

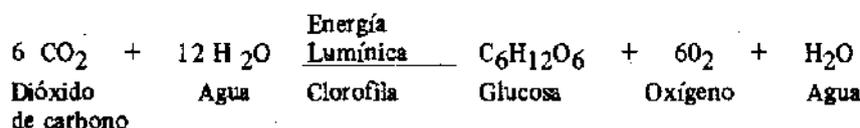
LABORATORIO: FOTOSINTESIS (1)

Por: R. Fonnegra G.(2)

INTRODUCCION

De los procesos bioquímicos conocidos por el hombre, la fotosíntesis es quizá el más importante. A través de ella la energía lumínica es absorbida e incorporada a la molécula de carbohidrato en forma de enlaces químicos. Los carbohidratos producidos durante la fotosíntesis son necesarios pa-

ra el crecimiento y mantenimiento del organismo vegetal y para cualquier otra forma de vida, siendo desdoblados durante el fenómeno de respiración para liberar la energía contenida en ellos, o igualmente, pueden suministrar materia prima para la síntesis de sustancias más complejas que constituyen las unidades básicas de la célula. La reacción generalizada de la fotosíntesis la podemos ilustrar como sigue:



Sin embargo este proceso no es tan simple; por el contrario, consiste en una serie de reacciones con formación de productos intermedios, todas y cada una de las cuales son catalizadas al menos por una enzima. Además, en la fotosíntesis podemos establecer dos etapas sucesivas: En la primera etapa o reacción de Hill (etapa lumínica) la energía radiante es absorbida, mediante la clorofila, y en parte utilizada en el rompimiento de la molécula de agua, fuente de hidrógeno para la reducción del CO₂. En la segunda etapa o reacción de Blackman (etapa de oscuridad), el CO₂ absorbido es combinado con un difosfato de una pentosa (ribulosa-1,5 difosfato) utilizándose energía química almacenada en la molécula del ATP (adenosín trifosfato, producido durante la etapa lumínica) formándose una triosa (fosfogliceraldehído-3 fosfato) el cual puede ser utilizado por la planta directamente como alimento, o ser punto de partida para la síntesis de los demás carbohidratos, incluida la misma ribulosa.

OBJETIVO

En este laboratorio se emplean tres experimentos clásicos, para hacer comprender al estudiante que los factores luz,

clorofila y dióxido de carbono son indispensables para el proceso de la fotosíntesis.

MATERIAL (Para grupos de 4 estudiantes).

plantas de *Coleus* (coleo, de la especie con hojas variegadas).

plantas de *Pelargonium* (novio, o geranio) sembrado en macetas.

plantas de *Elodea* (o un alga filamentosa, ej. *Spirogyra* en agua de estanque o agua de grifo).

alcohol etílico.

agua de grifo.

solución de lugol (IKI).

solución de almidón 100/o.

solución de sulfato de cobre 10/o (opcional).

(1) Tomado y adaptado principalmente de: Müller, L.E. 1964 *Manual de Laboratorio de Fisiología Vegetal*. Inst. de Cienc. Agr. de la OEA. Turrialba, Costa Rica.

(2) Profesor Departamento de Biología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

solución de NaHCO_3 (o KHCO_3) al 0.5o/o; 1o/o; 2o/o y 4o/o. 2 beakers de 500 ml.

1 beaker de 1.000 ml.

1 tubo de ensayo de tamaño mediano 150 x 16 mm.

1 tubo de ensayo de tamaño grande 200 x mm.

1 tubo de ensayo de tamaño grande 200 x 20 mm.

1 lámpara con bombillo de 100 wátios.

papel de aluminio.

clips (ganchos de alambre) o alfileres.

tijeras pequeñas.

pinzas.

soporte universal.

NOTA: El anterior es el material más recomendable, pero puede ser cambiado por otras especies de plantas que reúnan las mismas condiciones, frascos de mermelada, botellas para leche, etc.

PROCEDIMIENTOS

Debido a que la glucosa es convertida en almidón en las células fotosintetizadoras, podemos tomar su presencia en las hojas como indicador de que ha ocurrido fotosíntesis, para lo cual se emplea la reacción típica para reconocimiento de almidón.

A. Necesidad de la Clorofila en la Fotosíntesis.

1. Tome un tubo de ensayo de tamaño mediano, eche en él 5 ml. de solución de almidón al 10o/o y añada unas gotas de lugol. Anote el resultado. (Para preparar el lugol, disuelva 1 g. de KI (yoduro de potasio) en 100 ml de agua destilada. Añada luego 0.5 g de yodo metálico y agite por varios minutos).
2. Tome una hoja de una planta de *Coleus*. Haga un dibujo de ella indicando las zonas verdes y las zonas rosadas. Luego deje hervir la hoja en agua por varios minutos. Hiérvalas nuevamente en un recipiente que contenga 300 ml de alcohol etílico al 95o/o. Hierva a baño de agua utilizando una parrilla eléctrica (recuerde que el

alcohol es inflamable, no utilice fuego directo). Cuando la hoja haya perdido todos sus colores sáquelas con ayuda de una pinza, teniendo mucho cuidado, ya que durante el proceso ésta se deshidrata y se hace muy frágil. Luego sumérjala en un recipiente que contenga solución acuo-

sa de lugol. Anote el resultado y compárelo con el obtenido en el numeral 1.

DISCUSION

1. ¿Qué resultado obtuvo cuando añadió lugol al tubo de ensayo con solución de almidón? ¿Cómo podríamos denominar esta parte del experimento?
2. ¿A qué pigmento se debe el color rosado de la hoja de *Coleus*? ¿A cuál se debe el color verde?
3. ¿Con qué propósito hirvió la hoja primero en agua y luego en alcohol?
4. Haga un diagrama de la hoja tratada y señale en él las zonas en las cuales la prueba para almidón dio positiva; compárelo con su diagrama anterior. ¿Qué conclusión puede sacar acerca de la relación existente entre la presencia de clorofila y el proceso de fotosíntesis?

B. Necesidad de la Luz en la Fotosíntesis.

Tome algunas láminas de papel de aluminio (puede ser del utilizado en el interior de las cajetillas de cigarrillo), y cubra con éste la parte central de la hoja, tanto en el haz como en el envés (Fig. 1). Asegúrese que el papel aluminio quede bien adherido a la superficie de la hoja, para lo cual puede utilizar alfileres o clips. Deje el montaje en estas condiciones durante cuatro días. Haga este procedimiento con plantas de novio (*Pelargonium*) sometidas a las siguientes condiciones lumínicas:

1. Expuestas a la luz solar directa.
2. Expuestas a la luz solar, pero en lugar sombreado.
3. Completamente en la oscuridad.
4. Expuestas a la luz solar directa por dos días y luego llevadas a completa oscuridad por otros dos días.
5. Completa oscuridad por dos días y luego llevadas a la luz solar directa por otros dos días.
6. Expuestas a la luz directa, pero completamente cubiertas con papel de aluminio.
7. Expuestas a la luz directa y completamente descubiertas.

Transcurridos los cuatro días, marque las hojas utilizando unas tijeras, de tal manera que usted pueda identificar más tarde bajo qué condición se encontraba la planta. Repita en cada hoja el procedimiento realizado en la segunda parte del experimento A: anote los resultados en la siguiente tabla:

Condición de la Hoja.	Presencia o Ausencia de Almidón	
	Zona Cubierta	Zona Descubierta
Luz Directa		
Sombra		
Oscuridad		
Luz-Oscuridad		
Oscuridad-Luz		
Cubierta		
Descubierta		

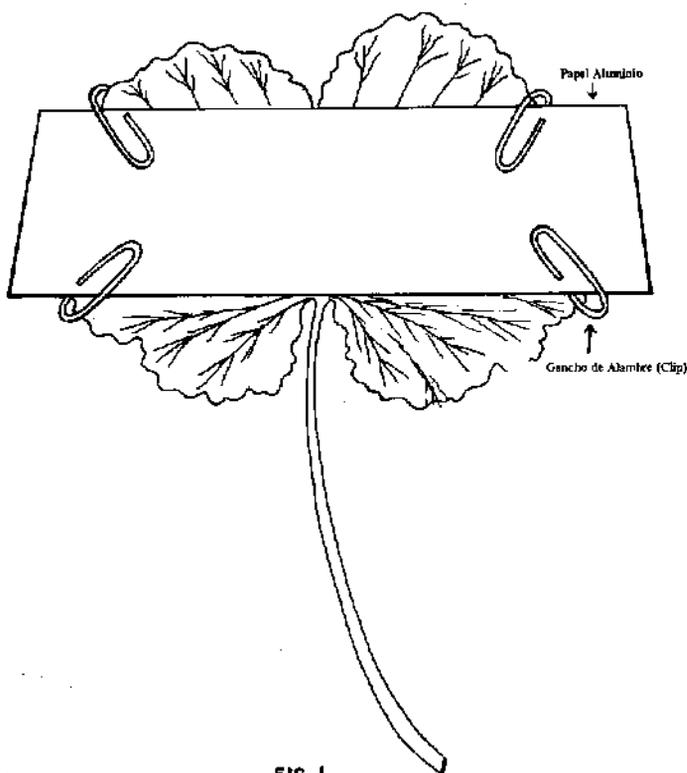


FIG. 1

Diagrama de hoja de *Pelargonium* (Novio) en la cual se indica la manera de evitar que la luz incida sobre parte de la hoja, para comprobar la necesidad de energía lumínica en el proceso de fotosíntesis.

Coloque los signos:

- (-) Si la prueba da negativa.
- (+) Débilmente positiva.
- (++) Positiva.
- (+++) Fuertemente positiva.

DISCUSION

- ¿Con qué fin debe preparar las hojas cuatro días antes de iniciar éste experimento?

- ¿Cuál es el propósito de tapar parte de la hoja con papel de aluminio?
 - ¿Qué indica la reacción del almidón en las zonas cubiertas? Explique su respuesta.
 - ¿Puede la hoja en la sombra realizar fotosíntesis con la misma intensidad que lo hace cuando está expuesta a luz solar directamente? ¿Por qué?
 - ¿Pierde la hoja su capacidad total de fotosíntesis cuando es llevada a la oscuridad? ¿De ser así, cree usted que recuperaría al ser sometida nuevamente a la luz?
 - ¿Qué conclusión saca usted del efecto que tiene la luz en la fotosíntesis?
- C. *Influencia de la Intensidad Lumínica y la Concentración de CO₂ en la Fotosíntesis.*

Se ha comprobado que cualquier variación en la concentración de CO₂ afecta la tasa de fotosíntesis, siendo la actividad fotosintética directamente proporcional a la concentración de CO₂. Igualmente, si se aumenta la intensidad lumínica aumenta la fotosíntesis utilizándose mayor cantidad de CO₂. Estos factores influyen simultáneamente y si uno de ellos es limitativo también se limita la actividad de la fotosíntesis y no hay aumento hasta que dicho factor se normalice. En parte, se tratará de comprobar que si se aumenta la intensidad lumínica, la planta no puede aumentar la actividad fotosintética, a no ser que la concentración de CO₂ aumente proporcionalmente, al mismo tiempo. Se utilizará como medida de la fotosíntesis el conteo de las burbujas de oxígeno desprendidas del tallo de la planta acuática *Elodea*. Es necesario hacer notar que es un método con algunos factores de error, tales como: El tamaño de la burbuja no es constante, la burbuja no solamente es oxígeno, parte del oxígeno producido se disuelve en el agua. Pero de todas maneras nos da una respuesta aproximada al problema planteado.

Tome una planta joven y sana de *Elodea* y corte una rama de aproximadamente 10 cm de longitud. Colóquela en un tubo de ensayo grande, teniendo en cuenta que el corte del tallo quede hacia la parte superior; agregue la solución de NaHCO₃ al 5o/o; la solución debe quedar por encima de la ramita de *Elodea*. Coloque el tubo de ensayo en un soporte universal de tal manera que queda a la misma altura del rayo de luz de una lámpara con bombilla de 100 wátios. Deje una distancia de 200 cm entre la fuente de luz y el tubo de ensayo; coloque entre ambos un recipiente con agua o con solución de sulfato de cobre al 1o/o a manera de filtro para evitar aumento de la temperatura en el tubo de ensayo (Fig. 2). Encienda la lámpara y espere unos minutos hasta que la velocidad de las

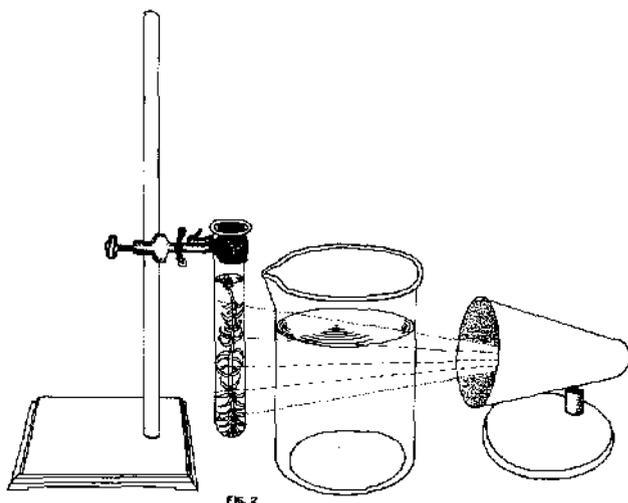


FIG. 2

Manera de montar el conjunto: Rama de *Elodea* -filtro- fuente de energía lumínica, para comprobar la influencia de la intensidad lumínica y la concentración de CO_2 en la fotosíntesis.

burbujas que salen de la rama sea más o menos constante. Haga cinco recuentos de las gotas, cada uno de un minuto de duración. Saque el promedio de burbujas producidos por minuto. Apague la lámpara y aproxímela a 100 cm. de distancia a la planta de *Elodea* la cual debe permanecer sin ser tocada. Entienda la luz y repita los recuentos. Haga lo mismo a las distancias de 50 cm; y 12.5 cm. Repita el experimento completo con las siguientes concentraciones de NaHCO_3 : al 1o/o, 3o/o y 4o/o, utilizando siempre la misma planta. Calcule la intensidad lumínica haciendo, arbitrariamente 12.5 cm igual a una intensidad lumínica de 1.0. Llene el siguiente cuadro:

Haga en una gráfica las curvas de los resultados obtenidos, anotando la intensidad lumínica en la abscisa y el promedio del número de burbujas por minuto en la ordenada.

DISCUSION

1. ¿Por qué se debe evitar que la temperatura aumente?
2. ¿A qué distancia empezó el CO_2 a ser factor limitante en cada uno de los experimentos?
3. ¿Qué conclusiones puede usted sacar al hacer el estudio comparativo de las diferentes curvas?
4. ¿Por qué podemos utilizar el conteo de burbujas de oxígeno como signo de que está ocurriendo fotosíntesis?
5. ¿Proponga un experimento para estudiar la influencia de la calidad (color) de la luz sobre la efectividad de fotosíntesis.

EVOLUCION DE O_2 en ELODEA

Distancia en cm.	Intensidad Lumínica	Promedio de Burbujas en la Solución de Bicarbonato		
		0.5o/o	1.0o/o	4.0o/o
200				
100				
50				
25				
12.5	1.0			

BIBLIOGRAFIA

- Muller, L. E. *Manual de Laboratorio de Fisiología Vegetal*. Ins. Int. Cienc. Agr. de la O.E.A., Turrialba, Costa Rica, 1964.
- Newcomb, E. H., G. E. Gerloff y Wof. Whittingham. *Plants in Perspective* Freeman & Co., San Francisco, 1964.
- Sparling, S. R., W. H. Muller & W. L. Theobald, *A Laboratory Manual*. The MacMillan Co., New York, 1969.
- Torres, A. M. & R. L. Costello. *Manual de Laboratorio para Botánica General*. Uteha. México, 1969.