

Trabajo Práctico Nº 8 Metabolismo en Vegetales

Introducción:

En la respiración vegetal, el carbono celular reducido generado durante la fotosíntesis es oxidado a CO_2 y agua, y esta oxidación está acoplada a la síntesis de ATP (Figura 1).

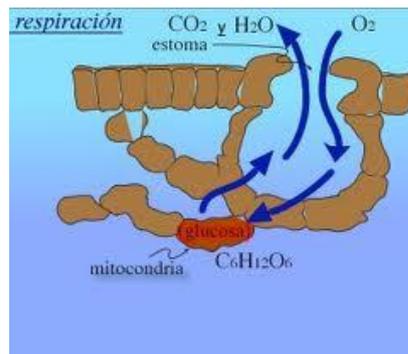


Figura 1: Proceso de respiración celular

La respiración se produce en tres etapas: glicólisis, ciclo del ácido cítrico y fosforilación oxidativa. La última etapa comprende la cadena de transporte electrónico y la síntesis de ATP.

En la glicólisis, el carbohidrato es convertido en el citosol a piruvato con la síntesis de pequeñas cantidades de ATP por fosforilación a nivel de sustrato. A continuación, el piruvato es oxidado en la matriz mitocondrial en el ciclo del ácido cítrico, generando un gran número de equivalentes reductores en forma de NADH y FADH_2 .

En la tercera etapa, la fosforilación oxidativa, los electrones del NADH y el FADH_2 pasan a través de la cadena de transporte electrónico para reducir el oxígeno. La energía libre se conserva como un gradiente electroquímico de protones, desde la matriz al espacio intermembranoso. Esta energía es convertida en energía química en forma de ATP por la F_0F_1 ATP sintasa, también localizada en la membrana interna mitocondrial, que acopla la síntesis de ATP, a partir de ADP y P_i , al flujo de protones que entran en la matriz a favor de su gradiente electroquímico (Figura 2).

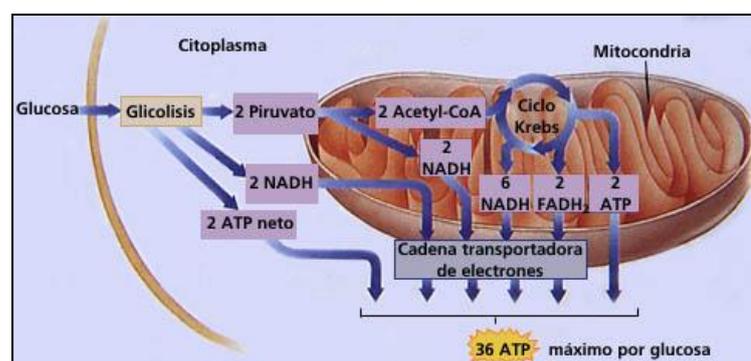


Figura 2: Reacciones químicas en mitocondria.

La respiración aeróbica en las plantas superiores tiene varias características únicas como son la presencia de una ruta oxidasa alternativa resistente al cianuro y de múltiples NADH deshidrogenasas que bombean protones.

La oxidación del sustrato durante la respiración está regulada en diversos puntos de la glicólisis, el ciclo del ácido cítrico y la cadena de transporte electrónico, pero en último término la oxidación del sustrato está controlada por los niveles de ADP.

Los carbohidratos también pueden ser oxidados a través de la ruta de las pentosas fosfato, en la que el poder reductor se genera en forma de NADPH, que tiene diversos objetivos fotosintéticos. Los numerosos intermediarios de la glicólisis y del ciclo del ácido cítrico proporcionan el material de partida de numerosas rutas biosintéticas.

Una planta puede utilizar más del 50% del rendimiento fotosintético diario para la respiración, pero la tasa respiratoria que se observa en una planta entera está afectada por muchos factores; entre ellos, la naturaleza y edad del tejido y factores ambientales, como la luz, la concentración de oxígeno, la temperatura y la concentración de CO₂. Dado que la tasa respiratoria contribuye a mantener el equilibrio neto de carbono de una planta, cualquier variación en la tasa respiratoria podría afectar el rendimiento agronómico.

En este trabajo práctico analizaremos las variaciones de respiración en una especie vegetal en función de la temperatura. La respiración normalmente aumenta con la temperatura. Entre 0 y 30°C, por cada 10°C de aumento de temperatura ambiental (conocido como coeficiente de temperatura Q₁₀) el aumento de la tasa de respiración es de 2. Sobre los 30°C, la tasa de respiración suele aumentar más lentamente, hasta que alcanza un punto (entre 40 y 50°C) a partir del cual, si aumenta la temperatura, la tasa de respiración disminuye. Se cree que las altas temperaturas nocturnas explican las elevadas tasas respiratorias de las plantas tropicales.

Las bajas temperaturas son utilizadas para retardar la tasa respiratoria después de la cosecha, durante el almacenamiento de frutas y vegetales. Sin embargo, en esta práctica pueden surgir ciertas complicaciones. Por ejemplo, cuando los tubérculos de papa se almacenan a temperaturas que rondan los 10°C, la respiración y las actividades metabólicas son suficientes como para que se produzca la brotación. Por debajo de los 5°C, la tasa respiratoria y el crecimiento del brote se ven reducidos en la mayoría de los tejidos, pero la degradación del almidón y su conversión en sacarosa confiere a los tubérculos un dulzor indeseado. Por ello, las papas son almacenadas a temperaturas entre los 7 y los 9°C, lo cual evita la degradación del almidón a sacarosa, pero minimiza la respiración y la brotación.

Objetivos:

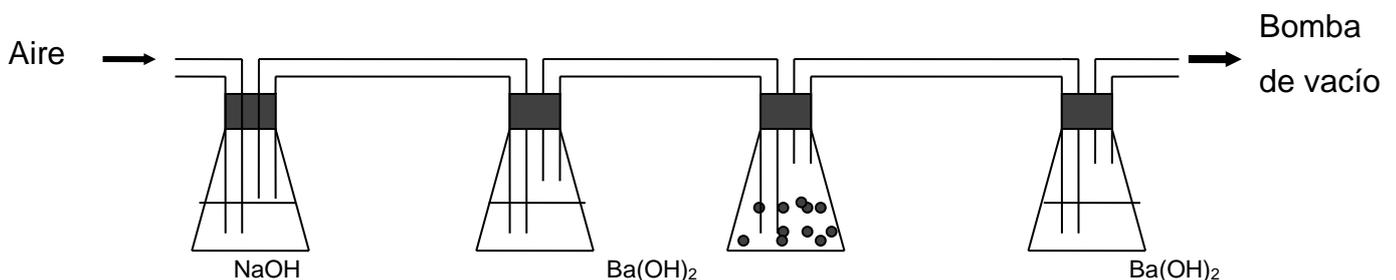
- Poner en evidencia el proceso respiratorio en vegetales a través de la producción de CO₂
- Registrar e interpretar el efecto de la temperatura sobre el proceso respiratorio.

Materiales:

240 semillas de poroto embebidas 24 hs.	papel de filtro
4 matraces o Erlenmeyer de 500 ml	Bureta
4 tapones biperforados	2 vasos de precipitado de 100 ml
8 tubos de vidrio en ángulo recto	3 pipetas de 10 ml
mangueras para conexión	2 probetas graduadas de 100 ml
bomba de vacío	solución de NaOH al 10% (200 ml)
Embudo	solución de Ba(OH) ₂ al 0,2N (500 ml)
Soporte	solución de ClH al 0,1N

Metodología:

- Disponga los componentes como indica la figura. Coloque en el primer erlenmeyer 60 ml de NaOH al 10% (absorbe el CO₂ del aire que penetra). En el segundo erlenmeyer coloque 100 ml de Ba(OH)₂ 0,2N, previamente filtrado (retiene el CO₂ del aire que no fue absorbido antes). El tercero lleva 120 semillas y el último contendrá 120 ml de Ba(OH)₂ 0,2N, previamente filtrado (captará el CO₂ producido por la respiración de las semillas).

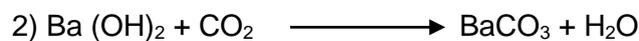
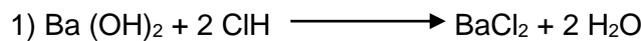


- Tome dos alícuotas de 10 ml de Ba(OH)₂ del cuarto erlenmeyer y coloque cada una en un vaso de 100 ml, agregue 2/3 gotas de fenofaleína y titule con ClH 0,1N. Deje caer el ácido gota a gota y agite suavemente hasta que haya cambio de color en la solución. Anote el total gastado con cada alícuota titulada.
- Registre la temperatura del medio en el que se encuentran las semillas.

- Luego ponga a funcionar el sistema de bomba de vacío durante media hora, enseguida desconéctelo y filtre el contenido del cuarto matraz para obtener la solución de Ba(OH)₂.
- Proceda a titular dos alícuotas de esta solución, de la misma forma que lo hizo antes, anotando las respectivas cantidades gastadas.
- Repita el procedimiento con semillas sometidas a bajas temperaturas.

Resultados y Conclusiones

- a)** Tomando como base el gasto de CIH, determine la cantidad de CO₂ desprendido en la respiración de los porotos, para ello proceda así:



- b)** Promedie el gasto de CIH obtenido en las titulaciones iniciales (blanco) y finales (muestra).
c) Determine la diferencia en la cantidad de CIH gastado en las dos titulaciones, restando de la cantidad blanco la de la muestra.
d) Con el valor obtenido calcule la cantidad de CO₂ producido, aplicando la siguiente fórmula:

$$D \times N \times 22 = \text{mg CO}_2$$

donde:

D= Diferencia en las cantidades de CIH gastado

N= Normalidad del ácido

22= Peso equivalente del CO₂

Recuerde que la cantidad de CO₂ calculada se refiere únicamente al contenido de CO₂ en la alícuota titulada.

- e)** Calcule el contenido total de CO₂ de la muestra con base en el volumen total del cuarto matraz.
f) Repita los pasos 'a' hasta 'e' para los resultados obtenidos en la segunda experiencia (baja temperatura).
g) Calcule el Q₁₀ para el proceso de respiración celular en semillas de poroto.

$$Q_{10} = (K_2/K_1)^{10/(t_2-t_1)}$$

- h)** Compare y discuta los resultados obtenidos.

Bibliografía:

- ✓ Fernández, G.; Johnston, M.. 1986. Fisiología Vegetal Experimental. IICA. San José de Costa Rica.
- ✓ Taiz, L. y Zeiger, E. 2006 Fisiología Vegetal. Volumen 1. Publicacions de la Universitat Jaume I de Castellón.