



La membrana y el transporte celular

Objetivos

Al finalizar este laboratorio el estudiante podrá:

1. Describir los componentes de las membranas biológicas.
2. Identificar factores que afectan la integridad de las membranas.
3. Explicar cómo la difusión y la osmosis son importantes para las células.
4. Mencionar factores que afectan la velocidad de difusión.
5. Explicar qué son soluciones hipotónicas, hipertónicas e isotónicas.
6. Explicar las diferencias en osmolaridad en los tejidos animales y vegetales.

INTRODUCCIÓN

Las **membranas celulares** son barreras selectivas que separan las células y forman compartimientos intracelulares. Entre sus funciones están:

- ◆ Regular el transporte de moléculas que entran o salen de la célula o del organelo.
- ◆ Generar señales para modificar el metabolismo.
- ◆ Adherir células para formar tejidos.

La membrana celular está formada por una capa doble de fosfolípidos, proteínas y carbohidratos. (Fig; 7.1). Cada fosfolípido está compuesto por glicerol, ácidos grasos y fosfato, que en conjunto crean una barrera hidrofóbica entre los compartimientos acuosos de la célula. Las **proteínas** permiten el paso de moléculas hidrofílicas a través de la membrana, determinan las funciones específicas de ésta e incluyen bombas, canales, receptores, moléculas de adhesión, transductores de energía y enzimas. Las proteínas periféricas están asociadas con las superficies, mientras que las integrales están incrustadas en la membrana y pueden atravesar completamente la capa doble. La función de los **carbohidratos** adheridos a las proteínas (glucoproteínas) o a los fosfolípidos (glucolípidos) es la de adhesión y comunicación intercelular. El **colesterol**, que es un esteroide (lípidos), determina la fluidez de la membrana.

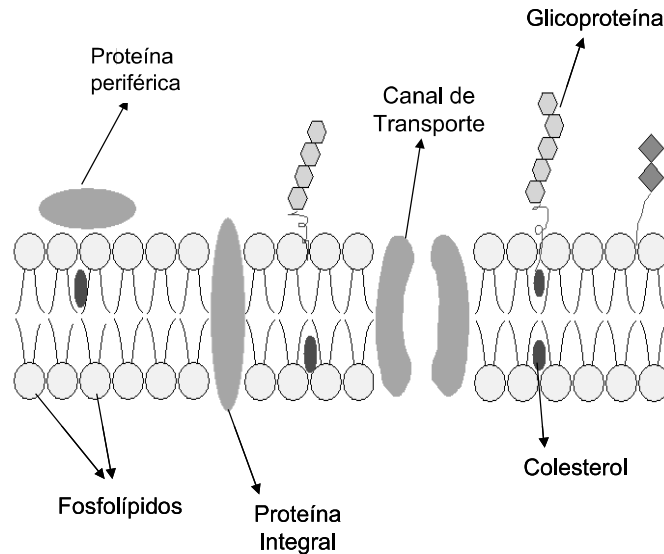


Figura 7.1

Estructura básica de la membrana.

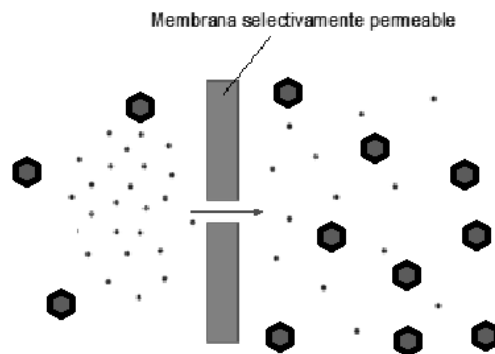
TRANSPORTE CELULAR: DIFUSIÓN Y OSMOSIS

Para que la célula funcione eficientemente, debe mantenerse en la misma un ambiente estable conocido como **homeostasis**. Para mantener este equilibrio existen mecanismos para el transporte selectivo de materiales hacia el interior o exterior de la célula. Las membranas de la célula son **selectivamente permeables**, permitiendo el paso de algunas sustancias o partículas (moléculas, átomos, o iones), e impidiendo el paso de otras. Esta selectividad se debe a la capa doble de fosfolípidos de la membrana. La forma en que las moléculas pasan por la membrana depende en parte de la polaridad de las mismas. Las moléculas hidrofóbicas, o no polares, pasan con relativa libertad a través de la capa de lípidos, mientras que moléculas hidrofílicas, o polares, incluyendo el agua, y las moléculas de mayor tamaño, pasan a través de canales formados por **proteínas transportadoras**. La regulación del transporte de las moléculas, o la dirección en que se mueven depende de su **gradiente de concentración** (diferencia en concentración entre dos lugares).

Las moléculas se mueven constantemente debido a su energía cinética y se esparcen uniformemente en el espacio disponible. Este movimiento, llamado **movimiento browniano**, es la fuerza motriz de la difusión. **Difusión** se define como el movimiento natural de las partículas de un área de mayor concentración a un área de menor concentración hasta alcanzar un *equilibrio dinámico*, en el cual el movimiento neto de partículas es cero. La difusión *no* requiere gasto de energía por parte de la célula y por lo tanto es un **movimiento pasivo**. Cuando la célula transporta sustancias en *contra* de un gradiente de concentración (de un área de menor concentración a un área de mayor concentración) se requiere energía (ATP) y sucede **movimiento activo**.

Figura 7.2

Osmosis. Difusión de moléculas de agua. El movimiento del agua será de un lugar de mayor concentración de moléculas de agua a un lugar con menos concentración de moléculas de agua hasta llegar a un equilibrio dinámico. Los hexágonos rojos en el diagrama representan solutos y los puntos azules moléculas de agua.



El componente principal de la célula es el **agua**, que actúa como **solvente** (el agente que disuelve) de **solutos** (moléculas orgánicas e inorgánicas suspendidas en la solución). El movimiento de agua a través de las membranas (que son selectivamente permeables) se llama **osmosis** (difusión de agua) y sucede siempre del área de mayor concentración de agua (con menor concentración de soluto) al área de menor concentración de agua (con mayor concentración de soluto) (Figura 7.2). El agua se moverá, entonces, a favor de un gradiente de concentración hacia el área de mayor concentración de soluto (donde hay una menor concentración de moléculas de agua libres). Cuando la célula contiene una concentración de solutos mayor que su ambiente externo, se dice que la célula está hipertónica a su ambiente y externo que este ambiente es **hipotónico**, y como consecuencia, el agua entra a la célula causando que ésta se expanda (Fig. 7.3a). Si la concentración de solutos es mayor fuera de la célula, se dice que la célula está hipotónica a su ambiente y que el ambiente externo es **hipertónico**; y la célula pierde agua y se encoge (Fig. 7.3c). Si las concentraciones de soluto son iguales en ambos lados de la membrana, se dice que la célula y su ambiente externo están **isotónicos**, donde el movimiento neto de moléculas es cero (Figura 7.3b).

Las células animales funcionan óptimamente en ambientes isotónicos. En las células vegetales, sin embargo, cuando la vacuola se llena de agua, ésta ejerce presión contra la pared celular hasta llegar a un punto donde se impide que entre más agua (por **presión de turgencia**) y la célula se pone túrgida (firme), lo cual es el estado ideal de estas células. Por otra parte, si la célula vegetal pierde agua, la célula sufre **plasmólisis** al separarse la membrana celular de la pared celular, lo cual suele ser letal para la célula.

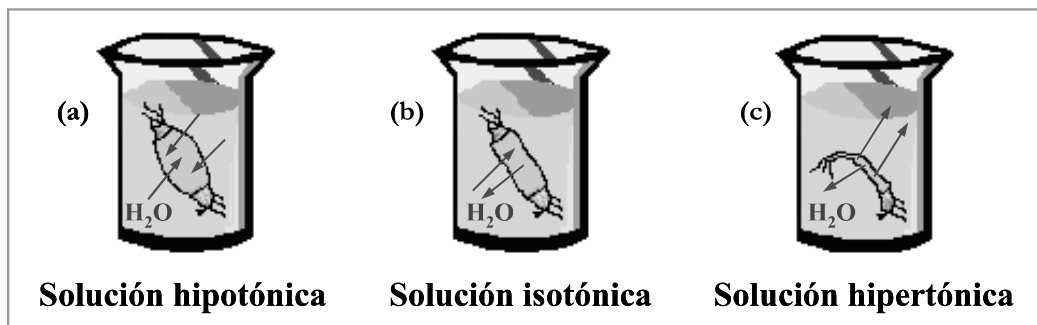


Figura 7.3

Osmosis: transporte de agua a través de una membrana permeable. En el diagrama la bolsa representa una membrana selectivamente permeable y el líquido en el envase es una solución en la cual el soluto es sal (cloruro de sodio). (a) La concentración de sal en la solución del envase es más baja (solución hipotónica) que la concentración de sal dentro de la bolsa. (b) La concentración de sal en las soluciones dentro de la bolsa y fuera en el envase son iguales (solución isotónica). (c) La concentración de sal en la solución del envase es más alta (solución hipertónica) que la concentración de sal dentro de la bolsa.

EJERCICIO 7.1

PROPIEDADES DE LAS MEMBRANAS

En los ejercicios que siguen a continuación se estudiará cómo algunos factores afectan el funcionamiento de las membranas celulares.

A. Efecto de la temperatura

En este ejercicio se usará la planta de remolacha (*Beta vulgaris*), cuyas células almacenan en la vacuola central el pigmento violeta betacianina.

MATERIALES

Por laboratorio:

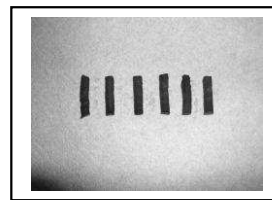
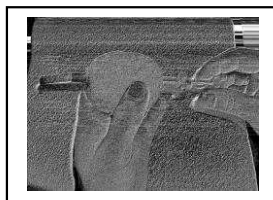
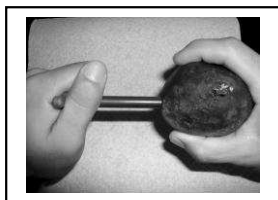
- Agua destilada
- Baño de agua a 70 °C
- Baño de agua a 37 °C
- Hielo
- Nevera

Por mesa:

- Gradilla para tubos de ensayo
- Dos vasos de 150 a 200 ml
- Una remolacha
- Seis tubos de ensayo
- Vaso con hielo
- Sacabocado
- Termómetro
- Regla
- Marcador de cera
- Navaja
- Agarradera de tubo de ensayo
- Plato para calentar
- Aguja de disección
- Probetas o pipetas de 5 ml
- Envase con hielo
- Plato para calentar u hornilla

PROCEDIMIENTO

1. Corte seis pedazos de remolacha (15 mm de largo) con un sacabocado y colóquelos en tubos de ensayo rotulados del 1 al 6.



2. Añada 5 ml de agua al **tubo 6** y colóquelo en el congelador por 30 min.
3. Añada 5 ml de agua al **tubo 5** y colóquelo en el baño de hielo por 30 min.

4. Añada 5 ml de agua al **tubo 1** y colóquelo en un baño de agua caliente a 70° C durante 1 min. Después de 20 min, remueva el pedazo de remolacha del tubo.
5. Deje que la temperatura del baño baje a 55 °C y haga lo mismo con el **tubo 2**.
6. Repita el procedimiento de arriba con el **tubo 3** a 37 °C y con el **tubo 4** a 20 °C.
7. Compare la intensidad de color de las soluciones en los tubos.
8. Coloque los resultados (intensidad de color vs. temperatura) en la Tabla 7.1.

Tabla 7.1		Efecto de temperatura
Tubo	Temperatura	Intensidad de color (1 = menos intenso; 6 = más intenso)
1	70 °C	
2	55 °C	
3	37 °C	
4	20 °C	
5	En baño de hielo	
6	En congelador	

9. ¿Qué tubo mostró más intensidad de color?
10. ¿Qué indica la intensidad del color?
11. ¿Cómo afectan las temperaturas altas a las membranas celulares?
12. ¿Qué le pasa a las células en temperaturas bajas?

EJERCICIO 7.2
TRANSPORTE CELULAR: DIFUSIÓN Y OSMOSIS

A. Difusión

A.1. Difusión de moléculas en agua

En este ejercicio, se estudiará el movimiento browniano de las moléculas y el efecto de la temperatura sobre dicho movimiento.

MATERIALES

Por mesa:

- Dos vasos de precipitación (*beakers*)
- Agua fría
- Agua a temperatura ambiente
- Colorante vegetal

PROCEDIMIENTO

1. Añada agua a temperatura ambiente a un vaso y al otro vaso añada agua fría.
2. Deje los vasos reposar por 10-15 min para que no haya movimiento del agua.
3. Añada cuidadosamente una gota de colorante a cada envase y observe la dispersión de la gota.
4. ¿Afectó la temperatura la difusión del tinte? Explica tu observación.

A.2. Difusión a través de una membrana selectivamente permeable (diálisis)

En este ejercicio se usará una membrana de **diálisis** que posee poros de un tamaño determinado y que actúa como una membrana selectivamente permeable.

MATERIALES

Por mesa:

- Un vaso de precipitación (*beaker*) de 500 ml
- Una bolsa de diálisis y cordón o bandas de goma
- Rejilla y tubos de ensayo pequeños
- Baño de maría y matraz pequeño con agua
- Agarradera de tubo de ensayo
- Reactivo de Benedict
- Solución de yodo
- Cilindro graduado

Por laboratorio:

- Solución de glucosa 30 % y solución de almidón 1 %. Se usarán aproximadamente 25 ml de cada una por mesa (150 ml de cada solución por laboratorio).

PROCEDIMIENTO

1. Corte la bolsa de diálisis a 25 cm de largo y póngala en agua por unos minutos para abrirla.
2. Añada a la bolsa aproximadamente la mitad de la solución de glucosa y la mitad de la solución de almidón.
3. Cierre la bolsa con un cordón o con una banda de goma, de forma que luego pueda abrirla (Fig. 7.4 a).
4. Mezcle la solución dentro de la bolsa y enjuague con agua la superficie externa de la bolsa; anote el color inicial de la solución dentro de la bolsa.
5. Añada varias gotas de la solución de yodo a un vaso (*beaker*) con 300 ml de agua hasta obtener un color dorado.
6. Coloque la bolsa de diálisis dentro del agua por 30 min (Figura 7.4 b).

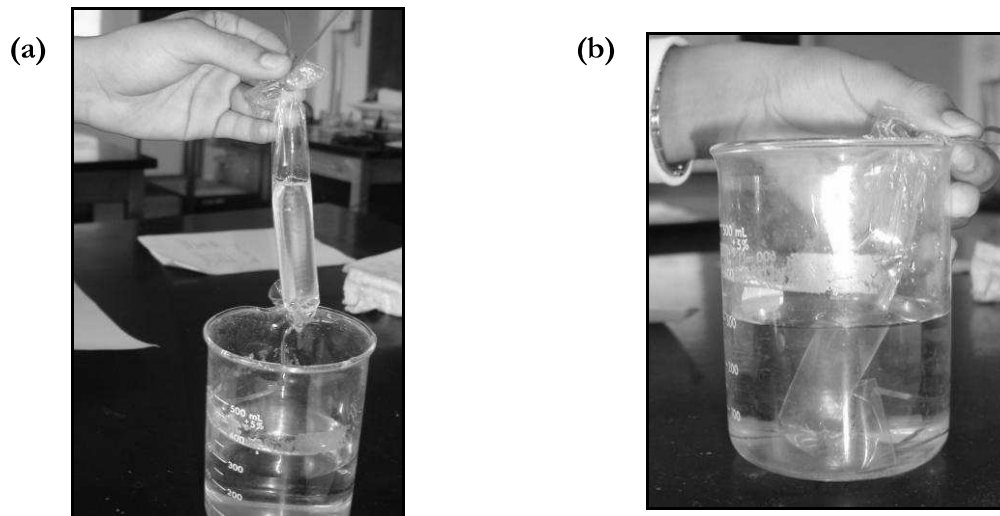


Figura 7.4

7. Saque la bolsa del agua y colóquela en un vaso (*beaker*) vacío. Anote el color de la solución dentro de la bolsa y compárela con la solución en el primer vaso.
8. Realice la prueba de Benedict para las dos soluciones contenidas en las bolsas.
9. ¿Cuáles son los resultados de este experimento para las pruebas de yodo y de Benedict? Explique.
10. ¿Qué indican estos resultados?
11. ¿Qué característica tiene la membrana de diálisis que afecta los resultados?

B. Osmosis en células animales y vegetales

En los siguientes ejercicios se observará qué ocurre al poner células animales y vegetales en soluciones con concentraciones diferentes de solutos.

B.1. Células animales

Cuando los **eritrocitos** (células rojas) se encuentran en un ambiente hipotónico el agua les entra por difusión y sucede **hemólisis** (el rompimiento de una célula roja). Cuando la célula roja está en un ambiente hipertónico pierde agua, se encoge y sucede **crenación**. En este experimento se observará el comportamiento de las células rojas de la sangre en soluciones hipotónicas e hipertónicas.

MATERIALES (PARTES B.1 Y B.2)

Por mesa:

- Botellas con soluciones hipertónicas e hipotónicas)
- Botella con sangre de vaca (mantener en nevera)
- *Elodea* fresca
- Gradilla para tubos de ensayo
- Tubos de ensayo pequeños
- Goteros
- Laminillas y cubreobjetos
- Agujas de disección
- Microscopio compuesto
- Lápiz de cera
- Papel toalla
- Papel de lente

PROCEDIMIENTO

1. Rotule tres tubos de ensayo: 1, 2 y 3
2. Prepare los tubos como sigue:

Tubo 1: 3 ml de solución hipotónica + 3 ml de sangre de vaca
Tubo 2: 3 ml de sangre de vaca
Tubo 3: 3 ml de solución hipertónica + 3 ml de sangre de vaca
3. Deje cada tubo reposar por dos minutos y observe la apariencia de la mezcla.
4. Rotule y prepare cuatro laminillas:

Laminilla 1: Gota de la mezcla del tubo 1, coloque el cubreobjeto, observe bajo el microscopio.
Laminilla 2: Gota de la mezcla del tubo 2, coloque el cubreobjeto, observe bajo el microscopio.
Laminilla 3: Gota de la mezcla del tubo 3, coloque el cubreobjeto, observe bajo el microscopio.
5. ¿Qué le pasó a las células al entrar en contacto con cada una de las soluciones? ¿Por qué?
6. ¿En qué solución sucedió hemólisis de los eritrocitos y por qué?
7. ¿Por qué ocurrió la crenación?
8. ¿Qué indican los resultados acerca de la concentración de solutos en el plasma sanguíneo?

B. 2. Células vegetales

PROCEDIMIENTO

1. Rotule dos vasos: 1, 2 y 3
2. Prepare los vasos como sigue:

Vaso 1: 25 ml de solución hipotónica + un pedazo de *Elodea*

Vaso 2: 25 ml de solución hipertónica + un pedazo de *Elodea*

1. Rotule y prepare tres laminillas según se indica a continuación. Coloque un cubreobjetos y observe con el microscopio:

Laminilla 1: Hoja de *Elodea* con una gota de agua de estanque.

Laminilla 2: Gota de la solución hipotónica y una hoja de *Elodea*

Laminilla 3: Gota de la solución hipertónica y una hoja de *Elodea*

2. ¿Qué le pasó a las células al entrar en contacto con cada una de las soluciones?
3. ¿Por qué ocurrió plasmólisis en una de las soluciones?
5. ¿Cuál es la diferencia entre plasmólisis y crenación?
6. ¿Por qué no ocurre **lisis** (rompimiento de la célula) en la célula vegetal?
7. ¿En qué tipo de solución ocurrió turgencia?

C. Estimar la osmolaridad en las células vegetales

En los siguientes ejercicios se observará cómo soluciones con diferentes molaridades¹ afectan el equilibrio y el funcionamiento de las células vegetales. La **osmolaridad** se expresa como *moles de soluto por litro de solución*; mientras más alta es la osmolaridad, mayor es la concentración de soluto. Deseamos saber cuál es la osmolaridad ideal en las células de papas. Esto se hará comparando la diferencia en el peso de las muestras de papa para determinar si las células adquieren o pierden agua en soluciones de diferentes molaridades y por consiguiente determinar en qué osmolaridad las células vegetales se encuentran en homeostasis o equilibrio.

¹ Para más información acerca de molaridad, ver el Apéndice IV.

MATERIALES

Por mesa:

- Una papa mediana o grande
- Sacabocado
- Vasos desechables o *beakers*
- Papel toalla
- Pedazo de cartón
- Navaja
- 100 ml de solución de sacarosa de 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 y 0.6 M
- Agua destilada (solución 0.0 M)
- Balanza y papel para pesar

PROCEDIMIENTO

1. Rotule seis vasos para cada solución de sacarosa (0.1 a 0.6 M) y un vaso para agua destilada (0.0 M).
2. Añada 100 ml de la solución correspondiente a cada uno (Fig. 7.5a).
3. Con el sacabocado obtenga siete cilindros de papa (Fig. 7.5b) de aproximadamente 5 cm de largo.



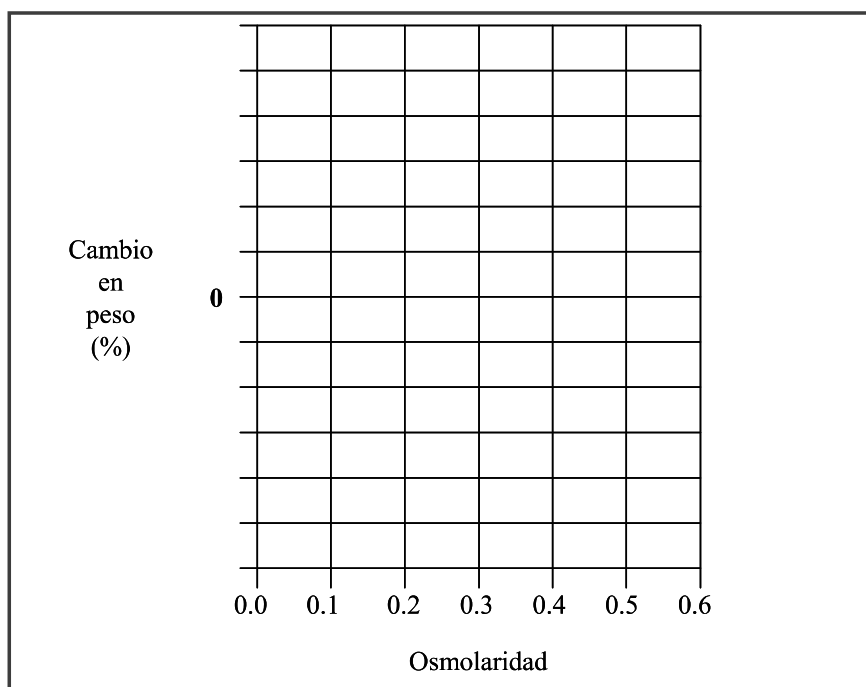
Figura 7.5

4. Pese los cilindros de papa, anote en la Tabla 7.2 el peso inicial para cada uno y transfíralos inmediatamente a los vasos rotulados.
5. Deje los cilindros en los vasos durante 2 horas.
6. Saque los cilindros de los vasos y remueva el exceso de agua con papel toalla. Asegúrese de mantener separados los cilindros correspondientes a cada vaso.
7. Anote si hubo cambios en textura y anote en la Tabla 7.2 el peso final de los cilindros.
8. Con los datos de la Tabla 7.2, calcule el cambio en peso para cada cilindro y prepare una gráfica señalando los cambios en peso.

$$\text{Cambio en peso (\%)} = \frac{\text{peso final} - \text{peso inicial}}{\text{peso inicial}} \times 100$$

Nota: Seleccione una escala apropiada para el eje Y de la gráfica (el cero ya está colocado en el centro del eje). El aumento en peso se grafica sobre el cero y la disminución en peso se grafica debajo del cero.

Tabla 7.2 Resultados del experimento.							
Molaridades de la soluciones							
	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6
Peso final (g)							
Peso inicial (g)							
Cambio en peso (%)							



9. ¿Se observó diferencia en la textura de los cilindros antes y después del experimento? ¿Por qué?

10. ¿Cuál es la variable independiente en este experimento?

11. ¿A qué molaridad de sacarosa se observa un cambio en la gráfica (dónde la curva va de negativo a positivo o viceversa)?

12. ¿Qué significan los resultados con respecto a la osmolaridad de la papa?

13. ¿Variará este resultado con un cambio en temperatura?

LABORATORIO 7: LA MEMBRANA Y EL TRANSPORTE CELULAR

PLAN DE ENSEÑANZA PARA LOS INSTRUCTORES

Destrezas que el estudiante adquirirá a partir de este laboratorio:

1. Trabajo individual y grupal; debe enfatizarse la división óptima de tareas por grupos.
2. Técnicas de laboratorio y conceptos químicos básicos.
3. Aplicaciones químicas y matemáticas a la biología.
4. Comunicación escrita.
5. Conceptos básicos de la investigación científica.
6. Discusión oral.

Manejo del laboratorio:

- El instructor debe introducir el tema y dar las instrucciones, asegurándose de mencionar los términos que el estudiante debe conocer: Solvente, soluto, membrana selectivamente permeable, difusión, movimiento browniano, osmosis, solución hipertónica, solución hipotónica, solución isotónica, osmolaridad, presión de turgencia y plasmólisis.
- Debe guiarse la introducción para que el estudiante participe y conteste preguntas. También debe repasarse el modelo de las membranas biológicas y sus componentes principales.
- El orden de los ejercicios debe alterarse para optimizar el uso del tiempo; prepare el ejercicio 7.2.c primero, ya que requiere una incubación de 2 horas.
- A cada estudiante se le asignará un informe corto, para entregarse la próxima semana, acerca de los resultados de Ejercicio 7.2c (incluyendo tablas y gráficas).

Manejo del tiempo:

1. Introducción10 minutos
2. Preparar el ejercicio de osmolaridad de la papa
(Ejercicio 7.2c) 20 minutos
3. Preparar el ejercicio sobre el efecto de la temperatura en la remolacha
(Ejercicio 7.1a)15 minutos
4. Realizar el experimento de difusión en agua (Ejercicio 7.2 a.1)....10 minutos
4. Comenzar el ejercicio de difusión de la membrana selectivamente permeable (Ejercicio 7.2 a.2) 15 minutos
7. Observar las laminillas de sangre (Ejercicio 7.2 b.1) 15 minutos
8. Preparar la prueba de Benedict (Ejercicio 7.2 a.2) 10 minutos
9. Resultados del Ejercicio 7.2 a.2 15 minutos
10. Resultados del ejercicio con remolacha (Ejercicio 7.1 a)..... 10 minutos
11. Observar laminillas de *Elodea* (Ejercicio 7.2 b.2) 15 minutos
12. Recoger lo que se usó para las pruebas del Ejercicio 7.2..... 10 minutos

13. Prueba corta 10 minutos
14. Discutir los resultados de los Ejercicios 7.1 b, 7.2 a.2, y 7.2 b ... 15 minutos
15. Recopilar los datos del Ejercicio 7.2c, recoger el laboratorio
y discutir resultados10 minutos