

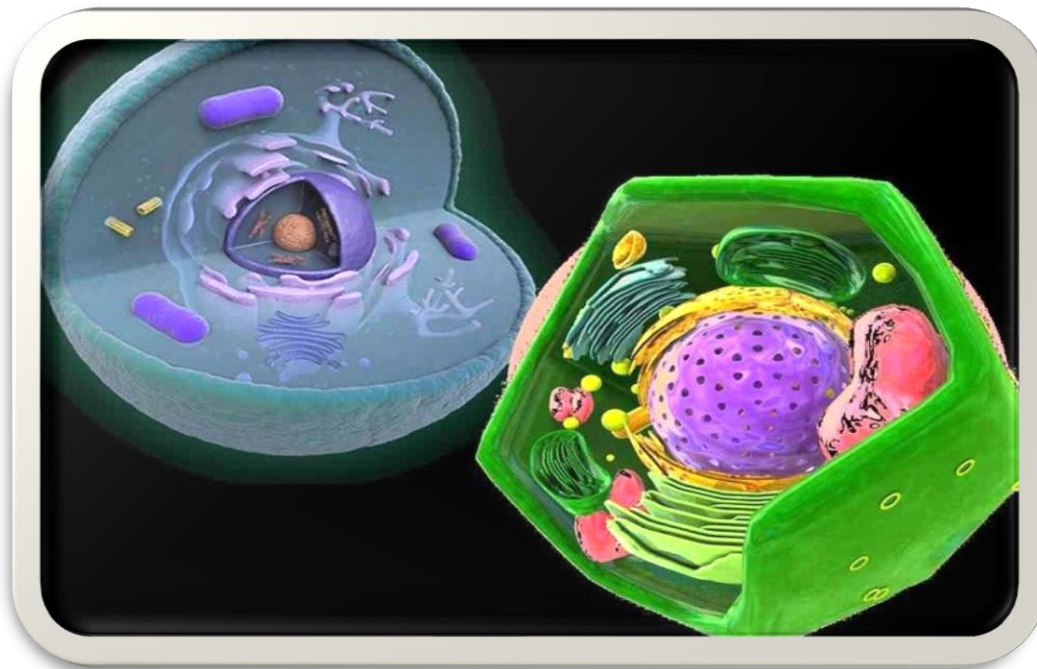


UNIVERSIDAD VERACRUZANA



**FACULTAD DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA**

**GUÍA DE PRÁCTICAS DE LABORATORIO
BIOLOGÍA CELULAR**



ELABORARON:

**Dr. Eduardo Rivadeneyra Domínguez
Dra. Luz Irene Pascual Mathey**

2020

Xalapa- Veracruz, México.



**UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR**



INTRODUCCIÓN

En el laboratorio de Biología Celular se estudia a la célula como la unidad mínima de la materia que genera la vida, así como los elementos que la componen. La célula tiene entre sus características, la capacidad de crecer, reproducirse y auto programarse para morir una vez que ha cumplido con su función. Dentro de los diferentes reinos de la vida, existen organismos unicelulares con características y funciones bien delimitadas, y organismos multicelulares, con características y funciones más complejas que se pueden hallar formando colonias, tejidos, órganos y/o sistemas, siendo ejemplo de ellos, hongos, plantas y animales. El estudio de las células se basa en diferentes métodos de laboratorio que se fundamentan en uno de los principios básicos del método científico, la observación a través del microscopio, que fue el primer instrumento utilizado para describir las células. Además, emplea diferentes reacciones químicas colorimétricas, que permiten analizar diferentes componentes y procesos celulares que se realizan al interior de las células. Desde esta perspectiva, la presente Guía de Laboratorio de Biología Celular que se imparte complementaria a la Experiencia Educativa Teórica de Biología Celular de la academia de biomédicas, tiene como finalidad el profundizar en los conceptos sobre la función de la célula a través de la realización de prácticas, discusión y elaboración de bitácoras y reportes. Siendo su principal objetivo el que los estudiantes tengan un primer acercamiento al fascinante mundo de la Biología Celular. Esta guía consta de veintiún prácticas y cuatro anexos, en los cuales se brindan indicaciones sobre la disposición de los residuos químicos y biológicos generados de acuerdo con la legislación vigente NOM-052-SEMARNAT-2005 (residuos químicos) y NOM-087-ECOL-SSA1-2002 (residuos peligrosos biológico-infecciosos). La primera sección de prácticas “Introducción y conceptos fundamentales en biología celular y métodos de estudio” está constituida por seis prácticas, en las cuales el estudiante, mediante el uso del microscopio y de técnicas cromatográficas sencillas, aprenderá a identificar las diferencias entre las células procariotas y eucariotas, así como a realizar la observación de algunos compartimientos y componentes principales de las células. En la segunda sección “Membranas biológicas y transporte a través de la membrana”, que está constituida por seis prácticas, se analizarán las

características generales de la membrana, los mecanismos de transporte (difusión y ósmosis) así como los principales factores que afectan el transporte de membrana, tanto en células animales como vegetales. En la tercera sección “organelos productores de energía”, constituida por cuatro prácticas, se observará el proceso de la fotosíntesis, así como la obtención y almacenamiento de glucosa a través de diferentes reacciones químicas. En la quinta sección “organelos no productores de energía”, que sólo incluye una práctica, se analizará la función de uno de los organelos presentes en la célula, los peroxisomas, mediante el análisis de una de las principales enzimas presentes en estos organelos, la catalasa. En la sexta sección “núcleo y reproducción” que abarca cuatro prácticas, se analizarán los procesos de la división celular (mitosis y meiosis), así como la observación macroscópica del principal componente responsable de la herencia, el ADN.

Las competencias que persigue la realización de las prácticas arriba mencionadas se reforzaran mediante procesos de enseñanza-aprendizaje que involucran la elaboración de bitácoras de trabajo, desempeño en clases, redacción de reportes de prácticas y entrega de manual de laboratorio, lo cual será descrito en el encuadre de la Experiencia Educativa.

**UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR**

UNIDAD DE COMPETENCIA

El estudiante aplica los conocimientos teóricos relacionados con el estudio de la estructura y función de la célula eucariota, así como sus mecanismos de transporte, mediante la realización de prácticas de laboratorio, bitácoras y reportes, que permitan consolidar los conocimientos adquiridos y el desarrollo de habilidades de aprendizaje como son el pensamiento crítico, de análisis, argumentación, discusión, disciplina, orden, debate, colaboración, observación e investigación.

ESTRATEGIAS METODOLÓGICAS

De aprendizaje	De enseñanza
Búsqueda de información sobre los temas de las prácticas (libros, revistas, internet). -Resolución de cuestionarios. -Realización de prácticas de laboratorio. -Discusión en pequeños grupos y en sesión plenaria de los resultados de las prácticas. -Elaboración de reporte escrito de cada práctica. -Elaboración de guía de prácticas.	-Examen diagnóstico -Integración de equipos colaborativos. -Exposición con apoyo tecnológico variado (simuladores, software educativo, plataforma virtual EMINUS) -Revisión de bitácoras y prácticas. -Análisis y discusión de resultados de las prácticas y manejo estadístico de datos.

APOYOS DIDÁCTICOS

De aprendizaje	De enseñanza
Programa de estudio de la EE -Libros. -Revistas. -Guía de prácticas de laboratorio. -Medicamentos de diversos grupos farmacológicos.	-Pintarrón. -Computadora portátil. -Proyector de diapositivas. -Material, equipo y reactivos de laboratorio especificados en la guía de prácticas. -Aprendizaje basado en problemas

-Videograbaciones de experimentos diversos sobre modelos animales farmacológicos. -Tecnologías de información.	-Asistencia a conferencias, talleres o cursos.
---	--

Evaluación del desempeño			
Evidencia (s) de desempeño	Criterios de desempeño	Ámbito(s) de aplicación	Porcentaje (%)
Entrega de reportes de las prácticas de acuerdo con las instrucciones impartidas en la primera sesión de laboratorio.	-Observación. -Escala de verificación. -Entrega en tiempo y forma las prácticas de laboratorio.	Aula y grupos de trabajo de forma presencial o en línea.	50%
Bitácoras en las que se realice la discusión sobre los resultados observados, la importancia de los conceptos teóricos aplicados, el objetivo y meta de la práctica realizada.	-Observación. -Escala de verificación. -Entrega en tiempo y forma las prácticas de laboratorio. -Análisis -Autoevaluación -Coevaluación	Aula y grupos de trabajo de forma presencial o en línea	20%

<p>Guía de prácticas, que incluye la integración de un compendio de prácticas en la cual se incluyan los reportes previamente revisados durante el curso.</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Análisis -Discusión -Autoevaluación -Observación. -Escala de verificación. -Entrega en tiempo y forma del manual 	<p>Aula y grupos de trabajo de forma presencial o en línea</p>	<p>20%</p>
<p>Participación en clase, que implica contar con el material necesario para la realización se la práctica, y conducirse con responsabilidad, disciplina, respeto y orden dentro del laboratorio.</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Observación -Autoevaluación -Coevaluación 	<p>Aula</p>	<p>10%</p>

Exámenes

El examen se realizará al finalizar todas las prácticas y abarcará las generalidades y conceptos de la práctica, cuestionario, resultados y discusión. Es necesario cubrir con todos los puntos que solicitan en la evaluación para tener derecho a la calificación final.

Bitácora

Incluirán una investigación documental como parte del marco teórico acompañado del diagrama de trabajo para esa práctica. Debe incluir conceptos, así como una justificación del

uso de los reactivos y métodos empleados en la práctica, cuestionarios, resultados, observaciones y conclusiones, además de las respectivas citas bibliográficas. Su longitud mínima será de 2 hojas realizadas a mano en una libreta de notas y será requisito para tener derecho a realizar la práctica. Será sellada por el profesor durante la sesión. La libreta deberá entregarse luego de la última práctica del curso para la revisión y conteo final de firmas o sellos. Incluidas las preguntas: ¿que aprendí y como me sentí?

Incluye:

El día de la práctica: para poder acceder a la firma de la bitácora:

- Fecha
- Nombre de la práctica
- Objetivo
- Fundamento/antecedentes
- Diagrama de trabajo
- Justificación de reactivos (para que emplean en la práctica)
- Cuestionario
- Referencias bibliográficas (páginas educativas, libros, artículos)

Siguiente sesión de la práctica:

- Resultados (con imágenes y gráficas)
- Conclusión
- Qué sentí? Qué aprendí?

Reporte de prácticas

Serán entregadas por bloque al concluir cada sección de prácticas del tema visto. Se enviarán vía electrónica (sólo por el responsable asignado), y se regresará con las correcciones pertinentes. Si existen dos o más trabajos iguales entre equipos no tendrán valor en la evaluación. El reporte de la práctica completa para ser válida deberá incluir los siguientes apartados:

- 1) Título
- 2) Objetivo
- 3) Resumen (EN INGLES)
- 4) Introducción (Fundamento)

- 5) Material y método (modificar el que les proporciona el profesor si es necesario, en forma de diagrama)
- 6) Resultados (descritos/fotos/tablas/gráficas)
- 7) Discusión (¿responde a la pregunta, que importancia tuvieron los resultados obtenidos contrastándolos con lo reportado en la bibliografía?) EN INGLÉS
- 8) Conclusión (¿acorde al objetivo, se logró el objetivo, por qué?) EN INGLÉS
- 9) Bibliografía (5 referencias empleadas para realizar el reporte)

Forma de citar la bibliografía en cada reporte:

Libro: Apellidos Autor, Nombre. (año). Título. Editorial. Edición. País. Página consultada.

Revista: Apellidos Autor, Apellidos autor. (año). Título del artículo. Revista, Volumen (No): Págs.

Página de Internet: Autor o responsable de la página. Título del artículo. Título de la página. Fecha de última actualización. Dirección completa:
<http://www.direcciónelectronicadelapaginadelaqueseobtuvolainformación>

La extensión máxima es de dos cuartillas, siguiendo el formato de poster (Anexo A)

Guía de prácticas

Se entregará el día y la fecha indicada en el calendario y que será la misma del examen final. Deberá incluir todas las prácticas proyecto y el reporte corregido junto con el ensayo de una cuartilla sobre Introducción al laboratorio de Biología Celular. Se entregará en un CD anexada en formato PDF, deberá de incluir una carátula con el nombre de todos los integrantes del equipo.

Actividades durante la práctica

Comprende la realización de la práctica de acuerdo con el diagrama de trabajo propuesto. Se considerará tanto la forma de trabajar, como la disposición al trabajo en equipo, el cumplimiento en el horario propuesto, material, puntualidad, uso adecuado de la bata de laboratorio y de los materiales y reactivos proporcionados, disposición, respeto, trabajo en equipo y limpieza durante la realización de las prácticas. No se permitirá abandonar el laboratorio a los integrantes del equipo hasta que recojan y desinfecten su material y la mesa.

Proyectos

Se realizará la propuesta de una práctica en la que se aborden los temas vistos durante el curso, la cual se tendrá que presentar y elaborar en la fecha asignada. Se tomará en cuenta para su calificación la búsqueda oportuna de la práctica, así como la búsqueda y obtención de los materiales y reactivos necesarios para realizarla.

-Presentación en tiempo y forma (requisito).

ACREDITACIÓN

Para acreditar este curso, el estudiante deberá haber asistido como mínimo al 80% de las clases y presentado con suficiencia cada evidencia de desempeño. La escala de calificación será de 2 al 10. La calificación mínima aprobatoria de 6. El incumplimiento de al menos un criterio de los anteriores será motivo de no acreditación.

**UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR**

ÍNDICE

TEMA. INTRODUCCIÓN Y CONCEPTOS FUNDAMENTALES EN BIOLOGÍA CELULAR

- **Práctica 1.** Uso y cuidado del microscopio. 01
- **Práctica 2.** Preparaciones temporales. 07
- **Practica 3.** Diversidad Celular. 10
- **Práctica 4.** Células procarióticas y eucarióticas. 19
- **Práctica 5.** Observación de organelos celulares. 24
- **Práctica 6.** Extracción de pigmentos en tejido vegetal y su separación cromatográfica. 29

TEMA. MEMBRANAS BIOLÓGICAS Y TRANSPORTE A TRAVÉS DE LA MEMBRANA.

- **Práctica 7.** Permeabilidad celular. 35
- **Práctica 8.** Fragilidad osmótica de los eritrocitos. 39
- **Práctica 9.** La membrana y el transporte celular 43
- **Práctica 10.** Difusión a través de una membrana, osmosis y osmolaridad. 49
- **Práctica 11.** Ósmosis en plantas. 55
- **Práctica 12.** Plasmólisis en plantas. 59

TEMA. ORGANELOS PRODUCTORES DE ENERGÍA.

- **Práctica 13.** Observación de plastos y estomas. 63
- **Práctica 14.** Fotosíntesis 68
- **Práctica 15.** Elaboración de almidón en las plantas verdes. 72
- **Práctica 16.** Presencia de glucosa en las hojas de las plantas verdes. 76

TEMA. ORGANELOS NO PRODUCTORES DE ENERGÍA.

- **Práctica 17.** Catalasa: enzima presente en tejidos animales y vegetales. 80

TEMA. NÚCLEO Y REPRODUCCIÓN.

- **Práctica 18.** Núcleo y organelos: centrifugación diferencial. 86
- **Práctica 19.** Mitosis en células vegetales 91

-Práctica 20. Meiosis en célula vegetal	96
-Práctica 21 Extracción de ADN	101
ANEXOS	
A) Formato de poster	105
B) Lineamientos generales para el trabajo en el laboratorio	106
C) Clasificación, manejo y almacenamiento de RPBI	107

UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR
PRÁCTICA No. 01
USO Y CUIDADO DE UN MICROSCOPIO

DURACIÓN: 1.5 horas

MATERIAL DIDÁCTICO:

- Pizarrón
- Videoproyector
- Marcadores

MATERIAL:

- Papel o libreta
- Lápiz/lapiceros

OBJETIVO:

Conocer la importancia del microscopio en el campo de la Biología Celular, así como las partes que lo integran, uso y cuidado de este.

FUNDAMENTO:

Un microscopio es un instrumento que permite observar objetos no perceptibles a simple vista. Ello se consigue mediante un sistema óptico compuesto por lentes de cristal, que, al ser atravesadas por los rayos de luz reflejados por el objeto, forman una imagen ampliada de este.

Los microscopios se pueden clasificar desde un punto de vista muy sencillo en: Simples y compuestos. Se le da el nombre de microscopio simple a todas aquellas lentes con montura o sin ella, de distintos espesores y diámetros, biconvexas o plano convexas, que nos permiten ampliar los objetos, comúnmente conocidas como lupas. Un microscopio compuesto está constituido por la combinación de dos sistemas de lentes convergentes. Uno próximo al ojo del observador, por lo cual se llama ocular y que actúa como microscopio simple. Otro próximo al objeto denominado objetivo.

GENERALIDADES:

Descripción del microscopio compuesto: Sistema de soporte:

- **Pie o base:** la función de esta pieza es dar estabilidad al microscopio y soporte a las demás partes que lo integran.
- **Platina:** es una pieza metálica cuadrada con un orificio en el centro por el cual pasa la luz, posee a su vez un carro móvil con una pinza que sujeta la muestra permitiendo su movilización para la observación.
- **Brazo:** es el soporte que va desde la base hasta el sistema óptico, es el sostén de dicho sistema.

Sistema óptico:

- **Oculares:** son lentes que se encuentran en el cabezal del microscopio, separados por un diafragma que permite el movimiento de estos para obtener una imagen con mejor calidad y comodidad de visión.

- **Objetivos (seco débil 10X, seco fuerte 40X e inmersión 100X):** es la parte mas importante del microscopio, se conforman por varias lentes que corrigen las aberraciones, se encuentran en la parte baja del cabezal sujetos a un carrusel o revolver que permite el cambio de un objetivo a otro.

Sistema de iluminación:

- **Fuente luminosa:** es la luz proporcionada por una lámpara ubicada en la base del microscopio, la cual pasa a través de la platina proporcionando iluminación a la muestra.

- **Condensador:** es un sistema de lentes con gran abertura, que se encuentra entre la platina y la fuente de iluminación; puede subir o bajar dependiendo del objetivo que se este utilizando.

- **Diafragma:** se encuentra situado debajo de la platina y permite regular la cantidad de luz que pasa por el condensador.

Sistema de ajuste:

- **Tornillo macrométrico o de enfoque rápido:** se utiliza para conseguir un ajuste aproximado de la imagen a observar.

- **Tornillo micrométrico o de enfoque fino:** su desplazamiento es mucho más lento y permite enfocar claramente nuestra imagen.

- **Tornillo de carro móvil:** se utiliza para desplazar la laminilla sobre la platina hacia los lados, hacia atrás y hacia delante (ver figura 1).

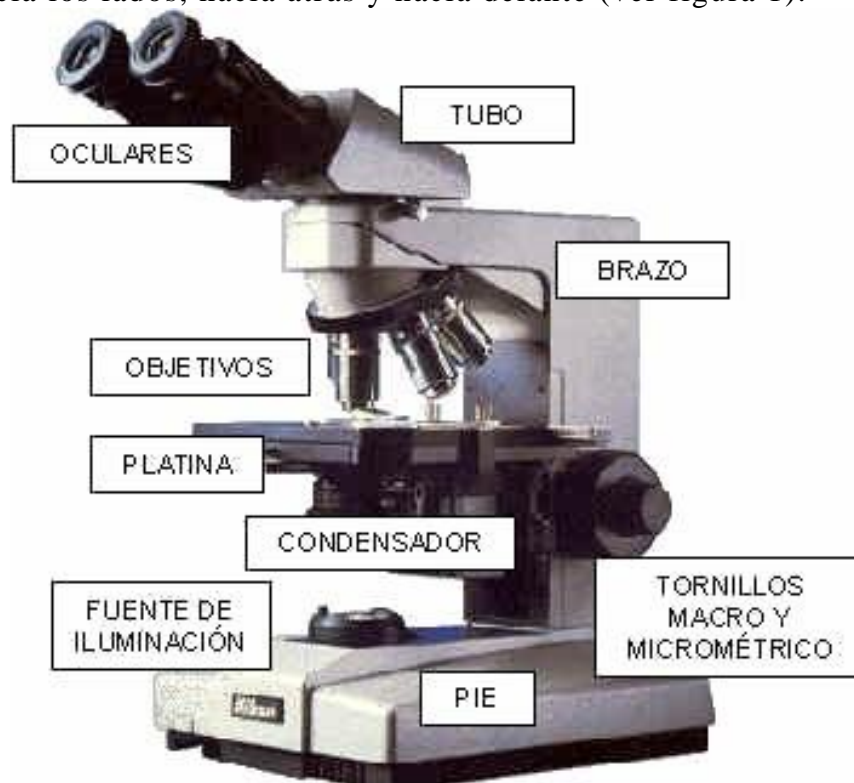


Figura 1. Componentes del microscopio óptico.

MANIPULACIÓN DE UN MICROSCOPIO:

1. El banco y la mesa deberán encontrarse a una altura que le permita al observador el uso del microscopio en posición vertical y de manera confortable.
2. Encender la fuente de iluminación.
3. Montar la preparación que se desea observar.
4. Separar los binoculares ajustándolos a su propia distancia interpupilar.
5. Enfocar entre el ojo derecho y el izquierdo. Los tubos porta oculares son susceptibles de ajuste, esto se logra enfocando primero la imagen con el objetivo de menor aumento, usando los tornillos macro y micrométrico. Si la imagen no es clara, sube o baja el ocular izquierdo mediante el movimiento del anillo que rodea el tubo porta ocular hasta obtener una imagen nítida, así el microscopio queda ajustado a su propia visión ocular.
6. Para enfocar con cualquier objetivo, específicamente el seco fuerte (40 X) y con el de inmersión (100X), deberás acercar el objetivo a la preparación, mirándolo de lado para controlar el descenso hasta que la lente frontal de dicho objetivo quede dentro de la distancia focal. Solamente entonces deberás mirar por el ocular alejando lentamente el objetivo hasta obtener el enfoque correcto, el cual se obtendrá moviendo el tornillo micrométrico.

A) Objetivos de menor aumento (5X Y 10X): descender el condensador afondo, bajar el objetivo sobre la preparación (sin tocarla), subir el objetivo con el tornillo macrométrico hasta ver la imagen a través de los oculares. Suba un poco el condensador en caso de que la iluminación sea insuficiente.

B) Objetivo de gran aumento (40X): colocar el condensador a la mitad de la distancia, bajar el objetivo sobre la preparación (sin tocarla). Subir el objetivo con el tornillo macrométrico muy lentamente hasta ver la imagen en el campo y perfeccionar el enfoque con el tornillo micrométrico. Mover el condensador hasta obtener iluminación suficiente.

C) Objetivo de inmersión: colocar la preparación perfectamente seca, poner una pequeña gota de aceite de inmersión sobre la parte a examinar, subir el condensador a tope. Observa por los oculares y enfoca con el tornillo micrométrico.

ABERTURA NUMÉRICA.

La abertura numérica (A.N.) de un objetivo es una cifra exacta calculada matemáticamente a partir de su diámetro y su longitud focal equivalente, pero a pesar de ser una característica importante, sólo es necesario saber que la abertura numérica se encuentra marcada sobre la lente, que expresa el tamaño del cono de la luz y que de ella depende la cantidad que atraviesa la lente y en particular su poder de resolución y su máxima amplificación útil.

CUIDADOS PARA UN MICROSCOPIO.

El microscopio deberá guardarse en un lugar seco y cubierto del polvo, ya que éste además de dificultar la observación, daña las lentes cuando se frota sin que éstas se hayan limpiado.

- Al trasladarlo de un lugar a otro debe tomarse del brazo con una mano y con la otra sostenerlo de la base.

- Deberás de cerciorarte que las lentes se encuentran limpias de polvo antes de utilizarlo, de no ser así, deben limpiarse cuidadosamente utilizando para ello un papel especial para lentes, el cual se obtiene en las ópticas o en las tiendas de artículos fotográficos.
- Las lentes no deberán quitarse del sitio que les corresponde para que no se llene de polvo el interior del equipo, además es necesario desmontar partes internas para limpiarlo.
- Cuando emplees aceite de inmersión deberás limpiar las lentes una vez terminada la observación, ya que si llegara a secarse sería difícil de limpiarse, esto puedes hacerlo con el mismo papel para las lentes.
- Nunca deberás desarmar un microscopio, ya que, si lo llegaras a hacer sin tener conocimientos de ello, podrás desajustarlo o dañarlo de sus partes. Es por ello por lo que existe personal especializado.
- Las lentes podrán limpiarse con agua destilada, partes metálicas o plásticas del microscopio deberán limpiarse con un trapo de algodón y se les da brillo con aceite mineral.
- Todas las preparaciones que se hagan y se tengan que teñir, limpiarlas del reverso para que no pierdan nitidez.
- Al terminar la observación, deberás limpiar perfectamente las lentes.
- En caso de tener alguna duda en el cuidado del equipo o alguna falla mecánica o eléctrica, deberás de dar aviso al encargado del laboratorio.

FACTORES QUE DAÑAN AL MICROSCOPIO.

1. Lavar las lentes con alcohol.
2. Mojar los objetivos con xilol o alcohol, o bien con alguna otra sustancia.
3. Usar papel ordinario para limpiar las lentes.
4. Poner los dedos sobre las lentes.
5. Limpiar el soporte o la platina con xilol.
6. Limpiar el interior de las lentes con tela o papel, en caso de que sea completamente necesario, utiliza un pincel de cerdas muy pequeñas y/o utiliza papel seda.
7. Dejar el microscopio sin oculares.
8. Guardar el microscopio con aceite de inmersión en el objetivo.
9. Transportar el microscopio con una sola mano.

OTROS TIPOS DE MICROSCOPIOS:

• Microscopio de Contraste de Fases.

Su sistema está compuesto por lente ocular, anillo de fases, lente del objetivo, lente del condensador y diafragma anular. Tiene una amplificación de 1,000 a 2,000 nm. Permite observar estructuras muy difíciles de distinguir. No requiere de una tinción.

• Microscopio de Fluorescencia.

Se compone de un primer filtro de corte o filtro de excitación, espejo dicróico, segundo filtro de corte o filtro de emisión, fuente de iluminación y condensador. Se observan muestras teñidas, inmunofluorescencia directa o indirecta.

•Microscopio de Interferencia.

Es un instrumento que permite la medida de la masa de regiones pequeñas y transparentes de células vivas, obteniéndose datos de tipo cualitativo y cuantitativo. Sus componentes son analizador rotable, un cuarto de longitud de onda, objetivo de interferencia, condensador, polarizador y filtro de interferencia.

•Microscopio Electrónico de Barrido.

Está compuesto por un cañón de electrones (ánodo, cátodo y electroimán), sistema de barrido y de lentes. Su resolución depende de la cantidad de electrones emitidos, contando así con un límite de resolución. Tiene una amplificación de 100,000 a 200,000 veces y una alta resolución en 3D.

•Microscopio Electrónico de Transmisión.

Está compuesto por cañón electrónico, lente condensadora, cámara de muestra, lente objetiva, lente intermedia, proyector, pantalla fluorescente y cámara (placa fotográfica). Utiliza electrones con una longitud de onda de 0.5 Å. Proporciona un aumento de las células de 100, 000 veces aproximadamente.

RESULTADOS:

Se anotará en una tabla la información obtenida de las partes y función de los componentes del microscopio, así como su correcto manejo y manipulación, incluido los factores que lo dañan.

DISCUSIÓN:

Se contrastarán los datos obtenidos de la tabla, con los diferentes tipos de microscopios que existen, analizando sus ventajas y desventajas, dependiendo del tipo de muestras que se pueden analizar en cada uno de ellos.

EVALUACIÓN:

El profesor evaluará a los estudiantes de acuerdo con la disposición para realizar la práctica solicitada. La evaluación se completará con un examen exploratorio del tema y el reporte completo de la práctica.

CONCLUSIONES:

¿Se logró el/los objetivo(s) de la práctica? ¿Si No? ¿Porqué?

BITÁCORA COL:

¿Qué aprendí? ¿Qué sentí?

CUESTIONARIO:

- 1) ¿Cuál es la diferencia entre un microscopio simple y uno compuesto?
- 2) ¿Qué importancia tiene el uso del microscopio en la Biología Celular?
- 3) ¿Por qué es necesario utilizar aceite de inmersión al utilizar el objetivo del mismo nombre?
- 4) ¿Qué significa resolución, poder de resolución y amplificación, asimismo de qué factores depende cada uno de ellos? Presenta tus respuestas a manera de tabla.

5) Realiza una tabla comparativa de todos los tipos de microscopios incluyendo: fuente de iluminación, condensador, longitud de onda, tipo de tinción, resolución, amplificación, tipo de lentes, etc.

FECHA DE REALIZACIÓN:

BIBLIOGRAFÍA:

- Burke, J. **Biología celular**. Interamericana, México, 2012.
- Harvey L. **Biología Celular y Molecular**. 7ª edición. Buenos Aires. Editorial Panamericana. 2016.
- Karp, G. **Biología celular**. Mc Graw Hill. México. 2ª. Edición. 2014.
- Alberts, B. et al. **Introducción a la biología celular**. Editorial Médica Panamericana. 3a edición. México. 2011.
- Karp G. et al. **Biología celular y molecular; conceptos y experimentos**. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 7a Edición. México, 2014.
- NOM-087-ECOL-SSA1-2002**. Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico infecciosos- clasificación y especificaciones de manejo.
- Reglamento Interno de la Facultad de QFB**. Universidad Veracruzana, Xalapa Ver. Disponible en: <https://www.uv.mx/legislacion/files/2018/12/Reglamento-QFB-Xalapa.pdf>.

UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR
PRÁCTICA No. 02
PREPARACIONES TEMPORALES

DURACIÓN: 1.5 horas

MATERIAL DIDÁCTICO:

- Pizarrón
- Videoprojector
- Marcadores

MATERIAL:

- Papel o libreta
- Lápiz/lapiceros

OBJETIVO:

Aprender a realizar una preparación temporal, útil en la observación de diversos tipos de muestras.

FUNDAMENTO:

Las preparaciones pueden ser temporales, frescas y permanentes. Una preparación temporal (figura 1) es aquella que es utilizada en el momento de la observación, ya que requiere que el medio de montaje no se evapore tan rápidamente y que sea posible que el material biológico se conserve por un tiempo (algunos días) en condiciones de ser observado; las frescas solo se usan durante la práctica y posteriormente se lavan. Y las permanentes son aquellas preparaciones que “duran para siempre”, por lo que se debe hacerse con un material especial como el bálsamo de Canadá, para que el cubreobjetos permanezca perfectamente adherido al portaobjetos durante años.



Figura 1. Preparación temporal

GENERALIDADES:

En general una preparación microscópica se define como el resultado de una serie de operaciones destinadas a colocar material de observación en una capa de poco espesor, lo más pequeña y representativa posible. Pudiendo ser en seco, líquido o en vivo, o en partes

sobre una superficie de vidrio transparente (portaobjetos) y cubierta algunas veces con otra de menor aumento y más delgada (cubreobjetos) (ver figura 2).



Figura 2. Material para montaje de muestras.

Los portaobjetos deben ser de vidrio lo más transparente posible, de un espesor aproximado de 2 mm y de unas medidas estándar de 16 x 26 mm. Los bordes pueden ser o no esmerilados. Algunos tienen una concavidad circular en su centro destinada a recibir gotas de líquido con elementos para su estudio. Los cubreobjetos son de muchos tamaños, los habituales son de 18 x 18mm, 20 x 20 mm y 22 x 32 mm y diversas formas, los más comunes son cuadrangulares. Su espesor es aproximadamente de 0.25 mm. A manera de sugerencia, tanto el portaobjetos como el cubreobjetos antes de ser utilizados deberán limpiarse con alcohol para eliminar la grasa y el polvo.

MATERIAL:

- Microscopio compuesto.
- Portaobjetos.
- Cubreobjetos.
- Pipeta pasteur o gotero.
- Frasco gotero con agua.
- Aguja de disección.

MATERIAL BIOLÓGICO:

- Hongo de pan.

TÉCNICA:

1. Colocar en un portaobjetos una gota de agua con el gotero.
2. Tomar una pequeña muestra con la aguja de disección del hongo de pan y extiéndelo sobre la gota de agua que aplicaste en el portaobjetos.
3. Colocar el cubreobjetos sobre tu muestra, cuidando que no vaya a tener aire al momento de que sea colocado.
4. Proceder a observar con el objetivo seco débil y seco fuerte, cuidando que al momento de enfocar no rompas el cubreobjetos.
5. Dibuja lo que observaste en tu preparación.

OBSERVACIONES CON DIBUJOS:

RESULTADOS:

Se anotarán los resultados de los diferentes tipos de hongos encontrados en las observaciones, así como las estructuras más importantes de éstos, estas deben de acompañarse de imágenes/dibujos. Es necesario incluir las dificultades observadas al realizar la manipulación, preparación y observación de las muestras en el microscopio.

DISCUSIÓN:

Se contrastarán las ventajas y desventajas de la realización de preparaciones temporales en relación con los otros tipos de preparaciones que se pueden realizar en el laboratorio.

EVALUACIÓN:

El profesor evaluará a los estudiantes de acuerdo con la disposición para realizar la práctica solicitada. La evaluación se completará con un examen exploratorio del tema y el reporte completo de la práctica.

CONCLUSIONES:

¿Se logró el/los objetivo(s) de la práctica? ¿Si No? ¿Porqué?

BITÁCORA COL:

¿Qué aprendí? ¿Qué sentí?

CUESTIONARIO:

- 1) ¿Por qué son importantes las preparaciones temporales?
- 2) ¿Qué propiedades tiene este medio de montaje?
- 3) ¿Cuáles son las preparaciones que se pueden hacer en el laboratorio?

FECHA DE REALIZACIÓN:**BIBLIOGRAFÍA:**

- Burke, J. **Biología celular**. Interamericana, México, 2012.
- Harvey L. **Biología Celular y Molecular**. 7ª edición. Buenos Aires. Editorial Panamericana. 2016.
- Karp, G. **Biología celular**. Mc Graw Hill. México. 2ª. Edición. 2014.
- Alberts, B. et al. **Introducción a la biología celular**. Editorial Médica Panamericana. 3a edición. México. 2011.
- Karp G. et al. **Biología celular y molecular; conceptos y experimentos**. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 7a Edición. México, 2014.
- NOM-087-ECOL-SSA1-2002**. Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico infecciosos- clasificación y especificaciones de manejo.
- Reglamento Interno de la Facultad de QFB**. Universidad Veracruzana, Xalapa Ver. Disponible en: <https://www.uv.mx/legislacion/files/2018/12/Reglamento-QFB-Xalapa.pdf>.

UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR
PRÁCTICA No. 03
DIVERSIDAD CELULAR

DURACIÓN: 3 horas

MATERIAL DIDÁCTICO:

- Pizarrón
- Videoprojector
- Marcadores

MATERIAL:

- Papel o libreta
- Lápiz/lapiceros

OBJETIVO:

Establecer las semejanzas y diferencias entre las células vegetales y animales.

FUNDAMENTO:

La célula es la unidad básica funcional y estructural más pequeña de los organismos vivos. Se compone de partes características, cuyo trabajo está coordinado de tal manera que cada tipo de célula lleva a cabo una función estructural bioquímica única. Las células realizan numerosas reacciones químicas para dar origen al proceso vital que se lleva a cabo de manera compartimentalizada; es decir, estructuras especializadas dentro de la célula efectúan reacciones químicas aisladas, las cuales están coordinadas unas con otras para mantener con vida tanto la célula como los tejidos, órganos, sistemas y todo el organismo. Regulan el flujo de entrada y de salida de los materiales a fin de asegurar las condiciones óptimas para el proceso vital prevaleciente dentro de ellas. Asimismo, utilizan su información genética para guiar la síntesis de la mayoría de sus componentes y dirigir gran parte de sus actividades químicas; entre éstas, la generación de ATP, por desdoblamiento de los nutrientes, la síntesis molecular, la transportación de las moléculas dentro y entre las células, la remoción de los desechos y el movimiento parcial o incluso de toda la célula.

GENERALIDADES:

Las unidades básicas de todos los organismos tienen muchas características en común, pero no todas ellas poseen todo el conjunto de componentes.

Características de las células animales, células vegetales y protistas.

Las células animales se pueden distinguir fácilmente de las vegetales en virtud de marcadas diferencias. Los animales poseen ciertos sistemas organizados característicos, son capaces de moverse por sí mismos y dependen completamente de sustancias preformadas para obtener energía y carbono; éstas son únicamente algunas de sus características más notorias.

Las plantas superiores contienen el pigmento verde llamado clorofila, lo que les permite efectuar la fotosíntesis, son generalmente inmóviles y tienen sistemas organizados de

manera peculiar. Un número considerable de organismos unicelulares exhiben caracteres tanto de plantas como de animales, a estos como poseen esta peculiaridad los clasifican como protistas.

Características exclusivas de la célula animal.

Centrosoma, cilios y flagelos. Virtualmente todas las células animales y un escaso número de células vegetales muy primitivas o inferiores, tienen una estructura citoplasmática, llamada centrosoma. En la célula en reposo se presenta usualmente cerca del núcleo a manera de una pequeña región más clara con fibras radiadas a manera de una estrella y una o dos pequeñas granulaciones que se tiñen profundamente en su parte central, a las que se les ha dado el nombre de centriolos. Las células de las plantas superiores no tienen centrosoma, aunque en su lugar presentan dos pequeñas áreas claras durante la división celular a las que se les llama casquetes polares, que aparentemente tienen la misma función que el centrosoma durante la división celular.

Además, el centrosoma controla la actividad y la formación de los cilios y flagelos, estructuras citoplasmáticas filamentosas y distendidas que se proyectan a partes de la superficie externa de la membrana celular en cierto tipo de células. Los cilios son relativamente cortos y se presentan en gran cantidad, mientras que los flagelos son considerablemente más largos y en menor número. Ciertos organismos unicelulares poseen un gran número de cilios o flagelos que se mueven rítmica y coordinadamente; pueden contarse por cientos y son los causantes de la movilidad de estas formas unicelulares. Ciertos epitelios que tapizan las superficies internas del organismo, tales como la tráquea humana, poseen grandes cantidades de cilios. Estos movimientos coordinados originan corriente de fluidos y de aire hacia el exterior de la superficie celular, expulsando partículas extrañas pequeñísimas que penetran a la tráquea. Los flagelos también se encuentran en muchos organismos unicelulares y en la gran mayoría de las células espermáticas de animales y vegetales. Su acción, a manera de látigo, favorece la movilidad de estas células (ver figura 1).

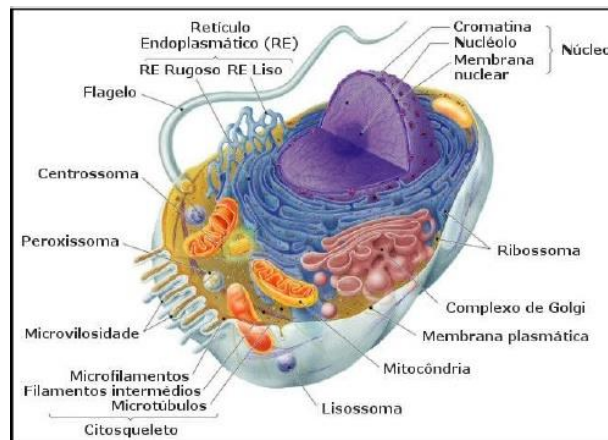


Figura 1. Célula animal.

Caracteres exclusivos de la célula vegetal.

Pared celular. Esta, es una de las características más sobresalientes de la célula vegetal. Consiste en una envoltura moderadamente rígida de material inerte, que rodea a cada uno de los protoplastos. Aunque es sintetizada y secretada por el citoplasma de la célula vegetal,

estrictamente hablando no puede considerarse esta pared celular como un componente de la célula, sino como un depósito extracelular. En la mayoría de las plantas verdes, está compuesta principalmente de un carbohidrato muy complejo llamado celulosa y según el tipo de célula vegetal que se trate, además de la celulosa, puede tener varias sustancias, incluyendo sales, lignina, sustancias parecidas a las grasas repelentes de agua tales como ceras y suberina. La pared celular varía considerablemente en grosor dependiendo del tipo de tejido vegetal y de las condiciones de crecimiento. En células vegetales maduras consiste, por lo regular, de tres capas y casi siempre es mucho más gruesa que la membrana celular adyacente. A diferencia de la membrana celular, es permeable a la mayoría de las moléculas y no controla el paso de materiales hacia dentro y hacia fuera de la célula. En efecto, la pared celular es como una especie de armazón que le sirve a la célula vegetal para proteger, mantener y servir de apoyo a la célula y a la planta en general. Muchas células animales también depositan materiales extracelulares alrededor de la superficie externa de sus membranas celulares. Estos depósitos no contienen celulosa o cera, varían considerablemente en su composición y se les llama sustancias intersticiales. A diferencia de esta pared celulósica, estas sustancias no tienen una organización definida y no dan el efecto de una estructura a manera de una pared. En la mayoría de los tejidos vegetales, la sustancia intersticial actúa como un cemento que mantiene unidas a las células; se extiende al hincharse la célula, ofreciendo poca o ninguna protección contra las rupturas del protoplasto. Cuando la célula pierde agua se adapta a la forma que toma al contraerse. Por el contrario, las membranas celulósicas o paredes celulares de las plantas superiores, bacterias y hongos, mantienen más o menos su forma y tamaño, a pesar de los cambios en el volumen del protoplasto debido a los cambios en el contenido de agua, evitando así la ruptura del protoplasto (figura 2).

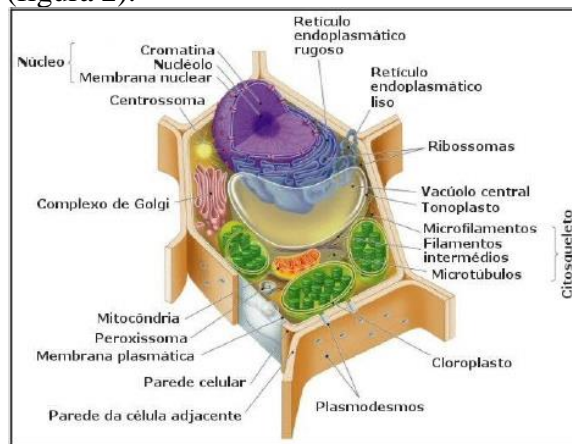


Figura 2. Célula vegetal

Plastos. Son estructuras citoplasmáticas unidas que se encuentran en las células de las plantas superiores y en ciertos organismos unicelulares, pero nunca en las células de animales superiores. Aunque su tamaño, forma y color pueden variar de manera considerable, según el tejido de que se trate, del organismo y de las condiciones de desarrollo, a menudo se presentan en forma de cuerpecillos discoides o esféricos que se encuentran libremente en el citoplasma.

MATERIAL:

- Microscopio compuesto.

- Porta y cubreobjetos.
- Gotero con bulbo.
- Corcho de botella.
- Navaja de rasurar nueva.
- Pinzas.
- Hisopos estériles.
- Lancetas estériles.
- Torundas con alcohol.
- Tubos al vacío Vacutainer de tapa morada.
- Ligadura.
- Pipeta Pasteur.
- Tubos de ensayo de 13 x 100 mm.
- Centrífuga clínica.
- Frascos de boca ancha limpios y secos

MATERIAL BIOLÓGICO:

- Bulbo de cebolla.
- Sangre.
- Semen.
- Orina.
- Polen.

REACTIVOS:

- Solución salina isotónica.
- Azul de metileno al 1%.
- Colorante de Wright.
- Buffer de Fosfatos.
- Aceite de inmersión.

TÉCNICA PARA LAS CÉLULAS DEL CORCHO:

1. Toma el corcho con la mano izquierda, sujeta firmemente y corta una rebanada muy fina colocando la navaja un poco oblicua a la superficie.
2. Cuando se haya obtenido el corte lo suficientemente delgado, se coloca en un portaobjetos y se le agrega una gota de agua y se cubre.
3. Debe evitarse las burbujas de aire.
4. Obsérvese con menor aumento sobre todo las orillas del corte donde habitualmente es más delgado.
5. Dibuja una pequeña porción de este material e indica la forma y el tamaño de las células.
6. Responde lo siguiente:
 - a) ¿Qué estructura se ve dentro de ella?
 - b) ¿Qué parte de la célula es la que evita que el agua penetre en las células?

TÉCNICA PARA LAS CÉLULAS DE CEBOLLA:

1. Corta un bulbo de cebolla en 4 partes, se observará que cada parte se separa por sí sola en capas llamadas envolturas u hojas.
2. Toma una de estas escamas con la superficie cóncava y rómpela. Entonces observarás que se desprende con facilidad una capa muy delgada y transparente que es la epidermis.

3. Toma un fragmento y colócalo sobre un portaobjetos con una gota de agua de modo que la superficie que estaba en contacto con la escama quede hacia arriba. Usa un fragmento de epidermis de no más de 1 cm² y cúbrelo con un cubreobjetos.
4. Observa con menor aumento y contesta lo siguiente:
 - a) ¿Cómo se aprecia la morfología de las células y sus paredes?
5. Retira la preparación de la platina del microscopio y coloca una gota de azul de metileno de un lado de la preparación, en el borde del cubreobjeto para que la solución entre por capilaridad. Observa con un menor aumento.
6. Contesta lo siguiente:
 - a) ¿Cuál es el color y la forma del núcleo? Observa los núcleos con seco fuerte.
 - b) ¿Cuál es la ubicación de este organelo en la célula?
7. Alrededor del núcleo se encuentra una sustancia granular que se ha teñido ligeramente que es el citoplasma, descríbelo. Compara las células de la cebolla con las del corcho.
 - a) ¿En qué difieren?
 - b) ¿En qué se asemejan?
 - c) ¿Consideras que las formas y tamaños celulares están relacionados con las funciones de estas?

TÉCNICA PARA LAS CÉLULAS DE POLEN:

1. Colocar unas partículas de polen sobre un portaobjetos.
2. Agregar una gota de agua y colocarle un cubreobjetos cuidando de no dejar burbujas de aire.
3. Observar la morfología al microscopio con el objetivo de menor aumento.

TÉCNICA PARA CÉLULAS ANIMALES:

1. Coloca una gota de solución salina isotónica en un portaobjetos limpio, con un hisopo frota ligeramente la cara interna de la mejilla y el material que obtengas mézclalo con movimientos rotatorios junto con la solución salina isotónica hasta obtener un material con aspecto lechoso homogéneo. Agrega una gota de azul de metileno y cubre la preparación con un cubreobjetos.
2. Con el objetivo seco débil, localiza las células y compáralas con las de las plantas. Vas a encontrar algunas células asociadas, otras dobladas o rotas. Busca una o dos que estén completas con el objetivo seco fuerte. El núcleo es claramente visible si se ajusta la luz convenientemente, también se podrá observar el citoplasma.

TÉCNICA PARA PUNCIÓN VENOSA:

1. Una vez seleccionado el sitio de punción, con una torunda se frota perfectamente el lugar elegido, sin pasar la torunda por el mismo sitio. Con esto se eliminan suciedad y detritus celulares y se evita la introducción de gérmenes al puncionar.
2. Mientras el alcohol se seca, se aplica un torniquete con la ligadura, unos 7 centímetros por encima del sitio de punción. No se debe dejar muy apretado pues provocaría éxtasis venoso que podría modificar los valores hemáticos. Desde luego que el torniquete no debe ser muy apretado, pues podría ser molesto para el paciente. Se invita al paciente a apretar el puño, con lo que favorece la fijación de la vena además de que la compresión muscular aumenta el flujo venoso con la dilatación de las venas.
3. Se fija la vena en posición, sosteniendo el brazo del paciente con la mano mientras se estiran y comprimen los tejidos blandos situados debajo de donde se va a puncionar. Se

toma el maneral del vacutainer y haciendo un ángulo de 15° con el brazo, se perfora la piel a lo largo de la cara lateral de la vena. Se hace avanzar la punta de la aguja debajo de la piel de 0.5 a 1 cm y luego se perfora la pared de la vena. La introducción se hace con suavidad, pero con suficiente rapidez para reducir las molestias. Una vez que esté saliendo la sangre, se retira la ligadura para evitar hemólisis.

4. Cuando la aguja haya penetrado la vena, se introduce el tubo en el maneral de sujeción, el que se mantiene fijo con la otra mano, hasta que el tapón del tubo sea atravesado por la aguja situada dentro del maneral. Una vez que el tubo se llenó, se extrae y se repite la operación con tantos tubos como sea necesario.

5. Se invita al paciente a abrir su puño. La aguja se retira en sentido inverso a como se introdujo también de manera suave, pero con un solo movimiento. De inmediato, se coloca una torunda impregnada de alcohol en el sitio de punción, ejerciendo presión sobre la zona y manteniéndola así por lo menos de 3 a 4 minutos para evitar la formación de hematomas.

6. Una vez extraída la muestra, es indispensable mezclarla, invirtiendo la muestra para que se mezcle con el anticoagulante y de esta manera evitar una posible coagulación de esta.

FROTIS DE SANGRE:

1. Coloca una gota de sangre en el extremo de un portaobjetos y con otro extiende hacia el otro extremo.

2. Seca el frotis al aire.

3. Una vez seco el frotis se coloca en un puente de tinción, para realizar la tinción de Wright de la siguiente manera: con un gotero, agregar colorante de Wright a todo el frotis y dejarlo reposar 5 minutos, una vez pasado el tiempo agregar sobre el mismo colorante con otro gotero buffer de fosfatos y dejarlo reposar durante 15 minutos, a intervalos de 5 minutos, soplar sobre el frotis con una pipeta Pasteur hasta observar la presencia de capa verde metálica.

4. Una vez cumplido el tiempo, quitar el colorante al chorro de agua durante 5 o 30 segundos.

5. Después del lavado, quitar el exceso de agua inclinando el frotis y tocando con un papel secante el borde inferior. Limpiar la parte posterior del portaobjetos.

6. Secar las preparaciones al aire.

7. Para montar la preparación al microscopio, se deberá agregar una gota de aceite de inmersión y observar a 100X.

8. Imagen de las diferentes células sanguíneas que pueden ser observadas en un frotis (figura 3).

TÉCNICA PARA LA OBTENCIÓN DEL SEMEN:

1. La muestra deberá obtenerse por masturbación y depositarla en un frasco de boca ancha el cual deberá estar perfectamente limpio. Esta muestra preferentemente deberá estar lista pocos minutos antes de la realización de la práctica, para observar la movilidad de los espermatozoides (figura 4).

2. Una vez que se tiene la muestra, colocar una gota de semen en el centro de un portaobjetos, agregar una gota de azul de metileno al 1% y cubrirla con un cubreobjetos.

3. Observar la muestra a 10 y 40X, realizando dibujos de las estructuras observadas.

TÉCNICA PARA LA PREPARACIÓN DE MUESTRA DE ORINA:

1. Obtener una muestra de orina (aproximadamente 10 a 15 mL) en un frasco de boca ancha perfectamente limpio sin restos de detergente.
2. Colocar en un tubo de ensayo de 13 x 100 mm, aproximadamente 5 mL. De orina y centrifugarla durante 5 minutos a 2,500 rpm.
3. Una vez pasado el tiempo, saque el tubo de la centrífuga y por decantación eliminar el sobrenadante, resuspenda el sedimento y agregue unas de azul de metileno, espera 5 minutos y agrega una gota de la solución de orina con azul de metileno a un portaobjetos y cúbrala con un cubreobjetos.
4. Observa al microscopio con el objetivo seco débil y seco fuerte (figura 5).
5. Realiza dibujos de las estructuras observadas en cada preparación.

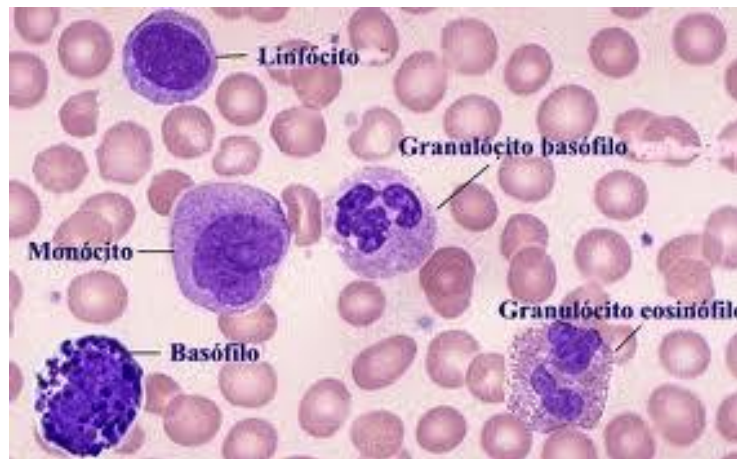


Figura 3. Tipos de leucocitos.

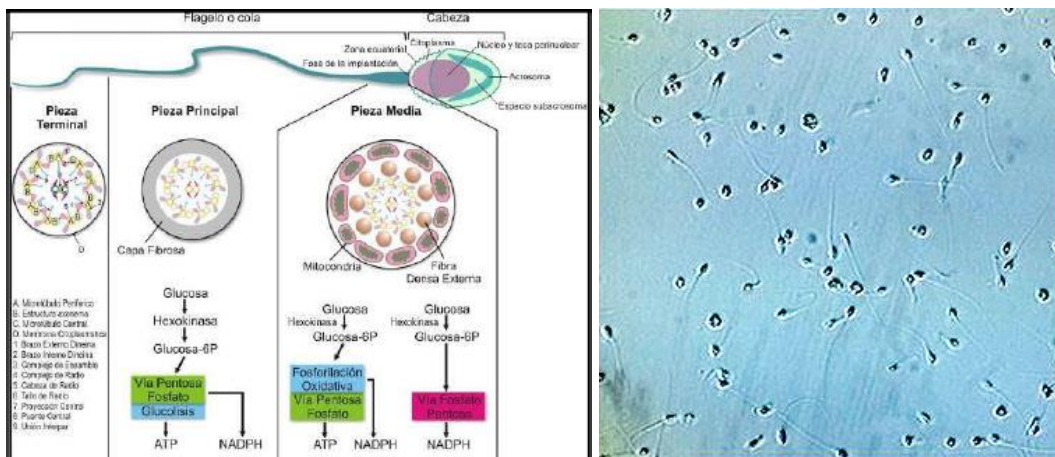


Figura 4. Derecha. Partes del espermatozoide. Izquierda. Movilidad de los espermatozoides.

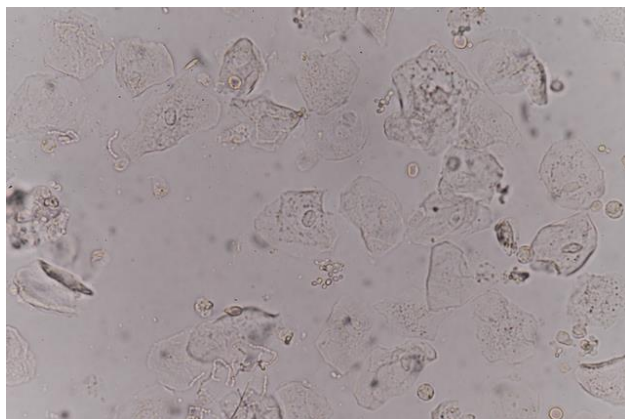


Figura 5. Células del sedimento urinario.

NOTA:

- Resuelve cada una de las preguntas anteriores.
- Elabora una tabla comparativa de las células observadas.

OBSERVACIONES CON DIBUJOS:

RESULTADOS:

Se realizará una tabla comparativa donde se anoten las características de los diferentes tipos de células observadas. Estos resultados deben de acompañarse de imágenes/dibujos. Es necesario incluir las dificultades observadas al realizar la manipulación, preparación y observación de las muestras en el microscopio.

DISCUSIÓN:

Se contrastarán las diferencias y semejanzas de los diferentes tipos de células observadas, en relación con diversidad, estructura externa e interna, presencia/ausencia de organelos, complejidad, función y motilidad.

EVALUACIÓN:

El profesor evaluará a los estudiantes de acuerdo con la disposición para realizar la práctica solicitada. La evaluación se completará con un examen exploratorio del tema y el reporte completo de la práctica.

CONCLUSIONES:

¿Se logró el/los objetivo(s) de la práctica? ¿Si No? ¿Porqué?

BITÁCORA COL:

¿Qué aprendí? ¿Qué sentí?

CUESTIONARIO:

- 1) ¿Qué diversidad celular se encuentra en el frotis de sangre?
- 2) En el frotis de semen ¿Qué células identificas? ¿Todos son normales?
- 3) ¿Qué función tienen cada una de las células sanguíneas?
- 4) ¿Qué analogía estructural existe entre los espermatozoides y los protozoarios?

FECHA DE REALIZACIÓN:

BIBLIOGRAFÍA:

- Burke, J. **Biología celular**. Interamericana, México, 2012.
- Harvey L. **Biología Celular y Molecular**. 7ª edición. Buenos Aires. Editorial Panamericana. 2016.
- Karp, G. **Biología celular**. Mc Graw Hill. México. 2ª. Edición. 2014.
- Alberts, B. et al. **Introducción a la biología celular**. Editorial Médica Panamericana. 3a edición. México. 2011.
- Karp G. et al. **Biología celular y molecular; conceptos y experimentos**. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 7a Edición. México, 2014.
- NOM-087-ECOL-SSA1-2002**. Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico infecciosos- clasificación y especificaciones de manejo.
- Reglamento Interno de la Facultad de QFB**. Universidad Veracruzana, Xalapa Ver. Disponible en: <https://www.uv.mx/legislacion/files/2018/12/Reglamento-QFB-Xalapa.pdf>.

UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR
PRÁCTICA No. 04
CÉLULAS PROCARIÓTICAS Y EUCARIÓTICAS

DURACIÓN: 3 horas

MATERIAL DIDÁCTICO:

- Pizarrón
- Videoprojector
- Marcadores

MATERIAL:

- Papel o libreta
- Lápiz/lapiceros

OBJETIVO:

Establecer algunas diferencias morfológicas entre células procariotas y eucariotas, así como entre células vegetales y animales mediante la observación de estas.

FUNDAMENTO:

Desde que Robert Hooke observó las celdas de corcho, otros científicos se dieron a la tarea de investigar cómo estaban formados los seres vivos. Fueron tres de ellos quienes conformaron lo que conocemos ahora como la Teoría Celular: el botánico Matthew Schleiden quien propuso a la célula como la unidad estructural de las plantas, el zoólogo Theodor Schwann que hizo lo mismo con los animales, y el médico y fisiólogo Rudolph Virchow que conjuntó las propuestas anteriores y propuso que la célula se origina de otra célula.

Existen dos tipos de células en la naturaleza: las procariotas como las bacterias, que están conformadas por una membrana celular, citoplasma, material genético y ribosomas (figura 1).

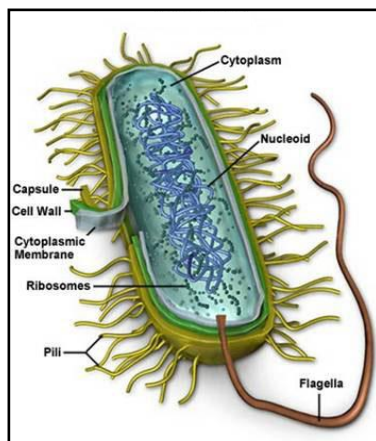


Figura 1. Célula procariota (Bacteria).

Y las eucarióticas como las de los protistas, hongos, plantas y animales, que además de las estructuras de las bacterias, tiene organelos membranosos, con material genético encapsulado en un núcleo (figura 2). Todo esto se conoce gracias a la microscopía electrónica.

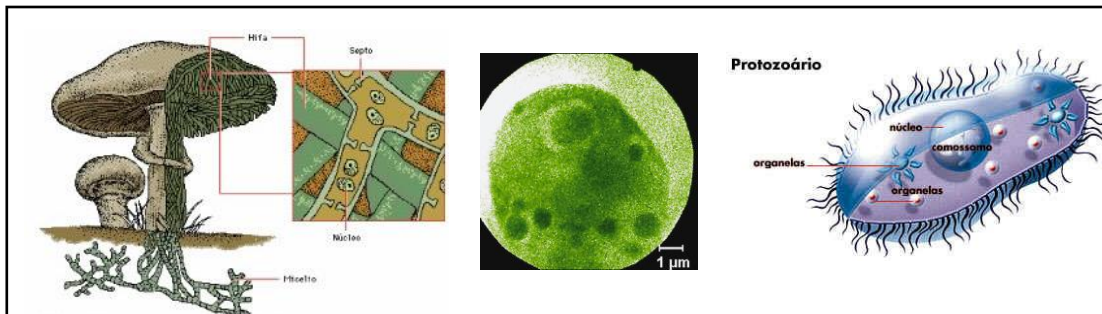


Figura 2. Tipos de células.

GENERALIDADES:

Las células comparten muchas características estructurales, pero hay una clara diferencia entre la organización de las células procariotas y las eucariotas. En particular, las células de los procariontes (bacterias, algas verde-azules y algas verdes) son pequeñas y simples. Tienen una membrana citoplásmica, generalmente delimitada por una pared celular rígida; un nucleoide que consta de una sola molécula de ADN circular y que representa todos los genes del organismo (genoma); y un citoplasma que contiene ribosomas y una gran variedad de moléculas que median el metabolismo, pero carecen de membranas internas permanentes. Al carecer de estas membranas sus células no poseen un núcleo, no poseen mitocondrias, ni cloroplastos, ni retículo endoplásmico, ni aparato de Golgi, ni lisosomas, ni peroxisomas, ni vacuolas. Si bien, algunas bacterias poseen flagelos, estos constan de un solo filamento, a manera de un solo microtúbulo. No está presente, pues, el ordenamiento multifilar que se encuentra en los cilios y flagelos de otros organismos.

El término procariótico se utiliza a menudo para distinguir las células de las bacterias y de las algas, de las células provistas de núcleo o eucarióticas, de todos los demás organismos. Todos los procariontes son organismos unicelulares.

En contraste, las células de los cuatro reinos de los organismos eucarióticos (protistas, hongos, animales y vegetales) son más grandes y están caracterizadas por muchos compartimientos membranosos (Ver figura 3). La característica primaria de las células eucarióticas es el núcleo con sus cromosomas. El citoplasma que rodea al núcleo, limitado a su vez por la membrana, incluye una variedad de organelos, teniendo cada clase su propia organización estructural y función o funciones particulares en la célula. Además de los organelos membranosos, como el retículo endoplásmico, al aparato de Golgi, las mitocondrias, los lisosomas, los cloroplastos (en las células fotosintéticas) y otros, también hay ribosomas, centriolos, microfilamentos, microtúbulos y una multitud de proteínas suspendidas en la porción citosólica del citoplasma.

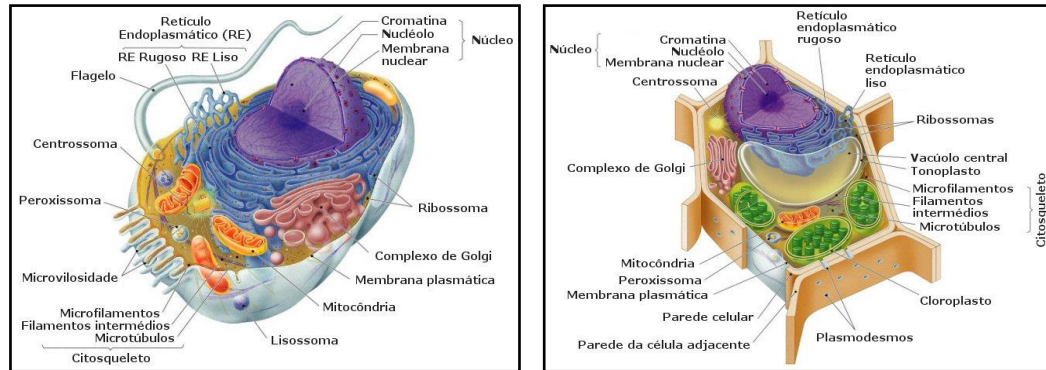


Figura 3. Izquierda. Célula animal. Derecha. Célula Vegetal.

Una membrana rodea al citoplasma y ésta misma puede estar delimitada por una pared celular rígida o por cubiertas superficiales de otras clases. En muchas células la superficie celular incluye especializaciones características, como los cilios o flagelos, las microvellosidades y las uniones con otras células en los tejidos.

Los eucariontes pueden ser unicelulares o multicelulares; ser sexuales o asexuales, o bien variar considerablemente en su forma externa. Las relaciones evolutivas entre los tipos de las células modernas no están todavía muy claras, pero los procariontes son, sin duda, más antiguos y comparten un ancestro común con los organismos eucarióticos. Todas las células ofrecen similitud en la estructura de su membrana, en sus mecanismos para almacenamiento y transferencia de información y en su metabolismo; de modo que es posible que estos aspectos hayan evolucionado muy temprano y hayan sido retenidos desde entonces en todos los linajes descendientes. Los nuevos métodos del análisis molecular podrán aclarar estos hechos evolutivos fundamentales.

MATERIAL:

- Lupa.
- Microscopios.
- Porta y cubreobjetos.
- Hisopos estériles.
- Mechero Bunsen.
- Caja petri.
- Gotero.
- Aguja de disección.
- Navaja.
- Palillo de dientes.

MATERIAL BIOLÓGICO:

- Agua de estanque o de acuario (agua verde).
- Pan y frutas con mohos.
- Sarro dentario.
-

REACTIVOS:

- Lugol.

- Fucsina básica.
- Cristal violeta.
- Alcohol de 90°.
- Azul de metileno.

TÉCNICA PARA LA OBSERVACIÓN DE BACTERIAS:

1. Disolver en una gota de agua sobre un portaobjetos, una pequeña porción de sarro dentario y con ésta se realiza un frotis o extensión. Enseguida fijarlo a la llama de un mechero bunsen, para esto pasar varias veces el portaobjetos sobre la flama cuidando que no hierva la preparación.
2. Coloca dentro de una caja Petri el portaobjetos, cubriéndolo con la solución de cristal violeta por un minuto. Lavar al chorro de agua cuidando que no se arrastre la muestra.
3. Agrega una gota de Lugol, dejar 1 minuto y lavar al chorro de agua.
4. Decolorar con alcohol de 90°. Esta operación debe ser rápida para que no se elimine todo el colorante.
5. Cubrir con fucsina básica por medio minuto. Escurrir el colorante y lavar al chorro de agua.
6. Dejar secar la preparación al aire.
7. Observar al microscopio con objetivo de inmersión. Algunas bacterias se verán teñidas de color rosa y otras de violeta.
8. Hacer esquemas de las observaciones, señalando con su nombre las estructuras que se puedan distinguir.

TÉCNICA PARA LA OBSERVACIÓN DE PROTOZOARIOS Y ALGAS:

1. Colocar sobre un portaobjetos una gota de agua verde de estanque o bien raspar las paredes de un acuario con un portaobjetos.
2. Colocarle un cubreobjetos para observar en el microscopio con los objetivos seco débil y seco fuerte.
3. Realizar esquemas de los organismos observados y señalar los nombres de las estructuras que se puedan visualizar.

TÉCNICA PARA LA OBSERVACIÓN DE MOHOS (HONGOS PLURICELULARES):

1. Colocar algunas hifas sobre un portaobjetos (desprender el moho del pan y verduras mediante una aguja de disección, con movimientos suaves para no destruirlo).
2. Cubrir las con una solución de azul de metileno por 2 minutos.
3. Escurrir el colorante con cuidado y colocar un cubreobjetos sobre las hifas. Observar a seco débil. Realizar los esquemas correspondientes, señalando las estructuras visibles.

OBSERVACIONES CON DIBUJOS:

RESULTADOS:

Se realizará una tabla comparativa donde se anoten las características de las células procariotas y eucariotas. Estos resultados deben de acompañarse de imágenes/dibujos. Es

necesario incluir las dificultades observadas al realizar la manipulación, preparación y observación de las muestras en el microscopio.

DISCUSIÓN:

Se contrastarán las diferencias y semejanzas entre las células procariotas y eucariotas, en relación con diversidad, estructura externa e interna, presencia/ausencia de organelos, complejidad y función.

EVALUACIÓN:

El profesor evaluará a los estudiantes de acuerdo con la disposición para realizar la práctica solicitada. La evaluación se completará con un examen exploratorio del tema y el reporte completo de la práctica.

CONCLUSIONES:

¿Se logró el/los objetivo(s) de la práctica? ¿Si No? ¿Porqué?

BITÁCORA COL:

¿Qué aprendí? ¿Qué sentí?

CUESTIONARIO:

- 1) ¿Cuáles fueron las diferencias que observaste al microscopio entre las células eucariontes y procariontes?
- 2) Clasifica las células observadas en:

Células Procarióticas	Células Eucarióticas

- 3) Mencionar una diferencia estructural entre las células vegetales y animales observadas al microscopio.

FECHA DE REALIZACIÓN:

BIBLIOGRAFÍA:

- Burke, J. **Biología celular**. Interamericana, México, 2012.
- Harvey L. **Biología Celular y Molecular**. 7ª edición. Buenos Aires. Editorial Panamericana. 2016.
- Karp, G. **Biología celular**. Mc Graw Hill. México. 2ª. Edición. 2014.
- Alberts, B. et al. **Introducción a la biología celular**. Editorial Médica Panamericana. 3a edición. México. 2011.
- Karp G. et al. **Biología celular y molecular; conceptos y experimentos**. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 7a Edición. México, 2014.
- NOM-087-ECOL-SSA1-2002**. Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico infecciosos- clasificación y especificaciones de manejo.
- Reglamento Interno de la Facultad de QFB**. Universidad Veracruzana, Xalapa Ver. Disponible en: <https://www.uv.mx/legislacion/files/2018/12/Reglamento-QFB-Xalapa.pdf>.

UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR
PRÁCTICA No. 05
OBSERVACIÓN DE ORGANELOS CELULARES

DURACIÓN: 3 horas

MATERIAL DIDÁCTICO:

- Pizarrón
- Videoprojector
- Marcadores

MATERIAL:

- Papel o libreta
- Lápiz/lapiceros

OBJETIVO:

Identificar las estructuras que integran las células vegetales y animales como plastos, núcleo, etc., mediante la observación de las preparaciones.

FUNDAMENTO:

Los organelos son estructuras especializadas que tienen formas características y realizan funciones específicas en el crecimiento, mantenimiento y reproducción de las células (ver figura 1). Muchas reacciones químicas ocurren en una célula simultáneamente, sin embargo, hay poca interferencia entre los distintos tipos de reacciones porque ocurren en diferentes organelos.

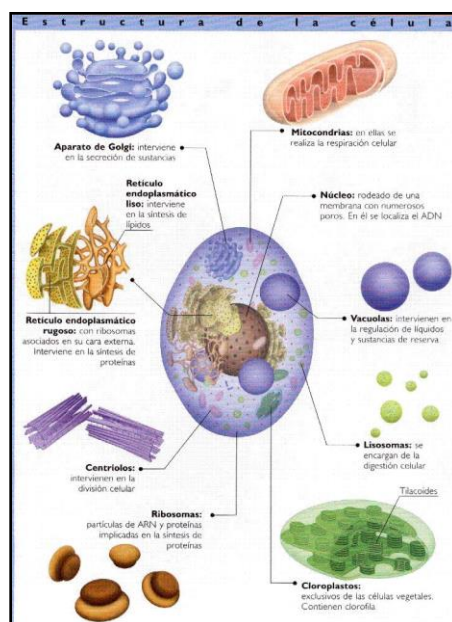


Figura 1. Organelos celulares.

Cada tipo de éstos tiene un conjunto de enzimas características propias que desempeñan reacciones específicas, y cada uno se encuentra en un comportamiento funcional, donde ocurren procesos fisiológicos particulares. No obstante, los organelos con frecuencia colaboran entre ellos para mantener la homeostasis.

GENERALIDADES:

La parte interior de la célula se llama citoplasma y este se divide en dos componentes: el citosol y los organelos.

- **Citosol:** Es la parte líquida en la que circundan los organelos y constituye aproximadamente el 55% del volumen total de la célula. Si bien varía en su composición y consistencia de una parte a otra de la célula, contiene de 75 a 90 % de agua más componentes disueltos y suspendidos. Entre ellos hay varios iones, glucosa, aminoácidos, ácidos grasos, proteínas y lípidos, ATP y productos de desecho. También están presentes varias moléculas orgánicas que se agregan en masas y son almacenadas. Dichas moléculas pueden aparecer y desaparecer varias veces a lo largo de la vida de las células.

Los organelos a su vez se dividen en varios tipos y realizan funciones diversas.

- **Centrosoma:** Se ubica cerca del núcleo, consta de dos componentes, el área pericentriolar y los centriolos. El área pericentriolar constituye una región del citosol compuesta por una densa red de pequeñas fibras de proteína. Esta zona es un centro de organización para el huso mitótico, que desempeña un papel básico en la división celular y en la formación de microtúbulos en las células indivisibles. Dentro del área pericentriolar hay un par de estructuras cilíndricas llamadas centriolos, cada una de las cuales está compuesta por nueve racimos o haces de tres microtúbulos dispuestos en forma circular.
- **Cilios:** Son numerosos filamentos cortos que se extienden desde la superficie celular. Cada uno contiene un centro de microtúbulos envueltos por la membrana plasmática. Cada cilio se halla fijo a un cuerpo basal justo debajo de la membrana plasmática.
- **Flagelos:** Son similares en estructura a los cilios, pero mucho más largos. Con frecuencia mueven a una célula entera. Un flagelo genera movimiento hacia delante a lo largo de su eje mediante un culebreo rápido conforme a un patrón oscilante.
- **Ribosomas:** Son sitios donde se sintetizan proteínas. Éstos diminutos organelos constituyen haces de cadenas ARN ribosómico y muchas proteínas también ribosómicas. Los ribosomas reciben este nombre porque tienen un alto contenido de ácido ribonucleico.
- **Retículo endoplásmico:** Es una red de membranas que forman sacos planos o túbulos denominados cisternas (cavidades). Se extiende de la membrana que envuelve al núcleo (cubierta nuclear), a la cual está conectado, por todo el citoplasma. El retículo endoplásmico es tan extenso que constituye más de la mitad de las superficies membranosas dentro del citoplasma de la mayoría de las células.

- **Complejo de Golgi:** La mayoría de las proteínas sintetizadas por los ribosomas que se unen al retículo endoplásmico rugoso finalmente son transportadas a otras regiones de la célula. El primer paso en la vía de transporte es el complejo de Golgi, que está formado por 3 a 20 sacos membranosos aplanados con bordes predominantes. La mayor parte de las células solo tienen un complejo de Golgi, aunque algunas poseen muchos. Dicho complejo es más extenso en las células que secretan proteínas en el líquido extracelular. La entrada, las cavidades intermedias y la salida del complejo de Golgi contienen enzimas diferentes que les permiten a cada una modificar, ordenar y empaquetar las proteínas para que puedan ser transportadas a su destino.
- **Lisosomas:** Son membranas envueltas en vesículas que se forman en el complejo de Golgi. Dentro de ellas hay hasta 40 clases de poderosas enzimas digestivas o hidrolíticas que tienen la capacidad de descomponer una amplia variedad de moléculas. Las enzimas lisosómicas trabajan mejor en pH ácido y la única membrana lisosómica incluye bombas de transporte activo que mueve iones de hidrógeno (H^+). La membrana lisosómica también permite que los productos finales de la digestión, como los azúcares y aminoácidos sean transportados dentro del citosol. Un lisosoma puede engullir otro organelo, digerirlo y regresar sus componentes al citosol para que vuelvan a ser usados.
- **Mitocondria:** Constituye la central energética de la célula. Una célula puede tener unos pocos cientos o miles de mitocondrias. Las células con actividad fisiológica tienen un gran número de mitocondrias porque usan ATP en grandes cantidades. Una mitocondria está limitada por dos membranas, cada una de las cuales es similar en estructura a la membrana plasmática. Las mitocondrias se autorreplican, un proceso que ocurre cuando se incrementa la demanda de energía o antes de la división celular.

MATERIAL:

- Aguja de disección.
- Vasos de precipitado.
- Tubos de ensayo de 13 x 100 mm.
- Cubreobjetos y portaobjetos.
- Microscopio compuesto.
- Navajas.
- Algodón.
- Frasco de boca ancha.

MATERIAL BIOLÓGICO:

- Elodea (*Elodea canadensis*, planta acuática)
- Geranio (*Pelargonium grandiflorum*)
- Jitomate.
- Cultivo de paramecios.
- Nopal.
- Sandía.

REACTIVOS:

- Azul de metileno.
- Alcohol absoluto.
- Éter.
- Solución de yodo.
- Solución de lugol.
- Cristal violeta.

TÉCNICA PARA CÉLULAS VEGETALES:

1. Coloca entre el cubreobjetos una hoja de Elodea con una gota de agua, selecciona una célula y cuenta el número de cloroplastos. Haz lo mismo en diez células y obtén el promedio. Observa su forma y localización.
2. Haz la misma operación en células de corte de nopal.
3. Preparar con 48 horas de anticipación una planta de geranio expuesta a la luz y otra a la oscuridad.
4. Haz un corte transversal de una hoja de la planta de geranio expuesta a la luz y otra expuesta a la oscuridad.
5. Observa y compara el contenido de cloroplastos en cada una.
6. Haz un corte delgado de pulpa de jitomate y colócalo entre porta y cubreobjetos. Obsérvalo al microscopio y anota su forma, color y tamaño de los cromoplastos. Puede observarse lo mismo macerando en agua el pétalo de una flor colorida.
7. Observa a seco débil y seco fuerte una preparación de un corte delgado de la parte blanca de la sandía para identificar la presencia de leucoplastos.
8. Esquematiza la posición que ocupan las vacuolas y el número de ellas. Se recomienda teñir con cristal violeta.
9. De las preparaciones anteriores esquematiza los núcleos y contesta lo siguiente:
 - a) ¿Cuál es la localización de los núcleos?
 - b) ¿Llena el citoplasma toda la célula?
 - c) Con respecto al geranio ¿Qué podrías concluir?

TÉCNICA PARA CÉLULAS ANIMALES:

1. Coloca una gota del cultivo de paramecios en un portaobjetos y encima un cubreobjetos.
2. Localiza un paramecio de buen tamaño y trata de apreciar las vacuolas.
3. Observa la forma, el tamaño y el núcleo de las células y contesta lo siguiente:
 - a) ¿Son semejantes las estructuras observadas en las células vegetales a las del paramecio?

NOTA: Para realizar un cultivo de paramecios se puede conseguir agua de florero de panteón o bien colocar un poco de paja en un frasco con agua por lo menos con una semana de anterioridad y verificar al cabo de este tiempo la presencia de paramecios.

OBSERVACIONES CON DIBUJOS:

RESULTADOS:

Se realizará una tabla comparativa donde se anoten las características de las estructuras internas y externas de las diferentes células observadas. Estos resultados deben de

acompañarse de imágenes/dibujos. Es necesario incluir las dificultades observadas al realizar la manipulación, preparación y observación de las muestras en el microscopio.

DISCUSIÓN:

Se contrastarán las diferencias y semejanzas de las características externas e internas de las células observadas, en relación con diversidad, localización de núcleo y ciertos organelos y función.

EVALUACIÓN:

El profesor evaluará a los estudiantes de acuerdo con la disposición para realizar la práctica solicitada. La evaluación se completará con un examen exploratorio del tema y el reporte completo de la práctica.

CONCLUSIONES:

¿Se logró el/los objetivo(s) de la práctica? ¿Si No? ¿Porqué?

BITÁCORA COL:

¿Qué aprendí? ¿Qué sentí?

CUESTIONARIO:

- 1) Realiza un cuadro sinóptico describiendo cada organelo y su función dentro de la célula.
- 2) Elabora una tabla comparativa de organelos entre la célula animal y la vegetal.

FECHA DE REALIZACIÓN:

BIBLIOGRAFÍA:

- Burke, J. **Biología celular**. Interamericana, México, 2012.
- Harvey L. **Biología Celular y Molecular**. 7ª edición. Buenos Aires. Editorial Panamericana. 2016.
- Karp, G. **Biología celular**. Mc Graw Hill. México. 2ª. Edición. 2014.
- Alberts, B. et al. **Introducción a la biología celular**. Editorial Médica Panamericana. 3a edición. México. 2011.
- Karp G. et al. **Biología celular y molecular; conceptos y experimentos**. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 7a Edición. México, 2014.
- NOM-087-ECOL-SSA1-2002**. Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico infecciosos- clasificación y especificaciones de manejo.
- Reglamento Interno de la Facultad de QFB**. Universidad Veracruzana, Xalapa Ver. Disponible en: <https://www.uv.mx/legislacion/files/2018/12/Reglamento-QFB-Xalapa.pdf>.

UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR
PRÁCTICA No. 06
EXTRACCIÓN DE PIGMENTOS EN TEJIDO VEGETAL Y SU SEPARACIÓN
CROMATOGRÁFICA.

DURACIÓN: 3 horas

MATERIAL DIDÁCTICO:

- Pizarrón
- Videoprojector
- Marcadores

MATERIAL:

- Papel o libreta
- Lápiz/lapiceros

OBJETIVO:

Extraer los pigmentos fotosintéticos presentes en un producto natural (espinacas) y separarlos. Esta separación se realizará mediante una técnica sencilla como la extracción líquido-líquido, y por técnicas de cromatografía simples como son la de papel o capa fina.

FUNDAMENTO:

La fotosíntesis, proceso que permite a los vegetales obtener la materia y la energía que necesitan para desarrollar sus funciones vitales, se lleva a cabo gracias a la presencia, en las hojas y en los tallos jóvenes de pigmentos capaces de captar la energía lumínica. Entre todos los caracteres más externos de los vegetales, el más notable y característico es probablemente el color. El color no es únicamente un carácter llamativo de la vegetación, sino que, además, algunos de los pigmentos que lo condicionan están estrechamente ligados a las actividades fisiológicas del propio vegetal. Por consiguiente, el estudio de cómo las plantas viven y se desarrollan requiere el previo conocimiento de los pigmentos vegetales que contienen.

GENERALIDADES

En el reino vegetal, es posible encontrar todos los matices y combinaciones de colores del espectro, existiendo un predominio general de los colores primarios: verde, amarillo, rojo, azul. Estos colores son conferidos a los vegetales por determinados compuestos químicos definidos, llamados pigmentos. El color particular que presenta un determinado órgano vegetal depende generalmente del predominio de uno u otro pigmento o de la combinación de ellos. Cuando un vegetal presenta un color blanco, es debido a la falta de tales pigmentos. La luz solar que incide sobre él no es absorbida selectivamente como ocurre en las partes coloreadas, sino que es transmitida o reflejada prácticamente sin sufrir modificación.

Entre los diferentes pigmentos se encuentran:

1. Clorofilas. El color verde tan uniformemente presente en los vegetales es debido a la presencia de dos pigmentos estrechamente emparentados llamados clorofila a y clorofila b. Están presentes en los cloroplastos de las plantas verdes, especialmente en las hojas.
2. Carotenoides. Son pigmentos rojos, amarillos o de color naranja que se encuentran ampliamente distribuidos en los reinos animal y vegetal. Se les llama pigmentos lipocrómicos porque son solubles en lípidos. En las plantas superiores los carotenoides se encuentran en las hojas junto con las clorofilas; también constituyen los principales pigmentos de ciertas flores amarillas, naranja y rojas, y de ciertos frutos. Su color, que varía desde amarillo pálido, pasando por anaranjado, hasta rojo oscuro, se encuentra directamente relacionado con su estructura: los enlaces dobles carbono-carbono interactúan entre sí en un proceso llamado conjugación. Cuando el número de dobles enlaces conjugados aumenta, la longitud de onda de la luz absorbida también lo hace, dando al compuesto una apariencia más rojiza. Por ejemplo, el fitoeno que posee únicamente tres enlaces dobles conjugados absorbe luz en el rango ultravioleta y apareciendo por tanto incoloro a la vista, el licopeno, compuesto que confiere su color rojo al tomate contiene 11 enlaces dobles conjugados. Existen también carotenoides de color verde (ζ -Caroteno), amarillo (β -caroteno), y anaranjado (neurosporaxantina) Los carotenoides comprenden dos grupos de compuestos: a. Carotenos, que son hidrocarburos (solubles en éter de petróleo o mezcla de hexanos). b. Xantofilas, que son derivados oxigenados de los anteriores. Dichos grupos oxigenados son, alcoholes, aldehídos, cetonas, epóxidos y ácidos carboxílicos (figura 1).

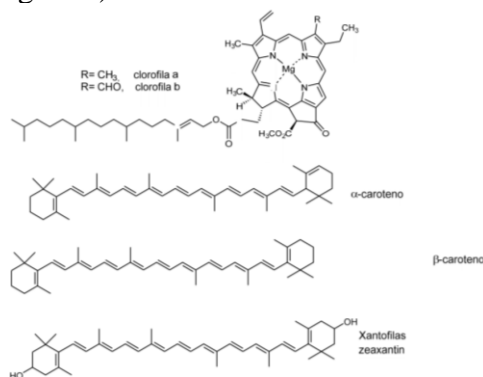


Figura 1. Estructura de los diferentes pigmentos

Los pigmentos clorofílicos son insolubles en agua, pero sí son solubles (afinidad química) en disolventes orgánicos como por ejemplo etanol y acetona. A los disolventes que extraen simultáneamente todos los pigmentos de la hoja se los suele llamar extractantes. Existen otros disolventes que presentan afinidad por algunos pigmentos y se los llama separadores, como por ejemplo el hexano y el éter de petróleo, entre otros. En el método de extracción simple, que veremos más adelante, se utilizará como extractante la acetona y como separador el hexano. En el segundo método, el cromatográfico, se realizará una separación más fina de los pigmentos, y se basa en la adsorción y solubilidad diferenciales de los mismos. Un soporte inerte como papel de filtro, silicagel o alúmina y unos granos de carbonato de calcio para deshidratar la muestra, son los componentes necesarios para desarrollar la técnica. Es una técnica que

permite la separación de las sustancias de una mezcla que tienen una afinidad diferente por el disolvente en que se encuentran.

MATERIAL:

- Mortero con pistilo
- Embudo cónico
- Embudo de separación
- Papel filtro
- Capilares
- Vasos de pp de 50 y 100 mL
- Vidrios de reloj
- Matraces Erlenmeyer
- Pipetas Pasteur
- Varilla de vidrio
- Espátula
- Tubos de ensayo de 13 x 100 mm.

MATERIAL BIOLÓGICO:

- Espinacas

REACTIVOS:

- Acetona
- Metanol
- Hexano
- Acetato de etilo
- Carbonato de calcio

TÉCNICA:

EXTRACCIÓN DE PIGMENTOS VEGETALES MEDIANTE EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO:

1. A 7 g de hojas frescas de espinacas troceadas se le añade una punta de espátula de carbonato cálcico (para neutralizar los tejidos ácidos y prevenir una pérdida parcial de magnesio de las clorofilas) y se tritura la mezcla en un mortero.
2. A continuación, se añaden 25 mL de acetona y se deja macerar la mezcla hasta decoloración de las hojas (es posible que sea necesario transvasar a un vaso de precipitados).
3. Una vez obtenido el extracto, se filtra por gravedad en un embudo cónico provisto de una bola de algodón o mediante un embudo provisto de papel de filtro. El filtrado resultante (disolución A) contiene las clorofilas a y b, los carotenoides, las xantofilas y otras moléculas incoloras solubles en acetona. De dicha disolución se toman 5 mL y se reservan en un tubo de ensayo al que se etiqueta como “disolución A”.
4. Con el resto del filtrado, se procederá a hacer un cambio de disolvente. Eliminaremos la acetona y la sustituiremos por hexano. Para ello, del filtrado (unos 20 mL) se introducen en un embudo de separación al que se añaden 15 mL de hexano. A continuación, y con objeto de eliminar la acetona, se añaden 35 mL de

agua destilada a la mezcla, lentamente y dejándola resbalar por las paredes del embudo. Se agita suavemente y se espera hasta que se separen las dos fases; en la superior (hexano) estarán los pigmentos que se desean separar y en la inferior la mezcla de acetona y agua. Si se forman emulsiones, se adiciona una pequeña cantidad de cloruro sódico sólido y se agita, hasta obtener una separación perfecta de fases. Se abre la llave del embudo y se recoge la fase inferior en un Erlenmeyer. Se repite el lavado de la fase orgánica con agua dos veces más, y en el último lavado, para asegurarnos de que se elimina toda la acetona, se deja escapar un par de gotas de la fase superior. A continuación, al embudo que contiene el extracto de hexano, se añaden 10 mL de metanol y se mezcla enérgicamente, teniendo la precaución de destapar el embudo de vez en cuando para dejar escapar los gases acumulados. La solución de metanol es más polar y densa que la de hexano y puesto que ambos son inmiscibles se formarán dos nuevas fases: La superior, de hexano (disolución B), lleva disueltos los pigmentos menos polares, los carotenos. La inferior, de metanol (disolución C), lleva disueltos los más polares, clorofila a, clorofila b y xantofilas. Separar la capa inferior. Se repite la extracción con 10 mL más de metanol. Se reúnen los dos extractos metanólicos (20 mL totales) en tubos de ensayo y la capa superior (hexano, unos 15 mL totales) se pasa a otros tubos de ensayo y se reserva.

SEPARACIÓN DE PIGMENTOS VEGETALES POR CROMATOGRAFÍA DE PAPEL.

Se trabajará con las disoluciones A, B y C obtenidas en el apartado anterior.

Separación de pigmentos vegetales por cromatografía sobre papel.

1. Sobre un rectángulo de papel de filtro de unos 8 centímetros de ancho por 6 centímetros de alto doblado en V (para que se mantenga en pie dentro de la cubeta) se traza con lápiz, una línea de siembra a 1 cm de la base.
2. Sobre la línea se marcan tres puntos equidistantes entre sí y sobre cada punto se realizan de 5 a 8 descargas con el capilar cargado de las disoluciones A, B y C, dejando entre cada toque el tiempo necesario para que se evapore el disolvente.
3. Se coloca el papel ya sembrado en una cubeta de cromatografía o en un vaso de precipitados que contendrá el disolvente separador denominado eluyente (hexano-acetona, 8,5-1,5), se tapa con un vidrio de reloj y se deja que el líquido suba por el papel hasta aproximadamente 0.5 cm de su extremo superior.
4. A continuación, se saca el papel de la cubeta o vaso de precipitados, se evapora el eluyente en la misma vitrina y se observa la cromatografía a la luz visible y a la luz UV.
5. Los pigmentos se habrán separado según su adsorción o afinidad con el disolvente. Dibuje lo observado en la cromatografía de papel en el cuaderno de laboratorio. Determine los R_f de cada una de las manchas observadas. A continuación, se puede observar una fotografía en la que se aprecian perfectamente los distintos tipos de pigmentos extraídos de una muestra de espinacas (E) y de una muestra de los pigmentos extraídos de perejil deshidratado (P).

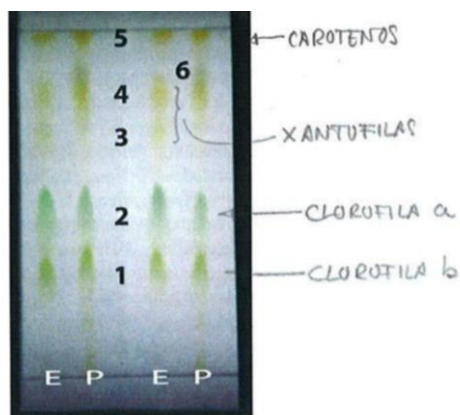


Figura 2. Cromatograma donde se observan por duplicado las muestras de extracto de Espinaca (E) y de perejil (P).

OBSERVACIONES CON DIBUJOS:

RESULTADOS:

Se realizará una tabla comparativa donde se anoten las soluciones A, B y C, y los diferentes tipos de pigmentos obtenidos en cada uno de ellos. De acuerdo con lo siguiente:

Color	Pigmento
Verde azulado	Clorofila A
Verde amarillento	Clorofila B
Naranja	Carotenos
Amarillo	Xantofilas

Estos resultados deben de acompañarse de imágenes/dibujos. Es necesario incluir las dificultades observadas al realizar el procedimiento experimental.

DISCUSIÓN:

Se contrastarán los resultados obtenidos de los pigmentos obtenidos en las diferentes muestras, de acuerdo con la afinidad por los extractantes utilizados.

EVALUACIÓN:

El profesor evaluará a los estudiantes de acuerdo con la disposición para realizar la práctica solicitada. La evaluación se completará con un examen exploratorio del tema y el reporte completo de la práctica.

CONCLUSIONES:

¿Se logró el/los objetivo(s) de la práctica? ¿Si No? ¿Porqué?

BITÁCORA COL:

¿Qué aprendí? ¿Qué sentí?

CUESTIONARIO:

1. ¿Qué otros métodos cromatográficos existen para la separación de pigmentos, además de la cromatografía en papel?

2. ¿Qué características presentan los pigmentos que permite adquieran determinada coloración?
3. ¿Cuál es la diferencia entre un pigmento fotosensible, fotoprotector y fotosintético?
4. ¿Cuáles son los principales usos de los pigmentos?

FECHA DE REALIZACIÓN:

BIBLIOGRAFÍA:

- Burke, J. **Biología celular**. Interamericana, México, 2012.
- Harvey L. **Biología Celular y Molecular**. 7ª edición. Buenos Aires. Editorial Panamericana. 2016.
- Karp, G. **Biología celular**. Mc Graw Hill. México. 2ª. Edición. 2014.
- Alberts, B. et al. **Introducción a la biología celular**. Editorial Médica Panamericana. 3a edición. México. 2011.
- Karp G. et al. **Biología celular y molecular; conceptos y experimentos**. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 7a Edición. México, 2014.
- NOM-087-ECOL-SSA1-2002**. Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico infecciosos- clasificación y especificaciones de manejo.
- Reglamento Interno de la Facultad de QFB**. Universidad Veracruzana, Xalapa Ver. Disponible en: <https://www.uv.mx/legislacion/files/2018/12/Reglamento-QFB-Xalapa.pdf>.

UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR
PRÁCTICA No. 07.
PERMEABILIDAD CELULAR

DURACIÓN: 1.5 horas

MATERIAL DIDÁCTICO:

- Pizarrón
- Videoprojector
- Marcadores

MATERIAL:

- Papel o libreta
- Lápiz/lapiceros

OBJETIVO:

Observar y comparar el efecto de diversas sustancias químicas a través de la difusión en una membrana celular por medio de la hemólisis.

FUNDAMENTO:

Existen varios métodos para medir la presión osmótica celular; la mayor parte son físicos. Algunos de estos métodos son utilizando tanto a la zanahoria como al celofán, por lo que es conveniente comparar los anteriores modelos utilizando células vivas, como en este caso serán glóbulos rojos.

GENERALIDADES:

El movimiento de agua de adentro hacia afuera de las células está influido por la semipermeabilidad de la membrana celular, o sea, su capacidad de permitir el paso de ciertas moléculas o bien impedírsele (figura 1).

El término ósmosis se deriva de la palabra griega que significa empujar. La tendencia de empujar sus moléculas desde la porción más concentrada hacia la menos concentrada, puede ser el resultado de una fuerza que llamamos presión osmótica. Puesto que la presión osmótica depende de la concentración de los materiales en suspensión, mientras más grande es la concentración mayor es la presión osmótica y, el objetivo de esta es igualar la concentración de las moléculas de agua en ambos lados (figura 2).

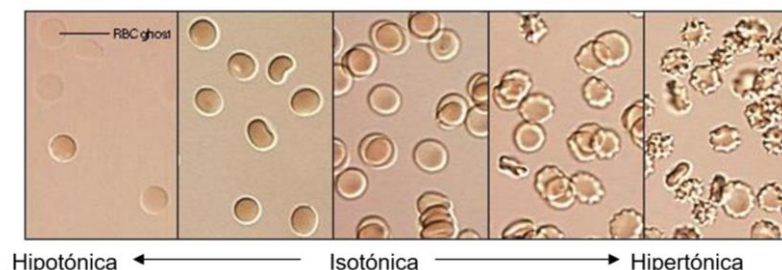


Figura 1. Permeabilidad celular.

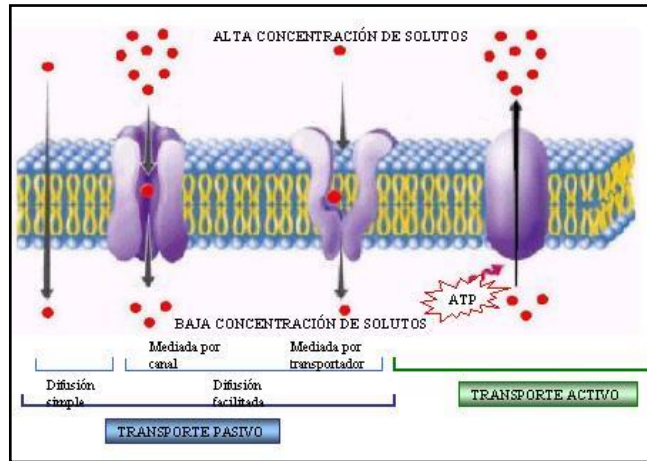


Figura 2. Mecanismos de transporte.

En los líquidos de cualquier célula viva se encuentran sales, azúcares y otras sustancias en solución; el líquido tiene, pues, cierta presión osmótica. Cuando la célula se sumerge en un líquido con la misma presión osmótica, no hay movimiento neto de moléculas de agua dentro ni fuera de la célula; esto es que la célula ni se hincha ni se encoge, por lo que se dice que se encuentra en un medio isotónico o isoosmótico respecto a la célula. Normalmente el plasma sanguíneo y todos los líquidos del organismo son isotónicos pues contienen la misma concentración de sustancias disueltas que en las células. Si la concentración de las sustancias disueltas en el líquido circundante es mayor que la existente dentro de la célula el agua tiende a salir de la célula, por lo que esta se contrae. Este líquido es hipertónico respecto a la célula, es decir, que tiene una concentración mayor de solutos. Si el líquido tiene menos sustancias disueltas que la célula, es hipotónico, es decir que tiene menor concentración de solutos. Cuando una célula se coloca en una solución no isotónica, puede ajustarse al nuevo medio por modificación de su contenido de agua, para lograr finalmente la misma concentración que el medio; a esto se le conoce como regulación del volumen intracelular. Muchas células pueden impulsar agua o ciertos solutos hacia uno u otro lado de la membrana plasmática, de manera que en esta forma mantienen una presión osmótica distinta de la del medio ambiente.

MATERIAL:

- 5 tubos de ensayo 13 x100 mm.
- 1 gradilla.
- 2 pipetas graduadas de 5 mL.
- 1 cronómetro.
- Equipo para venopunción.

MATERIAL BIOLÓGICO:

- Sangre.

REACTIVOS:

- Glicerol 0.5 M.
- Glucosa 0.5 M.

- Solución de urea 0.5 M.
- Solución de etilenglicol 0.5 M.
- Solución salina isotónica.

TÉCNICA PARA DETERMINAR EL PESO MOLECULAR:

1. Preparar una serie de 4 tubos marcados de la siguiente manera, utilizando la sangre que se extrajo por venopunción con previas indicaciones del profesor.
2. Es importante utilizar una pipeta limpia y diferente para cada sustancia.

Tubo No.	2 mL de sol. 0.5 M	Peso Molecular	Suspensión de eritrocitos	Tiempo de Hemólisis
1	Urea		2 gotas	
2	Etilenglicol		2 gotas	
3	Glicerol		2 gotas	
4	Glucosa		2 gotas	

3. Centrifugar a 2500 rpm durante 5 minutos y observar tanto macroscópica como microscópicamente si se presenta la lisis.

OBSERVACIONES CON DIBUJOS:

RESULTADOS:

Se realizará una tabla comparativa donde se indique, dependiendo de la solución utilizada y de acuerdo con lo observado en el microscopio, si se presentó hemólisis o no.

Estos resultados deben de acompañarse de imágenes/dibujos. Es necesario incluir las dificultades observadas al realizar la extracción de sangre, así como la manipulación, preparación y observación de las muestras en el microscopio.

DISCUSIÓN:

Se contrastarán los resultados obtenidos explicando de acuerdo con la solución utilizada, las razones de que se haya observado la presencia o ausencia de hemólisis analizando las características de permeabilidad de la membrana.

EVALUACIÓN:

El profesor evaluará a los estudiantes de acuerdo con la disposición para realizar la práctica solicitada. La evaluación se completará con un examen exploratorio del tema y el reporte completo de la práctica.

CONCLUSIONES:

¿Se logró el/los objetivo(s) de la práctica? ¿Si No? ¿Porqué?

BITÁCORA COL:

¿Qué aprendí? ¿Qué sentí?

CUESTIONARIO:

- 1) ¿Por qué se dice que la membrana tiene permeabilidad selectiva?
- 2) ¿Por qué se dice que la bicapa de la membrana constituye una barrera natural?

- 3) ¿Cuáles son los factores que afectan la velocidad de difusión a través de la membrana celular?
- 4) ¿Cómo está constituida la membrana celular de tal manera que permite la permeabilidad?

FECHA DE REALIZACIÓN:

BIBLIOGRAFÍA:

- Burke, J. **Biología celular**. Interamericana, México, 2012.
- Harvey L. **Biología Celular y Molecular**. 7ª edición. Buenos Aires. Editorial Panamericana. 2016.
- Karp, G. **Biología celular**. Mc Graw Hill. México. 2ª. Edición. 2014.
- Alberts, B. et al. **Introducción a la biología celular**. Editorial Médica Panamericana. 3a edición. México. 2011.
- Karp G. et al. **Biología celular y molecular; conceptos y experimentos**. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 7a Edición. México, 2014.
- NOM-087-ECOL-SSA1-2002**. Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico infecciosos- clasificación y especificaciones de manejo.
- Reglamento Interno de la Facultad de QFB**. Universidad Veracruzana, Xalapa Ver. Disponible en: <https://www.uv.mx/legislacion/files/2018/12/Reglamento-QFB-Xalapa.pdf>.

UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR
PRÁCTICA No. 08
FRAGILIDAD OSMÓTICA DE LOS ERITROCITOS

DURACIÓN: 1.5 horas

MATERIAL DIDÁCTICO:

- Pizarrón
- Videoprojector
- Marcadores

MATERIAL:

- Papel o libreta
- Lápiz/lapiceros

OBJETIVO:

Aprender a realizar la determinación de la fragilidad osmótica de los eritrocitos para demostrar el fenómeno de osmosis.

FUNDAMENTO:

Existen varios métodos para medir la presión osmótica celular; la mayor parte son físicos. Algunos de estos métodos son utilizando tanto a la zanahoria como al celofán, por lo que es conveniente comparar los anteriores modelos utilizando células vivas, como en este caso serán glóbulos rojos. La forma de disco bicóncavo del eritrocito normal implica un exceso de extensión superficial con relación a su volumen, lo que le proporciona una gran capacidad de deformabilidad. Como la membrana eritrocitaria es semipermeable, cuando los eritrocitos son colocados en una solución hipotónica, el agua entra osmóticamente haciendo que aumente el volumen y adquiere la forma esférica. Con ello, la superficie disminuye respecto a su volumen dando a la célula cierto grado de rigidez que interfiere con el paso de esta a través de pequeñas aberturas, por lo que fácilmente se rompe. Otro fenómeno adicional es la salida de hemoglobina, que es permitida por el estiramiento de la membrana eritrocitaria. En esta práctica se harán una serie de diluciones de NaCl, de concentración progresiva, en las que los eritrocitos problema se someterán a diferentes concentraciones y se valorará la concentración de NaCl que produce la hemólisis en comparación con una sangre normal.

GENERALIDADES:

La prueba de fragilidad osmótica es una medida de la resistencia del eritrocito, a la hemólisis por estrés osmótico, la cual depende principalmente del volumen de la célula, del área de su superficie y de la función de su membrana (figura 1). Los eritrocitos se incuban en solución hipotónica de NaCl, los eritrocitos absorben agua en un esfuerzo para conservar o para lograr el equilibrio osmótico, y las células se hinchan hasta que se forma un esferocito. La captación adicional del agua produce una membrana porosa que permite la liberación de hemoglobina (hemólisis). Las células normales comienzan a hemolizar a

concentraciones de NaCl cercanas a 0.50% y la hemólisis es completa a una concentración aproximadamente de 0.30 % de NaCl. Debido a la disminución en la proporción de superficie a volumen, los esferocitos son incapaces de expandirse tanto como las células normales de forma discoide. Se necesita absorber muy poco líquido antes que las células se hemolicen. Los esferocitos también tienen un aumento en la permeabilidad de la membrana, la cual contribuye al aumento de su fragilidad.

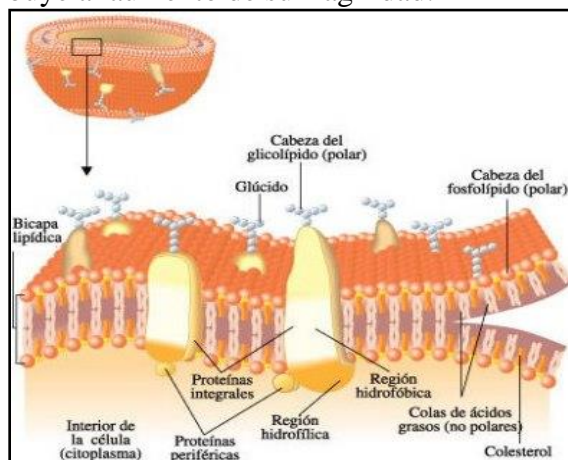


Figura 1. Componentes de la membrana

MATERIAL:

- Centrífuga
- Gradilla
- 16 tubos de ensayo de 13 x 100 mm
- Equipo de venopunción
- Papel Parafilm
- Pipetas graduadas de 5 mL
- Pipeta graduada de 0.2 mL

MATERIAL BIOLÓGICO:

- Sangre obtenida con EDTA.

REACTIVOS:

- Solución salina al 1% tamponada, pH 7.4

TECNICA:

1. Se obtienen 5 mL de sangre venosa y se mezclan perfectamente.
2. Se colocan 16 tubos de ensayo en una gradilla y se numeran de izquierda a derecha.
3. Montar la prueba de la siguiente manera:

# de tubo	mL de sol. salina al 1% tamponada	mL de agua destilada	Concentración de la solución (%)
1	3.8	1.2	0.76
2	3.6	1.4	0.72
3	3.4	1.6	0.68

4	3.2	1.8	0.64
5	3.0	2.0	0.60
6	2.8	2.2	0.56
7	2.6	2.4	0.52
8	2.4	2.6	0.48
9	2.2	2.8	0.44
10	2.0	3.0	0.40
11	1.8	3.2	0.36
12	1.6	3.4	0.32
13	1.4	3.6	0.28
14	1.2	3.8	0.24
15	1.0	4.0	0.20
16	0.8	4.2	0.16

4. Mezclar del contenido de los tubos.
5. Agregar a cada tubo 0.2 mL de sangre. Invertir cuidadosamente cada tubo con papel Parafilm, para asegurar la mezcla.
6. Las gradillas que contienen los tubos se dejan reposar a temperatura ambiente durante 30 minutos.
7. Transcurrido el tiempo indicado se mezcla cuidadosamente su contenido y se centrifugan los tubos a 2000 rpm durante 5 minutos.
8. Examinar los tubos observando macroscópicamente en qué punto comienza la hemólisis y en qué punto es completa. El menor indicio de color rojo en el líquido sobrenadante indica el inicio de la hemólisis de los glóbulos menos resistentes; la hemólisis completa queda indicada por una solución rojo claro y ausencia de eritrocitos residuales en el fondo del tubo o enturbiamiento al agitar el tubo ligeramente.

OBSERVACIONES CON DIBUJOS:

RESULTADOS:

Se elaborará una tabla en la que se indique en cada una de las concentraciones finales de las soluciones utilizadas y de acuerdo con la intensidad de la coloración presente en el sobrenadante, en cuales se presentó fragilidad osmótica. Estos resultados deben de acompañarse de imágenes/dibujos. Es necesario incluir las dificultades observadas al realizar la extracción de sangre, así como la manipulación, preparación y observación de las soluciones.

DISCUSIÓN:

Dependiendo de la concentración de la solución (%) utilizada y de acuerdo con la observación microscópica, se explicará en cuales soluciones se presentó fragilidad osmótica, dando las razones de esto.

EVALUACIÓN:

El profesor evaluará a los estudiantes de acuerdo con la disposición para realizar la práctica solicitada. La evaluación se completará con un examen exploratorio del tema y el reporte completo de la práctica.

CONCLUSIONES:

¿Se logró el/los objetivo(s) de la práctica? ¿Si No? ¿Porqué?

BITÁCORA COL:

¿Qué aprendí? ¿Qué sentí?

CUESTIONARIO:

- 1) ¿Qué es la fragilidad osmótica?
- 2) ¿Qué es osmolaridad?
- 3) ¿Qué importancia clínica tiene la fragilidad osmótica?

FECHA DE REALIZACIÓN:

BIBLIOGRAFÍA:

- Burke, J. **Biología celular**. Interamericana, México, 2012.
- Harvey L. **Biología Celular y Molecular**. 7ª edición. Buenos Aires. Editorial Panamericana. 2016.
- Karp, G. **Biología celular**. Mc Graw Hill. México. 2ª. Edición. 2014.
- Alberts, B. et al. **Introducción a la biología celular**. Editorial Médica Panamericana. 3a edición. México. 2011.
- Karp G. et al. **Biología celular y molecular; conceptos y experimentos**. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 7a Edición. México, 2014.
- NOM-087-ECOL-SSA1-2002**. Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico infecciosos- clasificación y especificaciones de manejo.
- Reglamento Interno de la Facultad de QFB**. Universidad Veracruzana, Xalapa Ver. Disponible en: <https://www.uv.mx/legislacion/files/2018/12/Reglamento-QFB-Xalapa.pdf>.

UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR
PRÁCTICA No. 09
LA MEMBRANA Y EL TRANSPORTE CELULAR

DURACIÓN: 3 horas.

MATERIAL DIDÁCTICO:

- Pizarrón
- Videoprojector
- Marcadores

MATERIAL:

- Papel o libreta
- Lápiz/lapiceros

OBJETIVO:

- Describir los componentes de las membranas biológicas.
- Identificar factores que afectan la integridad de las membranas.
- Explicar cómo la difusión y la osmosis son importantes para las células.
- Mencionar factores que afectan la velocidad de difusión.
- Explicar qué son soluciones hipotónicas, hipertónicas e isotónicas.
- Explicar qué es osmolaridad en los tejidos.

FUNDAMENTO:

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

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

La membrana celular está formada por una capa doble de fosfolípidos, proteínas y carbohidratos (figura 1). Cada fosfolípido está compuesto por glicerol, ácidos grasos y fosfato, que en conjunto crean una barrera hidrofóbica entre los compartimientos acuosos de la célula. Las proteínas permiten el paso de moléculas hidrofílicas a través de la membrana, determinan las funciones específicas de esta e incluyen bombas, canales, receptores, moléculas de adhesión, transductores de energía y enzimas. Las proteínas periféricas están asociadas con las superficies, mientras que las integrales están incrustadas en la membrana y pueden atravesar completamente la capa doble. La función de los carbohidratos adheridos a las proteínas (glucoproteínas) o a los fosfolípidos (glucolípidos) es la de adhesión y comunicación intercelular. El colesterol, que es un esteroide (lípidos), determina la fluidez de la membrana.

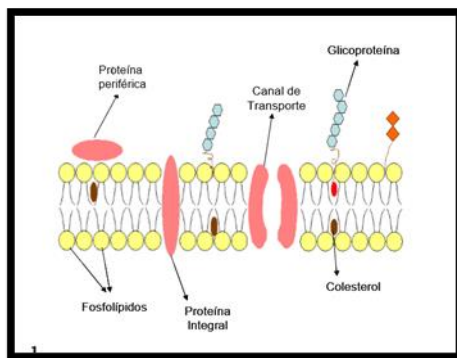


Figura 1. Estructura básica de la membrana.

GENERALIDADES:

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

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

El componente principal de la célula es el agua, que actúa como solvente (el agente que disuelve) de solutos orgánicos e inorgánicos. El movimiento de agua a través de una membrana selectivamente permeable se llama osmosis (difusión de agua) y sucede siempre del área de mayor concentración de agua (con menor concentración de soluto) al área de menor concentración de agua (con mayor concentración de soluto). El agua se moverá entonces, a favor de un gradiente de concentración hacia el área de mayor concentración de soluto (donde hay una menor concentración de moléculas de agua libres). Cuando la célula contiene una concentración de solutos mayor que su ambiente externo, se dice que la célula está en una solución hipotónica, y como consecuencia, el agua entra a la célula causando que se expanda (figura 2). Si la concentración de solutos es mayor fuera de la célula, se dice que la célula está en una solución hipertónica; la célula pierde agua y se encoge (figura 2c). Si las concentraciones de soluto son iguales en ambos lados de la membrana, se dice que la célula está en una solución isotónica, donde el movimiento neto es cero (figura 2b).

Las células animales funcionan óptimamente en ambientes isotónicos. En las células vegetales, sin embargo, cuando la vacuola se llena de agua, ésta ejerce presión contra la pared celular hasta llegar a un punto donde se impida que entre más agua (presión de turgencia) y la célula se encuentra túrgida (firme), lo cual es el estado ideal de estas células. Por otra parte, si la célula vegetal pierde agua, la célula sufre plasmólisis al separarse la membrana celular de la pared celular, lo cual suele ser letal para la célula (figura 2c).

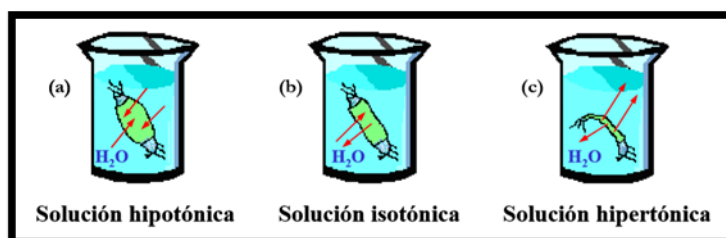


Figura 2. Cambios en la forma de los tejidos en respuesta a soluciones hipotónicas, isotónicas e hipertónicas.

M A T E R I A L

- Agua destilada
- Baño de agua a 70 °C
- Baño de agua a 37 °C
- Hielo
- Gradilla para tubos de ensayo
- Dos vasos de 150 a 200 mL
- Seis tubos de ensayo
- Vaso con hielo
- Navaja
- Agarradera de tubo de ensayo
- Parrilla eléctrica
- Aguja de disección
- Probetas o pipetas de 5 mL
- Sacabocado
- Termómetro
- Regla
- Marcador de cera
- Envase con hielo

MATERIAL BIOLÓGICO:

- Una remolacha (betabel).
- 2 huevos
- Colorante vegetal

REACTIVOS

- Acetona
- Metanol
- 10 mL de aceite

TÉCNICA:

A. Efecto de la temperatura

1. Corte seis pedazos de remolacha (15 mm de largo) con un sacabocado y colóquelos en tubos de ensayo rotulados del 1 al 6.
2. Añada 5 mL de agua al tubo 6 y colóquelo en el congelador por 30 min.
3. Añada 5 mL de agua al tubo 5 y colóquelo en el baño de hielo por 30 min.
4. Añada 5 mL de agua al tubo 1 y colóquelo en un baño de agua caliente a 70° C durante 1 min. Después de 20 min, remueva el pedazo de remolacha del tubo.
5. Deje que la temperatura del baño baje a 55 °C y haga lo mismo con el tubo 2.
6. Repita el procedimiento de arriba con el tubo 3 a 37 °C y con el tubo 4 a 20 °C.
7. Compare la intensidad de color de las soluciones en los tubos.
8. Coloque los resultados (intensidad de color vs. temperatura) en la Tabla 1.

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

Responda:

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

B. Efecto de solventes

TÉCNICA:

1. Rotule seis tubos de ensayo de 1 al 6.
2. Añada 5 mL de las siguientes soluciones a los tubos de ensayo:
Tubo 1: metanol 1 %
Tubo 2: metanol 25 %
Tubo 3: metanol 50 %
Tubo 4: acetona 1 %
Tubo 5: acetona 25 %
Tubo 6: acetona 50 %
3. Corte seis pedazos de remolacha de 15 mm y colóquelos en los tubos de ensayo.
4. Luego de 30 min, remueva la remolacha y observe la intensidad de color para cada solución.
5. ¿Qué tubo mostró la mayor intensidad de color?
6. Rotule seis tubos adicionales y añada lo siguiente a cada uno:
Tubo A: 1 mL de agua + 1 mL de acetona
Tubo B: 1 mL de agua + 1 mL de metanol
Tubo C: 1 mL de aceite + 1 mL de acetona
Tubo D: 1 mL de aceite + 1 mL de metanol
Tubo E: Un poco de clara de huevo + 1 mL de metanol

Tubo F: Un poco de clara de huevo + 1 mL de acetona.

7. Agite cada tubo suavemente y observe los resultados. ¿En qué tubos se observaron reacciones?

8. Basado en lo que se observó en los tubos de ensayos (refiriéndose a los tubos 1-6 y A-F), ¿cómo afecta la acetona a la membrana?

9. ¿Cómo afecta el metanol a la membrana?

10. ¿Qué indican los resultados sobre los componentes de la membrana?

C. Difusión

TÉCNICA

1. Añada agua a temperatura ambiente a un vaso y al otro vaso añada agua fría.

2. Deje los vasos reposar por 10-15 min para que no haya movimiento de agua.

3. Añada cuidadosamente una gota de colorante a cada envase y observe la dispersión de la gota.

4. ¿Afectó la temperatura la difusión del tinte? Explica tu observación.

OBSERVACIONES CON DIBUJOS:

RESULTADOS:

Se elaborará una tabla en la que se indiquen los efectos observados en las condiciones mostradas en cada procedimiento (temperatura, disolventes y difusión) para cada una de las muestras contenidas en los tubos. Estos resultados deben de acompañarse de imágenes/dibujos. Es necesario incluir las dificultades observadas al realizar la preparación y observación de las soluciones.

DISCUSIÓN:

Dependiendo de los resultados obtenidos, dar una explicación para cada condición, con relación al porqué algunas condiciones afectaron más que otras el proceso de permeabilidad, dando las razones de esto.

EVALUACIÓN:

El profesor evaluará a los estudiantes de acuerdo con la disposición para realizar la práctica solicitada. La evaluación se completará con un examen exploratorio del tema y el reporte completo de la práctica.

CONCLUSIONES:

¿Se logró el/los objetivo(s) de la práctica? ¿Si No? ¿Porqué?

BITÁCORA COL:

¿Qué aprendí? ¿Qué sentí?

CUESTIONARIO:

1) Elabora un cuadro comparativo de los tipos de transporte de membrana.

2) ¿Qué es la difusión?

3) ¿Qué es la velocidad de difusión y que factores depende? Describe cada uno.

FECHA DE REALIZACIÓN:

BIBLIOGRAFÍA:

- Burke, J. **Biología celular**. Interamericana, México, 2012.
- Harvey L. **Biología Celular y Molecular**. 7ª edición. Buenos Aires. Editorial Panamericana. 2016.
- Karp, G. **Biología celular**. Mc Graw Hill. México. 2ª. Edición. 2014.
- Alberts, B. et al. **Introducción a la biología celular**. Editorial Médica Panamericana. 3a edición. México. 2011.
- Karp G. et al. **Biología celular y molecular; conceptos y experimentos**. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 7a Edición. México, 2014.
- NOM-087-ECOL-SSA1-2002**. Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico infecciosos- clasificación y especificaciones de manejo.
- Reglamento Interno de la Facultad de QFB**. Universidad Veracruzana, Xalapa Ver. Disponible en: <https://www.uv.mx/legislacion/files/2018/12/Reglamento-QFB-Xalapa.pdf>.

UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR
PRÁCTICA No. 10.

DIFUSIÓN A TRAVÉS DE UNA MEMBRANA, ÓSMOSIS Y OSMOLARIDAD.

DURACIÓN: 3 horas.

MATERIAL DIDÁCTICO:

- Pizarrón
- Videoprojector
- Marcadores

MATERIAL:

- Papel o libreta
- Lápiz/lapiceros

OBJETIVO:

Comprobar la selectividad de la membrana celular por medio de reacciones químicas en un modelo artificial.

FUNDAMENTO:

La membrana citoplasmática regula la entrada y salida de materiales, permitiendo la entrada de unos y restringiendo el paso de otros. Esta propiedad se llama permeabilidad selectiva. La permeabilidad de la membrana depende de varios factores relacionados con las propiedades fisicoquímicas de la sustancia:

- Solubilidad en los lípidos: Las sustancias que se disuelven en los lípidos (moléculas hidrófobas, no polares) penetran con facilidad en la membrana dado que esta está compuesta en la mayor parte por fosfolípidos.
- Tamaño: La mayor parte de las moléculas de gran tamaño no pasan a través de la membrana. Solo un pequeño número de moléculas no polares de tamaño pequeño pueden atravesar la capa de fosfolípidos.
- Carga: Las moléculas cargadas y los iones no pueden pasar, en condiciones normales, a través de la membrana. Sin embargo, algunas sustancias cargadas pueden pasar por los canales proteicos o con la ayuda de una proteína transportadora.

Gracias a esta selección es posible mantener dentro de la célula moléculas de alto peso molecular como proteínas y ácidos nucleicos, y de bajo peso molecular como gases, sales y algunos iones.

GENERALIDADES:

El transporte de materia puede realizarse gracias a la presencia de ciertas sustancias que conforman a las membranas: unas se encargan de formar una compleja estructura, otras de facilitar el paso de sustancias de una manera selectiva y controlada, y algunas más tienen como función relacionar a la célula con el medio circundante.

Entre los compuestos básicos que conforman a las membranas podemos reconocer los lípidos, las proteínas y los carbohidratos. Los lípidos conforman la estructura o matriz de la membrana y están representados básicamente por los fosfolípidos, es decir, compuestos que presentan una “cabeza” hidrofílica constituida por grupos fosfato, y una “cola” hidrofóbica formada por cadenas de carbonos de naturaleza lipídica. Tanto la cabeza como la cola pueden tener diferente composición y complejidad, de acuerdo con el tipo de membrana de que se trate. Por la presencia de dos zonas (una hidrofílica y otra hidrofóbica) los fosfolípidos en presencia de agua forman una bicapa. El movimiento continuo que presentan las colas de las moléculas da una enorme flexibilidad a esta zona, por lo que se considera que en la membrana hay un flujo bidimensional continuo, ya que las moléculas tienen gran movimiento lateral a lo largo y ancho de cada monocapa. Por el contrario, el movimiento de moléculas entre dos monocapas opuestas es extremadamente lento.

Que una membrana permita o no el paso de una sustancia a través de ella depende del tamaño y la carga de la sustancia y de la composición de la membrana. Se dice que la membrana es permeable a una sustancia dada si permite que esta la cruce, e impermeable en caso contrario. Una membrana con una permeabilidad selectiva (semipermeable) permite el paso solo de algunas sustancias. En general, las membranas biológicas son más permeables a las moléculas pequeñas y a sustancias liposolubles capaces de cruzar el interior hidrófobo de la bicapa (figura 1).

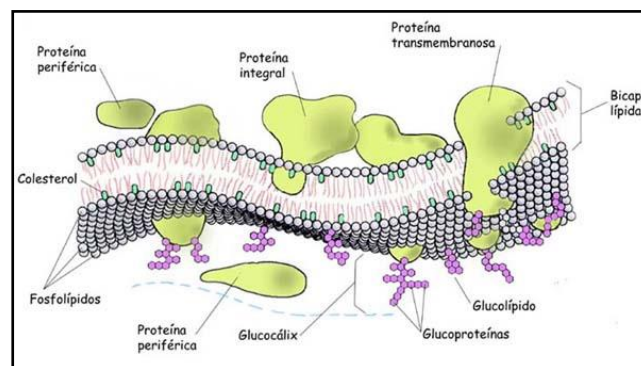


Figura 1. Estructura de la membrana plasmática.

Aunque son polares (no liposolubles), las moléculas de agua pueden cruzar con rapidez las bicapas lipídicas fluidas que constituyen las membranas porque son lo suficientemente pequeñas para pasar por los huecos que se crean cuando una cadena de ácido graso se desplaza en forma momentánea. También pueden atravesar con libertad algunos gases como el oxígeno, dióxido de carbono y nitrógeno; moléculas polares pequeñas como el glicerol, y sustancias no polares de mayor tamaño (hidrófobas), entre éstas los hidrocarburos. Algunas moléculas polares un poco más grandes, como la glucosa, así como los iones con carga de cualquier tamaño, cruzan con mayor lentitud la bicapa.

Si bien la bicapa es relativamente impermeable a los iones, las células necesitan desplazar iones y moléculas polares grandes y pequeñas, como aminoácidos y azúcares, a través de las membranas. La permeabilidad de estas últimas a sustancias de esos tipos se debe sobre todo a actividades de proteínas de membrana especializadas. Las membranas biológicas que rodean a células, núcleos, vacuolas, mitocondrias, cloroplastos y otros organelos subcelulares son semipermeables a diferentes tipos de moléculas.

En respuesta a las condiciones ambientales o a las necesidades celulares cambiantes, una membrana plasmática puede constituirse en barrera para una sustancia dada en un momento y promover de modo activo su paso en otro instante. Al regular el tránsito químico de esta manera, la célula ejerce algún control sobre su propia composición iónica y molecular interna, que puede ser diferente de la que corresponde al medio extracelular.

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

MATERIALES

- Un vaso de precipitación de 500 mL
- Una bolsa de diálisis y cordón o bandas de goma
- Rejilla y tubos de ensayo pequeños
- Baño de maría y matraz pequeño con agua
- Agarradera de tubo de ensayo
- Cilindro graduado

REACTIVOS:

- Reactivo de Benedict
- Solución de yodo
- 25 mL Solución de glucosa 30 %
- 25 mL Solución de almidón 1 %.

TÉCNICA:

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

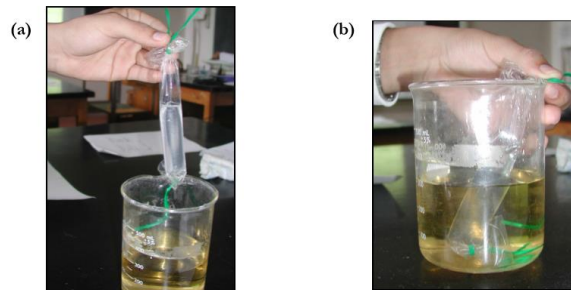


Figura 2. Procedimiento de la bolsa de diálisis.

7. Saque la bolsa del agua y colóquela en un vaso vacío. Anote el color de la solución dentro de la bolsa y compárela con la solución en el primer vaso.
8. Realice la prueba de Benedict para las dos soluciones contenidas en las bolsas.

9. ¿Cuáles son los resultados de este experimento para las pruebas de yodo y de Benedict? Explique.

10. ¿Qué indican estos resultados?

11. ¿Qué característica tiene la membrana de diálisis que afecta los resultados?

B. Difusión en células vegetales

MATERIALES

- Elodea fresca
- Laminillas y cubreobjetos
- Agujas de disección
- Microscopio compuesto

REACTIVOS

- Soluciones de sacarosa (0.1, 0.3, y 0.6 M)

TÉCNICA

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

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

Laminilla 2: Gota de la solución de sacarosa 0.1 M y una hoja de Elodea

Laminilla 3: Gota de la solución de sacarosa 0.3 M y una hoja de Elodea

Laminilla 4: Gota de la solución de sacarosa 0.6 M, una hoja de Elodea

2. ¿Qué les pasó a las células al entrar en contacto con cada una de las soluciones?

3. ¿Cuáles de las soluciones fueron hipotónicas, hipertónicas e isotónicas con respecto a la célula?

4. ¿Por qué ocurrió plasmólisis en una de las soluciones?

C. Estimar la osmolaridad en las células vegetales

MATERIAL

- Una papa mediana o grande
- Sacabocado
- Vasos desechables o de precipitado
- Papel toalla
- Pedazo de cartón
- Navaja
- Balanza y papel para pesar

REACTIVOS

- 100 mL de solución de sacarosa de 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 y 0.6 M
- Agua destilada

TÉCNICA

1. Rotule seis vasos para cada solución de sacarosa (0.1 a 0.6 M) y un vaso para agua destilada (0.0 M).

2. Añada 100 mL de la solución correspondiente a cada uno (figura 3a).

3. Con el sacabocado obtenga siete cilindros de papa (figura 3b) de aproximadamente 5 cm de largo.

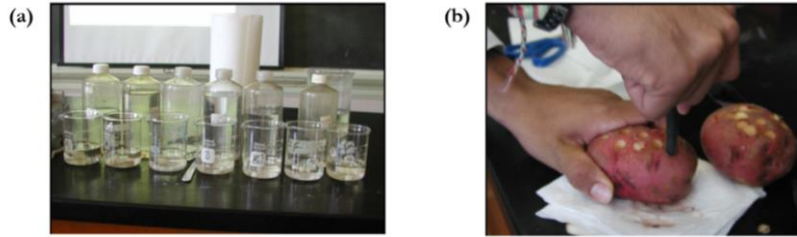
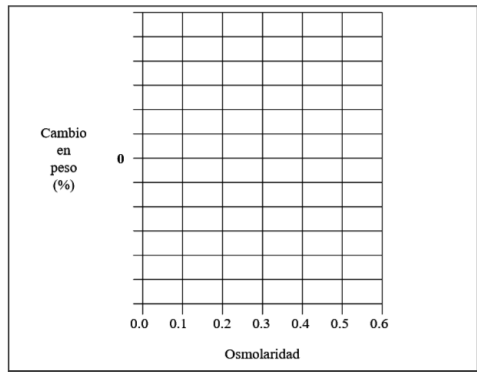


Figura 3. Procedimiento para la utilización del sacabocado.

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

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

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



CUESTIONARIO:

1. ¿Cuál es la diferencia entre plasmólisis y crenación?
2. ¿Por qué no ocurre lisis (rompimiento de la célula) en la célula vegetal?
3. ¿Qué es la turgencia?

OBSERVACIONES CON DIBUJOS:

RESULTADOS:

Se elaborará una tabla en la que se indiquen los efectos observados en las condiciones mostradas en cada procedimiento tomando como ejemplo las tablas incluidas en los

procedimientos para cada una de las técnicas. Estos resultados deben de acompañarse de imágenes/dibujos/gráficas correspondientes. Es necesario incluir las dificultades observadas al realizar la preparación y observación de cada una de las condiciones.

DISCUSIÓN:

Dependiendo de los resultados obtenidos, dar una explicación para cada condición, con relación a las causas/razones que pueden afectar el transporte a través de la membrana.

EVALUACIÓN:

El profesor evaluará a los estudiantes de acuerdo con la disposición para realizar la práctica solicitada. La evaluación se completará con un examen exploratorio del tema y el reporte completo de la práctica.

CONCLUSIONES:

¿Se logró el/los objetivo(s) de la práctica? ¿Si No? ¿Porqué?

BITÁCORA COL:

¿Qué aprendí? ¿Qué sentí?

FECHA DE REALIZACIÓN:

BIBLIOGRAFÍA:

- Burke, J. **Biología celular**. Interamericana, México, 2012.
- Harvey L. **Biología Celular y Molecular**. 7ª edición. Buenos Aires. Editorial Panamericana. 2016.
- Karp, G. **Biología celular**. Mc Graw Hill. México. 2ª. Edición. 2014.
- Alberts, B. et al. **Introducción a la biología celular**. Editorial Médica Panamericana. 3a edición. México. 2011.
- Karp G. et al. **Biología celular y molecular; conceptos y experimentos**. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 7a Edición. México, 2014.
- NOM-087-ECOL-SSA1-2002**. Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico infecciosos- clasificación y especificaciones de manejo.
- Reglamento Interno de la Facultad de QFB**. Universidad Veracruzana, Xalapa Ver. Disponible en: <https://www.uv.mx/legislacion/files/2018/12/Reglamento-QFB-Xalapa.pdf>.

UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR
PRÁCTICA No. 11
OSMOSIS EN PLANTAS

DURACIÓN: 1.5 horas.

MATERIAL DIDÁCTICO:

- Pizarrón
- Videoprojector
- Marcadores

MATERIAL:

- Papel o libreta
- Lápiz/lapiceros

OBJETIVO:

Demostrar el fenómeno de ósmosis mediante un modelo físico que simule este mecanismo en las células vegetales.

FUNDAMENTO:

El fenómeno de ósmosis además de mantener la consistencia de la planta interviene en el transporte pasivo de materiales a través de los tejidos vegetales. Las paredes celulares son membranas semipermeables que permiten el paso de agua, pero restringen el paso de otro tipo de sustancias moleculares grandes.

Las células de las plantas suelen ser hipertónicas con respecto a su medio circundante y, por lo tanto, el agua tiende a difundirse hacia ellas. Este ingreso de agua en la célula vegetal genera una presión dentro de ella contra la pared celular. La presión hace que la pared celular se expanda y que la célula se agrande. El alargamiento que ocurre, a medida que la célula de la planta madura es consecuencia directa del movimiento osmótico de agua hacia la célula.

GENERALIDADES:

El crecimiento de las células y el normal funcionamiento de los procesos fisiológicos dependen de su turgencia (tensión de la membrana plasmática debida a la presión interior), y ésta depende de la capacidad de las células y tejidos de absorber agua del ambiente (figura1). Llamamos potencial hídrico de las células a su capacidad de absorber agua. En las células vegetales el potencial hídrico viene determinado por la interacción entre los solutos (que lo bajan) y la presión ejercida por la pared celular (que lo sube).

Cuando una membrana separa una solución o un coloide de un medio de distinta clase, sucede a menudo que algunas partículas presentes en cada uno de los lados de la membrana no pueden atravesarla.

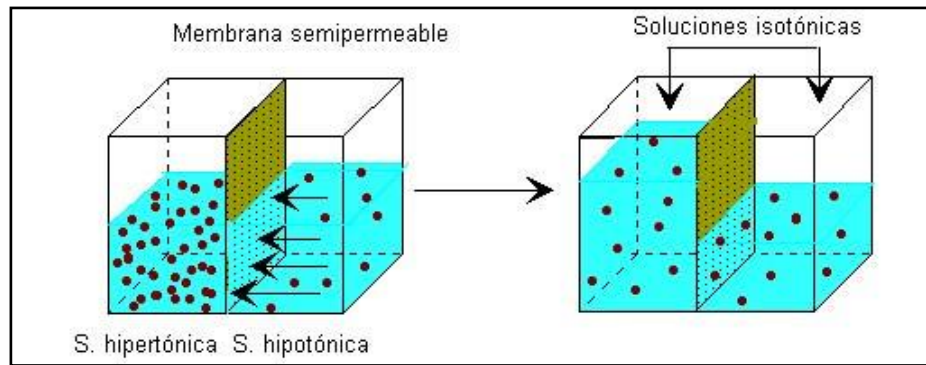


Figura 1. Movimiento molecular a través de la membrana

La permeabilidad selectiva o semipermeabilidad de las membranas celulares da por resultado un tipo especial de difusión llamado ósmosis, que implica el movimiento de moléculas del solvente a través de una membrana semipermeable de una zona de potencial hídrico alto a una zona de potencial hídrico bajo. En el caso de movimiento de agua al interior de una célula vegetal, la ósmosis implica una combinación de difusión a través de la bicapa de la membrana y flujo de masas a través de los poros de la membrana. Esos poros están formados por aquaporinas, proteínas integrales que forman canales selectivos al agua a través de la membrana. La ósmosis es un proceso pasivo, por lo tanto, no utiliza energía metabólica.

La ósmosis es un fenómeno que debe cumplir ciertos requisitos:

- Movimiento neto de agua, esto es, que moléculas de agua masivamente se desplacen de un compartimiento a otro, provocando un flujo de agua.
- Atravesar una membrana, el movimiento de las moléculas de agua se debe producir a través de una membrana que limita (por lo menos) dos espacios o compartimentos, con soluciones acuosas de diferente concentración. Esto es que en un compartimiento hay más solutos que en el otro en relación con el agua.
- La característica principal de la membrana es que permite el paso de las moléculas de agua, pero no de otras sustancias osmóticamente activas (solutos). Este tipo de membranas se denominan membranas selectivamente permeables. La permeabilidad selectiva está determinada por diferentes factores (carga eléctrica, polaridad, presencia de canales, etc.).
- El gradiente transmembrana, implica una diferencia en la concentración de la solución acuosa a ambos lados de la membrana (compartimentos), y esto es lo que produce el movimiento de agua desde la zona de menor concentración de solutos (y alta concentración de agua) a la de mayor concentración de solutos (y baja concentración de agua). Consecuencia de la tendencia intermolecular (afinidad) del agua y de sustancias osmóticamente activas a agruparse entre sí uniformemente.
- La ósmosis cesa cuando las concentraciones de ambos espacios se igualan (se vuelven isotónicos) y el gradiente transmembrana es nulo, ello implica que se detiene el flujo neto de agua.

El movimiento molecular y la tendencia agregativa de las moléculas de agua y soluto ocurren siempre. La condición aquí es la permeabilidad selectiva, pues como la membrana sólo permite el paso del agua, es el agua la que tiene libertad de desplazamiento, ya que los solutos quedan retenidos en su compartimiento.

MATERIAL:

- Navaja de un solo filo o de doble filo u horador.
- Frasco de boca ancha.
- Tapón de hule con orificio.
- Tubo de vidrio (o de plástico resistente) de 15 centímetros aprox.
- Palillos para dientes.
- Vasos de precipitado.
- Papel absorbente.
- Balanza granataria.

MATERIAL BIOLÓGICO:

- Papa grande.
- Miel de abeja.

REACTIVOS:

- Solución de almidón al 1%.
- Solución de glucosa al 30%.

TÉCNICA:

1. Realizar un corte en uno de los extremos de la papa del tamaño del tapón de hule que se va a utilizar.
2. Quitar la pulpa dejando una capa delgada sin romper las orillas (5 mm aproximadamente).
3. En el lado contrario pelar y dejar la superficie lisa. Esta parte será la que entre en contacto con el agua.
4. Llenar la papa con miel de abeja y coloca el tapón con el tubo de vidrio, haz un poco de presión hasta que la mezcla suba ligeramente por el tubo.
5. Ahora coloca la papa dentro del frasco embonándola sin romper, si no puede sostenerse así, colocarle transversalmente los palillos para dientes por debajo del tapón de hule para sostenerla dentro del frasco. Llena el frasco con agua y coloca la papa en el frasco de manera que la parte superior quede afuera del agua.
6. Marcar el tubo de vidrio donde se encuentre el nivel de la miel al comienzo del experimento. Déjalo en reposo durante 48 horas aproximadamente y al cabo de este tiempo marca el nivel final alcanzado por la miel.
7. Con el extremo que se le cortó a la papa en el paso 1, realizar cortes en forma de tiras y mantener cubiertos con una toalla de papel húmedo.
8. Los cortes deben ser uniformes y deben pesarse.
9. Colocar por partes iguales en los vasos con las soluciones de almidón y glucosa. Anotar la hora en la cual se comenzó e incubar durante 2 horas.
10. Retirar las rodajas y quitar el exceso de agua con una toalla absorbente, anotar los cambios en textura y peso, realizando una gráfica (peso antes vs peso después).

OBSERVACIONES CON DIBUJOS:**RESULTADOS:**

Se elaborará una tabla en la que se indiquen a los diferentes tiempos (28 y 48) los niveles de la miel a través del popote, así como los pesos de las rodajas de papa antes y después de las 2 horas de las soluciones de glucosa y almidón. Estos resultados deben de acompañarse de imágenes/dibujos/gráficas correspondientes. Es necesario incluir las dificultades observadas al realizar la preparación y observación de cada una de las condiciones.

DISCUSIÓN:

Dependiendo de los resultados obtenidos, argumentar: 1. Que efecto es el responsable de que la miel halla subido a través del popote y; 2. A que se deben los cambios observados en la textura y peso de las rodajas de papa después de dos horas de haber estado inmersas en las diferentes condiciones.

EVALUACIÓN:

El profesor evaluará a los estudiantes de acuerdo con la disposición para realizar la práctica solicitada. La evaluación se completará con un examen exploratorio del tema y el reporte completo de la práctica.

CONCLUSIONES:

¿Se logró el/los objetivo(s) de la práctica? ¿Si No? ¿Porqué?

BITÁCORA COL:

¿Qué aprendí? ¿Qué sentí?

CUESTIONARIO:

1. ¿Por qué subió la miel a través del tubo?
2. ¿Qué es la presión osmótica?
3. ¿Qué es un osmómetro? Dibuja uno.
4. ¿Qué cambios físicos se observaron en las rodajas de papa?
5. ¿Qué variación hubo con respecto al peso?

FECHA DE REALIZACIÓN:

BIBLIOGRAFÍA:

- Burke, J. **Biología celular**. Interamericana, México, 2012.
- Harvey L. **Biología Celular y Molecular**. 7ª edición. Buenos Aires. Editorial Panamericana. 2016.
- Karp, G. **Biología celular**. Mc Graw Hill. México. 2ª. Edición. 2014.
- Alberts, B. et al. **Introducción a la biología celular**. Editorial Médica Panamericana. 3a edición. México. 2011.
- Karp G. et al. **Biología celular y molecular; conceptos y experimentos**. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 7a Edición. México, 2014.
- NOM-087-ECOL-SSA1-2002**. Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico infecciosos- clasificación y especificaciones de manejo.
- Reglamento Interno de la Facultad de QFB**. Universidad Veracruzana, Xalapa Ver. Disponible en: <https://www.uv.mx/legislacion/files/2018/12/Reglamento-QFB-Xalapa.pdf>.

UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR
PRÁCTICA No. 12
PLASMOLISIS EN PLANTAS

DURACIÓN: 1.5 horas.

MATERIAL DIDÁCTICO:

- Pizarrón
- Videoprojector
- Marcadores

MATERIAL:

- Papel o libreta
- Lápiz/lapiceros

OBJETIVO:

Observar el fenómeno de plasmólisis en células vegetales y comparar la morfología de una célula turgente normal con la de una célula plasmolizada.

FUNDAMENTO:

Dentro de su pared de celulosa, la célula vegetal posee una o varias vacuolas grandes de savia celular. Esta savia es una solución de distintas sales, azúcares, y otras sustancias orgánicas en agua. Las membranas plasmáticas y vacuolas que separan la savia celular del líquido fuera de la célula son de permeabilidad diferencial, pues el agua las atraviesa mucho más fácilmente que las sales. Los iones inorgánicos y moléculas orgánicas atraviesan estas membranas con mucha menor facilidad. Cuando la concentración de sales es mayor en la savia celular que en el líquido externo, lo que suele ser normal, el agua tiende a entrar, pues pasa por difusión de una región de alta concentración a otra de concentración baja. Esta adición de agua distiende la vacuola y presiona el citoplasma contra la pared externa de celulosa.

La pared de celulosa por ser ligeramente elástica resulta distendida por la presión interna. Cuando ha entrado en la célula cierta cantidad de agua se alcanza un equilibrio, en el cual la presión ejercida por la pared celular distendida es igual a la presión ejercida por la savia celular. Por lo que la cantidad de moléculas de agua que entran a la vacuola es igual a las que salen y así, el volumen total de la savia celular es constante.

GENERALIDADES:

Si una célula provista de pared es sumergida en una solución hipertónica, pierde agua, la cual pasa a su entorno. Su contenido se contrae, y la membrana plasmática se separa de la pared celular, proceso denominado plasmólisis (figura 1). La pared celular relativamente rígida de células vegetales, algas, bacterias y hongos les permite soportar sin estallar un ambiente externo muy diluido, con concentraciones muy bajas de solutos. Debido a las sustancias disueltas en el citoplasma, las células son hipertónicas respecto a su entorno.

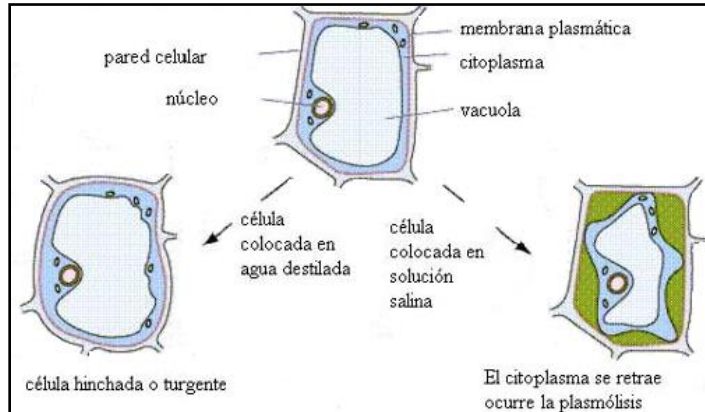


Figura 1. Fenómeno de plasmólisis

El agua pasa a las células por ósmosis, con lo que llena las vacuolas centrales y distiende las células. Estas se hinchan, con lo que se acumula la llamada presión de turgencia, contra la pared celular rígida de celulosa. Esta última puede estirarse muy poco, de modo que se alcanza un estado de equilibrio dinámico en que la resistencia de la pared celular al estiramiento impide cualquier incremento adicional en el tamaño celular y no ocurre movimiento neto de moléculas de agua hacia el interior de las células.

La presión de turgencia en las células es un factor de sostén importante para el cuerpo de plantas no leñosas. La presión de turgencia es aquella que es ejercida por el contenido de la célula contra la pared celular. Ahora si el líquido fuera de la célula es de más concentración de sales que la savia celular, como al colocar la hoja de lechuga en solución salina concentrada (hipertónica), sale de la célula el agua de la savia. Finalmente, el contenido celular ya no ejerce presión contra la pared celular. La presión de turgencia es nula y la célula vegetal se ha marchitado. Cuando el volumen de la savia celular disminuye por pérdida de agua, la célula ya no es comprimida contra la pared de celulosa, se retrae alejándose de dicha pared, a esto es, lo que se conoce como fenómeno de plasmólisis (figura 2).

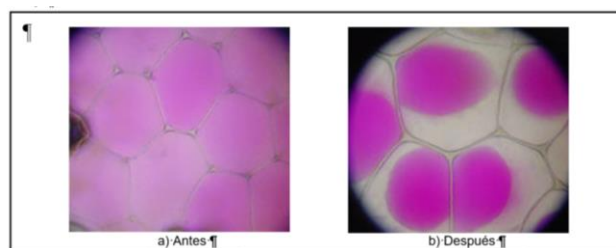


Figura 2. Plasmólisis (40X).

MATERIAL:

- Microscopio compuesto.
- Vaso de precipitado de 500 ml.
- Cajas Petri.
- Gotero.
- Navaja de un solo filo o de doble filo.
- Pinzas de disección.

MATERIAL BIOLÓGICO:

- Hojas de lechuga recién cortadas.

REACTIVOS:

- Solución saturada de sal.

TÉCNICA:

1. Cortar un fragmento de tejido vegetal, en este caso la hoja de lechuga, y obsérvalo al microscopio haciendo una preparación fresca. Es conveniente de que realices un esquema de las células que estás observando, para que puedas hacer la comparación con las células plasmolizadas.
2. En un vaso de precipitado de 500 mL prepara una solución salina saturada agregando en un poco de agua sal hasta que se forme un precipitado que ya no pueda disolverse.
3. Con un gotero tomar un poco de esta solución y colócala en la caja Petri. Corta nuevamente un pedazo de lechuga y colócalo en la solución, la cual es hipertónica con respecto a la célula. Déjala unos minutos reposando y sácala.
4. Observa al microscopio y describe la morfología de las células en comparación con las que observaste en el paso 1.

OBSERVACIONES CON DIBUJOS:**RESULTADOS:**

Anotar los cambios microscópicos observados en las muestras antes y después de ser colocadas en las soluciones hipo e hipertónicas. Estos resultados deben de acompañarse de imágenes/dibujos. Es necesario incluir las dificultades observadas al realizar la preparación y observación de cada una de las condiciones.

DISCUSIÓN:

Dependiendo de los resultados obtenidos, argumentar: 1. Que ocasionó la presencia de plasmólisis en las muestras.

EVALUACIÓN:

El profesor evaluará a los estudiantes de acuerdo con la disposición para realizar la práctica solicitada. La evaluación se completará con un examen exploratorio del tema y el reporte completo de la práctica.

CONCLUSIONES:

¿Se logró el/los objetivo(s) de la práctica? ¿Si No? ¿Porqué?

BITÁCORA COL:

¿Qué aprendí? ¿Qué sentí?

CUESTIONARIO:

- 1) ¿Qué es turgencia?
- 2) ¿Las células animales también son turgentes? ¿Por qué?

- 3) ¿A qué se debe que las moléculas como las sales atraviesan la membrana celular con menor facilidad?
- 4) ¿Es lo mismo turgencia y plasmólisis? Explique.

FECHA DE REALIZACIÓN:

BIBLIOGRAFÍA:

- Burke, J. **Biología celular**. Interamericana, México, 2012.
- Harvey L. **Biología Celular y Molecular**. 7ª edición. Buenos Aires. Editorial Panamericana. 2016.
- Karp, G. **Biología celular**. Mc Graw Hill. México. 2ª. Edición. 2014.
- Alberts, B. et al. **Introducción a la biología celular**. Editorial Médica Panamericana. 3a edición. México. 2011.
- Karp G. et al. **Biología celular y molecular; conceptos y experimentos**. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 7a Edición. México, 2014.
- NOM-087-ECOL-SSA1-2002**. Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico infecciosos- clasificación y especificaciones de manejo.
- Reglamento Interno de la Facultad de QFB**. Universidad Veracruzana, Xalapa Ver. Disponible en: <https://www.uv.mx/legislacion/files/2018/12/Reglamento-QFB-Xalapa.pdf>.

UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR
PRÁCTICA No. 13
OBSERVACIÓN DE PLASTOS Y ESTOMAS

DURACIÓN: 1.5 horas.

MATERIAL DIDÁCTICO:

- Pizarrón
- Videoprojector
- Marcadores

MATERIAL:

- Papel o libreta
- Lápiz/lapiceros

OBJETIVO:

Observar los diferentes plastos que integran a las células vegetales, así como también identificar los estomas presentes en las células de origen vegetal.

FUNDAMENTO:

Las superficies de hojas y otros vegetales expuestas están cubiertas con una capa impermeable que ayuda a impedir la pérdida excesiva de vapor de agua. De este modo, la entrada y salida de gases se limita a poros diminutos, denominados estomas, que suelen contraerse en las caras inferiores de las hojas.

Tales aberturas conducen al interior de la hoja, constituido por una capa de células que contienen cloroplastos llamada mesófilo, con muchos espacios aéreos y muy alta concentración de vapor de agua.

GENERALIDADES:

Las células epidérmicas están bien adaptadas para proteger las células subyacentes y disminuir las pérdidas de agua, pero sin impedir del paso de la luz. Sobre toda la superficie epidérmica hay repartidos poros pequeños llamados estomas, cada uno rodeado por dos células de protección (figura 1, izquierda). Estas células, al cambiar su forma, pueden modificar el tamaño de la abertura y regular así la salida de agua y el intercambio de gases. A diferencia de otras células epidérmicas, las células de protección contienen cloroplastos. Hay de 50 a 500 estomas por mm² de hoja; son mucho más numerosos en la superficie inferior, en las hojas de casi todas las especies.

Las células de protección en forma de haba poseen paredes más gruesas hacia el lado del estoma que hacia los otros. En general, los estomas se abren en presencia de luz y se cierran en la oscuridad, la abertura y cierre son regulados por cambios de la presión de turgencia en el interior de las células de protección. El aumento de la presión de turgencia cambia las paredes externas, y curva las internas, separando unas de otras y creando la abertura del estoma entre ellas. Cuando disminuye la presión de turgencia en las células de

protección, las paredes internas, elásticas, recuperan su forma original y el estoma se cierra (figura 1, derecha).

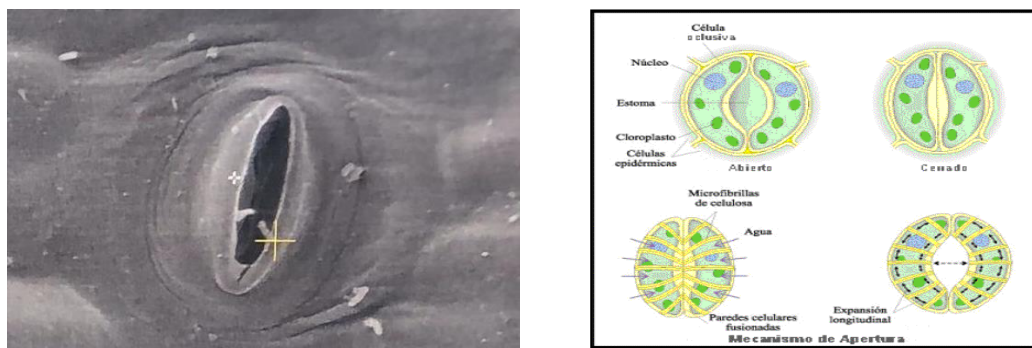


Figura 1. Izquierda. Estoma. Derecha. Movimiento del estoma.

El mecanismo que aumenta la presión de turgencia es complejo, e implica en parte la producción de glucosa y otras sustancias osmóticamente activas por fotosíntesis en las propias células de protección. Los plastos son estructuras citoplasmáticas unidas que se encuentran en las células de las plantas superiores y en ciertos organismos unicelulares, pero nunca en las células de animales superiores. Aunque su tamaño, forma y color pueden variar de manera considerable, según el tejido de que se trate, del organismo y de las condiciones de desarrollo, a menudo se presentan en forma de cuerpos discoideos o esféricos que se encuentran libremente en el citoplasma.

Los plastos están agrupados generalmente en dos clases: los incoloros o leucoplastos y los pigmentados o cromoplastos. Los primeros se encuentran a menudo en las plantas que no están expuestas a la luz e intervienen en la formación y almacenamiento de gránulos de almidón y gotas de grasa.

Los cloroplastos de las células vegetales son estructuras aplanadas cuya longitud promedio alcanza 7 μm y 3-4 μm de ancho. Cada cloroplasto está rodeado por una membrana lisa. Dentro de la membrana exterior se encuentra una segunda membrana interior y una matriz líquida denominada estroma. La membrana interior se pliega de acuerdo con un patrón intrincado. Prolongaciones de la membrana interior se pliegan y unen en pares denominados lamelas. Periódicamente, las lamelas se dilatan y forman vesículas aplanadas membranosas denominadas tilacoides. Estas se amontonan a manera de apilamientos de monedas. Tales apilamientos o conglomerados de tilacoides reciben el nombre de grana.

Las membranas, al igual que otras membranas de la célula, son capas biestratificadas de lípidos que contienen cantidades sustanciales de proteínas intrínsecas. Entre tales proteínas se encuentra una gran variedad de enzimas, tanto enzimas citocrómicas como enzimas sintetizadoras de ATP. Las membranas de los cloroplastos contienen también clorofila y algunos carotenoides (figura 2).

La clorofila es una molécula anfipática, siendo su cadena hidrocarbonada fitol fuertemente hidrofóbica, mientras parte del anillo porfirínico es hidrofílico. Posiblemente la cadena fitólica y parte del anillo porfirínico están embebidos en el lípido biestratificado y el resto del anillo porfirínico se proyecta hacia arriba. Los carotenoides son moléculas fuertemente hidrofóbicas y se supone que se encuentran totalmente sumergidas en el lípido biestratificado.

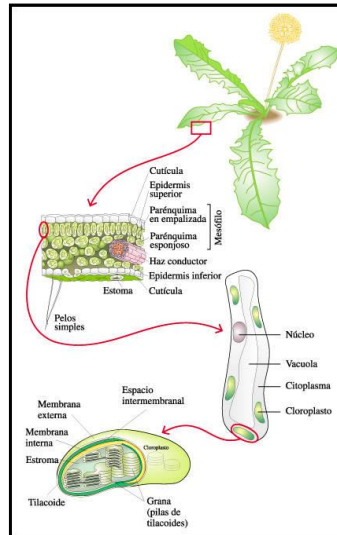


Figura 2. Cloroplastos.

El estroma del cloroplasto es rico en enzimas, contiene también ADN y muchos ribosomas. Estos ribosomas son más pequeños que los del citoplasma de la célula vegetal. La presencia de ADN permite explicar la peculiar anatomía de los cloroplastos. Los cloroplastos se originan ya sea por división de un cloroplasto en dos o por medio del desarrollo de una estructura incolora diminuta denominada proplástido. Para la conversión de los proplástidos en cloroplastos se requiere la presencia de luz. De ahí el color pálido de las plántulas que crecen en la oscuridad. Los proplástidos tienen la capacidad de autoreplicarse.

En efecto, esta es la única manera de que pueden formarse nuevos proplástidos. Los núcleos de las células vegetales no intervienen en la producción de nuevos proplástidos. Por tanto, es importante que cuando las células vegetales sufran mitosis, cada célula hija reciba proplástidos en su citoplasma, de la misma manera que cada célula hija recibe el contenido cromosómico del núcleo.

MATERIAL:

- Portaobjetos.
- Cubreobjetos.
- Frasco gotero con agua.
- Microscopio compuesto.
- Navaja de un solo filo o de doble filo.

MATERIAL BIOLÓGICO:

- Epidermis de limón y/o nopal.
- Pétalos de flores (colores y blancos).
- Hojas recién cortadas.
- Manzana.

REACTIVOS:

- Lugol de Gram.

TÉCNICA:

1. Realizar un corte en la epidermis del limón y/o nopal procurando que sea lo más delgado posible y hacer lo mismo con el resto de las muestras.
2. Colocar el corte sobre un portaobjetos y agrégale una gota de Lugol procediendo posteriormente a colocarle el cubreobjetos.
3. Observar al microscopio la preparación y realiza dibujos de lo que observes. Identificar si se trata de cloroplastos, leucoplastos o cromoplastos.
4. Utilizando la navaja, corta una porción muy delgada de la superficie inferior de la hoja recién cortada, al igual que de la hoja de lechuga fresca.
5. Colocar la porción de las hojas en portaobjetos limpios y añadirles una gota de agua a cada portaobjetos y colocarles un cubreobjetos respectivamente.
6. Observar al microscopio utilizando diferentes aumentos.
7. Realizar dibujos de lo observado.

OBSERVACIONES CON DIBUJOS:

RESULTADOS:

Anotar las semejanzas y/o diferencia en las diferentes muestras con relación al tipo y forma de los plastos y estomas observados, así como su disposición. Estos resultados deben de acompañarse de imágenes/dibujos. Es necesario incluir las dificultades observadas al realizar la preparación y observación de cada una de las condiciones.

DISCUSIÓN:

Dependiendo de los resultados obtenidos, argumentar: 1. A que se deben las diferencias en la presencia de estomas y diferentes tipos de plastos con la función que realizan en cada una de las muestras analizadas.

EVALUACIÓN:

El profesor evaluará a los estudiantes de acuerdo con la disposición para realizar la práctica solicitada. La evaluación se completará con un examen exploratorio del tema y el reporte completo de la práctica.

CONCLUSIONES:

¿Se logró el/los objetivo(s) de la práctica? ¿Si No? ¿Porqué?

BITÁCORA COL:

¿Qué aprendí? ¿Qué sentí?

CUESTIONARIO:

- 1) ¿Qué color toman los cloroplastos con el Lugol y por qué?
- 2) ¿Cómo regulan las células protectoras las aberturas y los cierres de los estomas?
- 3) ¿Existe alguna relación entre la apertura y cierre de los estomas con la fotosíntesis?
- 4) Realiza el dibujo de un estoma poniendo en evidencia la circulación de agua y dióxido de carbono.
- 5) ¿Qué es un ostiolo?

FECHA DE REALIZACIÓN:

BIBLIOGRAFÍA:

- Burke, J. **Biología celular**. Interamericana, México, 2012.
- Harvey L. **Biología Celular y Molecular**. 7ª edición. Buenos Aires. Editorial Panamericana. 2016.
- Karp, G. **Biología celular**. Mc Graw Hill. México. 2ª. Edición. 2014.
- Alberts, B. et al. **Introducción a la biología celular**. Editorial Médica Panamericana. 3a edición. México. 2011.
- Karp G. et al. **Biología celular y molecular; conceptos y experimentos**. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 7a Edición. México, 2014.
- NOM-087-ECOL-SSA1-2002**. Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico infecciosos- clasificación y especificaciones de manejo.
- Reglamento Interno de la Facultad de QFB**. Universidad Veracruzana, Xalapa Ver. Disponible en: <https://www.uv.mx/legislacion/files/2018/12/Reglamento-QFB-Xalapa.pdf>.

UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR
PRÁCTICA No. 14.
FOTOSÍNTESIS

DURACIÓN: 1.5 horas.

MATERIAL DIDÁCTICO:

- Pizarrón
- Videoprojector
- Marcadores

MATERIAL:

- Papel o libreta
- Lápiz/lapiceros

OBJETIVO:

Observar el fenómeno de fotosíntesis a través del montaje de un dispositivo artificial.

FUNDAMENTO:

La fotosíntesis es el proceso que permite a los vegetales obtener la materia y la energía que necesitan para desarrollar sus funciones vitales, se lleva a cabo gracias a la presencia en las hojas y en los tallos jóvenes de pigmentos capaces de captar la energía química. Esta transforma en sus hojas a las sales minerales y el agua por intervención del bióxido de carbono (CO_2) en sustancias orgánicas sencillas que después pasan a formar la glucosa y finalmente el almidón desprendiendo oxígeno (O_2) El aporte de energía en los tejidos vivos procede de la conversión de glucosa en bióxido de carbono y agua para formar ATP (figura 1 izquierda).

Los pigmentos que pueden ser encontrados en las hojas, los cuales captan la energía química son:

- La clorofila, que se encuentra en los cloroplastos de cada célula. Este pigmento es indispensable para que se lleve a cabo la fotosíntesis.
- Los carotenos, es un pigmento amarillo anaranjado que se encuentra en ciertas células vegetales y da su color a la zanahoria.
- Las xantófilas, son unas sustancias cristalinas de color amarillo oscuro, que se encuentra juntamente con la clorofila en los cloroplastos de las plantas.

En la fotosíntesis se reconocen dos fases sucesivas: una dependiente de la luz o reacciones luminosas (fase luminosa) y otra que no depende de ella, reacciones oscuras (fase oscura) (Figura 2 derecha.).

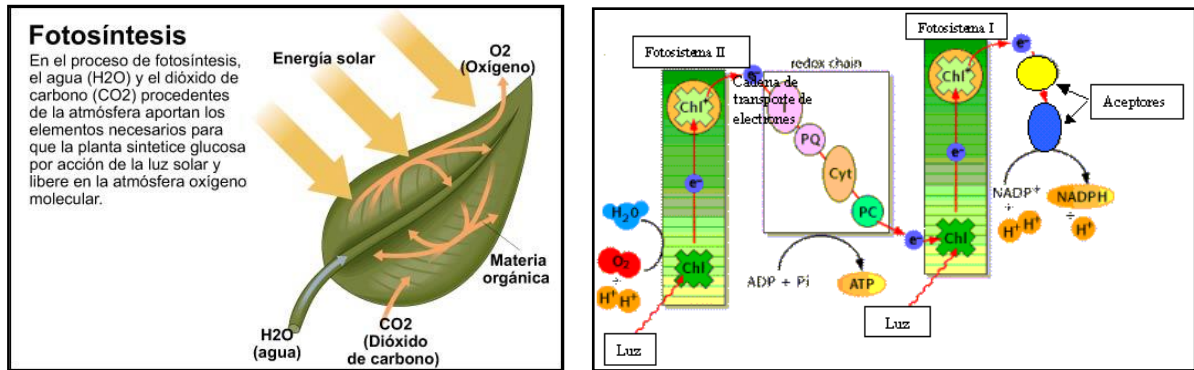


Figura 1. Izquierda. Fotosíntesis. Derecha. Mecanismo de la fotosíntesis.

GENERALIDADES:

En la fase luminosa, la luz que incide (fotones) es absorbida por la clorofila a la que excita, provocando que ésta libere electrones cargándose así positivamente. Por cada fotón de luz se libera un electrón. Simultáneamente los fotones provocan la ruptura de la molécula del agua (fotólisis) en dos subproductos: oxígeno, que se libera al medio y los protones (H⁺). Los electrones liberados por la clorofila activada son captados por los protones a través de unos transportadores, de manera que se forma el hidrógeno molecular (H₂) que se utiliza para que la molécula de NADP (Nicotidamina adenina dinucleótido) se reduzca a NADP₂. Los protones que se acumulen en el estroma pueden comportarse como “enzimas activas” catalizando la formación de moléculas de ATP a partir de ADP y P. En resumen: en la fase luminosa de la fotosíntesis el impacto de los fotones de luz sobre la clorofila y la fotólisis del agua son el origen de un estado de desequilibrio molecular (fenómeno químico) que se reequilibra constantemente gracias al flujo de protones a través de la membrana de los tilacoides (fenómeno físico).

La fase oscura es indiferente a la presencia de luz y sus reacciones tienen lugar en el estroma de los cloroplastos. En ella se utiliza la energía química almacenada en el ATP y el poder reductor del NADPH₂, sintetizados en la fase luminosa, para la fijación del O₂ atmosférico. Éste es incorporado a una molécula de 5 átomos de carbono: la ribulosa 1-5 difosfato que abunda en el estroma. El resultado, tras una molécula inestable de 6 átomos de carbono, es el ácido 3-fosfoglicérico.

MATERIAL:

- 1 popote.
- 2 matraces de 125 ml con su respectivo tapón de hule no horadado.

MATERIAL BIOLÓGICO:

- Elodea (*Elodea canadensis*; planta acuática).

REACTIVOS:

- Agua mineral de cualquier marca.
- Azul de bromotimol.

TÉCNICA:

1. Colocar una gota de azul de bromotimol en un matraz de 125 mL (matraz 1).
2. Diluir con agua carbonatada el azul de bromotimol y observar la coloración. Anotando en el cuadro de resultados (Nota: Tapar el matraz herméticamente con el tapón de hule para evitar fugas de dióxido de carbono).
3. Colocar en otro matraz (matraz 2), una gota de azul de bromotimol y diluir con agua (Nota: el pH del agua con que se trabaja debe tomarse en cuenta ya que modificará los resultados, en este caso debe ser neutra o ligeramente alcalina).
4. Soplar con un popote dentro del agua hasta cambio de coloración. Tapar el matraz. Anotar observaciones.
5. Colocar dentro de ambos matraces una ramita de Elodea, taparlos nuevamente y esperar de 30 a 60 minutos.
6. Realizar observaciones con dibujos.

Llenar el siguiente cuadro con los resultados obtenidos:

	Matraz 1	Matraz 2
	Agua carbonatada	Con aire exhalado
Azul de bromotimol		
Planta acuática		

OBSERVACIONES CON DIBUJOS**RESULTADOS:**

Realizar una tabla en la que se indiquen los principales cambios observados en cada uno de los matraces. Estos resultados deben de acompañarse de imágenes/dibujos. Es necesario incluir las dificultades observadas al realizar la preparación y observación de cada una de las condiciones.

DISCUSIÓN:

Dependiendo de los resultados obtenidos, argumentar: 1. A que se deben las diferencias observadas en cada uno de los matraces y qué indica el cambio de coloración y la presencia de burbujas en cada uno de ellos.

EVALUACIÓN:

El profesor evaluará a los estudiantes de acuerdo con la disposición para realizar la práctica solicitada. La evaluación se completará con un examen exploratorio del tema y el reporte completo de la práctica.

CONCLUSIONES:

¿Se logró el/los objetivo(s) de la práctica? ¿Si No? ¿Porqué?

BITÁCORA COL:

¿Qué aprendí? ¿Qué sentí?

CUESTIONARIO:

- 1) ¿Qué indica el color de la solución del matraz 1 del experimento?

- 2) Anotar la reacción química que se lleva a cabo en el matraz 2 debido a la cual se da el cambio de coloración. Debajo de la reacción anotar el nombre de cada una de las sustancias.
- 3) ¿Qué compuesto está presente en la solución del matraz 2 el cual es responsable del cambio de coloración?
- 4) ¿Qué sucede en las soluciones de ambos matraces con la presencia de la planta acuática?

FECHA DE REALIZACIÓN:

BIBLIOGRAFÍA:

- Burke, J. **Biología celular**. Interamericana, México, 2012.
- Harvey L. **Biología Celular y Molecular**. 7ª edición. Buenos Aires. Editorial Panamericana. 2016.
- Karp, G. **Biología celular**. Mc Graw Hill. México. 2ª. Edición. 2014.
- Alberts, B. et al. **Introducción a la biología celular**. Editorial Médica Panamericana. 3a edición. México. 2011.
- Karp G. et al. **Biología celular y molecular; conceptos y experimentos**. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 7a Edición. México, 2014.
- NOM-087-ECOL-SSA1-2002**. Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico infecciosos- clasificación y especificaciones de manejo.
- Reglamento Interno de la Facultad de QFB**. Universidad Veracruzana, Xalapa Ver. Disponible en: <https://www.uv.mx/legislacion/files/2018/12/Reglamento-QFB-Xalapa.pdf>.

UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR
PRÁCTICA No. 15
ELABORACIÓN DE ALMIDÓN EN LAS PLANTAS VERDES

DURACIÓN: 1.5 horas.

MATERIAL DIDÁCTICO:

- Pizarrón
- Videoprojector
- Marcadores

MATERIAL:

- Papel o libreta
- Lápiz/lapiceros

OBJETIVO:

Verificar si la energía que la hoja de geranio recibe se distribuye uniformemente y permite que haya fotosíntesis en toda la hoja cuando solo una parte de ella es iluminada por la luz solar.

FUNDAMENTO:

Las hojas contienen pigmentos que están asociados con la producción de almidón, sustancia de reserva insoluble producto de la fotosíntesis. Para su elaboración se necesita energía, y la fuente de ésta es el sol. El almidón es la sustancia con la que las plantas almacenan su alimento en raíces, tubérculos, frutas y semillas. Pero, no sólo es una importante reserva para las plantas, también para los seres humanos tiene una alta importancia energética, proporciona gran parte de la energía que consumimos los humanos por vía de los alimentos.

El almidón se diferencia de los demás hidratos de carbono presentes en la naturaleza en que se presenta como un conjunto de gránulos o partículas. Estos gránulos son relativamente densos e insolubles en agua fría, aunque pueden dar lugar a suspensiones cuando se dispersan en el agua. Suspensiones que pueden variar en sus propiedades en función de su origen.

GENERALIDADES:

Los azúcares, almidones y celulosa son carbohidratos. Los azúcares y los almidones sirven como fuentes de energía para las células, en tanto que la celulosa es el componente estructural principal de las paredes que rodean a las células vegetales. Los carbohidratos se componen de átomos de carbono, hidrogeno y oxígeno en proporción aproximada de un átomo de carbono por dos de hidrogeno y uno de oxígeno.

El almidón, que es la forma habitual de carbohidrato empleado para almacenamiento de energía en las plantas, es un polímero consistente en subunidades de α -glucosa. Los monómeros están unidos por enlaces 1-4 α , lo cual significa que el carbono 1 de una glucosa está unido al carbono 4 de la siguiente glucosa en la cadena. El almidón

tiene dos formas, amilasa y amilopectina. La primera, más sencilla, no está ramificada, en tanto que la amilopectina, que es más frecuente, suele consistir en alrededor de 1000 unidades en una cadena ramificada (figura 1).

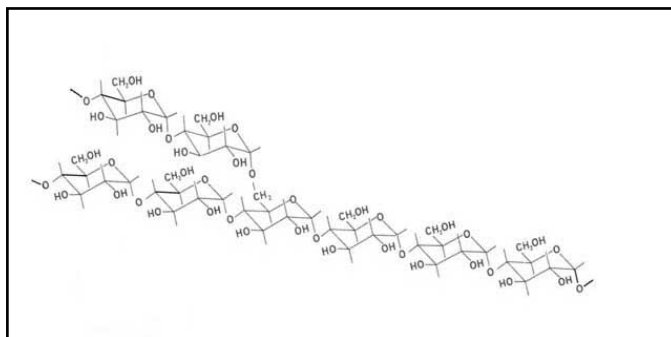


Figura 1. Estructura del almidón.

Los vegetales almacenan almidón principalmente en la forma de gránulos dentro de organelos especializados llamados amiloplastos. Cuando se requiere energía para realizar trabajo celular, la planta hidroliza el almidón, con lo que se libera las subunidades de glucosa. Seres humanos y otros animales que comen alimentos vegetales cuentan con enzimas para realizar dicha hidrólisis.

También existe un almidón vegetal o glucógeno como se le llama, que es la forma en la que la glucosa se almacena en los tejidos animales. Su estructura es similar a la del almidón, aunque está más ramificado y es más hidrosoluble. El glucógeno se almacena sobre todo en las células del hígado y músculos.

MATERIAL:

- Tubos de ensayo 13 x 100 mm.
- 1 vaso de precipitado.
- Parrilla.
- Aluminio.
- Papel periódico.
- Tijeras.
- Clips.
- Caja de Petri.
- Pinzas.
- Recipiente para baño maría.
- Papel absorbente.

MATERIAL BIOLÓGICO:

- Planta de geranio (*Pelargonium grandiflorum*) (capote).

REACTIVOS:

- Alcohol etílico al 95%.
- Lugol.

TÉCNICA:

1. Realiza pequeños recortes con el aluminio y colócalos sobre las hojas del geranio, sujetándolos con los clips. Cubre la planta con el papel periódico y guárdala al abrigo de la luz un par de días.
2. Transcurrido este tiempo, saca la planta, quítale el papel periódico y exponla a la luz solar durante un par de horas.
3. Quita los pedazos de aluminio y corta las hojas.
4. Extraer la clorofila hirviéndolas a baño maría en el alcohol etílico hasta total decoloración
5. Escurre las hojas y sumérgelas en el Lugol durante medio minuto.
6. Transcurrido el tiempo, retira las hojas y colócalas sobre papel absorbente, procurando extenderlas perfectamente, coloca otro papel encima de ellas, además algo pesado para evitar que se deformen.
7. Una vez seca la hoja, observa los pequeños puntos negros distribuidos en la superficie de la hoja. Basándose en las evidencias obtenidas en este experimento, establece un enunciado sobre el efecto de la luz en el proceso de fotosíntesis.

OBSERVACIONES CON DIBUJOS:**RESULTADOS:**

Anotar en las muestras obtenidas, la presencia o ausencia de almidón, mediante la observación de los puntos negros. Estos resultados deben de acompañarse de imágenes/dibujos. Es necesario incluir las dificultades observadas al realizar la preparación y observación de cada una de las condiciones.

DISCUSIÓN:

En relación con los resultados obtenidos, explicar el efecto de la luz sobre el proceso fotosintético y el almacenamiento de energía en las células.

EVALUACIÓN:

El profesor evaluará a los estudiantes de acuerdo con la disposición para realizar la práctica solicitada. La evaluación se completará con un examen exploratorio del tema y el reporte completo de la práctica.

CONCLUSIONES:

¿Se logró el/los objetivo(s) de la práctica? ¿Si No? ¿Porqué?

BITÁCORA COL:

¿Qué aprendí? ¿Qué sentí?

CUESTIONARIO:

- 1) ¿Cuál es la estructura química del almidón?
- 2) ¿Cuál es la función del almidón en las plantas?
- 3) ¿Qué función tiene el Lugol en esta práctica?

FECHA DE REALIZACIÓN:

BIBLIOGRAFÍA:

- Burke, J. **Biología celular**. Interamericana, México, 2012.
- Harvey L. **Biología Celular y Molecular**. 7ª edición. Buenos Aires. Editorial Panamericana. 2016.
- Karp, G. **Biología celular**. Mc Graw Hill. México. 2ª. Edición. 2014.
- Alberts, B. et al. **Introducción a la biología celular**. Editorial Médica Panamericana. 3a edición. México. 2011.
- Karp G. et al. **Biología celular y molecular; conceptos y experimentos**. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 7a Edición. México, 2014.
- NOM-087-ECOL-SSA1-2002**. Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico infecciosos- clasificación y especificaciones de manejo.
- Reglamento Interno de la Facultad de QFB**. Universidad Veracruzana, Xalapa Ver. Disponible en: <https://www.uv.mx/legislacion/files/2018/12/Reglamento-QFB-Xalapa.pdf>.

UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR
PRÁCTICA No. 16

PRESENCIA DE GLUCOSA EN LAS HOJAS DE LAS PLANTAS VERDES

DURACIÓN: 1.5 horas.

MATERIAL DIDÁCTICO:

- Pizarrón
- Videoprojector
- Marcadores

MATERIAL:

- Papel o libreta
- Lápiz/lapiceros

OBJETIVO:

Demostrar la presencia de glucosa en las hojas de las plantas verdes utilizando el reactivo de Fehling para identificación de azúcares reductores.

FUNDAMENTO:

Cada hoja es un órgano de nutrición especializado, cuyo papel es la fotosíntesis. A la luz solar una planta puede producir 20 veces más alimento del que gasta por unidad de tiempo. En otros momentos, durante la noche o el invierno consumen más alimento del que producen. Cada planta acumula reservas de alimentos para resistir los periodos en los cuales no hay fotosíntesis (figura 1).

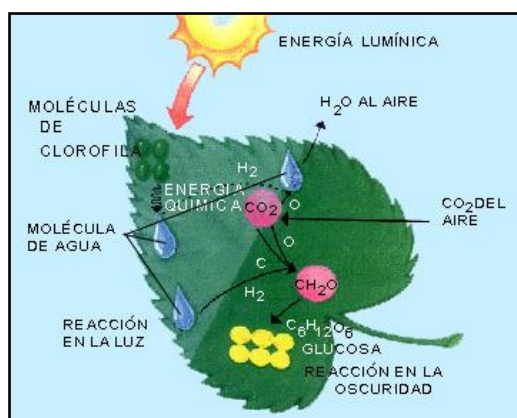


Figura 1. Mecanismo de fotosíntesis.

Existen varias sustancias que se utilizan para demostrar la presencia de azúcares, una de ellas es la solución de Fehling, que al combinarse con ellos cambia de color, variando desde un tono amarillento hasta un color rojo ladrillo, lo cual depende de la cantidad de azúcares presentes.

GENERALIDADES:

La glucosa, el monosacárido más abundante, es utilizado por la mayor parte de los organismos como fuente de energía. Durante la respiración celular, las células oxidan moléculas de glucosa y convierten la energía almacenada a una forma fácil de utilizar en sus actividades. La glucosa también es componente de la síntesis de otros tipos de compuestos, como aminoácidos y ácidos grasos; su importancia en el metabolismo es tal que su concentración se mantiene cuidadosamente en valores homeostáticos en la sangre de seres humanos y otros animales complejos.

La glucosa y la fructuosa son isómeros estructurales, o sea que poseen fórmula molecular idéntica, pero sus átomos están dispuestos de manera distinta, la glucosa tiene depósitos en hojas, tallos o raíces. Las hojas son depósitos momentáneos de los alimentos, poco adecuados para los periodos prolongados, pues se pierden rápidamente.

Gran parte de la glucosa producida en un día es convertida en almidón y almacenada en las hojas. El almidón es hidrolizado subsecuentemente de nuevo a glucosa, la cual es translocada en el floema al tallo y raíces. El movimiento de sustancias alimenticias en el floema depende de la actividad metabólica de las células del floema. Una variedad de pruebas que penetran en forma de solutos que se mueven en soluciones, que a su vez se movilizan debido a diferencias en el potencial hídrico, causado por gradientes de concentración de azúcar y otros productos de fotosíntesis y agua. Esto aumenta la presión dentro de las células del floema y tiende a empujar líquido de una célula a la adyacente, a esta hipótesis se le conoce como de presión de flujo.

MATERIAL:

- Mortero.
- Baño maría
- Pinzas para tubo de ensayo.
- Mechero
- Tubos de ensayo de 15 x 125 mm.
- Embudo mediano.
- Vaso de precipitado de 500 mL.
- Vaso de precipitado de 250 mL.
- Agitador de vidrio.
- Gasa.
- Pipeta de 5 mL.

MATERIAL BIOLÓGICO:

- 6 o 7 hojas verdes de espinacas/lechuga/berros/acelgas/verdolagas

REACTIVOS:

- Solución de Fehling A
- Solución de Fehling B.
- Glucosa al 1%.

TÉCNICA:

1. Triturar perfectamente las hojas en el mortero, posteriormente del triturado, colocarlas en un vaso de precipitado de 500 mL.

2. Agregar agua corriente suficiente para cubrir el triturado y agitar hasta que obtengas una mezcla uniforme, cuidando que la mezcla no quede muy diluida, deberá quedar semilíquida.
3. Filtrar la mezcla en el segundo vaso de precipitado, esta filtración la deberás de hacer con la gasa para que sea un poco más rápido y no tenga restos de las hojas que trituraste.
4. Listo ya el filtrado, toma de 3 a 4 mL, del mismo agregándolo al tubo de ensayo que deberás tener listo. A este filtrado le deberás agregar 2 mL de solución de Fehling (1 mL de solución de Fehling A y 1 mL de solución de Fehling B). Agitar vigorosamente durante aproximadamente un minuto. Esto es con el fin de mezclar perfectamente tu muestra.
5. Proceder a calentar el tubo hasta ebullición, cuidando de que no te vaya a saltar la muestra, y sufras algún tipo de quemadura. Mantén la muestra durante algunos minutos hasta que observes que el cambio de color se estabiliza.
6. Observa qué coloración toma tu muestra y con la tabla de comparación, establece si hay presencia de glucosa (porcentaje) a partir de las hojas que trituraste. Utilizar glucosa al 1% como control positivo.
7. Realiza dibujos de lo que observaste en los tubos de ensayo con su cambio de coloración antes y después.

TABLA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE CARBOHIDRATOS (GLUCOSA) EN LAS HOJAS DE LAS PLANTAS VERDES SEGÚN BIURET, BENEDICT Y FEHLING.

% DE GLUCOSA	POSITIVIDAD	INTENSIDAD DE COLOR
25	+	Color verde, precipitado verde o amarillo.
50	++	Color amarillo a verde, precipitado amarillo.
75	+++	Color amarillo anaranjado, precipitado amarillo a naranja.
100	++++	Color amarillo rojizo, precipitado rojo ladrillo o rojo

Negativa: Color azul claro (Puede formarse un precipitado amarillo). Trazas: Color verde azulado.

OBSERVACIONES CON DIBUJOS:

RESULTADOS:

Realizar una tabla en la que se indique la intensidad de positividad para cada una de las muestras en relación con el control positivo (glucosa al 1%). Estos resultados deben de acompañarse de imágenes/dibujos. Es necesario incluir las dificultades observadas al realizar la preparación y observación de cada una de las condiciones.

DISCUSIÓN:

En relación con los resultados obtenidos, explicar la importancia del almacenamiento y obtención de glucosa en cada muestra.

EVALUACIÓN:

El profesor evaluará a los estudiantes de acuerdo con la disposición para realizar la práctica solicitada. La evaluación se completará con un examen exploratorio del tema y el reporte completo de la práctica.

CONCLUSIONES:

¿Se logró el/los objetivo(s) de la práctica? ¿Si No? ¿Porqué?

BITÁCORA COL:

¿Qué aprendí? ¿Qué sentí?

CUESTIONARIO:

- 1) ¿Para qué utilizan la glucosa los seres vivos?
- 2) ¿Cómo está integrada la solución de Fehling y cuál es su utilidad?
- 3) ¿Cuál es la función del tejido vascular en una planta?
- 4) ¿Cómo está integrado el tejido vascular en las plantas?

FECHA DE REALIZACIÓN:

BIBLIOGRAFÍA:

- Burke, J. **Biología celular**. Interamericana, México, 2012.
- Harvey L. **Biología Celular y Molecular**. 7ª edición. Buenos Aires. Editorial Panamericana. 2016.
- Karp, G. **Biología celular**. Mc Graw Hill. México. 2ª. Edición. 2014.
- Alberts, B. et al. **Introducción a la biología celular**. Editorial Médica Panamericana. 3a edición. México. 2011.
- Karp G. et al. **Biología celular y molecular; conceptos y experimentos**. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 7a Edición. México, 2014.
- NOM-087-ECOL-SSA1-2002**. Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico infecciosos- clasificación y especificaciones de manejo.
- Reglamento Interno de la Facultad de QFB**. Universidad Veracruzana, Xalapa Ver. Disponible en: <https://www.uv.mx/legislacion/files/2018/12/Reglamento-QFB-Xalapa.pdf>.

UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR
PRÁCTICA No. 17
CATALASA: UNA ENZIMA PRESENTE EN TEJIDOS ANIMALES Y
VEGETALES

DURACIÓN: 3 horas.

MATERIAL DIDÁCTICO:

- Pizarrón
- Videoprojector
- Marcadores

MATERIAL:

- Papel o libreta
- Lápiz/lapiceros

OBJETIVO:

Identificar la presencia de la catalasa en diversos tejidos de origen animal y vegetal.

FUNDAMENTO:

La catalasa es una enzima oxidante que se encuentra en organismos vivos y cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en oxígeno y agua. Existe prácticamente en todas las células excepto en ciertas bacterias anaerobias. El peróxido de hidrógeno es un residuo del metabolismo celular de muchos organismos vivos, pero dada su toxicidad debe transformarse rápidamente en compuestos menos peligrosos. Para ello se usa con frecuencia esta enzima que cataliza su descomposición. Además, la catalasa se usa en la industria textil para la eliminación del peróxido de hidrógeno, así como en menor medida se emplea en la limpieza de lentes de contacto que se han esterilizado en una solución de peróxido de hidrógeno.

La catalasa es una proteína tetraédrica formada por cuatro subunidades idénticas (350,000 kD). Cada monómero contiene un grupo prostético Hemo en el centro activo. En algunas especies también contiene una molécula de NADP por subunidad cuya función es proteger a la enzima de la oxidación por su sustrato H_2O_2 .

GENERALIDADES:

Las enzimas son proteínas catalizadoras producidas por las células vivas; regulan la rapidez y especificidad de los miles de reacciones químicas intracelulares. Aunque las enzimas son sintetizadas dentro de las células, no tienen que estar en el interior de la célula para actuar como catalizador; muchas se han extraído de las células y así conservan su actividad completa. Pueden purificarse o cristalizarse para estudiar sus propiedades catalíticas.

Las reacciones reguladas por enzimas son fundamentales para todos los fenómenos vitales: respiración, crecimiento, fotosíntesis, contracción muscular, conducción nerviosa,

fijación de nitrógeno, desaminación, digestión, etc. Las enzimas suelen ser incoloras, pero las hay amarillas, verdes, azules, pardas o rojas. Casi todas ellas son solubles en agua o soluciones salinas diluidas, aunque algunas, por ejemplo, las de las mitocondrias, están unidas por una lipoproteína y resultan insolubles en agua.

El poder catalítico de algunas enzimas es en verdad extraordinario. Una molécula de catalasa, que contiene hierro, obtenida de hígado de res, logra el desdoblamiento de unos cinco millones de moléculas de peróxido de hidrogeno (H_2O_2) por minuto a $0^\circ C$. La sustancia sobre la cual actúa la enzima se llama sustrato; en este caso, el peróxido de hidrogeno es el sustrato de la enzima catalasa. (figura 1).

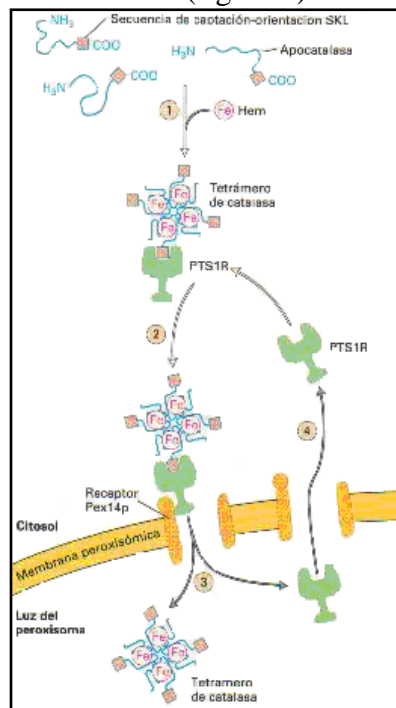


Figura 1. Captación de la catalasa.

El número de moléculas de sustrato sobre las cuales actúa una molécula de enzima por minuto se llama número de recambio de la enzima; en particular el de la catalasa es de 5 000 000. Casi todas las enzimas tienen números muy altos, lo cual explica que puedan ser tan activas, a pesar de que las cantidades son muy pequeñas en la célula. El peróxido de hidrogeno, tóxico, es un producto colateral de distintas reacciones enzimáticas. La catalasa protege la célula al destruir el peróxido. El peróxido de hidrógeno puede ser desdoblado únicamente por átomos de hierro, pero en este caso la velocidad disminuye. Se necesitarían unos 300 años para que un átomo de hierro pudiera desdoblar el mismo número de moléculas de H_2O_2 que una molécula de catalasa desdobla en un segundo.

MATERIAL:

- Navaja.
- Pinzas de disección.
- Probetas de 50 mL.
- Termómetro de $0-100^\circ C$.

- Mechero.
- Mortero.
- Tapón horadado.
- 2 tubos de ensayo 15 x 125 mm.
- Toallas de papel.
- Guantes de látex.
- Dispositivo para baño maría.
- Pinzas para tubo de ensayo.

MATERIAL BIOLÓGICO:

- Diversos tejidos de origen animal como: hígado de res y de pollo, sesos de res, músculo, y tejidos vegetales como: hojas y raíces, espinacas, etc.

REACTIVOS:

- Solución de peróxido de hidrógeno al 3%.

TÉCNICA:

1. Se harán cortes de varios tejidos animales y vegetales debiendo anotar cuidadosamente su origen, evitando tocarlos con las manos porque se pueden contaminar con las sustancias de la piel del experimentador.
2. Con las pinzas de disección toma un fragmento de 1 cm² aproximadamente de cada uno de los tejidos y colócalos en un pedazo de papel absorbente cuidando que los tejidos no se toquen entre sí. Márcalos para su identificación.
3. En otro pedazo de papel toma cortes de tejidos iguales a los primeros, pero que hayan sido hervidos previamente. Manéjalos también con las pinzas.
4. En dos tubos de ensayo limpios, coloca 5 mL de solución de peróxido de hidrógeno al 3%. Toma una porción de uno de los tejidos hervidos y otro del mismo sin hervir y colócalos en tubos de ensayo que contengan el peróxido.
5. Observa y anota los resultados.
6. Tomar otro par de tubos y agrégalos 5 mL de peróxido de hidrógeno al 3% en cada uno.
7. Repite la operación anterior con un par de porciones de otro tejido. Continúa de esta manera hasta que se haya investigado todas las muestras de tejido.
8. Realiza otros cortes y tríturalos en un mortero por separado. Enjuaga el mortero cada vez que se vaya a triturar un tejido distinto.
9. Colócalos en 5 ml de solución de peróxido de hidrógeno al 3% en tubos de ensayo limpios y agrega una porción de tejido. Observa y anota los resultados. Continúa de esta manera hasta que se hayan investigado todas las muestras de tejido.
10. Se recomienda que los tubos se sujeten con las pinzas para tubo de ensayo, para evitar la transferencia de calor y por lo tanto la activación del peróxido de hidrógeno.
11. Armar el calorímetro como lo muestra la figura 2 y colocar en el 10 mL de peróxido de hidrógeno al 3% en la cámara de reacción, moja el bulbo del termómetro y pásalo a través del tapón horadado, el bulbo del termómetro debe tocar el líquido.



Figura 2. Calorímetro.

12. Anota la temperatura inicial. Una vez que se ha determinado la temperatura inicial del peróxido de hidrógeno, en el calorímetro, introduce dos gotas de extracto de hígado. Inserta el tapón en su lugar sin que quede apretado, para permitir el escape de cualquier gas que se genere.
13. Anota los cambios de temperatura de la cámara de reacción cada 30 segundos, hasta un periodo de 5 minutos y repite este procedimiento dos veces más con peróxido de hidrógeno fresco y más extracto de hígado. Calcula el promedio de las mediciones de temperatura para cada intervalo de 30 segundos anotando los resultados. Posteriormente realiza una gráfica con los resultados, en el eje de las “X” tiempo en segundos y en el eje de las “Y” temperatura en °C.

ANOTA LOS RESULTADOS EN LAS SIGUIENTES TABLAS:

TEJIDO	HERVIDO	SIN HERVIR

TEJIDO TRITURADO	RESULTADOS

ANOTA RESULTADOS EN LA SIGUIENTE TABLA DE LAS TEMPERATURAS OBTENIDAS EN EL CALORÍMETRO:

	30 seg	60 seg	30 seg	60 seg	30 seg	60 seg	30 seg	60 seg	30 seg	60 seg
Temperaturas iniciales										
Temperaturas										

iniciales										
Temperaturas iniciales										
Promedio										

OBSERVACIONES CON DIBUJOS:

RESULTADOS:

Anotar las observaciones en las tablas correspondientes de los tejidos en las diferentes condiciones (triturado y sin triturar vs hervido y sin hervir) al exponerlas a peróxido de hidrógeno. Estos resultados deben de acompañarse de imágenes/dibujos. Es necesario incluir las dificultades observadas al realizar la preparación y observación de cada una de las condiciones.

DISCUSIÓN:

En relación con los resultados obtenidos, explicar la razón de las diferencias en la intensidad de la reacción (descomposición del peróxido de hidrógeno) observada en las diferentes muestras, con las funciones metabólicas que estas realizan.

EVALUACIÓN:

El profesor evaluará a los estudiantes de acuerdo con la disposición para realizar la práctica solicitada. La evaluación se completará con un examen exploratorio del tema y el reporte completo de la práctica.

CONCLUSIONES:

¿Se logró el/los objetivo(s) de la práctica? ¿Si No? ¿Porqué?

BITÁCORA COL:

¿Qué aprendí? ¿Qué sentí?

CUESTIONARIO:

- 1) ¿Cuál es el cambio total de temperatura que tuvo lugar en la cámara de reacción?
- 2) ¿Cuál es la fuente del calor determinado en este experimento?
- 3) Si la catalasa es una enzima que rompe el peróxido de hidrógeno formando oxígeno y agua, ¿De qué manera se muestra en nuestro experimento la presencia o ausencia de catalasa en los tejidos?
- 4) De los tejidos experimentados, ¿Cuál de ellos es el más activo?, ¿Cuál es el menos activo?
- 5) ¿Qué se puede inferir de los resultados obtenidos, sobre la actividad de la catalasa en los tejidos hervidos y sin hervir?
- 6) Frecuentemente se utiliza peróxido de hidrógeno como antiséptico y se observa que al aplicarlo a una herida se produce burbujeo, ¿Qué es lo que indica este hecho?

FECHA DE REALIZACIÓN:

BIBLIOGRAFÍA:

- Burke, J. **Biología celular**. Interamericana, México, 2012.
- Harvey L. **Biología Celular y Molecular**. 7ª edición. Buenos Aires. Editorial Panamericana. 2016.
- Karp, G. **Biología celular**. Mc Graw Hill. México. 2ª. Edición. 2014.
- Alberts, B. et al. **Introducción a la biología celular**. Editorial Médica Panamericana. 3a edición. México. 2011.
- Karp G. et al. **Biología celular y molecular; conceptos y experimentos**. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 7a Edición. México, 2014.
- NOM-087-ECOL-SSA1-2002**. Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico infecciosos- clasificación y especificaciones de manejo.
- Reglamento Interno de la Facultad de QFB**. Universidad Veracruzana, Xalapa Ver. Disponible en: <https://www.uv.mx/legislacion/files/2018/12/Reglamento-QFB-Xalapa.pdf>.

UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR
PRÁCTICA No. 18
NÚCLEO Y ORGANELOS: CENTRIFUGACIÓN DIFERENCIAL.

DURACIÓN: 3 horas.

MATERIAL DIDÁCTICO:

- Pizarrón
- Videoprojector
- Marcadores

MATERIAL:

- Papel o libreta
- Lápiz/lapiceros

OBJETIVO:

Realizar un fraccionamiento celular e identificar en éste los organelos de células animales.

FUNDAMENTO:

Las células eucariotes tienen organelos celulares delimitados por una sola membrana. Todos ellos pueden ser separados utilizando métodos de centrifugación diferencial y por gradientes de densidad. Dado que la mayoría de los organelos tienen diferente peso molecular, viscosidad o densidad. Existen diversos tipos de purificación de organelos, uno de ellos es la ultracentrifugación, que consiste en separar las células u organelos presentes en una mezcla celular sometiendo a una fuerza centrífuga. Mediante una ultracentrífuga se alcanzan velocidades de más de 100 000 rpm, para generar una fuerza centrífuga de 500 000 G; con lo cual se logra separar a la mezcla en dos porciones.

GENERALIDADES:

Las membranas tienen propiedades únicas que permiten a los organelos membranosos realizar una amplia variedad de funciones. Las membranas celulares nunca tienen extremos libres; así, un organelo membranoso siempre contiene cuando menos un espacio interno cerrado o compartimiento. Estos compartimientos rodeados por membrana permiten que determinadas actividades celulares se localicen dentro de regiones cerradas específicas de la célula. Los reactivos que se concentran en solo una pequeña parte del volumen celular total tienen mucha mayor probabilidad de entrar en contacto, y la velocidad de reacción puede aumentar en grado notable. Los compartimientos rodeados por membrana también mantienen determinados compuestos reactivos alejados de otras partes de la célula que podrían verse afectadas adversamente por ellos. Los procedimientos de fraccionamiento celular son métodos de purificación de organelos. En general, se fraccionan las células con la mayor suavidad posible y la mezcla, llamada extracto celular, se somete a fuerza centrífuga para hacerla girar en un dispositivo llamado centrífuga (figura 1). Tal fuerza separa el extracto en dos fracciones: un comprimido y un sobrenadante. El

comprimido, que contiene los materiales más pesados densamente compactados, se forma en el fondo del tubo. El sobrenadante, o sea el líquido que queda encima del comprimido, contiene las partículas más ligeras, moléculas disueltas, e iones.

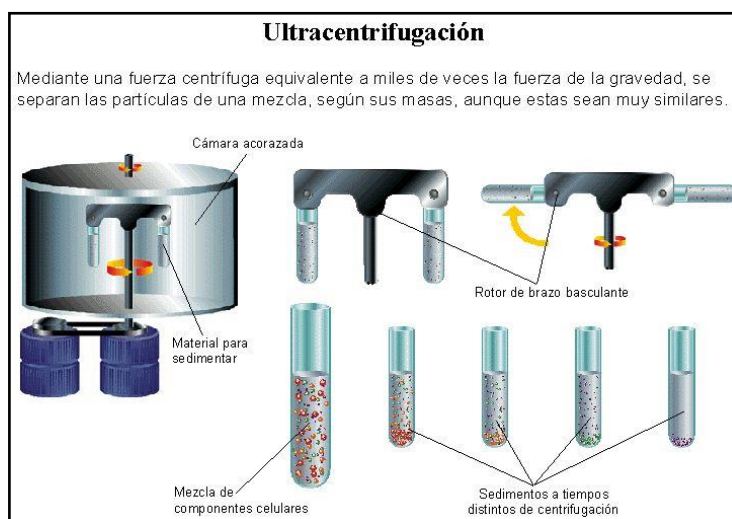


Figura 1. Ultracentrifugación.

Es posible volver a centrifugar el sobrenadante a una mayor velocidad para obtener un comprimido que contenga los siguientes componentes celulares más pesados, por ejemplo, mitocondrias y cloroplastos. En la centrifugación diferencial, el sobrenadante se hace girar a velocidades cada vez mayores, lo cual permite separar diversos componentes celulares con base en sus diferentes tamaños y densidades. Los componentes celulares de los comprimidos pueden ser puestos de nuevo en suspensión y purificarse aún más por centrifugación en gradiente de densidad. En este procedimiento, el comprimido resuspendido se coloca en una capa en la parte superior de un gradiente de densidad, por lo común constituido por una solución de sacarosa y agua. La concentración de sacarosa es máxima en el fondo del tubo y disminuye en forma gradual, hasta hacerse mínima en la parte superior. Como la densidad de los organelos difiere, cada uno de éstos emigrará durante la centrifugación y formará una banda en la posición del gradiente en que su densidad iguale la propia de la solución de sacarosa.

Los organelos purificados pueden ser objeto de examen para determinar qué tipo de proteínas y otras moléculas contienen, así como la naturaleza de las reacciones químicas que ocurren en ellos.

MATERIAL:

- Centrifuga.
- Tubos de ensayo de 13 x 100 mm.
- Pipetas graduadas.
- Vasos de precipitado.
- Mortero con pistilo.
- Pipeta Pasteur.
- Microscopio
- Licuadora

- Portaobjetos
- Cubreobjetos

MATERIAL BIOLÓGICO:

- Hígado de pollo fresco.

REACTIVOS:

- Buffer de separación (buffer de fosfatos 10mM y de cloruro de sodio 0.15 M, KCl 3.3 mM y MgCl 2.6 mM a pH 7.4)
- Gradiente de sacarosa 25 M
- Verde janus
- Azul de bromotimol

TÉCNICA:

Técnica para centrifugación celular. Fraccionamiento celular.

1. El hígado se enjuaga con agua de la llave y se coloca en un vaso de precipitado, que contenga 20 mL del medio de extracción, se desmenuza con las tijeras reemplazando de 2 a 3 veces el medio.
2. Se vierte el contenido del vaso en una licuadora y se licúa. Pasar a los tubos y centrifugar a 2000 rpm durante 10 minutos, retirar el sobrenadante y guardarlo.
3. A la fracción obtenida, se le agrega buffer en proporción 1:4 (colocar 4 veces el volumen de la fracción obtenida de buffer) y se guarda para hacer las observaciones de los organelos.
 - Observación de mitocondrias: el sobrenadante que se obtuvo de la centrifugación anterior, póngalo a centrifugar a 5000 rpm durante 15 minutos. Quite el sobrenadante y no lo tire, el sedimento contiene las mitocondrias, resuspenda con buffer en proporción 1:4. tome 0.1 ml y se tiñe con 1 ml de verde janus por 10 minutos y se observa al microscopio buscando en seco fuerte la estructura (bastoncillos de color verde) y después observando con el objetivo de inmersión.
 - Observación de peroxisomas: El sobrenadante de la centrifugación anterior se vuelve a centrifugar aproximadamente 20 minutos a 7000 rpm. El sedimento presuntamente contiene los peroxisomas, el cual debe resuspenderse suavemente con buffer con la proporción 1:4. colocar un portaobjetos con una gota de azul de bromotimol y observar al microscopio buscando en seco fuerte la estructura (bastoncillos de color azul) y después observando con el objetivo de inmersión.
 - Observación de lisosomas: Se centrifuga el sobrenadante anterior a 7000 rpm durante 30 minutos, el sobrenadante de la centrifugación será posible fuente de lisosomas. Colocar en un portaobjetos con una gota de azul de bromotimol y observar al microscopio buscando en seco fuerte la estructura (bastoncillos de color azul) y después observando con el objetivo de inmersión.
 - Observación de retículo endoplásmico: Este sistema microsomal, aparece en cualquiera de los sobrenadantes obtenidos anteriormente. Se coloca con una gota de azul de bromotimol y se observa al microscopio buscando en seco

fuerte la estructura (fragmentos de color azul) y después observando con el objetivo de inmersión.

NOTA:

>Guardar en refrigeración para la siguiente sesión de laboratorio.

Técnica de gradiente de sacarosa: (técnica alternativa)

1. En un tubo de ensayo se colocan 5 mL de sacarosa 25 M y se agrega la parte superficial 2 mL del extracto de hepático.
2. Se centrifuga a 7000 rpm durante 30 minutos.
3. Separe los gradientes que se formaron después de la centrifugación con una pipeta Pasteur y se colocan en tubos graduados para medir el volumen.
4. Tomar una alícuota de cada uno de los gradientes y se tiñen con los colorantes respectivos para cada organelo.
5. Observar al microscopio buscando en seco fuerte la estructura y después observando con el objetivo de inmersión, mantener los tubos a 4°C.

OBSERVACIONES CON DIBUJOS:

RESULTADOS:

Realizar una descripción de los organelos observados posterior a los diferentes fraccionamientos celulares. Estos resultados deben de acompañarse de imágenes/dibujos. Es necesario incluir las dificultades observadas al realizar la preparación y observación de cada una de las condiciones.

DISCUSIÓN:

En relación con los resultados obtenidos, explicar la importancia del proceso de ultracentrifugación y el uso de los gradientes de concentración en la observación de organelos, así como el empleo de las diferentes tinciones para poder realizar su observación.

EVALUACIÓN:

El profesor evaluará a los estudiantes de acuerdo con la disposición para realizar la práctica solicitada. La evaluación se completará con un examen exploratorio del tema y el reporte completo de la práctica.

CONCLUSIONES:

¿Se logró el/los objetivo(s) de la práctica? ¿Si No? ¿Porqué?

BITÁCORA COL:

¿Qué aprendí? ¿Qué sentí?

CUESTIONARIO:

- 1) Para la separación de organelos celulares, ¿Qué otras técnicas existen?
- 2) ¿Cuáles son los principios de la centrifugación diferencial o ultracentrifugación?
- 3) ¿Cuáles son las ventajas y las desventajas de trabajar con células enteras o fraccionadas?

FECHA DE REALIZACIÓN:

BIBLIOGRAFÍA:

- Burke, J. **Biología celular**. Interamericana, México, 2012.
- Harvey L. **Biología Celular y Molecular**. 7ª edición. Buenos Aires. Editorial Panamericana. 2016.
- Karp, G. **Biología celular**. Mc Graw Hill. México. 2ª. Edición. 2014.
- Alberts, B. et al. **Introducción a la biología celular**. Editorial Médica Panamericana. 3a edición. México. 2011.
- Karp G. et al. **Biología celular y molecular; conceptos y experimentos**. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 7a Edición. México, 2014.
- NOM-087-ECOL-SSA1-2002**. Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico infecciosos- clasificación y especificaciones de manejo.
- Reglamento Interno de la Facultad de QFB**. Universidad Veracruzana, Xalapa Ver. Disponible en: <https://www.uv.mx/legislacion/files/2018/12/Reglamento-QFB-Xalapa.pdf>.

UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR
PRÁCTICA No. 19
MITOSIS EN CÉLULAS VEGETALES

DURACIÓN: 1.5 horas.

MATERIAL DIDÁCTICO:

- Pizarrón
- Videoprojector
- Marcadores

MATERIAL:

- Papel o libreta
- Lápiz/lapiceros

OBJETIVO:

Observar en células de origen vegetal las diferentes fases de la división mitótica.

FUNDAMENTO:

Se llama ciclo celular al periodo de crecimiento y división de una célula. La mitosis es un proceso mediante el cual las células se multiplican. Cada célula madre dará por resultado dos células hijas que tendrán el mismo número de cromosomas que la original (figura 1).

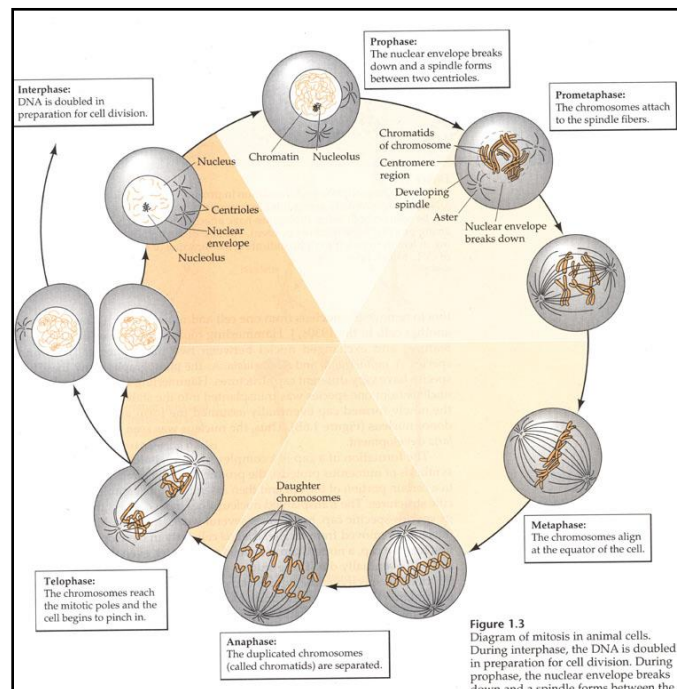


Figura 1. División celular.

En un sentido estricto, el término mitosis se refiere a la división del núcleo en dos núcleos hijos (cariocinesis), y se aplica el término citocinesis a la división del citoplasma para formar dos células hijas que contiene un núcleo cada una. Toda célula proviene de otra ya preexistente; así, la división celular es un proceso mediante el cual las células se autorreproducen con la finalidad de perpetuarse. En los organismos pluricelulares existen dos tipos de células: las somáticas, que conforman prácticamente todo el organismo, y las germinales, localizadas en las gónadas (testículos y ovarios).

GENERALIDADES:

Reproducción asexual.

Los organismos unicelulares se reproducen mediante mitosis, la cual es un tipo de reproducción asexual que se caracteriza porque se produce una descendencia sin la intervención de gametos. Las diferentes formas de este tipo de reproducción celular son: fisión binaria, gemación y esporulación. La fisión binaria es el proceso más generalizado de reproducción entre los seres unicelulares. El organismo se divide en dos partes aproximadamente iguales, cada una de las cuales crece hasta alcanzar el tamaño adecuado según la especie, y el proceso reproductor se repite. Este tipo de reproducción es común en los protozoarios, como las amibas. La gemación difiere de la fisión binaria en que las dos partes resultantes de la división no son de igual tamaño y, en consecuencia, se forma una gema o yema en la célula progenitora. El material genético de la célula madre se duplica para originar una réplica; después, una porción de cromosomas, idéntica a la que queda en la célula madre, emigra hacia la yema. Esta última puede independizarse, aumentar su tamaño y repetir el ciclo de nuevo. La esporulación es un proceso mediante el cual la célula se divide en repetidas ocasiones en el interior de la membrana; después, ésta se rompe y libera a las células hijas en forma de esporas. Cada espora posee una pared protectora muy resistente a condiciones desfavorables y tiene muy poco peso; estas características le permiten diseminarse en múltiples lugares. Los hongos y algunos protozoarios se reproducen por esporulación.

INTERFASE.

Antes de iniciarse el proceso de mitosis, ocurre la duplicación del material genético durante la interfase, que comienza en el momento del “nacimiento” de las células, cuando las dos células hijas se han separado. La interfase tiene tres etapas: G1, S y G2 (figura 2).

-ETAPA G1: Durante esta etapa se realiza el crecimiento de las células y, casi para finalizar aumenta la actividad de las enzimas necesarias para la síntesis de ADN.

-ETAPA S: Se reconoce porque incluye la duplicación de ADN.

-ETAPA G2: La célula realiza un incremento en la síntesis de proteínas y se prepara la división celular o mitosis, representada por la fase M del ciclo.

FASES DE LA MITOSIS.

-PROFASE: A través del microscopio es posible notar que los cromosomas se distinguen en el núcleo, la membrana nuclear desaparece y los cromosomas se dispersan al azar en el citoplasma. Después se inicia la formación del huso acromático, integrado por fibras de proteína que salen de extremos opuestos de la célula y que la cruzan en su totalidad.

-METAFASE: Durante la metafase se observa que los cromosomas se ubican en el centro de la célula y forman la placa ecuatorial. En este momento, los cromosomas se encuentran unidos por los centrómeros a las fibras del huso acromático.

-**ANAFASE:** Al principio de la anafase, los centrómeros se dividen y las dos partes iguales de cada cromosoma se separan, después, se dirigen hacia la mitad de la célula. Los cromosomas viajan hacia los polos opuestos siguiendo las fibras del huso acromático. Esta fase puede ser reconocida por los dos grupos de cromosomas en forma de “V” en ambos polos de la célula.

-**TELOFASE:** La división celular se completa durante la telofase. En esta fase empieza a formar una línea muy fina a través del centro de la célula. Cuando esta línea se manifiesta, la célula original empieza a dividirse en dos células hijas, la membrana nuclear se restablece y el nucleolo se condensa dentro del núcleo. Aquí finaliza la mitosis o cariocinesis (figura 2).

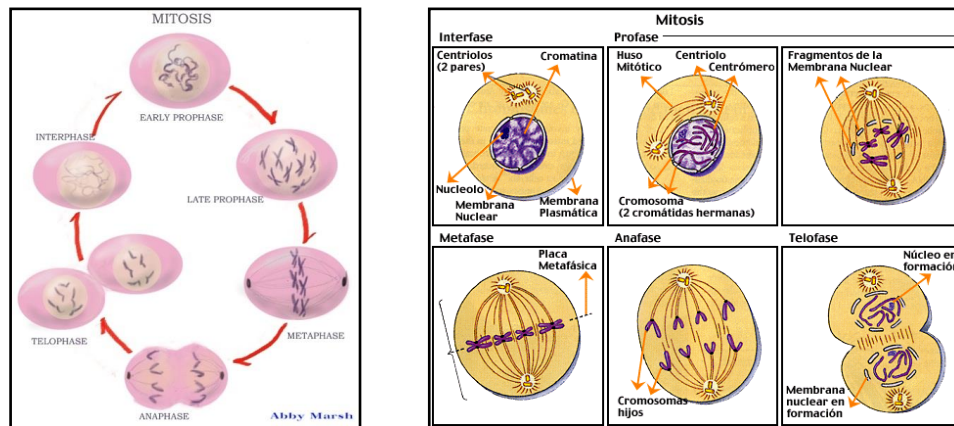


Figura 2. Derecha. Fases de la mitosis. Izquierda. División mitótica.

Por último, la célula se divide completamente en dos células hijas, las cuales crecerán y se prepararán para la reproducción.

MATERIAL:

- Portaobjetos.
- Cubreobjetos.
- Navaja de afeitar.
- Papel seda.
- Papel absorbente.
- Parafina o barniz para uñas.
- Pincel.
- Lápiz con goma de borrar.
- Microscopio de campo claro.

MATERIAL BIOLÓGICO:

- Chicharos germinados/bulbo de cebolla

REACTIVOS:

- Ácido clorhídrico 0.1 M.
- Ácido acético al 45%.
- Acetorceína al 2%.
- Aceite de inmersión.

TÉCNICA:

1. Poner a germinar semillas de chícharos con cinco días de anticipación a la práctica, siguiendo las indicaciones del profesor. Los germinados deben tener una radícula de 1.5 a 2 cm de longitud.
2. Para el bulbo de cebolla, quitar las raíces secas de la base, insertar tres palillos, de tal manera que la cebolla pueda suspenderse en un recipiente con agua y dejar de 3 a 4 días para que las raíces inicien de nuevo su crecimiento.
3. El día de la práctica, cortar transversalmente una porción lo más delgada posible, de la parte apical de la radícula (raíz). Realizar 6 a 8 cortes en una raíz si la longitud es la indicada, si mide de 2 a 3 cm la raíz, realizar 2 cortes por cada raíz (se recomiendan 6 a 8 cortes por preparación, es decir, en este caso tres o cuatro raíces).
4. Colocar la porción cortada en un portaobjetos, cubrirla con el ácido clorhídrico 0.1M, dejándole actuar de 8 a 10 minutos.
5. Quitar el ácido utilizando el papel absorbente.
6. Agregar al corte 2 o 3 gotas de solución de acetorceína. Dejar así de 18 a 20 minutos. Indispensable cronometrar los tiempos indicados anteriormente.
7. Lavar el excedente de acetorceína con ácido acético al 45%. Enjuagar con agua destilada.
8. Con una gota de agua, poner el cubreobjetos sobre el corte. Presionar firmemente con la goma del lápiz, sobre el cubreobjetos, moviéndolo suavemente para extender el tejido.
9. Sellar los bordes del cubreobjetos con el barniz o con parafina caliente, usando un pincel.
10. Buscar al microscopio, a seco fuerte, una zona de células meristemáticas, observando después con el objetivo de inmersión.
11. Realizar los dibujos correspondientes de las diferentes fases de la mitosis en la(s) muestra(s) observada(s)

OBSERVACIONES CON DIBUJOS:

RESULTADOS:

Realizar una descripción de las etapas de la mitosis observada en la preparación. Estos resultados deben de acompañarse de imágenes/dibujos. Es necesario incluir las dificultades observadas al realizar la preparación y observación de cada una de las condiciones.

DISCUSIÓN:

En relación con los resultados obtenidos, explicar en relación con las etapas de la mitosis observada, los procesos asociados a cada una de ellas.

EVALUACIÓN:

El profesor evaluará a los estudiantes de acuerdo con la disposición para realizar la práctica solicitada. La evaluación se completará con un examen exploratorio del tema y el reporte completo de la práctica.

CONCLUSIONES:

¿Se logró el/los objetivo(s) de la práctica? ¿Si No? ¿Porqué?

BITÁCORA COL:

¿Qué aprendí? ¿Qué sentí?

CUESTIONARIO:

- 1) ¿Cuántos tipos de reproducción existen? Descríbalos con sus características en un cuadro sinóptico.
- 2) ¿En qué fase del ciclo celular ocurre la replicación del ADN?
- 3) ¿En qué momento principia la citocinesis?

FECHA DE REALIZACIÓN:

BIBLIOGRAFÍA:

- Burke, J. **Biología celular**. Interamericana, México, 2012.
- Harvey L. **Biología Celular y Molecular**. 7ª edición. Buenos Aires. Editorial Panamericana. 2016.
- Karp, G. **Biología celular**. Mc Graw Hill. México. 2ª. Edición. 2014.
- Alberts, B. et al. **Introducción a la biología celular**. Editorial Médica Panamericana. 3a edición. México. 2011.
- Karp G. et al. **Biología celular y molecular; conceptos y experimentos**. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 7a Edición. México, 2014.
- NOM-087-ECOL-SSA1-2002**. Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico infecciosos- clasificación y especificaciones de manejo.
- Reglamento Interno de la Facultad de QFB**. Universidad Veracruzana, Xalapa Ver. Disponible en: <https://www.uv.mx/legislacion/files/2018/12/Reglamento-QFB-Xalapa.pdf>.

UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR
PRÁCTICA No. 20
MEIOSIS EN CÉLULAS VEGETALES

DURACIÓN: 1.5 horas.

MATERIAL DIDÁCTICO:

- Pizarrón
- Videoprojector
- Marcadores

MATERIAL:

- Papel o libreta
- Lápiz/lapiceros

OBJETIVO:

Observar en células de origen vegetal las diferentes fases de la división meiótica.

FUNDAMENTO:

La meiosis consiste en dos divisiones nucleares y citoplasmáticas, designadas primera y segunda divisiones meióticas, o simplemente meiosis I y meiosis II. Cada una comprende profase, metafase, anafase y telofase (ver figura 1).

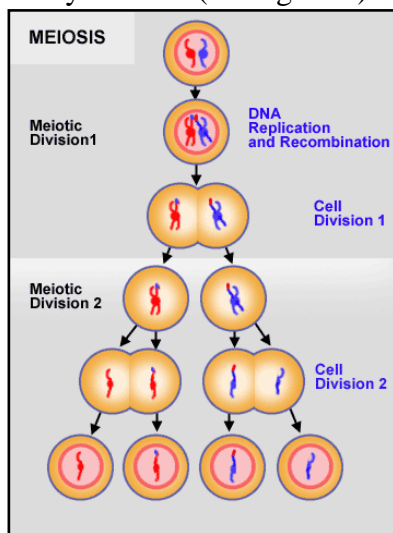


Figura 1. Meiosis.

Durante la meiosis I, los miembros de cada par homólogo de cromosomas se unen primero y luego se separan y se distribuyen en núcleos distintos.

En la meiosis II, las cromátides hermanas que constituyen cada cromosoma se separan y se distribuyen en los núcleos de las células hijas.

GENERALIDADES:

La mitosis produce la formación de células que tiene exactamente el mismo número de cromosomas que la célula madre. Ello implicaría dificultades si estas células formadas por mitosis tuvieran que servir de gametos. Si se uniera un espermatozoo humano provisto de 46 cromosomas con un óvulo que tuviera 46 cromosomas, se produciría un cigoto con 92 cromosomas; es decir, el doble del número normal de cromosomas de la especie humana. El desarrollo del cigoto mediante mitosis implicaría que todas las células subsiguientes tendrían el nuevo número de cromosomas. Se comprenderá inmediatamente que después de unas pocas generaciones en la cuales se repite el proceso, no habría espacio disponible en la célula para nada más que cromosomas.

En realidad, esta situación raras veces ocurre en los seres vivientes. En determinado momento entre la formación del cigoto y la de los gametos debe ocurrir un tipo especial de división celular. Este tipo especial de división celular se denomina meiosis. La meiosis consiste en dos divisiones celulares consecutivas, pero que comprenden una sola duplicación de los cromosomas. Por consiguiente, cuando una célula se divide por meiosis se producen cuatro células. Cada una contiene precisamente la mitad del número diploide normal $2n$ de cromosomas. Este medio número se denomina haploide o n . La reducción del número de cromosomas no es un proceso al azar. En las células que se han reproducido por meiosis está presente únicamente un solo miembro de cada uno de los pares de cromosomas homólogos de la célula diploide. De tal manera que cuando los dos gametos se unen, el cigoto resultante ($2n$) obtiene un miembro de cada par de cromosomas homólogos procedente de cada gameto y por ende de cada progenitor. Cada una de las dos divisiones meióticas puede subdividirse en fases similares a las que ocurre en la mitosis. Sin embargo, en la primera de dichas divisiones se observan diferencias significativas en el comportamiento de los cromosomas.

PROFASE I. la profase de la primera división meiótica es un proceso mucho más lento y complejo que en la mitosis. Los citólogos subdividen la primera profase meiótica en cinco estadios. Cuando los cromosomas se hacen visibles por primera vez (leptoteno de la profase I), cada homólogo aparece como una estructura individual. Pero en gran parte, sino todo, el ADN de la célula se ha duplicado durante la fase S que precede de la profase I, de tal manera que podemos concluir que los cromosomas en realidad ya se han duplicado.

A medida que continúa la profase (cigoteno y paquiteno), cada cromosoma presente en la célula se aparea longitudinalmente con su homólogo. Este proceso de apareamiento (llamado sinapsis) es un rasgo excluido de la meiosis; no ocurre en la mitosis. Los homólogos apareados reciben el nombre de bivalentes. Luego (estadio diploteno), los dos homólogos comienzan a separarse. En este momento la estructura doble de cada cromosoma en el sentido de que cada uno consta de un par de cromátidas hermanas es ya visible.

De modo que cada bivalente contiene cuatro cromátidas. Sin embargo, las cuatro cromátidas permanecen conectadas entre sí por dos mecanismos: (1) las cromátidas hermanas de cada homólogo permanecen adheridas al centrómero compartido y (2) en uno o más puntos, dos cromátidas no hermanas están fusionadas. Estos puntos de fusionamiento se denominan quiasmas. En cada quiasma las cromátidas no hermanas ya han intercambiado segmentos. Este proceso de intercambio recibe el nombre de entrecruzamiento. El proceso es recíproco, en cuanto a las partes intercambiadas por cada cromátida intercambiada son idénticas. Cada cromátida puede presentar dos, tres o más quiasmas, de modo que, si se cifran las cromátidas hermanas de un homólogo con los

números 1 y 2, y del otro homólogo con los números 3 y 4, en un mismo bivalente se pueden dar una o más de las siguientes combinaciones: 1-3, 2-3, 1-4 y 2-4.

Cualquiera de estas combinaciones puede aparecer más de una vez. Los sucesos que deben excluirse son los siguientes: 1. Quiasmas entre cromátidas hermanas (los cuales no tendrán sentido por cuanto a su composición genética es idéntica) y; 2. Participación de más de dos cromátidas no hermanas en cualquier punto a lo largo de la longitud del cromosoma (es decir, tres o cuatro cromátidas no pueden intercambiar segmentos en el mismo punto).

-METAFASE I. La metafase I de la meiosis se parece a la metafase de la mitosis en cuanto a la desaparición de la membrana nuclear y la aparición del huso polar. Sin embargo, difiere en un aspecto importante de la metafase de la mitosis. En la metafase I los centrómeros de cada par de cromosomas homólogos se adhieren al huso: uno por encima y otro por debajo del ecuador celular.

-ANAFASE I Y TELOFASE I. Con la iniciación de la anafase I, los dos centrómeros de cada bivalente migran hacia sus polos respectivos. Esto separa a los bivalentes en semivivamente. Nótese que no se presenta rajadura o división de los centrómeros, tal como ocurre en la anafase mitótica. Lo que ocurre es la separación de los cromosomas homólogos. De tal manera, que la telofase produce dos células, cada una de las cuales posee un solo miembro de cada pareja de cromosomas homólogos presente en la célula original (aunque los homólogos originales han intercambiado recíprocamente uno o más segmentos de cromátida).

-INTERCINESIS. En algunos organismos no se interpone ni una telofase ni una interfase entre la meiosis I y la meiosis II. La célula va directamente a la anafase I y a la profase II. Sin embargo, en aquellos organismos donde ocurre una interfase entre las dos divisiones, no se presenta tampoco una fase S. por consiguiente, no hay síntesis adicional de ADN.

-SEGUNDA DIVISIÓN. La segunda división meiótica es similar a la división mitótica. Los cromosomas están todavía presentes como dobletes. Los centrómeros se adhieren al huso polar y se colocan en la placa ecuatorial durante la metafase II. En la anafase II la división de los centrómeros separa las cromátidas y cada una es llevada a su polo respectivo.

Al terminar la segunda división meiótica se han producido cuatro células. Cada una contiene un miembro para cada pareja homóloga de cromosomas presente en la célula original. Por consiguiente, estas células contienen precisamente la mitad de los cromosomas de la célula progenitora (número haploide).

MATERIAL:

- Microscopio.
- Portaobjetos.
- Cubreobjetos.
- Navaja de disección con bisturí
- Pinzas.
- Tijeras.
- Lanceta.
- Pipeta Pasteur.
- Vidrio de reloj.

MATERIAL BIOLÓGICO:

- Yemas florales

REACTIVOS:

- Parafina o barniz para uñas.
- Ácido clorhídrico 0.1 M.
- Ácido acético al 45%.
- Acetorceína al 2%.
- Aceite de inmersión.

TÉCNICA:

1. En un vidrio de reloj se fijan durante 15 minutos, las yemas florales de diferentes tamaños en ácido clorhídrico 0.1 M.
2. Luego, con ayuda del microscopio, separa las antenas de los estambres y colócalas en un portaobjetos. Agrega de 2 a 3 gotas de acetorceína, macéralas con ayuda de una navaja de disección, déjalas 15 min. Para evitar que el colorante se seque, agrega unas gotas periódicamente.
3. Transcurrido el lapso, lavar el excedente de acetorceína con ácido acético al 45% y enjuaga con agua destilada.
4. Coloca rápidamente un cubreobjetos y haz presión con la goma del lápiz para disgregar el tejido.
5. Sella los lados con barniz y observa con el microscopio con el objetivo de 10 X, buscar un campo donde no se encuentren las células amontonadas y después, observa con el objetivo de inmersión (100 X).

OBSERVACIONES CON DIBUJOS:**RESULTADOS:**

Realizar una descripción de las etapas de la meiosis observada en la preparación. Estos resultados deben de acompañarse de imágenes/dibujos. Es necesario incluir las dificultades observadas al realizar la preparación y observación de cada una de las condiciones.

DISCUSIÓN:

En relación con los resultados obtenidos, explicar en relación con las etapas de la meiosis observada, los procesos asociados a cada una de ellas.

EVALUACIÓN:

El profesor evaluará a los estudiantes de acuerdo con la disposición para realizar la práctica solicitada. La evaluación se completará con un examen exploratorio del tema y el reporte completo de la práctica.

CONCLUSIONES:

¿Se logró el/los objetivo(s) de la práctica? ¿Si No? ¿Porqué?

BITÁCORA COL:

¿Qué aprendí? ¿Qué sentí?

CUESTIONARIO:

- 1) ¿En que difieren la mitosis con la meiosis?
- 2) ¿Hay puntos de similitud entre ambas? Explique.

FECHA DE REALIZACIÓN:**BIBLIOGRAFÍA:**

- Burke, J. **Biología celular**. Interamericana, México, 2012.
- Harvey L. **Biología Celular y Molecular**. 7ª edición. Buenos Aires. Editorial Panamericana. 2016.
- Karp, G. **Biología celular**. Mc Graw Hill. México. 2ª. Edición. 2014.
- Alberts, B. et al. **Introducción a la biología celular**. Editorial Médica Panamericana. 3a edición. México. 2011.
- Karp G. et al. **Biología celular y molecular; conceptos y experimentos**. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 7a Edición. México, 2014.
- NOM-087-ECOL-SSA1-2002**. Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico infecciosos- clasificación y especificaciones de manejo.
- Reglamento Interno de la Facultad de QFB**. Universidad Veracruzana, Xalapa Ver. Disponible en: <https://www.uv.mx/legislacion/files/2018/12/Reglamento-QFB-Xalapa.pdf>.

UNIVERSIDAD VERACRUZANA
FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA
LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR
PRÁCTICA No. 21
EXTRACCIÓN DE ADN

DURACIÓN: 1.5 horas.

MATERIAL DIDÁCTICO:

- Pizarrón
- Videoprojector
- Marcadores

MATERIAL:

- Papel o libreta
- Lápiz/lapiceros

OBJETIVO:

Observar la hélice del ADN, realizando una extracción sencilla a partir de sangre total.

FUNDAMENTO:

Los ácidos nucleicos reciben este nombre porque fueron los primeros que se descubrieron en el núcleo de las células; se trata de moléculas orgánicas gigantes que contienen carbono, nitrógeno, hidrógeno, oxígeno y fósforo. Los ácidos nucleicos son de dos tipos: el primero, el ácido desoxirribonucleico (ADN), constituye el material genético dentro de la célula. Cada gen es un segmento de una molécula de ADN. Nuestros genes determinan los rasgos que heredaremos y, que, mediante el control de las síntesis de proteínas, regulan las actividades que tienen lugar en nuestras células a lo largo de la vida y, el segundo el ácido ribonucleico (ARN).

GENERALIDADES:

La molécula de ADN es lineal sin ramificaciones, forma hebras largas, está formada por dos cadenas de polinucleótidos enrolladas alrededor del mismo eje, comúnmente conocida como doble hélice con giro a la derecha, cada una de ellas está formada por los fosfatos al exterior en contacto con el medio acuoso, éstos se unen en el C5 y C3 de un azúcar de cinco átomos de carbono llamado desoxirribosa se une a cada base en el ADN.

Las bases púricas y pirimídicas se enlazan en el extremo opuesto del azúcar; las cuatro bases son: Adenina (A), Guanina (G), Timina (T) y Citosina (C). La adenina y la guanina son bases grandes de anillos dobles llamadas purinas; la timina y la citosina son bases más pequeñas de un solo anillo denominadas pirimidinas; se sitúan en la parte interna de la molécula, quedando perpendicularmente al eje, se enlaza una base púrica con una pirimídica por medio de puentes de hidrógeno, lo que le da mayor resistencia a la desnaturalización. Las cadenas de ADN son antiparalelas, es decir siguen direcciones opuestas, una va en sentido 5' a 3' y la opuesta en dirección 3' a 5' (figura 1).

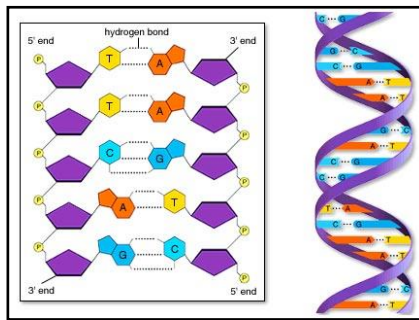


Figura 1. Unión de las bases púricas y pirimidínicas del ADN.

Al enrollarse las cadenas, se forman dos surcos o hendiduras paralelos a los giros de la hélice, uno mayor que el otro (figura 2). En estos sitios las proteínas interactúan con los átomos de los nucleótidos y controlan la expresión de genes específicos. La estructura mencionada se denomina configuración B, si las condiciones fisiológicas se alteran, poca sal o hidratación elevada, la doble hélice cambia de forma y adquiere conformación A, C, D, E y Z. La configuración B es la más estable y contiene por cada vuelta 10 pares de bases, se observa *in vivo*. La configuración A es la más torcida, tiene 11 pares de bases por cada vuelta, las bases están inclinadas 20 grados de la perpendicular al eje de la hélice, fue la primera obtenida *in vitro*. La configuración C es estrechamente espiralizada, compacta, tiene $9 \frac{1}{3}$ pares de bases, la posición de los nucleótidos es diferente. La configuración Z tiene un giro a la izquierda, el eje está en zigzag, es poco estable ya que diferentes partes de la molécula quedan expuestas.

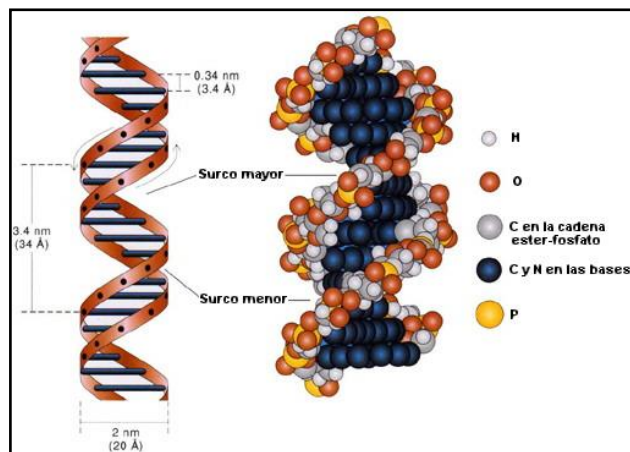


Figura 2. Configuración del ADN.

MATERIAL:

- Microscopio
- Cubreobjetos
- Portaobjetos
- Pipetas
- Probeta.
- Varilla de vidrio.
- Mortero

- Vasos de precipitado
- Arena
- Trozos de tela para filtrar o gasa.

MATERIAL BIOLÓGICO:

- Hígado de pollo.

REACTIVOS:

- Alcohol de 96°
- Cloruro sódico 2M
- Dodecilsulfato de sodio. (SDS)

TÉCNICA:

1. Triturar un fragmento pequeño de hígado de pollo en un mortero. Añadir arena para que al triturar se puedan romper las membranas y se liberen los núcleos sueltos.
2. Añadir al triturado, 50 mL de agua destilada. Remover hasta hacer una especie de papilla o puré.
3. Filtrar varias veces sobre una tela para separar los restos de tejidos que hayan quedado por romper.
4. Medir el volumen del filtrado con una probeta.
5. Añadir al filtrado un volumen igual de cloruro sódico 2M. Con esto conseguimos producir el estallido de los núcleos para que queden libres las fibras de cromatina.
6. A continuación, se añade 1 g de SDS. Así nos quedará el ADN libre de las proteínas que tiene asociadas.
7. Añadir mediante una pipeta 50 mL de alcohol de 96°. Hay que hacerlo de forma que el alcohol resbale por las paredes del vaso y se formen dos capas. En la interfase, precipita el ADN (figura 3).
8. Introducir una varilla de vidrio e ir removiendo en la misma dirección. Sobre la varilla se van adhiriendo unas fibras blancas, visibles a simple vista, que son el resultado de la agrupación de muchas fibras de ADN.

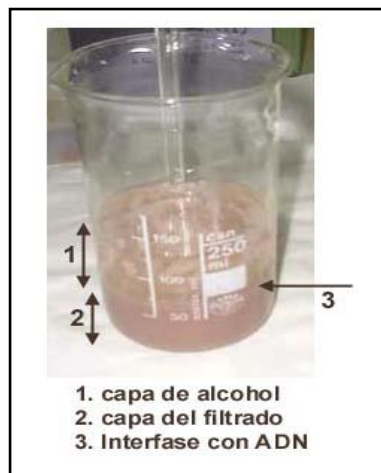


Figura 3. Interfase con ADN.

OBSERVACIONES CON DIBUJOS:

RESULTADOS:

Realizar una descripción de las hebras de ADN observadas al microscopio. Estos resultados deben de acompañarse de imágenes/dibujos. Es necesario incluir las dificultades observadas al realizar la preparación y observación de cada una de las condiciones.

DISCUSIÓN:

En relación con los resultados obtenidos, explica la importancia del ADN como el componente fundamental de la herencia, así como de los reactivos empleados para su extracción.

EVALUACIÓN:

El profesor evaluará a los estudiantes de acuerdo con la disposición para realizar la práctica solicitada. La evaluación se completará con un examen exploratorio del tema y el reporte completo de la práctica.

CONCLUSIONES:

¿Se logró el/los objetivo(s) de la práctica? ¿Si No? ¿Porqué?

BITÁCORA COL:

¿Qué aprendí? ¿Qué sentí?

CUESTIONARIO:

- 1) ¿Cómo se compone un nucleótido? Dibuja su estructura.
- 2) ¿En que difieren el ADN y el ARN?
- 3) Elabora una tabla comparativa entre ADN y ARN.

FECHA DE REALIZACIÓN:

BIBLIOGRAFÍA:

- Burke, J. **Biología celular**. Interamericana, México, 2012.
- Harvey L. **Biología Celular y Molecular**. 7ª edición. Buenos Aires. Editorial Panamericana. 2016.
- Karp, G. **Biología celular**. Mc Graw Hill. México. 2ª. Edición. 2014.
- Alberts, B. et al. **Introducción a la biología celular**. Editorial Médica Panamericana. 3a edición. México. 2011.
- Karp G. et al. **Biología celular y molecular; conceptos y experimentos**. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 7a Edición. México, 2014.
- NOM-087-ECOL-SSA1-2002**. Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico infecciosos- clasificación y especificaciones de manejo.
- Reglamento Interno de la Facultad de QFB**. Universidad Veracruzana, Xalapa Ver. Disponible en: <https://www.uv.mx/legislacion/files/2018/12/Reglamento-QFB-Xalapa.pdf>.

ANEXO A FORMATO DE POSTER

<h2>TITULO</h2> <p>Debe reflejar con exactitud el tema del estudio o trabajo, claro y conciso, se recomienda no usar abreviaciones, siglas o acrónimos. Se recomienda usar letra ARIAL en NEGRITA y al menos de 36 puntos. No mas de 15 palabras.</p> <h3>AUTORES, FILIACION Y ENCABEZAMIENTOS</h3> <p>De menor tamaño que el titulo se recomienda tamaño 30 y en NEGRITA. Mismos autores que en el texto, se puede incluir el Departamento.</p>		
<h3>ABSTRACT</h3> <p>En los textos se aconseja usar un tamaño de 20 puntos y NUNCA en Negrita</p>	<h3>RESULTADOS</h3> <p>Resumen de los resultados obtenidos. Selección de los datos mas relevantes y mas relacionados con el objetivo del estudio. Evitar textos largos y con muchos datos. Se pueden incluir, tablas, figuras, grafica, guardando armonía con el texto. Usar colores no muy vivos.</p> <p><i>Fig1. Titulo breve explicando la grafica. Aparece en la parte superior si son graficas</i></p>  <p><i>Fig1. Titulo breve explicando la grafica. Aparece en la parte superior si son graficas</i></p> 	 <p><i>Fig2. Si es una fotografia, figura el texto en la parte inferior</i></p>
<h3>INTRODUCCION</h3> <p>Sirve para familiarizar al lector, debe ser corta, los aspectos que contiene;</p> <ul style="list-style-type: none">- Antecedentes y revisión del tema- Importancia teórica- Hipótesis- Objetivos del trabajo- Definiciones <p>En los textos se aconseja usar un tamaño de 15-20 puntos y NUNCA en Negrita</p>	<h3>CONCLUSIONES</h3> <p>No deben ser meros recordatorios, se debe ser objetivo. Se puede incluir una discusión</p>	<h3>BIBLIOGRAFIA</h3> <p>No es obligatorio, pero si conveniente. Se deben seleccionar las mas importantes</p>
<h3>METODOLOGIA</h3> <p>Descripción de materiales y métodos, recoge el diseño del estudio, como se llevo a cabo, numero de fases, variables.</p>	<h3>AGRADECIMIENTOS</h3> <p>No es obligatorio, pero si conveniente. Se deben seleccionar las mas importantes</p>	

ANEXO B

LINEAMIENTOS GENERALES PARA EL TRABAJO EN EL LABORATORIO

- I. Utilizar bata blanca abotonada de manga larga;
- II. Utilizar el material de seguridad personal necesario como mascarilla, lentes de seguridad, guantes, cubre bocas, gorra, entre otros;
- III. En caso de que se realicen pruebas o experimentos de larga duración y cuando sea necesario dejar encendido el equipo e instrumentos como estufas u hornos durante largos periodos de tiempo, el usuario deberá comunicarlo al Técnico Académico o personal académico de tiempo completo con carga académica diversificada y asignada al laboratorio y colocar las etiquetas correspondientes a los equipos en uso;
- IV. Hacerse responsable del buen uso y manejo de los instrumentos y equipos del laboratorio y disponiendo para tal fin de los manuales correspondientes;
- V. Notificar al personal del laboratorio cualquier desperfecto observado en los equipos e instrumentos que se le otorgaron;
- VI. Devolver el equipo e instrumentos con todos los accesorios que recibió al solicitarlos;
- VII. Al término de la práctica, deben dejar limpias y libres de desechos las mesas de trabajo;
- VIII. Queda estrictamente prohibido arrojar desechos sólidos a coladeras de las mesas de trabajo y áreas destinadas al lavado de material dentro del laboratorio;
- IX. Se prohíbe fumar y jugar en los laboratorios;
- X. Las actividades como correr e ingerir alimentos o bebidas serán permitidas única y exclusivamente si lo justifica la práctica a realizar;
- XI. Para el préstamo de equipo, instrumentos o material, el usuario deberá llenar el vale correspondiente y dejar al responsable del laboratorio, su credencial vigente que lo acredita como miembro de la Facultad o una identificación oficial vigente con fotografía; para el caso de personas ajenas a la Facultad, además de los requisitos anteriores deberá tener el visto bueno del director de la Facultad;
- XII. Reparar o reponer los materiales y equipos de laboratorio concedidos en préstamo que hayan sido dañados o extraviados, de acuerdo con las características que indique el técnico académico o personal de tiempo completo con carga académica diversificada y asignada al laboratorio, quedando retenida la credencial del usuario involucrado hasta que se cubra el adeudo, observando lo siguiente: a) El adeudo deberá cubrirse a más tardar en la última semana del periodo de clases. En tanto no se cubra este adeudo no se podrá disponer de otros préstamos; y b) En caso de incumplimiento de la reposición del bien dañado, el adeudo correspondiente se turnará al encargado del almacén general de la Unidad de Ingeniería y Ciencias Químicas, quien informará al director de la Facultad para la aplicación de la sanción que corresponda en términos de la legislación universitaria.

ANEXO C

CLASIFICACIÓN DE RESIDUOS PELIGROSOS

A) QUÍMICOS

Para poder saber si los residuos que se generan en cualquier actividad son o no peligrosos, existe un procedimiento, el cual se detalla a continuación:

1.- Un residuo es peligroso, si está listado en el Artículo 31 de la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos (LGPGIR), la cual define a los siguientes residuos peligrosos:

- a) Aceites lubricantes usados
- b) Disolventes orgánicos usados
- c) Convertidores catalíticos
- d) Sustancias o mezcla de sustancias con metales pesados como plomo
- e) Baterías a base de mercurio o de níquel-cadmio
- f) Lámparas fluorescentes y de vapor de mercurio
- g) Aditamentos que contengan mercurio, cadmio o plomo
- h) Fármacos
- i) Plaguicidas y sus envases, que contengan remanentes de estos.
- j) Compuestos orgánicos persistentes como los bifenilos policlorados
- k) Lodos de perforación base aceite, provenientes de la extracción de combustibles fósiles y lodos provenientes de plantas de tratamiento de aguas residuales cuando sean considerados como peligrosos.

2.- Si el residuo no se clasifica como peligroso en el Artículo 31 de la LGPGIR, se debe consultar en los cinco listados de la Norma Oficial Mexicana NOM-052-SEMARNAT-2005, que establece las características, procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos (residuos químicos peligrosos por fuente específica o no específica, residuos peligrosos resultado del desecho de productos químicos fuera de especificaciones o caducos (Tóxicos Agudos y crónicos) y residuos sujetos a Condiciones Particulares de Manejo o bien se puede determinar su peligrosidad mediante el análisis CRETI que se realiza, a fin de identificar si el residuo presenta cualquiera de las siguientes características; Corrosividad, Reactividad, Explosividad, Toxicidad ambiental, Inflamabilidad. Es importante mencionar que la identificación de las características de explosividad es mediante revisión bibliográfica.

3.- Para la elaboración de listados dentro de la facultad, además deberán enlistarse de la siguiente forma:

- Sustancias ácidas
- Sustancias básicas
- Sustancias inorgánicas sólidas
- Sustancias inorgánicas líquidas
- Sustancias orgánicas sólidas
- Sustancias orgánicas líquidas
- Solventes
- Plaguicidas
- Metales Pesados

B) BIOLÓGICO INFECCIOSOS

Para efectos de la NOM 087 se consideran residuos peligrosos biológico-infecciosos los siguientes:

- La sangre
- La sangre y los componentes de ésta, sólo en su forma líquida, así como los derivados no comerciales, incluyendo las células progenitoras, hematopoyéticas y las fracciones celulares o acelulares de la sangre resultante (hemoderivados).
- Los cultivos y cepas de agentes biológico-infecciosos
- Los cultivos generados en los procedimientos de diagnóstico e investigación, así como los generados en la producción y control de agentes biológico-infecciosos.
- Utensilios desechables usados para contener, transferir, inocular y mezclar cultivos de agentes biológico-infecciosos.
- Los patológicos
- Los tejidos, órganos y partes que se extirpan o remueven durante las necropsias, la cirugía o algún otro tipo de intervención quirúrgica, que no se encuentren en formol.
- Las muestras biológicas para análisis químico, microbiológico, citológico e histológico, excluyendo orina y excremento.
- Los cadáveres y partes de animales que fueron inoculados con agentes enteropatógenos en centros de investigación y bioterios.
- Los residuos no anatómicos

Son residuos no anatómicos los siguientes:

- Los recipientes desechables que contengan sangre líquida.
- Los materiales de curación, empapados, saturados, o goteando sangre o cualquiera de los siguientes fluidos corporales: líquido sinovial, líquido pericárdico, líquido pleural, líquido Céfal-Raquídeo o líquido peritoneal.
- Los materiales desechables que contengan esputo, secreciones pulmonares y cualquier material usado para contener éstos, de pacientes con sospecha o diagnóstico de tuberculosis o de otra enfermedad infecciosa según sea determinado por la SSA mediante memorándum interno o el Boletín Epidemiológico.
- Los materiales desechables que estén empapados, saturados o goteando sangre, o secreciones de pacientes con sospecha o diagnóstico de fiebres hemorrágicas, así como otras enfermedades infecciosas emergentes según sea determinado por la SSA mediante memorándum interno o el Boletín Epidemiológico.
- Materiales absorbentes utilizados en las jaulas de animales que hayan sido expuestos a agentes enteropatógenos.
- Los objetos punzocortantes
- Los que han estado en contacto con humanos o animales o sus muestras biológicas durante el diagnóstico y tratamiento, únicamente: tubos capilares, navajas, lancetas, agujas de jeringas desechables, agujas hipodérmicas, de sutura, de acupuntura y para tatuaje, bisturís y estiletos de catéter, excepto todo material de vidrio roto utilizado en el laboratorio, el cual deberá desinfectar o esterilizar antes de ser dispuesto como residuo municipal.

En las áreas de generación se deberán separar y envasar todos los residuos peligrosos biológico-infecciosos, de acuerdo con sus características físicas y biológicas infecciosas, conforme a la tabla. Durante el envasado, los residuos peligrosos biológico-infecciosos no deberán mezclarse con ningún otro tipo de residuos municipales o peligrosos.

1) Las bolsas deberán ser de polietileno de color rojo traslúcido de calibre mínimo 200 y de color amarillo traslúcido de calibre mínimo 300, impermeables y con un contenido de metales pesados de no más de una parte por millón y libres de cloro, además deberán estar marcadas con el símbolo universal de riesgo biológico y la leyenda Residuos Peligrosos Biológico-Infecciosos.

2) Las bolsas se llenarán al 80 por ciento (80%) de su capacidad, cerrándose antes de ser transportadas al sitio de almacenamiento temporal y no podrán ser abiertas o vaciadas.

3) Los recipientes de los residuos peligrosos punzocortantes deberán ser rígidos, de polipropileno color rojo, con un contenido de metales pesados de no más de una parte por millón y libres de cloro, que permitan verificar el volumen ocupado en el mismo, resistentes a fracturas y pérdidas de contenido al caerse, destructibles por métodos físicos, tener separador de agujas y abertura para depósito, con tapa(s) de ensamble seguro y cierre permanente, deberán contar con la leyenda que indique "RESIDUOS PELIGROSOS PUNZOCORTANTES BIOLÓGICO-INFECCIOSOS" y marcados con el símbolo universal de riesgo biológico.

4) Los recipientes de los residuos peligrosos líquidos deben ser rígidos, con tapa hermética de polipropileno color rojo o amarillo, con un contenido de metales pesados de no más de una parte por millón y libres de cloro, resistente a fracturas y pérdidas de contenido al caerse, destructible por métodos físicos, deberá contar con la leyenda que indique "RESIDUOS PELIGROSOS LIQUIDOS BIOLÓGICOINFECCIOSOS" y marcados con el símbolo universal de riesgo biológico.

ALMACENAMIENTO RPBI

- Se deberá destinar un área en la facultad para el almacenamiento temporal de los residuos peligrosos biológico-infecciosos. Los residuos peligrosos biológico-infecciosos envasados deberán almacenarse en contenedores metálicos o de plástico con tapa y ser rotulados con el símbolo universal de riesgo biológico, con la leyenda "RESIDUOS PELIGROSOS BIOLÓGICO-INFECCIOSOS".

- Los residuos patológicos, humanos o de animales (que no estén en formol) deberán conservarse a una temperatura no mayor de 4°C (cuatro grados Celsius), en las áreas de patología, o en almacenes temporales con sistemas de refrigeración o en refrigeradores en áreas que designe el responsable del establecimiento generador dentro del mismo.