

Difusión, ósmosis y plasmólisis

Cursos para los que se recomienda el ejercicio de laboratorio: Esta experiencia de laboratorio se recomienda para los cursos CIBI 3026, 3025 y 3015.

Temas a ser desarrollados: método científico, procesos de transporte en la membrana celular, estructura y función celular.

Competencias de Investigación y de Información que se desarrollarán:

Entre las Competencias de Investigación que se pretende que el estudiante desarrolle se encuentran: el proceso de observar, el planteamiento de preguntas sobre los hechos de investigación, la formulación de hipótesis que den dirección al estudio, recopilar los datos, organizarlos y analizarlos, llegar a conclusiones y/o plantear nuevas preguntas.

Introducción

Los procesos físicos pasivos son procesos que no requieren que la célula aporte la energía propia producto de sus reacciones metabólicas para que ocurran, más bien suceden por la presencia de gradientes ambientales con su propia energía (energía cinética). En la naturaleza podemos encontrar gradientes de los siguientes tipos: concentración, eléctricos, presión, entre otros. Un gradiente de concentración se observa cuando hay diferencias en la concentración de un soluto a través de una región o volumen que puede ser acuoso, gaseoso o de gelatina. Dos de los procesos físicos pasivos más comunes en la célula son la difusión y la osmosis. Mediante el uso de sistemas artificiales se pueden hacer ejercicios prácticos para simular los cambios que pueden ocurrir en células vivas (Fig. 1-osmómetro).

La difusión es el paso de moléculas de un lugar en que se encuentran en mayor concentración a uno de menor concentración. **Puede ocurrir en presencia o ausencia de membranas celulares.** La ósmosis es un proceso que constituye un caso especial de difusión. En el mismo, el solvente, en este caso agua, pasa a través de una membrana de permeabilidad selectiva, desde la región de más moléculas de agua libre hacia la que contiene menos, de tal modo que se producen cambios de volumen en ambos lados de ella.

Cuando las células son sometidas a condiciones ambientales extracelulares variables la cantidad de agua y solutos en su citoplasma puede cambiar. Esto puede dar paso a que ocurra intercambio de agua y solutos entre la célula y su ambiente externo mediante los procesos de difusión y osmosis.

Las membranas de todas las células vivas son diferencialmente permeables. Ellas permiten el paso de algunas moléculas e impiden el de otras. La membrana de las células vivas regula el paso de materiales hacia el interior y hacia el exterior de la célula. La acción selectiva de la membrana celular permite que las células mantengan un equilibrio químico con el medio que las rodea.

Cuando en una célula vegetal en condiciones isotónicas (Fig. 2-a) presenta un citoplasma distendido y se sumerge en una solución hipertónica de algún soluto al que la membrana celular es relativamente impermeable, ocurren una serie de cambios específicos en la apariencia de esa célula. El primer cambio evidente es la separación del citoplasma de la pared celular, recogién dose hacia el centro o hacia un lado de la célula (Fig. 2-b). Esto ocurre como resultado del proceso de osmosis. A esta condición en las células vegetales se le llama plasmólisis. Cuando las células plasmolisadas se sumergen en agua, éstas se recobran lentamente y readquieren su estado túrgido.

En este experimento estudiaremos como estos procesos físicos operan en la célula interaccionando con sus estructuras y componentes químicos.

Objetivos específicos

Al finalizar el ejercicio, el estudiante será capaz de:

1. definir difusión.
2. describir el proceso de difusión de un tinte a través de una matriz coloidal.
3. medir el movimiento de un tinte de un lugar de mayor concentración a un lugar de menor concentración de soluto.
4. describir un gradiente de difusión.
5. definir ósmosis.
6. definir una membrana diferencialmente permeable.
7. mencionar ejemplos que ilustren el proceso de ósmosis.
8. señalar las diferencias entre difusión y ósmosis.
9. mencionar el efecto del número, tamaño y carga de partículas en solución en el proceso osmótico.
10. describir el fenómeno de plasmólisis y señalar su relación con el proceso osmótico.
11. indicar la relación que tiene la permeabilidad de la membrana con el proceso antes mencionado.

12. describir la forma en que responden las células vivas de la epidermis de la cebolla y de *Roheo discolor* sometidas a soluciones de diferentes concentraciones.
13. aplicar los conceptos relacionados con el proceso osmótico a fenómenos del diario vivir.

Duración

Este ejercicio tomará un periodo de un laboratorio (dos horas), la cual se distribuirá en la introducción y discusión del tema, llevar a cabo el procedimiento y la recopilación de los datos.

Materiales y equipo

1. tubo de ensayo con gelatina incolora (2)
2. tinte azul de metileno
3. cristales de permanganato de potasio
4. vaso 1000 ml (2)
5. agua destilada
6. regla calibrada en centímetros (2)
7. espátula (2)
8. agua destilada
9. tres osmómetros ya preparados (cada uno con un tubo capilar de 1 metro y una membrana de diálisis)
10. soporte de metal
11. tres agarraderas de metal
12. solución de sirop (azúcar en agua) al 50%
13. tres vasos de metal de 150 ml.
14. tres soportes de metal
15. regla calibrada en milímetros
16. papel engomado ("masking tape")
17. microscopio
18. laminillas
19. cubreobjetos
20. pinzas
21. escalpelos
22. goteros
23. solución salina a 0.9%
24. solución salina al 50%

Procedimiento

A. Procedimiento (Parte A – Difusión)

Para esta parte del ejercicio, su profesor le proveerá un tubo de ensayo cerrado que contiene gelatina previamente preparada a la cual se le ha añadido un tinte **de azul de metileno** en tiempo cero. El tinte se ha desplazado por el medio gelatinoso. Se puede calcular el tiempo de migración mediante la medida de distancia que ha recorrido el tinte en un tiempo dado. Su profesor le informará la hora en la cual se colocó el tinte. Observaremos la difusión ocurriendo en medio gelatinoso.

También observaremos la difusión ocurriendo en un medio acuoso con partículas de permanganato de potasio.

1. En cuanto el profesor le entregue el recipiente con la gelatina, anote la hora exacta, y mida el lugar donde se encuentra el tinte en centímetros.
2. Una hora después vuelva a medir la posición del tinte en el tubo de gelatina.
3. Calcule el tiempo que se tomó en migrar dicho tinte y anótelo en la tabla 10.1
4. Obtenga unos cuantos cristales de permanganato de potasio, de color violeta, y un vaso de 1000 ml lleno de agua destilada. No mueva ni bata el agua.
5. Ponga unos cuantos cristales del permanganato de potasio en el agua.
6. Mida el área de esparcimiento de los cristales.
7. Espere una media hora.
8. Mida nuevamente el área de esparcimiento.
9. Espere otra media hora.
10. Mida el área.
11. Anote los resultados en la tabla 10.1.

TABLA 1. Rapidez de Difusión

Material	Tiempo cero	Tiempo de la medida	Tiempo transcurrido	Distancia	Velocidad de difusión
Tubo de gelatina + tinte					
Agua + Permanganato de potasio					

Conteste:

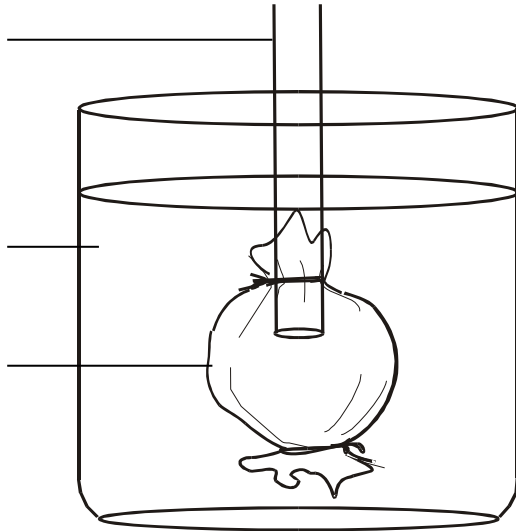
- a. ¿Qué está ocurriendo con el tinte en la gelatina y con el permanganato en el agua? Escriba su interpretación del fenómeno.

B. Procedimiento (Parte B – Osmosis)

Una membrana de diálisis es una membrana **plástica artificial** que, por poseer pequeños orificios, permite el paso del agua y de algunos solutos, pero previene el paso de solutos grandes como lo son las azúcares y las proteínas. En el ejercicio descrito a continuación se podrá demostrar el cambio en el volumen de unas columnas **de cristal** asociadas a unas membranas **de diálisis utilizando un sistema artificial conocido como osmómetro**.

Fig. 1. Osmómetro

1. Se prepararon tres sistemas idénticos en todos sus componentes, excepto en los líquidos que se pondrán en los mismos. La membrana de diálisis se sumerge en un líquido contenido en los vasos de 150 ml.
2. El primer sistema contiene agua destilada dentro de la membrana de diálisis y sirop en el exterior de la misma. El segundo sistema contiene sirop dentro de la membrana de diálisis y agua en el exterior y el tercer sistema contiene sirop dentro de la membrana de diálisis y sirop en el exterior.

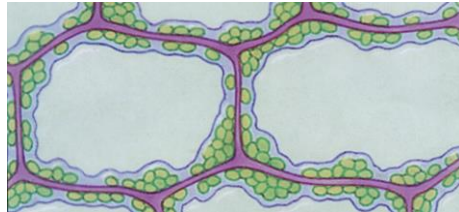


3. Se sumergen las membranas en los líquidos correspondientes y se comienza a tomar el tiempo. El tubo capilar debe tener unas marcas en centímetros a todo lo largo del mismo.
4. Cada 15 minutos se marca el progreso de la columna de agua en este tubo capilar.
5. Anote los resultados.
6. Conteste:

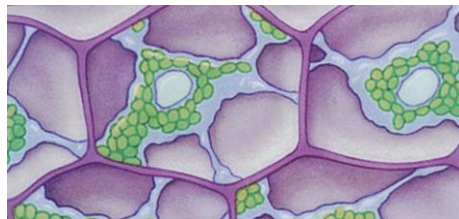
- a. Plantee una hipótesis para explicar el comportamiento (si el líquido sube o baja) de las columnas de cristal continuas con las membranas de diálisis.
- b. ¿Puede explicar qué está ocurriendo en cada sistema? Explique usando sus conocimientos de los procesos de difusión y osmosis.

C. Procedimiento (Parte C – Plasmólisis y permeabilidad)

Fig. 2(a y b)



a



b

1. Coloque trozos de cebolla morada o de la hoja (**epidermis inferior**) de ***Rhoeo discolor*** en un vaso de agua destilada fría para que se mantengan túrgidos.
2. Seleccione una parte de la epidermis que esté pigmentada. Con las pinzas, extraiga la epidermis de la superficie exterior de pedazo de cebolla.
3. Haga una preparación húmeda de una pequeña parte de esta epidermis. Esta preparación húmeda la va a hacer con una solución salina al 0.9%.
4. Después de cubrir la preparación con el cubreobjetos, examine la laminilla con el objetivo de menor aumento. Cuando localice varias células pigmentadas, pase al objetivo de mayor aumento.
5. Dibuje algunas células pigmentadas y rotule las estructuras visibles.
6. Retire la laminilla de la platina del microscopio y colóquela sobre el tope de la mesa. Cambie la solución salina al 0.9% en la que estaban sumergidas las células entre el cubreobjetos y la laminilla de la siguiente forma:
 - a. Coloque un pedacito de papel absorbente en un borde del cubreobjetos para que la acción capilar del papel permita que se absorba la solución al 0.9% que se encuentra entre la laminilla y el cubreobjetos.
 - b. Añada por el borde opuesto del cubreobjetos una gota de la solución salina al 5.0%.
 - c. Cambie el pedazo de papel absorbente, para conseguir que se absorba totalmente la solución salina al 0.9% y, así finalmente lograr que todas las células queden sumergidas en una solución salina al 5.0%.
 - d. Con mucho cuidado, elimine el exceso de líquido con un pedazo de papel absorbente. La solución salina al 5.0% producirá, en 2 minutos, una reacción en las células de la cebolla.

7. Observe las células con el objetivo de menor aumento.
8. Después de unos minutos, examínelas de nuevo con el objetivo de mayor aumento. Note que el citoplasma se ha encogido debido a la pérdida de agua. A esta condición se le llama plasmólisis. El fenómeno llamado plasmólisis es una manifestación del proceso de osmosis en la célula vegetal que ocurre debido a la presencia de la pared celular que no se colapsa durante este proceso físico.
9. Dibuje y rotule varias células pigmentadas de las que observa en la laminilla que tiene solución salina al 5.0%.
10. Cambie la solución salina al 5.0% por agua destilada, de la misma forma en que cambió la solución salina al 0.9% por la solución salina al 5.0%. Asegúrese de que el agua destilada fluya a través de la laminilla varias veces.
11. Elimine el exceso de líquido de ella y del cubreobjetos con papel absorbente.
12. Observe las células de la cebolla con el objetivo de menor aumento y espere unos minutos para que el agua destilada produzca unos efectos diferentes en diferentes áreas de la laminilla.
13. Describa lo que observó en las células de la cebolla cuando usó la solución al 5.0% y cuando usó el agua destilada. ¿Cómo explica las reacciones de esas células a las varias soluciones salinas que utilizó?

Autoevaluación

- A.** Dos posibles contestaciones aparecen escritas entre paréntesis en cada oración. Subraye la contestación correcta.
1. Las moléculas se mueven de regiones de (alta/baja) concentración.
 2. Difusión y ósmosis son procesos (físicos / fisiológicos).
 3. El movimiento de agua a través de una membrana semipermeable es un ejemplo de (difusión / ósmosis).
 4. La difusión ocurre más rápidamente a temperaturas (frías / calientes).
 5. (Difusión / Osmosis) envuelve el movimiento de gases.

Conteste:

1. ¿Cómo la difusión y la ósmosis afectan los procesos biológicos?

B. Páree:

- a. difusión
- b. hipotónica
- c. hipertónica
- d. ósmosis
- e. isotónica
- f. permeabilidad selectiva
- g. turbidez
- h. plasmólisis

- _____ 1. Movimiento de las moléculas de un soluto, a través de una membrana que es permeable de una región de mayor concentración de soluto a una de menor concentración.
- _____ 2. Movimiento del solvente (agua) a través de una membrana de permeabilidad selectiva desde la región donde hay más moléculas de agua libre hacia la región donde hay menos agua libre.
- _____ 3. Una solución que tiene una concentración de soluto mayor que la del interior de la célula.
- _____ 4. Una solución que tiene una concentración de soluto menor que la del interior de la célula.
- _____ 5. Característica de la membrana plasmática viva.
- _____ 6. Solución salina normal que puede añadirse a la sangre humana (0.9%).
- _____ 7. Condición que resulta de la pérdida de agua en las células vegetales.
- _____ 8. Condición en que la célula vegetal se llena de agua y el citoplasma empuja la membrana celular hacia la pared.

Actividades sugeridas para aplicar el conocimiento en una nueva situación o para realizar investigación adicional:

- a. Investigue usando recursos en línea(internet):
 - ¿Por qué la sal, azúcar y otros solutos añadidos a los alimentos de usos diario y los procesados, funcionan como preservativos?
 - ¿ Qué efectos para nuestra salud puede el uso de estos aditivos en nuestros alimentos?
- b. Investigue por qué luego del paso del Huracán María por Puerto Rico, muchas plantas y árboles de nuestro litoral costero se secaron hasta morir.
- c. Investigue si el riego artificial puede causar cambios en la salinidad de los terrenos y el crecimiento de las plantas, ¿cuáles podrían ser las acciones correctivas?

Actividades sugeridas para desarrollar las competencias de información:

- a. Para cada cada organismo listado a continuación, usando al menos una referencia de *internet* y los conceptos de difusión y osmosis, mencione y explique las adaptaciones osmóticas que deben tener para vivir en sus respectivos habitáculos:
1. Pez de agua salada
 2. Pez de agua dulce
 3. Tiburón en agua salada
 4. Mangle rojo en los litorales costeros

Referencias (para consultar antes o después de realizar el ejercicio):

Historia del descubrimiento de la osmosis. Recuperado de:
http://200.23.188.74/sites/ciencia/volumen1/ciencia2/16/html/sec_4.html

La salinidad como problema en la agricultura. Recuperado de:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362013000400005

Osmosis y Tonicidad(artículo) - Khan Academy. Recuperado de:
<https://es.khanacademy.org/science/biology/membranes-and-transport/diffusion-and-osmosis/a/>

Starr, C., Taggart, R., Evers, C. & Starr, L. 2016. Biology: The Unity and Diversity of Life, Fourteen Edition. Cengage Learning. ISBN-13978-1-305-07395-1.

Revisado por el Comité de Currículo 2019