

Sumarios ICYT - Ciencia y Tecnología

> Sobre esta base de datos

Búsqueda simple Búsqueda por campos Búsqueda por índices

- Presentación
- Suscripción
- Ayuda

> Ayuda

- Enlaces de datos
- Sumarios ICYT Ciencia y Tecnología
 - Sumarios ISOC CC. Sociales y Humanidades
 - Sumarios IME Biomedicina
- Enlaces de revistas
- Ciencia y Tecnología
 - CC. Sociales y Humanidades
 - Biomedicina
- Productos
- Productores y distribuidores
 - Sugerencias

Resultados:

Detalles del registro [PermaLink](#) [Exportar a RefWorks](#)

Núm. Registro: 44793
Autores: Val, J.; Heras, L.; Monge, E.
Título: El cloroplasto: Composición, función y estructura.
ISSN: 0365-1797
Revista: [Anales de edafología y agrobiología](#)
Datos Fuente: 1987, 46 (11-12): 1477-1502, 88 Ref.
CopyRight: © CSIC. Base de Datos ICYT. Todos los derechos reservados.

Copyright © CSIC. 2006



Cambia el nombre en 1990 - 7.1992. → suelo y planta

EL CLOROPLASTO: COMPOSICION, FUNCION Y ESTRUCTURA

Por

J. VAL, L. HERAS y E. MONGE

SUMMARY

THE CHLOROPLAST: COMPOSITION, FUNCTION AND STRUCTURE

This paper offers an overview of higher plant chloroplasts. Our understanding of construction and composition of cellular organelles containing photosynthetic pigments has advanced enormously in recent years. Nevertheless, the information about oxygen evolving organisms already remains incomplete. This article is an attempt to bring together current knowledges of organelles that carry out photosynthesis.

EL ORIGEN DE LA VIDA

Desde que Alejandro Ivanovich Oparin, en 1936 publicó *El Origen de la Vida*, pasando por los trabajos de Calvin, Urey, Miller, Abelson, Groth y Weyssenhoff y más recientemente Juan Oró, Ponnampereuma con Mariner y Carl Sagan, parece demostrarse que en los comienzos de la historia de la Tierra, el proceso de la Fotosíntesis modificó profundamente el carácter de su atmósfera y suministró las condiciones esenciales para el desarrollo y evolución de la vida. Los materiales orgánicos más antiguos que se conocen se han hallado en los depósitos de esquisto de Fig Tree (Sudáfrica), que contienen formas de hidrocarburos, algunos de naturaleza isoprenoide, porfirinas, purinas y pirimidinas. Las técnicas de datación isotópica indican que dichos esquistos tienen, al menos, 3100 millones de años. Recientemente, se ha descubierto que algunas formaciones rocosas antiguas contienen vestigios reconocibles de organismos vivos, comprendiendo formas fotosintéticas. Así, por ejemplo, ciertas variedades de cuarzo encontradas en el sur de Ontario contienen fósiles microscópicos de formas coloniales de algas verde-azuladas. Se estima que estos depósitos tienen al menos 1500 millones de

* Trabajo financiado por la Caja de Ahorros de Zaragoza.

años, por ello, si esta estimación es exacta, la fotosíntesis en nuestro planeta opera, al menos, desde entonces.

Es posible que los primeros precursores de los seres vivos, los llamados protobiontes, se encontraran en un planeta con una atmósfera carente de oxígeno o de dióxido de carbono, o incluso de ambos. Únicamente la evolución de organismos capaces de generar ambos gases puede haber creado el ambiente adecuado para que se desarrolle la vida en todas sus formas. En este sentido Schopf, en 1974, propuso el siguiente esquema de evolución de la vida en 5 pasos:

1. Inicialmente aparecieron sistemas exóntos de moléculas de porfirina. Los organismos más primitivos fueron anaeróbicos heterótrofos, que dependían completamente de la fermentación de compuestos orgánicos no biológicos sintetizados en ambientes carentes de oxígeno. Estos utilizaban los compuestos orgánicos del océano como sillares de construcción y fuente de combustible.
2. Con el crecimiento y proliferación de estas células, que provocaron el progresivo agotamiento de los materiales orgánicos relativamente sencillos, que se daban en el medio acuoso, aparecieron organismos que contenían porfirinas de hierro con funciones similares a los actuales citocromos. Estos organismos eran capaces de producir reacciones anaeróbicas, con el sulfato, dióxido de carbono, nitrato u otros compuestos orgánicos. Estos organismos no solamente fueron capaces de utilizar nutrientes, no disponibles por vía fermentación, sino que obtenían mayor producción de energía a partir de estos nutrientes.
3. El siguiente paso en la evolución consistió en la aparición de las enzimas que ampliaban la ruta biosintética establecida previamente en el sentido de la aparición de metal-porfirinas, dando porfirinas complejadas con el magnesio además del hierro. Esto dio lugar a la formación de clorofilas y a la aparición de organismos anaeróbicos fotoheterótrofos, capaces de utilizar la luz solar en fuente de energía, si bien todavía eran necesarios los nutrientes orgánicos. Liberados de la necesidad de degradar grandes cantidades de materia orgánica para obtener energía, esos organismos fotosintéticos eran capaces de invadir habitats que contenían mucho menos material orgánico para abastecer las necesidades celulares. Tales habitat, apenas contenían materia orgánica, por lo que era imposible la existencia de los organismos que dependían exclusivamente de ella.
4. Tras la situación descrita en el punto 3, solamente pudieron sobrevivir aquellas células que fueron capaces de utilizar compuestos orgánicos sencillos, especialmente el CO_2 . Los fotoasimiladores surgieron como fotoautótrofos anaeróbicos, capaces de utilizar la energía solar para formar sus propios materiales orgánicos cuando aparecieron las rutas que fijaban el dióxido de carbono, similares a las de los autótrofos. Así, las primeras células fotosintéticas surgieron, probablemente, hace 3000 millones de años, aunque al principio no fuesen capaces de desprender oxígeno.

5. Con el desarrollo de las ficobilinas y el establecimiento de la unión entre el fotosistema I con el fotosistema II de la fotosíntesis, los iones hidroxilo producidos a partir del agua pudieron utilizarse como donadores de electrones, dando lugar a la introducción de oxígeno libre en el ambiente.

Los primeros heterótrofos aeróbicos consumidores de oxígeno surgieron cuando el nivel atmosférico de este elemento alcanzó una concentración crítica como resultado de la fotosíntesis. Por lo tanto, fué necesario que transcurrieran 1000 millones de años después de la aparición del O_2 en la atmósfera para que se desarrollasen los vertebrados aeróbicos y las plantas vasculares.

Como resultado de esta evolución se incrementó la concentración de oxígeno en la atmósfera, transformándose parte de éste en ozono, que actúa como pantalla frente a la radiación ultravioleta. Como consecuencia de este apantallamiento los organismos vivos pudieron trasladarse de las aguas profundas a otras más superficiales y algunos de ellos pasaron a la tierra.

En la actualidad existen organismos que se integrarían en los pasos de la evolución descritos por Schopf. Como ejemplo de la primera etapa podrían citarse los micoplasmas y la segunda podría estar representada por las bacterias anaeróbicas, siendo las algas verdeazuladas el ejemplo del paso 5.

EUCARIOTAS Y PROCARIOTAS

Todos los ejemplos citados hasta el momento pertenecen al grupo de células *procariotas*. Sin embargo, todas las plantas que existen hoy en día, con excepción de las bacterias y las algas verdeazuladas, son organismos complejos con células *eucariotas*. Las procariotas no son realmente multicelulares, así los tejidos vegetales no aparecieron hasta el desarrollo de las células eucariotas. Las diferencias entre células eucariotas y procariotas se resumen en la Tabla I.

LA FOTOSINTESIS

Toda la vida en nuestro planeta depende de la luz solar, es decir, de la fotosíntesis que realizan las plantas, organismos fotosintéticos capaces de captar la luz solar. Podemos definir la fotosíntesis como el empleo de la energía solar por las células de las plantas para efectuar la biosíntesis de los componentes celulares, en un proceso fundamental para todos los organismos vivos. Este es el proceso a gran escala que convierte compuestos inorgánicos simples y estables en la combinación rica en energía de materia orgánica y oxígeno. El proceso fotosintético consta aparentemente de tres fases fundamentales:

- a) la separación de átomos de hidrógeno de un donador electrónico;

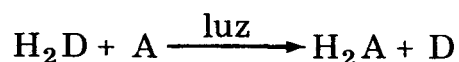
TABLA I

*Principales diferencias entre procariotas y eucariotas**

PROCARIOTAS	EUCARIOTAS
La mayor parte son células pequeñas (1-10 μm). Todas son microbios; las de morfología más compleja solo llegan a agrupaciones filamentosas o micelios de cuerpo blando (p.e. <i>actinomicetos</i> , <i>mixobacterias</i> , <i>algas verde-azules</i>).	La mayor parte son células grandes (10-100 μm). Algunas son microbios. Los últimos estadios evolutivos son los vertebrados y la plantas superiores.
Son nucleoides sin membrana asociada.	El núcleo está encerrado por una membrana.
División celular directa, generalmente por "fisión binaria". La cromatina contiene DNA, pero no proteína; no se tiñen con la técnica de Feulgen. No existen microtubos ni centriolos.	División celular por varias formas de mitosis. Muchos cromosomas contienen DNA, RNA, y proteínas; se tiñen por la técnica de Feulgen. La mayoría tienen centriolos y microtubos.
No existen por lo general sistemas sexuales y si se dan la transferencia genética es unidireccional, del donador al hijo.	Poseen sistemas sexuales, con igual participación de ambos progenitores en la fertilización.
Los organismos multicelulares nunca se desarrollan a partir de cigotos haploides. No existe diferenciación tisular.	La meiosis produce formas haploides, los cigotos se desarrollan a partir de diploides. Los organismos multicelulares muestran un extenso desarrollo de los tejidos.
Este grupo incluye todas las formas anaeróbicas y algunas aerobias.	Todas las formas son aerobias, excepto algunas modificaciones secundarias.
Grandes variaciones en los patrones metabólicos. No tienen mitocondrias, las enzimas para la oxidación de moléculas orgánicas están ligadas a las membranas celulares	Los mismos patrones metabólicos de oxidación (es decir, ciclo de Krebs, citocromos, etc.). Poseen mitocondrias.
Si existe fotosíntesis, las enzimas están ligadas a las membranas celulares. Esta fotosíntesis puede ser anaerobia o aerobia liberando O_2 o depositando azufre.	Si existe fotosíntesis, las enzimas están ligadas a los cloroplastos, liberando O_2 .
No existen movimientos intracelulares.	Movimientos intracelulares; fagocitosis, pinocitosis, corrientes...

* Hufford (1978).

- b) la transferencia de átomos de hidrógeno desde un compuesto intermedio de la primera fase a la tercera; y
- c) la utilización de los átomos de hidrógeno para reducir un aceptor electrónico (Rabinowitch y Govindjee, 1971).



La energía solar constituye no solamente la fuente energética inmediata para las plantas verdes y otros autótrofos fotosintéticos, sino también, en último término, la fuente energética para casi todos los organismos heterótrofos, a través de la actuación de las cadenas alimenticias de la biosfera. Además, la energía solar capturada por el proceso de la fotosíntesis es la fuente de cerca del 90% de toda la energía empleada por el hombre para satisfacer las demandas de calor, luz y potencia, ya que el carbón, el petróleo y el gas natural que son los combustibles utilizados para la mayor parte de las maquinarias fabricadas por el hombre, son los productos de descomposición del material biológico generado hace millones de años por los organismos fotosintéticos.

La luz (radiación visible para el ojo humano) comprende solo una estrecha banda en el espectro de la energía radiante. La porción visible de este espectro está comprendida entre 380 y 760 nm. El hecho más destacable es que dentro de esta zona, se encuentran también la visión del resto de animales, el fototropismo y lo más importante, la Fotosíntesis.

Las plantas y animales que no pueden fotosintetizar viven a expensas de las plantas fotosintéticas. La mayor parte de los organismos, para poder vivir, tienen que consumir energía por medio de procesos degradatorios esencialmente oxidantes y catabólicos. Estos procesos exigen un ambiente oxidante y conducen a la conversión de todos los compuestos de carbono a su forma más oxidada, por ejemplo, el dióxido de carbono. La fotosíntesis, en plantas superiores, restablece el equilibrio, consumiendo CO_2 y produce compuestos orgánicos más reducidos a la vez que genera oxígeno.

Además de las plantas superiores, existen otros organismos capaces de utilizar la energía luminosa en sus procesos metabólicos, incluyendo procariotas y eucariotas, como son las bacterias fotosintéticas y las algas. Las bacterias son los organismos vivos más pequeños de los conocidos, su diámetro varía entre 0,1-2 μm , aunque algunas pueden llegar a medir 500 μm . Las bacterias fotosintéticas o fotoautótrofas utilizan la luz como energía y, bajo condiciones anaeróbicas, producen azúcares. Dos tipos de bacterias sulfurosas (verde y roja) pertenecientes a las *Pseudomonales*, son fotolitótrofas. Para ellas la fuente de hidrógeno no es el agua y no se desprende oxígeno en este proceso. La bacteria sulfurosa roja posee una variedad de clorofila llamada bacterio-clorofila, de color verde enmascarado por el rojo de los carotenoides. La bacteria sulfurosa verde posee otro tipo de clorofila que no está enmascarada. Ambos tipos bacterianos están adaptados para vivir en aguas sulfurosas, termales, donde el H_2O es la fuente de hidrógeno.

Otro tipo de bacterias de la familia de las *Pseudomonales*, utilizan la energía luminosa para escindir el hidrógeno de la materia orgánica, por lo que se las llama foto-organóforas. Este tipo de bacterias rojas no sulfurosas posee bacterioclorofila enmascarada por los carotenoides.

Las bacterias procariotas fotosintéticas desempeñan un importante papel en la biosfera y son un buen material experimental para investigar los procesos fotosintéticos. Estos organismos pueden clasificarse en tres grupos: las bacterias verdes, como el *Chlorobium*, las bacterias sulfurosas púrpuras, como *Chromatium*, y las bacterias púrpuras no sulfurosas, como el *Rhodospirillum* y *Rhodopseudomonas*. Tanto las bacterias verdes como las sulfurosas púrpuras, son autótrofos y utilizan compuestos de azufre inorgánico (H_2S) como donadores de electrones para la reducción fotosintética del CO_2 , pero las bacterias púrpuras no sulfurosas son fotoheterótrofos y utilizan el succinato o el maleato en lugar del H_2S . Las reacciones bacterianas fotoquímicas necesitan la existencia de algunos pigmentos fotosintéticos como los carotenoides, bacterioclorofila y en el *Chlorobium* la clorofila (Kumar y Singh, 1979).

Los eucariotas fotosintéticos comprenden, no solamente las plantas verdes superiores, sino también formas inferiores, tales como las algas pluricelulares y unicelulares verdes, pardas y rojas, así como las euglenoides, los dinoflagelados y las diatoméas. Gran parte de la investigación en fotosíntesis está basada en el estudio de algas microscópicas como *Chlorella*, *Chlamydomonas*, *Scenedesmus*, *Anacystis*, y *Porphyridium*. Estas formas vegetales son fáciles de cultivar y pueden reproducirse las condiciones de crecimiento. Sus ciclos vitales relativamente cortos, junto con sus rápidas tasas de crecimiento, unido a la forma de cultivo sincronizado, que permite obtener una población de células con igual grado de desarrollo y estado fisiológico, hacen de estos organismos un excelente material para propósitos experimentales.

Debido a su morfología, color y aparato fotosintético, las verdeazules, pertenecientes a las *Cyanoficeae*, se han incluido en el grupo de las algas, a pesar de ser procariotas con gran parecido a las bacterias. Las algas verde azuladas pueden ser unicelulares o coloniales, mientras que otras son filamentosas. Sin embargo, se diferencian de las bacterias por la presencia de fotosistema II, en su aparato fotosintético. Poseen xantofilas, clorofila *a* y β -caroteno, además de ficoeritrina (pigmento rojo) y ficocianina (pigmento azul). Una característica importante de ciertas verdeazules es su capacidad para fijar nitrógeno atmosférico para convertir el N_2 en NO_3^- . Como organismos fotosintéticos son capaces de obtener el hidrógeno del agua, aunque en la oscuridad pueden llegar a ser heterótrofos.

Los protistas son organismos fotosintéticos que generalmente se incluyen en el grupo de las plantas. Las carofitas, crisofitas, xantofitas, diatomeas, algas pardas, algas verdes, dinoflagelados, euglenoides y hongos flagelados, son los principales exponentes de los protistas. La composición en pigmentos varía para cada especie. Así, en las algas verdes predomina la clorofila *a*, aunque también están presentes la

clorofila *b*; α , β y ϵ -caroteno y cinco o seis xantofilas. Las crisofitas tienen uno o dos cloroplastos pardo-dorados que contienen clorofilas *a* y *c*, β -caroteno y algunas xantofilas. Las xantofitas contienen mayoritariamente xantofilas, lo que les da el nombre de algas verde-amari-llentas, y también clorofilas *a*, *c* y β -caroteno. Las diatomeas poseen clorofila *a* y *c*, β -caroteno y ciertas xantofilas entre las que se encuentran la fuxantina, responsable del color pardo.

LOS PLASTIDIOS

Los plastos son unos orgánulos característicos del citoplasma de las células vegetales. Juegan un importante papel en el metabolismo vegetal, ya que en ellos se realiza la fotosíntesis. Los plastos tienen gran variedad de formas, tamaños y estructuras; y el conjunto de ellos forma el plastidioma. Según la naturaleza de las sustancias que contiene, se distinguen varias clases de plastos; los cloroplastos, ricos en clorofila, realizan la fotosíntesis; los amiloplastos, que almacenan almidón, como en el caso de la patata, de forma que pueden llegar a destruir su estructura interna desgarrando la membrana; cromoplastos, ricos en carotenoides, son los que dan la coloración especial de las flores y frutos; proteoplastos, ricos en proteínas; los oleoplastos, que almacenan materias grasas. Otro importante grupo de plastos lo constituyen los etioplastos que se forman en las plantas sometidas a oscuridad, si bien cuando reciben luz modifican su estructura, evolucionando hasta formar cloroplastos.

Si se rompen las células y se aíslan fracciones purificadas de cloroplastos, éstos, con un sustrato y cofactores solubles adecuados, son capaces de efectuar la secuencia completa de la fotosíntesis. En las plantas verdes, organismos verdes unicelulares tales como las algas (por ejemplo *Chlorella*, *Scenedesmus* y *Euglena*, los plastidios que contienen clorofila se denominan cloroplastos. El número, forma y tamaño de estos cloroplastos varía ampliamente según los organismos entre 1 y 10 μm de diámetro.

Cuando se examinan los plástidos al microscopio se revela una gran riqueza de detalles. Los rasgos más característicos son los tilacoides constituídos por los *grana*, apilamientos de estructuras laminares bien definidas; y por una laminillas que unen los grana llamadas *lamellae* intergranales, la parte soluble o *estroma* y la doble *membrana externa* que envuelve el cloroplasto (Figura 1) (Coombs y Greenwood, 1976). En la actualidad se prefiere la denominación de *apiladas* y *no apiladas*, lo que permite establecer las diferencia entre las regiones con interacción membrana/membrana y aquellas que están en contacto con el estroma, bien sean granales o lamelares.

En las membranas del tilacoide también existe diferencia entre las superficies internas y externas. La interacción entre este tipo de estructuras está clara y los modelos propuestos no son satisfactorios a causa de su rigidez. De hecho, las membranas tilacoidales aisladas pueden cambiar fácilmente de su estado granal a otro no apilado mediante la disminución de la fuerza iónica del medio de suspensión (Barber y

CLOROPLASTO

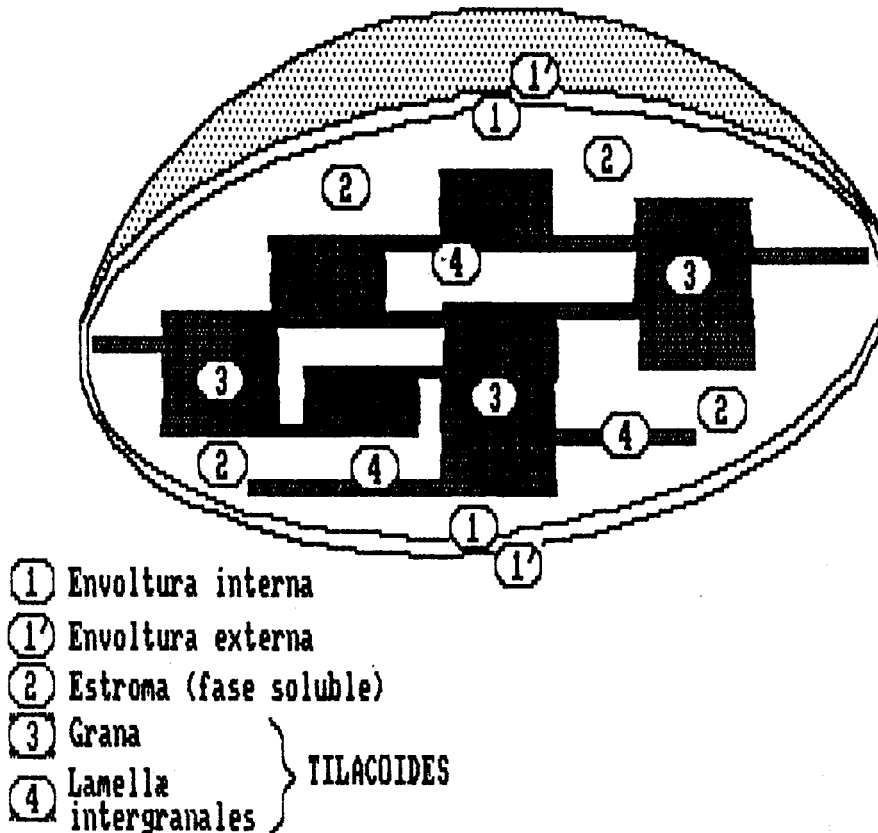


FIG. 1.—Representación artística de un cloroplasto, donde pueden apreciarse las partes apiladas (*grana*), y las no apiladas en contacto con el estroma (*lamellae intergranales*).

Chow, 1979). También se pueden reestructurar los grana, que se encuentran en las partes apiladas, mediante la adición de determinados cationes. La efectividad de varios cationes no ligados a las membranas y que también inducen el apilamiento, depende en gran parte de su valencia (Barber, Mills y Love, 1977; Barber, 1980a). El apilamiento de las membranas tilacoidales también puede modificarse adicionando especies catiónicas unidas a la superficie tilacoidal, pero este proceso implica la neutralización electrostática de las cargas expuestas y produce fenómenos en los grana que difieren de los que suceden *in vivo* (Barber, 1980a). Estas observaciones, apoyadas en que el grado de apilamiento *in vivo* varía con las condiciones de crecimiento (Anderson, 1982a) también puede modificarse significativamente durante cortos períodos de tiempo como respuesta a estímulos externos (Punnett, 1970; Bennoun y Jupin, 1974). Por otra parte es preciso constatar que la organización de las membranas externas no está firmemente establecida.

Los estudios de "freeze-fracture" han revelado la naturaleza dinámica de los tilacoides a nivel subestructural. Recientemente se ha puesto de manifiesto que las partículas protéicas intermembranales tienen libertad de movimiento en respuesta a los cambios en las con-

diciones iónicas (Wang y Packer, 1973; Ojakian y Satir, 1974; Staëhelin, 1976) y más recientemente a la fosforilación de proteínas (Kyle, Staëhelin y Arntzen, 1983).

PIGMENTOS FOTOSINTETICOS

La mayor parte de los pigmentos fotosintéticos, clorofilas y carotenoides de la célula vegetal, están localizados en los tilacoides. Clorofila es el nombre aceptado de los pigmentos verdes en los organismos capaces de fotosintetizar. Fue utilizado en primer lugar por Pelletier y Caventou (1818) para describir el pigmento responsable del color verde de las hojas, pero pasó algún tiempo hasta que Stokes (1864) demostró que era una mezcla de dos pigmentos verdes y varios pigmentos amarillos; los pigmentos verdes fueron aislados más tarde por Sorby (1873). La cromatografía (del griego *escritura coloreada*) fue empleada por primera vez por Tswett (1906) para separar las dos clorofilas y los carotenoides por cromatografía de columna en azúcar, según su adsorción, desarrollo y elución. Estas clorofilas fueron denominadas como α y β , pero posteriormente pasaron a ser clorofilas *a* y *b*.

En plantas superiores y en todas las algas, excepto en las verdeazuladas, las clorofilas y carotenoides se localizan en los cloroplastos. La función de las clorofilas es absorber energía luminosa y convertirla en energía química. Todo este proceso implica la producción de electrones que reducen el CO_2 para dar carbohidratos, y de esta forma la energía atrapada por las plantas se libera en procesos de oxidación.

CLOROFILAS

Las clorofilas son los principales aceptores de luz en las plantas y están presentes invariablemente en cada organismo que realiza la fotosíntesis con absorción de dióxido de carbono y la evolución a oxígeno molecular. En las plantas, la clorofila se dispone en agrupaciones de unos pocos centenares de moléculas y su principal función es actuar como antena para captar la luz, mientras que en una pequeña proporción actúa como centro de reacción.

El primer precursor de la clorofila identificado inequívocamente es el ácido δ -aminolevulínico (δ -ALA), compuesto de 5 carbonos que se produce por la condensación de succinil-CoA y glicina, en animales y bacterias. Las plantas y las algas forman δ -ALA por otra ruta, utilizando el esqueleto carbonado intacto del ácido glutámico. Todos los átomos de carbono y nitrógeno del núcleo porfirínico de la clorofila se derivan de este δ -ALA.

La ruta biosintética desde el δ -ALA hasta la clorofila está ilustrada en la Figura 2. El ensamblaje del esqueleto tetrapirrólico se produce por la condensación de dos moléculas de ALA para formar unidades de Porfobilinógeno (PBG), que son los primeros intermediarios pirrólicos de esta ruta. Más adelante, se enlazan secuencialmente, cabeza con cola, cuatro unidades de PBG, para dar un tetrapirrol inestable.

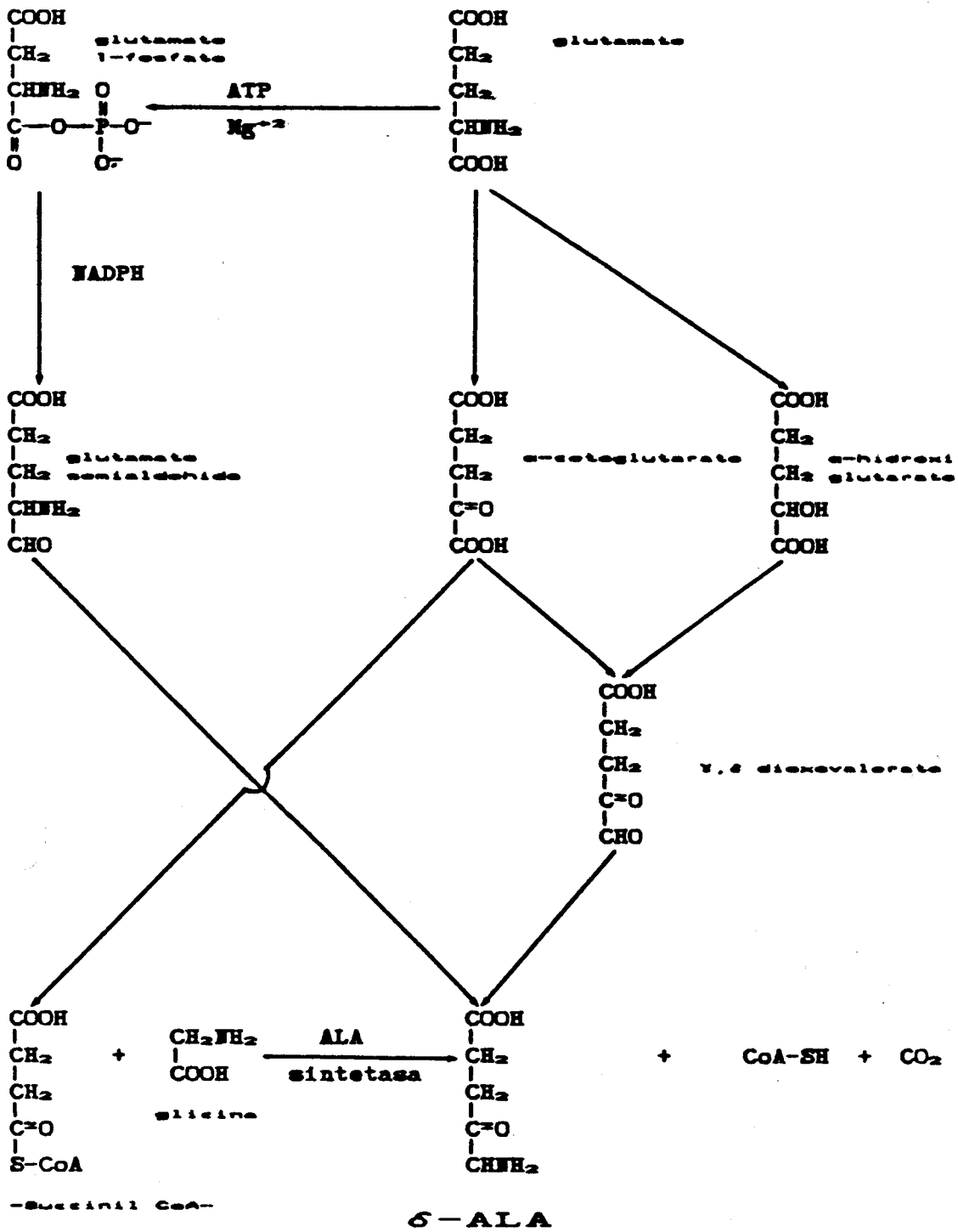


FIG. 2.—Esquema resumido de la biosintesis del ácido δ -aminolevulinico.

Esta molécula lineal está en condiciones de formar el ciclo tetrapirrólico Uroporfirinógeno III. Este isómero tiene un anillo D invertido, de forma que la secuencia de sustituyentes en posición β es la inversa con respecto a los otros anillos. La conversión a Coproporfirinógeno III está ligada a la descarboxilación de cuatro moléculas de ácido acético, liberando grupos metilo, y entonces se descarboxilan oxidándose dos de los cuatro ácidos propiónicos (en los anillos A y B), para dar grupos vinilo, formando la Protoporfirina IX, que tiene sustituyentes vinilo en estas posiciones. La escisión de seis electrones del macrociclo porfirinógeno confiere al Proto características aromáticas. El Proto es el último precursor común de los hemos, bilinas y clorofilas.

A partir del último paso, la ruta de la clorofila comienza con la inserción del Mg en el núcleo Proto. Esto está seguido por la metilación del grupo ácido propiónico en el anillo C. A continuación, y en orden todavía no bien determinado, el grupo vinilo del anillo B se reduce a etilo, y nuevamente el ácido propiónico metilado, se oxida a carbonilo en la posición β y se une a su carbono en α para dar el carbono γ -meso de la porfirina, formando la protoclorofilida, que contiene un quinto anillo isocíclico que está presente en todas las clorofilas. La conversión de protoclorofilida a clorofilida requiere generalmente luz en las angiospermas, si bien algunos tejidos de plantas superiores son capaces de realizar la reducción de la protoclorofilida en ausencia de luz.

El paso final en la formación de clorofila *a* consiste en la adición de la larga cadena de fitil-polisopreno. Este proceso se inicia mediante esterificación del ácido propiónico en el anillo D con geranylgeraniol (activado como el ester del pirofosfato) y la reducción del grupo geranyl del fitilo. Las evidencias de que se disponen sugieren que la clorofila *b* se deriva directamente de la clorofila *a* mediante la oxidación del grupo metilo en el anillo B de un grupo formilo (Castelfranco y Beale, 1983).

CAROTENOIDES

Los carotenoides siempre han atraído la atención de los naturalistas debido a que son los responsables de gran parte de los amarillos y rojos brillantes que se dan en las flores y frutos, en pájaros, insectos y otros muchos animales (Weedon, 1971). Esta coloración se debe al gran número de dobles enlaces conjugados de la estructura terpénica.

Desde hace pocos años se vienen estudiando gran número de alimentos y constituyentes de estos por sus efectos inhibidores de la carcinogénesis. Un buen número de estos estudios han demostrado que existe una relación inversa entre el consumo de ciertas frutas y vegetales y el riesgo de cáncer (Peto et al., 1981). Estas investigaciones asumen que el factor activo de una dieta rica en vegetales y frutas es el β -caroteno en función de su potencial como fuente de vitamina A. Sin embargo, muchos de estos vegetales y frutas son relativamente pobres en β -caroteno y relativamente ricos en el resto de carotenoides (xantofilas) que tienen poca o nula actividad de vitamina A. Recientemente

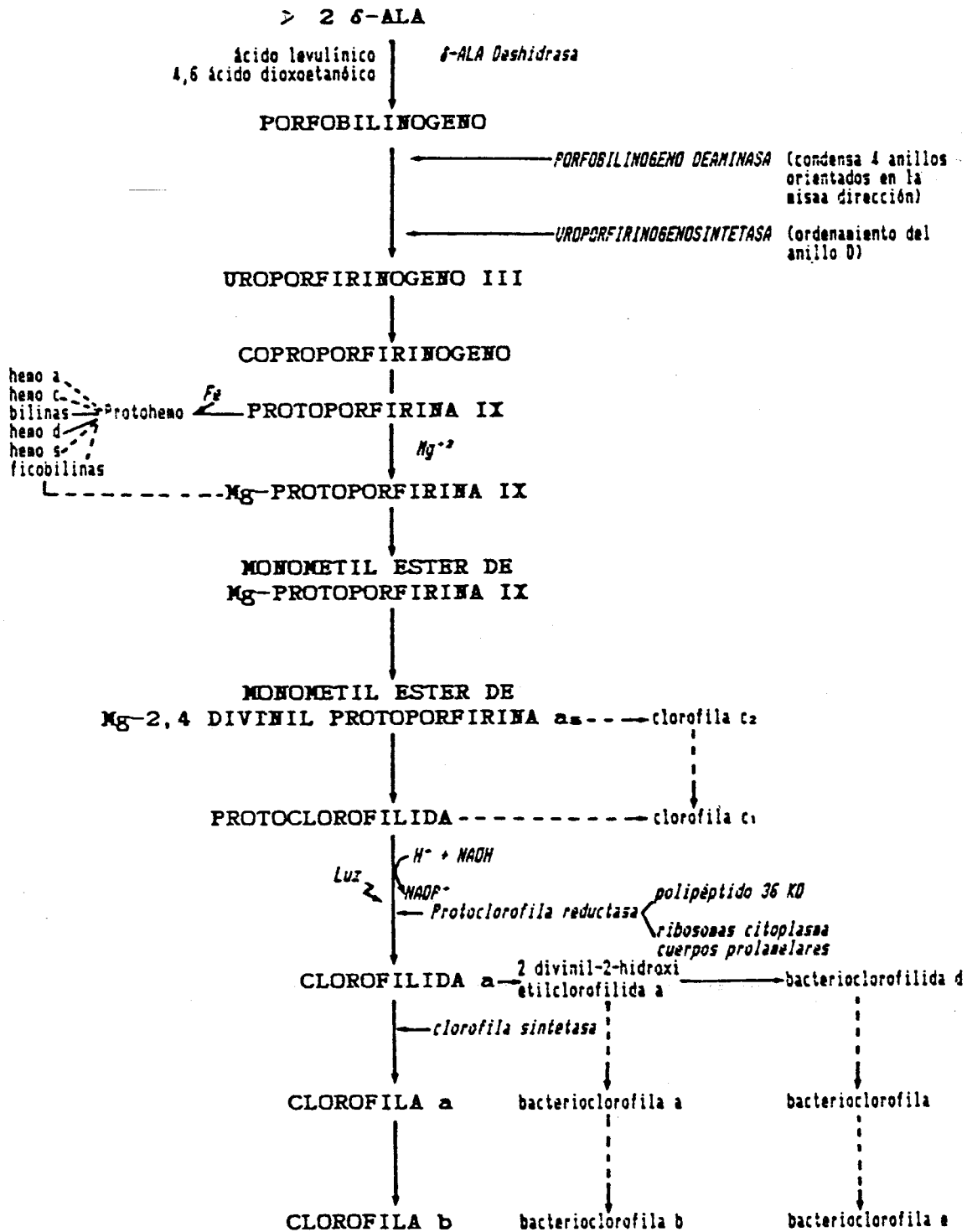


FIG. 3.—Esquema de la biosíntesis de clorofilas.

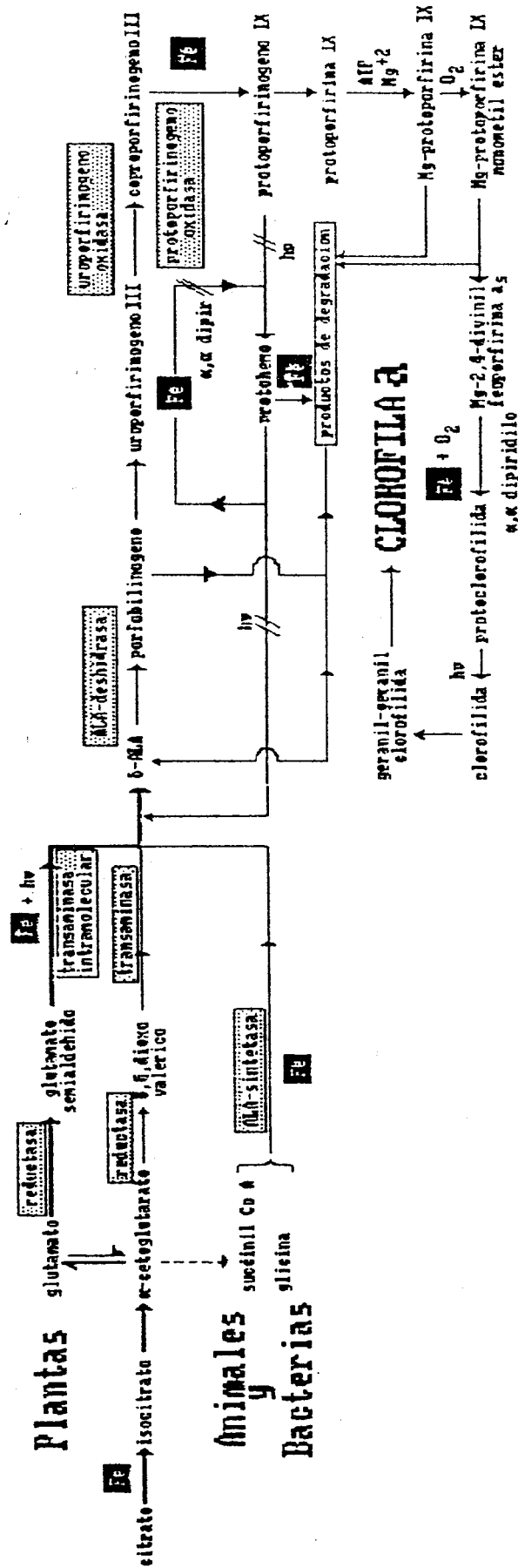


FIG. 4.—Esquema de biosíntesis de clorofilas incluyendo las enzimas más importantes

se ha encontrado que el incremento de carotenoides en la dieta, ejerce un efecto protector contra el cancer en la población de la tercera edad. También se ha comprobado el efecto protector de ciertos alimentos que contienen otros carotenoides aparte del β -caroteno. Generalmente las tablas de composición de los alimentos adolecen de falta de información acerca del contenido en carotenoides, por lo tanto el desarrollo de un método analítico rápido y fiable será un instrumento valioso en un gran número de campos de investigación.

Los carotenoides provienen de reacciones de copulación "cola a cola" de análogos al pirofosfato de farnesilo con 20 átomos de carbono. El primer producto de reacción detectable, el hidrocarburo C_{40} llamado fitoeno, se modifica posteriormente por acción de los enzimas del organismo (deshidrogenación y a veces ciclación y oxidación) dando gran variedad de carotenoides C_{40} . Las estructuras de los carotenoides más comunes, β -caroteno y el licopeno, cada uno de los cuales contiene 11 dobles enlaces conjugados son las siguientes:

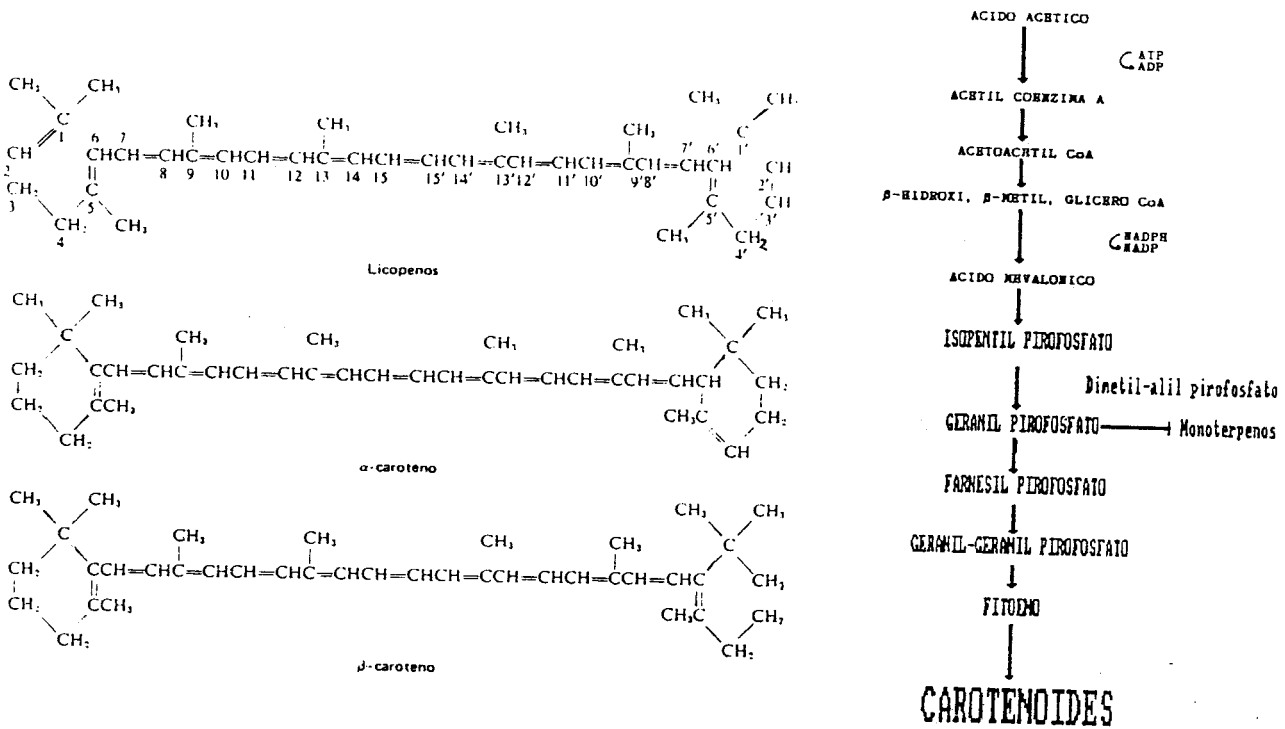


FIG. 5.—Fórmulas estructurales de algunos carotenoides y esquema de biosíntesis.

Junto con las (bacterio) clorofilas, los carotenoides son los pigmentos mayoritarios de las membranas fotosintéticas. En la Tabla II se resumen los carotenoides más importantes, en plantas superiores, y asimismo, se citan su nombres semisistemáticos. Las clorofilas y carotenoides son lipofílicos y se localizan en las regiones hidrófobas de las membranas protéicas o en las matrices lipídicas de los tilacoides.

TABLA II

Carotenoides más importantes en plantas superiores

Nombre vulgar	Nombre semisistemático
Carotenos	
α -caroteno	β , ϵ -caroteno
β -caroteno	β , β -caroteno
Xantofilas	
Neoxantina	5', 6'-epoxi-6,7-didehidro-5,6,5', 6'-tetrahidro- β , β -caroteno-3,5,3'-triol
Violaxantina	5,6,5',6'-diepoxi-5,6,5',6'-tetrahidro- β , β -caroteno-3,3'-diol
Luteína	β , ϵ -caroteno-3,3'-diol

La posibilidad de sintetizar carotenoides *de novo* parece que puede producirse en cualquier estadio evolutivo. Algunas bacterias y hongos, las algas y las plantas superiores han preservado esta capacidad. La producción normal de carotenoides sintetizados por estos organismos se ha estimado en cerca de cien mil millones de Kg (Siefermann-Harms, 1985). La mayor parte de los carotenoides sintetizados por estos organismos son difícilmente detectables in situ, ya que su presencia está enmascarada por otros pigmentos, especialmente por las clorofilas. La fucoxantina es el más abundante de los carotenoides (Weedon, 1971), y se encuentra formando parte de las membranas de las algas pardas. Por otra parte los tres carotenoides más importantes de las hojas verdes son: luteína, violaxantina y β -caroteno, que se localizan en el correspondiente sistema de membranas de las plantas superiores.

Regulación de la síntesis de carotenoides en los tejidos verdes

En los tejidos fotosintéticos los carotenoides se sintetizan y localizan exclusivamente en los cloroplastos. Las plántulas etioladas producen pequeñas cantidades de carotenoides, principalmente xantofilas, pero en respuesta a la luz, se sintetizan gran cantidad de β -caroteno (Goodwin, 1958). Sin embargo, los cloroplastos tienen un considerable grado de autonomía, no existiendo evidencia de que realicen los pasos de glicólisis que conducen al piruvato y eventualmente el precursor primario de los carotenoides: acetil-CoA. Se ha obtenido confirmación de la existencia de una ruta de formación de piruvato a partir de glicolato (Britton, 1976), pero no existe evidencia de que los cloroplastos puedan convertir el piruvato en acetil CoA o el acetil CoA en ácido mevalónico (MVA).

Se ha sugerido una compartimentación de la biosíntesis como un mecanismo por el cual se regule la formación de diferentes clases de compuestos terpénicos. Si se colocan cortes de plántulas etioladas en

ácido mevalónico marcado con ^{14}C y se dejan enverdecer, se detecta una pequeña radioactividad en los terpenoides cloroplásticos, es decir en los carotenoides, en las cadenas de las clorofilas, plastoquinonas, tocoferoles y filloquinona, si bien los terpenoides extracloroplásticos, como el escualano, esteroides y la cadena lateral de la ubiquinona están fuertemente marcadas (Britton, 1976). Por otra parte, si se permite el enverdecimiento de estas plántulas en presencia de $^{14}\text{CO}_2$, la situación es reversible, los terpenoides del cloroplasto están fuertemente marcados. Así, la regulación de la síntesis de terpenoides en plántulas en desarrollo puede estar compartimentada en dos lugares separados de la síntesis de terpenoides desde el MVA en adelante; uno fuera del cloroplasto y otro en su interior. Las reacciones básicas de la biosíntesis de terpenoides (p.e. la formación de prenil pirofosfatos) puede producirse en ambos lugares, pero las reacciones específicas involucradas en la biosíntesis de un grupo particular de terpenoides solo puede darse en un lugar, en el caso de los carotenoides, dentro del cloroplasto.

PAPEL DE LOS PIGMENTOS FOTOSINTETICOS

La clorofila *a* es el pigmento principal, el más abundante y el único que se encuentra constantemente en toda la escala vegetal. El resto son pigmentos accesorios. Únicamente las bacterias fotosintéticas constituyen una excepción a la regla de omnipresencia de la clorofila *a*. En éstas existen otras formas de clorofila, las bacterioclorofilas, que apenas difieren químicamente de la clorofila *a* y que juegan el mismo papel fisiológico.

En las plantas superiores y en las algas, excepto en las verdeazuladas la clorofila se localiza en los cloroplastos, mientras que en las verdeazuladas y en las bacterias las clorofilas se disponen en las lamelas intracelulares. Su principal función es absorber la energía luminosa para convertirla en energía química. El proceso global implica la producción de electrones capaces de reducir el dióxido de carbono, que junto con el H^+ dan lugar a los hidratos de carbono, y de esta forma la energía atrapada se libera en los procesos oxidantes de las plantas, y en último lugar en los animales, que producen la energía química y mecánica necesaria para el desarrollo de la vida.

La abundancia de carotenoides en las membranas fotosintéticas (aproximadamente un 3% p/p), sugiere que juegan un cierto papel en estas reacciones o bien estabilizando el aparato fotosintético. No existe ninguna evidencia de que los carotenoides intervengan en la transferencia de electrones. Sin embargo, la eficacia para transferir la energía absorbida desde estos compuestos a los centros de reacción fotosintéticos es relativamente baja. Por esta razón parece que el principal papel de los carotenoides no sea la captación de luz sino la protección del aparato fotosintético contra los efectos destructores de la luz y O_2 (Krisnky, 1971).

Los cloroplastos de las plantas superiores tienen el potencial de generar formas de oxígeno perjudiciales para la planta. La interacción entre la clorofila (^3Chl) y el oxígeno ($^3\text{O}_2$) en estados triplete da lugar

a la generación de radicales oxígeno en estado singlete ($^1\text{O}_2$) (Foote y Denny, 1968). El oxígeno puede aceptar electrones de los transportadores de electrones del fotosistema I, siendo reducido a superóxido (O_2^-). La dismutación del O_2^- debido a la acción de la superóxido dismutasa (SOD) genera H_2O_2 , mientras que la reacción entre O_2^- y el H_2O_2 genera radicales OH muy reactivos (Halliwell, 1981). La generación de radicales oxígeno en los cloroplastos puede dañar el aparato fotosintético. La concentración de H_2O_2 inhibe la fotosíntesis por inactivación de las enzimas fructosa y sedoheptulosa bifosfatasa del ciclo de Calvin (Charles y Halliwell, 1981). Tanto el $^1\text{O}_2$ como el OH pueden iniciar la peroxidación de los ácidos grasos de la membrana, así como la oxidación de algunas proteínas, aminoácidos y otros componentes celulares (Halliwell, 1981). El deterioro está normalmente restringido por un rango de mecanismos de protección que reducen la toxicidad de las especies dañinas. La generación de $^1\text{O}_2$ está controlada por los carotenoides que producen el *quenching* o desexcitación de la ^3Chl y $^1\text{O}_2$ (Foote y Denny, 1968).

Todavía no está bien aclarada la función del ciclo violaxantina/zeaxantina dentro de los tejidos fotosintéticos, aunque algunos autores (Krinsky, 1966; Krinsky, 1968) proponen que juega un importante papel en la protección de los cloroplastos frente a las fotooxidaciones, en la evolución fotosintética del oxígeno (Sapozhnikov, 1969) y también es posible que los carotenoides en las membranas estabilicen la conformación protéica (Krinsky, 1971). Tal papel puede ser particularmente importante en un sistema de membranas que continuamente está sintetizando todos los galactolípidos de los tilacoides (Jeffrey, Douce y Benson, 1974).

MORFOLOGIA DE LAS MEMBRANAS DEL CLOROPLASTO

Las membranas cloroplásticas son las más abundantes en la superficie de nuestro planeta, si se comparan con otros tipos de membranas biológicas, y tienen un comportamiento que refleja su papel funcional como sistema transformador de energía.

La morfología del cloroplasto está constituida por tres partes fundamentales con distinta funcionalidad: envoltura, estroma y membranas tilacoidales.

ENVOLTURA EXTERNA

La envoltura consta de dos membranas, la interior y la exterior. En esta envoltura se sintetizan galactolípidos, carotenoides y prenilquinonas. Por otra parte, las membranas de la envoltura forman una barrera que impide el paso de ciertas moléculas dentro del cloroplasto. La membrana interna regula el flujo de metabolitos entre el citosol y el cloroplasto y la externa probablemente induzca la toma de los polipéptidos sintetizados en el citoplasma. Estudios de microscopía electrónica apuntan a que la membrana interna da lugar a los tilacoides

mediante un proceso de invaginación durante el desarrollo del cloroplasto (Joyard et al., 1983).

La envoltura del cloroplasto es un sistema de membranas de coloración amarilla con una composición fija de carotenoides. Las envolturas aisladas a partir de cloroplastos de hojas de espinaca sometidas a la oscuridad tienen un contenido en violaxantina superior en 3,5 veces al de luteína + zeaxantina, mientras que las iluminadas muestran una relación de solo 0,75, por lo tanto es lógico suponer que la luz cataliza el ciclo violaxantina/zeaxantina dentro del cloroplasto (Jeffrey, Douce y Benson, 1974).

La composición de carotenoides en fracciones de cloroplastos enriquecida en envoltura externa e interna muestran que el contenido en violaxantina es el 50% del total de carotenoides, sin embargo la composición del resto de carotenoides es diferente en cada membrana. Así la envoltura externa contiene mayor proporción de neoxantina que la interna. Por otra parte la membrana externa tiene tres veces más carotenoides que la interna.

TABLA III

*Composición pigmentaria de la membrana externa del cloroplasto**

Pigmento	Concentración ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína)
β -caroteno	0,6
Violaxantina	2,6
Luteína	1,8
Neoxantina	0,3
Clorofilas	0,0

* Según Lichtenthaler, Prenzel y Joyard (1981).

TILACOIDES

En los cloroplastos completamente desarrollados con el sistema de membranas completo, más del 90% de los carotenoides se encuentran en los tilacoides (Lichtenthaler, Prenzel y Khun, 1982). Estos autores realizan un estudio de la composición pigmentaria de varios complejos clorofila-pigmento-proteína separados por SDS-PAGE y encuentran que la relación clorofila *a*/clorofila *b* en los captadores de luz es de 1 a 1,3. El CP1 (centro de reacción del fotosistema I), en tilacoides de espinaca solubilizados con Triton X-100, se caracteriza por una relación de clorofilas *a/b* de 5,9-7,8, siendo el β -caroteno el principal carotenoide. Los análisis del centro de reacción del fotosistema II, también de espinaca y aislado por centrifugación diferencial tras la solubilización con digitonina muestran que, por cada 100 moléculas de clorofila *a* contiene 4 de clorofila *b*, 12,5 de β -caroteno y 2,5 de luteína (Siefermann-Harms, 1985).

TABLA IV

*Composición pigmentaria de los tilacoides**

Pigmento	Concentración ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína)
β -caroteno	6,6
Violaxantina	3,1
Luteína	7,8
Neoxantina	1,3
Clorofilas	19,5

* Según Lichtenthaler, Prenzel y Joyard (1981).

La membrana tilacoidal está asociada con las proteínas intrínsecas y extrínsecas. Parece que existen principalmente cinco complejos multipéptidos macroscópicos implicados en la captura de luz y en el transporte electrónico y en los procesos de fosforilación: el fotosistema I (PS I), el fotosistema II (PS II), el complejo *a/b* captador de luz (LHC), el citocromo *b₆-f* y el complejo CF_0 de la ATP sintetasa ("coupling factor"). En la medida en que el transporte electrónico y la fosforilación están interrelacionadas existen al menos tres proteínas extrínsecas ligadas a la superficie externa: ferredoxina, ferredoxina-NADP⁺ oxidorreductasa, y el complejo CF_1 de la ATP sintetasa. En la superficie interna de los tilacoides se localizan las proteínas extrínsecas como la plastocianina y posiblemente algunos componentes implicados en la ruta de transporte electrónico desde el H_2O hasta el centro de reacción, P680 del PS II.

Los detalles precisos de la estructura y composición de muchas de estas proteínas de la membrana de los tilacoides son desconocidas y existen datos conflictivos en la bibliografía.

DESCRIPCION DEL APARATO FOTOSINTETICO

COMPLEJO DEL FOTOSISTEMA I

Los estudios de microscopía electrónica del complejo PS I aislado han mostrado que tiene un diámetro de 106 Å (Mullet, Burke y Artzen, 1980a) y puede tener un peso molecular de aproximadamente 800.000 daltons (Hiller y Goodchild, 1981). Alrededor del 30% de la clorofila de las plantas desarrolladas en condiciones normales está contenido en este complejo (Thornber, Markwell y Reinman, 1979) con aproximadamente 150-200 moléculas de clorofila *a* por complejo (Anderson, 1980a). Cada complejo contiene un centro de reacción P_{700} y presumiblemente tiene asociado los aceptores electrónicos primarios A_1 , A_2 a la vez que dos centros hierro azufre (Bengis y Nelson, 1979). Los

análisis de este complejo muestran niveles bajos de clorofila *b* (Boardman, Anderson y Goodchild, 1978; Wollman y Bennoun, 1982; Ish-Shalom y Ohad, 1983). El complejo del fotosistema I se ha aislado utilizando diferentes detergentes (Thornber, et al., 1979; Mullet, Burke y Arntzen, 1980a y b; Anderson, 1980a y b) y mantiene las mismas características espectrales que el PS I *in vivo*, incluso la fluorescencia a 77 K con un pico a 735 nm. Las clorofilas y el β -caroteno están ligadas no covalentemente a uno o varios polipéptidos de un peso molecular próximo a 68 kd, uno de los cuales contiene el P₇₀₀, mientras que otros polipéptidos de menor peso molecular están asociados con este núcleo, y probablemente provienen de varios aceptores de electrones que constituyen la totalidad del centro de reacción (Bengis y Nelson, 1979; Anderson, 1980b). Las clorofilas se escinden del complejo, mediante tratamientos con detergentes (Mullet et al, 1980a), en dos unidades separadas, una interna con 50 moléculas de clorofila *a* que absorbe a 694 nm y otra antena más periférica con 40-100 moléculas de clorofila *a* que absorbe a 705 nm. El PS I tiene una relación de clorofilas *a/b* menor o igual de 6 y además incluye una forma de LHC que es específica del PS I y que se denomina LHC I (Anderson y Anderson, 1982; Brauman, Weber y Grime, 1982; Skrdla y Thornber, 1982; Ish-Shalom y Ohad, 1983).

Los análisis del supracomplejo del fotosistema I, que incluye el LHC I y el centro de reacción, de tilacoides de espinaca muestran que por cada molécula de P₇₀₀ existen 186 de clorofila *a*, 24 de clorofila *b*, 27 de β -caroteno, 12 de luteína, 2 de neoxantina y 9 de violaxantina (Siefertmann-Harms, 1985).

COMPLEJO DEL FOTOSISTEMA II

Este complejo contiene del 10 al 15% de la clorofila total con cerca de 60 moléculas de clorofila *a* por cada P₆₈₀ (Anderson, 1980a). Estas clorofilas absorben a 672 nm a temperatura ambiente. Este complejo no contiene clorofila *b*, pero está ligado al β -caroteno (Braumann, Weber y Grime, 1982). Los polipéptidos asociados a la clorofila tienen probablemente pesos moleculares entre 50 y 43 kd (Delapelaire y Chua, 1981; Anderson, 1980a; Satoh, 1981), mientras que otros polipéptidos de distinto peso molecular están asociados con distintos componentes del centro de reacción y del sistema de oxidación del agua como el citocromo *b*₅₅₉ (Satoh, 1981). Según Hiller y Goodchild (1981), el peso molecular del complejo PS II nativo podría ser de 600 kd y los estudios de "freeze-fracture" de microscopía electrónica en hojas verdes, la dan un diámetro de 80 Å (Steahelin y Arntzen, 1977).

Existe una información muy limitada sobre la composición pigmentaria del fotosistema II, si bien es evidente la presencia de carotenoides debido al hombro a 495 nm, que se observa en los espectros a temperatura ambiente. Los análisis de este complejo muestran que por cada 100 moléculas de clorofila *a*, hay 4 de clorofila *b*, 12,5 de β -caroteno y 2,5 de luteína (Siefertmann-Harms, 1985).

Complejo captador de luz LHC II

Unidos al centro de reacción, y asociados con las proteínas captadoras de luz, de todos los organismos fotosintéticos que desprenden O₂, se encuentran los sistemas de pigmentos captadores de luz. Estos complejos muestran enormes variaciones en la composición, organización y localización de los pigmentos dentro de la membrana.

En las plantas desarrolladas en condiciones normales de iluminación este complejo constituye el 40-60% del total de clorofila y está íntimamente asociado con el PS II (Anderson 1980a, 1982a, Thornber, 1975; Thornber y Barber, 1979). Contiene dos polipéptidos mayoritarios de pesos moleculares 26 y 28 kd, tiene una relación *a/b* próxima a 1,5 y muy poco β -caroteno, pero altos contenidos de xantofilas (Thornber, 1975; Braumann, Weber y Grime, 1982). El LHCP₂ solamente funciona como captador de luz con unas 240 moléculas de clorofila por cada P₆₈₀ (Anderson, 1980a; Thornber y Barber, 1979). Los estudios de "freeze-fracture" sugieren que estas clorofilas pueden distribuirse en cuatro complejos LHCP separados que se agregan con un solo PS II para formar una macropartícula de aproximadamente 160 Å de diámetro (Armond y Arntzen, 1977; Mullet y Arntzen, 1981). Esto podría significar que cada LHC II contiene 60 moléculas de clorofila y tiene un peso molecular aproximado de 300 kd (Hiller y Goodchild, 1981).

En las membranas del tilacoide los complejos captadores de luz se disponen en agregados. La solubilización de las membranas con Triton X-100 permite separar la proteína en el estado oligomérico (LHC) mientras que la solubilización con SDS y la separación mediante electroforesis en gel de poliacrilamida da lugar al monómero LHCP₃, al dímero LHCP₂ y al trímero LHCP₁. Esto no significa que la forma monómera tenga una población de proteínas homogénea, sino que como se ha mencionado anteriormente, existen al menos 2 polipéptidos de 26 y 28 kd (Siefermann-Harms, 1985).

La composición de pigmentos fotosintéticos en este sistema aislado por PAGE o electroenfoque, en distintas especies de algas superiores, muestra el siguiente resultado: por cada 100 moléculas de clorofila *a* hay 62,5-83,4 de clorofila *b*, 26,7-44,5 de luteína, 9,5-19,7 de neoxantina, y 2-9,8 de violaxantina (Siefermann-Harms, 1985).

ORGANIZACION DE LOS COMPONENTES DE LA MEMBRANA

Contrariamente a la idea, generalmente aceptada, de que los pigmentos del PS II y PS I, están en contacto (distribución continua), la teoría de la heterogeneidad lateral asegura que la mayor parte de la clorofila del PS II está muy separada de la del PS I. De esta forma el transporte de energía de excitación entre ambos fotosistemas está muy restringido. No obstante, la fosforilación reversible de los tilacoides permite migrar cierta parte de la antena del fotosistema II hacia los tilacoides en contacto con el estroma y así es posible regular dinámicamente la energía luminosa entre el PS II y el PS I (Anderson, 1984).

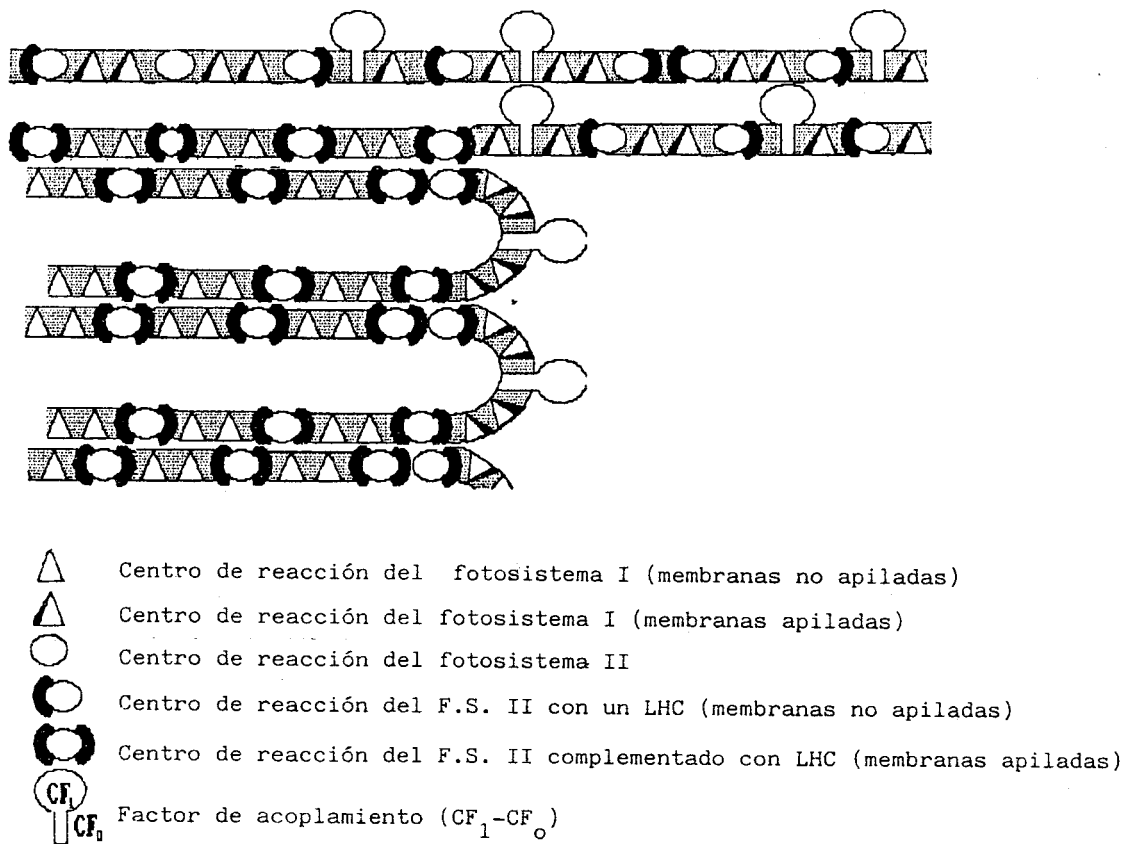


FIG. 6.—Representación esquemática del aparato fotosintético.

La Figura 6 muestra un modelo de organización, con las relaciones espaciales relativas, de cinco complejos protéicos intrínsecos embebidos en la membrana del tilacoide. El PS II y su LHC están confinados en las membranas apiladas de la partición de los grana, mientras que los complejos CF_0-CF_1 están localizados en las membranas no apiladas. La validez de este modelo se ha confirmado a través de diferentes líneas de trabajo, especialmente, mediante la fragmentación de Anderson y Anderson (1980), y a la vez por las consideraciones biofísicas basadas en la distribución de cargas eléctricas en la superficie (Barber, 1980a y b). Los estudios de fragmentación implican la escisión de los tilacoides seguido de técnicas de separación de fase (Albertsson et al., 1982).

Las partes apiladas de la membrana, que no están en contacto con el estroma no contienen PS I, ni CF_0-CF_1 , mientras que las no apiladas son especialmente ricas en estos complejos (Anderson y Haehnel, 1982).

RESUMEN

El presente artículo ofrece una visión general del cloroplasto en plantas superiores. El conocimiento acerca de la constitución y composición de estos orgánulos celulares, que contienen pigmentos fotosintéticos, ha avanzado considerablemente en los últimos años. Sin embargo, todavía existen lagunas de conocimiento en el estudio de los organismos capaces de generar oxígeno. Los autores han pretendido reunir y actualizar la información disponible referente a los orgánulos celulares que realizan la fotosíntesis.

*Estación Experimental de Aula Dei.
ZARAGOZA (C.S.I.C.).*

BIBLIOGRAFIA

- ALBERTSSON, P. A.; ANDERSSON, B.; LARSSON, C. y AKERLUND, H. E. (1982). Phase partition- a method for purification and analysis of cell organelles and membrane vesicles. *Methods of Biochemical Analyses* 28, 115-150.
- ALLINGER, N. L.; CAVA, M. P.; DE JONGH, D. C.; LEBEL, N. A. y STEVENS, C. L. (1978). Química orgánica, Vol. 2. *Reverte*, Barcelona.
- ANDERSON, J. M., WALDRON, J. C. y THORNE, S. W. (1978). Chlorophyll-protein complexes of spinach and barley thylakoids. Spectral characteristics of six complexes resolved by an improved electrophoretic procedure. *FEBS Letters*, 92, 227-233.
- ANDERSON, J. M. (1980a). Chlorophyll-protein complexes of higher plant thylakoids, distribution stoichiometry and organisation in the photosynthetic unit. *FEBS Letters*, 117, 327-331.
- ANDERSON, J. M. (1980b). P-700 content and polypeptide profile of chlorophyll-protein complexes of spinach and barley thylakoids. *Biochimica et Biophysica Acta*, 591, 113-126.
- ANDERSON, J. M. (1981). Consequences of the spatial separation of photosystem 1 and 2 in thylakoid membranes of higher plant chloroplasts. *FEBS Letters*, 124, 1-10.
- ANDERSON, J. M. (1982a). The significance of grana stacking in chlorophyll *b*-containing chloroplasts. *Photobiochemistry and Photobiophysics*, 3, 225-241.
- ANDERSON, J. M. (1982b). The role of chlorophyll-protein complexes in the function and structure of chloroplast thylakoids. *Mol. Cell Biochem*, 46, 161-172.
- ANDERSON, J. M. y ANDERSSON, B. (1982). The architecture of photosynthetic membranes: lateral and transverse organization. *Trends in Biol. Sci.* 7, 288-292.
- ANDERSON, J. M. (1984). Molecular organization of chloroplast thylakoid membranes. En: *Advances in photosynthesis research*, (C. Sybesma, ed.) Vol. III, pp 1-10, *Nihoff/Junk*, The Hage.
- ANDERSSON, B. y HAEHNEL, W. (1982). Location of photosystem II reaction centres in different thylakoid regions of stacked chloroplasts. *FEBS Letters* 146, 13-17.
- ARMOND, P. A. y ARNTZEN, C. J. (1977). Localization and characterization of photosystem II in grana and stroma lamellae. *Plant Physiology*, 59, 398-404.
- ARNON, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplast. Polyphenoloxydase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.*, 24, 1-15.
- BARBER, J.; MILLS, J. y LOVE, A. (1977). Electrical diffuse layers and their influence on photosynthesis processes. *FEBS Letters*, 74, 174-181.
- BARBER, J. y CHOW, W. S. (1979). A mechanism for controlling the stacking and unstacking of chloroplasts thylakoid membranes. *FEBS Letters*, 105, 5-10.
- BARBER, J. (1980a). An explanation for the relationship between salt-induced thylakoid stacking and the chlorophyll fluorescence changes associated with changes in spillover of energy from photosystem II to photosystem I. *FEBS Letters*, 118, 1-10.
- BARBER, J. (1980b). Membrane surface changes and potentials in relation to photosynthesis. *Biochimica et Biophysica Acta* 594, 261-295.

- BENGIS, C. y NELSON, N. (1979). Subunit structure of chloroplasts photosystem I reaction centre. *J. Biol. Chem.* 252, 4564-4569.
- BENNOUN, P. y JUPIN, H. (1974). The relationship between thylakoid staking state I and state II phenomena in whole cells and the cation effects in chloroplasts of *Chlamydomonas reinhardi*. En: Proceeding of 3rd International Congress on Photosynthesis, (ed. M. Avron) pp 163-169. *Elsevier*, Amsterdam.
- BINDRA, A. S. (1980). Iron chlorosis in horticultural and field crops. *Annu. Rev. Plant Sciences II*, 221-312.
- BLOCK, M. A.; DORNE, A. J.; JOYARD, J. and DOUCE, R. (1983). Preparation and characterization of membrane fractions enriched in outer and inner membranes from spinach chloroplasts. II. Biochemical characterization. *J. Biol. Chem.* 258, 13281-13286.
- BOARDMAN, N. K.; ANDERSON, J. M. y GOODCHILD, D. J. (1978). Chlorophyll-protein complexes and structure of mature and developing chloroplasts. En: Current topics in Bioenergetics (ed. D. R. Sanadi y L. P. Vernon) Vol 7, pp 35-109. *Academic Press*, New York.
- BRAUMANN, TH.; WEBER, G. y GRIMME, L. H. (1982). Carotenoid and chlorophyll composition of light-harvesting and reaction centre proteins of the thylakoid membrane. *Photobiochem. and Photobiophys.* 4, 1-8.
- BRITTON, G. (1976). Biosynthesis of carotenoids. En: *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*, T. W. Goodwin (Ed.), Vol 1, pp 262-327. *Academic Press*, New York.
- BROWN, I. S.; ALBERTO, R. S. and THORNER, J. P. (1975). Comparative studies on the occurrence and spectral composition of chlorophyll-protein complexes in a wide variety of plant material. *Proc. 3rd Int. Cong. Photosynthesis 1974*, pp. 1951-1962. Rehovot Israel. (N. Avron ed.), *Elsevier*, Amsterdam.
- BUSHWAY, R. J. (1986). Determination of α - and β -carotene in some raw fruits and vegetables by high-performance liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 34, 409-412.
- CASTELFRANCO, P. A. y BEALE, S. I. (1983). Chlorophyll biosynthesis: recent advances and areas of current interest. *Annual Review of Plant Physiology*, 34, 241-278.
- CHARLES, S. A. y HALLIWELL, B. (1981). The effect of hydrogen peroxide on spinach (*Spinacia oleracea*) chloroplasts fructose biphosphatase. *Biochemistry Journal*, 189, 373-376.
- COOMBS, J. y GREENWOOD, A. D. (1976). Compartmentation of the photosynthetic apparatus. En: The Intact Chloroplasts, Vol. 1. Topics in Photosynthesis (ed. J. Barber). pp 1-51. *Elsevier*, Amsterdam.
- DAVIES, B. H. (1976). Carotenoids. En: *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*, T. W. Goodwin (Ed.), Vol. 2, pp. 38-165. *Academic Press*, New York.
- DELAPELAIRE, P. y CHUA, N. H. (1981). Electrophoretic purification of chlorophyll a/b-protein complexes from *Chlamydomonas reinhardtii* and spinach and analysis of their polypeptide composition. *Journal of Biological Chemistry* 256, 482-493.
- ESKINS, K., SCHOLFIELD, R. y DUTTON, H. J. (1977). High-performance liquid chromatography of plant pigments. *Journal of Chromatography* 135, 217-220.
- ESKINS, K. y DUTTON, H. J. (1979). Sample preparation for high-performance liquid chromatography of plant pigments. *Analytical Chemistry*, 51, 1885-1886.
- ESKINS, K.; DUYSSEN, M. E. y OLSON, L. (1983). Pigment analysis of chloroplast pigment-protein complexes in wheat. *Plant Physiology*, 71, 777-779.
- FOOTE, C. S. y DENNY, R. W. (1968). Chemistry of singlet oxygen XII. Quenching by β -carotene. *J. Am. Chem. Soc.* 90, 6233-6235.
- FOOTE, C. S. (1976). Photosensitized oxidation and singlet state oxygen: consequences in biological systems. En: Free radicals and biological systems (ed. W. A. Pryor) pp 85-133. *Academic Press*, New York.
- GENGE, S.; PILGER, D. y HILLER, R. G. (1974). The relationship between chlorophyll b and pigment-protein complex II. *Biochim. Biophys. Acta* 347, 22-30.
- GOODWIN, T. W. (1958). Studies in carotenogenesis 25. *Biochemistry Journal*, 70, 612-617.
- GUIKEMA, J. A. y SHERMAN, L. A. (1983). Organization and function of chlorophyll in membranes of cyanobacteria during iron starvation. *Plant Physiology*, 73, 250-256.
- HAGER, A. y BERTENRATH, T. M. (1966). Die Isolierung und quantitative Bestimmung der Carotenoide und Chlorophylle von Blättern, Algen und isolierten Chloroplasten mit Hilfe dunnschichtchromatographischer Methoden. *Planta* 69, 198-217.

- HALLIWELL, B. (1981). Chloroplast metabolism. pp 179-205 *Clarendon Press*, Oxford.
- HILLER, R. G. y GOODCHILD, D. J. (1981). Thylakoid membrane and pigment organization. En: *Biochemistry of Plant* (ed. M. D. Hatch y N. K. Boardman) Vol. 8, pp 1-49. *Academic Press*, London.
- HOLDEN, M. (1976). Chlorophylls. En: *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*, T. W. Goodwin (Ed.), *Academic Press*, New York, Vol. 2, pp. 2-37.
- HUFFORD, T. L. (1978). Botany. Basic concepts in plant biology. *Harper & Row, Publ.* New York.
- INSKEEP, W. P. y BLOOM, P. R. (1985). Extinction coefficients of chlorophyll *a* and *b* in N, N-dimethylformamide and 80% acetone. *Plant Physiology* 77, 483-485.
- JACKSON, A. H. (1976). Structure, properties and distribution of chlorophylls. En: *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*, T. W. Goodwin (Ed.), *Academic Press*, New York, Vol. 1, pp. 1-63.
- JEFFREY, S. W.; DOUCE, R. y BENSON, A. A. (1974). Carotenoid transformations in the chloroplast envelope. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 71, 807-810.
- JOYARD, J.; BILLECOCQ, A.; BARTLETT, S. G.; BLOCK, M. A.; CHUA, N-H. y DOUCE, R. (1983). Localization of polypeptides to the cytosolic side outer envelope membrane of spinach chloroplasts. *J. Biol. Chem.* 258, 10000-10006.
- KRINSKY, N. I. (1966). The role of carotenoid pigments as protective agents against photosensitized oxidations in chloroplasts. En: *Biochemistry of Chloroplasts*, (ed. T. W. Goodwin) Vol. 1, pp. 423-430. *Academic Press*, New York.
- KRINSKY, N. I. (1968). The protective functions of carotenoid pigments. En: *Photophysiology*, (ed. A. C. Giese) Vol. 3, pp. 423-430. *Academic Press*, New York.
- KRINSKY, N. I. (1971). Function. En: *Carotenoids*, (ed. O. Isler), pp. 669-716. *Birkhäuser Verlag*, Basle.
- KRINSKY, N. I. (1978). Non-photosynthetic functions of carotenoids. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 284, 581-590.
- KRINSKY, N. I. (1979). Carotenoid protection against oxidation. *Pure & Appl. Chem.* 51, 649-660.
- KYLE, D. J.; STAEHELING, A. L. y ARNTEZEN, C. J. (1983). Lateral mobility of the light harvesting complex in chloroplast membranes controls excitation energy, distribution in higher plants. *Archives of Biochemistry & Biophysics*, 222, 527-541.
- LICHTENTHALER, H. K.; PRENZEL, U.; DOUCE, R. y JOYARD, J. (1981). Localization of prenylquinones in the envelope of spinach chloroplasts. *Biochimica et Biophysica Acta* 641, 99-105.
- LICHTENTHALER, H. K.; PRENZEL, U. y KHUN, G. (1982). Carotenoid composition in the chlorophyll-carotenoid-proteins from Radish chloroplasts. *Z. Naturforsch.*
- LICHTENTHALER, H. K., PRENZEL, U. y KHUN, G. (1982) Carotenoid composition in the chlorophyll-carotenoid-proteins from Radish chloroplasts. *Z. Naturforsch.* 37, 10-12.
- LICHTENTHALER, H. K. y WELLBURN, A. R. (1983). Determinations of total carotenoids. En: Abstracts of 6th International Congress on Photosynthesis, pp. 415, Brussels.
- MARSCHNER, H. (1983). General introduction to the mineral plant nutrition. En: *Inorganic Plant Nutrition*. Vol. I, pp. 5-60. (A. Läuchli y R. L. Bielski), *Springer-Verlag*, Berlín.
- MENGEL, K. y KIRBY, E. A. (1983). Principles of plant nutrition, 3th Ed. *International Potash Institute*, Worblaufen-Bern/Switzerland.
- MULLET, J. E. y ARTZEN, C. J. (1981). Identification of a 32-34 kilodaltons polypeptide as a herbicide receptor protein in photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta* 635, 236-248.
- MULLET, J. E., BURKE, J. J. y ARNTZEN, C. J. (1980). Chlorophyll proteins of photosystem I. *Plant Physiology*, 65, 814-822.
- OGAWA, T., OBATA, F. y SHIBATA, K. (1966). Two pigment-proteins in spinach chloroplasts. *Biochimica et Biophysica Acta*, 112, 223-234.
- OJAKIAN, G. K. y SATIR, P. (1974). Particle movements in chloroplast membranes. Quantitative measurements of membrane fluidity by freeze-fracture technique. *Proceedings of National Academy of Sciences, U.S.A.*, 21, 2052-2052.

- PELLETIER, P. J. y CAVENTOU, J. B. (1818). (Citado por Jackson, A. H.). *Ann. Chim. et Phys.* 9, 194.
- PORTER, J. W. y ANDERSON, D. G. (1967). Biosynthesis of carotenes. *Annual Review of Plant Physiology*. 197-228.
- PRENZEL, U. y LICHTENTHALER, H. K. (1982). Localization of β -carotene in chlorophyll *a*-proteins and changes in its levels during shorttime light exposure of plants. En: *Biochemistry and metabolism of plant lipids*. (J.F.g.M. Wintermans y P.J.C. Kuiper, ed.). *Elsevier Biomedical Press B. V.* London.
- PUNNET, T. (1970). Environmental control of photosynthetic efficiency. *Science*. 171, 284-286.
- RABINOWITCH, E. y GOVINDJEE, T. (1971). La función de la clorofila en la fotosíntesis. En: *Selecciones del Scientific American, Ed. Blume*. Madrid.
- RAO, M., ABADIA, J. y TERRY, N. (1987). Leaf phosphate status and photosynthesis *in vivo*: changes in light scattering and chlorophyll fluorescence during photosynthetic induction in sugar beet leaves. *Plant Science* (en prensa).
- SALISBURY, F. B. y ROSS, C. W. (1978). Photosynthesis. En: *Plant Physiology*. (J.C. Carey, ed.). *Wersworth Publishing Co.* Belmont.
- SATOH, K. (1981). Further characterization of the photosystem II chlorophyll *a* protein complex purified from digitonin extracts of spinach chloroplasts-polypeptide composition. En: *Proceedings of 5th International Photosynthesis Congress*. (G. Akoyonoglou, ed.). Vol. 3, pp. 607-616. *Balaban International Scientific Service*, Philadelphia.
- SIEFERMANN-HARMS, D. (1985). Carotenoids in photosynthesis. I. Location in photosynthetic membranes and light-harvesting function. *Biochimica et Biophysica Acta*. 811, 325-355.
- SKRDLA, M. P. y THORNBER, J. P. (1982). The involvement of chlorophyll *b* in excitation of long wavelength fluorescence from a PS I fraction. *Plant Physiology*, 69, Suppl. 71 (abstract 399).
- SORBY, H. C. (1873). (Citado por Jackson, A. H.). *Proc. R. Soc.* 21, 442.
- STAEHELIN, L. A. (1976). Reversible particle movements associated with unstaking and restaking of chloroplast membranes *in vitro*. *Journal of Cell Biology*, 71, 136-158.
- STAEHELIN, L. A., ARMOND, P. A. y MILLER, K. R. (1977). Chloroplast membrane organization at the supramolecular level and its functional implications. *Brookhaven Symposium on Biology*. 28, 278-315.
- STOKES, G. G. (1864). (Citado por Jackson, A. H.). *Proc. R. Soc.* 13, 144.
- STRAIN, H. H. (1949). Photosynthesis in plants. (J. Frank y W. E. Leemis, ed.), *Iowa State College Press*, Ames.
- THORNBER, J. P. (1975). Chlorophyll-proteins light-harvesting and reaction centre components of plants. *Annual Review of Plant Physiology*. 26, 127-158.
- THORNBER, J. P., MARKWELL, J. P. y REINMAN, S. (1979). Plant chlorophyll protein complexes: recent advances. *Photobiochem. and Photobiophys.* 29, 1205-1216.
- THORNBER, J. P. y BARBER, J. (1979). Photosynthetic pigments and models for their organization *in vivo*. En: *Photosynthesis in relation to model systems*. Vol. 3, Topics in Photosynthesis (J. Barber ed.), pp. 27-70. *Elsevier*, Amsterdam.
- TSWETT, M. (1906). (Citado por Jackson, A. H.). *Ber. dt. bot. Ges.* 24, 384.
- VAL, J., HERAS, L. y MONGE, E. (1985). Nuevas ecuaciones para la determinación de pigmentos fotosintéticos en acetona. *Anales de Aula Dei*. (3-4), 231-238.
- WANG, A. Y. I. y PACKEN, L. (1973). Mobility of membrane particles in chloroplasts. *Biochimica et Biophysica Acta*. 305, 488-492.
- WEEDON, B. C. L. (1971). En: *Carotenoids* (ed. O. Isler) pp. 29-59. *Birkhäuser*. Basel.
- WILD, A. y URSCHEL, B. (1980). Chlorophyll-protein complexes of *Chlorella fuca*. *Z. Naturforsch.* 35, 627-637.
- WOLLMAN, F. A. y BENNOUN, P. (1982). A new chlorophyll protein complex related to photosystem I in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Biochimica et Biophysica Acta*. 680, 352-360.

Recibido: 30-XII-87.

Aceptado: 25-II-88.