

Experimento de fluorescencia en plantas

Fluorescence experiment on plants

Otilia Val Castillo^{1,*}, Paula Sanchis Boluda², Rubén Nieto Val³ y María Badenes Tomás⁴

¹ IES Lluís Simarro Lacabra, Departamento de Física y Química, Xàtiva, Valencia.

² Facultad de Medicina, Universidad de Valencia.

³ Escuela Técnica Superior de Ingeniería Informática, Universidad Politécnica de Valencia.

⁴ Facultat de Ciències de la Actividad Física y Deporte. Universidad de Valencia.

PALABRAS CLAVE:

Método científico
Fotoluminiscencia
Fluorescencia
Fluoresceína
Rodamina B

RESUMEN:

En un artículo anterior de esta misma publicación se comentan los avances conseguidos en la producción de plantas bioluminiscentes mediante técnicas de ingeniería genética. El objetivo del estudio preliminar sobre la bioluminiscencia pretendía que un grupo de alumnos voluntarios examinara el fenómeno, recopilara información, formulara hipótesis y las comprobara en el laboratorio. Posteriormente debían extraer conclusiones siguiendo el método científico. Dado que la ingeniería genética requiere de numerosos conocimientos y recursos experimentales y económicos, se llevó a cabo un experimento más sencillo y accesible: ¿se volverán fluorescentes las plantas si se riegan con disoluciones fluorescentes? El proceso se plasmó en un informe y un vídeo que se presentó en un concurso denominado SAPIENCIA. Este artículo describe una parte del proyecto.

KEYWORDS:

Scientific Method
Photoluminescence
Fluorescence
Fluorescein
Rhodamine B

ABSTRACT:

A previous article in this publication discussed the progress made in producing bioluminescent plants using genetic engineering techniques. The preliminary study on bioluminescence aimed to enable a group of volunteer students to examine the phenomenon, collect information, formulate hypotheses and test them in the laboratory. They were then to draw conclusions using the scientific method. However, since genetic engineering requires considerable experimental and financial knowledge and resources, a simpler, more accessible experiment was conducted: would plants fluoresce if watered with fluorescent solutions? This process was documented in a report and video submitted to the SAPIENCIA competition. This article describes part of the project.

Introducción

La emisión de luz, también denominada luminiscencia, está vinculada a dos procesos distintos: la fotoluminiscencia y la quimioluminiscencia.^[1,2] La fotoluminiscencia es un fenómeno físico en el que un material absorbe energía en forma de fotones (luz) y posteriormente emite radiación de la misma longitud de onda o de una longitud de onda mayor.^[3] Puede ser provocada por la excitación de electrones en un material al ser expuesto a radiación luminosa. Hay dos tipos principales de fotoluminiscencia:

- Fluorescencia: la luz reemitida cesa casi instantáneamente (en nanosegundos) tras la excitación.
- Fosforescencia: en este caso la luz reemitida dura más tiempo (microsegundos a horas) debido a una transición de estado metaestable.

A diferencia de la quimioluminiscencia, en la fotoluminiscencia para poder observar el fenómeno es necesario iluminar con luz.^[1]

En este trabajo se pretendía conocer estos fenómenos.

Fluorescencia

La fluorescencia fue descrita por George Gabriel Stokes en 1852, que observó que la fluorita empieza a brillar después de

ser iluminada con luz ultravioleta. Este comportamiento caracteriza a las sustancias que son capaces de absorber energía en forma de radiaciones electromagnéticas y luego emitir parte de esa energía en forma de radiación electromagnética de longitud de onda diferente.

Los materiales fluorescentes contienen estructuras con configuraciones moleculares particulares conocidas como fluorocromos. Se trata de moléculas capaces de absorber y emitir fotones de menor energía, es decir, con mayor longitud de onda. La parte del fluorocromo responsable de la fluorescencia es el fluoróforo.^[4]

La clorofila, el pigmento verde presente en plantas y algas que capta la luz del sol, emite una luz roja tenue durante la fotosíntesis. Esta fluorescencia clorofílica no se ve en condiciones normales debido al reflejo de otros colores de la luz incidente, especialmente el verde, pero transmite información sobre la tasa instantánea de fotosíntesis, lo que permite comprobar el estado de salud de la planta.^[5]

Científicos de la NASA han elaborado innovadores mapas de la Tierra en los que se refleja la fluorescencia que emiten las plantas terrestres durante la fotosíntesis, a partir de información obtenida por satélite. Esta información podrá ayudar a los agricultores a responder a tiempo a situaciones climáticas

extremas o a detectar hambrunas inminentes con antelación. Anteriormente, la salud de la vegetación terrestre se basaba en indicadores de «verdor» de la luz reflejada por las plantas.^[6]

Fosforescencia

La fosforescencia es el fenómeno por el cual ciertas sustancias absorben energía y la almacenan para posteriormente emitirla en forma de radiación.

Esto se debe a que, cuando ciertas sustancias se irradian, la energía absorbida excita los electrones de las capas externas de los átomos que componen la estructura molecular, haciendo que pasen a orbitales de mayor energía. Pero esta situación no es estable, y los electrones excitados regresan a los orbitales de menor energía liberando parte de la energía absorbida en forma de luz visible o infrarroja; de ahí, que podamos verlos brillar.

La diferencia entre ambos fenómenos radica en la manera de almacenar energía. La fluorescencia absorbe la energía de la luz ultravioleta e, inmediatamente, emite la radiación luminosa. La fosforescencia almacena la energía y la emite poco a poco durante minutos u horas, aunque la fuente de radiación excitadora inicial haya sido apagada.

Objetivo

Se quiere investigar si el apio, una planta vascular con elevada capacidad de absorción, de color claro y disponible en fruterías, puede captar sustancias fluorescentes y, por lo tanto, manifestar un comportamiento fluorescente. (Sería más interesante, sembrar y cultivar el apio regándolo con disoluciones fluorescentes desde el principio, pero debido a la duración del proceso, se emplearon ramas de apio directamente).

Experimentación

Materiales

- Ramas de apio.
- Fluoresceína sódica y rodamina B (Figuras 1 y 2).
- Material de laboratorio para preparar las disoluciones fluorescentes con concentraciones del 0,5%, 0,05% y 0,005% en masa: balanza, probetas, vasos de precipitados, varillas, frascos.
- Linternas de luz ultravioleta (Figura 3).
- Vasos para introducir las plantas.

El apio (*Apium graveolens*) pertenece a la familia de Apiaceae (apiáceas) y es una planta con propiedades medicinales.^[7] Se ha usado como diurético, para calmar la inflamación y ayudar en problemas digestivos. Tiene un tallo hueco, flores blancas y frutos con forma de riñón, estriados, oscuros y aromáticos.

La fluoresceína sódica (Figura 1) es una de las sustancias que tienen la propiedad de ser fluorescentes dentro de los productos químicos. La emisión en la fluoresceína sódica es máxima en torno a un pH 8 y con una longitud de onda cercana a los 550 nm.

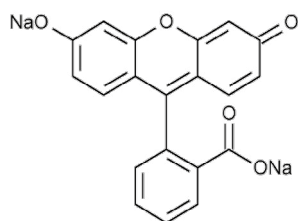


Figura 1. Fluoresceína sódica.

La rodamina B (Figura 2) es uno de los colorantes más importantes de la familia de los xantenos. Son sales, por lo que son polares y solubles en agua, y se caracterizan por tener elevados rendimientos cuánticos de fluorescencia.^[8]

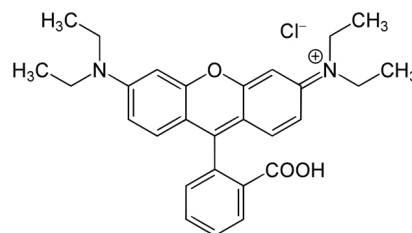


Figura 2. Rodamina B.



Figura 3. Linternas de luz ultravioleta.

Estudio del apio con la rodamina B

En un primer estudio se introdujeron las ramas de apio en las tres disoluciones de rodamina B (Figura 4a). Dos días después, se puede observar en la Figura 4b que cada rama de apio ha absorbido parte de la disolución en distinta medida, de manera que hay una mayor presencia de la rodamina B en las hojas superiores de los tallos de apio introducidos en las dos disoluciones más concentradas. En cambio, en las hojas de apio de la disolución más diluida, el efecto de la rodamina es mucho menor.

Cinco días después de introducirlos en las disoluciones (Figura 4c) se pueden destacar varios aspectos:

- La disolución se absorbió muy rápidamente.
- La rama de apio introducida en la disolución más concentrada (0,5%), es la que mayor fluorescencia presenta, pero también la que más se ha deteriorado, seguida de la rama introducida en la concentración 0,05% mientras que la rama de la disolución más diluida (0,005%), es la que presenta menos fluorescencia y la que menos se ha deteriorado por el fenómeno osmótico.

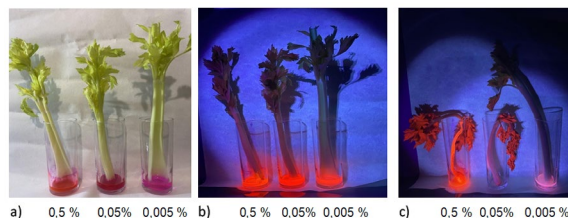


Figura 4 a, b y c. Hojas de apio introducidas en disoluciones de rodamina B al 0,5%, 0,05% y 0,005% en masa respectivamente. En el momento inicial, a los dos y a los cinco días respectivamente.

De estas observaciones se pudo concluir que las ramas de apio absorben la disolución fluorescente y emiten fluorescencia. La fluorescencia, absorción y deterioro fueron directamente proporcionales a la concentración de la disolución.

Puesto que el proceso de absorción resultó ser rápido, se repitió el experimento realizando un seguimiento en intervalos de tiempo más pequeños y tomando más fotos, como se muestra en las Figuras 5 y 6.

Como en el primer estudio, la fluorescencia apareció rápidamente siendo apreciable a las 6 horas en el apio introducido en las disoluciones de rodamina B del 0,5% y del 0,05%, y después de 36 horas para el tallo introducido en la disolución más diluida. Una vez más, se observó que la fluorescencia, la absorción y el deterioro eran directamente proporcionales a la concentración, lo que confirmaba el experimento inicial. Al no observarse más cambios significativos, se finalizó el experimento tras 48 horas. A continuación, se sacaron las ramas de apio

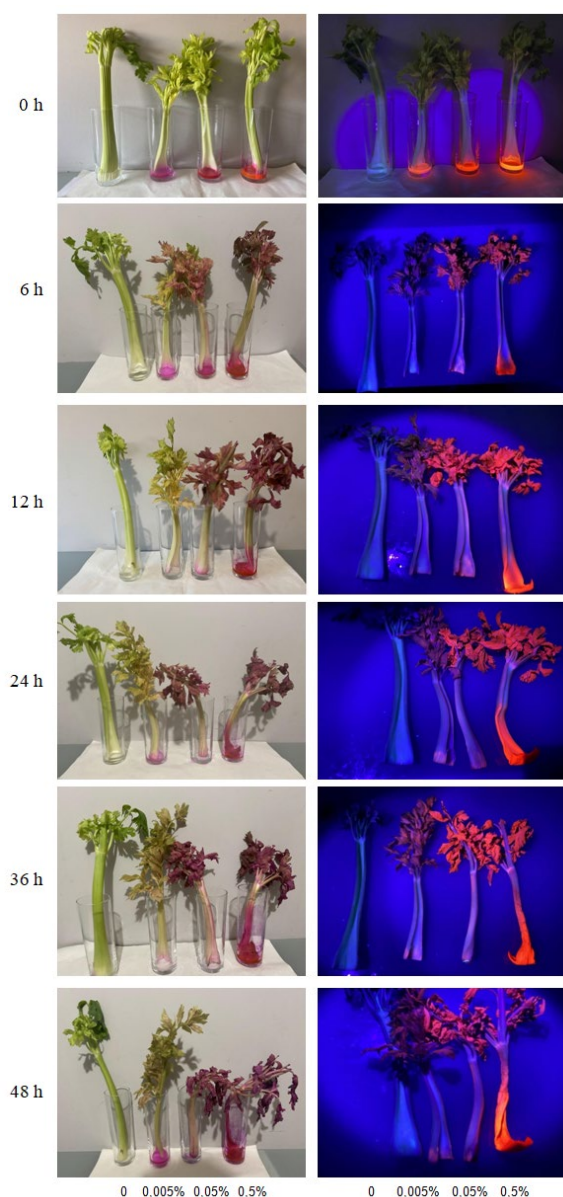


Figura 5. Fotografías de las ramas de apio, introducidas en agua y en las disoluciones 0,005%, 0,05% y 0,5% en masa de rodamina B durante distintos tiempos, sin iluminar e iluminadas con luz ultravioleta respectivamente.



Figura 6. Fotografías detalladas de las hojas de apio, iluminadas con luz ultravioleta, introducidas durante distintos tiempos en agua y en las disoluciones 0,005%, 0,05% y 0,5% en masa de rodamina B respectivamente.

de las disoluciones, se limpiaron los tallos y se realizó un corte transversal de cada rama.

En la Figura 7 se aprecian claramente los vasos conductores por los cuales han ascendido las disoluciones de rodamina B hasta las hojas mediante capilaridad.

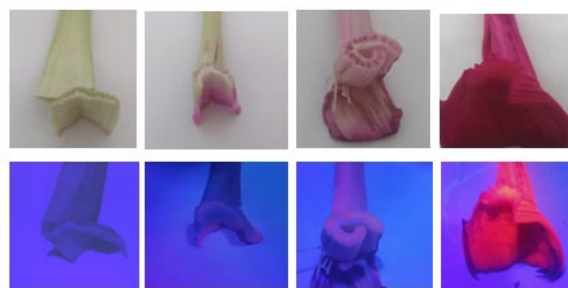


Figura 7. Fotografías del corte transversal del tallo de cada rama de apio utilizada. Arriba sin iluminar, abajo iluminadas con luz ultravioleta, tras extraerlas de sus recipientes, a las 48 horas de introducirlas en agua y disoluciones de rodamina B de concentraciones 0,005%, 0,05% y 0,5% en masa respectivamente.

Estudio del apio con la fluoresceína sódica

Se realizó este experimento también con disoluciones de fluoresceína sódica de concentraciones del 0,5%, 0,05% y 0,005% en masa. En este caso las primeras fotografías se tomaron cada tres horas (Figura 8).

En la Figura 9 se muestra con más detalle el aspecto de las hojas de apio a las 24 horas de estar sumergidas en las disoluciones de fluoresceína sódica.

Análisis de los resultados

La disolución de la fluoresceína sódica se absorbe rápidamente. Para paliar el estrés hídrico del apio, es decir, la falta de agua, debería haberse introducido previamente en agua. Como se observa en las fotografías, la disolución fluorescente asciende por el sistema vascular de la planta.

Las ramas de apio introducidas en disoluciones 0,05% y 0,5% en masa de fluoresceína presentan fluorescencia en los tallos tras tres horas.

Tras nueve horas, la fluorescencia en esos tallos no cambia, pero la planta se deteriora. El tallo introducido en la disolución 0,005% en masa presenta poca fluorescencia.

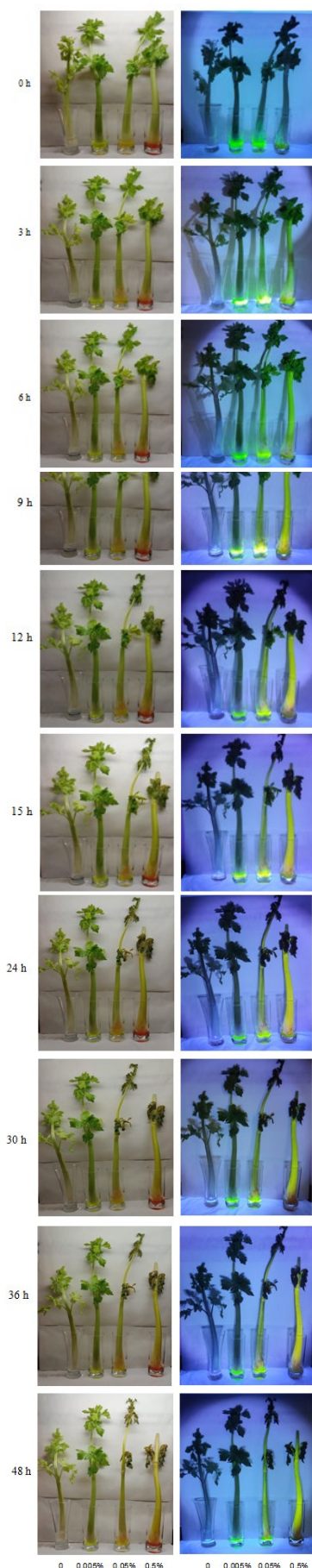


Figura 8. Fotografías de los tallos y las hojas de apio tomadas entre las 0 y hasta las 48 horas después de introducirlas en disoluciones de agua y fluoresceína sódica de concentraciones 0,005%, 0,05% y 0,5% en masa, iluminadas con luz normal y ultravioleta, respectivamente.



Figura 9. Detalle de las hojas de apio tomadas a las 24 horas de introducirlas en las disoluciones de agua y fluoresceína sódica de concentraciones 0,005%, 0,05% y 0,5% en masa, iluminadas con luz normal y ultravioleta respectivamente.

A diferencia del fuerte efecto fluorescente observado en las hojas con la disolución de rodamina B, el de la fluoresceína sódica es poco apreciable.

Tras 48 horas sin observarse cambios significativos, también se procede al corte transversal de los tallos. El efecto fluorescente también se aprecia en el sistema vascular de las hojas (Figura 10).



Figura 10. Fotografía de los cortes transversales de los tallos de cada rama de apio utilizada. Arriba sin iluminar, abajo iluminadas con luz ultravioleta, después de extraerlas de sus recipientes a las 48 horas de haber sido introducidas en agua y disoluciones de fluoresceína sódica de concentraciones 0,005%, 0,05% y 0,5% en masa respectivamente.

Conclusiones

El estudio de la bioluminiscencia llevó a los científicos a proponer modificaciones genéticas en plantas para usarlas como fuentes de luz.^[1] Aunque no consiguieron que generaran la luminosidad adecuada, el conocimiento de las proteínas responsables de la bioluminiscencia,^[9-12] permitió en el año 2007 el desarrollo de la tecnología Brainbow, que hace posible observar células vivas al microscopio gracias a dichas proteínas.^[13]

La realización de este proyecto ha permitido investigar y aprender un concepto que abre un interesante camino en todas las ramas de la biotecnología: la luminiscencia. El experimento se ha centrado en la fluorescencia, un tipo de fotoluminiscencia, ya que los compuestos utilizados (rodamina B y fluoresceína sódica) son fluorescentes.

En este estudio, se ha observado que los tallos de apio pueden absorber sustancias fluorescentes, como la rodamina B y la fluoresceína sódica, y presentar fluorescencia. Esta es directamente proporcional a la concentración de la disolución y se puede observar al irradiar las plantas con luz ultravioleta, pero también provoca un mayor deterioro debido al fenómeno osmótico.

Continuando con la aplicación del método científico, se pueden plantear nuevas preguntas: ¿se obtendrían plantas fluorescentes si se plantaran semillas de apio y se regasen con disoluciones de rodamina B y fluoresceína sódica? ¿Podría el estudio de la absorción de sustancias fluorescentes ser utilizado para la determinación de la procedencia del agua en plantas con sospecha de contaminación? ¿Es posible emplear la absorción de sustancias fluorescentes en plantas con fines decorativos?

No se ha podido realizar la investigación porque no se han encontrado semillas de apio y porque el trasplante debe realizarse entre uno y dos meses después, necesitándose tierra en abundancia. El ciclo en verano puede ser de 60-75 días, pero en invierno se puede alargar.

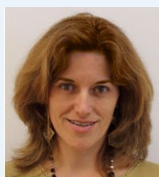
Por ello, aunque finalmente no se comprobó si se podrían obtener plantas fluorescentes regando las semillas de apio con sustancias fluorescentes, este proyecto demostró la capacidad que tienen las plantas vasculares de absorber y producir una luminiscencia considerable, y permitió que las alumnas que lo realizaron utilizaran el método científico en una investigación, llevando a cabo todos los pasos: recogida de información, formulación de hipótesis, realización del experimento, elaboración de un informe, planteamiento de nuevas preguntas, incluyendo la exposición de los resultados ante un auditorio.

Reconocimientos

Este artículo forma parte del proyecto realizado por las alumnas Paula Sanchis Boluda y María Badenes Tomás, que cursaban 4º de ESO. El vídeo fue realizado por el alumno Rubén Nieto Val que cursaba 1º de bachillerato.^[14] Con el trabajo titulado ¿Pueden las plantas generar luminiscencia? consiguieron el segundo premio en la categoría de Física, Química y Matemáticas en los Premios Sapiencia 2022,^[15] que tiene por objetivo despertar vocaciones científicas entre los jóvenes estudiantes de la Comunitat Valenciana a través de la convocatoria de premios a proyectos de investigación llevados a cabo por estudiantes.^[16]

Bibliografía

- [1] O. Val Castillo, *An. Quím. RSEQ* **2024**, 120, 199-205, <https://doi.org/10.62534/rseq.aq.2009>.
- [2] A. Martín, S. Serrano, A. Santos, D. Marquina, C. Vázquez, *Reduca* **2010**, 3(5), 75-86.
- [3] D. A. Skoog, D.M. West, *Análisis instrumental*, Nueva Editorial Interamericana, México, **1987**.
- [4] O. Val Castillo, Tesis doctoral, Universidad de Murcia, **1993**.
- [5] A. Porcar-Castell, Z. Malenovsky, T. Magney, S. Van Wittenberghe, B. Fernández-Marín, F. Maignan, Y. Zhang, K. Masseyk, J. Atherton, L. P. Albert, T. Matthew Robson, F. Zhao, J. I. García-Plazaola, I. Ensminger, P. A. Rajewicz, S. Grebe, M. Tikkanen, J. R. Kellner, J. A. Ihalainen, U. Rascher, B. Logan, *Nat. Plants* **2021**, 7, 998-1009, <https://doi.org/10.1038/s41477-021-00980-4>.
- [6] Tendencias21, "La NASA cartografía la fluorescencia de la vegetación terrestre", disponible en https://www.tendencias21.es/La-NASA-cartografia-la-fluorescencia-de-la-vegetacion-terrestre_a6730.html, **2011** (consultado el 19-09-2022).
- [7] P. L. Tavico López, Trabajo de Graduación, Universidad de San Carlos de Guatemala, **2014**.
- [8] M. M. Pintado Sierra, Tesis doctoral, Universidad Complutense de Madrid, **2009**.
- [9] A. García, "Bioluminiscencia: hágase la luz (en la naturaleza)", disponible en <https://ethic.es/2024/06/bioluminiscencia-hagase-la-luz-en-la-naturaleza/>, **2024** (consultado: 09/10/2024).
- [10] T. Wilson, J.W. Hastings, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **1998**, 14(1), 197-230, <https://doi.org/10.1146/annurev.cell-bio.14.1.197>.
- [11] A. Garritz, *Educ. Quím.* **2009**, 20(1), 75-76, [https://doi.org/10.1016/S0187-893X\(18\)30010-7](https://doi.org/10.1016/S0187-893X(18)30010-7).
- [12] J. C. Ferrer, *An. Quím.* **2008**, 104(4), 276-279.
- [13] M. Brouillette, Knowable en español, 1 sep. **2022**, <https://doi.org/10.1146/knowable-082322-4>.
- [14] Premis Sapiència, "¿Pueden las plantas generar luminiscencia?", disponible en https://www.youtube.com/watch?v=Lq8N5_04RcM, **2022** (consultado: 25/04/2025).
- [15] Sapiència, "Premiados 2022", disponible en <https://sapienciapremis.es/es/premiados-2022/>, **2022** (Consultado: 25/04/2025).
- [16] "Premios Sapiència," disponible en <https://sapienciapremis.es/es/>, **2025** (consultado: 25/04/2025).



Otilia Val-Castillo

*Departamento de Física y Química,
IES Lluís Simarro, Xàtiva, Valencia*

C-e: o.valcastillo@edu.gva.es
ORCID: 0000-0003-0335-3162

Licenciada en Ciencias Químicas por la Universidad de Murcia en 1990 y doctorada cum laude en 1993 por la misma universidad. Funcionaria desde 1995. Catedrática y jefa del departamento de Física y Química en el IES Lluís Simarro de Xàtiva. En 2021 le fue concedido el Premio Tarea Educativa y Divulgativa a Profesores de Enseñanza Secundaria, otorgado por la RSEQ-STVAL. Ha publicado artículos, impartido conferencias y participado en congresos y mesas redondas sobre las dificultades de las mujeres dedicadas a las ciencias, así como sobre la química y su didáctica.



Paula Sanchis Boluda

Facultad de Medicina, Universidad de Valencia

C-e: sanchisboludapaula@gmail.com

Cursó la Educación Secundaria Obligatoria y el Bachillerato en el IES Lluís Simarro de Xàtiva, donde obtuvo Matrícula de Honor al finalizar sus estudios. Actualmente estudia el Grado en Medicina en la Universidad de Valencia. Paralelamente a su formación académica, ha desarrollado una sólida trayectoria musical, culminando con la obtención del Grado Profesional de Música en el Conservatorio Luis Milán de Xàtiva. Esta doble formación refleja su compromiso con el esfuerzo, la disciplina y la excelencia tanto en el ámbito científico como artístico, y constituye una base sólida para su desarrollo profesional y personal.



Rubén Nieto Val

*Escuela Técnica Superior de Ingeniería
Informática, Universidad Politécnica de Valencia
Presidente de Competitive Programming UPV*

C-e: rnieto@upv.es
ORCID: 0009-0004-6885-5176

Estudiante de Grado en Ingeniería Informática. Involucrado en la dirección de diversas asociaciones informáticas y emprendimiento de la Escuela. Participante en varias iniciativas de la Universidad como alumno tutor, mentor de proyectos, consejo de departamento. Clasificado varios años en múltiples competiciones de programación nacionales e internacionales (*Hackathon Mercadona IT, SWERC, XIII Ed. IDEASUPV Challenge 2023, Copa Cod;Go!, AdaByron, CryptoHack, Las 12Uvas, HP Codewars Barcelona y Olimpiadas Informáticas*) así como en los concursos de matemáticas (*UKMT Mathematical Challenge: Año 2020: Senior Challenge: BRONZE Certificate y en 2016: Junior Challenge: SILVER Certificate*) y los de ciencias SAPIENCIA y REACCIONA.



María Badenes Tomás

*Facultad de Ciencias de la Actividad Física y
Deporte, Universidad de Valencia*

C-e: badenesmaria@gmail.com

Cursó Educación Secundaria Obligatoria y se graduó con matrícula de honor en el IES Lluís Simarro de Xàtiva, donde también completó el bachillerato. Actualmente, estudia el Grado en Ciencias de la Actividad Física y del Deporte en la Facultad de Ciencias del Deporte de la Universidad de Valencia. Desde temprana edad practica gimnasia rítmica, disciplina en la que ha competido a nivel provincial y autonómico, logrando muy buenos resultados. Tiene el título de entrenadora de gimnasia rítmica desde los dieciséis años. Compagina su formación académica con una exigente dedicación deportiva.



**XLI
Bienal RSEQ**
Murcia, 14-18 junio 2027