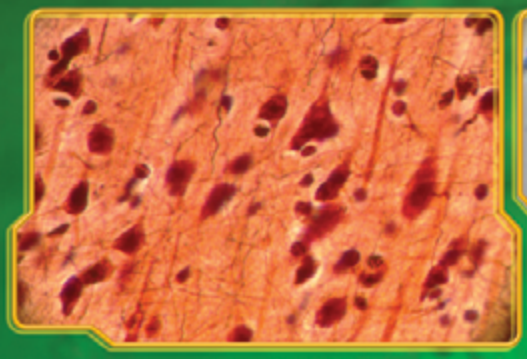
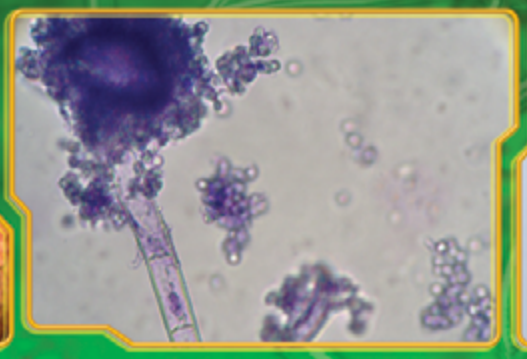
ediciones USTA





# Manual de Prácticas de Biología

ASTRID LEONOR SERRANO DUARTE

Universidad Santo Tomas
PRIMER CLAUSTRO UNIVERSITARIO DE COLOMBIA
BUCARAMANGA

Biología

# MANUAL DE PRÁCTICAS DE BIOLOGÍA

**ASTRID LEONOR SERRANO DUARTE**
**MICROBIÓLOGA - UNIVERSIDAD DE LOS ANDES**

**DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA SALUD**

UNIVERSIDAD SANTO TOMAS
PRIMER CLAUSTRO UNIVERSITARIO DE COLOMBIA
BUCARAMANGA

Manual de Prácticas de Biología
ISBN:978-958-98303-0-7
Tercera edición
©Astrid Leonor Serrano Duarte

Editor
©Universidad Santo Tomás, Seccional Bucaramanga
Carrera 18 # 9 - 27

Rector
Fray Samuel E. FORERO BUITRAGO, op.

Vicerrector Académico
Fray Mauricio CORTÉS GALLEGO, op.

Vicerrector Administrativo Financiero
Fray Rubén Darío LÓPEZ GARCÍA, op.

Secretario General
Jorge Luis Gómez Suárez

Queda totalmente prohibida la reproducción total
o parcial de esta obra sin la autorización del Editor.
Reservados todos los derechos.

Diseño y Producción Gráfica
Departamento de Publicaciones
C.P. Freddy Luis Guerrero Patarroyo
Director

Fotografía
William Edicson Avellaneda Manchego
Astrid Leonor Serrano Duarte

Infografía
Pub. Luis Alberto Barbosa Jaime

Diseño y diagramación
Pub. Luis Alberto Barbosa Jaime

Revisión de contenidos
Claudia Patricia Gómez Guerrero
Optómetra
Raúl Eduardo Blanco Guarín
Médico

Reimpresión tercera edición junio de 2016

Impresión
Distrigraf
Calle 41 # 18-77 Bucaramanga, Colombia

# TABLA DE CONTENIDO


1. INTRODUCCIÓN ..... 5
2. PAUTAS DE TRABAJO ..... 7
3. PRESENTACIÓN DE INFORMES ..... 9
4. MICROSCOPÍA ..... 11
5. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LAS CÉLULAS ..... 21
6. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA ..... 35
7. ESTRUCTURA Y DIVERSIDAD CELULAR ..... 45
8. MECANISMOS DE TRANSPORTE CELULAR “DIFUSIÓN Y ÓSMOSIS” ..... 57
9. HISTOLOGÍA ..... 67
10. DIVISIÓN CELULAR “MITOSIS” ..... 79
11. EXTRACCIÓN DE ADN A PARTIR DE TEJIDOS ANIMALES ..... 87
12. DETERMINACIÓN DE GRUPOS SANGUÍNEOS A, B, 0 Y FACTOR Rh ..... 93
13. CARIOTIPOS HUMANOS ..... 103
14. ÓRGANOS DE LOS SENTIDOS “LA VISTA” ..... 111
15. BIBLIOGRAFÍA ..... 119

# INTRODUCCIÓN

Una de las mejores formas de acceder, construir y de reforzar el conocimiento es a través de la práctica. Consciente de la necesidad de orientar al estudiante en su proceso de aprendizaje, mediante el diseño de herramientas que faciliten el desempeño, se ha estructurado este **MANUAL DE PRÁCTICAS DE BIOLOGÍA**, que tiene por objeto brindar apoyo a las cátedras de Ciencias de la Salud: Biología Celular y Molecular (Optometría y Odontología) y Biología Aplicada (Cultura Física Deporte y Recreación). Para ello me he ocupado de la compilación de prácticas tradicionales que sirven para que el estudiante tenga oportunidad de evidenciar el logro de competencias propias de la asignatura.

Es así como a través de procedimientos sencillos se busca dar apoyo a los contenidos teóricos del curso, distribuidos en tres grandes tópicos: Biocompuestos, Estructura y función celular y Genética. De esta manera nos aproximamos a experimentar otra forma dinámica de aprendizaje donde el estudiante al seguir las pautas dadas por el manual, tiene oportunidad de interactuar con el docente y con sus compañeros, complementa sus presaberes y se acerca de manera eficaz al conocimiento.

# PAUTAS DE TRABAJO

## ORGANIZACIÓN DE LA PRÁCTICA

- Llegue puntualmente, las prácticas están programadas para utilizar todo el tiempo previsto. Evite perder el tiempo o distraerse en el trabajo.
- Lea cuidadosamente la guía correspondiente a la práctica, con suficiente anticipación para que prepare el material necesario y no se presente sin conocer su contenido.
- Tenga en cuenta las instrucciones que se le dan al comienzo de cada práctica, en las evaluaciones se le podría preguntar cualquier información al respecto.
- Si tiene dudas acerca del procedimiento pregunte al profesor antes de experimentar. La correcta ejecución de los procedimientos y su interés son factores que contribuyen al éxito de las prácticas.
- Utilice los reactivos en las cantidades y concentraciones indicadas, no desperdicie material.
- Tome nota de sus resultados, provéase de una libreta para tal fin. Son necesarios para su reporte y para el análisis de los mismos.
- En sus prácticas utilice siempre el análisis y no crea siempre en los resultados de sus compañeros, pues la experiencia de ellos en este campo apenas se inicia. Confíe en sus propias observaciones. No obstante discuta con ellos los resultados para enriquecer el análisis.
- No está permitido retirarse del laboratorio antes de concluir la práctica, sin un motivo justificado.
- El material de trabajo que se suministra para cada práctica es de propiedad de la Universidad y debe ser devuelto en excelentes condiciones de conservación y limpieza. Usted es responsable de él y debe reponer o pagar el material averiado o extraviado.
- Realice los informes según las indicaciones suministradas.

## BIOSEGURIDAD

- Conocer y poner en práctica Manual de Bioseguridad para Laboratorio de Ciencias Básicas e Investigación USTA. Además se hará especial énfasis en:
- Porte el uniforme COMPLETO (bata, gorro, tapabocas y guantes).
- Hacer disposición de residuos siguiendo estrictamente la instrucción.
- No está permitido fumar, comer, masticar chicle o conversar en voz alta en el laboratorio.
- En caso de accidentes o quemaduras consulte inmediatamente al profesor.

- Cuando le caiga un reactivo en la piel (ácidos, bases u otras sustancias) lávese inmediatamente con abundante agua durante unos minutos.

- No arroje material sólido o desechos en los vertederos, utilice los recipientes dispuestos para tal fin. Esté atento a las indicaciones sobre cómo desechar material biológico.

- Al manipular reactivos evite tener contacto directo con ellos (nunca los ingiera). Si debe pipetear use el pipeteador de caucho, evite aspirar tan fuerte como para llevar el líquido al interior de la bomba.

- Cuando utilice reactivos o colorantes, no emplee goteros, ni pipetas sucias para extraerlos de los recipientes; tampoco emplee una misma pipeta o gotero para extraer sustancias distintas. Evite contaminar los reactivos.

- Si requiere calentar un tubo,manténgalo ligeramente inclinado y lejos de su cara o la de sus compañeros. Al flamear gire suavemente la pinza sobre la llama.

- Trabaje con responsabilidad, ejecute los procedimientos según indicaciones de la guía y por ningún motivo juegue con los materiales o reactivos ya que podrá ocasionar serios accidentes.

# PRESENTACIÓN DE INFORMES

El informe escrito de la práctica de laboratorio, se presentará a manera de artículo, tenga en cuenta que debe contener las siguientes partes ya que cada una de ella se considerará en la evaluación. (seguir la secuencia propuesta sin colocar los números).

1. **TÍTULO:** nombre de la práctica.

2. **AUTORES:** nombre y código de los estudiantes del grupo.

3. **INTRODUCCIÓN:** ésta sección presenta el problema que usted está estudiando, debe describirlo y destacar la importancia biológica que tiene el tema de estudio.

4. **OBJETIVOS:** se describen claramente los objetivos que se persiguen con ésta práctica.

5. **MARCO TEÓRICO:** en ésta parte del informe debe citarse un marco de referencia teórico, alusivo al contenido del informe. Deberá leer y extractar LO MÁS IMPORTANTE de lo que consulte, procurando que sea corto pero completo.

6. **METODOLOGÍA:** incluye la manera como usted ha llevado a cabo la experiencia, la descripción sencilla de los que ha hecho.

7. **RESULTADOS:** los datos que usted ha tomado en el curso de la práctica, deben organizarse de manera tal que sean fácilmente entendidos aun por alguien que no haya participado de la misma. Para esto puede recurrir a tablas, gráficas y aun dibujos. Todo aquello que le parezca importante debe ser reportado.

8. **DISCUSIÓN O ANÁLISIS DE RESULTADOS:** es la parte más importante y enriquecedora de la práctica. En ella usted hace la interpretación de los resultados, en la mayoría de los casos conviene hacerla por partes o sesiones.

   Para que resulte interesante deberá apoyarse en las referencias teóricas, así podrá aclarar muchos interrogantes al respecto. Esta sesión incluye también ideas propias sobre como podrían explicarse los resultados observados, basándose en la evidencia experimental, de otra manera deberá aclararse que son sólo sugerencias.

   Si el experimento no dio los resultados que esperaba, debe mencionar las posibles causas y discutir las maneras probables de resolver el problema.

9. **CONCLUSIONES:** es también una parte muy importante por cuanto usted expresará lo que le ha quedado de la práctica, resume la experiencia como tal, que aprendió y si resolvió o no el problema. Para ello deberá remitirse a los objetivos, así sabrá si cumplió con su cometido. Deben ser concretas.

10. **PREGUNTAS ADICIONALES:** consiste en responder las preguntas de la guía que complementan el aprendizaje.

11. **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:** deben referenciarse todos los libros, revistas, direcciones de internet etc. Que usted ha consultado y que se mencionan en el informe. Los datos deben incluir autor, título, edición, editorial, año, ciudad, página consultada. Para fuentes de internet referenciar dirección completa y fecha de obtención del documento, (en éste caso solo páginas acordes con nivel universitario).

**Adicionalmente usted podrá colocar anexos y recomendaciones si lo desea, pero tenga en cuenta que las recomendaciones no son conclusiones.**

# PRÁCTICA 1
## MICROSCOPÍA

## INTRODUCCIÓN

La microscopia es la técnica que proporciona la amplificación de una imagen desde cientos hasta miles de veces, permitiéndonos ver organismos y estructuras invisibles a simple vista. La herramienta básica de la microscopía es el microscopio, un instrumento útil en el estudio de la biología puesto que nos permite conocer la estructura fina de los seres vivos.

## OBJETIVOS

- Conocer los principios básicos de la microscopía.
- Familiarizar al estudiante con el microscopio mediante el manejo de montajes sencillos.

## MARCO TEÓRICO

Hay distintos tipos de microscopía, de acuerdo a las distintas categorías de microscopios, los ópticos (con un sistema de lentes y una fuente de luz) y los electrónicos (con haces de electrones). En el grupo de los ópticos se cuentan: Microscopio de campo obscuro, de campo claro, de fluorescencia, de contraste de fases. El microscopio es un instrumento útil en el estudio de la estructura celular, **Robert Hooke** en 1665 fue el primero en describir células cuando observó un trozo de corcho, con un microscopio que había fabricado. El primero que registró observaciones de células vivas a través de este instrumento fue **Antony Van Leeuwenhoek**.[1]

### DESCRIPCIÓN DEL MICROSCOPIO COMPUESTO

1. **Sistema óptico:** es el responsable del aumento y reproducción de las imágenes gracias al sistema de lentes que lo integran, incluye la óptica de iluminación que dirige la luz natural o artificial hacia la preparación y la óptica de reproducción que consta de un sistema de lentes conformado por objetivos y oculares.

**Óptica de reproducción:**

- **Oculares:** son dos lentes, uno ocular y otro de campo, se encargan de aumentar la imagen real proyectada por el objetivo y eliminar defectos.
- **Objetivos:** este sistema de lentes produce el aumento de las imágenes de las preparaciones, son acromáticos, es decir, no descomponen la luz y son los más cercanos a la preparación. Los objetivos a su vez, pueden ser de dos tipos: **Secos** (no es necesario colocar ninguna sustancia entre ellos y la preparación, son de aumento débil o mediano, 5x.10x,40x). **De inmersión** (entre la preparación y ellos se coloca aceite de cedro, son de mayor aumento,100x).

[1] SOLOMÓN, E.BIOLOGÍA; 2008. p.76-77.

**Óptica de iluminación:**

Compuesto por:

- **Lámpara:** provee la luz al sistema.
- **Espejo:** recibe los rayos de una fuente luminosa y los refleja hacia el condensador.
- **Condensador:** concentra la luz del haz luminoso en la preparación, se ubica bajo la platina.
- **Diafragma:** controla la cantidad de luz que debe llegar a la preparación, se halla acoplado al condensador.

**Sistema mecánico:**

- **Tubo:** proporciona sostén a las lentes oculares y al revólver.
- **Revólver o tambor:** soporta los distintos objetivos del microscopio, es una pieza giratoria.
- **Brazo:** sirve para sujetar el aparato cuando debe ser transportado.
- **Platina:** estructura plana sobre la cual se coloca la preparación que se va a observar.
- **Base o pie:** soporta y da estabilidad al microscopio.
- **Carro:** estructura ubicada sobre la platina que permite desplazar la preparación de atrás hacia delante y de derecha a izquierda.
- **Tornillo macrométrico:** permite que la platina ascienda o descienda cuando se gira, ayuda a hacer un enfoque rápido de la preparación.
- **Tornillo micrométrico:** mueve lentamente el tubo permitiendo un enfoque preciso y mejor nitidez de la imagen.

## PROPIEDADES DEL MICROSCOPIO

**Poder de resolución:** es la capacidad de distinguir detalles finos en una imagen, se define como la distancia mínima entre dos puntos a la que ambos pueden distinguirse por separado, en lugar de ser apreciados como un solo punto borroso. Depende de la calidad de las lentes y de la longitud de onda de la luz que ilumina, entre menor sea ésta, mayor será la resolución, y será también mayor en cuanto más grande sea el índice de refracción del medio[2].

**Aumento del microscopio:** número que indica cuántas veces más grande aparece la imagen microscópica, es decir la proporción del tamaño de la imagen observada respecto al tamaño real del objeto.

Campo del microscopio: área circular visible que se observa a través del microscopio.

[2] SOLOMÓN, E.BIOLOGÍA; 2008. p.76.

La capacidad de aumento y resolución depende del tipo de luz que se emplee. Los microscopios ópticos que utilizan luz visible de 500nm (Longitud de onda entre 390 y 780 nm) no permiten resolver objetos separados por distancias inferiores a 250nm=0.25 micras. El ojo humano da resoluciones 250 veces menores que el microscopio de luz.

El poder de resolución se calcula a partir de la fórmula:

$$d = \frac{\lambda}{AN + an}$$

$\lambda$ = longitud de onda

AN= abertura numérica objetivo

an = abertura numérica del condensador

En la práctica AN = an por lo tanto la fórmula se resume $d = \frac{\lambda}{2AN}$

A su vez AN = i sen $\alpha$ en donde i = índice de refracción del medio que rodea la lente, si es el aire i= 1 y si es aceite de inmersión i = 1.56. Y $\alpha$ = mitad del ángulo de entrada del cono de luz que llega al condensador. A medida que d es menor el poder de resolución es mayor.

**MEDICIONES MICROSCÓPICAS:** para hacer mediciones microscópicas se usa el micrómetro, que consiste en una escala graduada que se inserta en el ocular y que permite calcular la longitud y el ancho de las estructuras que aparecen el campo ocular.

En su defecto se puede hacer con papel milimetrado, se determina de acuerdo al número de divisiones que aparecen en el campo el diámetro de éste. (Para ello se usa el teorema de Pitágoras $d = \sqrt{a^2 + b^2}$

**CUIDADOS CON EL MICROSCOPIO**

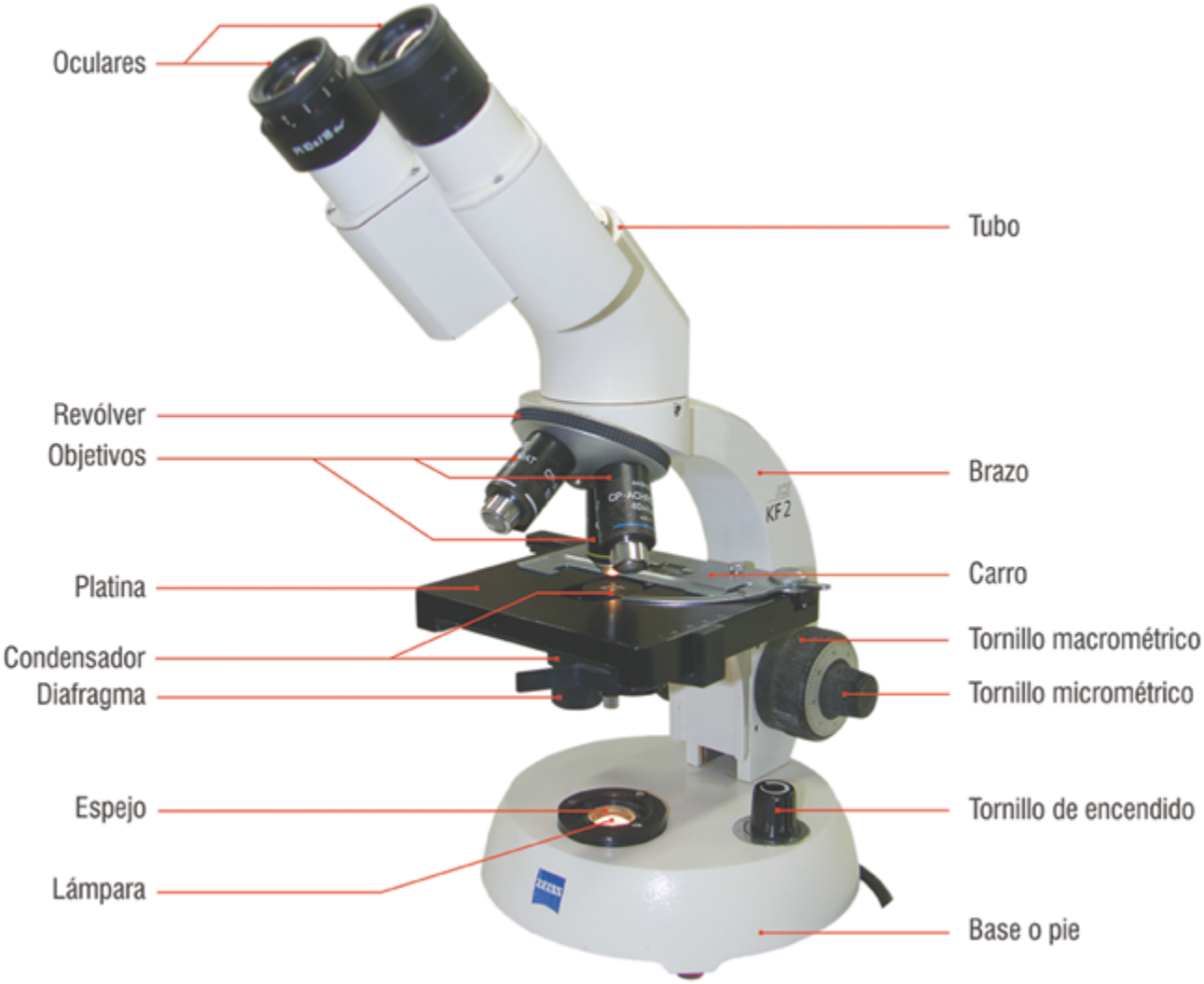
- Protegerlo de la humedad, el polvo y vapores corrosivos.
- Mantener limpios los objetivos y oculares, evitar golpearlos, limpiarlos sólo exteriormente. Eliminar los restos del aceite de inmersión con un solvente y un paño suave o papel de arroz.
- La limpieza profunda (mantenimiento) debe ser realizada por un técnico.
- No raye las lentes, son delicadas y costosas.
- Cuando tenga que trasladarlo sujételo fuertemente por el brazo y la base.
- Al terminar la labor. Desconéctelo, enrolle el cable en la base y cúbralo.

## MATERIALES

| INSTRUMENTAL | MATERIAL BIOLÓGICO |
|---|---|
| • Microscopio compuesto<br>• Láminas o portaobjetos<br>• Laminillas o cubreobjetos<br>• Cuchillas, goteros, tijeras<br>• Papel periódico, papel milimetrado<br>• Marcadores | • Epidermis de cebolla<br>• Fibras de algodón y lana<br>• Agua de charco<br>• Cabello humano<br>• Corcho |

## PROCEDIMIENTO

1. CONOCIMIENTO DEL MICROSCOPIO




Microscopio Compuesto Manual de Prácticas de Biología USTA

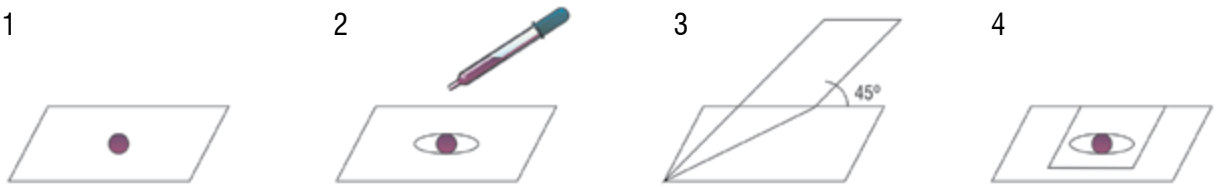
Biología

- Ubique cada una de las partes del microscopio.
- Rote el revólver o tambor hasta que el objetivo de menor aumento entre en línea con el tubo del microscopio, cuidando de no chocar con la platina.
- Desplace la platina con el tornillo macrométrico y observe que entre menor sea el aumento del objetivo, el diámetro de la lente inferior es menor y la distancia de la platina es mayor.
- Cuide especialmente la lente de mayor aumento (100x) representa el 60% del valor del microscopio.
- Al centrar el objetivo de menor aumento, vea el efecto del diafragma sobre la iluminación general (abra y cierre el diafragma).

2. MONTAJE O PREPARACIÓN DEL MATERIAL

**A. Técnica de preparación de montajes**

Siga el procedimiento descrito en el siguiente esquema:




1. Coloque una diminuta muestra del material que se va a observar sobre un portaobjetos limpio.
2. Adicione una gota de agua si se le indica.
3. Cúbralo con un cubreobjetos formando un ángulo de 45º respecto a la lámina portaobjetos.
4. Coloque el portaobjeto sobre la platina, sujételo con la pinza y centre la preparación, siga las indicaciones del dibujo.

**B. Enfoque**

- Ubicar el objetivo de menor aumento (4x o 5x) sobre la preparación (use el tornillo macrométrico).
- Acercar la platina lentamente hasta que visualice la preparación a través del ocular.
- Mediante leves giros del tornillo micrométrico haga un enfoque preciso.
- Para observar con mayor detalle, cambie de objetivo (10x, luego 40x y 100x) gire el revólver o tambor.
- Desplace el carro en todas las direcciones y observe qué sucede.

Biología

- Haga este procedimiento con todos los materiales y dibuje todo, escriba el aumento del lente.
- Haga observaciones con el estereoscopio y compare.

**PREGUNTAS ADICIONALES**

1. ¿Por qué aparece invertida la imagen en el microscopio compuesto? Explique.
2. ¿Por qué el objetivo de inmersión requiere del uso de aceite, para poder observar la imagen?
3. Explique qué relación existe entre aumento, distancia de trabajo e intensidad lumínica.
4. Consulte respecto a los diferentes tipos de microscopios y compárelos.
5. ¿Por qué en el estereoscopio la imagen no aparece invertida?

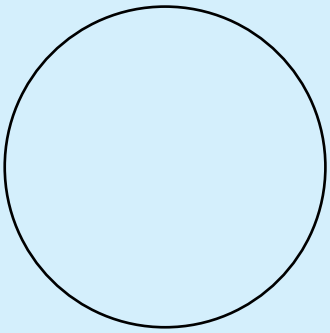
## HOJA DESPRENDIBLE MICROSCOPÍA

Completar y entregar al docente al final de la clase. Será evaluada.

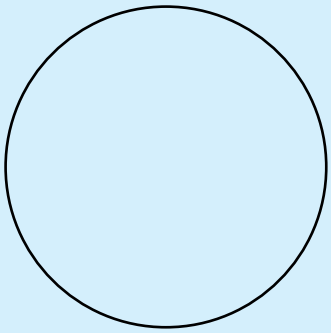
NOMBRE: _____

FACULTAD:_____ FECHA: _____

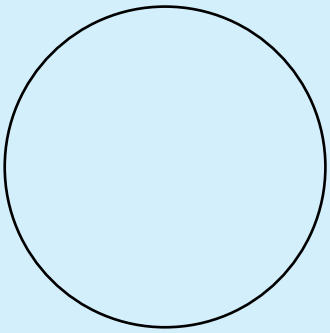
1. Dibuje la letra ___ vista con el microscopio con aumentos de 5x y 40x y la misma letra vista con el estereoscopio.



Letra 5x



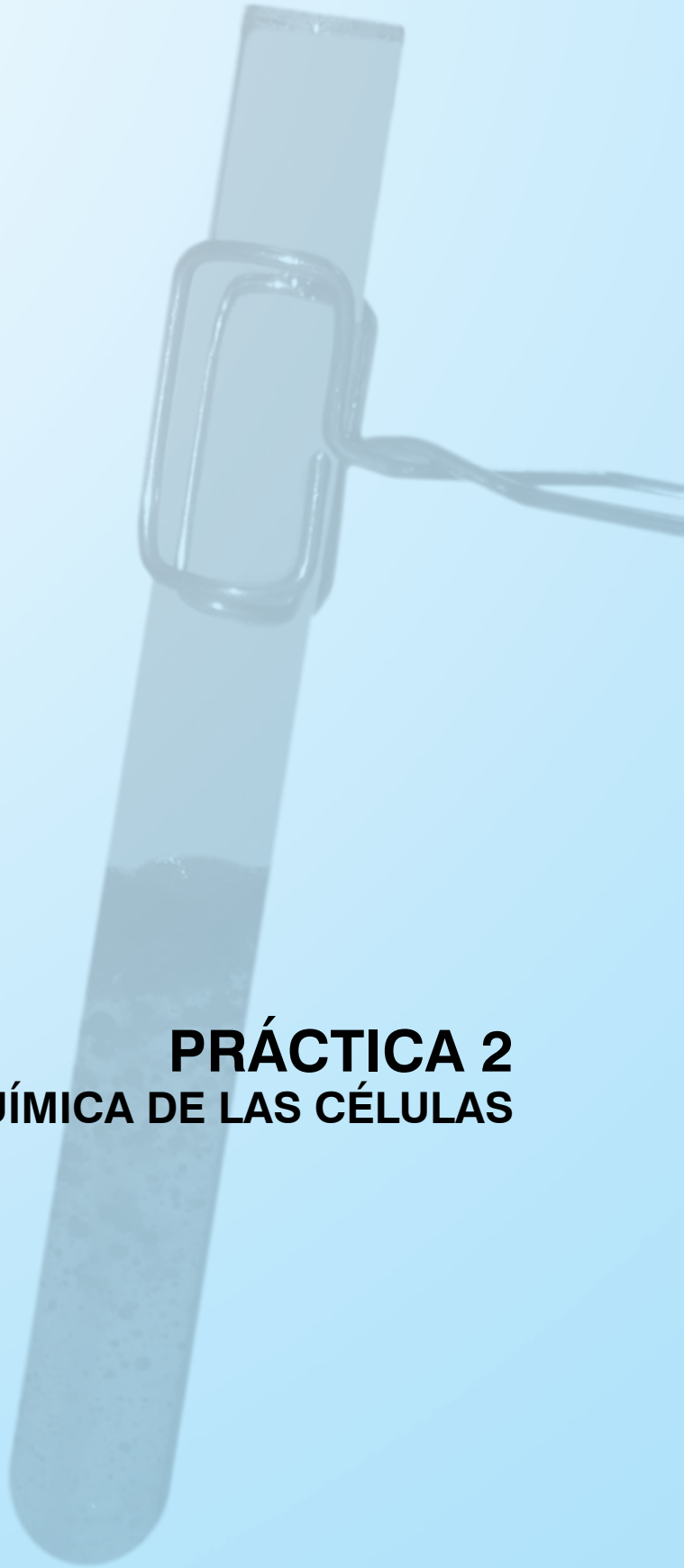
Letra 40x



Letra estereoscopio

2. ¿Qué tipo de microscopio encontró en el laboratorio?

3. ¿Cómo se puede medir una célula? Describa paso a paso.



# PRÁCTICA 2
## COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LAS CÉLULAS

## INTRODUCCIÓN

Mediante la realización de pruebas sencillas que involucran reacciones químicas se puede deducir la composición muchas sustancias. En una célula se encuentran distintos compuestos químicos, que constituyen la parte viva de la célula, llamada antiguamente **protoplasma**, cada uno de ellos conserva sus propias características. Los componentes químicos básicos de las células son: **agua** en mayor proporción, **carbohidratos**, **proteínas, lípidos, ácidos nucleicos y sales**.

## OBJETIVOS

- Determinar cualitativamente compuestos orgánicos e inorgánicos comunes en sustratos vivos, por medio de reacciones químicas con reactivos específicos.
- Analizar el comportamiento de las muestras experimentales con base en una prueba control en cada reacción.
- Comparar la variedad de biomoléculas presentes en distintas muestras.
- Mejorar habilidades y destrezas en la manipulación del material del laboratorio y reactivos en general.

## MARCO TEÓRICO

Los organismos comparten características fundamentales en su composición química y en sus procesos metabólicos básicos.[3] Las células se componen químicamente de moléculas orgánicas e inorgánicas.
Dentro de las moléculas orgánicas se pueden citar:

LOS CARBOHIDRATOS que son compuestos de carbono, hidrógeno y oxígeno, estos dos últimos en la proporción en que se encuentran en el agua y por esta razón reciben el nombre de hidratos de carbono. $C_nH_{2n}O_n$. Constituyen la reserva energética del organismo a corto plazo. Azúcares, almidones y celulosa son carbohidratos. Estos se clasifican como:

**1. Monosacáridos:** también conocidos como azúcares sencillos. Contienen de 3 a 7 átomos de carbono. Los monosacáridos, son las unidades monoméricas fundamentales de la estructura de los carbohidratos. No se hidrolizan, pueden ser de tres carbonos triosas (gliceraldehído) de cinco carbonos como la ribosa (azúcar del ARN), de seis carbonos o hexosas como: glucosa, fructuosa y galactosa.

Los azúcares que presentan en su constitución molecular una función aldehído, como en el caso de la glucosa, se conocen con el nombre de azúcares reductores; por el comportamiento que tienen en presencia de agentes oxidantes. Así, por ejemplo, la glucosa no modificada reacciona con agentes oxidantes tales como el ión cúprico ($Cu^{2+}$) debido a que su forma abierta tiene un aldehído fácilmente oxidable.[4] Este hecho es utilizado en varias pruebas de reconocimiento de azúcares tales como las reacciones de **Fehling y Benedict's**. Estas pruebas se efectúan con reactivos que presentan en su composición sulfato de cobre, que permite que se visualice la

[3] SOLOMÓN, E.BIOLOGÍA; 2008. p.25,51.
[4] STRYER LUBERT, BIOQUÍMICA; 2002.

reacción a través de un cambio de color. Ej: Si a una muestra que contiene un azúcar reductor, como glucosa, se le adiciona reactivo de **Benedict's**, ésta se torna azul y luego al calentar tomará un color amarillo ladrillo.

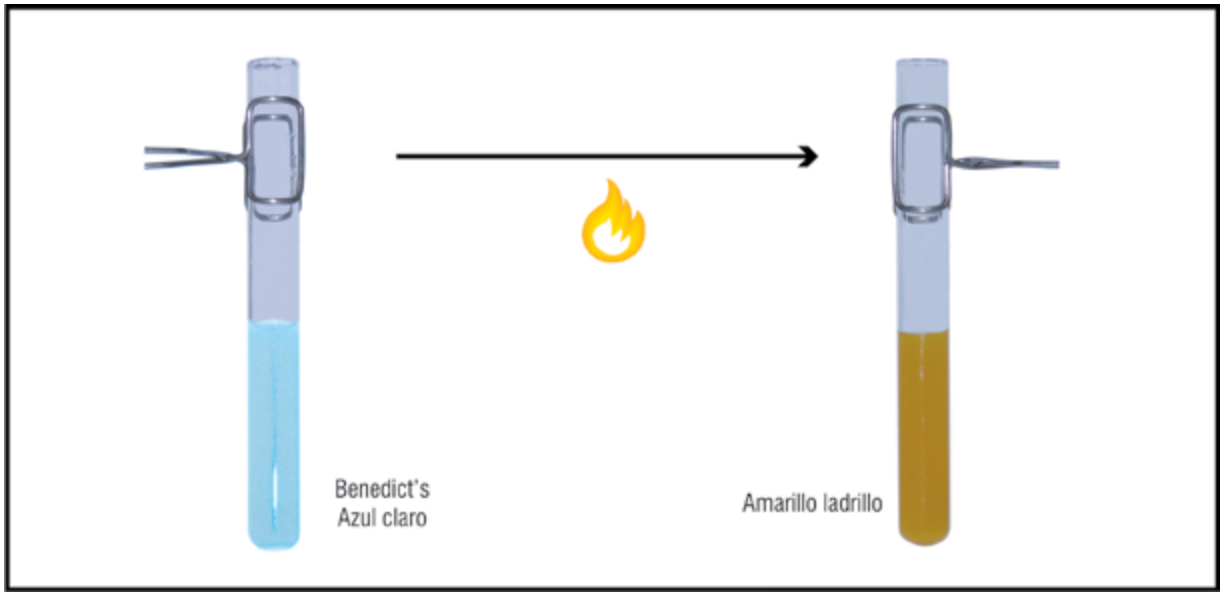
## FUNDAMENTO DE LA PRUEBA:

**AZÚCARES REDUCTORES:** los azúcares reductores en soluciones alcalinas, (pH básico), reducen los iones $Cu^{2+}$ a $Cu^{+}$ indicando la oxidación del azúcar por la acción del *óxido cúprico* presente en el reactivo **Benedict's**, reduciéndose este último al estado del *óxido cuproso*, que se observa como un compuesto de color **amarillo ladrillo**[5].

$$R\text{---}CHO + 2CuO + NaOH \longrightarrow R\text{---}COONa + Cu_2O + H_2O$$

Aldehído del Azúcar + óxido cúprico + solución alcalina → sal del ácido + óxido cuproso + agua

(color amarillo ladrillo)




La aparición del **color amarillo ladrillo** indica que la prueba es positiva para azúcares reductores, es decir, que **la muestra contiene azúcares reductores.**

2. **Disacáridos:** son azúcares formados por dos unidades de monosacáridos Ejemplo: **Sacarosa** (glucosa + fructuosa), **lactosa** (glucosa + galactosa), **maltosa** (glucosa + glucosa). La **Sacarosa**, también conocida como azúcar de caña o azúcar de mesa no posee carbonos glucosídicos libres que presenten propiedades reductoras, pero los demás disacáridos sí.

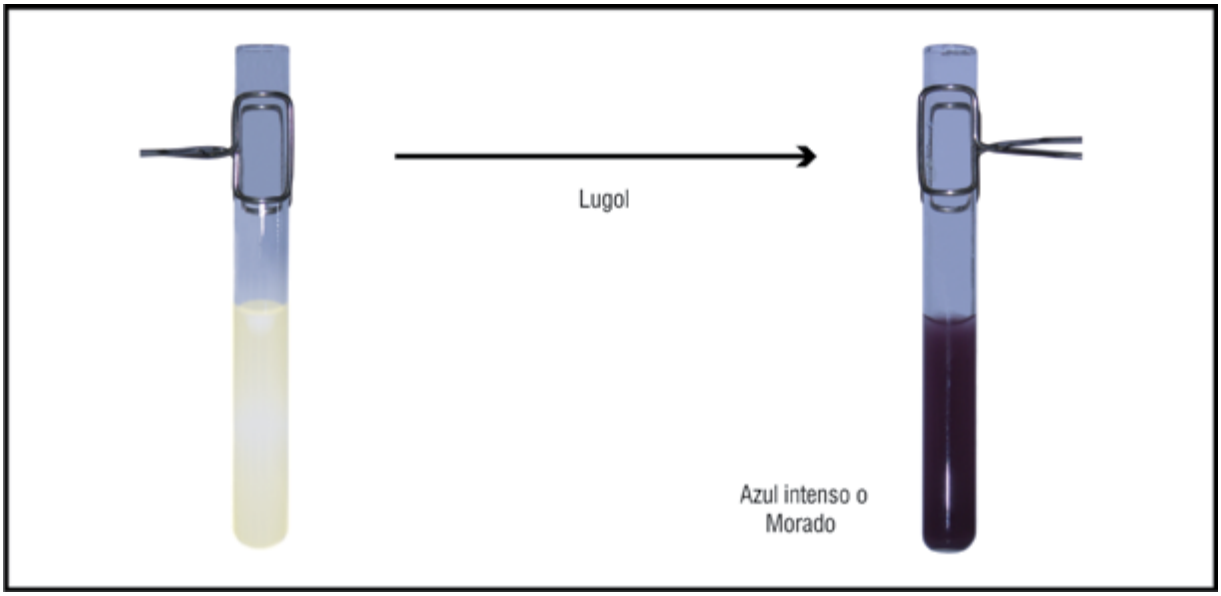
3. **Polisacáridos:** son los carbohidratos más abundantes, incluye almidones, glucógeno, celulosa, agares y quitina entre otros. Constituidos por unidades repetitivas de azúcares simples, por lo general glucosa. Su hidrólisis implica la formación de un gran número de moléculas de monosacáridos, son solubles en alcohol y derivados.[6]

[5] PACHÓN DIANA Y HERRERA CLAUDIA. UNIANDES; 2001.
[6] SOLOMÓN ELDRA, BIOLOGÍA; 2001.

El **almidón** es la forma habitual de almacenamiento de energía en plantas, es insoluble en agua fría y, en presencia de yodo (reactivo de **Lugol**) da una coloración **azul intenso o morada** que permite identificar cualitativamente su presencia en una muestra. El almidón está formado por dos subunidades: **amilosa** (15-30%) y **amilopectina** (70-85%).

## FUNDAMENTO DE LA PRUEBA:

La amilosa, polímero de cadena lineal resulta de la condensación de unidades de dextrosa por enlaces glucosídicos. Su polímero se caracteriza por la proyección periférica de los hidroxilos, mientras que la vaina central presenta numerosos puntos hidrófobos; en estos lugares se forman los complejos con el yodo (presente en el **reactivo de Lugol**).




Un color **azul oscuro, morado o negro** indica que la prueba es positiva, es decir, **la muestra contiene almidones.**

En las moléculas orgánicas también se cuentan las **PROTEÍNAS** que son polímeros formados por subunidades llamadas **aminoácidos**. Desempeñan funciones de importancia vital: catalizadoras (casi todas las enzimas son proteínas), reguladoras (algunas hormonas son de origen proteico), de almacenamiento (albúmina de huevo o caseína de la leche), soporte mecánico (citoesqueleto), transporte (hemoglobina), defensa (inmunoglobulinas), trabajo mecánico (flagelos y contracción muscular) entre otras.[7]

**Todos los organismos usan 20 aminoácidos diferentes como bloques de construcción para ensamblar las proteínas. Su fórmula general es:**

COOH: Grupo carboxilo

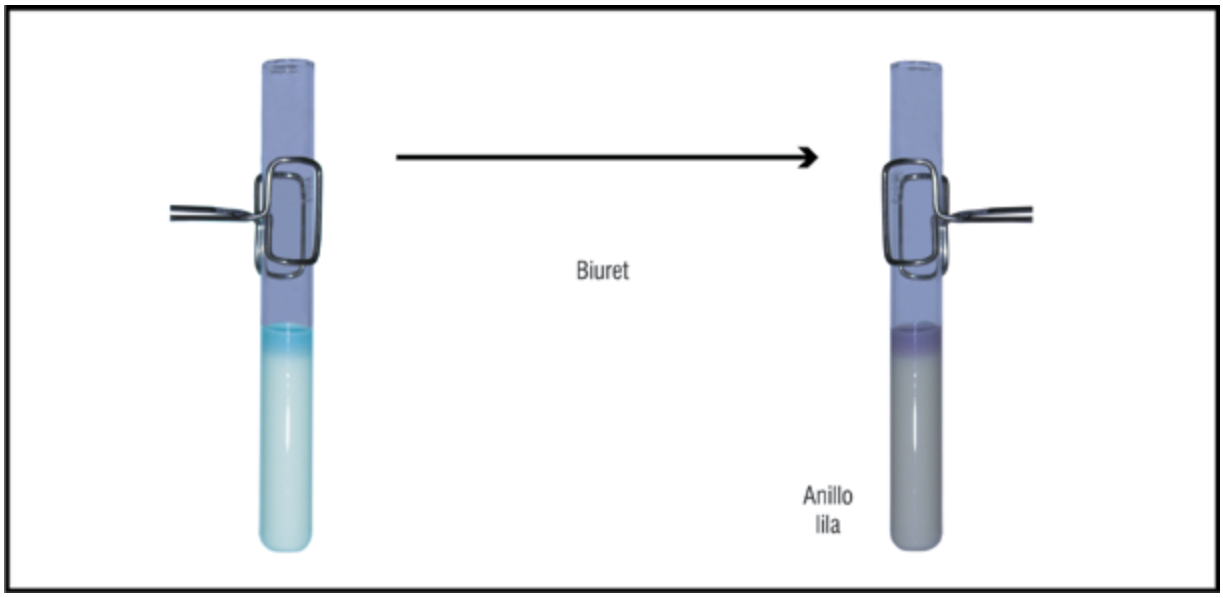
$H_2N$ : Grupo Amino

Mediante pruebas con reactivo de **Biuret** o con ácido nítrico (**xantoproteica**) se pueden determinar cualitativamente en una muestra.

[7] HORTON ROBERT. BIOQUÍMICA; 1995.

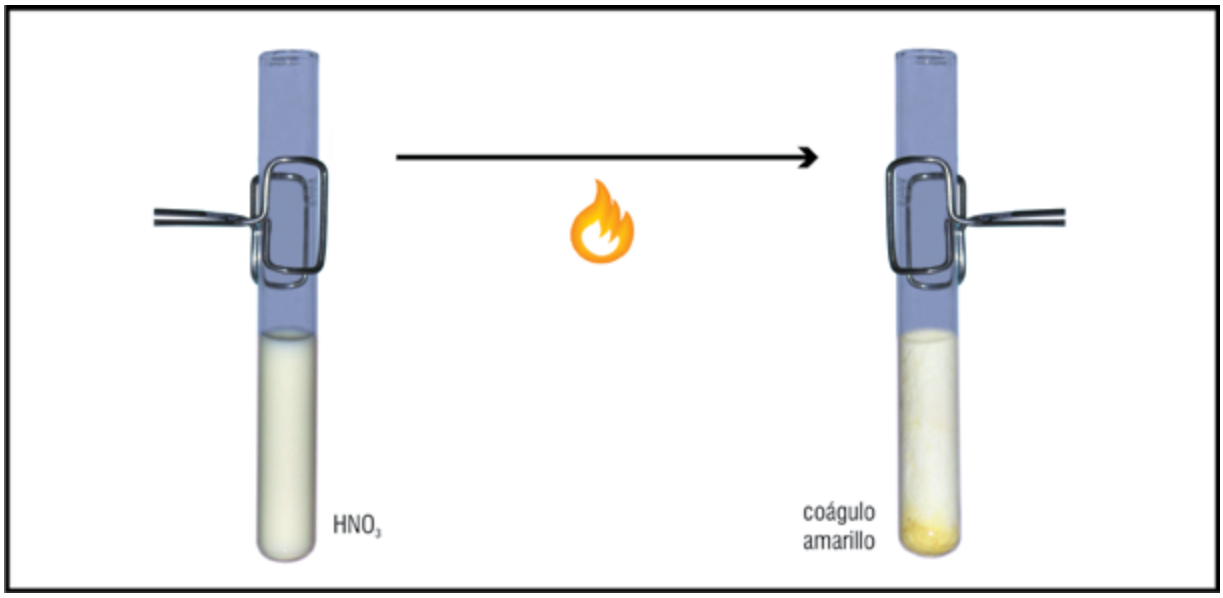
## FUNDAMENTO DE LAS PRUEBAS:

La reacción de **Biuret** se debe a la coordinación de iones cúpricos con los pares de electrones sin compartir del nitrógeno del péptido y del oxígeno del agua, formando así un complejo coloreado típico del cobre bivalente con cuatro ligantes coordinados.




La reacción es positiva si hay formación de un **Anillo lila**, esto quiere decir que **la muestra tiene proteínas.**

La reacción de **Xantoproteínas**: son proteínas que contienen aminoácidos como el *triptófano* y la *tirosina*, los cuales poseen en sus radicales un anillo bencénico. El ácido nítrico ($HNO_3$) detecta estos anillos. La prueba es positiva cuando se observa la formación de un coágulo amarillo.[8]



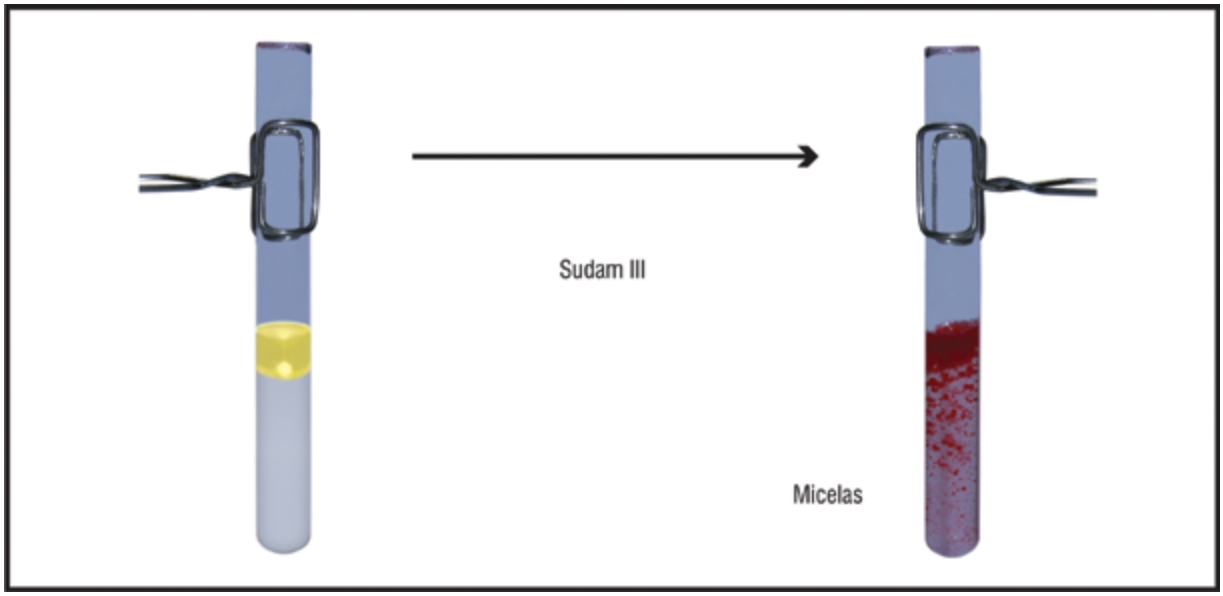

[8] PACHÓN DIANA Y HERRERA CLAUDIA. MANUAL UNIANDES; 2001.

Adicionalmente los **LÍPIDOS** son componentes básicos de las membranas celulares (*fosfolípidos y colesterol*), forman un grupo heterogéneo de compuestos, insolubles en agua y de suma importancia en los sistemas biológicos. Están compuestos por dos tipos de subunidades: *glicerol*, que es un alcohol y *ácidos grasos*. Los lípidos constituyen en el organismo una valiosa reserva energética a largo plazo.

El reconocimiento de lípidos se basa en la no-polaridad que presenta su molécula. Los lípidos son solubles en solventes no polares como éter, cloroformo, benceno o alcanos. Para la determinación cualitativa se usa el reactivo de **Sudam III**.

## FUNDAMENTO DE LA PRUEBA:

Su reconocimiento se basa en la disolución de cristales de Sudam en ellos. Las moléculas de Sudam poseen un grupo cromóforo **azo** (átomo de nitrógeno que une 2 anillos), que produce el color rojo.




La prueba es positiva cuando se forman **gotas coloidales de color rojo,** lo cual quiere decir que **la muestra contiene lípidos.**

En cuanto a las moléculas inorgánicas se encuentra el agua y algunas **SALES**, que son compuestos iónicos inorgánicos en los que el átomo de hidrógeno de un ácido es sustituido por otro catión. El cloruro de sodio (NaCl) es un compuesto en que el catión $Na^+$ sustituye el ion hidrógeno del HCl. Las células y los líquidos extracelulares contienen diversas sales en solución, fuentes de minerales importantes para el mantenimiento del equilibrio hídrico y las relaciones ácido-base[9].

$$HCl + NaOH \rightarrow NaCl + H_2O$$

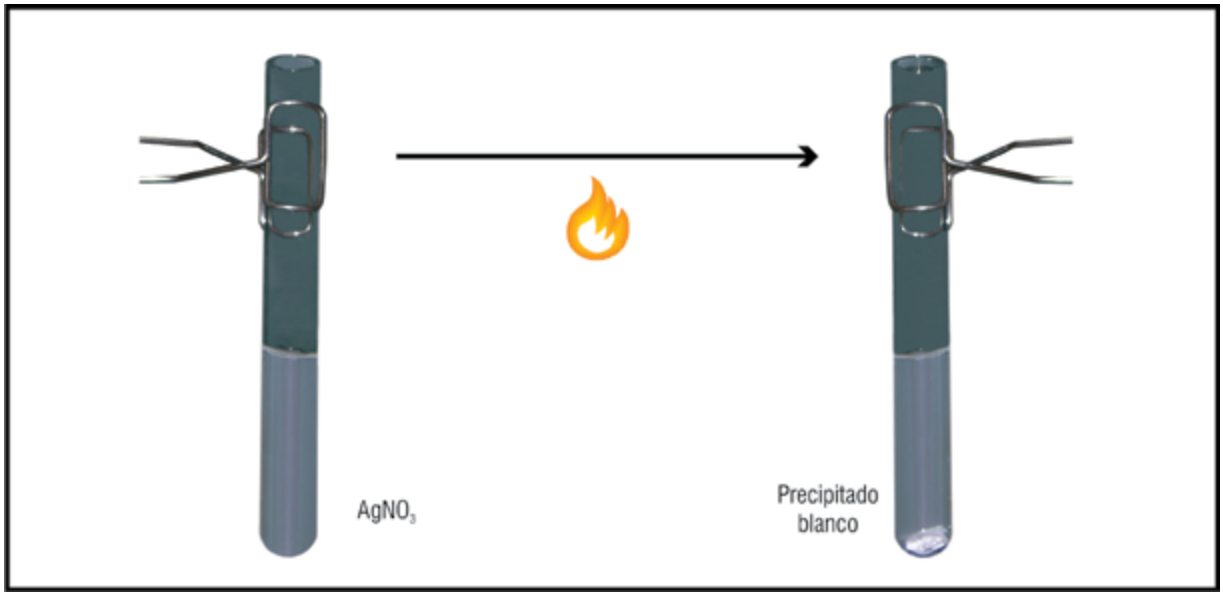
## FUNDAMENTO DE LA PRUEBA:

**SALES:** forman compuestos estables con metales pesados, como la plata. Así, en presencia de $AgNO_3$ (Nitrato de plata) las sales se combinan con la plata formándose un precipitado blanco.

[9] SOLOMÓN, E.BIOLOGÍA; 2008. p.41.

Biología

$$Na\,Cl + AgNO_3 \rightarrow NaNO_3 + ClAg$$




## MATERIALES

| INSTRUMENTAL | REACTIVOS | MATERIAL BIOLÓGICO Y SOLUCIONES |
|---|---|---|
| • Tubos de ensayo grandes<br>• Pinzas de madera<br>• Vasos de precipitado de 50 y 100 mL<br>• Pipetas de 2 y 5 mL<br>• Pipeteadores<br>• Pipetas Pasteur<br>• Mortero<br>• Embudo<br>• Gasa (unidades de 10 X 10 cm)<br>• Mechero<br>• Gradilla<br>• Pinzas de madera<br>• Toallas<br>• Lápiz de cera<br>• Erlenmeyer de 100 o 200 mL<br>• Agitador de vidrio<br>• Vidrio de reloj<br>• Bisturí | • Benedict's o Fehling A y Fehling B<br>• Lugol concentrado<br>• Biuret<br>• Acido nítrico ($HNO_3$)<br>• Sudam III<br>• Nitrato de Plata ($AgNO_3$) | • Glucosa 2%<br>• Miel<br>• Almidón (maizena) 0,5 y 2 %<br>• Sacarosa 2 %<br>• Gelatina sin sabor 3%<br>• Sal de cocina NaCl 2%<br>• Extracto de papa<br>• Albúmina de huevo<br>• Huevo<br>• Leche entera<br>• Aceite<br>• Suero fisiológico<br>Muestra problema (cualquiera de estas):<br>• Bebida hidratante sin color<br>• Extracto de apio en rama<br>• Orina de diabético |

## PROCEDIMIENTO

- En cada una de las pruebas, agregue los reactivos en la cantidad y manera indicada en las siguientes Tablas.
- Una vez adicionado todo, agite los tubos y observe los resultados.

Biología

- En cada caso se usará un tubo con agua como control negativo.
- Reporte los resultados en las Tablas, indicando si el resultado es (+), es decir, contiene la biomolécula indicada o (-) no la contiene, y el color observado.

**A. PRUEBA PARA AZÚCARES REDUCTORES:**

***Recuerde si la muestra contiene azúcares reductores se tornará de color amarillo ladrillo, luego de calentar y se reportará (+) de lo contrario (-). Además se indicará el color.

| TUBO # | MUESTRAS | CANTIDAD (mL) | REACTIVO DE BENEDICT'S (GOTAS) | TIEMPO CALENTAMIENTO (MINUTOS) | COLOR OBSERVADO |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Agua | 3 | 3 | 1 | |
| 2 | Glucosa 2% | 3 | 3 | 1 | |
| 3 | Miel 2% | 3 | 3 | 1 | |
| 4 | Almidón 0.5% | 3 | 3 | 1 | |
| 5 | Sacarosa 2% | 3 | 3 | 1 | |
| 6 | Muestra problema: _____ | 3 | 3 | 1 | |

**B. PRUEBA PARA ALMIDONES:**
***Recuerde si la muestra contiene almidones se tornará de color azul intenso, se reportará (+) de lo contrario (-). Además se indicará el color.

| TUBO # | MUESTRAS | CANTIDAD (mL) | REACTIVO DE LUGOL (GOTAS) | COLOR |
|---|---|---|---|---|
| 1 | Agua | 3 | 3 | |
| 2 | Glucosa 2% | 3 | 3 | |
| 3 | Sacarosa 2% | 3 | 3 | |
| 4 | Almidón 2% | 3 | 3 | |
| 5 | Extracto de papa | 3 | 3 | |
| 6 | Muestra problema: _____ | 3 | 3 | |

**C. PRUEBAS PARA PROTEÍNAS:** *SE REALIZARÁN DOS PRUEBAS*

**1. BIURET**

** Si la muestra contiene proteínas se formará un anillo lila en la superficie. Para esta prueba no agitar el tubo. Reportar formación (+) o no formación (-) del anillo lila. Dejar deslizar el reactivo suavemente por las paredes del tubo.

| TUBO # | MUESTRAS | CANTIDAD (mL) | REACTIVO DE BIURET (GOTAS) | FORMACIÓN ANILLO LILA |
|---|---|---|---|---|
| 1 | Agua | 3 | 3 | |
| 2 | Albúmina de huevo | 3 | 3 | |
| 3 | Gelatina sin sabor 3% | 3 | 3 | |
| 4 | Leche entera | 3 | 3 | |
| 5 | Muestra problema: _____ | 3 | 3 | |

**PRUEBA PARA PROTEÍNAS**

**2. Prueba XANTOPROTEICA**

** Manipular con mucha precaución el ácido. Si la muestra contiene xantoproteínas formará un coágulo amarillo al calentar. Reportar como positivo formación del coágulo.

| TUBO # | MUESTRAS | CANTIDAD (mL) | ÁCIDO NÍTRICO $HNO_3$ (GOTAS) | TIEMPO DE CALENTAMIENTO (MINUTOS) | COÁGULO |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Agua | 3 | 3 | 1 | |
| 2 | Albúmina de huevo | 3 | 3 | 1 | |
| 3 | Gelatina sin sabor 3% | 3 | 3 | 1 | |
| 4 | Leche entera | 3 | 3 | 1 | |
| 5 | Muestra problema: _____ | 3 | 3 | 1 | |

**C. PRUEBA PARA LÍPIDOS:**

** Si la muestra contiene lípidos se formarán micelas (partículas coloides), se reportará como (+), no formación de micelas (-).

| TUBO # | MUESTRAS | CANTIDAD (mL) | SUDAM III (GOTAS) | PARTÍCULAS COLOIDES |
|---|---|---|---|---|
| 1 | Agua | 5 | 3 | |
| 2 | Aceite | 5 | 3 | |
| 3 | Agua + Aceite (gotas) | 5 + 10 gotas* | 3 | |
| 4 | Leche | 5 | 3 | |
| 5 | Muestra problema: _____ | 5 | 3 | |

* El tubo 3 debe contener 5 mL de agua y 10 gotas de aceite.

**D. PRUEBAS DE SALES:**
** Si la muestra contiene sales se formará un precipitado blanco luego de calentar, en este caso se reportará (+).

| TUBO # | MUESTRAS | CANTIDAD (mL) | NITRATO DE PLATA $AgNO_3$ (GOTAS) | TIEMPO DE CALENTAMIENTO (MINUTOS) | FORMACIÓN DEL PRECIPITADO |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Agua | 5 | 3 | 3-5 | |
| 2 | NaCl 3% | 5 | 3 | 3-5 | |
| 3 | Suero fisiológico | 5 | 3 | 3-5 | |
| 4 | Muestra problema: _____ | 5 | 3 | 3-5 | |

## PREGUNTAS ADICIONALES

1. Explique: ¿Por qué en la prueba de azúcares reductores la muestra para miel da positiva, mientras que para sacarosa da negativa?

2. Analice y escriba: ¿Por qué la muestra de gelatina da positiva con el reactivo de Biuret pero negativa con el ácido nítrico, si en ambos casos se determina proteínas?

3. Consulte: ¿Qué función cumplen: carbohidratos, lípidos y proteínas en las células.

4. ¿Cómo se forman las micelas en los lípidos?

5. Mencione al menos tres tipos de sales necesarias para el funcionamiento del organismo humano y diga cuál es su importancia.

6. Explique el por qué de la composición de la muestra problema.

# HOJA DESPRENDIBLE COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LAS CÉLULAS

Completar y entregar al docente al final de la clase. Será evaluada.

NOMBRE: _____

FACULTAD:_____ FECHA: _____

1. Complete la siguiente tabla de resultados:

| **MUESTRA** | **REACTIVOS** | **RESULTADOS**<br>(+) (-) Además indicar color, precipitado, etc. |
|---|---|---|
| Miel | Benedict´s | |
| Extracto de papa | Lugol | |
| Aceite | Sudam III | |
| Huevo | Biuret | |
| Suero Fisiológico | Nitrato de Plata ($AgNO_3$) | |
| Muestra problema: _____ | Benedict´s | |

2. ¿Para qué le sirven a la célula las proteínas y los lípidos?

3. ¿Qué diferencia hay entre azúcares y almidones?

4. ¿Qué libro consultó para preparar la práctica? (datos completos)

# PRÁCTICA 3
## ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

## INTRODUCCIÓN

Las enzimas son grandes proteínas que aceleran las reacciones químicas, en su estructura globular se entrelazan y se pliegan una o más cadenas polipeptídicas que aportan un pequeño grupo de aminoácidos para formar un sitio activo (lugar donde se adhiere el sustrato). Las enzimas catalizan toda la interminable serie de reacciones químicas que conforman el metabolismo celular, cumplen la función de catalizadores biológicos.

## OBJETIVOS

- Evidenciar la presencia de enzimas en muestras de origen biológico y analizar sus propiedades como catalizadores biológicos.
- Estudiar el efecto de diferentes factores sobre la actividad enzimática.

## MARCO TEÓRICO

Las enzimas solamente cumplen su función catalítica, si en su sitio activo encaja con exactitud el sustrato, es decir, si hay una relación estrecha entre el sitio activo y la forma del sustrato lo cual a su vez determina su principal característica, la especificidad. La enzima, en sí misma, no se ve afectada por la reacción y una vez los productos son liberados, vuelve a unirse a un nuevo sustrato.

Las enzimas se caracterizan porque:

- **Poseen especificidad:** cada reacción química que ocurre en el organismo está catalizada por una enzima, ejemplo la ureasa que descompone la úrea en amoníaco y dióxido de carbono o unas pocas reacciones químicas estrechamente relacionadas, como la *lipasa pancreática, que rompe los enlaces ésteres que conectan el glicerol y los ácidos grasos en una amplia variedad de grasas*[10]. Por su parte un catalizador no biológico cataliza gran variedad de reacciones.
- Este mecanismo de acción enzimática tan específico se debe a la interacción precisa del sustrato con la enzima. Esta precisión es el resultado de la compleja estructura tridimensional de la proteína enzimática, la cual forma un complejo transitorio llamado *Enzima-sustrato* que es libremente reversible[11].
- **Son de constitución proteica:** con excepción de unas moléculas de RNA catalizadoras (*ribozimas*) la mayoría de las enzimas son proteínas[12].

[10] SOLOMÓN, E.BIOLOGÍA; 2008. p.191.
[11] STRYER L. BIOQUÍMICA; 2003.
[12] MURRAY R. BIOQUÍMICA DE HARPER; 2007. p.334.

## Se ven afectadas por:

**Temperatura:** la energía calorífica aumenta la energía cinética de la enzima hasta un punto en que interrumpe las interacciones no covalentes que mantienen la estructura tridimensional, entonces, la cadena polipeptídica se **desnaturaliza**, (temperaturas superiores a 45 -50 °C en el caso de enzimas corporales)[13].

**El pH**: la mayor parte de las enzimas son activas sólo en una escala reducida de pH y tienen un valor óptimo al cual la velocidad de reacción es máxima[14]. La mayor parte de las enzimas intracelulares muestran actividad óptima a valores entre 5 y 9 de pH[15].

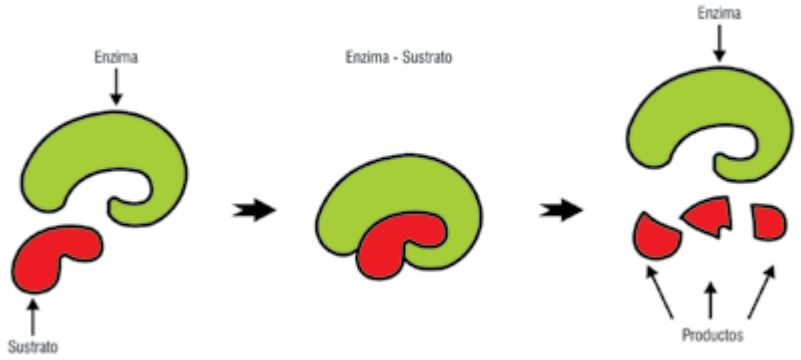
Algunas enzimas, como la pepsina, que digiere péptidos y es secretada por el estómago, consiste sólo en proteínas, pero hay otras que tienen dos componentes: uno proteico o **Apoenzima** y otro compuesto químico llamado **cofactor**, si éste es de origen orgánico (no polipeptídico) se conoce como **Coenzima**, ambos son fundamentales para la acción enzimática. Su disociación da lugar a una pérdida de actividad en este sentido[16].

| ALGUNAS CLASES IMPORTANTES DE ENZIMAS | |
|---|---|
| **CLASE DE ENZIMA** | **FUNCIÓN CATALÍTICA** |
| **Oxidorreductasas** | Reacciones de Óxido-Reducción |
| **Tranferasas** | Transferencia de un grupo funcional de una molécula donadora a una aceptora |
| **Hidrolasas** | Reacciones de hidrólisis |
| **Isomerasas** | Conversión de una forma isomérica a otra de una molécula |
| **Ligasas** | Determinadas reacciones en las cuales se unen dos moléculas |
| **Liasas** | Reacciones en las cuales se forman o se rompen enlaces dobles |

Tomado de: Biología Solomón, 2008.

**Reacción enzimática**

$$\text{Reacción: } 2H_2O_2 \xrightarrow[\text{catalasa}]{\text{peroxidasa}} 2H_2O + O_2$$




[13] MURRAY R. BIOQUÍMICA DE HARPER; 2007. p.334.
[14] SOLOMÓN, E.BIOLOGÍA; 2008. p.191.
[15] STRYER L. BIOQUÍMICA; 2003.
[16] MURRAY R. BIOQUÍMICA DE HARPER; 2011. p.334.

## MATERIALES

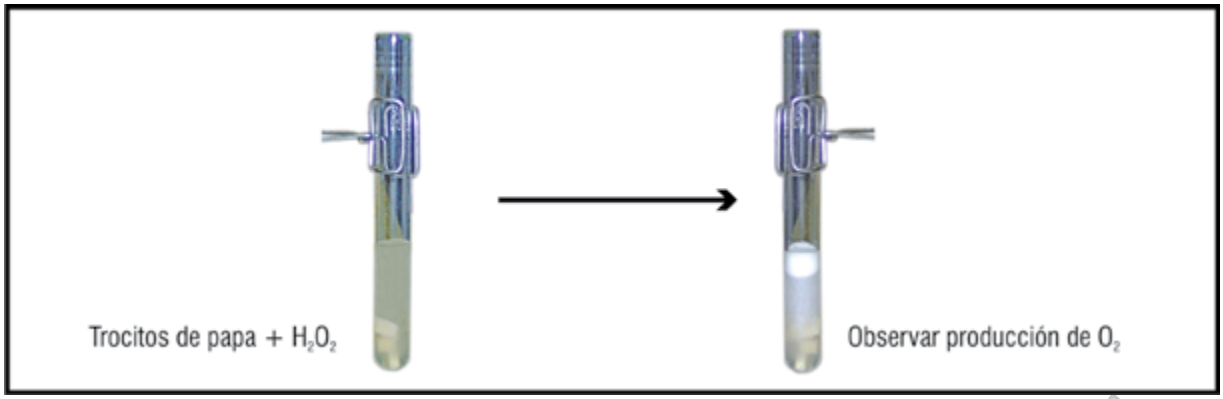
| INSTRUMENTAL | SOLUCIONES Y REACTIVOS | MATERIAL BIOLÓGICO |
|---|---|---|
| • Tubos de ensayo<br>• Pipetas de 2, 5 y 10 mL.<br>• Pipeteadores<br>• Mechero<br>• Vasos de precipitado de 50, 100, 250, 600 y 1000 mL<br>• Erlenmeyers de 100 mL.<br>• Baño María<br>• Gradilla<br>• Pinzas<br>• Mortero con pistilo<br>• Embudo<br>• Gasa<br>• Papel indicador de pH<br>• Termómetro<br>• Nevera o baño de hielo<br>• Placa de calentamiento | • Peróxido de hidrógeno<br>• Buffers pH's 5, 7, 9<br>• Solución Almidón 1%<br>• Catecol<br>• Lugol | • Papa en trozos<br>• Extracto de papa<br>• Hígado o riñón (aproximadamente 15 gr)<br>• Saliva |

## PROCEDIMIENTO

A. **ESPECIFICIDAD DEL SUSTRATO:** tome 4 tubos y agregue a cada uno lo siguiente:

| TUBO # | AGUA | PERÓXIDO DE HIDRÓGENO | TROCITOS DE PAPA | TROCITOS DE HÍGADO O RIÑÓN | REACCIÓN (SÍ) (NO) |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2 mL | | 3 | | |
| 2 | | 2 mL | 3 | | |
| 3 | 2 mL | | | 2 | |
| 4 | | 2 mL | | 2 | |

- Observe en cuáles tubos hay desprendimiento de burbujas de oxígeno, compare los cuatro tubos.
- ¿Cuáles son los tubos de control?




Biología

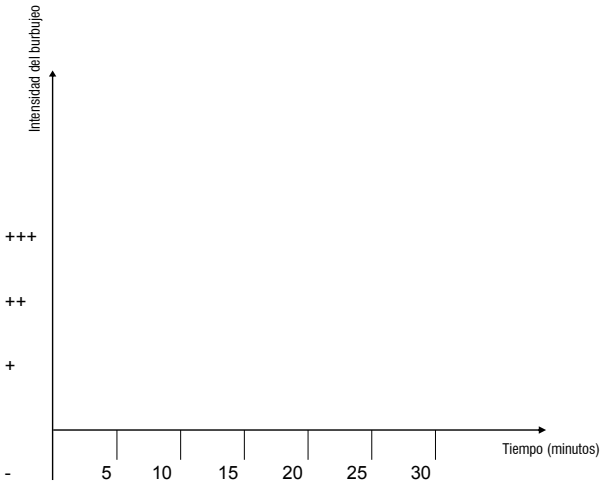
**B. FACTORES QUE AFECTAN LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA**

1. **Variación del sustrato:** añada en cuatro tubos.

| TUBO # | AGUA | SUSTRATO PERÓXIDO DE HIDRÓGENO (AGUA OXIGENADA) | ENZIMA PEROXIDASA (EXTRACTO DE PAPA) |
|---|---|---|---|
| 1 | 3 mL | | 1.0 mL |
| 2 | 2 mL | 1 mL | 1.0 mL |
| 3 | 1 mL | 2 mL | 1.0 mL |
| 4 | | 3 mL | 1.0 mL |

Observar y anotar la intensidad del burbujeo cada 5 minutos, hasta que cese. Mayor número de burbujas (+++), menor número de burbujas (+), no producción de burbujas 0, (en este caso se grafica sobre el eje X).Grafique los resultados de todos los tubos en una misma gráfica, usando colores diferentes para cada tubo.

**Gráfica 1. Variación de Sustrato**




2. **Variación de la Enzima:** Añada en 4 tubos:

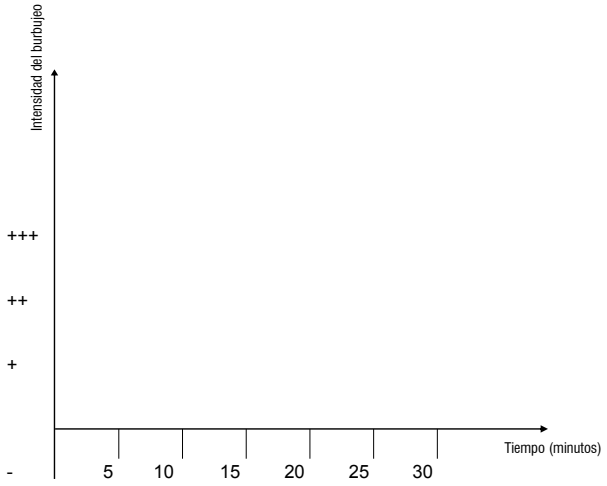
| TUBO # | AGUA | SUSTRATO PERÓXIDO DE HIDRÓGENO ($H_2O_2$) | ENZIMA PEROXIDASA (EXTRACTO DE PAPA) |
|---|---|---|---|
| 1 | 3 mL | 1.0 mL | |
| 2 | 2 mL | 1.0 mL | 1 mL |
| 3 | 1 mL | 1.0 mL | 2 mL |
| 4 | | 1.0 mL | 3 mL |

Observar y anotar la intensidad de burbujas cada 5 minutos (mayor cantidad de burbujas (+++), menor cantidad de burbujas (+), hasta que se estabilice.

Grafique como en la prueba anterior.

Biología

**Gráfica 2. Variación de la enzima**




3. **INFLUENCIA DEL pH:** recoja 10 mL de saliva en un vaso de precipitado pequeño de 50 o 100 mL y adicione 3 mL de agua destilada. Filtre esta mezcla en un vaso de precipitado de 50 mL y de ahí tome la muestra de saliva. Marque tres tubos de ensayo con los números 5, 7 y 9.

| TUBO # | SOLUCIÓN DE ALMIDÓN 1% | SALIVA | LUGOL | BUFFER | TIEMPO EN MINUTOS |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 pH 5 | 2 mL | 2 mL | 4 gotas | 2 mL pH 5 | |
| 2 pH 7 | 2 mL | 2 mL | 4 gotas | 2 mL pH 7 | |
| 3 pH 9 | 2 mL | 2 mL | 4 gotas | 2 mL pH 9 | |

**Adicionar en su orden: la solución de almidón al 1%, la saliva y el Lugol. Luego agitar vigorosamente cada tubo y finalmente agregar la solución buffer. Llevar al baño María, 37°C. A partir de ese momento contabilizar el tiempo que tarda en desaparecer el color morado.

*En la medida en que se pierde el color la cantidad de almidón disminuye mientras que la de azúcares aumenta.

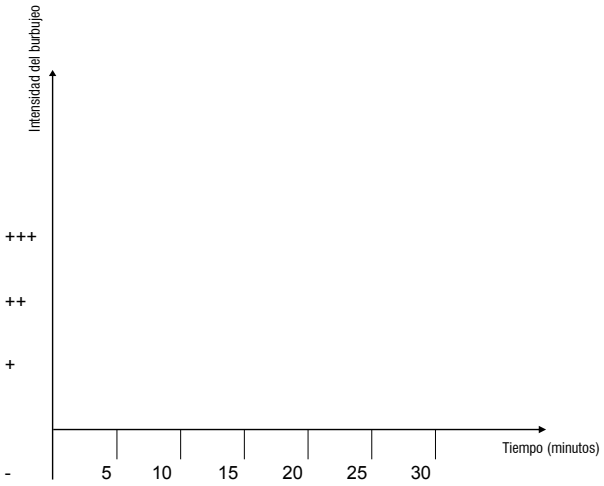
5. **Influencia de la temperatura:** tome cuatro tubos y agregue:

| TUBO # | ENZIMA PEROXIDASA (EXTRACTO DE PAPA) | SUSTRATO PERÓXIDO DE HIDRÓGENO | TEMPERATURA 30 MIN. |
|---|---|---|---|
| 1 | 2.5 mL | 2.5 mL | 0 °C o baño de hielo |
| 2 | 2.5 mL | 2.5 mL | 25 °C ambiente |
| 3 | 2.5 mL | 2.5 mL | 37 °C baño maria |
| 4 | 2.5 mL | 2.5 mL | 100 °C ver instrucción abajo* |

- Para la temperatura de baño María, utilice un vaso de precipitado con agua tibia, a 37 °C (use termómetro para controlar temperatura durante la media hora).

* Para la temperatura 100 °C, colocar en baño de agua hirviendo o hervir directamente al mechero por tres minutos al comienzo, luego dejar en la gradilla y observar cada cinco minutos.

**Gráfica 3. Influencia de la temperatura**




## PREGUNTAS ADICIONALES

1. En la reacción del extracto de papa y el peróxido de hidrógeno, señale: ¿Cuál es la enzima y dónde está? y ¿Cuál es el sustrato?

2. Cuando se aplica peróxido de hidrógeno sobre una herida, se produce burbujeo: ¿A qué se debe?

3. Esta reacción se da en los tejidos animales y vegetales: ¿Cuál es su importancia?

4. ¿Cuál es el pH al que trabaja mejor la Amilasa salival? Compare este valor con el obtenido en el laboratorio y explique lo sucedido.

5. Discuta lo que ocurre cuando: la *Pepsina* pasa del estómago al intestino y cuando la *Amilasa salival* o *Ptialina* pasa del esófago al estómago.¿A qué se debe el fenómeno?

# HOJA DESPRENDIBLE ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

Completar y entregar al docente al final de la clase. Será evaluada.

NOMBRE: _____

FACULTAD:_____ FECHA: _____

1. Escriba un objetivo para esta práctica, diferente a los enunciados:

2. Complete la siguiente tabla

| ENZIMA | SUSTRATO |
|---|---|
| PEROXIDASA | |
| CATALASA | |
| PTIALINA | |
| PEPSINA | |
| TRIPSINA | |

3. ¿Por qué en el experimento de pH el color morado desaparece a medida que transcurren los minutos?

4. ¿Por qué al sacar el tubo del vaso con hielo la actividad enzimática se reinicia?

# PRÁCTICA 4
## ESTRUCTURA Y DIVERSIDAD CELULAR

## INTRODUCCIÓN

Los seres vivos mantienen un alto grado de organización, según la teoría expuesta por los científicos: **M. Schleiden y T. Schawnn**, (*teoría celular*) los organismos se componen de unidades básicas llamadas células. Por consiguiente es pertinente el estudio de la estructura y el funcionamiento de dicha Unidad Básica e inteligente, que se comporta como un sistema, para entender el funcionamiento de organismos superiores. Las células poseen características generales que permiten su existencia independiente a la vez que comparten dichas características se diferencian en forma, tamaño y función.

Mediante la observación de células animales, vegetales y de microorganismos unicelulares y pluricelulares, ilustraremos en esta práctica la diversidad celular.

## OBJETIVOS

- Identificar células animales, vegetales, hongos, bacterias y protozoos.
- Hacer montajes sencillos que permitan visualizar algunas estructuras celulares.
- Apreciar la diversidad celular en cuanto a forma, tamaño.

## MARCO TEÓRICO

Todos los organismos están formados de células, algunos como bacterias y protozoos son células únicas, mientras que animales y plantas superiores son multicelulares, con una organización particular formando tejidos, órganos y sistemas. La biología estudia las células en función de su constitución molecular y la forma en que cooperan entre sí para formar organismos más complejos como el ser humano.

La diversidad de las células se da en varios sentidos, diversidad de tamaños, formas y clases. Así, por ejemplo, la célula vegetal se caracteriza por la presencia de plastos, grandes vacuolas y pared celular (estructura rígida que determina las formas geométricas). Las células animales por su parte pueden ser geométricas como las células planas del epitelio, esféricas como los glóbulos rojos, estrelladas como las células nerviosas o alargadas como las musculares, de variados tamaños: 7,5 micrómetros de un glóbulo rojo hasta 50 centímetros de una célula muscular.

También existe gran diversidad entre micoorganismos eucariotas, algas unicelulares y multicelulares, protozoos, hongos. Algunos protistas son ciliados, otros flagelados, pueden ser fotótrofos, en tanto que los hongos pueden ser unicelulares o multicelulares.[17]

[17] MADIGAN M., BIOLOGÍA DE LOS MICROORGANISMOS; 2009. p.51.

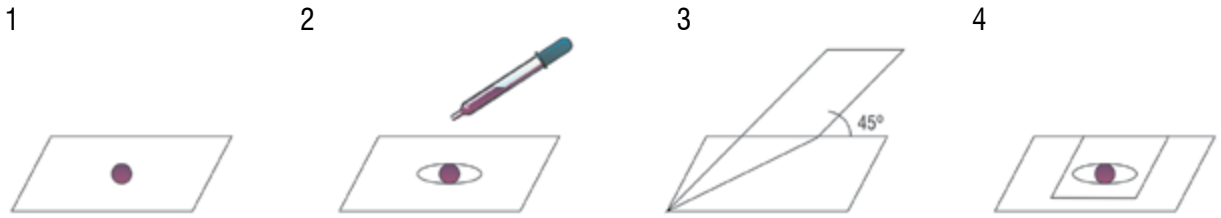
## MATERIALES

| INSTRUMENTAL | REACTIVOS | MATERIAL BIOLÓGICO |
|---|---|---|
| • Tubo de ensayo taparrosca<br>• Portaobjetos (láminas)<br>• Cubreobjetos (laminillas)<br>• Cuchillas de bisturí<br>• Palillos de madera<br>• Papel de arroz<br>• Lancetas<br>• Bandeja para coloración<br>• Mechero<br>• Asa bacteriológica<br>• Microscopio<br>• Estereoscopio | • Lugol<br>• Azul de metileno<br>• Alcohol antiséptico<br>• Metanol<br>• Giemsa o Wright<br>• Aceite de inmersión<br>• Azul de lactofenol<br>• Violeta de genciana<br>• Buffer para Wright<br>• Solución de sacarosa 2% | • Papa, cebolla, tomate, hoja de elodea<br>• Corcho<br>• Algodón<br>• Sangre<br>• Levadura liofilizada (gránulos)<br>• Alimento contaminado con hongos<br>• Agua de florero o de charca<br>• hoja de Elodea<br>• Parásito |

## PROCEDIMIENTO

**A. CÉLULAS VEGETALES:** observar y distinguir algunas estructuras vegetales.

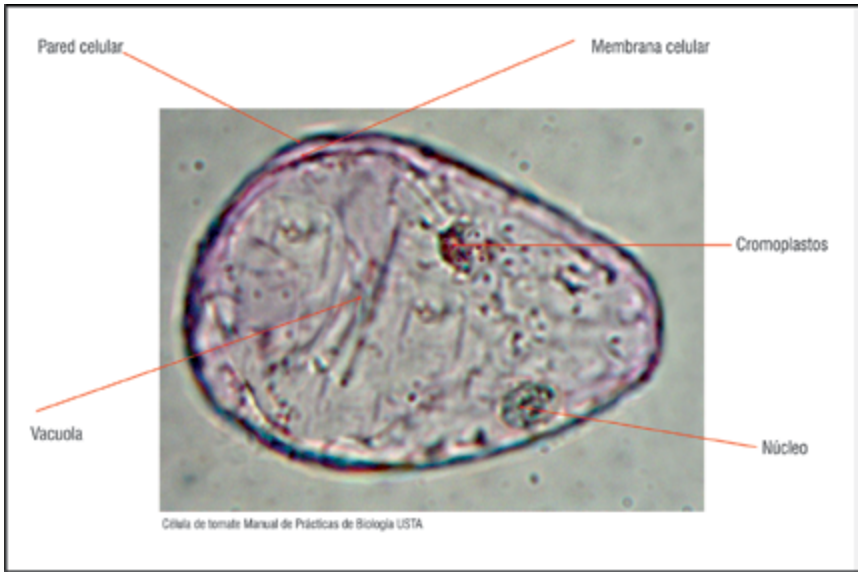
**Técnica de preparación de montajes húmedos:** siga el procedimiento descrito en el siguiente esquema.




1. Deposite una gota de agua sobre un portaobjetos limpio.
2. Ubique el objeto que va ha observar dentro de la gota de agua.
3. Coloque un cubreobjetos formando un ángulo de 45º respecto a la lámina portaobjetos.
4. Deje caer lentamente el cubreobjetos sobre la gota de agua para no atrapar burbujas de aire.

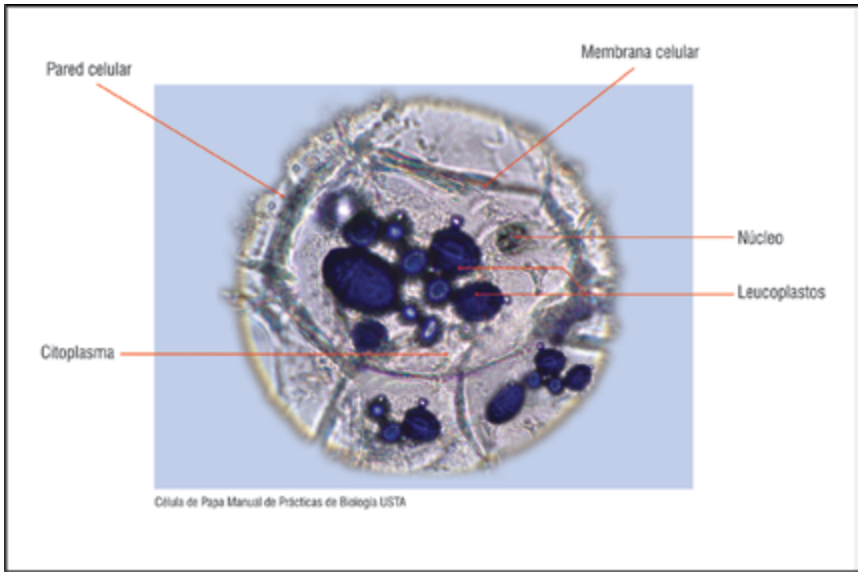
1. **TOMATE:** levante con la ayuda de la pinza un trozo de la cutícula del tomate y haga un fino raspado con el bisturí. Elabore un montaje según la técnica mostrada. Agregue agua por los bordes de la laminilla con el fin de agrandar las células que va ha observar. Identifique las siguientes estructuras:
   - Vacuolas, grande, posición central.
   - Núcleo, ligeramente desplazado hacia los bordes.
   - Cromoplastos, color rojo.
   - Pared y membrana celular.

   Observe con las lentes de 10x y 40x.



Célula de tomate Manual de Prácticas de Biología USTA

2. **PAPA:** retire la cáscara y realice un corte delgado, casi transparente, enjuáguelo para sacar el exceso de almidón y efectúe el montaje según la técnica ya descrita. Tiña con **Lugol** y observe los gránulos de almidón (color morado) almacenados en **leucoplastos** bien definidos dentro de células de forma hexagonal, como ilustra el dibujo. Señale **citoplasma, pared celular y, si es posible, núcleo**. Observe con las lentes de 10x y 40x.

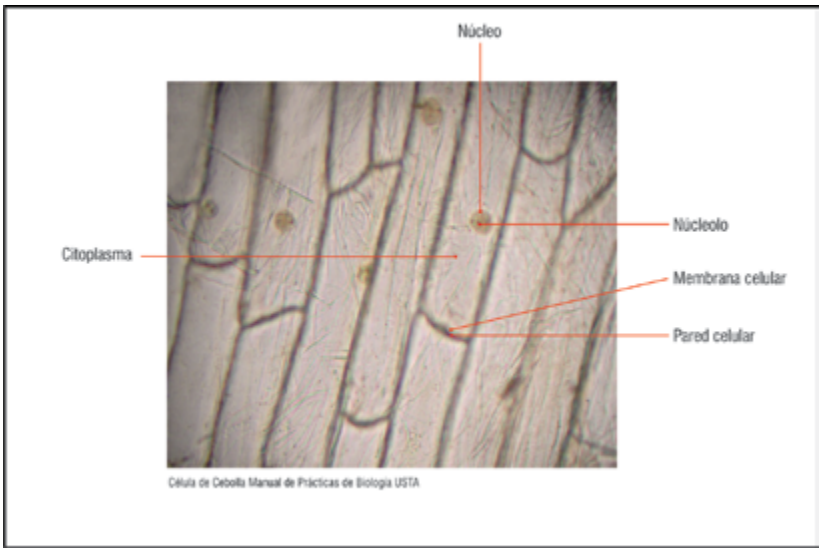


Célula de Papa Manual de Prácticas de Biología USTA

Biología

3. **CEBOLLA:** haga un cortecito al bulbo de cebolla, separe las capas y retire una porción muy pequeña de la epidermis (**capa transparente**). Realice el montaje según las indicaciones previas. Agregue una gota de azul de metileno o de **Lugol**, por el borde de la laminilla y observe con las lentes de 10x y 40x.

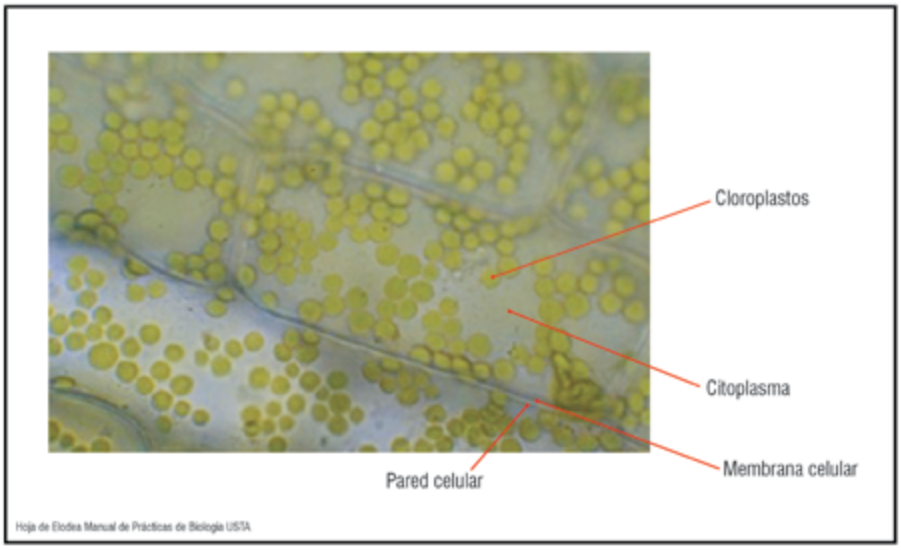
   Podrá visualizar células organizadas en empalizada (ver dibujo) en las cuales puede distinguir claramente: **pared celular, una capa delgada de citoplasma, el núcleo** (de forma circular o elíptica), dentro de él podrá apreciar uno o dos **nucleolos**, circulares de color más oscuro.



Célula de Cebolla Manual de Prácticas de Biología USTA

4. **HOJA DE ELODEA:** tome una hojita de elodea, deposítela sobre una lámina portaobjetos con una gota de agua y cúbrala con un cubreobjetos, según indicaciones previas para montajes. Lleve al microscopio y observe con lentes de 10X y 40X. Identifique la membrana celular, el citoplasma y los cloroplastos (de color verde en movimiento de *ciclosis*).

   Señalar estructuras verdes como cloroplastos, el espacio blanco entre cloroplastos como citoplasma y el borde como pared celular.



Hoja de Elodea Manual de Prácticas de Biología USTA

**B. CÉLULAS ANIMALES:**

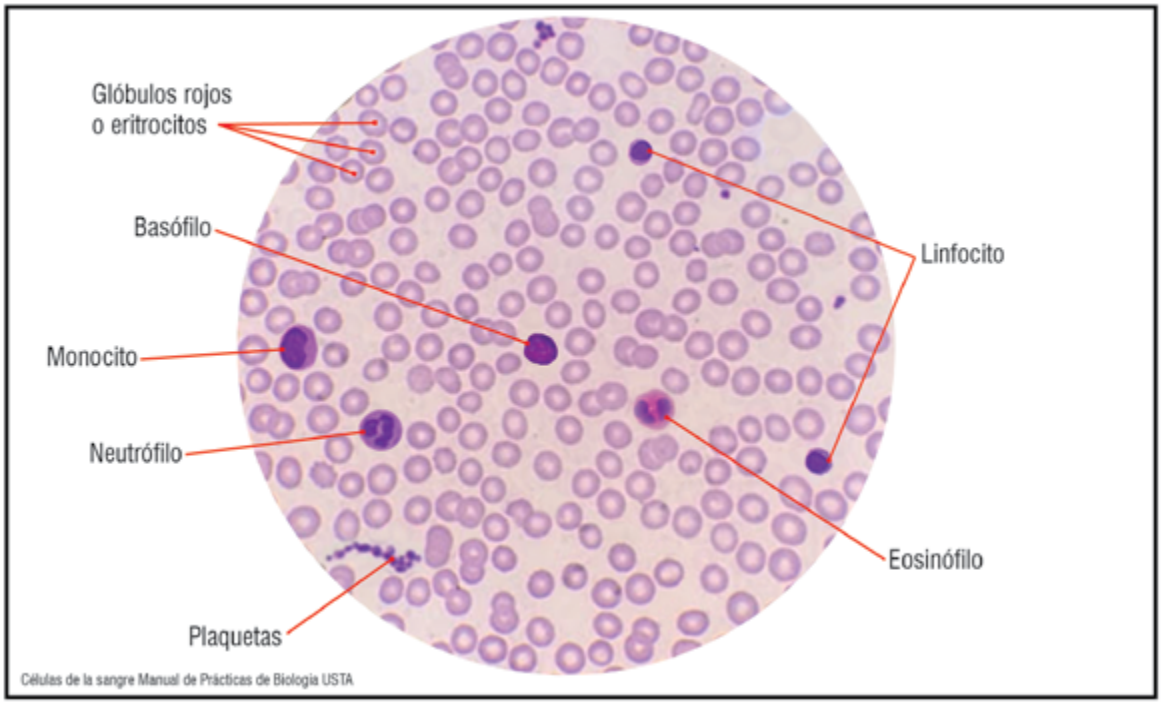
1. **SANGRE:** haga una punción dactilar, de la siguiente manera: desinfecte la yema del dedo con alcohol, pinche con una lanceta estéril para obtener una gota de sangre y aplique coloración de Giemsa o Wright, siga los siguientes pasos:

   a. Coloque una gota sangre en un extremo de la lámina (límpiela previamente con alcohol), con la ayuda de otra lámina extienda la gota de sangre. Deje secar.
   b. Trate el extendido totalmente con metanol hasta que éste se evapore.
   c. Cubra toda la lámina con colorante de Giemsa o Wright. Déjelo actuar por 15 minutos. Lave cuidadosamente la lámina con agua o con buffer para Wright.
   d. Observe al microscopio con el objetivo 100x y el aceite de inmersión.
   e. Identifique:

   - **ERITROCITOS O GLÓBULOS ROJOS:** células sin núcleo de forma bicóncava de color rosado grisáceo.

   - **LEUCOCITOS O GLÓBULOS BLANCOS:** células de citoplasma pálido y núcleo fuertemente teñido, con diferentes formas, diferencie neutrófilos, eosinófilos, basófilos.

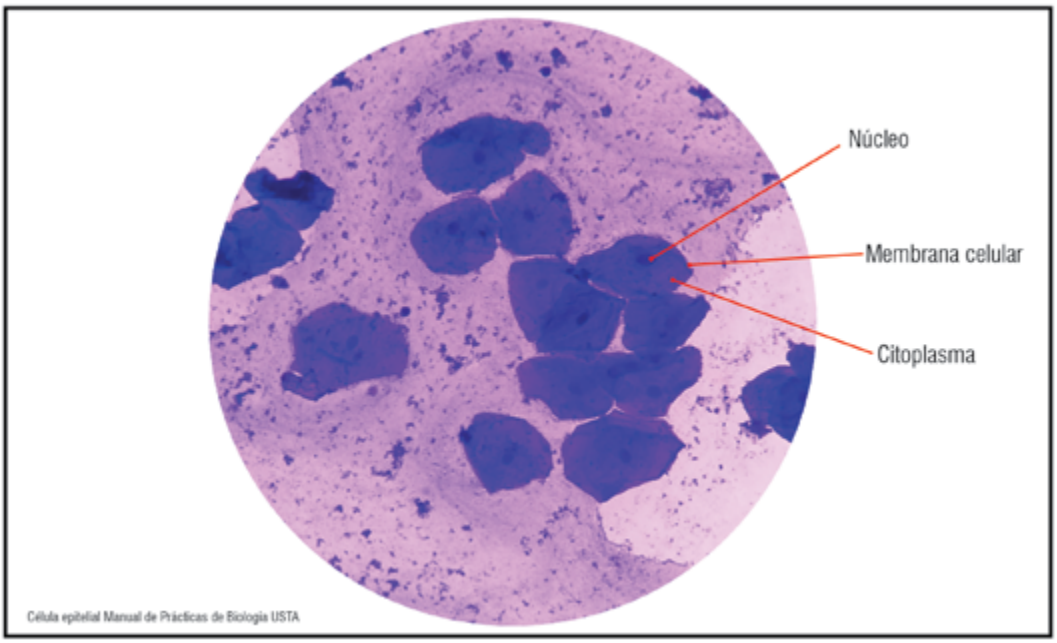
   - **PLAQUETAS:** son fragmentos de células, por lo tanto, son anucleadas. Provienen de células de gran tamaño que son destruidas al pasar al torrente sanguíneo. Se observan formando cúmulos de color morado.



Células de la sangre Manual de Prácticas de Biología USTA

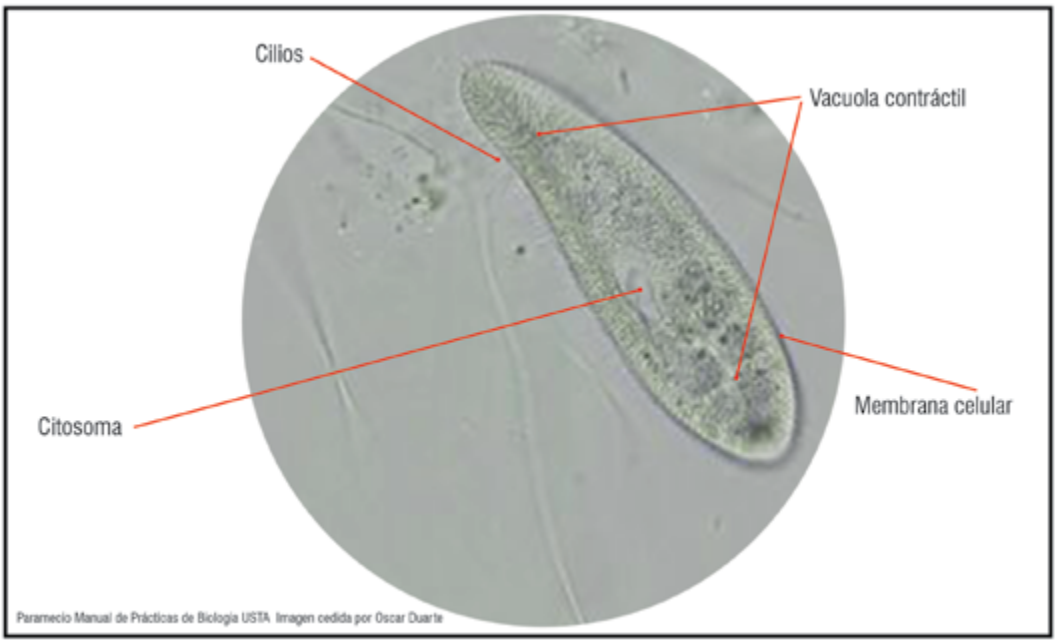
Biología

2. **CÉLULA EPITELIAL DE LA MUCOSA ORAL:** tome un palillo de madera limpio, haga un raspado de la mucosa de la cara interna de la mejilla, deposítelo en un cubreobjetos y coloreé con una gota de violeta, cubra con cubreobjetos, lleve al microscopio y observe con lentes de 10X y 40X. Identifique las estructuras celulares núcleo, citoplasma, membrana.



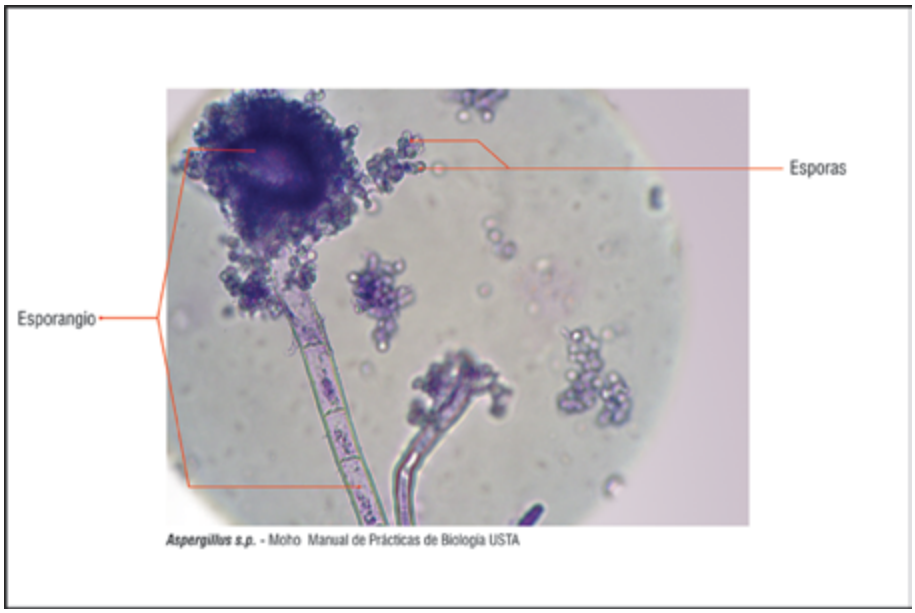

**C. MICROORGANISMOS DE AGUA DULCE (protozoos)**

Deposite una o dos gotas de agua de charco o florero, sobre una lámina portaobjetos, colóquele el cubreobjetos y examine el montaje con menor aumento, luego con mayor aumento, para que observe detalles estructurales como cilios, flagelos, manchas oculares, vacuolas y cloroplastos que pueden estar presentes en las diferentes clases de células que observa. Puede adicionar una gota de azul de metileno para mejorar el contraste.



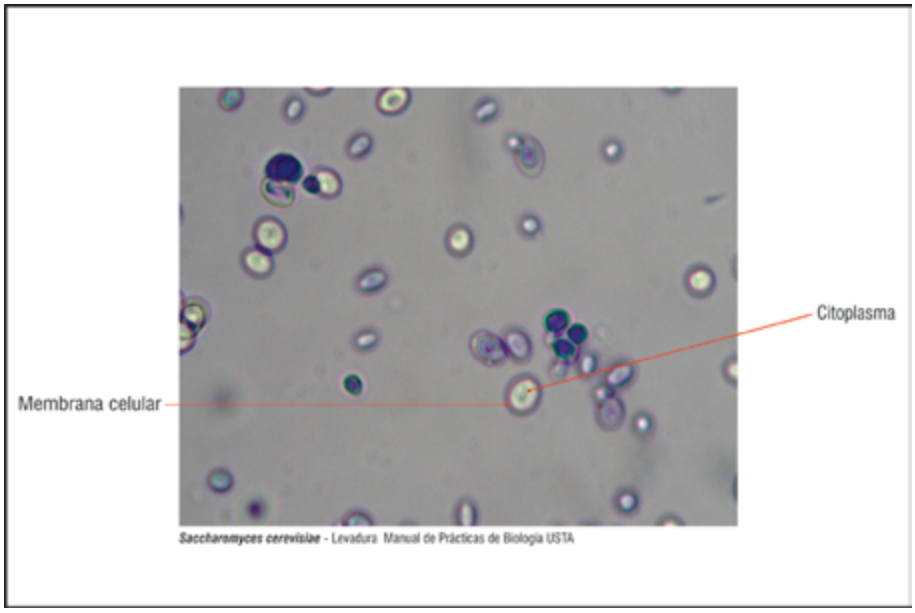
## D. HONGOS

1. **Mohos:** junto al mechero encendido, haciendo uso del asa bacteriológica y con la debida precaución tome una muestra del moho del alimento, deposítela en un portaobjetos, coloree con azul de lactofenol, cubra con una laminilla, cuide de no atrapar burbujas y observe con las lentes de 10x y 40x. Identifique hifas, micelio, esporangio, esporas.




*Aspergillus s.p.* - Moho Manual de Prácticas de Biología USTA

2. **Levaduras:** coloque un poco de levadura liofilizada en 5 mL de solución de sacarosa al 2% en un tubo de ensayo taparrosca, agite el tubo y luego déjelo reposar 20 minutos. Luego coloree con rojo congo o azul de metileno. Extraiga una gota y deposítela en una lámina portaobjetos, cúbrala y observe al microscopio con aumento de 40X y 100X.




*Saccharomyces cerevisiae* - Levadura Manual de Prácticas de Biología USTA

Biología

UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS SECCIONAL BUCARAMANGA

## PREGUNTAS ADICIONALES

1. Haga un cuadro comparativo de diferencias y similitudes según lo observado en sus montajes de células vegetales y animales.

2. ¿Qué son los protozoos, cuáles son sus características morfológicas?

3. ¿Cuáles organelas son típicas de células vegetales y cuáles de células animales?

4. ¿Qué diferencias hay entre mohos y levaduras? ¿Qué es la penicilina, quién la descubrió y para que se usa?

5. Establezca diferencias entre células **procariotas** y **eucariotas.**

Biología

# HOJA DESPRENDIBLE ESTRUCTURA Y DIVERSIDAD CELULAR

Completar y entregar al docente al final de la clase. Será evaluada.

NOMBRE: _____

FACULTAD:_____ FECHA: _____

1. ¿Cómo se ve reflejado el concepto de diversidad celular en su cuerpo?

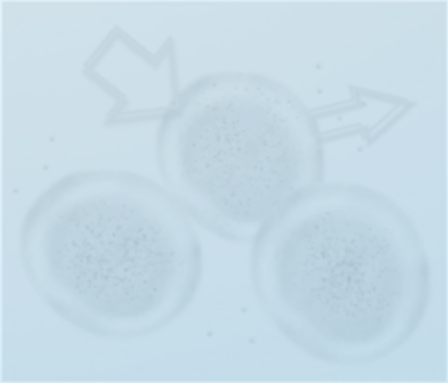
2. Dibuje la estructura celular de:

Célula tomate con 10x

Célula epitelial animal (mucosa oral) 40X

Levadura 100x

3. ¿Cuáles fueron las diferencias más notorias entre las células observadas? Cite al menos cinco.



Solución Hipotónica

Solución Isotónica

Solución Hipertónica

# PRÁCTICA 5

## MECANISMOS DE TRANSPORTE CELULAR
## DIFUSIÓN Y ÓSMOSIS

## INTRODUCCIÓN

Una parte fundamental de la célula es la membrana celular, estructura semipermeable que cumple funciones como servir de barrera dinámica entre el medio celular interno y el medio externo, comunicar las células, identificarlas y regular el movimiento de solutos, solventes y partículas, desde y hacia la célula, lo cual le permite cumplir con la función básica de nutrición. El intercambio de sustancias se lleva a cabo por medio de varios mecanismos de transporte activo y transporte pasivo.

## OBJETIVOS

- Diferenciar algunos mecanismos de transporte celular.
- Analizar los procesos de difusión en sistemas vivos.
- Observar los cambios que experimenta la membrana celular cuando se expone a soluciones de diferentes concentraciones osmóticas.

## MARCO TEÓRICO

Las células funcionan independientemente porque pueden nutrirse y excretar por medio de la membrana celular, bicapa de fosfolípidos y proteínas que permite el intercambio de moléculas. Para la célula es indispensable regular su propia composición, mantener sus condiciones constantes, a pesar de los cambios que ocurran en el medio externo. Este equilibrio lo logra la célula mediante su membrana celular. La mayoría de las sustancias útiles para las células como azúcares, aminoácidos, requiere de otras moléculas para su transporte, en función de la migración respecto al gradiente de concentración se habla de transporte pasivo o transporte activo.

## TRANSPORTE PASIVO

Ocurre espontáneamente, este a su vez puede ser: **difusión simple**, por la bicapa de lípidos (*permite transporte de moléculas Oxígeno, Nitrógeno, $CO_2$, urea entre otras*) o **difusión facilitada**, favorecida por otras moléculas, como proteínas transportadortas o **permeasas** (ejemplo, el trasporte de glucosa)[18] Las moléculas de agua se mueven con facilidad a través de una membrana semipermeable o diferencialmente permeable de una región con menor concentración de solutos a una con mayor concentración de solutos, proceso que se conoce como **Ósmosis**[19]. El flujo de agua a través de las membranas lleva consigo algunos iones o moléculas que causan una presión sobre la membrana celular, denominada **Presión osmótica**.

**TRANSPORTE ACTIVO:** mueve sustancias a través de una membrana en contra del gradiente de concentración, con el consecuente gasto de energía, obtenido por degradación de ATP. Uno de los transportadores activos mejor estudiados es una enzima transmembranosa: la bomba de sodio/potasio[20].

[18] PANIAGUA R., BIOLOGÍA CELULAR; 2007, p. 53.
[19] KARP G., BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR; 2011, p. 144-145.
[20] PANIAGUA R., BIOLOGÍA CELULAR; 2007, p. 55.

Otras formas de transporte activo son endocitosis y exocitosis, mediante la exocitosis, una célula expulsa productos de desecho y por medio de la endocitosis transporta materiales hacia el interior de la célula por procesos como:

- **Fagocitosis:** proceso mediante el cual una porción de membrana plasmática envuelve físicamente una partícula extraña, visible en el microscopio de luz, (la engulle), formándose una fagosoma donde se degrada todo su contenido.

- **Pinocitosis:** proceso que le permite a la célula absorber materiales disueltos, por medio de sus pliegues que le permiten atrapar microgotas que luego son vaciadas al citoplasma.

De acuerdo a la concentración celular, la concentración de las soluciones que rodean una célula, tejido u órgano, se denomina:

1. **Solución isotónica:** cuando la concentración de la solución externa es igual a la celular.

2. **Solución hipertónica:** cuando la concentración de la solución externa es mayor que la del contenido celular.

3. **Solución hipotónica:** cuando la concentración de la solución externa es menor que la celular.

La concentración plasmática cambia con la edad de la célula como consecuencia de la actividad bioquímica o para adaptarse a los cambios de los diferentes parámetros ambientales[21].

En células vegetales, la presión que ejerce el contenido celular sobre la pared celular se denomina **Presión de turgencia**, (sin ésta el soluto en las células de savia es mayor que el medio externo, el agua entra a la célula y ésta se hincha. Mientras que, si la célula se encuentra en un medio que contenga una concentración de soluto mayor que dentro de ésta, se arruga o *plasmoliza*). Y la presión que ejerce la pared sobre el contenido citoplasmático se denomina **Presión parietal**.

## MATERIALES

| INSTRUMENTAL | SOLUCIONES y REACTIVOS | MATERIAL BIOLÓGICO |
|---|---|---|
| • Cajas de Petri<br>• Mechero<br>• Gradilla<br>• Bolsas de papel celofán<br>• 2 vasos de precipitado<br>• Tubos de ensayo<br>• Pipetas<br>• Pipeteadores<br>• Hilo, goteros y pinzas<br>• Laminillas-Láminas<br>• Palillos<br>• Algodón<br>• Lancetas<br>• Pinzas de madera | • Glucosa 2%<br>• Almidón 2%<br>• NaCl 10%<br>• Solución salina 0.9%, 2%, 0.4%.<br>• Sacarosa 3%<br>• Lugol<br>• $AgNO_3$<br>• Reactivo de Benedicts<br>• Azul de metileno<br>• Solución de glucosa<br>• Rojo congo | • Sangre<br>• Hojas de elodea<br>• Solución de levadura 0.5% |

[21] PACHÓN DIANA - HERRERA CLAUDIA. MANUAL BIOLOGÍA; UNIANDES, 2001.

## PROCEDIMIENTO

### A. DIFUSIÓN.

1. **Difusión libre**. llenar dos cajas de Petri casi hasta el borde, una de ellas con agua caliente. Colocar simultáneamente una gota de azul de metileno en el centro de cada caja. Observe lo que sucede en cada una de las cajas.

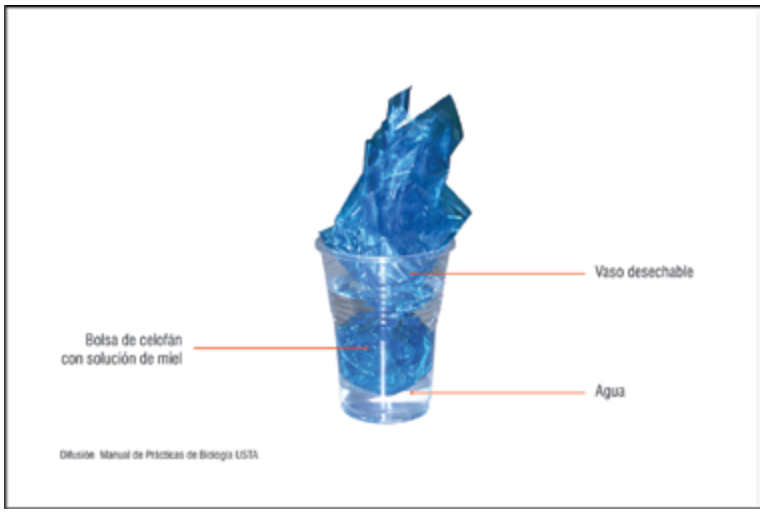
Tome nota del tiempo transcurrido desde que colocó colorante (tiempo cero) y el tiempo de distribución uniforme, cuando toque la mancha coloreada los bordes de la caja (tiempo final). El intervalo es el tiempo de difusión. Compare.

2. **Difusión a través de una membrana artificial**. **"En su casa" y con suficiente anticipación**. Acondicionar varias bolsas de celofán y llenar cada una de ellas con:

   - *Solución de miel* (miel en agua).
   - *Solución de almidón* (maizena en agua).
   - *Solución de NaCl* (sal común en agua).
   - *Solución de tinta china* (tinta china en agua).

- Ciérrelas herméticamente y suspenda cada una de ellas dentro de un vaso desechable con agua. (*cuatro vasos en total*).

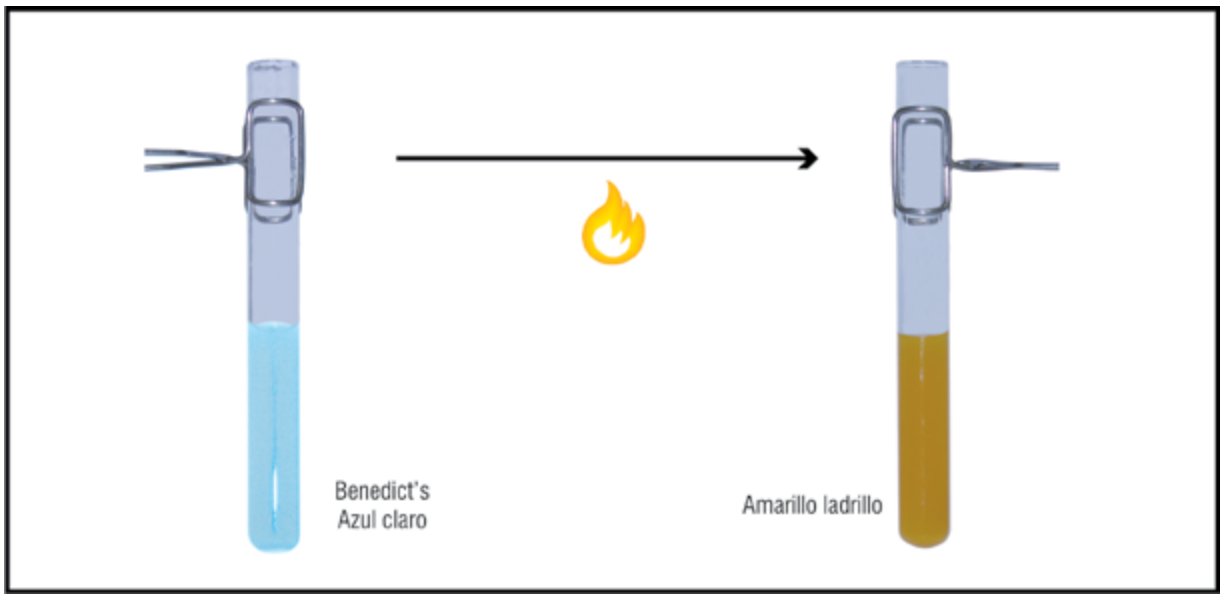
- Lleve el montaje al laboratorio.




## EN EL LABORATORIO

- Tome 4 mL del agua que rodea **cada una** de las bolsas de los vasos, para ser distribuidos en cuatro tubos distintos (márquelos). Mediante la reacción específica con **Lugol** para almidón, reactivo de **Benedict's** para el caso de la miel y **Nitrato de Plata**, para sales, determinar la presencia de las sustancias que atravesaron la membrana de celofán y que ahora se encuentran en el agua que rodea la bolsita de celofán.

**Ejemplo para la miel:**

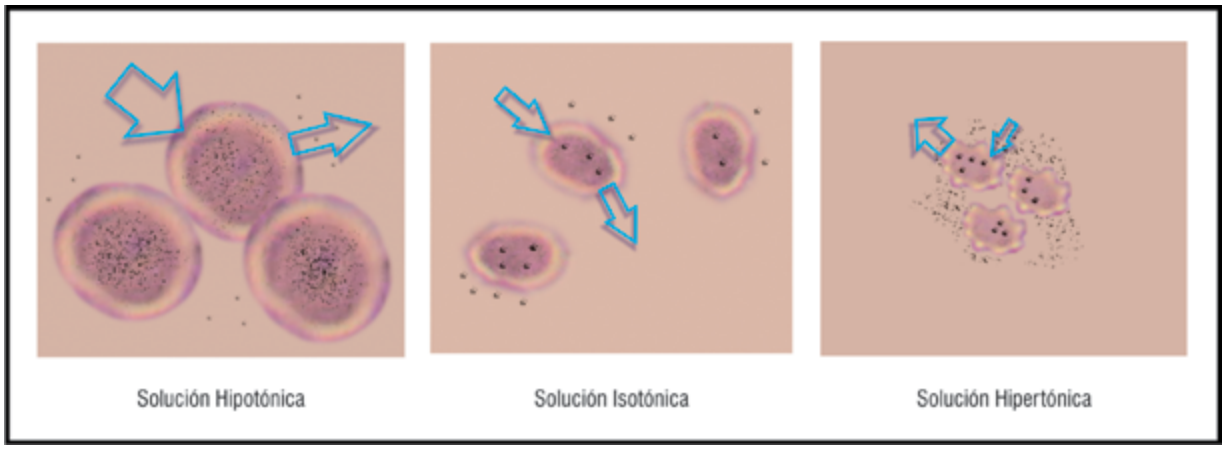



**B. ÓSMOSIS-HEMÓLISIS**

1. Eritrocitos como osmómetros. tome cuatro portaobjetos y coloque en cada una de ellas una gota de sangre, luego adicione, a las tres primeras láminas, 2 gotas de solución salina así:

| PLACA | SOLUCIÓN SALINA |
|---|---|
| 1 | 0.9% |
| 2 | 2% |
| 3 | 0.4% |
| 4 | control |

2. Observe al microscopio con lentes de 40X y 100X, en fresco o si prefiere tiña previamente con Wright.




Biología

**C. PLASMÓLISIS.** tome una hoja de elodea, sumérjala en un tubo de ensayo con solución de sacarosa y luego de 30 minutos observe la hoja al microscopio con lente de 10X y 40X. Compare con una hoja fresca. Observe el fenómeno de separación que se da entre la membrana y la pared celular. Dibuje.

**D. TRANSPORTE ACTIVO. (para todo el grupo).** tome dos tubos de ensayo (identifíquelos como tubo 1 y tubo 2), en cada uno vierta 1 mL de solución de levadura. Caliente el tubo 1 al baño de María, 37°C por 15 minutos y deje el tubo 2 a temperatura ambiente en la gradilla.
Pasados los 15 minutos:

- Agregue 5 mL de **solución de glucosa** a cada uno de dos tubos.
- Deje enfriar el tubo calentado y añada 6 gotas de solución **Rojo Congo** a cada tubo.
- Agite los tubos suavemente y dejelos reposar por 5 minutos.
- Marque dos portaobjetos con los números de los tubos.
- De cada tubo (1 y 2), tome dos gotas y depositelas en las láminas correspondientes.
- Cubra las preparaciones y llévelas al microscopio y observe con las lentes de 10X y 40X.
- En cada caso cuente 50 células y determine en ellas la proporción de células coloreadas y sin colorear.
- Expréselo como porcentaje.

| MUESTRA | Número de células coloreadas | % células coloreadas | Número de células sin colorear | % células sin colorear |
|---|---|---|---|---|
| TUBO 1<br>Levadura baño María | | | | |
| TUBO 2<br>Levadura temperatura ambiente | | | | |

## PREGUNTAS ADICIONALES

1. ¿Por qué se habla de difusión libre en el experimento de las cajas de Petri?
2. ¿Qué sucede con los glóbulos rojos al ser colocados en las diferentes soluciones de NaCl?
3. ¿Qué papel cumple la ATPasa en el funcionamiento de la **bomba sodio-potasio**?
4. ¿Qué le ocurriría a las células del cuerpo si se les cambiara bruscamente la concentración del medio donde se encuentran?
5. ¿Por qué se dice que en el transporte de glucosa a través de células epiteliales hay dos tipos de transporte: cotransporte y difusión facilitada?
6. ¿Qué efecto tiene la temperatura sobre las células de levadura en el experimento del trasporte activo?
7. Mencione algunos procesos que ocurren en su cuerpo y se realizan por trasporte activo.

# HOJA DESPRENDIBLE MECANISMOS DE TRANSPORTE CELULAR DIFUSIÓN Y ÓSMOSIS

Completar y entregar al docente al final de la clase. Será evaluada.

NOMBRE: _____

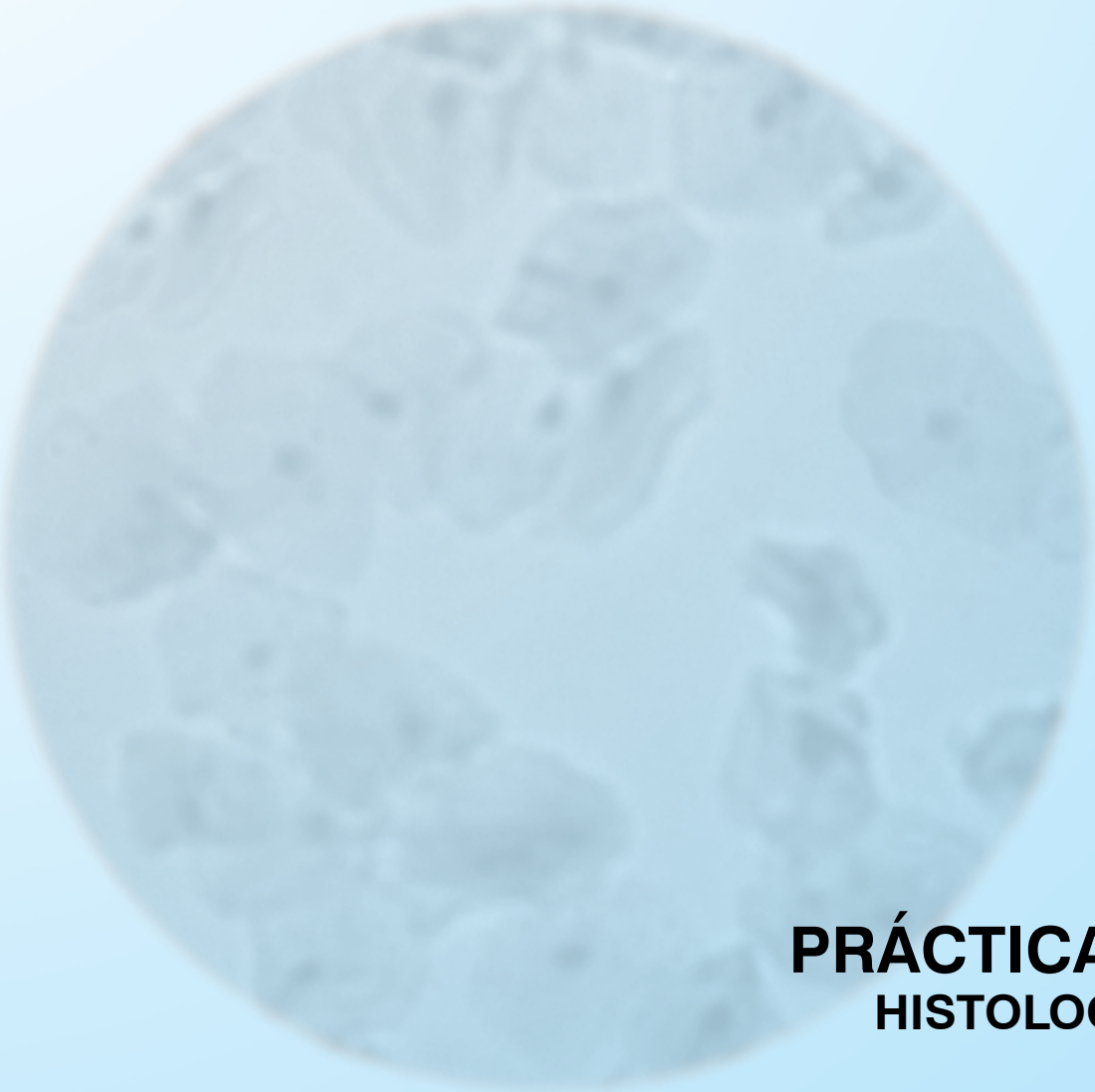
FACULTAD:_____ FECHA: _____

1. ¿Qué diferencia hay entre difusión libre y difusión facilitada?

2. ¿Qué papel cumple la bolsa de papel celofán? ¿Podría sustituirse por plástico o papel aluminio? Explique.

3. Con sus propias palabras explique lo que le sucede a una célula cuando se coloca en una solución hipotónica y en una hipertónica. (indique cómo es el flujo de solvente y de soluto).

4. ¿Qué bibliografía consultó para la práctica de hoy?



# PRÁCTICA 6
## HISTOLOGÍA

## INTRODUCCIÓN

En los organismos la cantidad de células y no el tamaño individual de las mismas es lo que determina su talla. El grado de evolución puede relacionarse con la especialización y división del trabajo entre las células componentes. Hay gran diversidad en las células de un animal, de una planta o de un humano; cada una se especializa en ciertas funciones. Las células se asocian para formar tejidos y éstos a su vez órganos y sistemas. La especialización celular optimiza la fisiología del organismo a la vez que compromete más su cuidado ya que una lesión en una parte puede significar la destrucción parcial o total del mismo.

Un tejido es un grupo o capa de células similares estrechamente asociadas que, en conjunto, realizan funciones específicas. El estudio de la estructura y disposición de los tejidos se llama *HISTOLOGÍA*. En esta práctica nos aproximaremos al estudio de algunos tejidos del organismo.

## OBJETIVOS

- Aprender a diferenciar algunos tejidos que conforman el cuerpo humano.
- Relacionar los distintos tejidos con su origen embrionario, sus células características, su función y localización.
- Establecer relaciones entre los diferentes tejidos.
- Mejorar las habilidades en el manejo del microscopio.

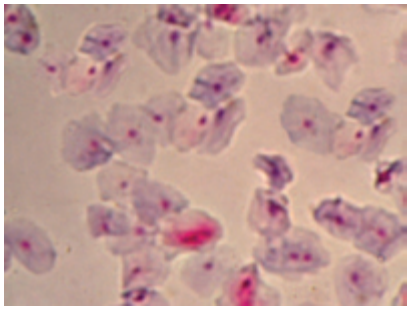
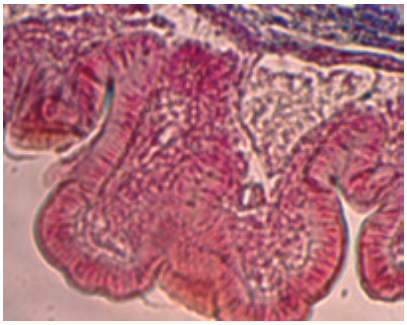
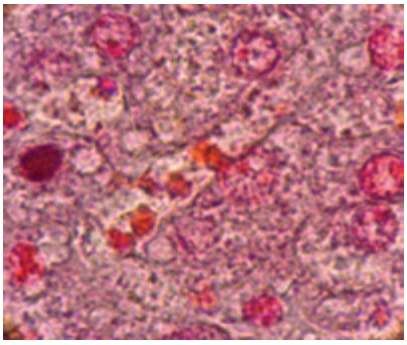
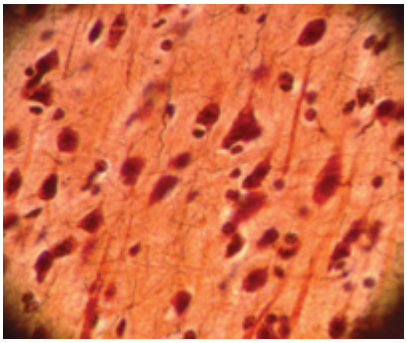
## MARCO TEÓRICO

El cuerpo está estructurado por células, matriz intracelular y un líquido extracelular que baña estas estructuras. Las células se agrupan para formar tejidos (grupos de células estrechamente asociadas que realizan funciones específicas). Puesto que la actividad animal es mayor que la vegetal, estos organismos necesitan una diversidad de órganos que suponen la necesidad de tener una gran variedad de tejidos, se consideran cuatro grandes grupos: EPITELIAL, MUSCULAR, NERVIOSO Y CONECTIVO, éstos a su vez presentan *"variedades",* o sea, tejidos de la misma clase pero con algunas diferencias. Una variedad de tejido se denomina por más de un nombre, por ejemplo, *"Tejido conectivo especializado sangre".* Conectivo corresponde a la clase de tejido y sangre a la variedad[22,23].

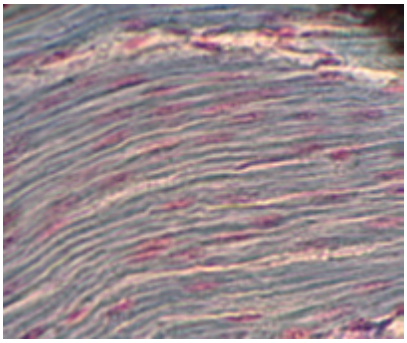
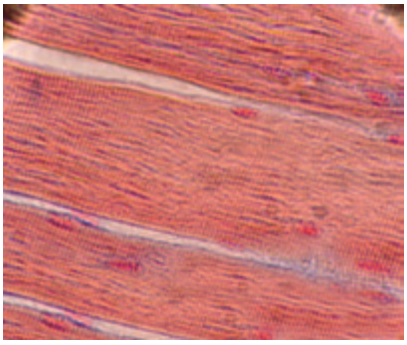
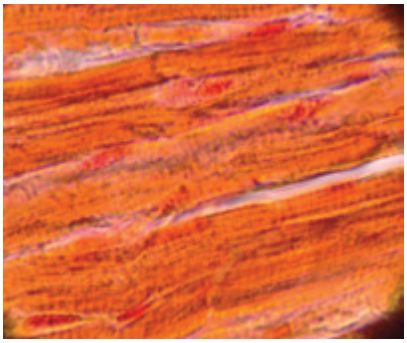
Cada variedad de tejido consta de células con tamaño, forma y disposición característicos. Los tejidos pueden estar formados por otros elementos además de las células vivas; por ejemplo, el líquido tisular que se deriva del plasma sanguíneo se encarga de transportar nutrientes, oxígeno y moléculas de señalamiento a las células del cuerpo.

[22] GARTNER L. HISTOLOGÍA, 2002, p. 1,11.
[23] JUNQUEIRA Y CARNEIRO, HISTOLOGÍA BÁSICA,1996.

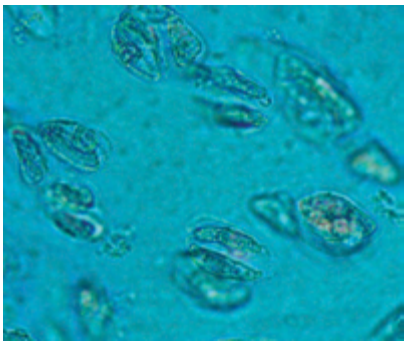
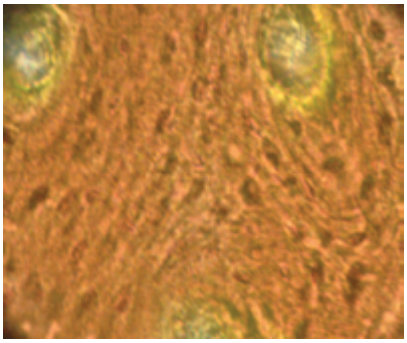
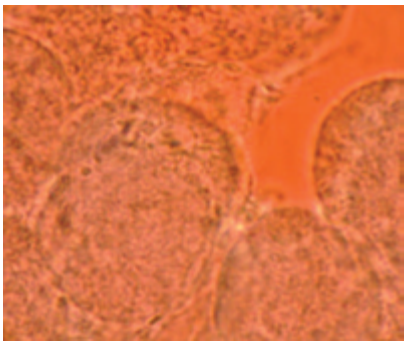
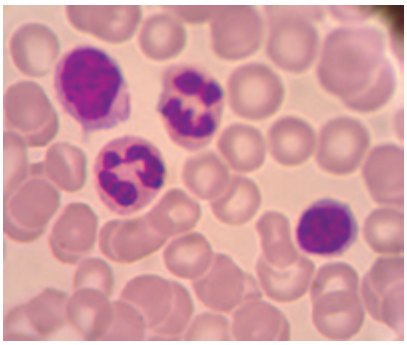
El siguiente cuadro pretende organizar de manera sencilla los distintos tejidos, mencionar algunas características básicas y mostrar la imagen correspondiente. Relacionelas con las laminas de las images observadas y con las del libro de histología.

| TEJIDO | | DIBUJO | FUNCIÓN |
|---|---|---|---|
| EPITELIAL | EPITELIO DE REVESTIMIENTO:<br><br>Sus células están muy cerca unas de otras, reviste la parte externa (**epidermis**) presente en órganos anexos como pelo o uñas, tapiza cavidades internas que se comunican con el exterior (**epitelio**) y recubre el interior de cavidades cerradas como corazón, útero, vasos sanguíneos (**endotelio**). |  <br>  | Protección.<br>Revestimiento.<br>Absorción.<br>Sensación. |
| | EPITELIO GLANDULAR:<br><br>Comprometido en el fenómeno de secreción, constituye las llamadas glándulas. Las hay de dos tipos: **endocrinas** (no poseen conductos y el producto de su secreción se vierte directamente al torrente sanguíneo) y **exocrinas** (secretan sus productos hacia la superficie libre). |  | Secreción. |
| NERVIOSO:<br><br>Conformado por células muy transformadas y excitables, llamadas neuronas, encargadas de funciones receptoras, integradoras y motoras y por células de soporte llamadas células gliales, que dan sostén y nutrición a las neuronas. | |  | Recepción, transmisión, procesamiento y emisión de respuestas por medio de señales electro-químicas. |

Fotos: Departamento de Comunicaciones USTA.

| | TEJIDO | DIBUJO | FUNCIÓN |
|---|---|---|---|
| MUSCULAR | LISO:<br><br>Sus células son fibras alargadas y abultadas en el centro, con uno o dos núcleos. Efectúa contracciones lentas y prolongadas, independientes de la voluntad. |  | Contracción invonluntaria. |
| | ESTRIADO ESQUELÉTICO:<br><br>Sus células son fibras alargadas, multinucleadas y presentan estrías, efectúa contracciones rápidas, bruscas y depende de la voluntad. |  | Responsable de los movimientos voluntarios. |
| | CARDIACO:<br><br>Formado por fibras estriadas, con uno o dos núcleos y ramificaciones cortas. Es de contracción involuntaria y rítmica, forma el corazón. |  | Controla el flujo sanguíneo y bombeo de la sangre. |

Fotos: Departamento de Comunicaciones USTA.

| | TEJIDO | DIBUJO | FUNCIÓN |
|---|---|---|---|
| CONECTIVO | CARTILAGINOSO:<br><br>Importante en fases embrionarias, carece de nervios, vasos linfáticos y sanguíneos, puede ser **hialino** (en nariz, tráquea, laringe), **fibroso** (entre las vértebras) y **elástico** (pabellón oreja). |  | Reduce fricción por rozamiento sostén flexible. |
| | ÓSEO:<br><br>Sus células son **osteocitos**, **osteoblastos** y **osteoclastos**. Forman **tejido esponjoso** (en extremos de huesos largos y en huesos planos y cortos) y **tejido compacto** (partes medias de huesos largos y parte de huesos planos y cortos) estructura en forma de láminas. |  | Dar soporte y sostén al organismo. Se encarga de la fabricación de células sanguíneas. |
| | ADIPOSO:<br><br>Rico en **adipocitos**, especialmente en la capa subcutánea y alrededor de los órganos internos. |  | Almacenan grasas y las liberan cuando se necesita combustible. |
| | SANGRE Y LINFA:<br><br>Estos se especializan en transporte. La sangre está constituida por **glóbulos rojos**, **glóbulos blancos y plaquetas**, La linfa especialmente rica en leucocitos |  | Transporte de nutrientes, $O_2$, $CO_2$, Defensa del organismo. Coagulación. |

Fotos: Departamento de Comunicaciones USTA

## MATERIALES

| INSTRUMENTAL | REACTIVOS | MATERIAL BIOLÓGICO |
|---|---|---|
| • Bisturí<br>• Tijeras<br>• Portaobjetos- cubreobjetos<br>• Gotero<br>• Papel blanco<br>• Pinzas<br>• Microscopio<br>• Vaso de precipitado de 50 mL<br>• Vidrio de reloj | • HCl concentrado<br>• NaOH, soda caústica<br>• Rojo Congo<br>• Violeta | • Micropreparados<br>• Trozo de carne que tenga grasa (no más de 20 gramos)<br>• Hueso de pollo |

** Atlas de Histología.

## PROCEDIMIENTO

**Primera parte**

- Observar las distintas láminas traídas al laboratorio (micropreparados suministrados por la docente).
- Hacer dibujos de cada una de las láminas observadas.
- Apoyarse en un atlas de histología y en las imágenes del manual para esta práctica.
- Detallar la forma de las células, organización y características más relevantes.
- Clasificar el tejido de acuerdo a la información previa.

** De cada lámina deberá referenciar: Células típicas, características de estas células, origen embrionario, localización y función del tejido. (*Ver organización de resultados*).

**Segunda parte**

OBSERVACIÓN DE TEJIDOS ANIMALES.

**1. Tejido Adiposo**

Con una pinza metálica, tomar una diminuta muestra de tejido graso (color blanco-amarillento), depositarla en una lámina portaobjetos, adicionar una gota de rojo Congo o violeta, cubrir y observar al microscopio con lentes de 10X y 40X.

**Describa la forma de las células adiposas y la ubicación del núcleo**

**¿En que parte del cuerpo se ubica este tejido?**

Biología

**2. Tejido Óseo**

- Preparar una solución de soda cáustica e introducir el hueso en dicha solución, de tal manera que la mitad quede visible. Dejar 3 o 4 días.
- Sacar el hueso y lavarlo, comprobar que la parte introducida se ha vuelto blanda y flexible.
- Hacer cortes finos de la parte blanda y teñir con violeta de genciana o azul de metileno durante 2 o 3 minutos.
- Lavar con agua destilada hasta que no suelte colorante.
- Preparar una lámina con glicerina.
- Observar con 10X y 40X.

**Dibuje y describa las características del tejido, forma y disposición de las células óseas.**

**3. Tejido Muscular**

Montaje en fresco

- Con una pinza tomar una porción de músculo estriado (trozo de carne) de unos 5mm de longitud por 2mm de grosor y llevarlo al portaobjetos, al que previamente le ha agregado una gota de agua.
- Con la aguja enmangada se procura disociar el trocito. Coloque el cubreobjetos y observe en menor y mayor aumento.

**Describa la forma y características particulares de las fibras musculares (núcleos, tipos de estrias)**

**Simultáneamente:**

- Sumergir durante media hora, un trocito de carne en HCl concentrado.
- Al producirse la disociación, tomar con el gotero una porción y llevarlo al portaobjetos.
- Lavar y teñir con violeta de genciana o azul de metileno.
- Colocar el cubreobjetos, tener el cuidado de limpiar el exceso de la solución coloreada con una tira de papel secante.
- Observar en menor y mayor aumento (10 x ,40x).

**Describa la forma y características particulares de las fibras musculares (núcleos, tipos de estrias)**

**4. Tejido Conectivo:**

- Tomar un trozo de carne de res, separe con cuidado la tela fina que presenta adherida y corte un pedacito; luego prepare en agua una lámina, agregue violeta de genciana para colorearla.
- Observar en menor y mayor aumento (10 x ,40x).

**¿Qué clase de tejido conectivo está observando? Dibuje e identifique: fibras elásticas, fibras de colágeno y fibroblastos.**

**PREGUNTAS ADICIONALES DISTRIBUIDAS EN EL PROCEDIMIENTO

**REPORTE DE RESULTADOS**

Con las observaciones realizadas y la información de su marco teórico complete el siguiente cuadro:

| NOMBRE DEL TEJIDO | VARIEDAD | DIBUJO | CÉLULAS CARACTERÍSTICAS | ORIGEN EMBRIONARIO | LOCALIZACIÓN | FUNCIÓN |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Conectivo | Adiposo | | | | | |
| | óseo | | | | | |
| | sanguíneo | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |

Biología

# HOJA DESPRENDIBLE HISTOLOGÍA

Completar y entregar al docente al final de la clase. Será evaluada.

NOMBRE: _____

FACULTAD:_____ FECHA: _____

1. ¿Cuántos grupos de tejidos hay en su cuerpo? Menciónelos.

2. Dibuje las siguientes variedades de tejido conectivo:

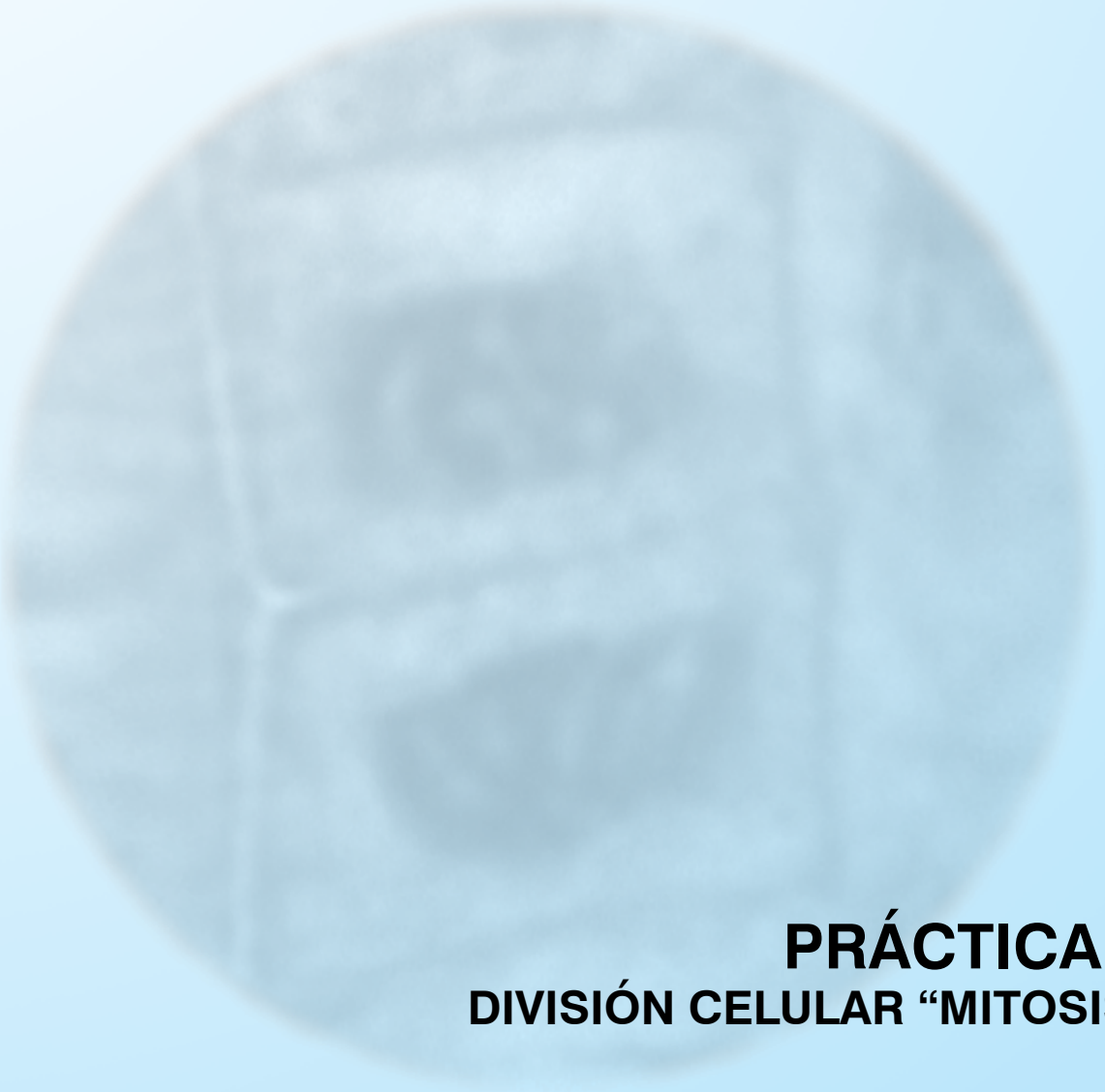
Cartílago con 10x

Sanguíneo 100X

Óseo 10x

3. ¿Cuáles son los tipos de músculo? ¿Dónde se localizan?

4. Dibuje una neurona y señale sus partes



# PRÁCTICA 7
## DIVISIÓN CELULAR “MITOSIS”

## INTRODUCCIÓN

Todas las células realizan un ciclo de vida, parte de este ciclo es la división celular que puede ser **asexual** (en bacterias y otros organismos unicelulares y mitosis en células eucariotas) o **sexual** (meiosis en células eucariotas)[24]. De manera que las céulas sexuales o germinales se dividen mediante el proceso de **meiosis**, mientras que las células somáticas, es decir, todas las células del cuerpo, excepto las sexuales, lo hacen por **mitosis**. Dada la indiscutible relevancia de estos procesos en el mantenimiento de la vida, en esta práctica nos ocuparemos de estudiar estos procesos.

## OBJETIVOS

- Identificar las distintas fases de la mitosis.
- Comparar las observaciones microscópicas con las ilustraciones de la mitosis.
- Valorar la dimensión del proceso de división celular en el mantenimiento de la vida.
- Mejorar la destreza en el manejo del microscopio.

## MARCO TEÓRICO

Las actividades vitales de crecimiento y división celular pueden describirse en términos del ciclo vital de la célula o ciclo celular. El tiempo que se requiere para completar un ciclo celular se conoce como **tiempo de generación**, y varía de unas células a otras.

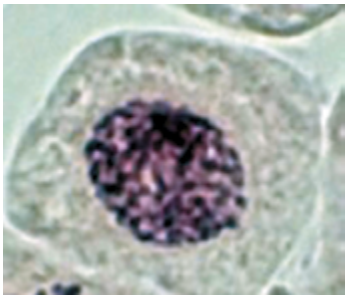
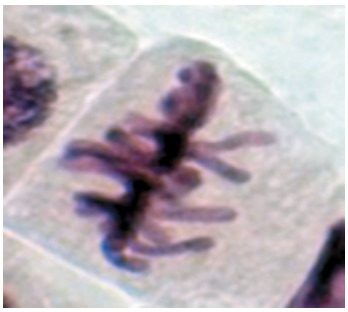
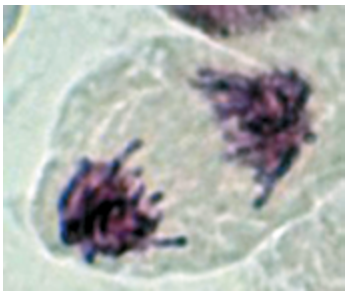
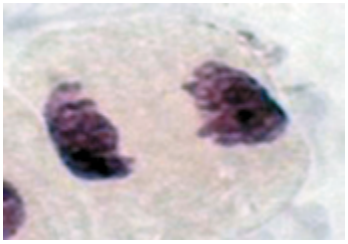
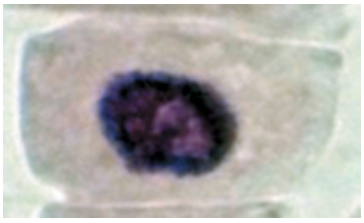
Las células pasan por un ciclo que comprende dos periodos principales: la **interfase** y la fase M, ésta incluye la **mitosis** o la **meiosis** de acuerdo al tipo de célula y la **citocinesis**, durante la cual el **citoplasma** de la célula se divide para dar lugar a dos células hijas. Se estima que en adultos humanos más de 25 millones de células sufren división cada segundo[25].

La célula en replicación contiene uno o más factores que estimulan el inicio de la síntesis de DNA y la célula mitótica contiene uno o más factores que inducen la compactación de la cromatina. **La fase M se inicia por la activación de una cinasa de proteína llamada MPF** (factor promotor de la maduración) que, a su vez, está constituido por dos subunidades[26].

La mayoría de las células pasa la mayor parte de su vida en **interfase**, durante la cual duplican su tamaño y contenido cromosómico. La división celular se considera como la separación final de las unidades moleculares y estructurales previamente duplicadas.

La *mitosis junto con la citocinesis* (división del citoplasma) da como resultado dos células hijas idénticas, los cromosomas replicados se disponen de manera tal que cada célula hija recibe la misma información. Se han establecido principalmente cuatro fases de la mitosis: **profase, metafase, anafase y telofase**.[27]

[24] GRIFFITHS A., GENÉTICA, 2000, p. 91.
[25] KARP G., BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR, 2011. p.569.
[26] KARP G., BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR, 2011. p.585.
[27] GRIFFITHS A., GENÉTICA, 2000, p. 95-96.

| FASE | CARACTERÍSTICAS | DIBUJO |
|---|---|---|
| PROFASE | Se considera la primera fase de la división, comienza cuando los largos hilos de cromatina empiezan a condensarse, los cromosomas se hacen visibles por primera vez, se hacen más cortos y se enrollan en forma de espirales. Cada cromosoma aparece como un doble filamento (las **cromátidas hermanas**, unidas por un **centrómero**). Los **nucléolos** dejan de ser visibles, la membrana nuclear se disgrega, citoplasma y nucleoplasma se hacen uno solo. |  |
| METAFASE | Se forma el huso acromático (estructura de fibras de proteína, **tubulina**). Los cromosomas se alinean en el plano ecuatorial, los cromosomas se separan unos de otros disponiéndose con exactitud en el plano medio de la célula unidos por el centrómero, cada uno queda enfrente de su homólogo. |  |
| ANAFASE | Comienza cuando los pares de cromátidas hermanas se liberan, entonces cada cromátide pasa a ser un cromosoma independiente. Los cromosomas recién separados se desplazan cada uno hacia un polo opuesto. Es la fase más rápida de la mitosis, la célula pierde la forma esférica y se torna ovoide. Se forman una serie de estructuras a manera de "V" con las puntas dirigidas hacia los polos. |  |
| TELOFASE | Se forma una nueva membrana nuclear alrededor de cada núcleo hijo, los cromosomas se desenrollan. Las fibras de cromatina son rodeadas por segmentos de retículo endoplasmático, que se integran hasta formar envolturas nucleares definitivas (con los correspondientes poros nucleares) en torno de los núcleos hijos. En ambos núcleos reaparecen los nucleolos. Al mismo tiempo se inicia la división citoplasmática por estrangulamiento en el centro de la célula madre o por formación de una condensación de citoplasma que va a constituir más tarde la membrana nuclear. La división del citoplasma se conoce como **citocinesis**. |  |
| INTERFASE | Terminada la **telofase** la célula entra de nuevo en período de **interfase**, durante el cual se observa la cromatina laxa bien enmarcada por la membrana nuclear, y la célula se ocupa de prepararse para la duplicación del ADN (etapa **G1**), síntesis de ADN (etapa **S**) y preparación para la división (etapa **G2**). |  |

## MATERIALES

| INSTRUMENTAL | REACTIVOS | MATERIAL BIOLÓGICO |
|---|---|---|
| • Portaobjetos- cubreobjetos<br>• Pinzas<br>• Bisturí<br>• Caja de Petri o vidrios de reloj<br>• Pipetas Pasteur<br>• Vidrio de reloj<br>• Palillos<br>• Vaso desechable<br>• Microscopio | • HCl 2.5 N<br>• Aceto-orceína o eosina | • Raíces de cebolla |

## PROCEDIMIENTO

- 6-8 días antes del laboratorio, utilizar un bulbo de cebolla, Allium cepa, haga un montaje como el que le indica la Figura 1. Mantenga dicho montaje en un ambiente bien obscuro, para favorecer el crecimiento rápido de las raíces.

Lleve el montaje al laboratorio y siga las instrucciones:

Figura 1. Montaje del bulbo de cebolla.

1. Seleccionar las raíces más cortas del bulbo de cebolla.
2. Depositar las raíces en una caja de Petri con ácido clorhídrico, HCl 2.5 N.
3. Dejar reposar 15 minutos (*el HCl detiene la actividad mitótica*).
4. Eliminar el ácido con sumo cuidado.
5. Enjuagar las raíces con agua destilada 2-3 veces.
6. Observar detalladamente la raíz (note que tiene una zona más blanca y otra transparente).

Biología

7. Cortar la zona más blanca de sus raíces (cortes de aproximadamente 2 – 3 m.m. a partir del ápice) y transferirlas a un portaobjetos.

8. Adicionar una gota de colorante aceto-orceína o eosina.

9. Cubrir la preparación con el cubreobjetos, haciendo presión para aplanar la raíz.

10. Llevar el montaje al microscopio y observar con lentes de 40X y 100X (recuerde usar aceite de inmersión, **una pequeña gota**).

11. Con la ayuda de los dibujos de la tabla, tratar de diferenciar cada una de las fases.

12. Dibujar cada fase observada.

## PREGUNTAS ADICIONALES

1. ¿Cuál es el significado biológico del proceso de división celular? (Explique para mitosis y meiosis).

2. ¿Qué factores juegan un papel importante en la regulación del proceso de la mitosis?

3. Establezca diferencias y semejanzas entre los procesos de mitosis y meiosis, respecto al tipo de células en que se da, número de células hijas, cantidad de material genético en cada caso.

4. ¿Cuáles son las etapas de la gametogénesis? Explíquelas.

5. ¿Por qué se utiliza el meristemo de la raíz para este experimento?

# HOJA DESPRENDIBLE DIVISIÓN CELULAR “MITOSIS”

Completar y entregar al docente al final de la clase. Será evaluada.

NOMBRE: _____

FACULTAD:_____ FECHA: _____

1. Complete el siguiente cuadro:

| CARACTERÍSTICA | MITOSIS | MEIOSIS |
|---|---|---|
| **TIPO DE CÉLULA** | | |
| **NÚMERO DE CÉLULAS** | | |
| **NÚMERO DE DIVISIONES** | | |

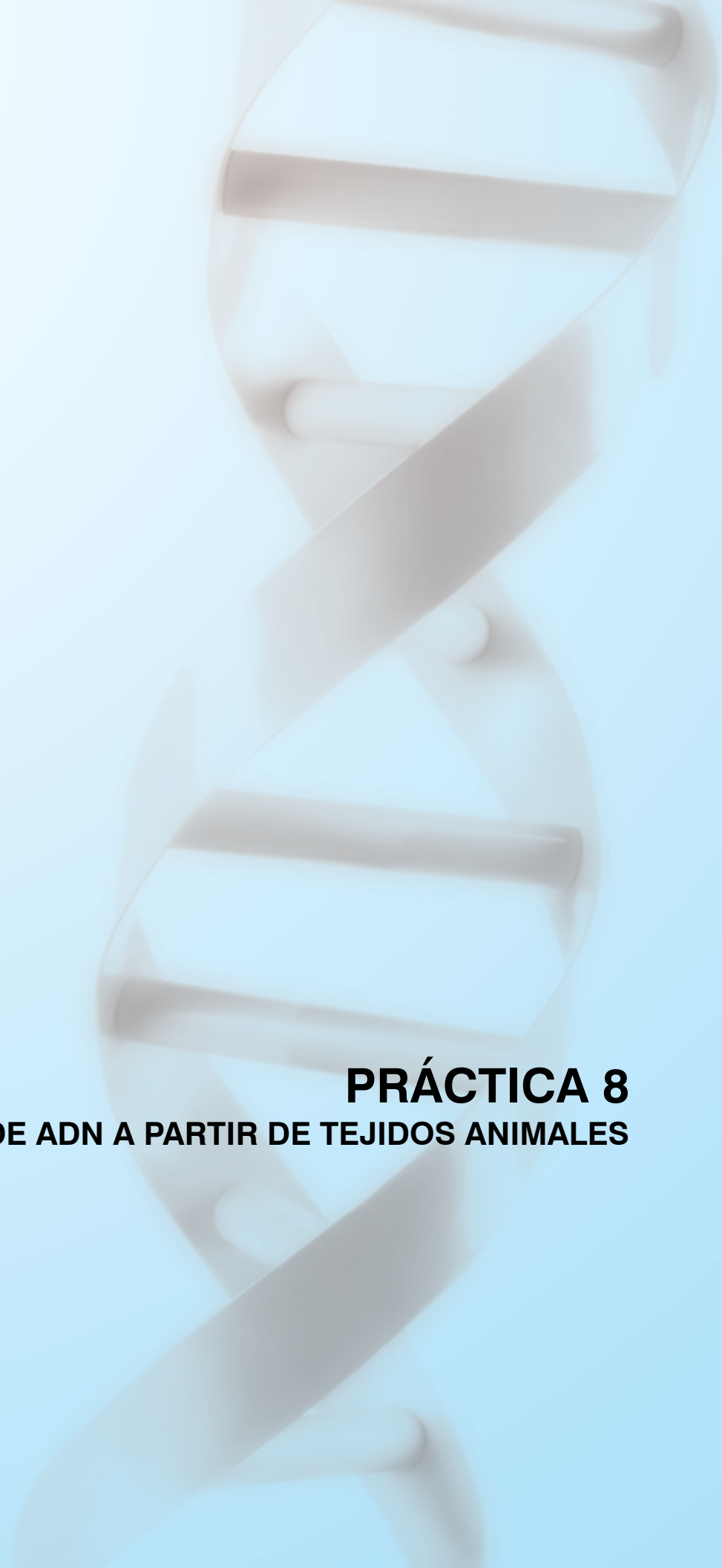
2. Dibuje las fases de la mitosis:

Anafase

Metafase

Profase tardía

3. ¿Cuántas células se producen en la espermatogénesis a partir de una espermatogonia?



# PRÁCTICA 8

## EXTRACCIÓN DE ADN A PARTIR DE TEJIDOS ANIMALES

## INTRODUCCIÓN

El material genético que contiene la información sobre cada una de nuestras características es el **ADN**, por consiguiente, es considerado la plantilla genética del individuo. El material genético está presente en nuestras células y también en las de los demás organismos vivos y es la materia prima para el estudio de las características estructurales y funcionales de los seres vivos. En esta práctica extraeremos ADN de una sencilla manera.

## OBJETIVOS

- Determinar el valor del ADN en los distintos procesos biológicos.
- Mediante un sencillo procedimiento extraer ADN a partir de muestras de tejido animal o vegetal.
- Valorar la importancia del ADN y reconocer las implicaciones que tiene su manipulación.

## MARCO TEÓRICO

El ADN es el ácido nucleico que contiene toda la información genética de nuestro organismo, pero también de plantas y animales. En todas las células de estos individuos encontramos ADN que determina sus características genotípicas y fenotípicas. Se encuentra enrollado en el interior del núcleo de las células, asociado a proteínas llamadas **histonas**, es de naturaleza fibrilar y puede ser extraído mediante procedimientos sencillos que involucran la ruptura primero de las células, luego de sus núcleos y la separación de las proteínas asociadas.

Desde el punto de vista biológico, reviste particular importancia por cuanto su conocimiento nos acerca al discernimiento sobre la transmisión de la herencia y nos permite pensar en las técnicas que hacen posible su manipulación con el propósito de realizar procesos que conduzcan a hacer mejoras genéticas.

## MATERIALES

| INSTRUMENTAL | REACTIVOS | MATERIAL BIOLÓGICO |
|---|---|---|
| • Tubos de ensayo<br>• Pipetas de 5 o 10mL.<br>• Vaso de precipitado 250 mL<br>• Gradilla<br>• Agitadores de vidrio<br>• Probeta<br>• Mortero y pistilo<br>• Embudo<br>• Gasa<br>• Arena | • Alcochol de 96 º<br>• Dodecil sulfato de sodio (SDS)<br>• Aceto-orceína o eosina<br>• Solución NaCl 2M | • Salvado de trigo o bulbo de cebolla<br>• Hígado o riñón |

## PROCEDIMIENTO

1. Colocar en un mortero un hígado o riñón de pollo, y un poco de arena.
2. Triturar con el pistilo, durante 20 minutos para asegurarse de romper las células y liberar los núcleos.
3. Adicionar al triturado 50 mL de agua y mezclar hasta obtener una especie de "puré".
4. Filtrar varias veces en gasa o tela, con el propósito de separar restos de tejido.
5. Medir 10 mL del filtrado en una probeta de 50 mL.
6. Añadir a la misma probeta 10 mL de solución de Cloruro de Sodio muy frío, NaCl 2M, para lograr un estallido de los núcleos que libere la cromatina.
7. Adicionar 1 mL de dodecil sulfato de sodio (SDS). Con esto se busca formar un complejo con las proteínas y separarlas del ADN.
8. Con una pipeta, agregar de manera muy suave (resbalar por las paredes del vaso) 50 ml de alcohol de 96 grados frío. El propósito es formar una interfase, en la cual precipite el ADN.
9. Introducir un agitador de vidrio en el vaso y remover suavemente y en el mismo sentido, en el área de la **interfase**, con el propósito de agrupar las fibras de **ADN** alrededor de la varilla. (*Se observan como filamentos blancos*).
10. Colocar una muestra sobre una lámina portaobjetos y teñir con Aceto-orceína.
11. Observar al microscopio y dibujar la estructura.
12. Repetir con tejido vegetal.

*Adaptado de Lluengo Lourdes. Biología*.

**El procedimiento se puede mejorar centrifugando la preparación 7 minutos a 1200 rpm.*

## PREGUNTAS ADICIONALES

1. ¿Qué características físicas tiene el DNA? ¿Qué relación tienen dichas características con su función?
2. ¿Qué importancia tiene el DNA en los procesos biológicos?
3. ¿Qué es la transgenia y qué importancia tiene?
4. ¿Cuáles son los riesgos de manipular el material genético.
5. ¿Qué implicaciones éticas deben tenerse en cuenta cuando se hace la manipulación del material genético?

# HOJA DESPRENDIBLE EXTRACCIÓN DE ADN A PARTIR DE TEJIDOS ANIMALES

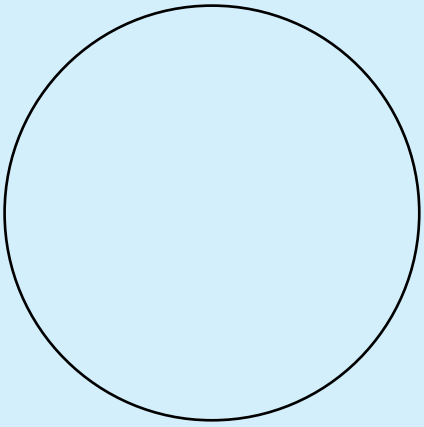
Completar y entregar al docente al final de la clase. Será evaluada.

NOMBRE: _____

FACULTAD:_____ FECHA: _____

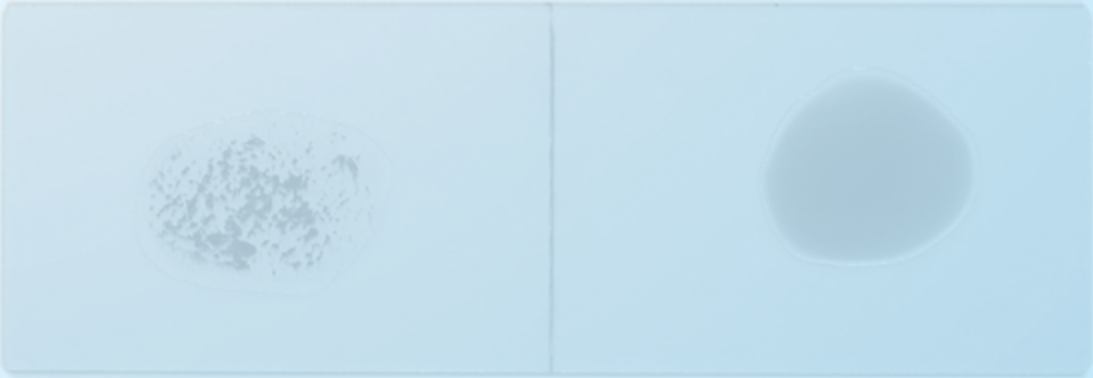
1. ¿Qué importancia tiene purificar el ADN antes de hacer ciertos procedimientos?

2. Dibuje la estructura del ADN:



3. ¿Para qué puede usarse el ADN extraído de las células?

4. ¿Qué diferencias hay entre ADN y RNA?



# PRÁCTICA 9

## DETERMINACIÓN DE GRUPOS SANGUÍNEOS A, B, 0 Y FACTOR Rh

## INTRODUCCIÓN

Los eritrocitos tienen en su membrana celular glucoproteínas que permiten diferenciarlos, esto hace posible la clasificación de humanos en grupos sanguíneos (**0, A, B, AB**). Se heredan a través de múltiples alelos (genes que rigen la variación de un mismo carácter y ocupan posiciones, **loci**, correspondientes en cromosomas homólogos) que representan un solo locus; no solo la posición sino también el tipo de gen que controla un carácter particular[28]. Son los marcadores genéticos más útiles en el hombre por su polimorfismo, su simplicidad de transmisión hereditaria y su diferente frecuencia en las distintas poblaciones. Ellos ocupan un lugar especial en la genética, por sus contribuciones al establecimiento de principios genéticos, tales como el *alelismo múltiple*.

## OBJETIVOS

- Aplicar la técnica de **hemaglutinación** para lograr la identificación práctica de los grupos del sistema **ABO**.
- Identificar el factor **Rh** en cada una de las muestras analizadas.
- Aprender a interpretar las pruebas para determinar los grupos sanguíneos y valorar su importancia.

## MARCO TEÓRICO

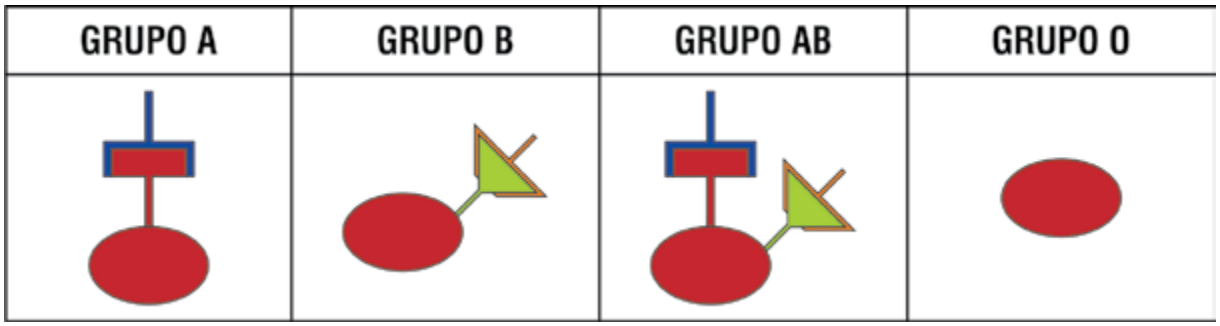
Los eritrocitos humanos contienen en su superficie conjuntos de moléculas antigénicas del tipo *glucoproteínas*, codificados genéticamente. Dichos antígenos determinan los grupos sanguíneos humanos ABO cuya clasificación se basa en diferencias en el tipo de glucoproteínas presentes sobre la membrana del eritrocito así:

| GRUPO | GLUCOPROTEÍNA PRESENTE |
|---|---|
| A | A |
| B | B |
| AB | AB |
| O | NINGUNA |

Las glucoproteínas **A y B** que funcionan como antígenos son reconocidas por anticuerpos específicos **anti-A y anti-B** respectivamente. Como consecuencia de esta unión se forman grumos celulares, reacción conocida como *hemaglutinación*. La sangre de todo individuo pertenece a uno de estos cuatro tipos. Las personas del **tipo A** tienen anticuerpos **anti- B** en el plasma, las personas del **tipo B** tienen anticuerpos **anti A** , los del **tipo AB** ninguno de los dos anticuerpos y los del **tipo 0**, tienen los dos anticuerpos, lo cual constituye un criterio importante a la hora de hacer una transfusión, ya que **el donante y el receptor deben ser compatibles de lo contrario se puede producir una reacción de hemaglutinación in vivo**[29].

[28] SOLOMÓN, E. BIOLOGÍA; 2008. p.238.
[29] PRESCOTT, L. MICROBIOLOGÍA; 1999. p. 672.

Los cuatro fenotipos o grupos **O, A, B, AB,** incluyen conceptos de *dominancia, recesividad, homocigocidad, heterocigocidad, codominancia*, puesto que los tipos sanguíneos se heredan a través de múltiples alelos que representa un solo **locus**. El alelo $\mathbf{I^A}$ proporciona el código para la síntesis de una glucoproteína específica, el **antígeno A**, el alelo $\mathbf{I^B}$ es responsable de la presencia del **antígeno B** y el alelo $\mathbf{i^0}$ **no** codifica antígeno. A su vez, el antígeno A es **codominante** con respecto al antígeno B, de manera que si están ambos se expresan. Las personas del genotipo $\mathbf{I^A\ I^A}$ o $\mathbf{I^A\ i^o}$ tienen tipo sanguíneo **A**, los que tienen $\mathbf{I^B\ I^B}$ o $\mathbf{I^B\ i^0}$ tiene tipo sanguíneo **B**, los que poseen el genotipo $\mathbf{i^0 i^0}$ tienen tipo sanguíneo **cero**, **0**, y si tiene el genotipo $\mathbf{I^B\ I^A}$ son del tipo **AB**[30].




**SISTEMA Rh:**

Sistema de clasificación cuyo nombre proviene de *Rhesus*, género de monos donde fue identificado por primera vez[31].Descubierto en 1940 por **Landsteiner**. Los grupos sanguíneos Rh son complejos desde el punto de vista genético. Está constituido por ocho tipos diferentes de antígenos, de los cuales el más común es el antígeno D. Cerca del 85 % de la población lo posee Rh (+) y el restante 15% no lo tiene Rh (-).

Este factor se puede describir:

Un par de alelos D y d producen tres genotipos DD, Dd, dd. La presencia de DD (**homocigoto dominante**) y Dd (**heterocigoto**), determina un Rh positivo y la presencia de dd, Rh negativo (**homocigoto recesivo**). Aunque se conocen varios tipos de incompatibilidades materno-fetales, la de Rh es, tal vez, la más importante, ya que la madre puede producir suficientes anticuerpos que aglutinan y destruyen los eritrocitos del feto, dando lugar a la enfermedad hemolítica del recién nacido, en la que se destruyen tantos glóbulos rojos que el bebe puede morir.

[30] SOLOMÓN, E. BIOLOGÍA; 2008. p.253.
[31] PRESCOTT, L. MICROBIOLOGÍA; 1999. p. 672.

## MATERIALES

| INSTRUMENTAL | REACTIVOS | MATERIAL BIOLÓGICO |
|---|---|---|
| • Portaobjetos<br>• Lancetas<br>• Palillos<br>• Algodón<br>• Toallas de papel<br>• Lápiz de cera<br>• Guantes<br>• Guardián | • Alcohol antiséptico | • Sangre de diferentes grupos<br>• Sueros hemoclasificadores *anti A*, *anti B* y *anti D* |

## PROCEDIMIENTO

Identificación de grupos A, AB, B, 0.

1. Divida un portaobjetos en dos partes: A (izquierda) y B (derecha) y márquelos con lápiz de cera.

2. Mediante punción de un dedo del paciente, previa limpieza y desinfección con alcohol, coloque una gota de sangre en cada una de las partes de la lámina.

3. Descarte cuidadosamente la lanceta en el recipiente dispuesto para tal fin.

4. Coloque una gota de suero **anti-A**, sobre la gota de la *parte A* y una gota de suero **anti-B** sobre la gota de la *parte B.* (**No coloque en contacto el gotero con la sangre, porque se contamina el suero hemoclasificador**).

5. Utilice palillos diferentes para cada gota, mezcle homogéneamente.

6. Levante la lámina y haga un ligero movimiento de rotación (sin mezclar).

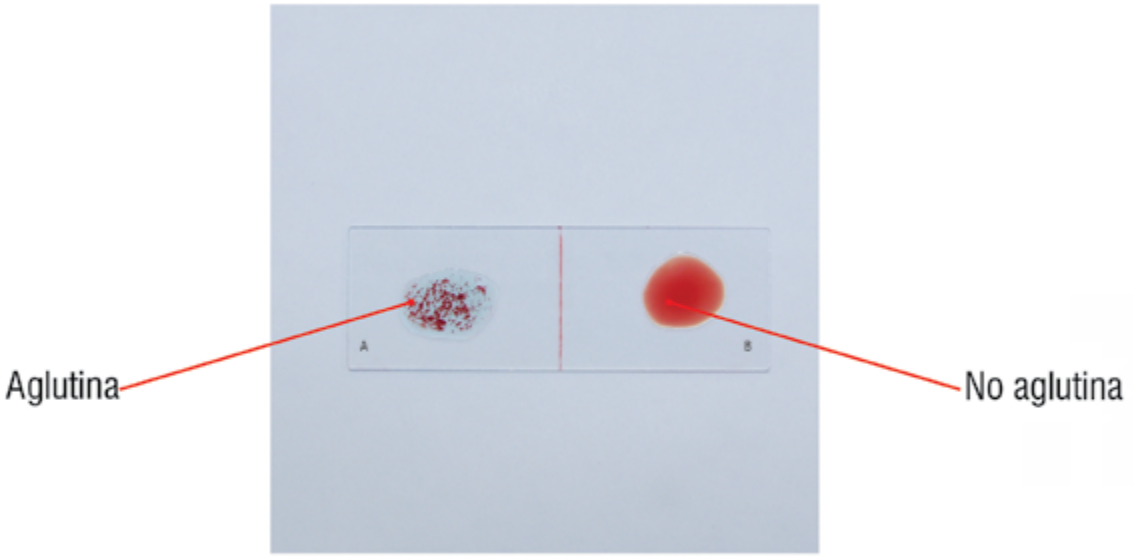
7. Observe si hay presencia de aglutinación.

8. De acuerdo con la presencia o ausencia de aglutinación, clasifique la sangre utilizada según el cuadro siguiente:

**CUADRO DE AGLUTINACIÓN PARA EL SISTEMA DE GRUPOS ABO**

| GRUPO | AGLUTINACIÓN CON SUERO ANTI-A | AGLUTINACIÓN CON SUERO ANTI-B |
|---|---|---|
| O | - | - |
| A | + | - |
| B | - | + |
| AB | + | + |

Biología



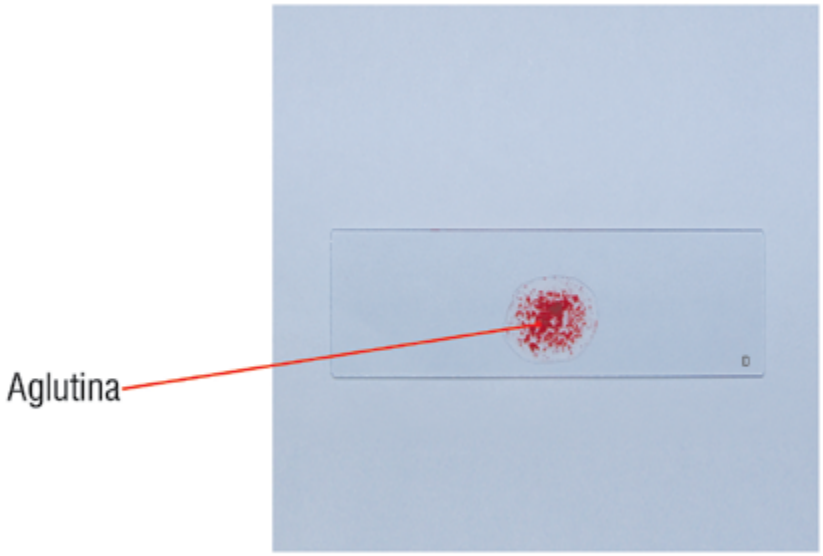

Prueba de Hemaglutinación. Determinación de Grupo Sanguíneo. Manual de Prácticas de Biología USTA

**IDENTIFICACIÓN DEL FACTOR Rh:**

1. Coloque una gota de sangre desconocida en el centro de un portaobjeto.
2. Añada a ella una gota del suero **anti-D.**
3. Mezcle con un palillo.
4. Rote suavemente la lámina.
5. Observe la ausencia o presencia de aglutinación.
6. Reporte el resultado de acuerdo al siguiente cuadro.

**AGLUTINACIÓN PARA EL SISTEMA DE GRUPOS Rh:**

| AGLUTINACIÓN CON SUERO ANTI Rh | INTERPRETACIÓN |
|---|---|
| AGLUTINA | Rh+ |
| NO AGLUTINA | Rh - |




Prueba de Hemaglutinación, Determinación de Rh. Manual de Prácticas de Biología USTA

## PREGUNTAS ADICIONALES

1. ¿Cómo se define el **alelismo múltiple**?

2. ¿Existen dadores y receptores universales? ¿Cuáles son?

3. ¿Qué importancia tiene conocer el grupo sanguíneo y el **Rh** de una persona? Explique con una situación.

4. ¿Hay otros marcadores en la membrana de un glóbulo rojo? ¿Para qué podrían ser útiles?

5. ¿Por qué en el almacenamiento de los sueros usados en hemoclasificación es importante el control de factores como el tiempo y la temperatura?

# HOJA DESPRENDIBLE DETERMINACIÓN DE GRUPOS SANGUÍNEOS A, B, 0 Y FACTOR Rh

Completar y entregar al docente al final de la clase. Será evaluada.

NOMBRE: _____

FACULTAD: _____ FECHA: _____

1. ¿Qué sucede si a un individuo se le trasfunde sangre que no es compatible con la suya?

2. Respecto a la prueba de hemaglutinación dibuje lo que se ve cuando:

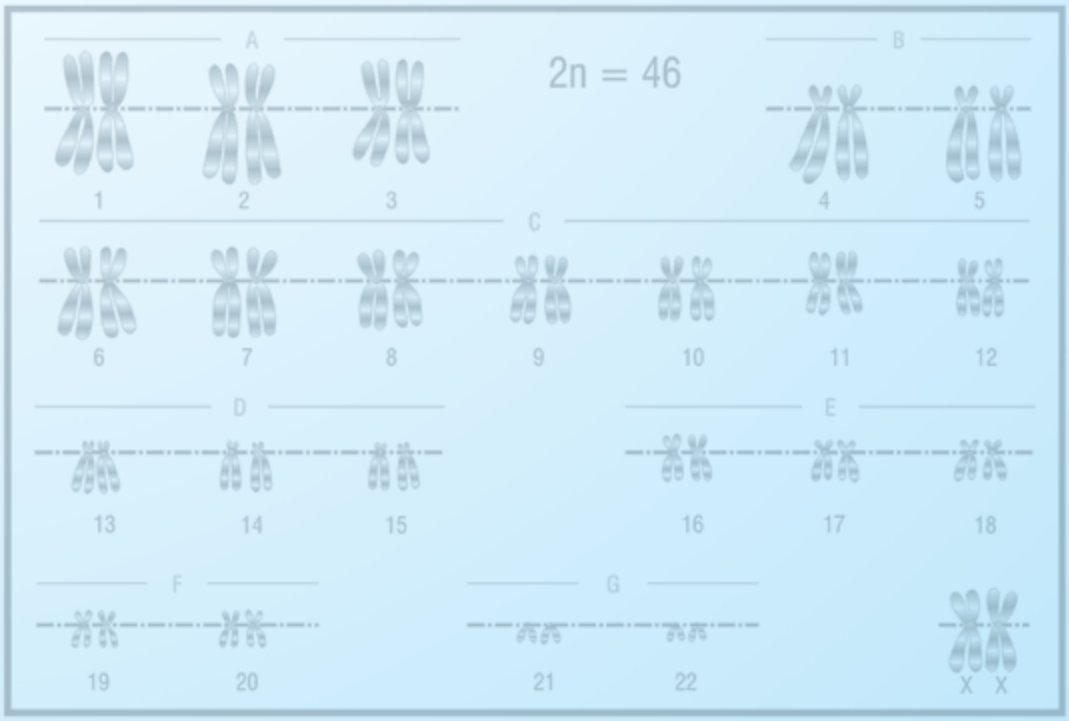
Hay aglutinación

No hay aglutinación

3. Indique para qué se usa cada uno de estos sueros:

| TIPO DE SUERO | USO |
|---|---|
| ANTI A | |
| ANTI B | |
| ANTI D | |

4. ¿Cómo se llama el recipiente donde se descartan las lancetas usadas en la prueba?




# PRÁCTICA 10
## CARIOTIPOS HUMANOS

## INTRODUCCIÓN

La constitución cromosómica de un individuo, es decir el número de cromosomas, el tipo de ellos y su arreglo determinan su cariotipo. Éste se convierte en una buena herramienta a la hora de determinar anormalidades genéticas. Este arreglo sitematizado se logra mediante un dibujo o una fotografía En esta práctica estudiaremos algunos cariotipos.

## OBJETIVOS

- Determinar la importancia de los cariotipos en estudios genéticos.
- Identificar algunas modificaciones cromosómicas en cariotipos.
- Diferenciar los distintos tipos de cromosomas.

## MARCO TEÓRICO

El cariotipo se refiere tanto a la composición cromosómica de un individuo como a la fotomicrografía que muestra su arreglo[32]. Este estudio es posible gracias a la **citogenética** (disciplina que se encarga del estudio microscópico de los cromosomas).

Los cromosomas son fácilmente visibles en el microscopio óptico, pero solamente inmediatamente antes, durante o justo después de la división celular. Hay varios criterios de clasificación:

**Tamaño cromosómico:** en humanos hay diferencia hasta de cuatro veces, en el tamaño del cromosoma 1 (el mayor) y el cromosoma 21 (el más pequeño). De acuerdo al tamaño se clasifican en siete grupos, denominados desde la letra A (más grandes) hasta la letra G (más pequeños)[33].

**Posición del centrómero:** el centrómero es la región estrecha en cada cromátida que divide al cromosoma en 2 brazos cromosómicos (p el más corto y q el más largo), la relación entre las longitudes de estos brazos, define si son telocéntricos o submetacéntricos (con el centrómero subterminal), acrocéntricos (centrómero cerca del extremo) y **metacéntricos** (centrómero en el medio). Los extremos de los cromosomas se llaman **telómeros**, se definen como secuencias repetidas de DNA que tienen una función conservada en diversos organismos. Los telómeros se acortan en divisiones celulares progresivas, al perder la enzima telomerasa. Este recorte está relacionado con el envejecimiento celular[34].

[32] SOLOMÓN, E. BIOLOGÍA; 2008. p.107.
[33] GRIFFITHS, A. GENÉTICA MODERNA; 2000. p. 39.
[34] KARP, G., BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR; 2011. p. 495.

Existen otros criterios:

- Posición de los **Organizadores Nucleolares** (estrechamientos de los cromosomas).
- Distribución de los **Cromómeros** (engrosamientos localizados a lo largo del cromosoma).
- **Patrones de Heterocromatina** (de acuerdo a las regiones teñidas con el **reactivo de Feulgen** que permiten distinguir regiones de mayor compactación, **heterocromatina** de las de menor compactación, **eucromatina**).
- **Patrones de Bandeo** (series de bandas que son características de cada cromosoma de cada especie y que se ponen de manifiesto con tinciones específicas).

Según la clasificación de **Denver** los cromosomas autonómicos se enumeran del 1 al 22, el cromosoma sexual corresponde al par 23 y se nota X o Y, y se ordenan de acuerdo a la longitud en 7 grupos a saber:

**GRUPO A:** metacéntricos grandes (pares 1-3).

**GRUPO B:** submetacéntricos grandes (pares 4-5).

**GRUPO C:** submetacéntrico medianos (pares 6-12 más X).

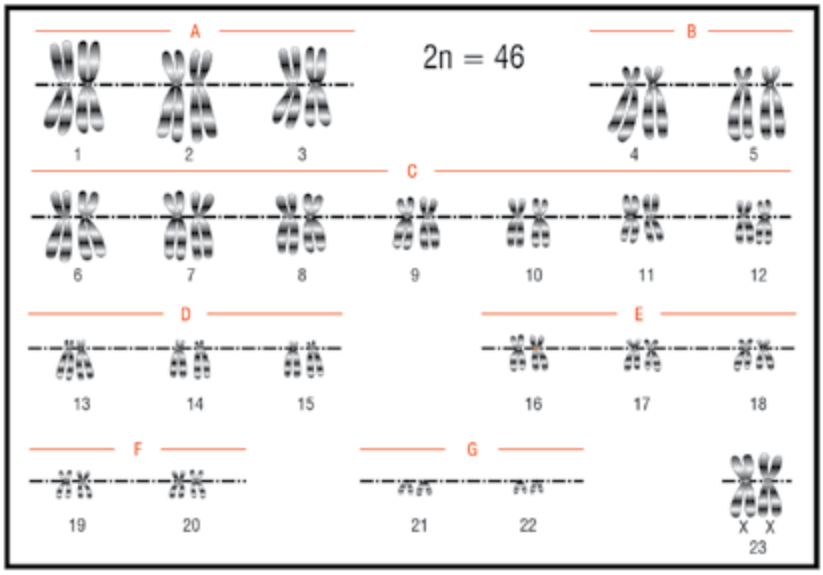
**GRUPO D:** acrocéntricos medianos (pares13-15).

**GRUPO E:** submetacéntricos pequeños (pares 16-18).

**GRUPO F:** metacéntricos pequeños (pares 19-20).

**GRUPO G:** acrocéntricos pequeños (pares 21-22 más Y).

**Dibujo Cariotipo Humano**




Biología

## MATERIALES

| INSTRUMENTAL | REACTIVOS | MATERIAL BIOLÓGICO |
|---|---|---|
| • Portaobjetos<br>• Lancetas<br>• Algodón<br>• Toallas de papel<br>• Guantes<br>• Tijeras<br>• Pegante<br>• Centrífuga<br>• Dibujo de un cariotipo | • Alcohol antiséptico<br>• Colchicina | • Sangre<br>• Cultivo celular |

## PROCEDIMIENTO

**Método 1**

1. Preparar un medio de cultivo para células.
2. Tratarlas con **colchicina** para detener el ciclo celular.
3. Colocar las células en solución hipotónica para que se hinchen.
4. Transferir las células a un portaobjetos y romperlas.
5. Teñir para observar patrón de bandeo.
6. Transferir la imagen del microscopio al computador.
7. Identificar por **patrones de bandeo**[35].

Dados los requerimientos especiales, se puede hacer un trabajo didáctico, usar distintos tipos de dibujos de cariotipos.

1. Tomar el dibujo desorganizado proporcionado por el docente.
2. Recortar cada cromosoma.
3. Clasificar cada cromosoma de acuerdo con el centrómero y luego de acuerdo con el tamaño.
4. Separarlos en los 7 grupos (A-G) según la teoría.

[35] SOLOMÓN, E. BIOLOGÍA; 2008. p.348.

5. Organizar el cariotipo correspondiente.
6. Determinar el género del individuo y si es normal o anormal.
7. Si es anormal, determinar si se trata de anormalidad autosómica o sexual[36].

## PREGUNTAS ADICIONALES

1. ¿Qué utilidad tiene conocer el cariotipo de un individuo?
2. ¿Qué son la aneuploidias? Mencione 4 ejemplos.
3. ¿Cuáles son las anomalías más frecuentes en la estructura de los cromosomas? Cite ejemplos.
4. ¿Qué medios de cultivo se emplean para hacer los estudios de los cromosomas?
5. ¿Con qué tipos de células se puede hacer la cariotipificación?

[36] SERRANO MARGARITA Pág 105 PRÁCTICAS DE BIOLOGÍA GENERAL. 1988

# HOJA DESPRENDIBLE CARIOTIPOS HUMANOS

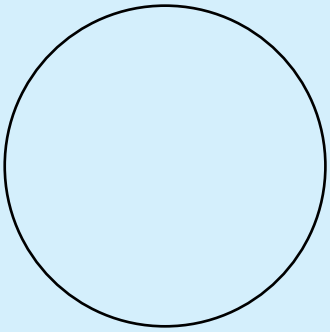
Completar y entregar al docente al final de la clase. Será evaluada.

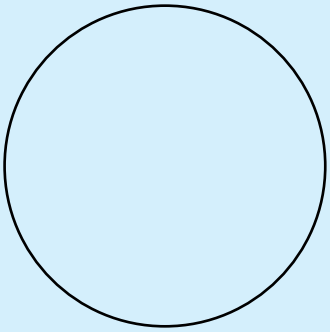
NOMBRE: _____

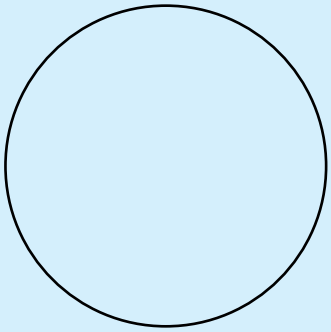
FACULTAD: _____ FECHA: _____

1. ¿Cómo se clasifica la cromatina?

2. Dibuje la estructura de los tres tipos de cromosomas según la posición del centrómero e indique qué nombre reciben:







_____ _____ _____

3. ¿Qué ocurre cuando hay tres o más dosis de un cromosoma en un mismo loci?

4. ¿Qué son los intrones?

# PRÁCTICA 11
## ÓRGANOS DE LOS SENTIDOS
## LA VISTA

## INTRODUCCIÓN

Las células se organizan en tejidos, y estos en órganos, el ojo es un órgano complejo, especializado en la percepción de estímulos lumínicos gracias a que contiene una estructura fotosensible que es la retina. En esta práctica haremos un breve recorrido por uno de los sentidos más fascinantes: la vista.

## OBJETIVOS

- Identificar las diferentes partes del ojo y relacionarlas con su función
- Establecer similitudes entre el ojo y la cámara

## MARCO TEÓRICO

La mayor parte de los animales tiene fotorreceptores, que utilizan pigmentos para absorber energía luminosa, las **rodopsinas** son pigmentos fotosensibles presentes en ojos de distintos organismos entre ellos los vertebrados[37].El ojo humano es excelente ejemplo de un dispositivo perfecto para percibir la luz. Cuando se encuentra perfectamente adaptado, puede percibir la pequeña emisión de 6 a 10 cuantos de luz.

Así como la materia está formada por átomos, la luz consta de paquetes de energía llamados **FOTONES**. La energía de un fotón es inversamente proporcional a su longitud de onda[38]. Algunos Protozoos como la Euglena, celenterados como las Medusas y Equinodermos como la Estrella de Mar, presentan **"manchas oculares"** o pigmentos sensibles a la luz que le permiten percibir la luminosidad y reaccionar ante ella.

Los órganos oculares más primitivos en la escala de la evolución son los propios de platelmintos o gusanos planos, son *fotorreceptores* en vez de ojos y no pueden formar imágenes. En los moluscos como el caracol existen ya ojos ubicados sobre un par de tentáculos móviles, y con capacidad de formar imágenes no muy claras.

La formación real de imágenes requiere un ojo más complejo, usualmente con *cristalino* (lente biológica que concentra la luz en un grupo de fotorrecepotores. También se requiere un encéfalo que interprete los potenciales de acción generados por los fotorreceptores. Dos tipos de ojos han surgido por evolución: Los **ojos compuestos** de crustáceos e insectos, formados por muchas unidades fotosensibles u **omatidios** y el **ojo tipo cámara** del humano y otros vertebrados[39].

La posición de los ojos en la cabeza del humano permite enfocar ambos en el mismo objeto, *visión binocular,* que contribuye a la capacidad de juzgar distancias y profundidades. El ojo humano puede compararse con una cámara fotográfica, posee una lente ajustable (el cristalino), un diafragma (el iris), y una película fotosensible (la retina).

[37] SOLOMÓN, E. BIOLOGÍA; 2008. p.909.
[38] SOLOMÓN, E. BIOLOGÍA; 2008. p.192.
[39] SOLOMÓN, E. BIOLOGÍA; 2008. p.910.

## MATERIALES

| INSTRUMENTAL | MATERIAL BIOLÓGICO |
|---|---|
| • Vidrio de reloj<br>• Bisturí<br>• Tijeras de disección<br>• Cubetas metálicas<br>• Pinzas<br>• Aguja enmangada<br>• Lupa<br>• Papel periódico<br>• Estereoscopio | • Ojo de vaca o de cerdo |

## PROCEDIMIENTO

### I. **DISECCIÓN DE UN OJO DE VACA/CERDO**

1. Observe el ojo de res y escriba sus características externas. **Realice un dibujo**.

2. Si el ojo del espécimen tiene párpados, córtelos con las tijeras de disección o con el bisturí; retire el tejido blanco y graso de la mitad posterior del globo ocular. Cuide de no cortar el tallo blanco que sobresale en la parte posterior del ojo.

   *¿Entra el nervio óptico al globo ocular directamente por detrás del cristalino?*

   Retire todo el tejido graso hasta visualizar los **seis músculos** motores del ojo. Realice esquemas y escriba los nombres de cada uno de ellos.

3. Retire los músculos motores del ojo con ayuda de las tijeras de disección o el bisturí. Con ayuda del esquema adicional realice los siguientes pasos:

4. Inserte la punta de las tijeras o un bisturí en la parte posterior del globo ocular, exactamente por encima del nervio óptico. *¿Cómo se llama esta capa?* Note que es una capa continua extendida sobre la superficie del ojo. Observe que, sin embargo, en la parte anterior esta capa es transparente. En un ejemplar preservado, esta área puede aparecer azul y opaca, pero en vida es realmente incolora y transparente. *¿Qué nombre recibe esta parte?* Ésta puede ser de mayor curvatura que el resto de la capa.

5. Corte el **nervio óptico,** deje un pequeño orificio en la parte posterior del ojo. Cubra el orificio con un cubreobjeto para impedir que salga el líquido gelatinoso que llena el globo ocular. Sostenga el globo ocular cerca de su propio ojo, de modo que pueda ver la parte anterior del ojo a través del orificio que hizo. Mueva la porción del globo ocular en varias direcciones, podrá mirar a través de él y ver las imágenes de objetos en frente del mismo. *¿Son estas imágenes derechas o invertidas?* **Explique.**

6. Coloque el globo ocular en la bandeja de disección con la córnea hacia abajo. Corte el globo ocular en dos partes iguales, **anterior y posterior,** penetre la pared del globo ocular. Retire la parte posterior. Una sustancia gelatinosa puede estar adherida a la mitad anterior, particularmente al cristalino. Remueva esta sustancia gelatinosa con las pinzas y la aguja de disección. Describa la sustancia. *¿Cómo se llama? ¿Qué función tiene?*

7. Sin cortar más allá de la córnea, inserte la punta de las tijeras en el borde de la misma y córtela toda alrededor. Levante la córnea. Una porción muscular se puede ver ahora. *¿Qué nombre recibe el orificio que observa?* A través de él observe el **CRISTALINO**, describa qué características presenta.

   En vida el espacio entre el cristalino y la córnea está lleno de un fluido acuoso transparente e incoloro. *¿Cuál es el nombre de este fluido? ¿Qué función tiene?*

8. Examine el cristalino por delante y por detrás. Note cómo está unido al globo ocular por medio de una banda circular de fibras delicadas. *¿Como se llama?* Vea si puede descubrir cómo cambia la forma del cristalino. El cristalino aumenta su convexidad cuando se ajusta para enfocar imágenes de objetos cercanos y disminuye cuando enfoca objetos distantes.

9. Corte cuidadosamente alrededor del cristalino con un bisturí; extraiga el cristalino de sus ligaduras y colóquelo en un pedazo de periódico. *¿Cuál es la forma del cristalino? ¿Puede ver a través de él?* Con su bisturí corte este tejido del cristalino. *¿Es el cristalino rígido como una lente de vidrio?* Describa.

10. Examine la mitad posterior del ojo. Observe la capa interna grisácea. *¿Cuál es el nombre de esta capa interna?* Observe los vasos sanguíneos. También contiene las células nerviosas especializadas, conocidas como **CONOS Y BASTONES**, que funcionan como receptores de la luz.

11. Por donde sale el nervio óptico hay un punto que es ciego. *¿Por qué se llama así?*

12. Observe el tamaño del iris y la pupila de los ojos de un compañero. Ahora haga que se cubra completamente los ojos por un período de dos minutos. Cuando se haya descubierto los ojos observe nuevamente el tamaño de la pupila del iris. Continúe observando al menos por 15 segundos. **Compare el tamaño de la pupila y el iris en los ojos de su compañero antes y después de cubrírselos. ¿Qué sucede durante los siguientes segundos?** *¿Tiene el iris algo que ver con esto?* Explique.

**ADAPTADO DE SERRANO MARGARITA MATERIAL PRÁCTICAS DE BIOLOGÍA GENERAL. 1988*

## PREGUNTAS ADICIONALES

1. ¿Por qué Ud. puede ver mejor en un cuarto oscuro después de algunos minutos, que al momento de entrar en él?

2. Enumere algunas estructuras del ojo que Ud. supone que podrían perder eficiencia con los años.

UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS SECCIONAL BUCARAMANGA

3. Muchos animales son activos de noche y aparentemente ven mejor en la oscuridad que los humanos. ¿Cómo se adaptan los ojos en la visión nocturna?

4. Resuma con flechas cómo se capta la luz en el ojo.

5. Realice una analogía entre el ojo de los humanos y una cámara fotográfica.

Biología

# HOJA DESPRENDIBLE ÓRGANOS DE LOS SENTIDOS
# LA VISTA

Completar y entregar al docente al final de la clase. Será evaluada.

NOMBRE: _____

FACULTAD:_____ FECHA: _____

1. ¿Qué diferencia hay a nivel estructural y funcional entre conos y bastones?

2. Dibuje la estructura del ojo, señale sus partes:

3. ¿Qué características pudo apreciar del cristalino? ¿Cuál es su función?

## BIBLIOGRAFÍA


GARTNER P., Leslie y HIATT, James. *HISTOLOGÍA. 2* ed. México: McGraw Hill Interamericana; 2002.

GRIFFITHS, Anthony y GELBART, William. *GENÉTICA HUMANA*. 1 ed. México: McGraw Hill; 2000.

HORTON, Robert, MORAN Laurence y otros. *BIOQUÍMICA*. 1 ed. México: Prentice Hall Hispanoamericana S.A.; 1995.

JUNQUEIRA, Luis y CARNEIRO, José. *HISTOLOGÍA BÁSICA*. 6 ed. España: Masson S.A.; 1996.

KARP, Gerald. *BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR. Experimentos y conceptos*. 6 ed. México: McGraw Hill; 2011.

LODISH, Harvey, BERK Arnold, ZIPURSKY Lawrence y otros. *BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR*. 4 ed. España: EDITORIAL MÉDICA PANAMERICANA; 2002.

MADIGAN, Michel T., MARTINKO John. BROCK *BIOLOGÍA DE LOS MICROORGANISMOS*.12 ed. Madrid: Pearson Educación; 2009.

MURRAY, Robert, *BIOQUÍMICA DE HARPER*. 16 ed. México: Manual Moderno;2003.

PACHÓN B., Diana P. y HERRERA, Claudia. *GUIAS DE LABORATORIO BIOLOGÍA CELULAR*, UNIVERSIDAD DE LOS ANDES. BOGOTÁ. 2001.

PRESCOTT, Lansing, HARLEY, John P. Y KLEIN, Donald. *MICROBIOLOGÍA*. 4 ed. México: McGraw Hill Interamericana; 1999.

PANIAGUA, Ricardo, NISTAL, Manuel, y SESMO, Pilar. *BIOLOGÍA CELULAR*, 3 ed. McGRAW HILL INTERAMERICANA MADRID, 2007.

SERRANO G. Margarita. *PRÁCTICAS DE BIOLOGÍA GENERAL*. UNIVERSIDAD SANTO TOMAS. BUCARAMANGA 1988.

STRYER, Lubert, BERG, Jeremy M. y TYMOCZKO, John L. *BIOQUÍMICA*. 5 ed. España: Editorial Reverte S.A.; 2003.

SOLOMÓN, Eldra Pearl, BERG R., Linda y MARTIN, Diana W. *BIOLOGÍA*, 8 ed. México: McGraw Hill Interamericana; 2008.

## WEBGRAFÍA

http://www.biologia.edu.ar/ [Recuperado febrero de 2016].

http://laguna.fmedic.unam.mx/~evazquez/0403/informacion%20carbohidratos.html [Recuperado febrero de 2016].

http://bq.unam.mx/~evazquez/ [Recuperado febrero de 2016].

http://www.angelfire.com/bc2/biologia/carboh.htm [Recuperado febrero de 2016].

http://www.biologia.edu.ar/bacterias/micro1.htm [Recuperado febrero 2016].

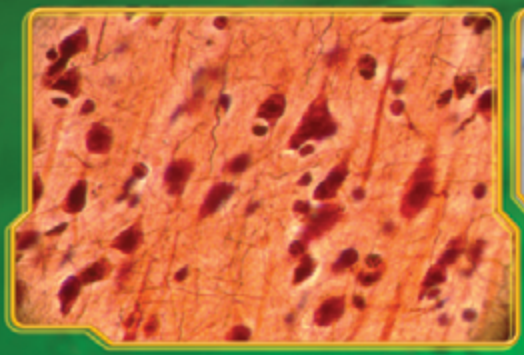
http://www.efn.uncor.edu/departamentos/biologia/intrbiol/cdel2.htm#membrana [Recuperado febrero 2016].

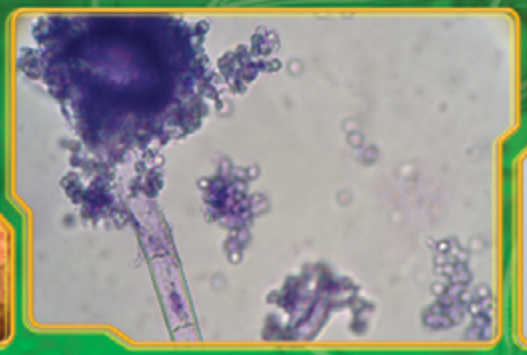
http://enciclopedia.us.es/index.php/Transporte_celular [Recuperado febrero 2016].

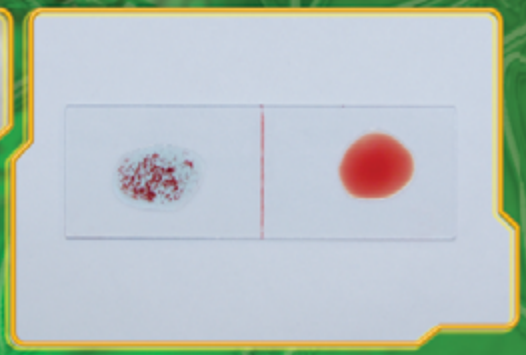
http://www.biologia.edu.ar/cel_euca/la_membrana_celular.htm [Recuperado febrero de 2016].

http://www.lourdes-luengo.es/biologia/biologia.html [Recuperado febrero de 2016].

ediciones USTA







UNIVERSIDAD SANTO TOMAS
PRIMER CLAUSTRO UNIVERSITARIO DE COLOMBIA
BUCARAMANGA

# Biología