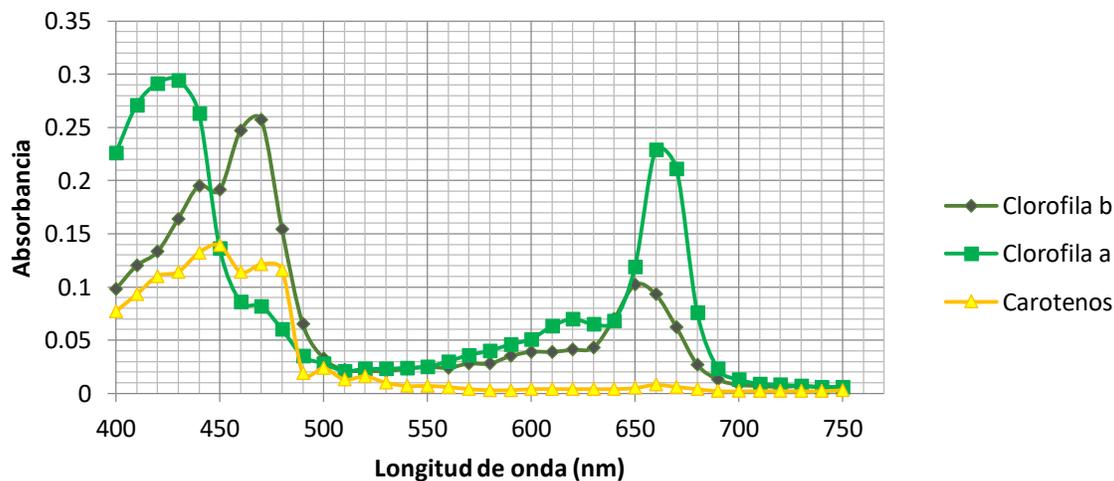
Pigmento 3 (Carotenos):

$$R_f = \frac{8.5 \text{ cm}}{13.5 \text{ cm}} = 0.63$$

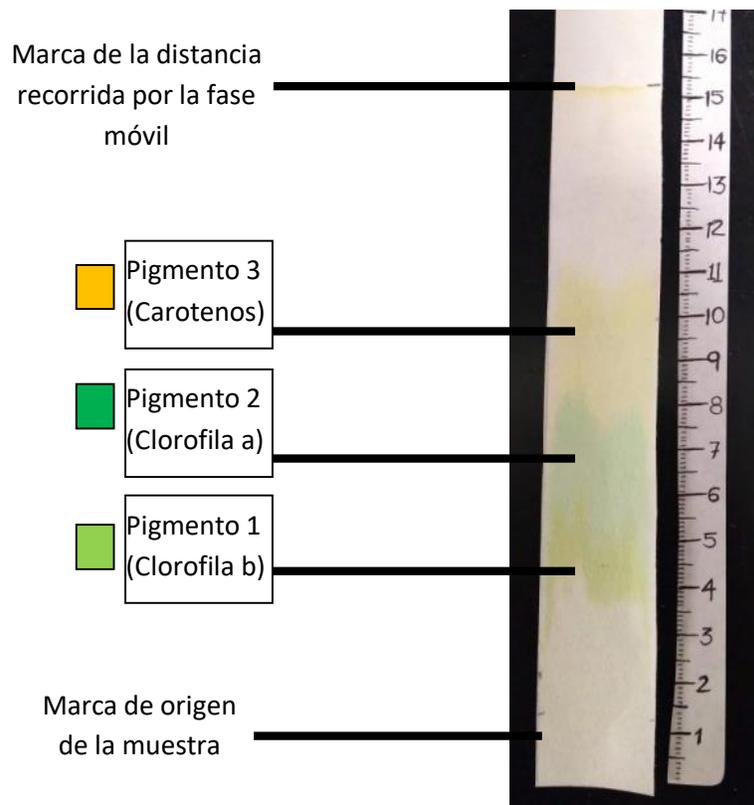
Tabla 25. Resultados del barrido de los pigmentos de la primera cromatografía.

Longitud de onda (nm)	Absorbancias			Longitud de onda (nm)	Absorbancias		
	Pigmento 1 (Clorofila b)	Pigmento 2 (Clorofila a)	Pigmento 3 (Carotenos)		Pigmento 1 (Clorofila b)	Pigmento 2 (Clorofila a)	Pigmento 3 (Carotenos)
400	0,098	0,226	0,077	580	0,028	0,04	0,003
410	0,12	0,271	0,093	590	0,035	0,046	0,003
420	0,133	0,291	0,11	600	0,039	0,051	0,004
430	0,164	0,294	0,114	610	0,039	0,063	0,004
440	0,195	0,263	0,132	620	0,041	0,07	0,004
450	0,191	0,136	0,139	630	0,043	0,065	0,004
460	0,247	0,086	0,114	640	0,07	0,068	0,004
470	0,257	0,082	0,121	650	0,102	0,119	0,005
480	0,154	0,06	0,116	660	0,093	0,229	0,008
490	0,065	0,035	0,019	670	0,062	0,211	0,006
500	0,033	0,028	0,024	680	0,027	0,076	0,004
510	0,022	0,021	0,013	690	0,013	0,023	0,002
520	0,021	0,023	0,016	700	0,008	0,013	0,002
530	0,021	0,023	0,01	710	0,007	0,009	0,002
540	0,023	0,024	0,007	720	0,006	0,008	0,002
550	0,025	0,025	0,007	730	0,007	0,007	0,002
560	0,024	0,03	0,006	740	0,006	0,006	0,002
570	0,028	0,036	0,004	750	0,006	0,006	0,003

Gráfica 22. Barrido de los pigmentos de la cromatografía 1



Segunda cromatografía en papel de pigmentos de espinaca.



Cálculo del Rf en la segunda cromatografía.

Pigmento 1 (Clorofila b):

$$R_f = \frac{3.5 \text{ cm}}{13.8 \text{ cm}} = 0.25$$

Pigmento 2 (Clorofila a):

$$R_f = \frac{5.5 \text{ cm}}{13.8 \text{ cm}} = 0.39$$

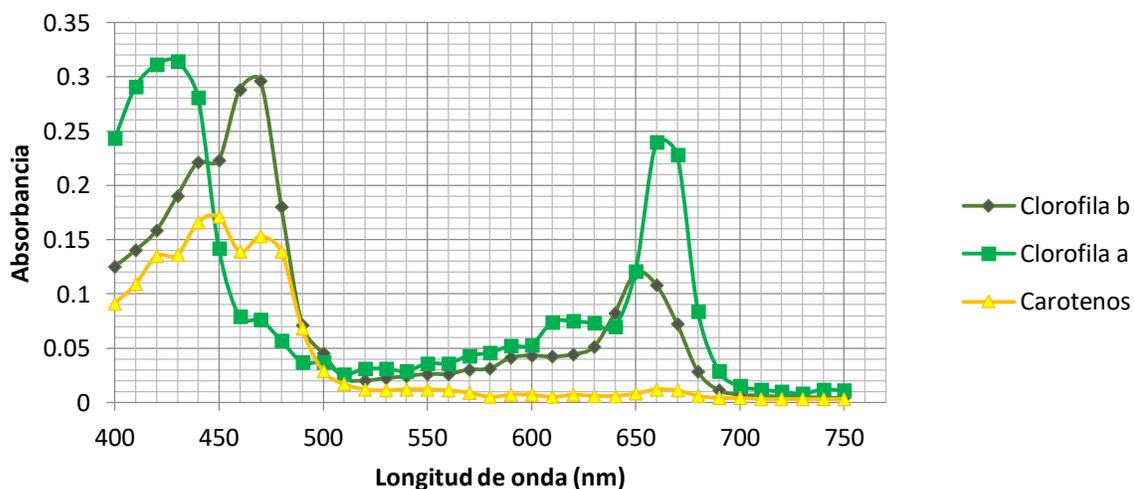
Pigmento 3 (Carotenos):

$$R_f = \frac{8.5 \text{ cm}}{13.8 \text{ cm}} = 0.62$$

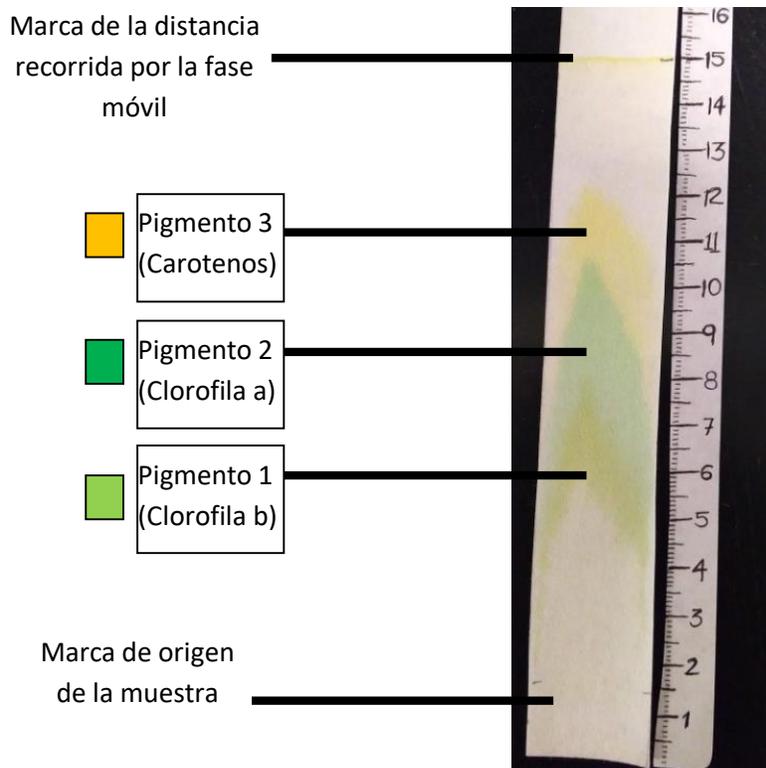
Tabla 26. Resultados del barrido de los pigmentos de la segunda cromatografía.

Longitud de onda (nm)	Absorbancias			Longitud de onda (nm)	Absorbancias		
	Pigmento 1 (Clorofila b)	Pigmento 2 (Clorofila a)	Pigmento 3 (Carotenos)		Pigmento 1 (Clorofila b)	Pigmento 2 (Clorofila a)	Pigmento 3 (Carotenos)
400	0,125	0,243	0,091	580	0,031	0,046	0,005
410	0,14	0,291	0,109	590	0,041	0,052	0,007
420	0,158	0,311	0,135	600	0,043	0,053	0,007
430	0,19	0,314	0,136	610	0,042	0,074	0,005
440	0,221	0,281	0,166	620	0,044	0,075	0,007
450	0,223	0,142	0,171	630	0,051	0,073	0,006
460	0,288	0,079	0,139	640	0,082	0,07	0,006
470	0,296	0,076	0,153	650	0,119	0,121	0,008
480	0,18	0,057	0,139	660	0,108	0,24	0,012
490	0,071	0,037	0,068	670	0,072	0,228	0,011
500	0,045	0,037	0,029	680	0,028	0,084	0,006
510	0,022	0,026	0,017	690	0,011	0,029	0,004
520	0,02	0,031	0,012	700	0,007	0,015	0,004
530	0,022	0,031	0,011	710	0,006	0,012	0,003
540	0,024	0,029	0,012	720	0,005	0,01	0,003
550	0,026	0,036	0,012	730	0,005	0,008	0,003
560	0,026	0,036	0,011	740	0,004	0,012	0,003
570	0,03	0,043	0,009	750	0,004	0,011	0,003

Gráfica 23. Barrido de los pigmentos de la cromatografía 2.



Tercera cromatografía en papel de pigmentos de espinaca.



Cálculo del Rf en la tercera cromatografía.

Pigmento 1 (Clorofila b):

$$R_f = \frac{4.7 \text{ cm}}{13.5 \text{ cm}} = 0.35$$

Pigmento 2 (Clorofila a):

$$R_f = \frac{7.2 \text{ cm}}{13.5 \text{ cm}} = 0.53$$

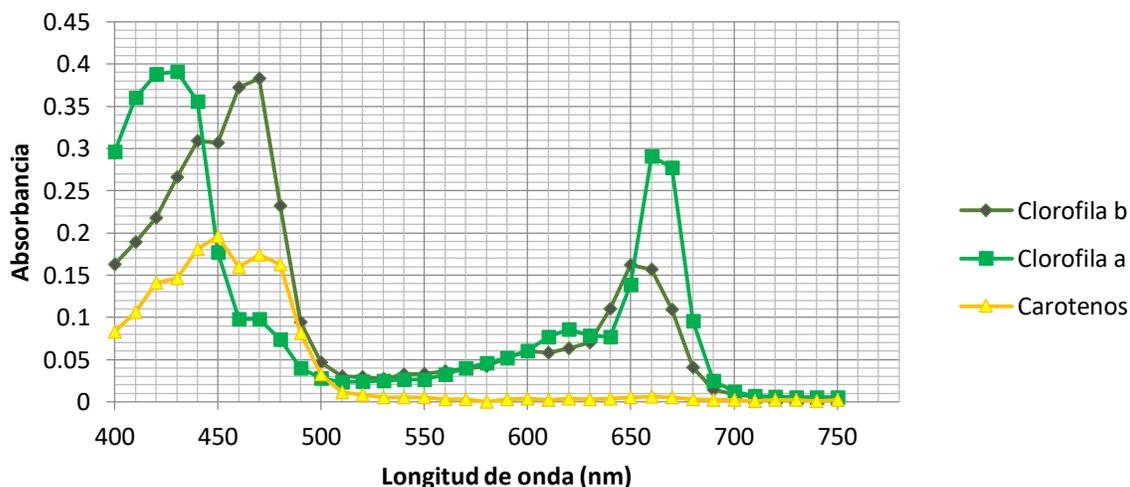
Pigmento 3 (Carotenos):

$$R_f = \frac{9.5 \text{ cm}}{13.5 \text{ cm}} = 0.70$$

Tabla 27. Resultados del barrido de los pigmentos de la tercera cromatografía.

Longitud de onda (nm)	Absorbancias			Longitud de onda (nm)	Absorbancias		
	Pigmento 1 (Clorofila b)	Pigmento 2 (Clorofila a)	Pigmento 3 (Carotenos)		Pigmento 1 (Clorofila b)	Pigmento 2 (Clorofila a)	Pigmento 3 (Carotenos)
400	0,163	0,296	0,083	580	0,042	0,046	0
410	0,189	0,36	0,106	590	0,052	0,052	0,003
420	0,218	0,388	0,141	600	0,06	0,06	0,004
430	0,266	0,391	0,146	610	0,058	0,077	0,002
440	0,309	0,356	0,181	620	0,063	0,086	0,004
450	0,307	0,177	0,196	630	0,07	0,078	0,003
460	0,372	0,098	0,16	640	0,11	0,077	0,004
470	0,383	0,098	0,174	650	0,162	0,139	0,005
480	0,232	0,074	0,163	660	0,157	0,291	0,006
490	0,094	0,04	0,081	670	0,109	0,277	0,005
500	0,047	0,028	0,032	680	0,041	0,096	0,003
510	0,03	0,023	0,011	690	0,014	0,025	0,002
520	0,029	0,024	0,008	700	0,009	0,012	0,002
530	0,027	0,025	0,005	710	0,006	0,007	0,001
540	0,032	0,026	0,005	720	0,006	0,006	0,002
550	0,033	0,026	0,005	730	0,005	0,005	0,002
560	0,036	0,032	0,003	740	0,005	0,005	0,001
570	0,039	0,04	0,003	750	0,005	0,005	0,002

Gráfica 24. Barrido de los pigmentos en la cromatografía 3.



CUADERNO DE APUNTES DE FOTOSÍNTESIS

Se revisó y seleccionó la información bibliográfica y hemerográfica que lo formaría, quedando el siguiente contenido:

- Datos Históricos
- Introducción
- Estructuras De Las Plantas
- Definición De Fotosíntesis
- Reacciones Dependientes De La Luz (Fase Luminosa o Fotoquímica
- Fotosistema II.
- Fotosistema I
- Reacciones Independientes De La Luz (Fase oscura o biosintética).
- Ciclo de Calvin
- Fotorrespiración
- Plantas C3
- Plantas C4
- Plantas CAM
- Metabolismo Del Almidón Y Sacarosa.
- Síntesis De Almidón
- Síntesis De Sacarosa
- Importancia De La Fotosíntesis
- Bibliografía

Análisis de resultados

Para realizar la propuesta de una práctica innovadora que pudiera ser implementada en el laboratorio de Bioquímica Celular y de los Tejidos I (BCT I) de la carrera Química Farmacéutico Biológica (Q.F.B.) en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza fue necesario considerar diversos factores tales como que se contara con los reactivos y material utilizados, que su implementación no fuera de un costo elevado, el número de alumnos que por lo regular están inscritos en la materia de BCT I, el número de integrantes de cada equipo, así como el número de sesiones de laboratorio requeridas.

Al realizar la búsqueda de los aspectos teóricos que se involucran en el proceso de la fotosíntesis para realizar el cuaderno de apuntes se fue planteando lo que podría ser la estructura de la práctica, se comenzó por planear la extracción de los cloroplastos a partir de las plantas de la espinaca, eligiendo ésta por su accesibilidad, además de estar frescas, también el tamaño grande de sus hojas que permite quitar las venas y sus características de cultivo que sirvieron para establecer las variables para medir la capacidad fotosintética. Fue importante considerar las condiciones en las que se realizó la extracción de los cloroplastos ya que se debió trabajar a bajas temperaturas con el propósito de demorar la degradación de los componentes celulares, se utilizó un Buffer de Tris-HCl 0.01M de pH 7.3 esperando crear un apropiado potencial osmótico y para amortiguar los cambios bruscos de pH que se pueden llevar a cabo extra e intra celularmente, asimismo fue necesario utilizar solución salina al 0.9% como estabilizador. También revisando la historia de cómo se fueron descubriendo las reacciones involucradas en la fotosíntesis se encontró como el bioquímico Robert Hill utilizó los ahora llamados Reactivos de Hill que fueron empleados por él durante sus experimentos que fueron muy importantes para describir las reacciones que se llevan a cabo durante la fase luminosa de la fotosíntesis, además de las reacciones que sirvieron para conocer los fotosistemas I y II y plantear el esquema Z, uno de los reactivos de Hill que actúa como aceptor natural de electrones es el 2,6-Diclorofenolindofenol (DCPIP) que fue seleccionado

para emplearse en la práctica propuesta; este reactivo es azul cuando está en su forma oxidada (quinona) pero se va decolorando cuando se va reduciendo (fenol), es por eso que se aprovechó esta cualidad del reactivo para poder medir la capacidad fotosintética de los cloroplastos aislados a través de evaluar la velocidad de la reacción de reducción del DCPIP, determinando la absorbancia mediante espectrofotometría en el espectro visible a diferentes tiempos.

Para medir la capacidad fotosintética se propusieron las variables de la acción de la intensidad de la luz, la temperatura y la longitud de onda.

Para la acción de la intensidad de la luz se utilizaron focos de diferentes Watts (25, 40, 73 y 100W) en donde se pudo observar que mientras fue aumentando la intensidad de la luz hubo una mayor reducción del DCPIP, aunque esto sólo ocurrió hasta los 73 Watts ya que al utilizar el foco de 100W no hubo una reducción mayor (gráficas 2, 4 y 6), fue importante que al momento de realizar el experimento con el foco de 73 y 100W, antes de leer en el espectrofotómetro se dejara que la muestra no estuviera muy caliente para que no fuera un factor que lograra intervenir al momento de la lectura y obtener un valor con error.

En el caso de la acción de la temperatura se utilizaron baños de agua de 5, 15, 25, 45, 60 y 70 °C, en este experimento se pudo observar que a las temperaturas de 5, 15 y 25°C hubo una mayor reducción de DCPIP, notando que hubo una mayor actividad fotosintética a la temperatura de 15°C. También se determinó que a partir de los 45°C comienza una disminución de la actividad fotosintética y que a las temperaturas de 60 y 70°C si hubo actividad fotosintética pero muy poca a comparación de las temperaturas más bajas (gráficas 9, 11 y 13). La razón de estos resultados se podría pensar es debido a las características fisicoquímicas de las enzimas ya que éstas tienen una temperatura óptima en la cual trabajan y esta podría ser a los 15°C y a temperaturas altas pueden llegar hasta desnaturalizarse. La espinaca se cultiva en climas frescos en temperaturas óptimas de entre 15 y 18°C tolerando temperaturas de entre 4 a 24°C. Durante este experimento se debió tener cuidado en mantener la temperatura de los diferentes baños de agua ya que mientras transcurría el tiempo iba cambiando la temperatura, además de que se

tuvo que esperar a que las muestras estuvieran a una temperatura cercana a la del ambiente para que no pudiera interferir en la lectura de absorbancia de la muestra.

Al realizar el experimento de la acción de la longitud de onda utilizando tubos de colores forrados con capas de papel celofán cada uno de un color (azul, rojo, verde, morado y amarillo) se notó que en los tubos de color azul, rojo y morado hubo una mayor reducción de DCPIP por tanto mayor actividad fotosintética (gráficas 16, 18 y 20), tomando en cuenta que los principales pigmentos fotosintéticos tienen un pico de absorción en las zonas de color morado, azul y rojo dentro del espectro de absorción, es de considerar que haya más actividad fotosintética e incluso aún más con el color morado debido al efecto Emerson que descubrió que al juntar dos haces de luz uno de longitud de onda larga y una corta, se sumaban las dos tasas fotosintéticas (la del fotosistema I y II que son impulsados a longitudes de onda de 700 y menor de 680 nm respectivamente) y por tanto aumentando la actividad fotosintética. En el caso del tubo amarillo se puede observar una reducción de DCPIP considerable esto podría ser debido a que la clorofila absorbe radiación de longitudes de onda cercanas al amarillo o también debido a otros pigmentos fotosintéticos como los carotenos o xantofilas que también son capaces de absorber la luz. Mientras que la muestra del tubo de color verde mostró una reducción de DCPIP muy baja debido a que las radiaciones de longitudes de onda correspondientes al verde del espectro son reflejadas y no absorbida por las clorofilas, sin embargo si se lleva a cabo la reducción ya que los carotenos absorben la luz verde y amarilla.

En las gráficas de curva estándar que se realizaron para evaluar la acción de la intensidad de la luz, temperatura y longitud de onda se presenta la linealización de los resultados obtenidos, además se gráfico y marcó una línea de datos en color naranja, estos datos son resultado de calcular la media de cada punto de los tres experimentos de curva estándar correspondientes en cada caso indicando en cada punto su desviación estándar (tablas 7, 15 y 23). Asimismo, se realizó el mismo cálculo con los resultados de cada experimento (Tablas 8, 16 y 24) y después de cada tabla se muestran la gráficas marcando la desviación estándar de la media de

cada resultando (Gráficas 7, 14 y 21). En los resultados de la desviación estándar de las curvas se pudo observar que son números muy pequeños muy cercanos al cero mostrando que la dispersión de los resultados en cada punto es muy pequeña y que no hay mucha variación en esos resultados mientras que en las desviaciones estándar de los experimentos realizados muestran desviaciones estándar más grandes, que van desde el 1.64 hasta el 11.67, los valores más pequeños indican menos variación en los resultados del proceso que son en la mayoría resultados pequeños, pero los valores más altos que se observaron en la acción de la intensidad de la luz con foco de 25W (DE= 12.75) y en la acción de la longitud de onda con el color azul (DE= 11.67) indican mayor variación en los resultados respecto al promedio del cálculo de su media, esto atribuible a que se está evaluando un proceso biológico que por sus características presenta variaciones.

También se planteó para la práctica una cromatografía de los diferentes pigmentos de las hojas de la espinaca, por lo que se realizó la extracción utilizando acetona y éter de petróleo, posteriormente se logró la separación por cromatografía en papel de los pigmentos y se calculó el Rf de cada uno obteniéndose para la clorofila b un promedio de 0.28, para la clorofila a 0.42 y para los carotenos 0.65, a continuación se recuperaron los pigmentos con alcohol etílico y se hizo un barrido a las bandas que se separaron en la cromatografía, en las que al comparar con datos bibliográficos se esperaban sus picos característicos de la clorofila a entre 400 y 450 nm para la clorofila b entre 450 y 500nm y para los carotenos ente 420 y 475nm, los cuales comparando un espectro teórico de los pigmentos con las gráficas obtenidas si se observaron los picos característicos en los rangos esperados visualizando, demostrando y diferenciando cada pigmento fotosintético (Figura 11 y gráficas 22, 23 y 24).

La práctica propuesta se realizó con alumnos y profesores del laboratorio de BCT I en los cuales se pudieron observar resultados similares a los obtenidos para la tesis.

Con respecto al Cuaderno de Apuntes de Fotosíntesis, en él se pueden encontrar antecedentes históricos y algunos aspectos que pueden facilitar el entendimiento de las reacciones que se llevan a cabo durante la fotosíntesis, además de una

explicación de las características que tienen las estructuras de las plantas para poder llevar a cabo la fotosíntesis, y las diferentes reacciones oxido-reducción involucradas en la fotosíntesis en diferentes procesos como las reacciones dependientes e independientes de la luz además de cómo llevan a cabo este proceso los diferentes tipos de plantas. El Cuaderno ha sido aprobado para colocarse en la plataforma virtual Moodle de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza en el Aula de BCT I y se presentan en el anexo 3 imágenes que ejemplifican el contenido del mismo; Asimismo se tiene listo para su incorporación en la plataforma de la Red Universitaria de Aprendizaje (RUA).

Conclusiones

- Se estandarizó un protocolo de la práctica de fotosíntesis donde se consideró la viabilidad de llevar a cabo la práctica en el laboratorio de BCT I tomando en cuenta material, reactivos y tiempo.
- Por medio de pruebas piloto con alumnos y profesores del módulo del laboratorio de BCT I, se logró comprobar que la práctica es funcional y reproducible.
- Se realizó un cuaderno de fotosíntesis donde se incluyeron diferentes aspectos que abarca el tema de fotosíntesis el cual incluye información, imágenes, esquemas y reacciones involucradas en el proceso fotosintético.
- Se colocó el Cuaderno de Apuntes de Fotosíntesis en la plataforma virtual Moodle de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, del módulo de la materia Bioquímica Celular y de los Tejidos I como material de apoyo para los estudiantes que cursan la materia.
- Se tiene listo el Cuaderno de Apuntes de Fotosíntesis para colocarlo en la plataforma de la Red Universitaria de Aprendizaje (RUA).

Referencias

1. Audesirk T, Audesirk G, Byers B. Biología. La vida en la Tierra, 8ª Edición. México: Pearson Educación; 2008.
2. Peña A, Arroyo A, Gómez A, Tapia R. Bioquímica. México: Editorial Limusa grupo Noriega Editores; 2004.
3. Gama M, Fernández D. Biología. 1a ed. México: Ed. Pearson Educación de México; 2016.
4. Conn E, Stumpf P, Bruening G, Doi R. Bioquímica fundamental. 4a ed. México: Editorial Limusa grupo Noriega editores; 2000.
5. Hojas verdes [Internet] (25/Abr/2017) [Consultado: 8/Oct/18]. Disponible en: <https://pixnio.com/es/paisajes/hoja-hojas/hojas-verdes-avellanas-hojas-rama>
6. T. McKee, J. McKee. Bioquímica: La base molecular de la vida. 3a ed. España: McGraw-Hill; 2003.
7. Jiménez L, Merchant H. Biología Celular y Molecular. 1ª Edición. México: Ed. Pearson Educación; 2003.
8. Paniagua R, Nistal M, Sesma P, Álvarez M, Fraile B, Anadón R, Saéz F. Biología celular. 2ª ed. España: McGraw-Hill; 2003
9. Campbell N, Reece J. Biología. 7ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2007
10. Voet D, Voet J, Pratt C. Fundamentos de Bioquímica: La vida a nivel molecular. 2ª ed. Bueno Aires: Médica Panamericana; 2008.
11. Cloroplasto [Internet] (25/Feb/2010) [Consultado: 8/Oct/18]. Disponible en: <http://www.flickr.com/photos/alexis963/4388812380/>
12. La fotosíntesis [Internet] [Consultado: 8/Oct/18]. Disponible en: Universidad Politécnica de Valencia. «La Fotosíntesis (http://www.euita.upv.es/VARIOS/BIOLOGIA/Temas/tema_11.htm)».
13. Campbell M, Farrell S. Bioquímica. 2 vols. 8ª ed. México CDMX: CENGAGE Learning; 2016.
14. Causse C. Los secretos de los antioxidantes. España: Hispano europea; 2010.
15. Pigmentos [Internet] (Dic/2012) [Consultado: 8/Oct/18]. Disponible en: <http://www.sanutricion.org.ar/files/upload/files/carotenoides.pdf>

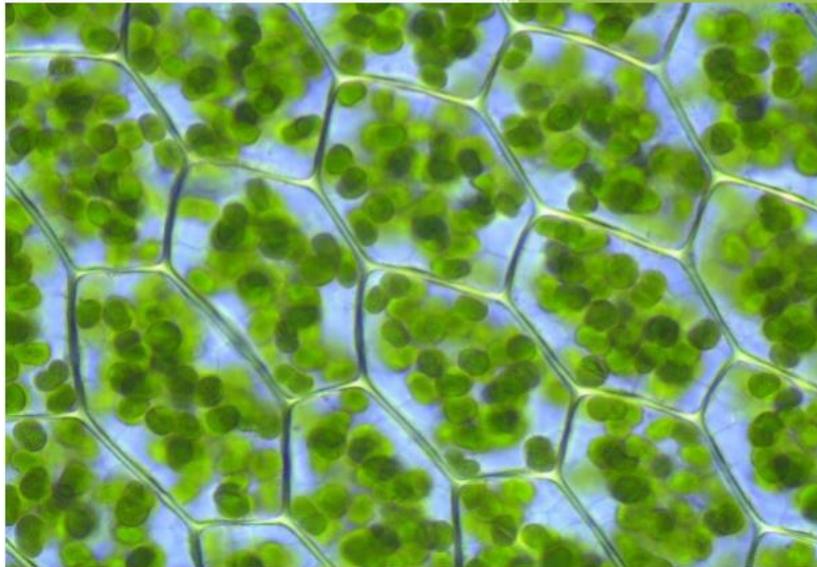
16. Aranceta J, Pérez C. Frutas, verduras y salud. España: Elsevier Masson; 2006
17. Garzón G. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: Revisión. Acta biológica [serie en internet] 2008 [Consultado 10/Oct/2018]; 13(3). Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/abc/v13n3/v13n3a2.pdf>
18. Atkins P, Jones L. Principios de química, los caminos del descubrimiento. 3ª ed; Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
19. Morales J, Sánchez J. Física y química. 1ª ed. España: Editorial Mad; 2003.
20. Conceptos fundamentales de cromatografía [Internet] [Consultado 15/Ene/2019]. Disponible en: <https://bit.ly/YyKFub>
21. UNAM Facultad de Químicas. Técnicas cromatográficas [Internet] (Diciembre 2007) [Consultado 15/Ene/2019]. Disponible en: Depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/M.Cromatograficos_6700.pdf
22. Slideplayer cromatografía [Internet], [Consultado 15/Ene/2019]. Disponible en: <https://slideplayer.es/slide/3495660/>
23. Fotosíntesis [Internet] (Diciembre 2017) [Consultado 15/Ene/2019]. Disponible en: http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/norm/lectura_clase-Fotosintesis.pdf
24. Rodés R, Collazo M. Manual de prácticas de fotosíntesis 1ª ed. México: Las prensas de ciencias; 2006.
25. Guevara E, Jiménez V. Principios y aplicaciones de la fisiología vegetal. Editorial de la Universidad de Costa Rica.
26. Burns R. Fundamentos de química. 5ª ed. España: Pearson Educación; 2011.
27. Curtis H, Barnes N, Schnek A, Flores G. Biología. 6a ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
28. Slideplayer [Internet], [Consultado 15/Ene/2019]. Disponible en: <https://slideplayer.es/slide/9185115/>
29. Velásquez M, Pérez F. Fundamentos del análisis farmacéutico, métodos ópticos de análisis. México: Facultad de Estudios Superiores "Zaragoza", UNAM; 2010.
30. Lodish H, Berk A, Kaiser C, Krieger M, Bretscher A, Ploegh H, et al. Biología Celular y Molecular. 7a edición. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana; 2016.
31. Devlin T. Bioquímica. 4ª edición. Barcelona España: Editorial Reverte; 2004

32. Paniagua R, Nistal M, Sesma P, Álvarez M, Fraile B, Anadón R, et al. *Biología Celular*. 3ª edición. Madrid: Editorial Mc Graw Hill; 2007.
33. Eberhard S, Finazzi G, Wollman F. The Dynamics of Photosynthesis. *Annu. Rev. Genet.* 2008; 42: 463–515
34. Crawford N, Yee B, Hutcheson S, Wolosiuk R, Buchanan B. Enzyme Regulation in C4 Photosynthesis: Purification, Properties, and Activities of Thioredoxins from C4 and C3 Plants. *Archives of biochemistry and biophysics* 1986;244: 1-15.
35. Curtis. *Biología* [Internet] (2007) [Consultado: 8/Oct/18]. Disponible en: <http://www.curtisbiologia.com/m1941>
36. Almeraya É, Sánchez E. Adaptaciones fotosintéticas en las plantas para mejorar la captación del carbono. *Revista Ciencia* [Revista en línea] 2015 Oct [Consultado 10 de Octubre de 2018] [Aprox. 8 p.]. Disponible en: <https://bit.ly/2SATsJ5>
37. Sadava D. *Vida, la ciencia de la biología*. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009.
38. González L. *La huerta gourmet*. Buenos Aires, Argentina: Ediciones Lea; 2013.
39. Cásseres E. *Producción de hortalizas*. Costa Rica: Ed. IICA.

Anexos

ANEXO 1. Formato de la práctica de fotosíntesis para el laboratorio de Bioquímica celular y de los tejidos I.

FOTOSÍNTESIS



Soto Olivares Abril Valeria.

Bioquímica Celular y de los Tejidos I

01/01/2018

FOTOSÍNTESIS

Objetivos

- ✓ Aislar y observar los cloroplastos con el microscopio óptico, obtenidos a partir de hojas de espinaca.
- ✓ Determinar la actividad fotosintética en los cloroplastos, mediante la reducción de del reactivo 2,6-diclorofenolindofenol (DCPIP).
- ✓ Determinar la acción de diferentes intensidades de la luz en la actividad fotoquímica de los cloroplastos.
- ✓ Determinar la acción de diferentes temperaturas en la actividad fotoquímica de los cloroplastos.
- ✓ Determinar la acción de diferentes longitudes de onda en la actividad fotoquímica de los cloroplastos.

Antecedentes académicos

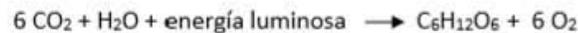
- ✓ Reacciones involucradas en el proceso de fotosíntesis. Importancia de los cloroplastos en la fotosíntesis.
- ✓ Espectro de absorción de los pigmentos fotosintéticos.
- ✓ Fundamento de la reacción de Hill.

Introducción

En el mundo todos los organismos necesitan materiales y energía para vivir. Estos adquieren los materiales que necesitan, llamados nutrientes, del aire, el agua o suelo. Los nutrientes incluyen minerales, oxígeno, agua y demás sustancias que construyen los bloques de las moléculas biológicas. Las plantas, algas y determinadas bacterias (cianobacterias) son fotoautótrofos (autótrofos fotosintéticos), organismos con la capacidad de absorber energía lumínica y convertirla en energía química almacenada en moléculas orgánicas, por el proceso de la fotosíntesis.

La fotosíntesis es un proceso de oxido-reducción en donde el dióxido de carbono (CO₂) es el sustrato que se reduce y el agua (H₂O) se oxida donando sus electrones para sintetizar carbohidratos, en el proceso se convierte la energía solar en energía química que se almacena en los enlaces de la glucosa (C₆H₁₂O₆) y se libera oxígeno molecular (O₂).

La reacción química general más sencilla para la fotosíntesis es:



Los pigmentos son moléculas que sólo absorben la luz de ciertas longitudes de onda y cuya energía es lo bastante alta como para alterar la forma de las moléculas de ciertos pigmentos (como la de los cloroplastos), y con "la cantidad correcta" de energía, se logre impulsar la fotosíntesis.

Los diversos grupos de organismos fotosintéticos usan diversos tipos de pigmentos en la fotosíntesis, los pigmentos principales en las plantas son las clorofila a y b que hace que las hojas sean verdes, esto es por que absorbe la luz violeta, azul y roja, pero transmite y refleja la luz verde. Existen varios tipos de clorofila, que varían ligeramente en su estructura molecular (Fig. 1).

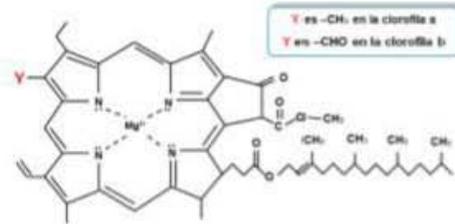


Fig. 1 Estructura molecular de la clorofila a y b.

Los espectros de absorción de las clorofilas a y b difieren levemente, ambas absorben luz en la porción roja y azul del espectro visible (600 a 700nm y 400 a 500nm, respectivamente). La presencia de ambos tipos de clorofila garantiza que se absorban más longitudes de onda del espectro visible a comparación que cuando sólo hay una de ellas, mejorando la eficiencia de la fotosíntesis. La clorofila a se encuentra en todos los organismos fotosintéticos que producen oxígeno y la clorofila b se encuentra en los eucariontes como plantas y algas verdes, pero en cantidad menor que la clorofila a. Además de la clorofila, diversos pigmentos accesorios también absorben luz y transfieren energía a las clorofilas (Fig. 2).

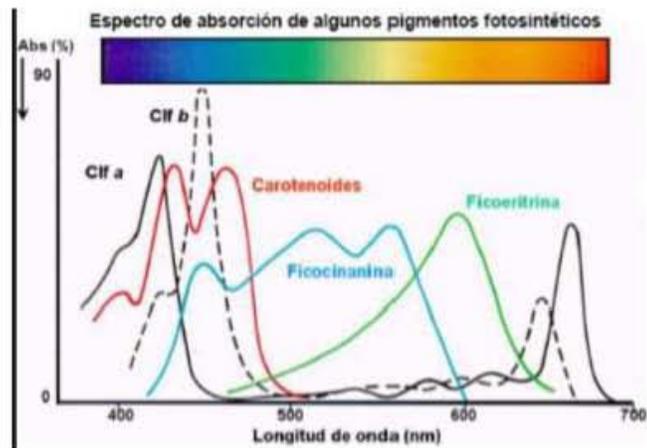


Fig. 2 Espectro de absorción de diferentes pigmentos fotosintéticos

En los procariontes como las cianobacterias (algas azules), la fotosíntesis tiene lugar en los gránulos asociados con la membrana plasmática y en los eucariontes como las plantas superiores y algas verdes es en el cloroplasto, de aquí su importancia en este proceso. La forma aplanada de las hojas expone un área superficial considerable a los rayos solares, y su delgadez ya que sólo tienen unas cuantas células de espesor garantiza que éstos puedan penetrar en ella y llegar a los cloroplastos en el interior de las hojas.

Los cloroplastos son organelos que consisten en una doble membrana que encierra el estroma que es un medio semilíquido donde se encuentran ciertas enzimas y sustratos, además dentro del cloroplasto también se encuentran los tilacoides que son bolsas membranosas interconectadas en forma de disco que están incrustadas en el estroma, estos están apilados en unos corpúsculos llamadas grana que están interconectadas por membranas llamadas lamelas intergranales (Fig. 3).

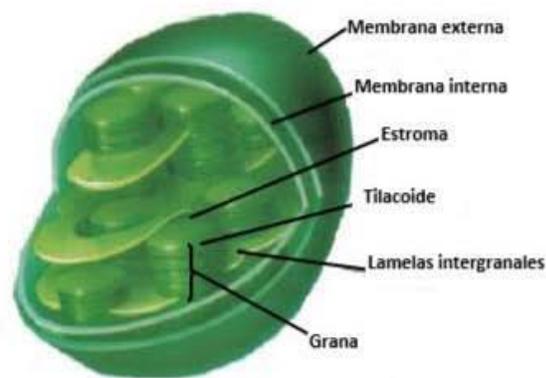


Fig. 3 Estructura interna de un cloroplasto.

La fórmula química de la fotosíntesis disfraza el hecho de que ésta en realidad implica docenas de enzimas que catalizan docenas de reacciones individuales. Tales reacciones se pueden dividir en reacciones dependientes de la luz y reacciones independientes de la luz.

Cada grupo de reacciones se lleva a cabo dentro de una región diferente del cloroplasto; pero las dos reacciones se enlazan mediante moléculas portadoras de energía.

En las membranas de los tilacoides se encuentran asociados los fotosistemas que son sistemas altamente organizados de proteínas, clorofila y moléculas de pigmentos accesorios y donde se llevan a cabo las reacciones en presencia de la luz. La mayoría de las moléculas de clorofila en un cloroplasto simplemente absorben luz (clorofilas tipo antena) este tipo de moléculas transmiten su energía de excitación a un par especializado de moléculas de clorofila en un centro de reacción característico de cada fotosistema y así pueden comenzar las reacciones químicas de la fotosíntesis (Fig. 4). Cada tilacoide contiene miles de copias de los dos tipos de fotosistemas, conocidos como fotosistema I (FS I) que genera ATP y fotosistema II (FS II) que genera NADPH. Ambos funcionan de manera simultánea. Cada fotosistema cuenta con su clorofila especial, el pigmento (P) del FS I es el P700 (ya que 700nm es la longitud de onda más alta absorbida) y del FSII es el P680 (la mayor longitud de onda a la que absorbe es a 680nm).

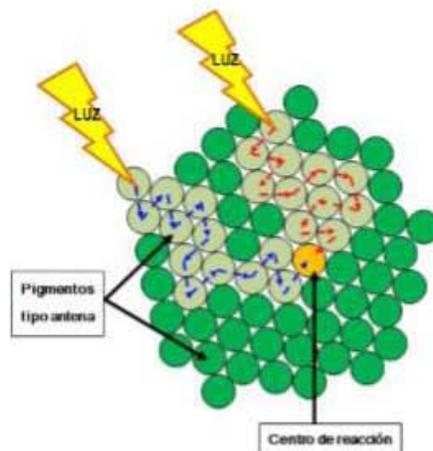
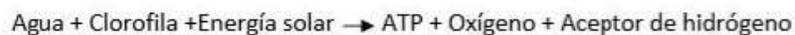


Fig. 4 Estructura de una unidad fotosintética.

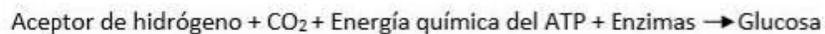
REACCIONES DEPENDIENTES DE LA LUZ (Fase Luminosa o Fotoquímica).

En las reacciones dependientes de la luz, la clorofila y otras moléculas captan la energía de la luz solar para “cargar” las moléculas portadoras de energía ADP y NADP⁺ y convertir una parte de ella en energía química almacenada en moléculas portadoras de energía (ATP y NADPH). Como producto se libera gas de oxígeno.



REACCIONES INDEPENDIENTES DE LA LUZ (Fase oscura o biosintética).

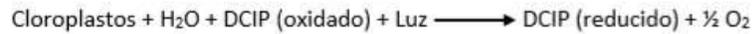
Durante las reacciones independientes de la luz, las portadoras energizadas (ATP y NADPH) se mueven hacia el estroma, donde su energía impulsa el ciclo C3. Esto produce gliceraldehído- 3-fosfato (G3P), que se usa para sintetizar glucosa y otros carbohidratos. Después, los transportadores agotados ADP y NADP⁺ se vuelven a cargar usando las reacciones dependientes de la luz para convertirse en ATP y NADPH.



El ATP y/o NADPH generados fotosintéticamente se usan en una variedad de procesos metabólicos, incluida la asimilación de CO₂, en el ciclo Benson-Calvin, metabolismo de nitratos, lípidos, aminoácidos y síntesis de pigmentos y la modulación de la expresión génica. Diferentes condiciones de estrés puede disminuir la eficiencia de la generación de ATP y NADPH inducida por la luz.

La reacción de Hill.

En la fase luminosa la energía radiante que es absorbida por medio de las clorofilas y utilizada en parte para la hidrólisis del agua, se conoce también como reacción de Hill. El colorante DCPIP (2,6 diclorofenolindofenol) en estado oxidado es azul, y cuando se reduce se torna incoloro, por lo que su reducción puede seguirse por la disminución de la absorción de la luz en el espectrofotómetro. Las moléculas del colorante interceptan los electrones en la cadena fotosintética; específicamente acepta dos electrones en lugar de que vayan a P680, por lo que la pérdida del color demuestra que el flujo de electrones está ocurriendo durante las reacciones dependientes de la luz.



Material y equipo

- Balanza
- Potenciómetro
- Matraz aforado
- Parrilla de calentamiento y agitación
- Mortero con pistilo
- Embudo de tallo largo
- Tubos de ensayo
- Centrifuga
- Vasos de precipitados
- Probeta
- Pipetas
- Gotero
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Papel seda
- Microscopio Óptico.
- Aceite de inmersión
- Gradilla
- Espectrofotómetro
- Regla
- Termómetro

- Cronómetro
- Papel filtro de poro abierto
- Papel celofán: amarillo, azul claro, morado, verde bandera y rojo
- Caja de cartón grande
- Papel aluminio
- Frasco grande
- Focos de 25, 40, 73 y 100 Watts y socket

Reactivos

- DCPIP (2,6-diclorofenolindofenol sal sódica dihidratada) al 0.02% (0.02g/100mL de agua destilada).
- Buffer Tris-HCl 0.01 M, pH 7.3
 Pesar 0.121 g de TRIS; disolver en ~70 mL de agua, ajustar a un pH 7.3 con HCl, aforar a 100 mL. Guardar en refrigeración.
- NaCl 0.9%
 Pesar 0.9 g de NaCl y aforar a 100mL.
- Agua destilada.
- Acetona
- Éter de petróleo
- Etanol 71.5 ° g L

Método

a. Aislamiento de cloroplastos.

- 1) Pesar 10 g de espinaca, lavar las hojas cuidadosamente utilizando únicamente agua sólo para quitar cualquier excedente de tierra y secar con sanitas.
- 2) Cortar las hojas de las espinacas en pedazos pequeños excluyendo tallos y venas largas.
- 3) Colocar los pedazos de hojas en un mortero previamente enfriado y agregar 20mL de buffer Tris-HCl 0.01M pH 7.3 frío más 10 mL de NaCl 0.9% frío.
- 4) Poner el mortero sobre una capa de hielo y macerar sobre hielo hasta homogeneizar.



Fig. 5 Mortero sobre hielo

- 5) Filtrar con un embudo el homogeneizado a través de papel filtro de poro abierto.
- 6) Colocar el filtrado en dos tubos de ensayo y centrifugar a 3500 rpm por 10 minutos.
- 7) Decantar el sobrenadante de un tubo y en un baño de hielo resuspender el botón añadiendo 10 mL de Buffer Tris-HCl al tubo y agitar hasta no notar partes del botón.

NOTA: No olvidar siempre trabajar en frío.

b. Observación de cloroplastos al microscopio.

- 1) Tomar una gota de suspensión de cloroplastos, colocarla sobre un portaobjetos y colocar un cubreobjetos limpio.
- 2) Observar la preparación en el microscopio con los objetivos de 10x, 40x y 100x.

3) Preparación de la curva estándar.

Forrar los tubos con papel aluminio donde se realizará la curva estándar y etiquetarlos.

Tubo \ mL de solución	Blanco	1	2	3	4	5
Buffer Tris-HCl 0.01M pH7.3	9mL	9mL	9mL	9mL	9mL	9mL
NaCl 0.9%	1mL	1mL	1mL	1mL	1mL	1mL
Agua destilada	1 mL	0.9 mL	0.8 mL	0.7 mL	0.6 mL	0.5 mL
Suspensión de cloroplastos	0.2 mL					
Adicionar el 2,6 diclorofenolindofenol en cada tubo hasta el momento que se vaya a leer en el espectrofotómetro.						
2,6-diclorofenolindofenol al 0.02%.		0.1mL	0.2 mL	0.3 mL	0.4 mL	0.5 mL
Agitar cada tubo y leer en el espectrofotómetro a 625nm.						



Fig 6. Curva estándar preparada forrada de papel aluminio.

Experimento 1: Acción de la intensidad de la luz.

- 1) Realizar el aislamiento y observación de cloroplastos, además de preparar la curva estándar como se indica anteriormente en los puntos a, b y c.

- 2) Para las muestras problema que se utilizarán para el experimento se deberán preparar 4 tubos (cada uno se utilizará para una intensidad de luz diferente), cubrir por separado los tubos con papel aluminio (Fig. 7) y cada uno se preparará adicionando: 9 mL de buffer TRIS-HCl, 1mL de NaCl, 0.65mL de agua, 0.2 mL de suspensión de cloroplastos y 0.35mL de 2,6-diclorofenolindofenol. **Este último reactivo se debe adicionar al momento que se va a utilizar para leer en el espectrofotómetro.**

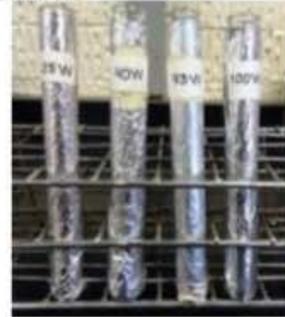


Fig. 7 Tubos de intensidad de luz.

- 3) Para el tiempo cero agitar muy bien el tubo con la muestra y pasarla a una celda y hacer la primera lectura en el espectrofotómetro (como blanco utilizar el que se utilizó en la curva estándar y leer a una longitud de onda de 625nm), regresar toda la muestra al tubo de ensayo de vidrio y quitar el papel aluminio.

- 4) Para las siguientes lecturas se coloca el tubo en una gradilla a una distancia de 15 cm de un foco encendido de 25 Watts. Cada dos minutos vaciar el contenido del tubo de ensayo a una celda y medir la absorbancia en el espectrofotómetro, al término de cada lectura regresar la muestra al tubo y continuar el experimento. Realizar esto hasta completar 14 minutos. Este sistema se monta adentro de una caja para tratar de evitar la intervención de la luz del ambiente (Fig. 8).



Fig. 8 Forma de colocar el sistema cerrado.

- 5) Repetir el paso 3 y 4 con los otros tubos preparados, solamente se cambian el foco por uno de 45, 73 o 100 Watts respectivamente para los diferentes tubos.

NOTA: Es importante que durante el experimento cuando se utilice la suspensión de cloroplastos se debe agitar el tubo y al momento de leer en el espectrofotómetro no debe estar muy caliente la muestra, para evitar que las lecturas de absorbancia salgan erróneas.

Experimento 2: Acción de la temperatura

- 1) Realizar el aislamiento y observación de cloroplastos, además de preparar la curva estándar como se indica anteriormente en los puntos a, b y c.
- 2) Para las muestras problema que se utilizarán para el experimento se deberán preparar 7 tubos (cada uno se utilizará para una temperatura diferente), cubrir por separado los tubos con papel aluminio (Fig. 9) y cada uno se preparará adicionando: 9 mL de buffer TRIS-HCl, 1mL de NaCl, 0.65mL de agua, 0.2 mL de suspensión de cloroplastos y 0.35mL de 2,6-diclorofenolindofenol. **Este último reactivo se debe adicionar al momento que se va a utilizar para leer en el espectrofotómetro.**
- 3) Para el tiempo cero agitar muy bien el tubo con la muestra y pasarla a una celda y hacer la primera lectura en el espectrofotómetro (como blanco utilizar el que se utilizó en la curva estándar y leer a una longitud de onda de 625nm), pasar toda la muestra al tubo de ensayo de vidrio y quitar el papel aluminio.
- 4) Para las siguientes lecturas se debe colocar el tubo dentro de un baño de agua de 5°C a una distancia de 20 cm de un foco encendido de 73 Watts. Cada dos minutos vaciar el contenido del tubo de ensayo a una celda y medir la absorbancia en el espectrofotómetro, al término de cada lectura regresar la muestra al tubo y continuar el experimento. Realizar esto hasta completar 14 minutos. Este sistema se monta adentro de una caja para tratar de evitar la intervención de la luz del ambiente (Fig. 10).
- 5) Repetir el paso 3 y 4 con los otros tubos preparados, solamente que cambiando el baño de agua con temperaturas de 5, 15, 25, 45, 60 y 70°C respectivamente para los diferentes tubos preparados.



Fig. 9 Tubos que se usarán para preparar las muestras.



Fig. 10 Sistema cerrado con la muestra en el baño de agua.

NOTA: Es importante que durante el experimento cuando se utilice la suspensión de cloroplastos se debe agitar el tubo, además de cuidar que la temperatura del baño de agua sea constante y al momento de leer en el espectrofotómetro no debe estar muy caliente o fría la muestra.

Experimento 3: Acción de la longitud de onda

- 1) Realizar el aislamiento y observación de cloroplastos, además de preparar la curva estándar como se indicó anteriormente en los puntos a, b y c.

- 2) Se utilizarán 5 tubos de ensayo diferentes, cada uno se forrará de diferente color y de diferentes capas de papel celofán (Fig. 11); se forrarán como se menciona a continuación: azul claro (3 capas), rojo (2 capas), verde bandera (2 capas), morado (1 capa) y amarillo (3 capas). Cada capa de papel celofán tiene medidas aproximadas de 13.5cm de alto por 4.7cm de ancho.



Fig. 11 Tubos forrados con papel celofán.

- 3) Para las muestras problema que se utilizarán para el experimento se deberán preparar 5 tubos (cada uno para una longitud de onda diferente), se deben cubrir por separado con papel aluminio (Fig. 12) y cada uno se preparará adicionando: 9 mL de buffer TRIS-HCl, 1mL de NaCl, 0.65mL de agua, 0.2 mL de suspensión de cloroplastos y 0.35mL de 2,6-diclorofenolindofenol. **Este último reactivo se debe adicionar al momento que se va a utilizar para leer en el espectrofotómetro.**



Fig. 12 Tubos de longitud de onda.

- 4) Para el tiempo cero agitar muy bien el tubo con la muestra y pasarla a una celda y hacer la primera lectura en el espectrofotómetro, como blanco utilizar el que se utilizó en la curva estándar y leer a una longitud de onda de 625nm.
- 5) Pasar la muestra que este en la celda y la que quedo restante en el tubo donde se preparó el tubo de ensayo forrado con el papel celofán correspondiente.

- 6) Para las siguientes lecturas se deben colocar los tubos en una gradilla a una distancia de 20 cm de un foco encendido de 73 Watts. Cada dos minutos vaciar el contenido del tubo de ensayo a una celda y medir la absorbancia en el espectrofotómetro, al término de cada lectura regresar la muestra al tubo y continuar el experimento. Realizar esto hasta completar 14 minutos. Este sistema se monta adentro de una caja para tratar de evitar la intervención de la luz del ambiente (Fig. 13).



Fig. 13 Forma de colocar el sistema.

- 7) Repetir el paso 4, 5 y 6 con las demás muestras preparadas, utilizando los otros tubos de ensayo forrados de papel celofán correspondiente.

NOTA: Es importante que durante el experimento cuando se utilice la suspensión de cloroplastos se debe agitar el tubo y para evitar que las lecturas de las absorbancia salgan erróneas al momento de leer en el espectrofotómetro la muestra no debe estar muy caliente.

Experimento 4: Cromatografía y lectura de los pigmentos.

- 1) Pesar 1.5 g de espinacas, lavar las hojas cuidadosamente utilizando únicamente agua hasta quitar cualquier excedente de tierra y secarlas cuidadosamente con Sanitas.
- 2) Cortar las hojas en trozos pequeños omitiendo tallos y venas largas (Fig. 14).



Fig. 14 Hojas cortadas en el mortero.

- 3) Colocar los pedazos de espinaca en un mortero chico, adicionar 4 mL de acetona y macerar hasta que los pedazos de hojas se vean decoloradas y el disolvente se vea de un color verde muy intenso (Fig. 15).

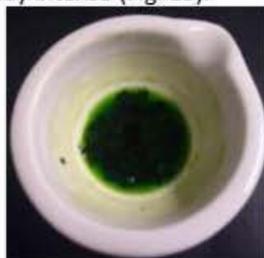


Fig. 15. Hojas maceradas con acetona.

- 4) Vaciar el contenido del mortero en un tubo de preferencia con tapa y si no utilizar papel parafilm para taparlo, agitar y dejar reposar 10 minutos.



Fig. 16 Tubo con el macerado de acetona y éter de petróleo.

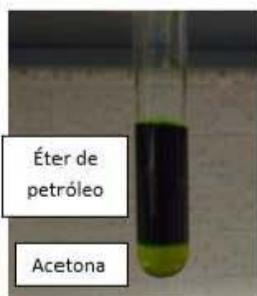


Fig. 17 Tubo con la separación de los disolventes.

- 6) Separar y pasar a otro tubo la capa superior de éter de petróleo y tapar (Fig. 17).

- 7) Recortar una tira de papel filtro de poro abierto de 22 cm por 2.5 cm y medir desde la parte inferior 2 cm, marcar con un lápiz dos puntos, cada uno en cada orilla de la tira de papel que es a la altura donde se deberá de colocar la muestra en forma lineal sin llegar a las orillas del papel, ésta se debe de colocar con un capilar como se muestra en la Fig. 18, la aplicación de la muestra se debe repetir de 8 a 10 veces, es importante dejar secar la muestra entre cada aplicación (Fig. 18).



Fig. 18 Aplicación de la muestra en la tira de papel.



Fig. 19 Frasco de elución.

- 8) Colocar la tira en un frasco con tapa, preparada con 30 mL de la fase móvil de acetona-éter de petróleo en una proporción 10:90, sin que la tira de papel toque las paredes del frasco (Fig. 19).

- 9) Cuando se acabe de realizar la cromatografía y se saque la tira de papel marcar la línea del disolvente y realizar las mediciones para sacar los Rf de cada pigmento (Fig. 20).



Fig. 20 Mediciones para cálculo de Rf.



Fig. 21 Bandas de colores recortadas.

10) Cortar las diferentes bandas de colores que quedaron en la cromatografía (Fig. 21).

11) Colocar los pedazos de papel de cada banda en 3 mL de etanol 71.5° y dejar reposar por 15 minutos (Fig. 22).



Fig. 22 Bandas de papel reposando en etanol.



Fig. 23 Pigmentos en etanol dentro de las celdas para hacer los barridos.

12) Transcurrido el tiempo pasar el etanol de cada tubo en una celda diferente (Fig. 23) para hacer un barrido en el espectrofotómetro registrando las absorbancias cada 10nm desde los 400 hasta los 750nm. El blanco de ajuste será etanol 71.5°.

NOTA: Recordar ajustar a cero de absorbancia cada que cambie de longitud de onda.

Resultados

Aislamiento y observación de cloroplastos al microscopio.

Realizar los esquemas o tomar fotografías de las observaciones realizadas al microscopio, indicando el aumento del objetivo utilizado.

Experimento 1. Acción de la intensidad de la luz.

Anotar en la siguiente tabla los resultados de la curva estándar:

	Blanco	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5
Concentración (µg)						
Absorbancia						

Elaborar en una hoja milimétrica la gráfica de la curva estándar de absorbancia contra concentración en microgramos del 2,6-diclorofenolindofenol.

Anotar los resultados de absorbancias que se van obteniendo de la acción de la intensidad de la luz en la siguiente tabla:

	Tiempo	Minuto cero	Minuto dos	Minuto cuatro	Minuto seis	Minuto ocho	Minuto diez	Minuto doce	Minuto catorce
25W	Absorbancia								
	µg de DCPIP								
	Resta de concent. (µg)								
40W	Absorbancia								
	µg de DCPIP								
	Resta de concent. (µg)								
73W	Absorbancia								
	µg de DCPIP								
	Resta de concent. (µg)								
100 W	Absorbancia								
	µg de DCPIP								
	Resta de concent. (µg)								

Con los resultados de absorbancia obtenidos se procede a interpolar esos valores en la curva estándar para conocer la concentración en microgramos a los diferentes tiempos y a las diferentes intensidades de luz, estos datos se deben anotar en la tabla anterior. Después se realizan una serie de restas en las cuales siempre a la concentración del minuto cero se le deberá restar las concentraciones que se fueron obteniendo cada dos minutos hasta el

minuto 14 y anotarlas en la tabla anterior. Los valores de las últimas restas de la concentración del minuto cero menos el valor del minuto 14 de los diferentes focos, se utilizarán para realizar una gráfica de columnas para poder comparar la cantidad de DCPIP reducido con cada diferente intensidad de luz.

Experimento 2. Acción de la temperatura.

Anotar en la siguiente tabla los resultados de la curva estándar:

	Blanco	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5
Concentración (µg)						
Absorbancia						

Elaborar en una hoja milimétrica la gráfica de la curva estándar de absorbancia contra concentración en microgramos del 2,6-diclorofenolindofenol.

Anotar los resultados que se van obteniendo de la acción de la temperatura en la siguiente tabla:

	Tiempo	Minuto cero	Minuto dos	Minuto cuatro	Minuto seis	Minuto ocho	Minuto diez	Minuto doce	Minuto catorce
5°C	Absorbancia								
	µg de DCPIP								
	Resta de concent. (µg)								
15°C	Absorbancia								
	µg de DCPIP								
	Resta de concent. (µg)								
25°C	Absorbancia								
	µg de DCPIP								
	Resta de concent. (µg)								
45°C	Absorbancia								
	µg de DCPIP								
	Resta de concent. (µg)								
60°C	Absorbancia								
	µg de DCPIP								
	Resta de concent. (µg)								
70°C	Absorbancia								
	µg de DCPIP								
	Resta de concent. (µg)								

Con los resultados de absorbancia obtenidos se procede a interpolar esos valores en la curva estándar para conocer la concentración en microgramos a los diferentes tiempos y a las diferentes temperaturas, estos datos se deben anotar en la tabla anterior. Después se realizan una serie de restas en las cuales siempre a la concentración del minuto cero se le deberá restar las concentraciones que se fueron obteniendo cada dos minutos hasta el minuto 14 y anotarlas en la tabla anterior. Los valores de las últimas restas de la concentración del minuto cero menos el valor del minuto 14 de las diferentes temperaturas, se utilizarán para realizar una gráfica de columnas para poder comparar la cantidad de DCPIP reducido con cada temperatura diferente.

Experimento 3. Acción de la longitud de onda.

Anotar en la siguiente tabla los resultados de la curva estándar:

	Blanco	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5
Concentración (µg)						
Absorbancia						

Elaborar en una hoja milimétrica la gráfica de la curva estándar de absorbancia contra concentración en microgramos del 2,6-diclorofenolindofenol.

Anotar los resultados que se van obteniendo de la acción de la longitud de onda en la siguiente tabla:

Tubos de color	Tiempo	Minuto cero	Minuto dos	Minuto cuatro	Minuto seis	Minuto ocho	Minuto diez	Minuto doce	Minuto catorce
Azul	Absorbancia								
	µg de DCPIP								
	Resta de concent. (µg)								
Rojo	Absorbancia								
	µg de DCPIP								
	Resta de concent. (µg)								
Verde	Absorbancia								
	µg de DCPIP								
	Resta de concent. (µg)								

Morado	Absorbancia								
	µg de DCPIP								
	Resta de concent. (µg)								
Amarillo	Absorbancia								
	µg de DCPIP								
	Resta de concent. (µg)								

Con los resultados de absorbancia obtenidos se deben interpolar los valores en la curva estándar para conocer la concentración en microgramos a los diferentes tiempos y a las diferentes longitudes de onda, estos datos se anotan en la tabla anterior. Después se debe realizar una serie de restas en las cuales siempre a la concentración del minuto cero se le restará la concentración que se obtuvo cada dos minutos hasta el minuto 14 y anotarlas en la tabla anterior. Los valores de las últimas restas de la concentración del minuto cero menos el valor del minuto 14 de los tubos de colores, se utilizarán para realizar una gráfica de columnas para poder comparar la cantidad de DCPIP reducido con las diferentes longitudes de onda.

Experimento 4. Cromatografía y lectura de los pigmentos.

Anotar los resultados que se va obteniendo en el barrido en la siguiente tabla:

• **Pigmento 1**

Longitud de onda	Absorbancia	Longitud de onda	Absorbancia	Longitud de onda	Absorbancia
400nm		520nm		640nm	
410nm		530nm		650nm	
420nm		540nm		660nm	
430nm		550nm		670nm	
440nm		560nm		680nm	
450nm		570nm		690nm	
460nm		580nm		700nm	
470nm		590nm		710nm	
480nm		600nm		720nm	
490nm		610nm		730nm	
500nm		620nm		740nm	
510nm		630nm		750nm	

• **Pigmento 2**

Longitud de onda	Absorbancia	Longitud de onda	Absorbancia	Longitud de onda	Absorbancia
400nm		520nm		640nm	
410nm		530nm		650nm	
420nm		540nm		660nm	
430nm		550nm		670nm	
440nm		560nm		680nm	
450nm		570nm		690nm	
460nm		580nm		700nm	
470nm		590nm		710nm	
480nm		600nm		720nm	
490nm		610nm		730nm	
500nm		620nm		740nm	
510nm		630nm		750nm	

• **Pigmento 3**

Longitud de onda	Absorbancia	Longitud de onda	Absorbancia	Longitud de onda	Absorbancia
400nm		520nm		640nm	
410nm		530nm		650nm	
420nm		540nm		660nm	
430nm		550nm		670nm	
440nm		560nm		680nm	
450nm		570nm		690nm	
460nm		580nm		700nm	
470nm		590nm		710nm	
480nm		600nm		720nm	
490nm		610nm		730nm	
500nm		620nm		740nm	
510nm		630nm		750nm	

Al obtener los resultados de los tres pigmentos realizar una gráfica de absorbancia contra longitud de onda (nm).

Questionario

1. ¿Cuál es la importancia de la reacción de Hill en el proceso de la fotosíntesis?
2. ¿En qué parte del cloroplasto se lleva a cabo las reacciones dependientes de la luz y en cual las reacciones independientes de la luz?
3. ¿Por qué todo el procedimiento se debe trabajar en condiciones de frío?
4. ¿Cómo se espera que influyan los factores de la acción de la intensidad de la luz, la temperatura y la longitud de onda en los resultados?

Referencias

1. Audesirk T, Audesirk G, Byers B. *Biología. La vida en la Tierra*, 8ª edición. México: Pearson Educación; 2008.
2. Gama M, Fernández D. *Biología*, 1a edición. México: Ed. Pearson Educación de México; 2016.
3. Jiménez L, Merchant H. *Biología Celular y Molecular*. 1ª Edición. México: Ed. Pearson Educación; 2003.
4. Freeman S. *Biología*. 3ª edición. Madrid: Pearson Educación; 2009.
5. Lodish H, Berk A, Kaiser C, Krieger M, Bretscher A, Ploegh H, et al. *Biología Celular y Molecular*. 7a edición. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana; 2016.
6. Devlin T. *Bioquímica*. 4ª edición. Barcelona España: Editorial Reverte; 2004.
7. Paniagua R, Nistal M, Sesma P, Álvarez M, Fraile B, Anadón R, et al. *Biología Celular*. 3ª edición. Madrid: Editorial Mc Graw Hill; 2007.
8. Eberhard S, Finazzi G, Wollman F. The Dynamics of Photosynthesis. *Annu. Rev. Genet.* 2008; 42: 463–515
9. Campbell M., Farrell S. *Bioquímica*. 8ª edición. Volumen II. México CDMX: CENGAGE Learning; 2016.
10. Solomon, E. P., Berg, L. R., Martín D. W. *Biología: Mc Graw Hill-Interamericana*. 1999. Pp. 176-197.
11. Toledo M. Camero RE. Durán J. Villamizar D. Contreras L. Diseño y aplicación de una práctica de fotosíntesis para estudiantes de biología celular del IPC-UPEL. *Revista de investigación*. 2012; Vol. 36 (76): 75-96.

ANEXO 2. Capturas de pantalla de cómo se encuentra el cuaderno de apuntes en la plataforma Moodle.

The screenshot shows a Moodle course page. The browser address bar displays <https://aulasvirtuales.zaragoza.unam.mx/cv/mod/book/view.php>. The course name is "Laboratorio de Bioquímica Celular y de los Tejidos I". The page title is "12. Fotosíntesis". The main content area shows a section titled "1. CUADERNO DE APUNTES DE FOTOSÍNTESIS" with a brief description: "En este cuaderno de fotosíntesis se puede encontrar antecedentes históricos y algunos aspectos que pueden facilitar el entendimiento de las reacciones que se llevan a cabo durante la fotosíntesis, además de una explicación de las características que tienen las estructuras de las plantas para poder llevar a cabo la fotosíntesis, y las diferentes reacciones oxido-reducción involucradas en la fotosíntesis en diferentes procesos como las reacciones dependientes e independientes de la luz además de cómo llevan a cabo este proceso los diferentes tipos de plantas." Below the text is a thumbnail image of the notebook cover. The cover features the logos of the Universidad Nacional Autónoma de México and the Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, and lists the authors: Q.F.B. Abril Valeria Soto Olivares, Mtra. Leonor Aguilar Santelises, M. en C. Araceli García del Valle, Mtra. Margarita Cruz Millán, and Dra. María Teresa Corona Ortega. The year 2018 and the code PAPIME PE211918 are also visible. A sidebar on the left contains navigation options like "LABORATORIO" and "Tabla de Contenidos".

This image shows the full cover of the notebook. The background is a vibrant green with a close-up pattern of plant veins. At the top, the text reads "UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO" and "FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA". The central title is "CUADERNO DE APUNTES DE FOTOSÍNTESIS". Below the title, it specifies "CARRERA: QUÍMICA FARMACÉUTICO BIOLÓGICA". The authors' names are listed: "Q.F.B. Abril Valeria Soto Olivares", "Mtra. Leonor Aguilar Santelises", "M. en C. Araceli García del Valle", "Mtra. Margarita Cruz Millán", and "Dra. María Teresa Corona Ortega". At the bottom, the code "PAPIME PE211918" and the year "2018" are printed.

ANEXO 3. Cuaderno de apuntes de fotosíntesis.



ÍNDICE

DATOS HISTÓRICOS	1
INTRODUCCIÓN.....	7
ESTRUCTURAS DE LAS PLANTAS.....	14
DEFINICIÓN DE FOTOSÍNTESIS.....	20
REACCIONES DEPENDIENTES DE LA LUZ (Fase Luminosa o Fotoquímica).....	21
FOTOSISTEMA II.....	24
FOTOSISTEMA I.....	26
REACCIONES INDEPENDIENTES DE LA LUZ (Fase oscura o biosintética).....	27
Ciclo de Calvin.....	27
FOTORRESPIRACIÓN	31
PLANTAS C3.....	33
PLANTAS C4.....	33
PLANTAS CAM.....	36
METABOLISMO DEL ALMIDÓN Y SACAROSA.....	37
SÍNTESIS DE ALMIDÓN.....	38
SÍNTESIS DE SACAROSA.....	38
IMPORTANCIA DE LA FOTOSÍNTESIS.....	40
BIBLIOGRAFÍA.....	42

PRESENTACIÓN

La elaboración de este cuaderno de apuntes del tema de fotosíntesis es con la finalidad de revisar un proceso biológico muy importante en la tierra que involucra muchas reacciones, por lo que se quiere presentar de una manera más sencilla este tema y todo el proceso que conlleva y que funcione como apoyo a los alumnos que llevan el módulo de Bioquímica Celular y de los Tejidos I en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza y de esa manera sea más sencillo entender la parte teórica y poder llevar a cabo la parte experimental.

En este cuaderno de fotosíntesis se puede encontrar antecedentes históricos y algunos aspectos que pueden facilitar el entendimiento de las reacciones que se llevan a cabo durante la fotosíntesis, además de una explicación de las características que tienen las estructuras de las plantas para poder llevar a cabo la fotosíntesis, y las diferentes reacciones oxido-reducción involucradas en la fotosíntesis en diferentes procesos como las reacciones dependientes e independientes de la luz además de cómo llevan a cabo este proceso los diferentes tipos de plantas.

El Cuaderno de Apuntes de Fotosíntesis es un material didáctico elaborado con el apoyo como proyecto PAPIME PE211918 para que sea utilizado como recurso de estudiantes para comprensión del proceso fotosintético.

FOTOSÍNTESIS.

DATOS HISTÓRICOS

La historia de los conocimientos sobre el proceso de la fotosíntesis hasta lo que se conoce en la actualidad ha sido larga, esta historia comienza en el siglo IV a. de C. cuando el filósofo Aristóteles realizó la propuesta de una hipótesis donde sugería que la luz solar estaba directamente relacionada con el desarrollo del color verde de las hojas de las plantas, esta hipótesis no pudo ser comprobada, lo que ocasionó que esta idea no fuera tomada en cuenta en esa época. Hasta que en el siglo XVII d de C siguiendo las ideas aristotélicas Stephen Hales llevó a cabo experimentos para medir el vapor de agua emitido por las plantas conocido como transpiración, y concluyó que para que esto se realizara debía de haber un flujo de agua y nutrientes disueltos desde las raíces, además afirmó que el aire que penetraba por las hojas de los vegetales era empleado por estos como fuente de alimento.^{2,3}

La historia continúa cerca de los años de 1770 cuando Joseph Priestley diferenció el aire de la respiración animal de aquel emitido por los vegetales en presencia de la luz y describió que las plantas producen el aire que los animales consumen. Igualmente descubrió el oxígeno y detectó que las plantas emitían dióxido de carbono en los periodos de oscuridad aunque no supiera como interpretar estos resultados.⁴

En el año 1779, el médico Jan Ingenhousz, tras varios experimentos descubrió que las plantas en presencia de luz elaboran sustancias orgánicas a partir de sustancias inorgánicas y liberan oxígeno a la atmósfera durante este proceso y que a su vez las plantas eliminan dióxido de carbono (CO₂) en la oscuridad, además de que la cantidad de oxígeno desprendida durante el día era menor que

ESTRUCTURAS DE LAS PLANTAS

Aunque la fotosíntesis se lleva a cabo en los procariontes como las cianobacterias, en los gránulos asociados con la membrana plasmática, y en los eucariontes como las plantas y algas verdes en los cloroplastos, nos vamos a basar en describir la compleja estructura de las hojas de las plantas. De manera sencilla las hojas de las plantas han evolucionado de acuerdo al medio ambiente en el que viven, siendo triunfadoras en la selección natural, aquellas con características que les permitan un funcionamiento idóneo.

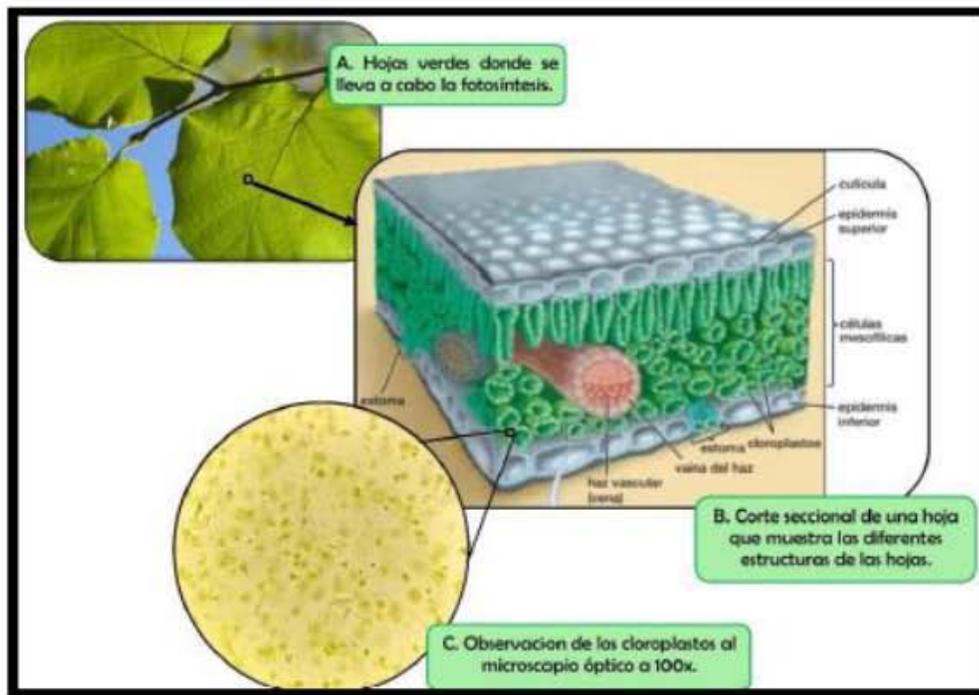
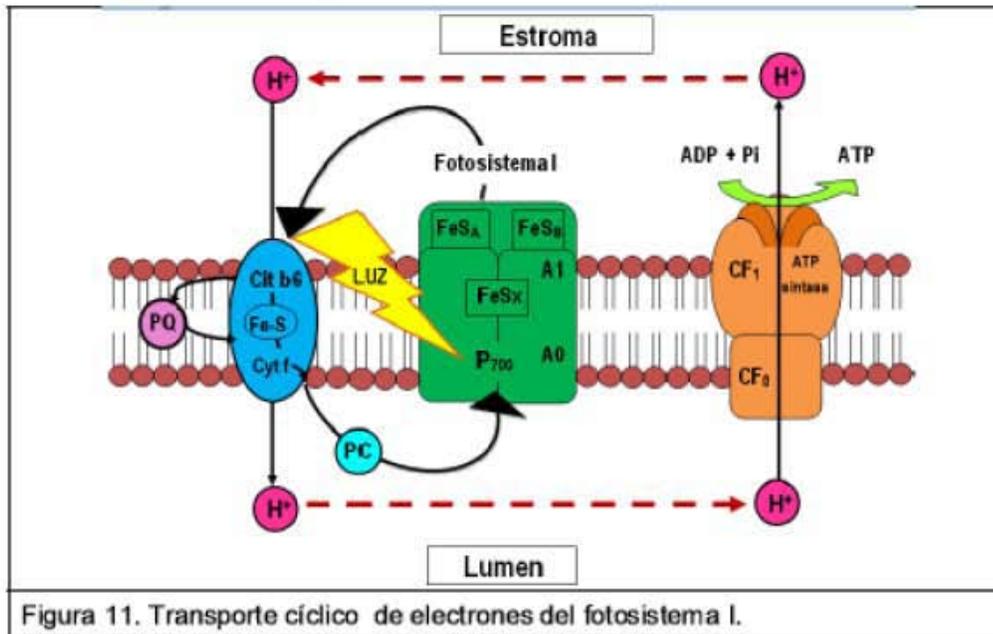


Figura 4. Estructura de las hojas. A) Hojas verdes donde se lleva a cabo la fotosíntesis ²⁶, B) Corte seccional de una hoja verde y diferenciación de todas sus estructuras ²⁰, C) Observación en el microscopio de cloroplastos aislados en el objetivo de 100x.

FOTOSISTEMA I

La absorción de un fotón por el P_{700} conduce a la liberación de un electrón energizado que pasará por la cadena transportadora de electrones, teniendo como primer aceptor de electrones una molécula de clorofila a (A_0) y después pasa a la ferredoxina ligada (F_A y F_B) que es una proteína de hierro y azufre que es hidrosoluble móvil, cada una cede un electrón a la flavoproteína que se llama ferredoxin-NADP oxidorreductasa (FAD) que utiliza dos electrones y un protón del estroma para reducir el $NADP^+$ a NADPH. (Figura 8 y 9).^{19,21}

La transferencia de electrones desde la ferredoxina al $NADP^+$ se denomina ruta de transporte electrónico acídica. En algunas ocasiones el transporte cíclico de electrones del FSI se acopla con la ATP sintasa para generar ATP en vez de producir NADPH, esto ocurre cuando hay una proporción alta de $NADPH/NADP^+$ en la célula para aceptar todos los electrones generados por la excitación de P_{700} si no que se utilizan para bombear más protones a través de la membrana tilacoide y generar ATP (Figura 11).^{19,21}



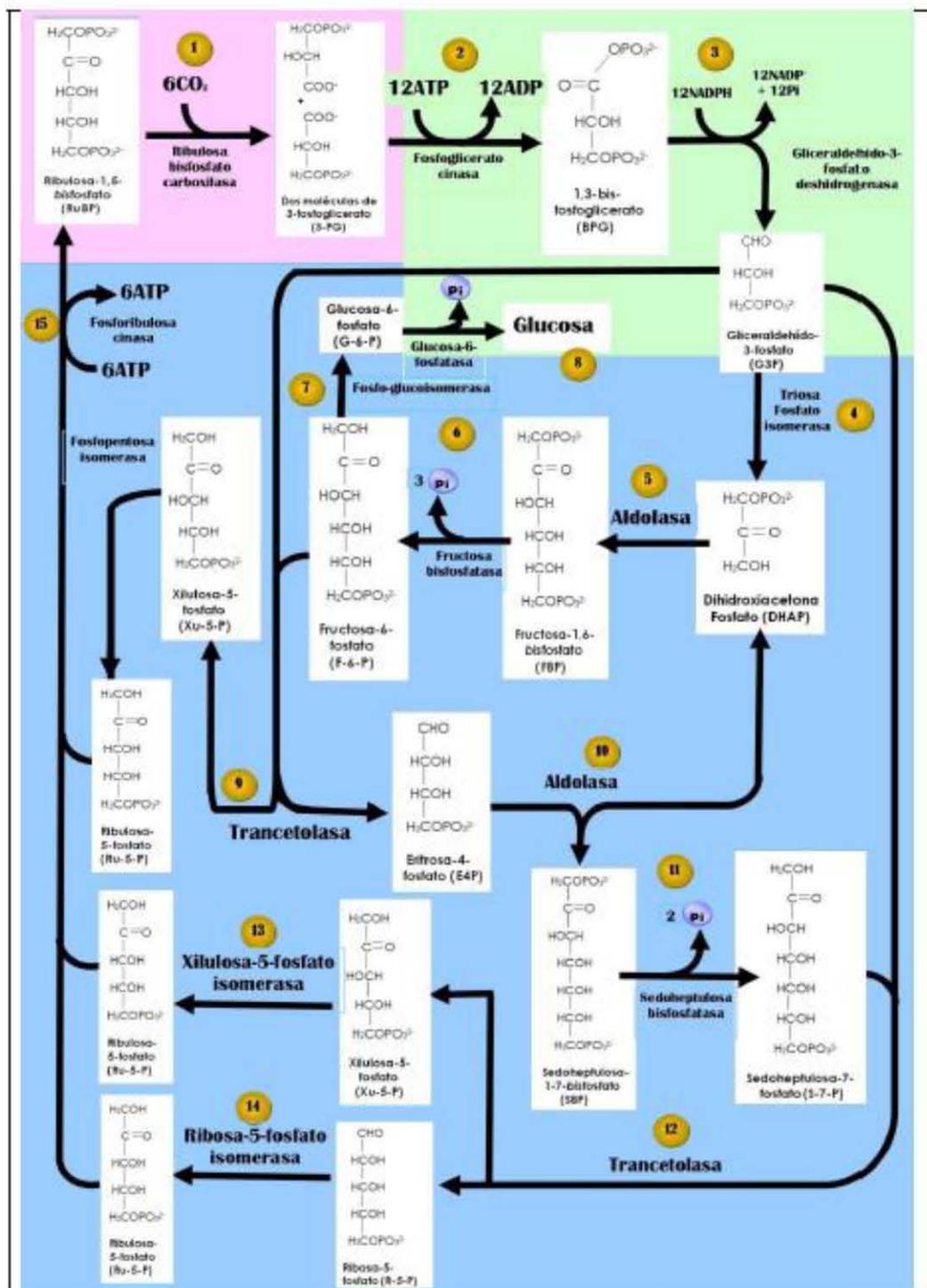


Figura 12. Ciclo de Calvin, ciclo reductor de las pentosas fosfato o ciclo C₃. 21,22.

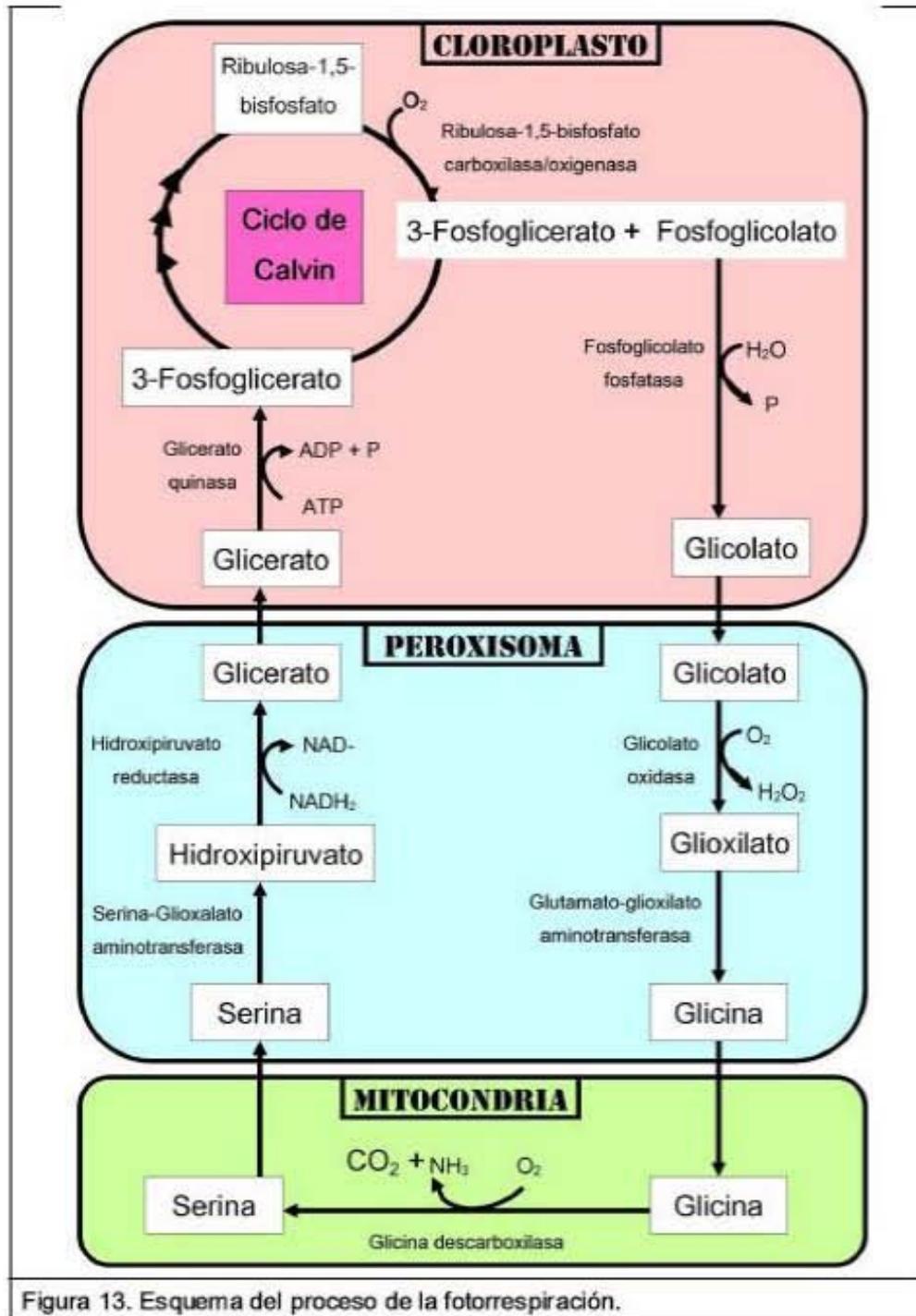


Figura 13. Esquema del proceso de la fotorrespiración.

nuevo el fosfoenolpiruvato que puede reaccionar con CO_2 y comenzar de nuevo otra ronda de la vía C4 (Figura 14).^{8,19,20,21,40}

Aunque en la vía C4 se utilicen dos ATP más que el ciclo de Calvin por cada CO_2 incorporado a la glucosa, el hecho que haya abundante luz ayuda a producir el ATP extra necesario en las reacciones de la fase luminosa.²¹

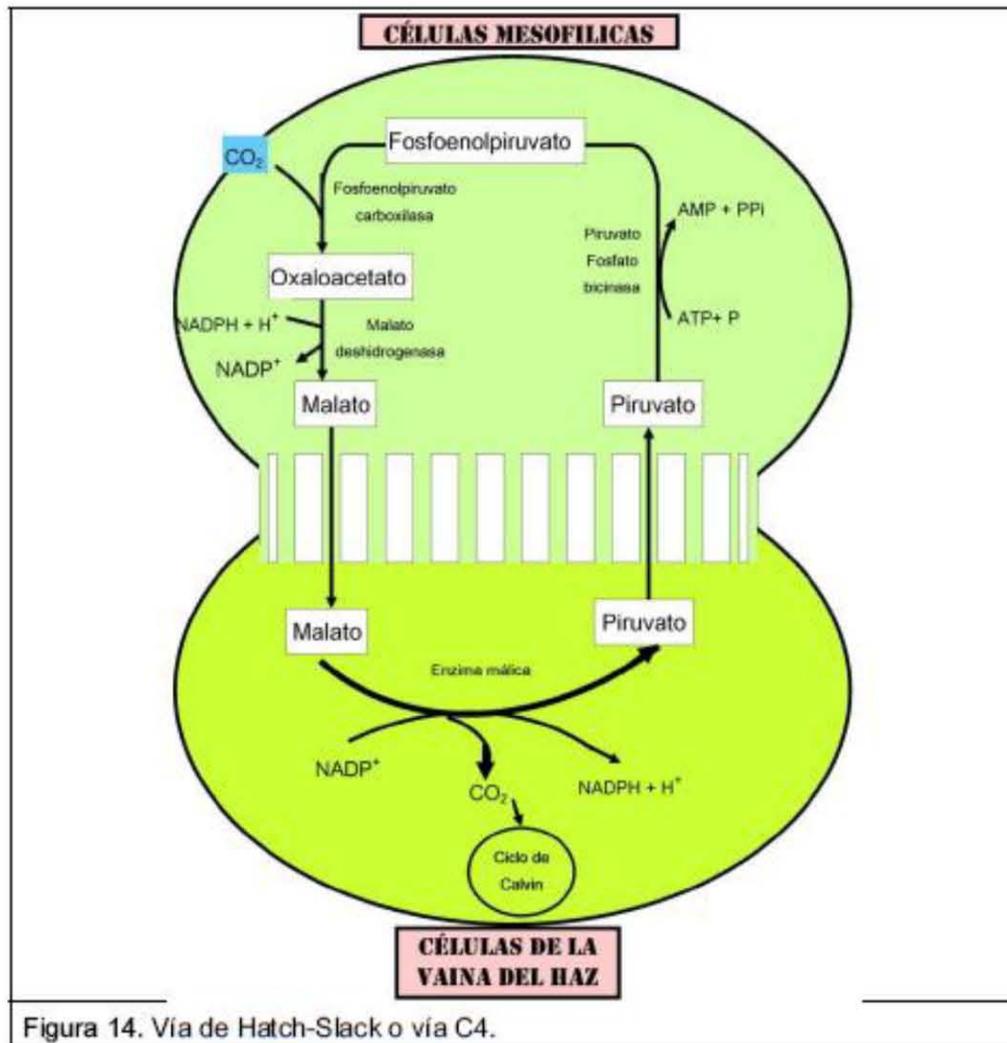


Figura 14. Vía de Hatch-Slack o vía C4.