

Trabajo Práctico

Fotosíntesis

B101

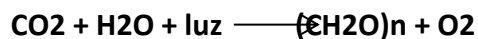
Biología General

La fotosíntesis es el proceso por medio del cual las plantas (y algunos otros organismos) llevan a cabo la síntesis de moléculas orgánicas (hidratos de carbono) partiendo de una fuente de energía (la luz), una fuente de carbono (CO₂) y agua. Estos hidratos de carbono son utilizados como fuente de nutrientes y por ello a los organismos con esta capacidad de les denomina autótrofos.

La fotosíntesis en eucariontes procede en dos etapas:

- Etapa lumínica: es un proceso dependiente de la luz. La energía de la luz es necesaria para fabricar moléculas de ATP y moléculas portadoras de energía, NADPH. Estos productos participan en la producción de azúcares durante la segunda etapa.
- Etapa de fijación del carbono o Ciclo de Calvin- Benson: Los productos de la primera etapa son lo que aportan la energía necesaria para que en esta etapa el CO₂ ambiental sea fijado en hidratos de carbono.

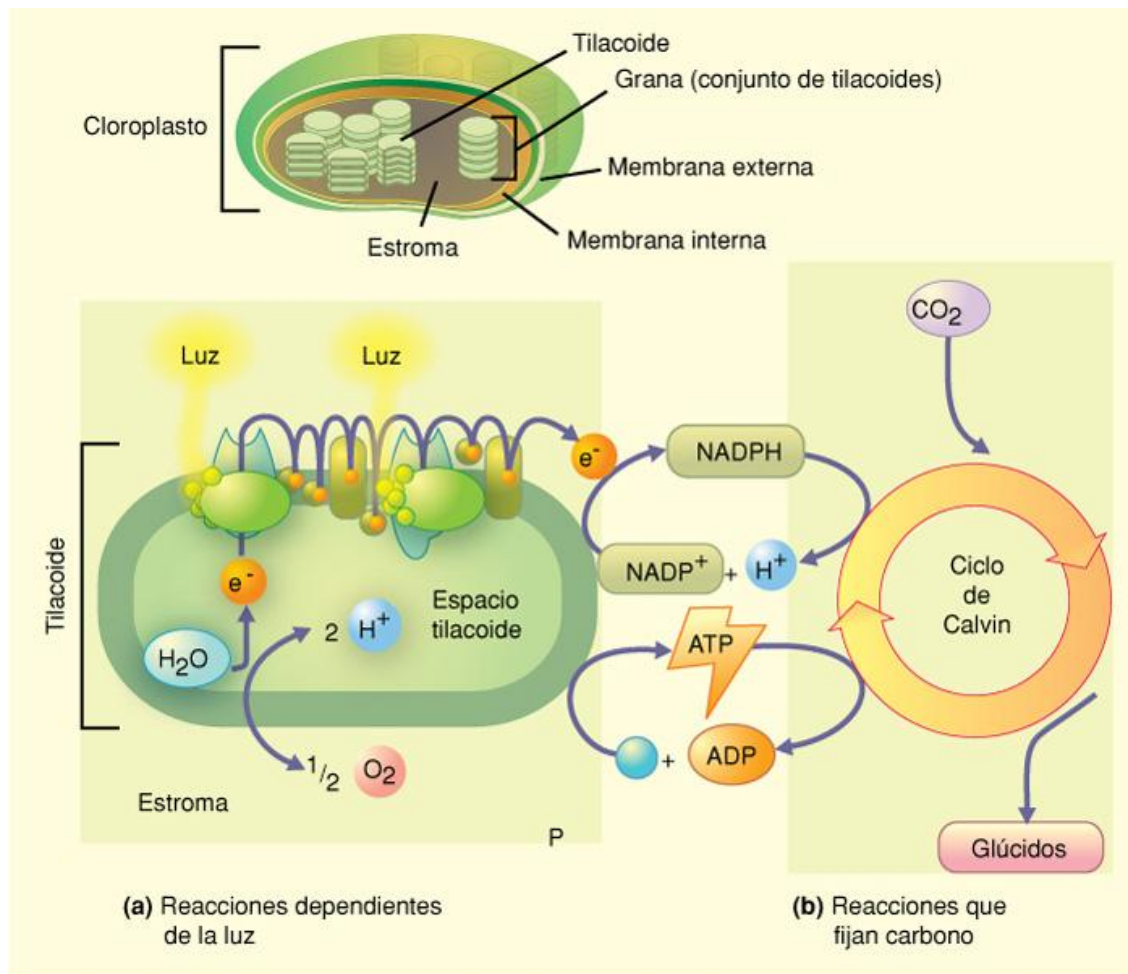
Ecuación general de la fotosíntesis:



En los organismos eucariontes (plantas y algas), la fotosíntesis ocurre en los cloroplastos. Estas organelas poseen una doble membrana entre las cuales queda un espacio. La membrana interna rodea el estroma, una solución densa que contiene a las membranas tilacoides con forma de sacos aplanados o discos. Estos se apilan para formar las granas. La etapa lumínica ocurre en la membrana de los tilacoides mientras que la fijación del carbono se lleva a cabo en el estroma de los cloroplastos.(Imagen 1).

Los procariontes fotosintéticos tienen tilacoides que son proyecciones internas de la membrana plasmática que contienen los compuestos necesarios para la fotosíntesis.

Imagen 1

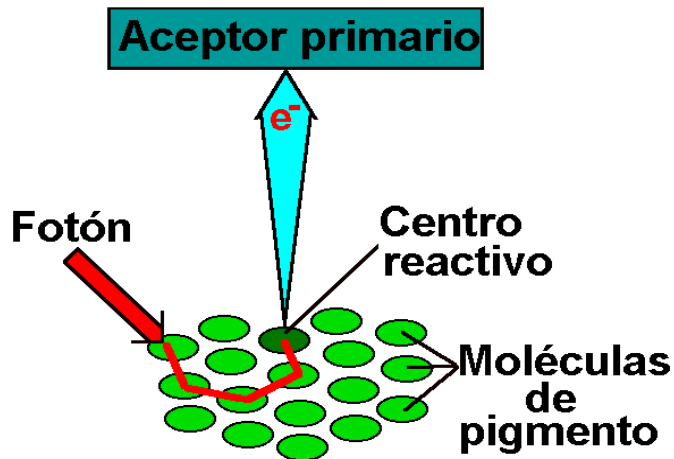


Etapa lumínica:

En la etapa lumínica, un cuanto de luz o fotón es absorbido por una molécula de clorofila. La clorofila es un pigmento y un pigmento es cualquier sustancia capaz de absorber luz. Cuando una molécula de clorofila absorbe un cuanto de luz, un electrón es lanzado a un nivel energéticamente superior. A partir de ese momento se desencadena un proceso de transporte de electrones que transforma la energía lumínica captada en moléculas de ATP y NADPH. El agua se descompone en el proceso liberando oxígeno como producto secundario de la reacción.

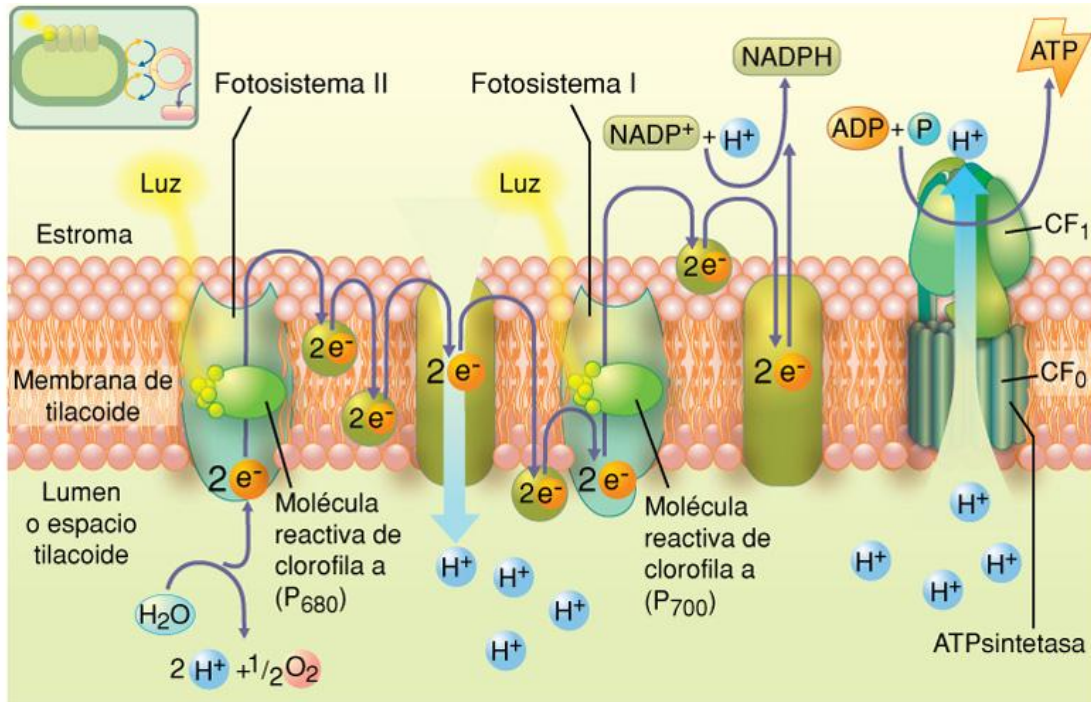
Los fotosistemas son conjuntos de moléculas de clorofila y otros pigmentos y proteínas transmembrana empaquetados en los tilacoides. Cada fotosistema tiene un centro de reacción fotoquímico que contiene una molécula de clorofila a reactiva y otras moléculas que participan en las reacciones de oxidoreducción del transporte de electrones. En el fotosistema I, la molécula de clorofila a tiene un pico de absorción de 700 nanómetros, se la denomina P700. En el fotosistema II el pico de absorción de la clorofila a es 680 nm y se conoce como P680.

Muchos procariontes tienen un solo fotosistema: el fotosistema II (si bien fue el primero en la evolución, fue el segundo en descubrirse, de allí el II). Los eucariontes usan el fotosistema II más el fotosistema I.



La fotosfosforilación es el proceso global de transformación de la energía almacenada en el electrón del centro reactivo excitado por la luz, en un enlace pirofosfato de una molécula de ADP (Imagen 2). Cuando un fotón es absorbido por uno de los pigmentos del fotosistema II este rebota rápidamente por las demás moléculas hasta alcanzar la clorofila a en el centro reactivo. Cuando esta molécula absorbe la energía lumínica, un electrón es lanzado a un nivel energético superior y es transferido a otra molécula, un aceptor primario de electrones. La molécula de clorofila, al perder un electrón, se oxida y queda cargada positivamente, sin embargo este electrón es reemplazado por electrones que provienen indirectamente de la escisión de la molécula de H₂O. La escisión del agua aporta los electrones necesarios y libera el oxígeno contenido en dicha molécula al ambiente. Los electrones pasan desde el aceptor primario (en el fotosistema II), a lo largo de una cadena de transporte de electrones, a un nivel de energía inferior hasta ser captados por el centro de reacción del fotosistema I. A medida que los electrones pasan por esta cadena de transporte, se forma un gradiente de protones que impulsan la generación de moléculas de ATP. Cuando la molécula reactiva P700 del fotosistema I atrapa un fotón de luz, se desencadena una cadena transportadora de electrones hasta llegar al NADP⁺ para formar NADPH. El electrón eliminado del fotosistema I es reemplazado por el proveniente del fotosistema II. De esta manera se genera un flujo continuo de electrones desde el H₂O hasta el fotosistema II, desde este hasta el fotosistema I para llegar al NADP⁺ (Imagen 2).

Imagen 2

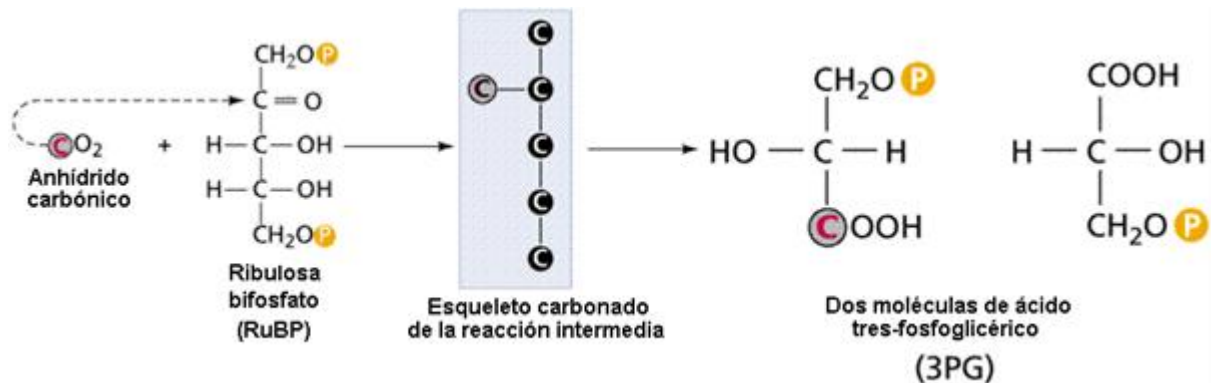


El fotosistema I puede trabajar en forma independiente del fotosistema II. Cuando esto ocurre, los electrones de P700 son lanzados a una cadena de transporte pero no alcanzan como destino final al $NADP^+$, sino que son reciclados a la molécula de clorofila desde donde salieron. En este transcurso de este pasaje se genera un gradiente de protones que actúa como fuerza motriz para la síntesis de moléculas de ATP. El flujo cíclico de electrones, que produce ATP pero no NADPH es una ruta alternativa que permite regular la cantidad de ATP y NADPH en presencia de luz según la necesidad de la planta.

Las halobacterias, una clase de arqueobacterias que se desarrollan en el agua saturada o casi saturada de sal, son aerobios facultativos por lo que pueden desarrollarse en ausencia de oxígeno. Estas bacterias pueden sobrevivir en ambientes salinizados, ya que tienen una vía separada de creación de energía aparte de la fotosíntesis. Poseen, en su membrana celular, el pigmento púrpura retinal que permite crear un gradiente de protones a lo largo de la membrana que actúa como fuerza motriz para la generación de moléculas ATP en ausencia de clorofila. Este hecho apoya la idea que el proceso quimiosmótico es una forma universal de creación de ATP.

Etapa de fijación del carbono: Ciclo de Calvin- Benson

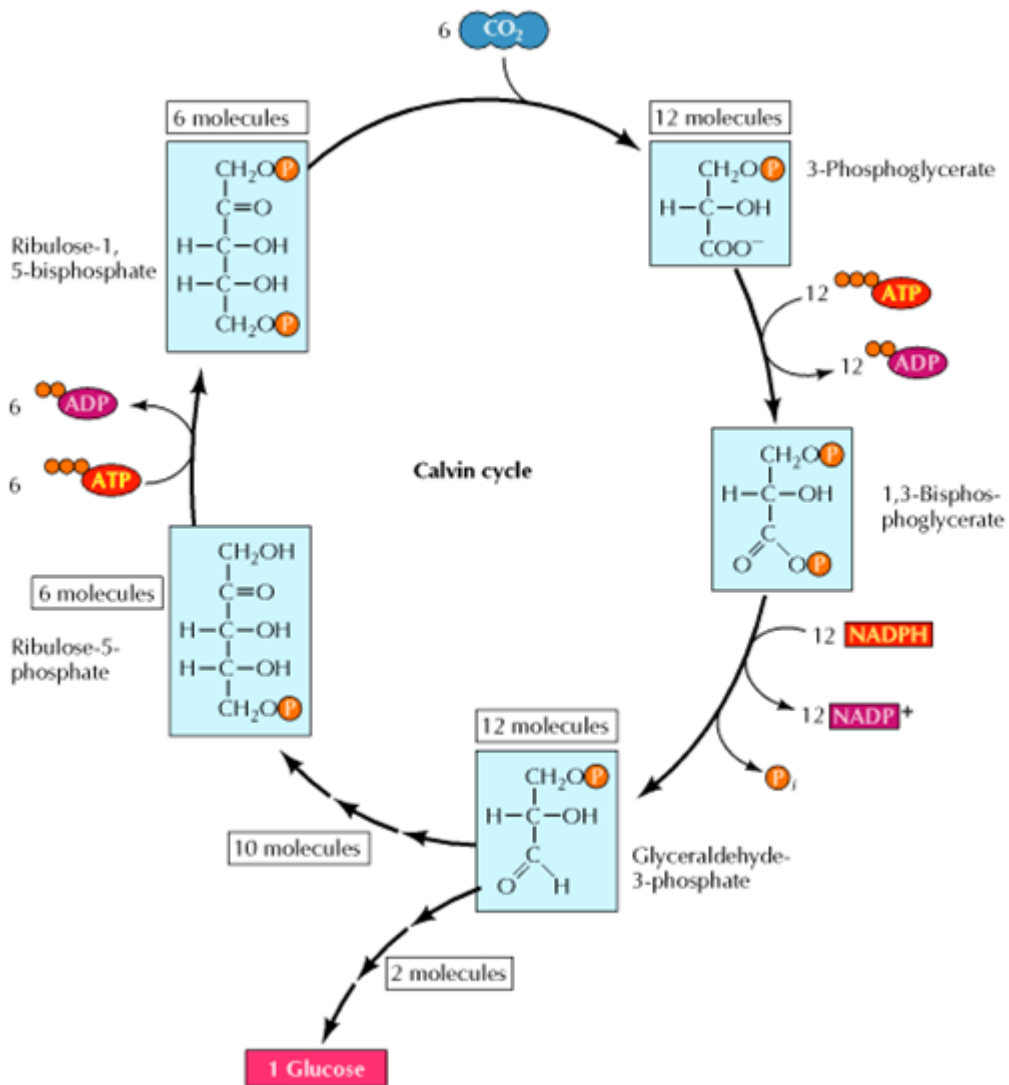
El ATP y NADPH formados en la etapa lumínica se utilizan en la etapa de fijación del carbono del CO₂ para dar a la formación de moléculas de glucosa (C₆H₁₂O₆). La transformación del CO₂ en un compuesto orgánico se conoce como fijación del Carbono. Para ello debe existir un primer paso de incorporación del CO₂ por parte de los organismos fotosintéticos. Así, las algas lo toman directamente del CO₂ que está disuelto en el agua circundante. Las plantas terrestres, sin embargo, toman el CO₂ del aire por medio de estructuras especializadas presentes en las hojas y tallos verdes denominados estomas. La fijación del carbono ocurre en el estroma en forma cíclica. El Ciclo de Calvin-Benson (denominado así por su descubridor, el químico estadounidense Melvin Calvin (1911-1997) o vía de los tres carbonos comienza cuando el CO₂ se une a una molécula de ribulosa 1,5 bifosfato (RuBP). La RuBP tiene 5 carbonos en su molécula. El producto de la unión del CO₂ con RuBP forma un producto de 6 carbonos que se escinde y forma dos moléculas de fosfoglicerato o PGA de tres carbonos (de ahí el nombre de vía de los tres carbonos):



Globalmente, 6 moléculas de RuBP se combinan con 6 de CO₂ para dar lugar a la formación de 12 moléculas de PGA. La enzima que cataliza esta reacción es la RuBP carboxi-oxigenasa (rubisCO), posiblemente la proteína más abundante del mundo y se encuentra en la superficie de las membranas tilacoideas.

La energía almacenada en las moléculas de ATP y NADPH generadas por los fotosistemas se usan para fosforilar el PGA y reducirlo a fosfogliceraldehido o PGAL, también de tres carbonos (Imagen 3).

Imagen 3: Ciclo de Calvin-Benson.



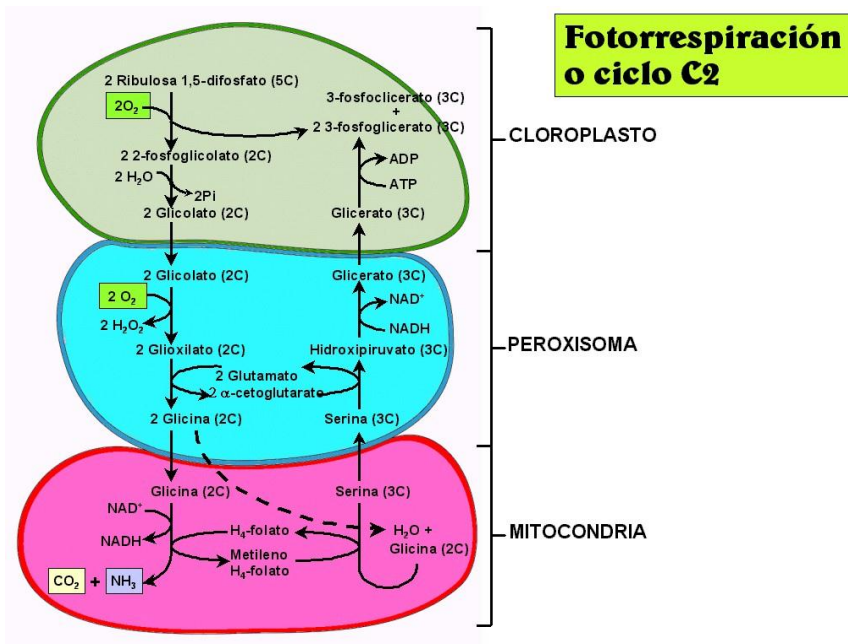
Del total de 12 moléculas transformadas, dos moléculas de PGAL salen del ciclo para convertirse en glucosa. Las 10 moléculas restantes de PGAL son convertidas por medio del ATP en 6 moléculas de RuBP (5 carbonos), que recomienzan el ciclo. A su vez, cada reacción del Ciclo es catalizada por una enzima específica. (Imagen 3).

Las plantas poseen un mecanismo de control que evita que el Ciclo de Calvin-Benson degrade moléculas de ATP y NADPH durante la noche cuando no son sintetizadas por la etapa lumínica. Algunas enzimas del Ciclo, incluida la RuCO están reguladas en forma indirecta por la luz, a través del pH óptimo de funcionamiento y de la concentración de iones Mg²⁺. Como consecuencia, la luz regula de forma indirecta el Ciclo de Calvin y la fijación del carbono es inhibida en la oscuridad.

Fotorrespiración.

La rubisCO tiene una desventaja: tiene tanta facilidad para combinarse con el CO₂ para activar la formación de azúcar, como de combinarse con el O₂ para formar ácido glicólico, sustrato de la fotorrespiración o ciclo C₂. Este proceso, usa moléculas de ATP y NADPH pero libera CO₂ en lugar de fijarlo (Imagen 4). Se produce en los peroxisomas y en las mitocondrias y está favorecido por temperaturas mayores a 28°C.

Imagen 4

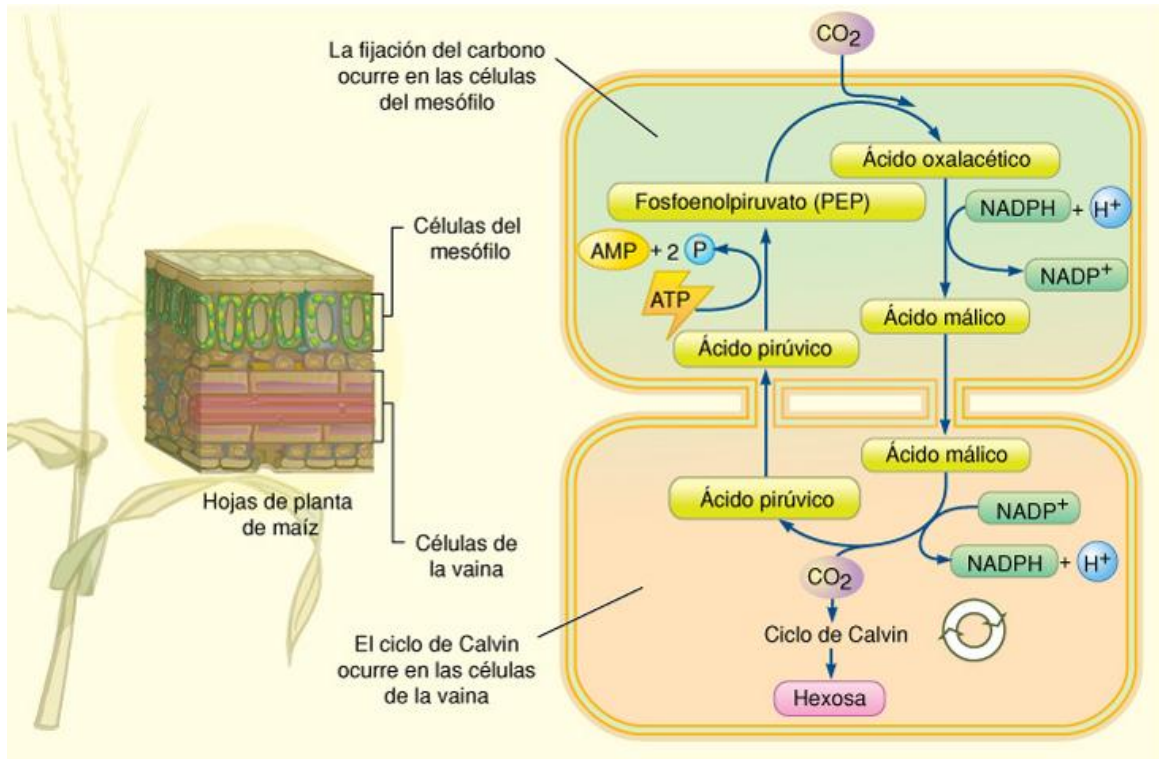


La vía de 4 Carbonos

Algunas plantas han desarrollado un ciclo previo a la entrada en el Ciclo de Calvin para evitar la pérdida de eficiencia fotosintética debido a la Fotorrespiración. En estas plantas, la fijación del CO₂ comienza con la unión del mismo a fosfoenolpiruvato (PEP), molécula de tres carbonos, que se convierte en ácido oxálico, de cuatro carbonos (de aquí el nombre de vía de los 4 carbonos). El ácido oxálico es convertido en ácido málico, también de cuatro carbonos. Todo esto ocurre en las células del parénquima clorofiliano del mesófilo. El ácido málico pasa a las células de la vaina

fascicular (nivel mayor de profundidad en la hoja) donde se desdobra nuevamente en PEP y CO₂, que entra finalmente en el ciclo de Calvin, mientras que el PEP vuelve a las células del mesófilo. La glucosa formada puede ser transportada rápidamente al resto de la planta. Este proceso separa físicamente la captura de CO₂ de las reacciones del Ciclo del Calvin e involucra gasto de ATP (Imagen 5).

Imagen 5



La fijación del CO₂ por el PEP es mediada por la enzima PEP carboxilasa, que tiene mayor afinidad por el CO₂ que la RuBP carboxi-oxigenasa (rubisCO). Las plantas que usan la vía de 4 carbonos, a menudo crecen muy juntas, y deben ajustarse a la disminución de CO₂ que este hecho implica, es decir, tienen menor "acceso" al CO₂ del aire que les rodea. Para solventar este inconveniente las plantas llevan a cabo este paso previo de fijación del CO₂ de manera de generar un aumento localizado de la concentración de CO₂ en las células de la vaina disponible para entrar en el Ciclo de Calvin-Benson.

Protección de las plantas contra el sol

El proceso fotosintético es más eficiente con niveles promedio de luz solar. A pleno sol, especialmente a mediodía, las plantas absorben mucha más energía de la que pueden usar. Si no encuentran una forma de dispersar la energía de una manera segura la clorofila pasa a un estado hiperexcitado, desde el cual su energía puede transferirse al oxígeno dando como resultado "oxígeno singulet", un potente oxidante, que puede causar daño indiscriminado a la planta e inclusive su muerte. Entre los mecanismos antioxidantes para protección de las plantas se encuentran:

- los carotenoides, otros pigmentos, son capaces de detoxificar a la planta del "oxígeno singulet" capturando su energía y disipándola en forma de calor.
- atenuación no fotoquímica de la energía solar, proceso en el cual interviene una proteína que se encuentra asociada al fotosistema II conocida por las siglas PsbS.

Plantas CAM

En condiciones de extrema sequedad, ciertas plantas abren los estomas por la noche y los mantienen cerrados durante el día, mecanismo que impide la excesiva pérdida de agua por la transpiración. De esta manera las plantas se protegen de la desecación pero a la vez impiden el intercambio gaseoso necesario para la fotosíntesis durante el día. Por ello muchas plantas de ambientes secos cuentan una vía metabólica llamada metabolismo ácido de las crasuláceas o fotosíntesis CAM. En estas plantas, tras la incorporación del CO₂, este reacciona con el PEP, reacción que es catalizada por la PEP carboxilasa, y se forma ácido málico que se almacena en las vacuolas. Durante el día las vacuolas liberan el ácido málico que luego es descarboxilado y el CO₂ así liberado se incorpora al Ciclo de Calvin-Benson.

EL Ciclo del carbono

Las Plantas incorporan el CO₂ de la atmósfera y de los océanos al transformarlo en compuestos orgánicos, convirtiendo la energía de la luz en enlaces C-C. Las Plantas también producen CO₂ por su respiración. Los animales producen CO₂ derivado de la utilización de los hidratos de carbono y otros productos producidos por las plantas.

En el balance entre el consumo de CO₂ que realizan las plantas y la producción del mismo por los animales interviene como "buffer" la formación de carbonatos en los océanos, que remueve el exceso de CO₂ del aire y del agua (ambos intervienen en el equilibrio del CO₂).

Los combustibles fósiles, como el petróleo y el carbón, como así también la madera generan CO₂ al ser utilizados. La actividad humana incrementa en grandes proporciones la concentración de CO₂ en el aire. Dado que este, a diferencia de otros compuestos de la atmósfera absorbe el calor reflejado desde la Tierra, incrementa la temperatura global y produce lo que ha dado llamarse "efecto invernadero".

Trabajo de Laboratorio.

Materiales:

- 2 vasos de precipitado
- un tubo de ensayo de 15 ml
- elodeas (*Egeria densa*)
- agua
- marcador de pH (azul de bromotimol)
- pipetas de vidrio
- fuente de luz
- papel aluminio

Actividad:

Coloque agua de la canilla en un vaso de precipitado hasta los 500 ml, luego agregue 1 ml de azul de bromotimol. Con la pipeta insufla aire en el agua hasta que el indicador de pH vire de color. Una vez que el mismo se torne amarillento divida el agua en tres partes, dos de 240 ml aprox y la tercera de alrededor de 10 ml en un tubo de ensayo (este será su control de pH). Coloque un racimo de elodeas dentro de cada frasco de precipitado.

A continuación rotule un vaso de precipitado como control y el otro como experimental, el tubo de ensayo déjelo a la luz hasta el final.

- **Grupo control:**

Tome el frasco y protéjalo de la luz con el papel aluminio

- **Grupo experimento:**

Tome el frasco y expóngalo a la luz por un lapso de 20-30 minutos.

Preguntas

1. ¿Qué sucede en cada caso? (grupo control, experimental y tubo de ensayo)
2. ¿A que atribuye usted el cambio?
3. ¿Qué prueba este experimento?

Fuente:

Curtis Biología-Séptima Edición.

<http://www.curtisbiologia.com/>

Las imágenes 1, 2 y 5 provienen del Capítulo 6 del Curtis Biología-Séptima Edición.

Glosario:

Arqueobacterias (del griego arkhaios = antiguo; bakterion = bastón) grupo de procariotas de unos 3.500 millones de años de antigüedad, presentan una serie de características diferenciales que hicieron que Carl Woese, profesor de la Universidad de Illinois, Urbana, U.S.A., proponga su separación del reino Moneras y la creación de uno nuevo: Archea, propuesta que hoy es cada vez más aceptada.

Autótrofos (del griego autos = propio; trophe = nutrición): término utilizado para nombrar a organismos que sintetizan sus nutrientes a partir de materia prima inorgánica. Fijadores de CO₂.

ATP (adenosín trifosfato): El principal producto químico utilizado por los sistemas vivientes para almacenar energía, consiste en un una base (adenina) unida a un azúcar (ribosa) y a tres fosfatos.

Beta caroteno: Un carotenoide vegetal importante, precursor de la vitamina A.

Catalizador (del griego katalysis = disolución): Sustancia que disminuye la energía de activación de una reacción química, acelerando la velocidad de la misma.

Carotenoides (del latín carota = zanahoria): tipo de pigmentos que comprende a los carotenos (de color amarillo, anaranjado o rojo) y a las xantofilas (de color amarillo). Químicamente terpeno compuesto por ocho unidades de isopreno.

Células oclusivas: Células epidérmicas especializadas que flanquean los estomas y cuyo cierre y apertura regula el intercambio de gas y la pérdida de agua.

Ciclo de Calvin (o de Calvin-Benson o de Fijación del Carbono): Serie de reacciones bioquímicas mediadas por enzimas, mediante las cuales el CO_2 es reducido e incorporado en moléculas orgánicas, eventualmente algunas de ellas forman azúcares. **Clorofila** (del griego khloros = verde claro, verde amarillento; phylos = hoja): Pigmento verde que interviene en la captación de la energía lumínica durante la fotosíntesis.

Cloroplasto: (del griego khloros = verde claro, verde amarillento; plastos = formado): Organela de la célula de algas y plantas que posee el pigmento clorofila y es el sitio de la fotosíntesis.

Convergente (del latín convergere deriv. vergere = dirigirse, inclinarse): dos o más líneas que se dirigen a unirse en un punto.

Energía de activación: La menor cantidad de energía requerida para que ocurra una determinada reacción química. Varía de reacción en reacción.

Enzima (del griego en = en; zyme = levadura): Molécula de proteína que actúa como catalizador en las reacciones bioquímicas.

Epidermis (del griego epi = encima; derma = piel): En plantas, la capa más externa de células, a menudo cubierta por una cutícula cerosa. Provee protección a la planta.

Estoma (del griego stoma = boca): Aberturas en la epidermis de las hojas y tallos rodeadas de células oclusivas, intervienen en el intercambio gaseoso.

Estroma: La matriz proteica entre las granas de los cloroplastos. Sitio de las reacciones oscuras de la fotosíntesis.

Eucariontes (del griego eu = bueno, verdadero; karyon = núcleo, nuez): organismos caracterizados por poseer células con un núcleo verdadero rodeado por membrana. El registro arqueológico muestra su presencia en rocas de aproximadamente 1.200 a 1500 millones de años de antigüedad.

Evolución (del latín e- = fuera; volvere = girar): Cambio de los organismos por adaptación, variación, sobrerreproducción y reproducción/sobrevivencia diferencial, procesos a los que Charles Darwin y Alfred Wallace se refirieron como selección natural.

Peroxisomas: Son vesículas en las cuales se degradan las purinas y otros compuestos. En las plantas son el asiento de una serie de reacciones conocidas como fotorrespiración. En los peroxisomas se produce agua oxigenada, compuesto muy tóxico para la célula que es degradado rápidamente por una enzima.

Quimiósmosis: El proceso por el cual se forma el ATP en la membrana interna de la mitocondria. El sistema transportador de electrones transfiere protones del compartimiento interno al externo; a medida que los protones fluyen nuevamente hacia el compartimiento interno la energía del movimiento es usado para agregar fosfato al ADP para formar ATP.

Mesófilo: parénquima fotosintético localizado entre las dos epidermis de la lámina de la hoja.

Procariontes (del latín pro = antes, del griego karyon = núcleo, nuez): Tipo de célula que carece de núcleo rodeado por membrana, posee un solo cromosoma circular y ribosomas que sedimentan a 70S (los de los eucariotas lo hacen a 80S). Carecen de organelas rodeadas por membranas. Se consideran las primeras formas de vida sobre la Tierra, existen.

Tilacoides (del griego thylakos = pequeña bolsa): La estructura de membrana especializada en la cual tiene lugar la fotosíntesis. Membranas internas de los cloroplastos que conforman compartimentos, en las cuales tiene lugar las "reacciones lumínicas" de la fotosíntesis. Un conjunto de tilacoides forma la grana. El área entre las granas se denomina estroma.

Transporte de electrones: 1) Una serie de reacciones de oxidación/reducción en las cuales los electrones son pasados de una proteína/enzima ligada a membrana a otra hasta que finalmente son cedidos al aceptor final, generalmente oxígeno. Durante este proceso se forma ATP. 2) Serie de reacciones acopladas durante las cuales se genera ATP a partir de la energía cedida por los electrones, que se mueven de un estado altamente reducido a otro de menor reducción.

Vaina fascicular: conjunto de células que rodean a los haces vasculares (conjunto de xilema y floema) de la lámina de la hoja.