



Material  
Didáctico  
para Estudiantes

---

GUÍA DE TRABAJOS PRÁCTICOS:  
**Biología General y Celular**

---

**FQByF**



Universidad Nacional  
de San Luis

Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia

# **SERIE DIDÁCTICA: MATERIAL DIDÁCTICO PARA ESTUDIANTES**

## **Guías de Trabajos Prácticos: BIOLOGÍA GENERAL Y CELULAR**

Nora L. ESCUDERO  
Susana I. SÁNCHEZ  
Alejandra CANGIANO  
Aldo DAGUERRE  
Silvia DÁVILA  
Andrea ISAGUIRRE  
Andrea VIDELA  
Jorgelina DARUICH

**FACULTAD DE QUÍMICA, BIOQUÍMICA Y FARMACIA**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN LUIS**

**2020**

Decana

***Dra. Mercedes Edith CAMPDERRÓS***

Vice Decana

***Dra. Lucía Beatriz FUENTES***

Secretaria académica

***Dra. Estela Isabel GASULL***

Comisión de la Serie Didáctica

Coordinadora

***Dra. María Cristina ALMANDOZ***

Integrantes

Departamento de Bioquímica

y Ciencias Biológicas

***Dra. Susana I. SÁNCHEZ***

***Dra. Verónica P. FILIPPA***

Departamento de Farmacia

***Dr. Luis A. DEL VITTO***

***Dra. Alejandra O. MARIA***

Departamento de Química

***Dra. Yamina A. DÁVILA***

***Dra. María de los Ángeles ÁLVAREZ***

## SUMARIO

La publicación periódica Serie Didáctica ha sido creada en el ámbito de la Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional de San Luis (Ordenanza N° 008/07-CD) con el fin de proporcionar material de estudio a los estudiantes de las Carreras de grado impartidas en la Facultad.

Actualmente, la SERIE DIDÁCTICA: MATERIAL DIDÁCTICO PARA ESTUDIANTES (Resolución N° 269/16) ofrece guías de Trabajos Prácticos de Laboratorio y de campo, guías de resolución de problemas, material teórico, propuestas de estudios dirigidos y comprensión de textos, entre otros materiales, elaborados por el cuerpo docente de las diferentes Áreas de Integración Curricular de la Facultad. Estas producciones didácticas significan un aporte para cubrir necesidades académicas acorde al enfoque de cada asignatura o que no se encuentran habitualmente en bibliografía específica. Las mismas están disponibles en la página de la UNSL (<http://www.fqbf.unsl.edu.ar/mda.html>) lo que facilita la accesibilidad por parte de los estudiantes, docentes y comunidad educativa en general, garantizando la calidad de la visualización y la amplia difusión del material publicado en este sitio. De igual modo, la Serie Didáctica realiza una extensión invitando a docentes y alumnos de diferentes niveles educativos a participar, crear, producir y utilizar este espacio fomentando así el vínculo entre esta Institución y la comunidad.

En nuestra opinión, es de vital importancia producir y compartir el conocimiento con los estudiantes y la sociedad. De este modo, se tiende a facilitar los procesos de enseñanza y de aprendizaje y la transmisión de una idea directriz de conducta humana y científica, fortaleciendo los vínculos entre docentes-alumnos-conocimientos y sociedad.

Dado que la presente SERIE DIDÁCTICA resulta de la participación de numerosos actores, ante los posibles errores humanos y cambios en la ciencia, ni los editores ni cualquier otra persona que haya participado en la preparación del material didáctico garantizan íntegramente que la información sea precisa o completa.

En esta guía los alumnos encontrarán las actividades prácticas que habrán de desarrollar durante el cursado de la asignatura. Estas actividades tienen la finalidad de demostrar y redescubrir conceptos, incorporar habilidades para el trabajo de laboratorio y obtener datos experimentales.

En el curso de Biología General y Celular se imparten los conocimientos básicos actuales del estudio científico de la vida, la Biología es una pregunta y una búsqueda continua que trata de descubrir la naturaleza de la vida y las generalizaciones concernientes al mundo biológico. La Biología moderna y su creciente avance aporta continuamente nuevos conocimientos transformando la medicina, la agricultura, brindando herramientas para la antropología, la criminología, la psicología, sociología por lo que tiene una participación activa en nuestra cultura y esto nos permite entender que sea básica en la variedad de carreras para las cuales se dicta.

Este curso es una asignatura obligatoria del primer año de las carreras de Licenciatura en Bioquímica y Tecnicatura Universitaria en Laboratorios Biológicos. Se desarrolla en el primer cuatrimestre, con un crédito horario semanal de 8 h y un crédito horario total de 120 h, dentro de las cuales se incluyen ocho actividades prácticas de asistencia obligatoria y duración 2,5 h.

Este curso le brindará al alumno las armas necesarias para comprender otros principios y conceptos y manejar un vocabulario biológico que irá ampliando en el transcurso de su carrera.

Ante la certeza de que la Biología como ciencia es un proceso dinámico y lo que hoy establecemos como cierto es probable que mañana se convierta en duda, instaremos al alumno que debe ser consciente de este medio cambiante, y que su conocimiento dependerá de su responsabilidad y de su capacidad de indagar y actualizarse continuamente.

**AUTORES:**

**NORA L. ESCUDERO  
SUSANA I. SÁNCHEZ  
ALEJANDRA CANGIANO  
ALDO DAGUERRE  
SILVIA DÁVILA  
ANDREA ISAGUIRRE  
ANDREA VIDELA  
JORGELINA DARUICH**

La presente Guía de Trabajos Prácticos, pertenece al Curso de Biología General y Celular el cual se imparte en el primer año de las Carreras de:

**LICENCIATURA EN BIOQUÍMICA**

**TECNICATURA UNIVERSITARIA EN LABORATORIO BIOLÓGICO**

## ÍNDICE

Presentación de la asignatura	I	
Índice	IV	
Medidas de seguridad en el laboratorio	V	
Trabajo Práctico 1	Microscopía. Desde la célula procariota a la eucariota	1
Trabajo Práctico 2	Rol de las membranas en la célula eucariota. Transporte	24
Trabajo Práctico 3	Organelas: sistema intracelular de membranas. Citoesqueleto	30
Trabajo Práctico 4	Metabolismo celular: glucólisis. Mitocondria. Respiración celular	37
Trabajo Práctico 5	Fotosíntesis	45
Trabajo Práctico 6	División celular: Mitosis	54
Trabajo Práctico 7	Mitosis y meiosis: procesos similares pero diferentes	61
Trabajo Práctico 8	Genética. Problemas	67
Anexo 1	A través del microscopio electrónico de barrido	73

## **MEDIDAS DE SEGURIDAD EN EL LABORATORIO**

Cuando se trabaja en un laboratorio existe el peligro potencial de ACCIDENTES, debido a las sustancias químicas y elementos que se utilizan y la posibilidad de cometer algún error al realizar un experimento, por tal motivo la seguridad y la protección de la salud son indispensables para un ambiente de estudio y trabajo seguro en un laboratorio. Todo estudiante, profesor o empleado debe cumplir las reglas de seguridad e higiene en el laboratorio.

### **Buenas prácticas de laboratorio:**

Las buenas prácticas incluyen reglas, recomendaciones o prohibiciones relacionadas con el conocimiento, el sentido común y la solidaridad en el ambiente de trabajo. Algunas de estas medidas son:

- No entrar al laboratorio sin estar presente el profesor.
- Seguir todas las indicaciones del profesor.
- Estudiar cada experiencia antes de clase.
- No usar el teléfono celular mientras se está trabajando en el laboratorio.
- Está PROHIBIDO comer, beber (incluye tomar mate), almacenar alimentos, fumar, maquillarse o manipular lentes de contacto en el laboratorio. Aun cuando no se estén realizando Trabajos Prácticos (teóricos, seminarios, etc.).

Mantén una actitud responsable, tu seguridad y la de tus compañeros depende de ello

### **Durante cada actividad práctica**

- Es OBLIGATORIO usar vestimenta adecuada: guardapolvo de MANGA LARGA que cubra la ropa de calle, preferentemente de algodón (que no será utilizado fuera del laboratorio), zapatos cerrados (no sandalias ni ojotas) y tener el pelo recogido.
- Si las mangas del guardapolvo son anchas, arremangarse antes de hacer un experimento científico.
- El área de trabajo debe estar limpia y ordenada. No deben colocarse libros, abrigos o bolsas sobre las mesadas. Se deberá verificar que la mesa de trabajo esté limpia al comenzar y al terminar el trabajo realizado.

- Si se salpica la mesa, se deberá limpiar con agua y luego secarla con un paño.
- Al terminar la práctica, limpiar y ordenar el material utilizado.
- Es obligatorio el uso de ANTIPARRAS O ANTEOJOS DE SEGURIDAD, durante la realización de los Trabajos Prácticos que así lo requieran. Los ojos son órganos muy vascularizados que pueden absorber rápidamente algunos compuestos químicos, por otra parte aunque no estemos trabajando directamente estamos expuestos a posibles aerosoles y vapores. Las gafas son de uso personal y no pueden ser intercambiadas entre los alumnos.
- Es de CARÁCTER OBLIGATORIO usar guantes **apropiados** acorde a los riesgos y los reactivos que se manipulen. Los guantes previenen el contacto con agentes tóxicos o biológicos, quemaduras por superficies calientes, frías o corrosivas y cortes por objetos punzantes.
- Los guantes deberán descartarse al alejarse de la mesada de trabajo, no se tocarán con ellos lapiceras, carpetas, picaportes, teclados, etc.
- Los alumnos y docentes deben estar familiarizados con los elementos de seguridad disponibles: salidas, extintores, botiquín de primeros auxilios, lavaojos.
- Toda herida, aún los pequeños cortes, que se produzca durante un trabajo práctico deben ser informados obligatoriamente al docente.

**No debe confundirse orden con represión, las normas de seguridad surgen como una forma de conservar la vida en plenitud**

**Riesgos químicos:**

- Todo producto químico debe ser considerado un tóxico potencial por si mismo o por su reacción con otros.
- No tocar ningún producto químico en forma directa, en el caso de hacerlo accidentalmente, no llevarse las manos a la cara y lavarse inmediatamente antes de tocar cualquier otra cosa.
- Nunca probar, ni oler ningún producto.
- PROHIBIDO pipetear con la boca. Se podrán utilizar pipetas de vidrio o plástico con propipetas o pipetas automáticas.

- Cuando el trabajo práctico involucre gases, vapores, humos o partículas sólo podrá realizarse en laboratorios que dispongan de campanas.
- Lavarse las manos con jabón después de tocar cualquier producto químico.
- No devolver nunca a los frascos de origen los sobrantes de los productos utilizados.
- Los ácidos y las bases fuertes han de manejarse con mucha precaución, ya que la mayoría son corrosivos y si caen sobre la piel o la ropa pueden producir heridas y quemaduras importantes.
- Al mezclar algún ácido (por ejemplo, ácido sulfúrico) con agua, añadir el ácido sobre el agua, nunca al contrario, pues el ácido «saltaría» y podría provocar quemaduras en la cara y los ojos.
- No dejar destapados los frascos ni aspirar su contenido. Muchas sustancias líquidas (alcohol, éter, cloroformo, amoníaco, etc.) emiten vapores tóxicos.
- Al preparar una solución colocarla en un frasco limpio y rotularlo conveniente.
- Evitar el contacto con fuentes de calor. No manipular cerca de ellas sustancias inflamables (gases, alcohol, éter). Si hay que calentar tubos con estos productos, se hará a Baño de María, *nunca directamente a la llama*.

#### **Riesgos biológicos:**

- Todo el personal docente debe conocer el nivel de riesgo que implica la manipulación de microorganismos, cultivos celulares, animales, muestras de fluidos o tejidos, etc. y sus protocolos de trabajo.

#### **Normas para manipular instrumentos y aparatos eléctricos**

- Antes de manipular un aparato eléctrico, desconectarlo de la red eléctrica.
- No poner en funcionamiento un circuito eléctrico sin que el profesor haya revisado la instalación.
- No utilizar ninguna herramienta o máquina sin conocer su uso, funcionamiento y normas de seguridad específicas.

### Normas para manipular material de vidrio

- Informar al profesor del material roto o averiado.
- Utilizar pinzas de madera para sujetar el instrumental de vidrio y retirarlo del fuego. Calentar los tubos de ensayo con la ayuda de dichas pinzas. No mirar directamente al interior del tubo por su abertura ni dirigir esta hacia algún compañero.
- Calentar por el lateral del tubo de ensayo, nunca por el fondo; agitar suavemente.

 <p>Corrosivo Corrosive Corrosif</p> <p><b>C</b></p>	<p><b>Corrosivos:</b> las sustancias y preparados que, en contacto con tejidos vivos, puedan ejercer una acción destructiva de los mismos. Ej: <math>H_2SO_4</math>, Soda Caústica, HCl, HF, NaOH, Ac. Acético glacial.</p>
 <p>Irritante Irritant Irritant</p> <p><b>Xi</b></p>	<p><b>Irritantes:</b> las sustancias y preparados no corrosivos que, por contacto breve, prolongado o repetido con la piel o las mucosas puedan provocar una reacción inflamatoria. Ej: <math>NH_3</math>, Solventes org., HF, Acetona.</p>
 <p>Tóxico Toxic Toxique</p> <p><b>T</b></p>	<p><b>Tóxicos:</b> la sustancias y preparados que, por inhalación, ingestión o penetración cutánea en pequeñas cantidades puedan provocar efectos agudos o crónicos, o incluso la muerte. Ej: Trióxido de Arsénico, <math>HgCl_2</math>, HF, Cloroformo, Benceno (<math>C_6H_6</math>)</p>

 <p>Extremadamente inflamable <b>F+</b> Extremely flammable Extrêmement inflammable</p>	<p><b>Extremadamente inflamables:</b> las sustancias y preparados líquidos que tengan un punto de inflamación extremadamente bajo y un punto de ebullición bajo, y las sustancias y preparados gaseosos que, a temperatura y presión normales, sean inflamables en el aire. Identifica a aquellas sustancias que a temperatura ambiente y en contacto con el aire arden espontáneamente. Ej: Butano.</p>
 <p>Explosivo <b>E</b> Explosive Explosible</p>	<p><b>Explosivos:</b> las sustancias y preparados sólidos, líquidos, pastosos o gelatinosos que, incluso en ausencia de oxígeno del aire, puedan reaccionar de forma exotérmica con rápida formación de gases y que, en condiciones de ensayo determinadas, detonan rápidamente o, bajo el efecto del calor, en caso de confinamiento parcial, explotan. Identifica a aquellas sustancias que pueden hacer explosión por efecto de una llama, choque o fricción. Ej: CH<sub>4</sub>, Gas de garrafa.</p>
 <p>Comburente <b>O</b> Oxidising Comburant</p>	<p><b>Comburentes:</b> las sustancias y preparados que, en contacto con otras sustancias, en especial con sustancias inflamables, produzcan una reacción fuertemente exotérmica. Ej: KMnO<sub>4</sub>.</p>
 <p>Nocivo <b>Xn</b> Harmful Nocif</p>	<p><b>Nocivos:</b> las sustancias y preparados que, por inhalación, ingestión o penetración cutánea puedan provocar efectos agudos o crónicos, o incluso la muerte. Ej: Piridina, Tricloro etileno, NH<sub>3</sub>, Etanol.</p>
 <p>Peligroso para el Medio Ambiente <b>N</b></p>	<p><b>Peligrosos para el medio ambiente:</b> las sustancias o preparados que, en caso de contacto con el medio ambiente, presenten o puedan presentar un peligro inmediato o futuro para uno o más componentes del medio ambiente. Ej: Bromuro de metilo.</p>

Figura 1. Pictogramas de seguridad

### Almacenamiento de productos químicos

En el laboratorio, el almacenamiento de productos químicos presenta unas características de peligrosidad que pueden materializarse en accidentes importantes si no se toman las medidas técnicas u organizativas necesarias. Estos riesgos están relacionados con la peligrosidad intrínseca de los productos, la cantidad almacenada, el tipo y tamaño del envase, la ubicación de los armarios, la distribución dentro del mismo, su gestión, el mantenimiento de las condiciones de seguridad y el nivel de formación e información de los usuarios del mismo.

Por otro lado, hay que tener en cuenta que el almacenamiento prolongado de productos químicos presenta ya por sí mismo un riesgo, puesto que pueden tener lugar reacciones de polimerización o de descomposición, con la formación de peróxidos inestables, o con acumulación de gas por descomposición lenta de la sustancia que llegue a romper el recipiente, el cual también puede envejecer volviéndose más frágil y romperse.

					
	+	-	-	-	+
	-	+	-	-	-
	-	-	+	-	+
	-	-	-	+	0
	+	-	+	0	+

+	Se pueden almacenar juntos
0	Solamente podrán almacenarse juntos, adoptando ciertas medidas
-	No deben almacenarse juntos

Figura 2. Incompatibilidad en el almacenamiento de productos químicos

### Criterios generales para el almacenamiento de los productos químicos

A continuación se resumen algunos aspectos que deben tenerse en cuenta para cualquier tipo de almacenamiento de productos químicos.

- Comprobar que estén adecuadamente etiquetados. En la etiqueta está la primera información sobre los riesgos de los productos químicos, en los pictogramas de riesgo (Fig. 1), lo cual es una primera información útil para saber cómo hay que almacenar los productos.

- Disponer de la ficha de datos de seguridad (FDS).
- Llevar un registro actualizado de la recepción de los productos que permita evitar su envejecimiento.
- Agrupar y clasificar los productos por su riesgo respetando las restricciones de almacenamiento conjunto de productos incompatibles, así como las cantidades máximas recomendadas. Ver en la Fig. 2 las incompatibilidades de almacenamiento. Las separaciones podrán efectuarse, en función del tamaño de los armarios. Si el stock no es voluminoso se dispondrá en estanterías, intercalando entre inertes e incompatibles.
- Los materiales inertes pueden utilizarse como elementos de separación entre productos peligrosos.
- Aislar ciertos productos, como: Cancerígenos, sustancias de alta toxicidad, sustancias pestilentes, sustancias inflamables.
- Limitar el stock de productos y almacenar sistemáticamente la mínima cantidad posible para poder desarrollar cómodamente el trabajo del día a día. Disponer en el área de trabajo solamente de los productos que se vayan a utilizar y mantener el resto de los productos en un área de almacenamiento.
- No se deben almacenar productos químicos en pasillos ni lugares de paso de vehículos, en huecos de escaleras, en vestíbulos de acceso general, salas de visitas y lugares de descanso.
- Evitar la combinación accidental de sustancias químicas con otras que pudieran dar lugar a reacciones peligrosas con la posibilidad de generar: incendios, explosiones, emanaciones de gases, venenos. Prevenir situaciones graves como: derrames, fugas, roturas de envase.
- Las sustancias corrosivas tienen la capacidad de dañar sus recipientes de almacenamiento y propagarse en la atmósfera del área en la que se encuentran. Son ejemplos de éstos: el Ác. fluorhídrico (este ácido no debe ponerse en contacto con material de vidrio, por lo que se lo debe almacenar en recipientes de plástico), Ác. clorhídrico, Ác. sulfúrico.
- Los vapores de ácidos pueden corroer los materiales estructurales y los equipos y ejercer una acción tóxica sobre el personal.

#### **Estantes y armarios de laboratorio**

- No colocar en estantes elevados recipientes más grandes de medio litro.

- Los recipientes más grandes hay que colocarlos a los niveles más bajos.
- Las estanterías deberán ser metálicas; si se almacenan líquidos en ellas es recomendable que dispongan de bandejas para recoger posibles vertidos.
- Los armarios deben poseer patas regulables que permitan nivelarlo y si se trata de armarios para corrosivos deberán estar hechos con material anticorrosivo (ej. Polietileno).

### **Trasvases**

El proceso en el que tienen lugar mayor número de accidentes es en el trasvase, durante el cual pueden tener lugar proyecciones, salpicaduras, contactos dérmicos, intoxicaciones y quemaduras por incendio. Las medidas preventivas y de protección a tomar son las siguientes. En la operación de trasvase, incluidos los de pequeñas cantidades, deben emplearse los elementos de protección adecuados a los riesgos específicos que presenten los productos a manipular, con especial atención a la protección de manos, cara y aparato respiratorio. Deben emplearse procedimientos seguros de manipulación. Deben evitarse los trasvases a recipientes más pequeños en el interior de una habitación, excepto si se dispone de ventilación forzada. No se permiten operaciones de trasvase de productos muy inflamables en sótanos. Disponer de bandejas para recoger eventuales derrames o goteos.

Disponer de extracción localizada de los vapores, en ausencia o como complemento de la ventilación general, para diluir los vapores desprendidos.

En lugares próximos donde se trasvasen o manipulen productos peligrosos deben existir lavaojos y duchas de emergencia.

### **Primeros Auxilios en caso de accidente**

Los accidentes más frecuentes en un laboratorio son: cortes, heridas, quemaduras o corrosiones, salpicaduras en los ojos e ingestión de productos químicos.

#### **Cortes y heridas**

Lavar la parte del cuerpo afectada con agua y jabón. No importa dejar sangrar algo la herida, pues ello contribuye a evitar la infección. Aplicar después desinfectante (solución yodada), tapar con gasa esterilizada (no algodón) y sujetar con venda. Si persiste la hemorragia o han quedado restos de objetos extraños (trozos de vidrio, etc.), se acudiría a un centro sanitario.

### **Quemaduras o corrosiones**

Por fuego u objetos calientes: enfriar la lesión con agua potable. Optativo: lavar con jabón neutro. Cubrir con gasa con Furacín. No usar ninguna crema. No poner hielo.

Por productos químicos: en el caso de salpicaduras en piel y ojos deben lavarse con abundante agua. No intentar neutralizar y acudir al médico con prontitud aportando la información contenida en la etiqueta o ficha de datos de seguridad.

### **Salpicaduras en los ojos**

Por ácidos o álcalis: inmediatamente después del accidente irrigar los dos ojos con grandes cantidades de agua templada. Mantener los ojos abiertos, de tal modo que el agua penetre debajo de los párpados. Continuar con la irrigación por lo menos durante 15 minutos. Acudir al médico.

### **Ingestión de productos químicos**

Antes de cualquier actuación concreta: URGENTE ATENCIÓN MÉDICA. Retirar el agente nocivo del contacto con el paciente. No darle a ingerir nada por la boca ni inducirlo al vómito.

Ácidos corrosivos: no provocar jamás el vómito. Administrar leche de magnesio en grandes cantidades y/o grandes cantidades de leche.

Álcalis corrosivos. No provocar jamás el vómito. Administrar abundantes tragos de disolución de ácido acético al 1 %. Suministrar grandes cantidades de leche.

### **Fugas, derrames y salpicaduras**

En caso de derrames accidentales se debe actuar rápidamente para su absorción, neutralización o eliminación.

La eliminación de pequeños derrames se hará, según el caso, con agentes absorbentes o neutralizantes que una vez usados se depositarán en recipientes para residuos. Como norma general se descarta el uso de aserrín como absorbente para líquidos inflamables y corrosivos, recomendando carbón activado u otros.

Durante el proceso de limpieza se utilizarán los elementos de protección adecuados.

En el caso de derrames o vertidos sobre la ropa de trabajo, ésta debe quitarse rápidamente, lavándola, o colocarse bajo una ducha, según la magnitud de la impregnación. Si hay contacto con la piel acudir al médico.

## SEGREGACIÓN Y DESACTIVACIÓN DE LOS RESIDUOS GENERADOS EN LOS LABORATORIOS

<b>RESIDUO</b>	<b>TIPO DE RECIPIENTE DONDE SE DEBE COLOCAR</b>	<b>DISPOSICIÓN Y/O DESACTIVACIÓN</b>
<b>Ordinarios o comunes</b>	<b>Bolsa negra</b>	Son recolectados por la dependencia correspondiente.
<b>Infeciosos o de riesgo biológico</b>	<b>Bolsa roja</b>	Desactivación previa en autoclave, luego se incinera.
<b>Animales de experimentación</b>	<b>Bolsa roja</b>	Se congelan y luego se incineran.
<b>Punzo cortantes: agujas, cuchillas, restos de ampollas, láminas de bisturí, etc.</b>	<b>Recipiente para punzo cortantes</b>	Se almacenan en los recipientes adecuados, luego son recolectados e incinerados.
<b>Residuos ácidos o básicos</b>	<b>Recipientes plásticos</b>	Neutralizar con una base o ácido débil según sea el caso, hasta un pH cercano a la neutralidad, luego verter en el desagüe.

### TELÉFONOS PARA CASOS DE EMERGENCIAS

**BOMBEROS: 100**  
**POLICÍA COMANDO RADIOELÉCTRICO: 101**  
**HOSPITAL COMPLEJO SANITARIO SAN LUIS: 107**  
**TELÉFONO AMBULANCIA: 2664 635903**  
**TELÉFONO SANATORIO RAMOS MEJÍAS: 2664 567261**

## TRABAJO PRÁCTICO N° 1

### MICROSCOPIA - DESDE LA CÉLULA PROCARIOTA A LA EUCARIOTA



Robert Hooke, Anthony Van Leeuwenhoek, Robert Brown, Mathias Schleiden

#### Introducción

El estudio de la estructura y funciones celulares ha experimentado tres períodos fundamentales de progreso.

El primer periodo se inicia a comienzos del siglo XVII y se caracteriza por el descubrimiento de un mundo diminuto, no detectable por el ojo humano pero sí por lupas o lentes. Las primeras observaciones fueron de glóbulos rojos sanguíneos por Pierre Borel en 1656. En 1665, Robert Hooke introdujo el término célula para describir la estructura del corcho y en 1674, Antón vanLeeuwenhoek observó organismos unicelulares vivos. Al paso de los años, las lentes se perfeccionaron y transformaron en microscopios ópticos. Doscientos años más tarde, Robert Brown (1831) cuando examinaba células vegetales, descubrió dentro de ellas la presencia de un cuerpo

esférico y de tono oscuro, al cual denominó "núcleo". En 1838, Mathias Jacob Scheiden y Theodor Schwann formularon la teoría celular, que considera a la célula como una unidad estructural común de todos los seres vivos, y que una célula madre es capaz de dividirse en dos células hijas. Esto último fue un aporte hecho por Rudolph Virchow en 1858. A fines del siglo XIX se dispuso de técnicas de tinción y fijación de los tejidos que permitieron una mejor observación de detalles y funciones celulares, como la división y la fecundación. Los fenómenos de evolución y herencia empezaron a tener gran importancia.

El segundo período, comienza a fines del siglo XIX y se caracteriza por la tentativa de interpretar las estructuras celulares con respecto a su función.

El tercer período pone de relieve el estudio molecular acentuando el conocimiento de las funciones de los componentes celulares.

### **El microscopio**

Antes de la invención del microscopio, no era posible la observación de objetos extremadamente pequeños. El microscopio es un instrumento óptico diseñado para hacer visibles al ojo humano objetos de dimensiones inferiores a 0,1 mm. Se atribuye su invención al fabricante de lentes holandés, Zacarías Jansen en el año 1590 y a Galileo en el año 1606, pero Anton Van Leeuwenhoek fue uno de los primeros que además de fabricarlo lo usó con fines biológicos.

## Modelos de microscopios desde el siglo XVI al XX



Instrumento óptico inventado por

Jansen en 1590



Microscopio utilizado por Hooke en 1665



Microscopio utilizado en el siglo XV  
(1680)



Microscopio utilizado en el  
siglo XVIII (1738)



Microscopio utilizado en el  
siglo XIX (1845)



Microscopio utilizado  
en el siglo XIX (1810)



Microscopio utilizado en el siglo XX (1929)



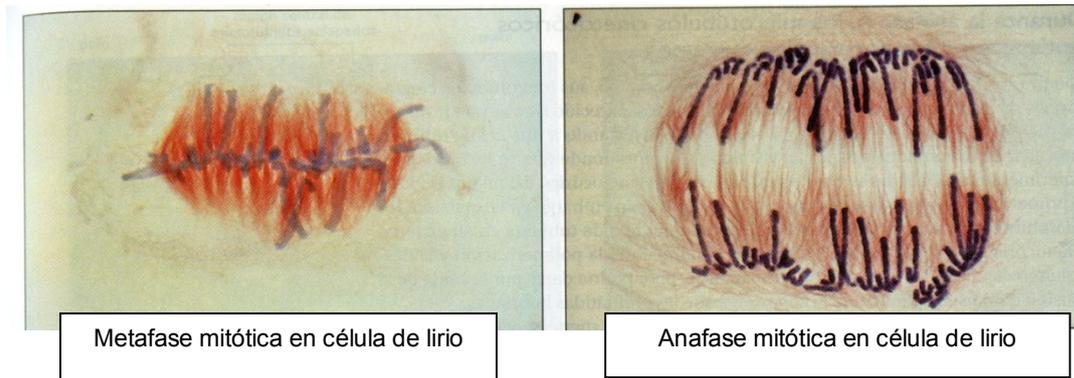
Microscopio  
utilizado en el  
siglo XIX (1898)

Imágenes obtenidas de [www.edu.ar/educar/site/educa](http://www.edu.ar/educar/site/educa).

En la actualidad existen varios tipos de microscopios, entre otros:

**Microscopio óptico compuesto:** es un instrumento que permite visualizar directamente, por aumento de la imagen, cuerpos no visibles al ojo desnudo. Consiste en una combinación de lentes que logra imágenes aumentadas e invertidas. El material a estudiar debe ser convenientemente tratado para que reúna las condiciones de transparencia, grosor y tamaño. Este microscopio aumenta el tamaño de la imagen de 50 a 1000 veces y permite observar la estructura interna del objeto.

Micrografías obtenidas con el microscopio óptico.



Imágenes obtenidas de [www.biología.edu.ar](http://www.biología.edu.ar).

**Microscopio de Contraste de Fase:** permite observar células sin colorear y resulta especialmente útil para células vivas. Las partes oscuras de la imagen corresponden a las porciones densas del espécimen, las partes claras de la imagen corresponden a porciones menos densas. Por lo tanto estos microscopios se utilizan para observar células vivas, tejidos vivos y cortes semi finos no coloreados.



Microscopio de contraste de fase



*Amebaverrucosa* en contraste de fase 200x

Imagen obtenida de: [acuario.drpez.com/acuario3/acuario\\_art3feb8.htm](http://acuario.drpez.com/acuario3/acuario_art3feb8.htm).

**Microscopio de fluorescencia.** Se utiliza la fluorescencia natural de algunas sustancias (fluorescencia primaria) o una fluorescencia inducida (secundaria) de colorantes llamados fluorocromos.

Permite localizar algunas moléculas o componentes de las células.

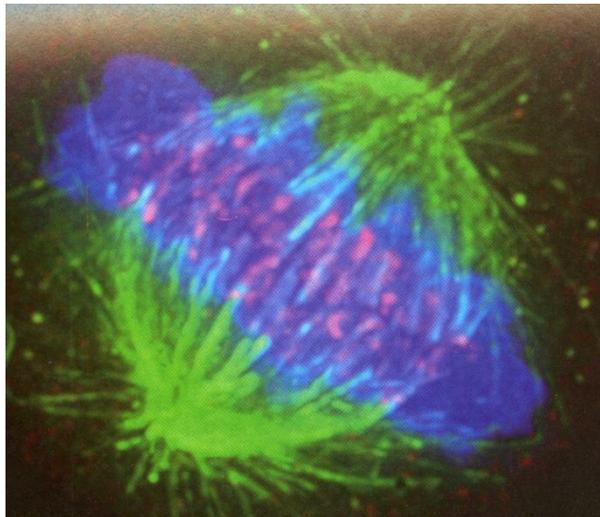
El fenómeno de fluorescencia no es permanente, se denomina “decaimiento” o “photobleaching”

Los objetivos deben tener apertura numérica elevada.



**Microscopio Olympus Provis AX-70** (1998), este modelo contiene accesorios para fluorescencia, luz polarizada, contraste de fase. Se pueden obtener fotomicrografías utilizando varios tipos de film y captura de imagen digital.

Micrografía utilizando sondas fluorescentes



Célula en mitosis

Imagen obtenida de [www.medic.ula.ve/histología/anexos/microscopweb/MONOWEB](http://www.medic.ula.ve/histología/anexos/microscopweb/MONOWEB)

**Microscopio Electrónico.** En 1932, Bruche y Johnson construyeron el primer microscopio electrónico reemplazando las lentes por bobinas electromagnéticas.

Utiliza un flujo de electrones en lugar de luz, consta de un "tubo de rayos catódicos", el cual debe mantenerse al vacío.

Todos los microscopios electrónicos cuentan con varios elementos básicos. Disponen de un cañón de electrones que emite los electrones que chocan contra el espécimen, creando una imagen aumentada. Se utilizan lentes magnéticas para crear campos que dirigen y enfocan el haz de electrones, ya que las lentes convencionales utilizadas en los microscopios ópticos no funcionan con los electrones. El sistema de vacío es una parte relevante del microscopio electrónico. Los electrones pueden ser desviados por las moléculas del aire, de forma que tiene que hacerse un vacío casi total en el interior de un microscopio de estas características. Por último, todos los microscopios electrónicos cuentan con un sistema que registra o muestra la imagen que producen los electrones.

Hay dos tipos básicos de microscopios electrónicos: el **microscopio electrónico de transmisión (MET)** y el **microscopio electrónico de barrido (MEB)**.

**Microscopio electrónico de transmisión:** permite la observación de muestra en cortes ultrafinos. Un MET dirige el haz de electrones hacia el objeto que se desea aumentar. Una parte de los electrones rebotan o son absorbidos por el objeto y otros lo atraviesan formando una imagen aumentada del espécimen. Para utilizar un MET debe cortarse la muestra en capas finas, no mayores de un par de miles de Ångström. Se coloca una placa fotográfica o una pantalla fluorescente detrás del objeto para registrar la imagen aumentada. Los microscopios electrónicos de transmisión pueden aumentar un objeto hasta un millón de veces.



Bacilos en división (MET)

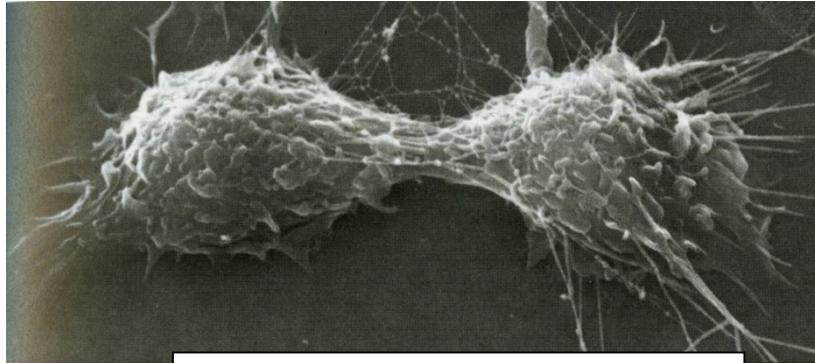


Mitocondria

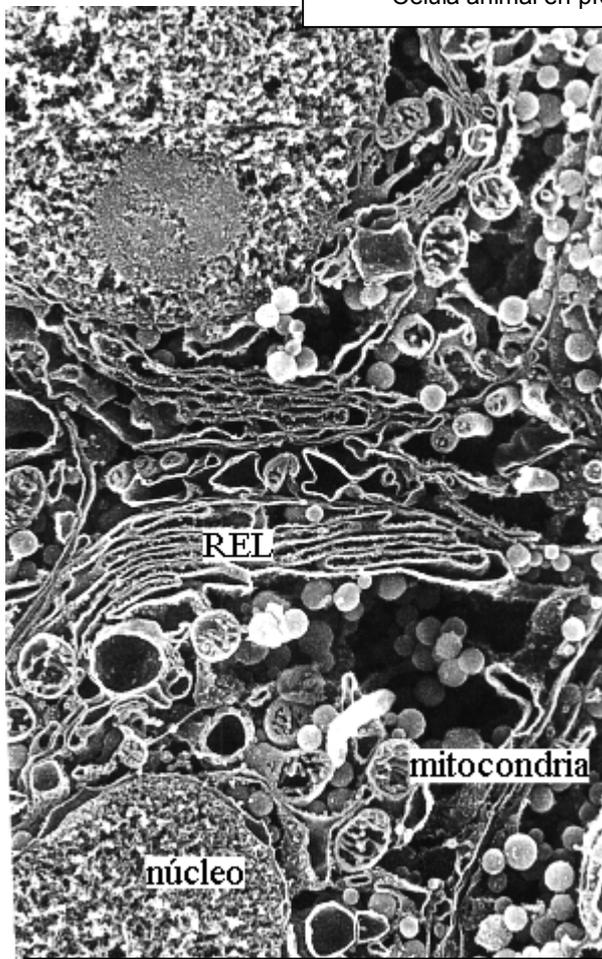
Imágenes obtenidas de [www.biologia.edu.ar](http://www.biologia.edu.ar)

El **microscopio electrónico de barrido (MEB)**. Leer el Anexo: Versión escrita del video “A TRAVÉS DEL MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO”

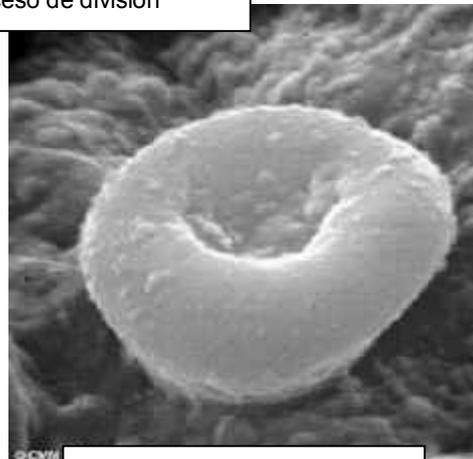
**Fotomicrografías electrónicas obtenidas con MEB**



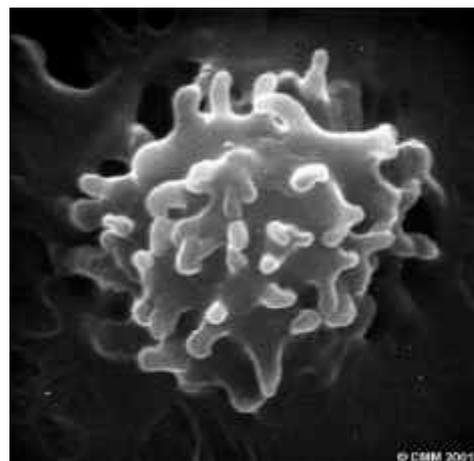
Célula animal en proceso de división



Célula cortada transversalmente observada al MEB



Glóbulo rojo



Glóbulo blanco

Imágenes obtenidas de: <http://www.biologia.edu.ar>

**COMPARACIÓN ENTRE MICROSCOPIO ÓPTICO Y ELECTRÓNICOS DE TRANSMISIÓN Y BARRIDO**

	<b>Microscopio Óptico</b>	<b>Microscopio Electrónico de Transmisión</b>	<b>Microscopio Electrónico de Barrido</b>
<b>Fuente de energía</b>	Lámpara de incandescencia	Filamento de tungsteno	Filamento de tungsteno
<b>Imagen dada por</b>	Refracción de rayos luminosos	Dispersión de electrones	Barrido de electrones
<b>Tubo</b>	Aire	Vacío	Vacío
<b>Guía de radiación</b>	Lentes	Bobinas electromagnéticas	Bobinas electromagnéticas
<b>Material biológico</b>	Vivo o muerto	Muerto	Muerto
<b>Límite de resolución</b>	0,25 $\mu\text{m}$	0,4 a 3 $\text{\AA}$	60 $\text{\AA}$
<b>Longitud de onda</b>	5000 $\text{\AA}$	0,05 $\text{\AA}$	0,05 $\text{\AA}$
<b>Aumento</b>	1000 – 1500	750.000 - 1.000.000	200.000
<b>Fijadores</b>	FAA/Carnoy	Glutaraldehído. Tetróxido de osmio	No es necesario. Se puede utilizar FAA
<b>Inclusión</b>	Parafina/Resina epoxi	Resina epoxi/acrílico	No
<b>Corte</b>	Mano alzada/Micrótomo	Ultramicrótomo	No
<b>Espesor de corte</b>	5 a 10 $\mu\text{m}$	100 a 900 $\text{\AA}$	No

FAA: formol-acético-alcohol

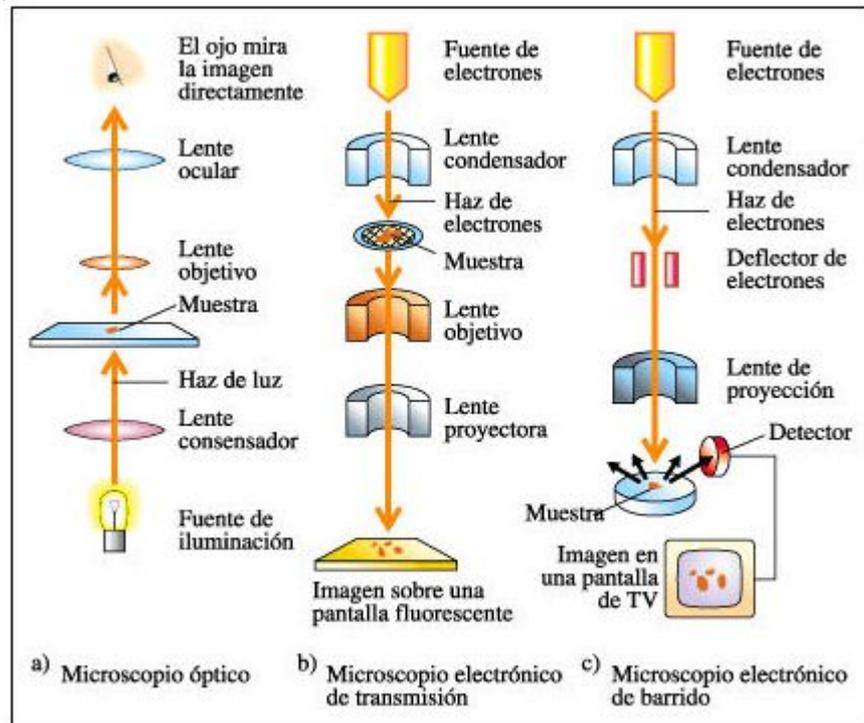


Figura extraída de Curtis & Barnes. Biología. 6ª Edición. Editorial Médica Panamericana.

### Tamaño de estructuras biológicas

Los biólogos estudian muestras de diferentes tamaños, desde moléculas con diámetros menores a 1nm hasta organismos de varios metros de longitud, para ello utilizan distintos instrumentos de observación como se muestra en la siguiente figura.

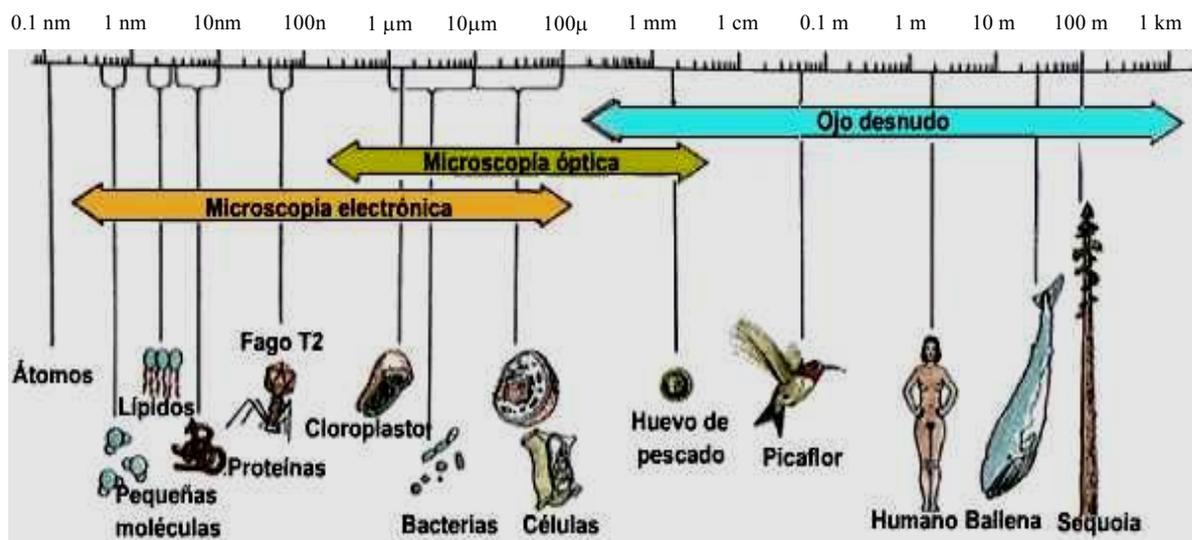
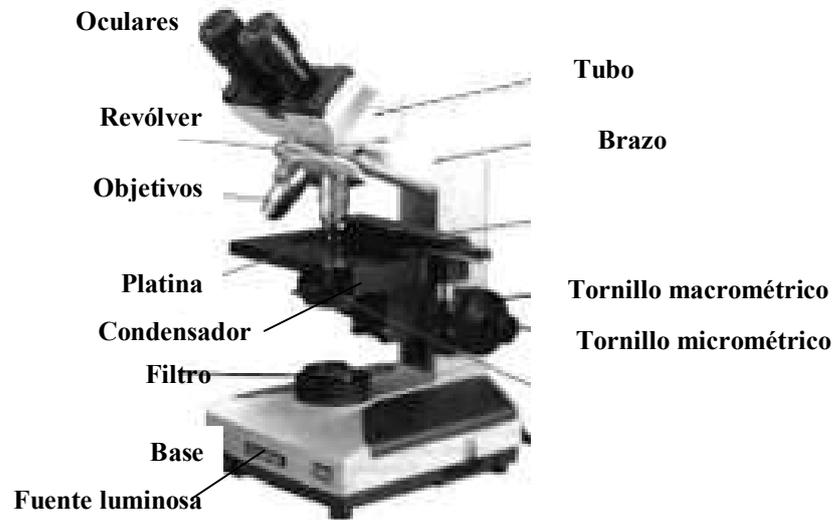


Imagen obtenida de [www.biologia.edu.ar/cel\\_euca/celula1.htm](http://www.biologia.edu.ar/cel_euca/celula1.htm)

## MICROSCOPIO ÓPTICO



El microscopio óptico, también llamado compuesto, consta de dos partes:

**Parte Mecánica:** son una serie de piezas donde se instalan las lentes y posee mecanismos de movimiento controlado para el enfoque, está constituido por:

- Columna o brazo: en su extremo superior sostiene el tubo y por su extremo inferior se une a la base. Además sirve para trasladar el microscopio.
- Base o pie: estructura metálica, sirve de sostén y da estabilidad.
- Tubo: en su parte superior se encuentran los oculares y en la parte inferior el "revólver", donde se localizan los objetivos.
- Tornillo macrométrico: permite realizar movimientos verticales y amplios, es un tornillo grande.
- Tornillo micrométrico: permite realizar movimientos finos, sirve para precisar el enfoque, el tornillo es pequeño.
- Revólver: estructura circular giratoria donde van enroscados los objetivos. Permite la colocación en posición correcta del objetivo que se va a usar.
- Platina: se utiliza para colocar la preparación u objeto que se va a observar, tiene un hueco en el centro para dejar pasar los rayos luminosos.
- Tornillos de desplazamiento: dispositivo colocado en la platina que permite deslizar la preparación de derecha a izquierda y de atrás hacia delante.
- Pinzas de la platina: sirven para sostener el portaobjetos.

**Parte Óptica:** constituida por una serie de lentes que permiten aumentar y dar nitidez a la imagen. Sus partes son:

- Oculares: situados próximos a los ojos del observador. Tienen como función multiplicar el aumento logrado por el objetivo, el aumento que se logra con ellos se representa por un número entero acompañado de una X, por lo general se utilizan oculares de 10X.
- Objetivos: están ubicados cerca del objeto que se va a observar. Los objetivos pueden ser “a seco” y “de inmersión”.

Los objetivos “a seco” se denominan así porque no es necesario añadirles ninguna sustancia entre ellos y la preparación, sus aumentos pueden ser de 4X, 10X, 40X.

En el “de inmersión” es necesario añadir una gota de aceite de cedro entre la preparación y el objetivo, el aceite de cedro permite que no se desvíe la luz. El objetivo de inmersión es el de 100X.



Imagen obtenida de: [www.amaina.com](http://www.amaina.com)

- Condensador: lente o sistema de lentes que se encuentra colocado debajo de la platina y su función es la de concentrar la luz sobre el objeto que se va a observar.



Imagen obtenida de: [www.upload.wikimedia.org](http://www.upload.wikimedia.org)

- Diafragma: situado en la parte inferior del condensador, regula la cantidad de luz que debe pasar a través de éste hacia la platina.



Imagen obtenida de: [www.pce-iberica.es](http://www.pce-iberica.es)

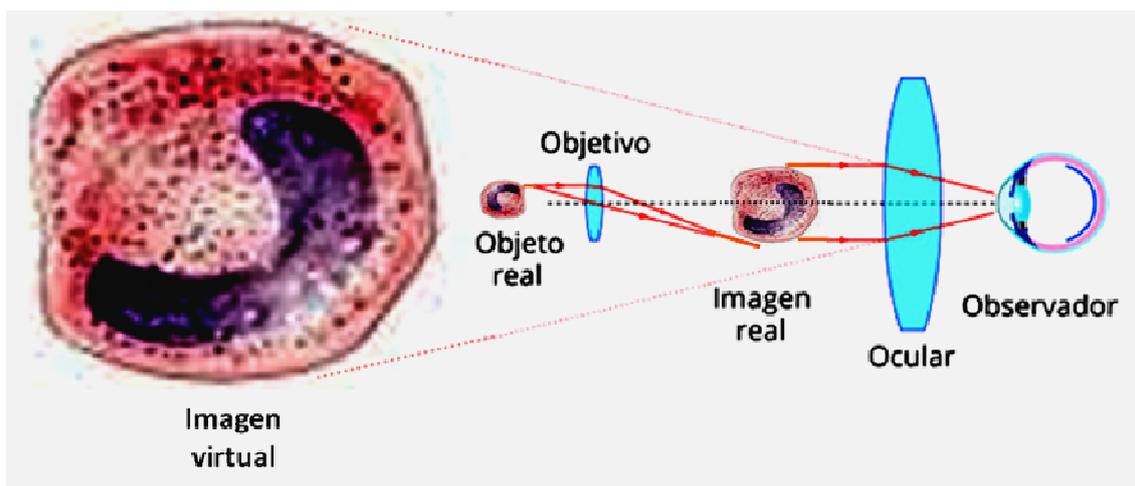
- Fuente luminosa: ubicada al pie del microscopio.

### **Precauciones generales en el uso del microscopio óptico:**

- Para transportar el microscopio tome el brazo del mismo con una mano y con la otra sostenga su base. Nunca transporte el microscopio invertido ni muy inclinado ya que el lente ocular no está fijo y puede caer al piso.
- No emplee el pañuelo o los dedos para limpiar las lentes ya que puede rayar la superficie óptica. Siempre use el papel para lentes que provee la cátedra.
- Cuando termine con las observaciones apague la fuente de luz y coloque el objetivo de menor aumento en la posición de observación. Nunca deje el microscopio con el objetivo de mayor aumento en la posición de observación.
- Los oculares poseen distancia regulable entre los mismos y un dispositivo graduado que indica la separación conveniente para cada observador, según la distancia interpupilar.

### **Formación de la imagen**

La imagen en un microscopio óptico se forma por la transmisión de los rayos provenientes de una fuente luminosa, que luego de atravesar el diafragma y el condensador, llegan al objeto a través de la abertura de la platina. El objetivo recoge la luz que atravesó el objeto examinado y proyecta una imagen real, invertida y aumentada, que se forma dentro del tubo. La segunda lente, el ocular en el microscopio compuesto, recoge esta imagen y forma una imagen virtual, es decir una imagen que tiene existencia aparente, no real.



Representación del funcionamiento del microscopio óptico. Extraída y modificada de <https://www.mundomicroscopio.com/>

Como vemos en la figura la imagen virtual es percibida gracias a la posibilidad que tiene el globo ocular de “seguir” por detrás del objeto observado, la proyección de rayos divergentes que confluyen para constituir la imagen virtual. La “virtualidad” de la imagen virtual consiste en que no está allí donde se percibe, como por ejemplo la formación de la imagen virtual al observarnos en un espejo plano. Nuestra imagen virtual se representa “por detrás” del espejo, pero realmente no estamos allí. Como resultado final la imagen de un microscopio óptico es VIRTUAL, INVERTIDA Y AUMENTADA.

## PROPIEDADES DE LAS LENTES

### Aumento total

Expresa cuántas veces se amplía la imagen del objeto observado respecto al tamaño real de la misma. También lo podemos expresar como la relación que existe entre el tamaño de la imagen producida por el microscopio y el tamaño real del objeto. Se calcula multiplicando el aumento del ocular por el aumento del objetivo.

### Límite de Resolución (LR)

Es la mínima DISTANCIA que debe existir entre dos puntos para que puedan visualizarse separados y no como uno solo. Ejemplo: dos partículas separadas por 0,3  $\mu\text{m}$  aparecerán individualizadas cuando se las examina con un sistema óptico con LR de 0,2  $\mu\text{m}$ , pero si fuesen examinadas por un sistema de LR de 0,5  $\mu\text{m}$ , aparecerán fundidas, como si fuese una sola partícula de tamaño mayor.

$$LR = \frac{0,61 \times \lambda}{AN}$$

LR: Límite de resolución

0,61: constante de proporcionalidad

$\lambda$ : longitud de onda de la luz

AN: apertura numérica

### **Poder de Resolución**

El poder resolutivo o poder separador de un microscopio es la CAPACIDAD del instrumento para poder separar dos puntos situados uno muy cerca del otro y dar de ellos imágenes claras y bien definidas.

$$PR = \frac{1}{LR} = \frac{AN}{0,61 \times \lambda} = \frac{n \times \text{sen } \alpha}{0,61 \times \lambda}$$

**Apertura numérica:** Una de las características más importantes de un objetivo es su apertura numérica (AN). Esta magnitud es de gran importancia en microscopía pues su valor determina la capacidad de observar detalles finos con un determinado objetivo. Se calcula con la siguiente fórmula:

$$AN = n \times \text{sen } \alpha$$

$n$  = índice de refracción del medio interpuesto entre el objetivo y el preparado a observar.

$\alpha$  = semiángulo de apertura del cono luminoso que penetra en la lente frontal del objetivo.

Ejemplos de índices de refracción:

$n$  (aire) = 1

$n$  (agua) = 1,33

$n$  (aceite) = 1,51

$n$  (vidrio) = 1,52

Para aumentar el poder de resolución del microscopio se dispone de dos recursos:

- 1- Aumentar su apertura numérica (AN).
- 2- Disminuir la longitud de onda ( $\lambda$ ) de la luz utilizada.

El aumento de la AN se puede lograr interponiendo entre el objetivo y la muestra una sustancia de índice de refracción mayor que el aire y similar al vidrio, como por ejemplo el aceite de cedro. De este modo se aumenta considerablemente la luminosidad, ya que los rayos luminosos no se desvían y llegan a la lente frontal del objetivo un mayor número de ellos.

La disminución de la longitud de onda se puede lograr trabajando con luz monocromática azul-violeta (468 nm) en lugar de luz amarilla-verdosa (574 nm).

## **MÉTODOS DE EXAMEN**

La observación en el microscopio requiere de dos condiciones: que la muestra a observar sea delgada y presente contraste. Teniendo en cuenta esta premisa existen diferentes métodos de examen que se detallan a continuación:

### **Examen inmediato, “*in vivo*”:**

Consiste en la observación de una célula o tejido, en estado vivo. Permite también la observación de movimientos celulares.

Su aplicación está restringida a límites estrechos, pues se puede emplear solamente con objetos muy delgados y transparentes. No permite realizar observaciones muy prolongadas, y muestra pocos detalles de la estructura celular.

Para poder examinar mayores detalles de la estructura celular, se procede a efectuar coloraciones vitales.

### **Examen mediato, “*in vitro*” o “*post mortem*”:**

La observación al estado vivo, resulta insuficiente para lograr el conocimiento de la estructura celular, dado que sus partes constituyentes poseen más o menos el mismo índice de refracción. Para subsanar este inconveniente hay que colorear la célula, a fin de suplir las escasas diferencias de refringencia por diferencias de coloración. Pero antes de colorear, es necesario efectuar una fijación de la estructura celular, por medio de la cual la muerte celular se realiza de manera tal que la estructura y la composición química se conservan muy similares a la de la célula viva.

## **Tipos de preparaciones citológicas**

Las preparaciones citológicas pueden ser de dos tipos:

- Temporales
- Permanentes

Las **temporales** se realizan en el momento de la observación y luego se desechan. Son fáciles de preparar pero su desventaja está en no poder conservarlas mucho tiempo y no permitir estudios detallados.

Las **permanentes** se conservan por mucho tiempo, permiten un estudio profundo pero requieren técnicas complejas y prolongadas.

### Técnicas

**Frotis:** para estudiar suspensiones celulares como: bacterias, levaduras, células de la mucosa bucal. Se coloca la muestra sobre un portaobjetos y se extiende con un ansa o hisopo. Se observa directamente o previa fijación y coloración.

**Extendido:** para estudiar una muestra de sangre. Se coloca una gota de la misma sobre un portaobjeto, se extiende con un cubre u otro portaobjeto y se observa previa fijación y coloración.

**Aplastamiento o “squash”:** se coloca el material previamente ablandado entre porta y cubre y se presiona con fuerza aplastando. Se puede observar directamente o previa fijación y coloración.

### Preparados histológicos:

#### Temporales

- Se hace un corte en el material para producir una superficie lisa empleando bisturí.
- Se aplica el filo del bisturí sobre la superficie y se impulsa con suavidad, lenta y uniformemente.
- Cuando el material se encuentran muy hidratado debe ser fijado previamente con alcohol de mediana concentración.
- Las secciones logradas se recogen con el bisturí se toman de un extremo con un pincel de pelo fino humedecido y se depositan con una gota de agua en el centro del portaobjetos cubriéndolo con un cubreobjetos.

#### Permanentes

- **Fijación:** por métodos físicos o químicos.
- **Inclusión:** en una sustancia de consistencia firme para que los cortes que se obtengan sean suficientemente finos.
- **Corte:** Deben ser finos para permitir el paso de la luz o los electrones. Los mismos se hacen con un instrumento llamado micrótopo para la microscopía óptica y ultramicrótopos para la microscopía electrónica.
- **Coloración:** destaca determinadas estructuras.

- **Montaje:** es la adhesión del material en el portaobjetos utilizando sustancias que inhiben la desecación del material.

### **Reactivos utilizados en las técnicas de microscopia**

#### **Fijadores:**

Matan rápidamente a la célula y conservan su estructura y composición química semejante al estado vivo, impiden alteraciones *post mortem*:

1. Químicos: coagulan o precipitan las proteínas y endurecen los tejidos. Los más usados en microscopio óptico son alcohol etílico y formol. En microscopio electrónico se usa el tetróxido de osmio y el glutaraldehído.
2. Físicos: detienen los procesos vitales por aplicación de calor, congelación o desecación al aire.

#### **Colorantes:**

Tiñen selectivamente ciertas estructuras que de otro modo no serían visibles al microscopio. Según su grupo cromóforo (el que da color) pueden ser:

1. Ácidos: son colorantes citoplasmáticos: eosina, azul de anilina.
2. Básicos: son colorantes nucleares: azul de metileno, azul de toluidina, cristal violeta.
3. Neutros: tiñen el núcleo de un tono y el citoplasma de otro: eosinato de azul de metileno, rojo neutro, rojo fenol.

En microscopía electrónica se emplean soluciones de metales pesados (Pb, Os).

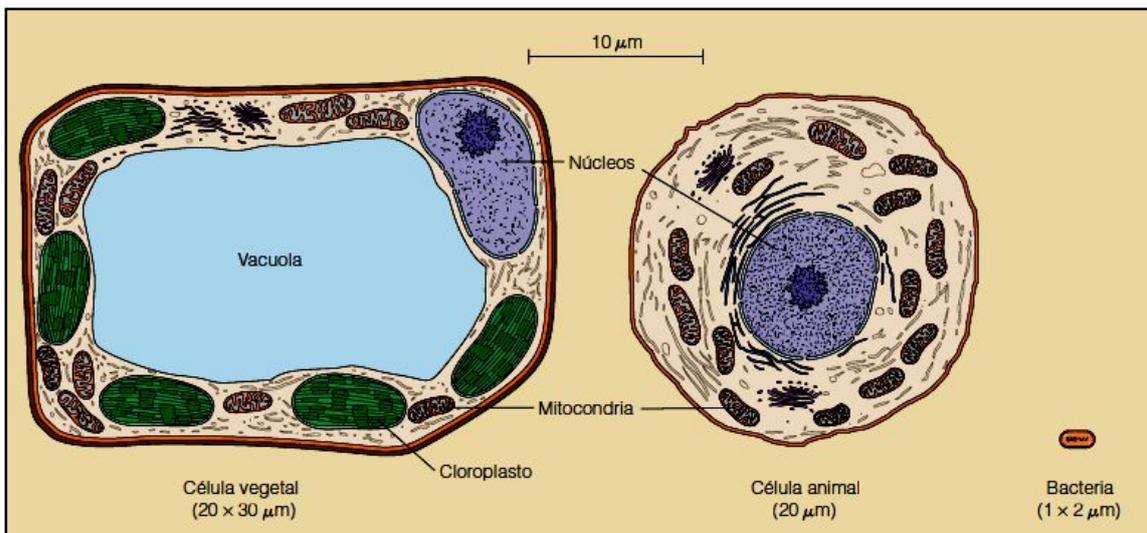
La mayoría de las técnicas de coloración no pueden aplicarse a células vivas, para los casos de coloración vital se emplean: alizarina, rojo neutro, verde Jano y azul de metileno.

### **OBJETIVOS**

- Analizar la función de cada parte del microscopio óptico.
- Aprender a utilizar correctamente el microscopio óptico.
- Diferenciar los distintos tipos de microscopios y conocer su utilidad.
- Reconocer y practicar algunas técnicas de preparación de muestras.
- Conocer fundamentos de microscopía electrónica, a través de un video educativo desarrollado en LABMEM de la UNSL.
- Observar utilizando el microscopio óptico células procariotas y eucariotas.

## TEMARIO QUE EL ALUMNO DEBE CONOCER PARA REALIZAR EL TRABAJO PRÁCTICO

Conceptos de microscopía de esta guía. Microscopio óptico compuesto, parte mecánica y óptica. Funciones de cada pieza. Tipos de microscopios electrónicos. Microscopio electrónico de transmisión. Microscopio electrónico de barrido: "A TRAVÉS DEL MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO". Elaboración de preparados. Técnicas de preparación. Célula procariota y eucariota, características generales y diferencias fundamentales entre las mismas. Comparación entre diferentes tipos celulares.



Comparación entre las células eucariontes y procariotes en tamaño y complejidad. Imagen obtenida de "EL MUNDO DE LA CÉLULA", Becker et al., 2007.

### MATERIALES

Microscopio óptico

Portaobjetos - Cubreobjetos

Hojas de bisturí - Pinceles

Cuentagotas- Tijera

Pinzas de punta fina

Azul de Metileno

Aceite de cedro

Papel tisú

Papel de diario

Video: "A TRAVÉS DEL MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO"

Preparados permanentes de bacterias y de sangre humana

Catáfilas de cebolla (*Allium cepa*)

## ACTIVIDADES

### 1. Observación de muestras utilizando el microscopio óptico con objetivos “a seco” y objetivo “a inmersión”

#### A- Letra “e”

- Coloque la letra “e” en un portaobjetos y utilizando un cuentagotas ponga una gota de agua sobre ella. Cubra con cubreobjetos evitando la formación de burbujas de aire.
- Enfoque con el objetivo de menor aumento, para ello coloque el preparado sobre la platina del microscopio. Ubique el portaobjeto de modo que la letra “e” quede en el centro de la abertura de la platina. Emplee las pinzas de la misma para sostener el portaobjeto en posición. Mirando al microscopio desde un lado y usando el tornillo macrométrico, suba lentamente la platina. Nunca permita que la lente del objetivo entre en contacto con el preparado. Algunos microscopios están provistos de topes mecánicos que evitan estos inconvenientes.
- Ahora mire a través del ocular y baje lentamente la platina hasta que la impresión del periódico se haga visible. Si usted todavía no ve ninguna imagen, es que ha pasado la posición de foco correcta.
- Vuelva a enfocar, mire el microscopio desde un lado, vuelva a la posición original y pruebe nuevamente. Cuando se ve una imagen de material impreso, el tornillo micrométrico debe ser rotado adelante y atrás, para obtener el mejor foco posible. Un ajuste adicional del diafragma, en muchos casos, mejorará la claridad de la imagen.
- Compare la posición de la imagen de la letra “e” en el ocular con la posición de la misma sobre el portaobjeto. ¿Está al revés, o en la misma posición en que está si se ve a simple vista? Anote sus observaciones.
- Observe el preparado con los restantes objetivos a seco. A medida que enfoca con los objetivos de 10X y 40X, establezca si el campo circular de visión va aumentando o disminuyendo con respecto al aumento de los objetivos.
- Según las conclusiones a las cuales Ud. arriba, la relación entre el aumento del objetivo respecto al diámetro de campo de visión ¿es directa o inversa?
- Dibuje la imagen observada con cada uno de los objetivos.

### **B- Cálculo del Aumento Total**

- Localice los números de aumento sobre los oculares y objetivos de un microscopio y calcule las ampliaciones obtenidas cuando se usan los objetivos a seco y cuando se utiliza el objetivo de inmersión.

### **C- Cálculo del Límite de Resolución del microscopio óptico**

- Utilizando objetivo de inmersión y los mejores materiales ópticos se puede lograr una apertura numérica de 1,4. Calcular el LR al trabajar con luz amarilla-verdosa.
- ¿Cuáles de las siguientes estructuras cuyo tamaño se menciona a continuación, se podrán observar con un microscopio cuyo LR es de 0,2  $\mu\text{m}$ ?
  - a) 0,6  $\mu\text{m}$
  - b) 0,1  $\mu\text{m}$
  - c) 0,2  $\mu\text{m}$

## **2. Observación del video: “A TRAVÉS DEL MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO”**

### **3. Observación de células procariotas**

#### **Bacterias**

- Observe con objetivo de inmersión bacterias: cocos y bacilos, a partir de preparados permanentes que se les entregará.
- Realice un dibujo de lo observado. Registre tamaño celular aproximado, técnica empleada en la realización del preparado, coloración utilizada.

### **4. Observación de células eucariotas**

#### **A- Células vegetales**

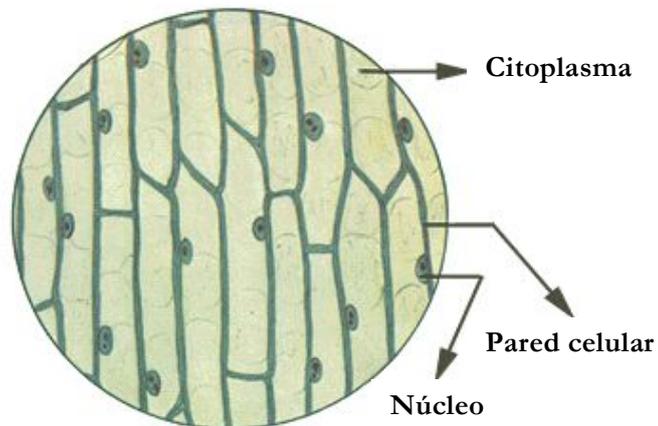
##### **Catáfila de cebolla (*Allium cepa*)**

- De la parte cóncava de una de las hojas carnosas del bulbo de la cebolla y con la ayuda de un bisturí y una pinza fina, separe una pequeña porción de epidermis, procurando no arrancar el tejido subyacente, de tal forma que la parte desprendida tenga el aspecto de una fina película traslúcida.
- Con la pinza extienda la epidermis de cebolla sobre el portaobjetos.



Imagen obtenida de <https://www.youtube.com/watch?v=043kvAftPTw>

- Añada unas gotas de azul de metileno, dejando actuar este colorante durante cinco minutos.
- Coloque encima de la preparación un cubreobjetos y observe al microscopio, primero con poco aumento y luego a un aumento mayor.



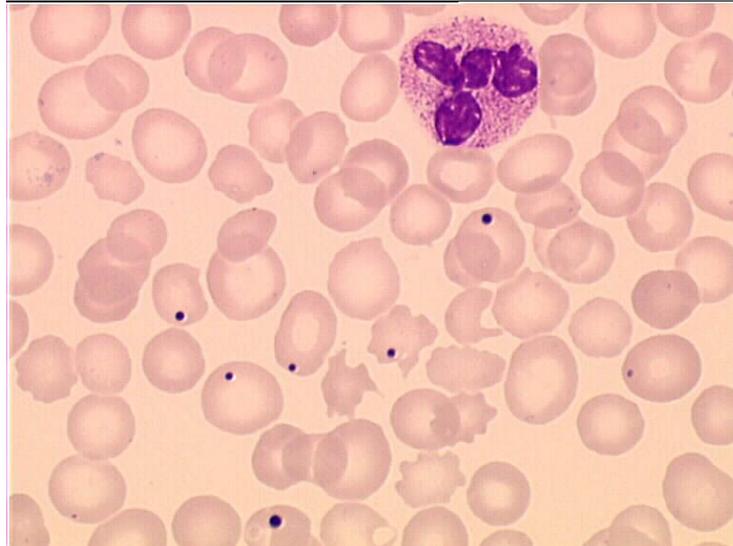
Esquema de tejido epitelial de catáfila de cebolla observado con microscopio óptico (10X)

- Realice un dibujo de lo observado. Registre tamaño celular aproximado, técnica empleada en la realización del preparado, coloración utilizada.

## **B- Células Animales**

### **Extendido de sangre humana**

- Observe el extendido permanente de sangre humana utilizando el objetivo de 100X.



Glóbulos rojos y glóbulos blancos observados con 100X.  
Imagen obtenida de: [www.unileon.es](http://www.unileon.es)

- Realice un dibujo de las células del extendido. Registre tamaño celular aproximado, técnica empleada en la realización del preparado permanente, coloración utilizada.

**Responda:**

1. ¿Cuántas clases de glóbulos blancos posee el tejido sanguíneo? Nómbralos.
2. ¿Cuántos glóbulos rojos y glóbulos blancos por  $\text{mm}^3$  de sangre posee el hombre?
3. Indique características generales de protozoos, algas y levaduras. Realice un dibujo de los mismos.

**BIBLIOGRAFÍA**

- JUNQUEIRA L.C. y CARNEIRO J., (2000), *Histología Básica*. Buenos Aires, Argentina. Editorial Panamericana.
- ALBERTS B., JOHNSON LEWIS AJ., RAFF M., ROBERTS K. Y WALTER P., (2004), *Biología Molecular de la Célula*. Barcelona, España. 5° edición, Editorial Omega.
- DE ROBERTIS E.M.F., HIB J. Y PONZIO R., (1998), *Biología Celular y Molecular*. Buenos Aires, Argentina. Editorial El Ateneo.
- BROCK T. y MADIGAN M., (1993), *Microbiología*. México. 6° edición, Editorial Prentice-Hall Hispanoamericana.

- BECKER W. M., KLEINSMIT L. J., HARDIN, J. (2006), *El mundo de la célula*. Madrid, España. 6° edición Editorial Addison Wesley autorizado por Pearson Educación, S.A.
- CURTIS H., SCHNEK A., MASSARINI A., (2008), *Biología*. Buenos Aires, Argentina. 7° edición, Editorial Panamericana.
- CAMPBELL NA., REECE JB., (2007), *Biología*. Buenos Aires, Argentina. Editorial Panamericana.
- PURVES W.K., SADAVA D., ORIANIS G.H. Y HELLER H.C., (2003), *La ciencia de la biología, Vida*. Buenos Aires, Argentina. Editorial Médica Panamericana.
- ESCUDERO, N. y CANGIANO, A., (2013), *Guía de trabajos prácticos Biología Celular y Molecular*. San Luis, Argentina. Nueva Editorial Universitaria-UNSL.
- ESCUDERO N. y col., (2017), *Guía de trabajos prácticos de Biología General y Celular*. San Luis, Argentina. Nueva Editorial Universitaria-UNSL. ISSN: 2545-7683 2017

#### SITIOS WEBS

- <http://www.edu.ar/educar/site/educa>
- <http://www.biología.edu.ar>
- [http://www.acuario.drpez.com/acuario3/acuario\\_art3feb8.htm](http://www.acuario.drpez.com/acuario3/acuario_art3feb8.htm)
- <http://www.medic.ula.ve/histología/anexos/microscopweb/MONOWEB>
- [http://www.biologia.edu.ar/cel\\_euca/celula1.htm](http://www.biologia.edu.ar/cel_euca/celula1.htm)
- <http://www.amaina.com>
- <http://www.upload.wikimedia.org>
- <http://www.pce-iberica.es>
- <http://https://www.mundomicroscopio.com/>
- <https://www.youtube.com/watch?v=043kvAftPTw>
- <http://www.unileon.es>

## TRABAJO PRÁCTICO Nº 2

### ROL DE LAS MEMBRANAS EN LA CÉLULA EUCARIOTA. TRANSPORTE

#### OBJETIVOS

- Describir la estructura de las membranas biológicas.
- Comprender la importancia fisiológica de los mecanismos de transporte.
- Visualizar el fenómeno de ósmosis.
- Analizar el comportamiento de células animales y vegetales frente a soluciones de diferente presión osmótica.
- Diferenciar los distintos tipos de transporte activo.
- Estimular la indagación sobre conocimientos teóricos acerca de la complejidad de la membrana celular.
- Identificar algunos factores que afectan la integridad de las membranas biológicas.

#### TEMARIO:

Membrana plasmática. Estructura. Mecanismos de transporte. Transporte pasivo. Osmosis. Soluciones isotónicas, hipotónicas e hipertónicas. Efectos de las soluciones y de la temperatura sobre diferentes tipos celulares eucariotas. Transporte activo. Diferencias entre transporte pasivo y transporte activo.

#### MATERIALES

Catáfilas de cebolla	Probetas o pipetas de 5ml	Microscopio
Hojas de <i>Elodea sp</i>	Termómetro	Portaobjetos, cubreobjetos
Remolachas	Cápsulas de Petri	Marcadores de vidrio
Sangre de carnero	Pinzas	Pinceles
Solución de NaCl al 10%	Capilares	Baño de agua (70 °C)
Agua destilada	Gradillas	Sacabocado
Azul de Metileno	Vasos de precipitado (150- 200 ml)	Baño de hielo
	Tubos de ensayo	
	Heladera	

## ACTIVIDADES

### 1.- Ósmosis: comportamiento de células vegetales en soluciones salinas de diferentes concentraciones

#### A- Catáfilas de Cebolla

- a) Numerar dos cajas de Petri y colocar en cada una catáfilas de cebolla.
- b) A la caja n° 1 agregarle solución de NaCl al 10 % y a la n° 2 agua destilada.
- c) Colocar a cada muestra azul de metileno.
- d) Numerar dos portaobjetos y ubicar las muestras en los mismos con la ayuda de pinza y pincel. Tapar las muestras con cubreobjetos y después de 10 minutos observar al microscopio con 40X.
- e) Dibujar lo observado consignando la mayor cantidad de detalles posibles. Explicar en cada caso el fenómeno ocurrido.
- f) Predecir qué ocurrirá cuando a una catáfila de cebolla se la coloque en solución de NaCl al 0,85 %.

#### B- Hojas de elodea

- a) Numerar dos cajas de Petri y colocar en cada una 1 hoja de elodea.
- b) A la caja n° 1 agregarle solución de NaCl al 10 % y a la n° 2 agua destilada.
- c) Numerar 2 portaobjetos y ubicar las muestras en los mismos con la ayuda de pinza y pincel. Tapar las muestras con cubreobjetos observar al microscopio con 40X.
- d) Dibujar lo observado consignando la mayor cantidad de detalles posibles. Explicar en cada caso el fenómeno ocurrido.

### 2.- Comportamiento de células animales en soluciones de diferentes concentraciones

El esquema siguiente muestra el comportamiento de los glóbulos rojos sometidos a las siguientes soluciones: NaCl al 0,85 %; solución de NaCl al 10 %, agua destilada. Indicar en cada caso a qué tipo de solución estuvieron expuestos. Investigue el transporte que utiliza.

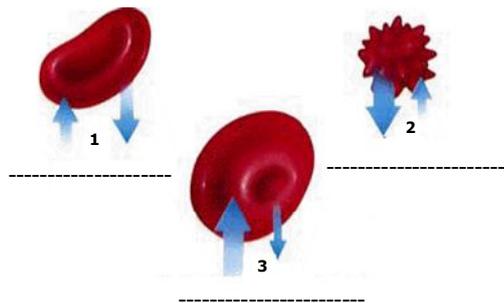


Imagen modificada de [www.podotroclear.com](http://www.podotroclear.com)

### 3.- Efecto de la temperatura sobre la fluidez de las membranas

- Extraer dos segmentos de remolacha (3 cm de largo) con un sacabocado.
- Colocarlos en un vaso de precipitado y lavar con abundante agua corriente a fin de extraer el pigmento que se haya liberado de las células, producto de la rotura por extracción.
- Colocar los segmentos de remolacha en los tubos de ensayo rotulados del 1 al 2.



Imagen extraída de: <http://academic.uprm.edu/~jvelezg/lab7.pdf>

- Al tubo 1, añadir 5 ml de agua destilada y colocarlo a temperatura ambiente por 30 min.
- Al tubo 2, añadir 5 ml de agua destilada y colocarlo en un baño de agua caliente a 70 °C durante 30 min.
- Remover el segmento de remolacha de los dos tubos.
- Comparar la intensidad de color de las soluciones en los tubos.
- Colocar los resultados (intensidad de color vs. temperatura) en la siguiente tabla.

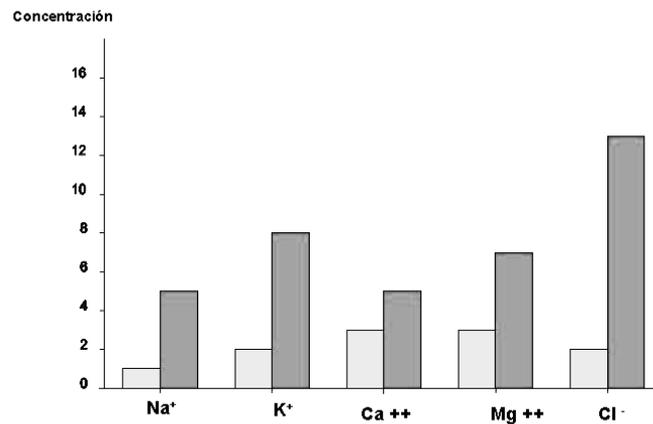
#### Responda:

- ¿Qué tubo mostró más intensidad de color?
- ¿Qué indica la intensidad del color?
- ¿Cómo afectan las temperaturas altas a las membranas celulares?
- ¿Qué ocurre con las membranas celulares a temperaturas bajas?

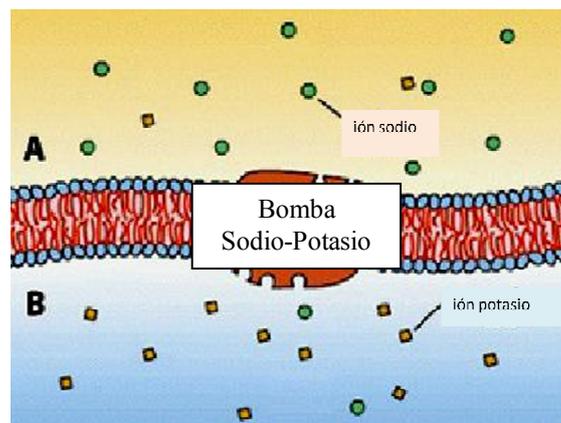
EFECTO DE LA TEMPERATURA		
Tubo	Temperatura	Intensidad de color de la solución
1		
2		

#### 4.- Problemas

a) En la siguiente gráfica se representan las concentraciones relativas de diferentes iones en el agua de un lago (barras claras) y en el citoplasma del alga *Nitella sp* que se encuentra abundantemente en el mismo (barras oscuras). ¿Qué tipo de transporte a través de la membrana permitirá tales diferencias en la concentración iónica entre las células y su medio circundante?



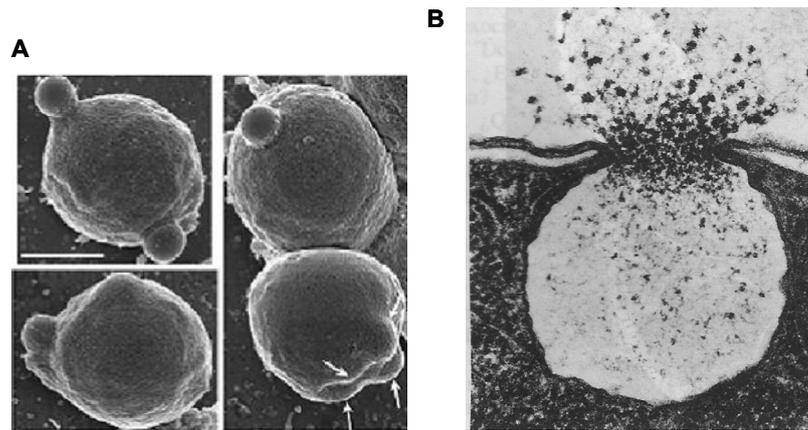
b) Observe el siguiente esquema:



1. Establezca en la imagen cual es el medio extracelular y el intracelular.
2. ¿Qué tipo de transporte a través de membrana está involucrado en la relación esquematizada?

3. Explique la dirección del transporte de los iones indicados.
  4. Justifique si es necesario o no, el uso de energía. ¿Qué molécula es la que contiene la energía, en el caso de que fuera necesaria?
- c) Las siguientes figuras corresponden a micrografías obtenidas por microscopía electrónica, en ellas se observa:

- A-** un glóbulo blanco fagocitando bacterias durante una respuesta de defensa del organismo.
- B-** un segmento de una célula secretora en pleno proceso de liberación hacia el medio extracelular.



Imágenes extraídas de: Invitación a la Biología. H. Curtis, N Barnes. 4ª Edición.

**Responda:**

- ¿Cómo se denominan los procesos que aparecen en las micrografías? Identificar cada uno de ellos.
- ¿Por qué supone que en estos casos, no son utilizados mecanismos de transporte como la difusión simple o mediada por proteínas?
- ¿Cómo se reemplazará la membrana utilizada para fabricar una vesícula que ingresa a la región citoplasmática como en **A**?
- ¿Cómo se evitará que la célula crezca desmesuradamente al agregar las membranas de las vesículas que liberan sustancias al exterior como se ve en **B**?

**BIBLIOGRAFÍA**

- CURTIS H., SCHNEK A., MASSARINI A., (2008), Biología. Buenos Aires, Argentina. 7° edición, Editorial Panamericana.
- CAMPBELL N.A. y REECE J.B., (2007), *Biología*. Buenos Aires, Argentina. Editorial Panamericana.

- REYES H. y FORESTIER D. (2004), *Guía de Trabajos Prácticos*. Ponce, Puerto Rico. Departamento de Biología. Biol 3013.
- ESCUDERO N. et al. (2017), *Guía de trabajos prácticos de Biología General y Celular*. San Luis, Argentina. Nueva Editorial Universitaria-UNSL.ISSN: 2545-7683 2017
- ESCUDERO N. et al. (2016), *Guía de Trabajos Prácticos de Biología General y Celular*. San Luis, Argentina. Nueva Editorial Universitaria-UNSL. ISBN: 978-987-733-049-6 2016.

#### **SITIOS WEBS**

- [http:// academic.uprm.edu/~jvelezg/lab7.pdf](http://academic.uprm.edu/~jvelezg/lab7.pdf)
- [http:// www.podotroclear.com](http://www.podotroclear.com).

## TRABAJO PRÁCTICO N° 3

### ORGANELAS: SISTEMA DE ENDOMEMBRANAS. CITOESQUELETO.

#### OBJETIVOS

- Reconocer las organelas celulares representadas en un video educativo.
- Describir las organelas del sistema de endomembranas.
- Distinguir los componentes del citoesqueleto y explicar su estructura y función.
- Identificar las etapas del tránsito dinámico vesicular y su relación con el citoesqueleto.
- Resolver problemas utilizando los conocimientos adquiridos.

#### TEMARIO:

Organelas e inclusiones. Sistema de endomembranas. Retículo endoplásmico, tipos morfológicos y funcionales. Ribosomas. Aparato de Golgi. Lisosomas. Vacuolas. Vesículas. Peroxisomas. Citoesqueleto: microtúbulos, filamentos intermedios, microfilamentos, centriolos, cilios y flagelos. Morfología y función de cada una de estas organelas.

#### ACTIVIDADES

##### Observación del video educativo

Reconocer las organelas celulares representadas en el video "The inner life of the cell" (BioVisions Harvard University. 2007).

##### Cuestionario

1. El siguiente esquema muestra el transporte de lípidos sintetizados en el Retículo Endoplasmático Liso (REL) hacia los distintos destinos.

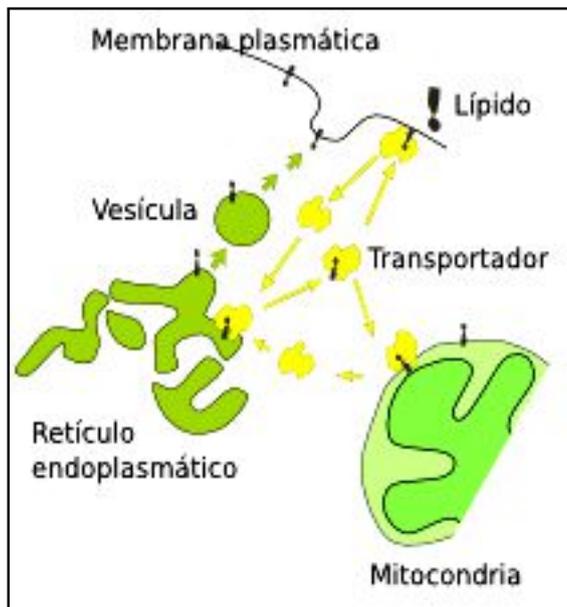
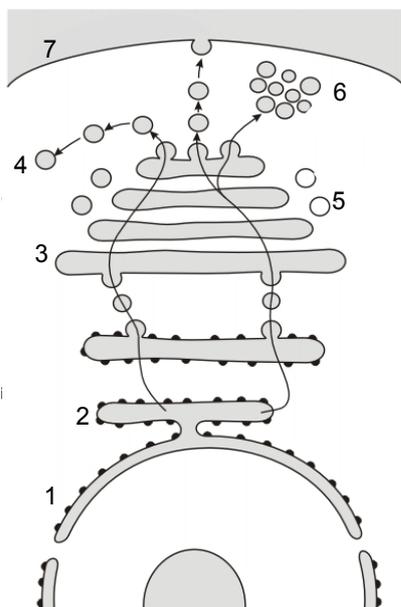


Imagen extraída del "Atlas de histología vegetal y animal". Universidad de Vigo, España. <https://mmegias.webs.uvigo.es/5-celulas/5-reticulo.php>.

¿De qué forma se dirigen los fosfolípidos sintetizados en el REL hacia las diferentes membranas celulares? ¿Cómo se mantiene la asimetría de las membranas en relación a la composición fosfolipídica?

2. En el siguiente esquema identifique las estructuras señaladas con números:



- 1: .....
- 2: .....
- 3: .....
- 4: .....
- 5: .....
- 6: .....
- 7: .....

Imagen modificada de [www.genomasur.com](http://www.genomasur.com)

**3.** Ordene cronológicamente la siguiente secuencia de paso en la síntesis de una glicoproteína de membrana plasmática:

- I. Síntesis y glicosilación de la proteína en el Retículo Endoplasmático Rugoso (RER).
- II. Reconocimiento del péptido señal.
- III. Modificación del terminal glucídico de la proteína, en el aparato de Golgi
- IV. Unión del ARNm a ribosomas libres.
- V. Formación de una vesícula de transporte en el Trans Golgi.

**4.** Dibuje la glicoproteína, mencionada en la pregunta anterior, en las siguientes zonas del sistema intracelular de membranas: RER, aparato de Golgi, vesícula y membrana plasmática. Identifique claramente la zona proteica (con una línea) y la glucosídica (con un cuadrado).

**5.** ¿Cuáles son los posibles destinos que podría presentar una proteína sintetizada en ribosomas asociados al RER? ¿Qué destino tienen las proteínas sintetizadas en los ribosomas libres? Las proteínas sintetizadas en éstos últimos, ¿son glicosiladas?

**6.** Marque la/s opción/es correcta/s:

Un ejemplo de proteína sintetizada en ribosomas que se asocian a la membrana del RER es o son:

- ( ) la trombina, proteína de secreción.
- ( ) SREBP, proteína integral de la membrana del REL.
- ( ) el receptor LDL, proteína de la membrana plasmática.
- ( ) Histona, proteína asociada al ADN.

**7.** Identifique la organela esquematizada a continuación. ¿Dónde son sintetizados sus constituyentes membranosos y su contenido? ¿Qué función tienen las proteínas ubicadas en su interior, mencionadas en el esquema? ¿Cómo describiría a la membrana de esta organela? ¿A través de qué mecanismo mantiene el pH interno inferior al pH citoplasmático?

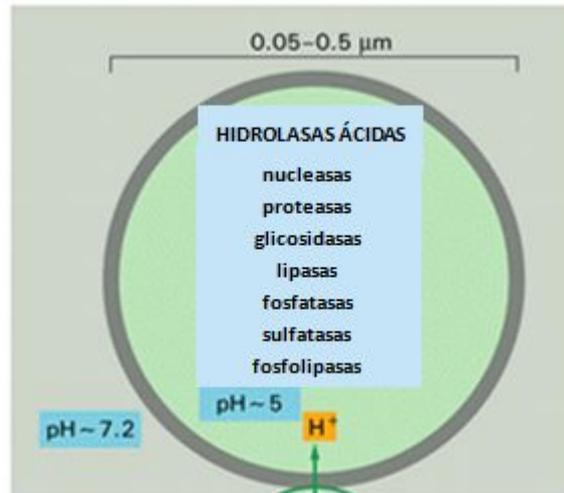


Imagen extraída y modificada de Albert y col. 1998.

8. Compare estructuralmente y diferencie funcionalmente entre los siguientes términos: peroxisomas, lisosomas, vesículas y vacuolas.
9. Las células principales de la mucosa estomacal son las encargadas de sintetizar y secretar el pepsinógeno (proenzima proteolítica). Si fuera un científico y comprobara que las vesículas del interior de estas células no son transportadas a su destino final, ¿cuál pensaría que es la causa de este problema? ¿Qué posible consecuencia le traería esta situación al organismo afectado?
10. Realice un cuadro comparativo entre los componentes del citoesqueleto en cuanto a:

<b>Componentes del citoesqueleto</b>			
<b>Proteínas que los componen</b>			
<b>Estabilidad</b>			
<b>Polaridad</b>			
<b>Diámetro de las fibras</b>			
<b>Localización celular</b>			
<b>Funciones</b>			

11. Teniendo en cuenta la frase: “La estructura está íntimamente relacionada a la función”, explique el porqué de la estabilidad de los filamentos intermedios.
12. Imagine una célula que ha sufrido una alteración metabólica cuya consecuencia es la ausencia de la capacidad de polimerización de los microtúbulos; proponga hipótesis acerca de la causa de este problema y predicciones de lo que pasaría respecto a las funciones celulares.

**Observación del video “Tráfico intracelular”.**

- a) ¿A qué tipo celular corresponde la célula que se observa?
- b) ¿Qué macromolécula sale del núcleo a través de los poros nucleares? ¿Hacia dónde se dirige? ¿Qué función va a cumplir?
- c) Tanto en el video como en la siguiente imagen se muestra cómo un ribosoma citosólico libre, se adosa al retículo endoplasmático para la síntesis de una proteína. Elabore un texto que explique la secuencia de dicho proceso usando los siguientes términos: ribosomas libres, ARN mensajero, péptido señal, traslocador, proteína integral de membrana, proteína en la luz del RER.

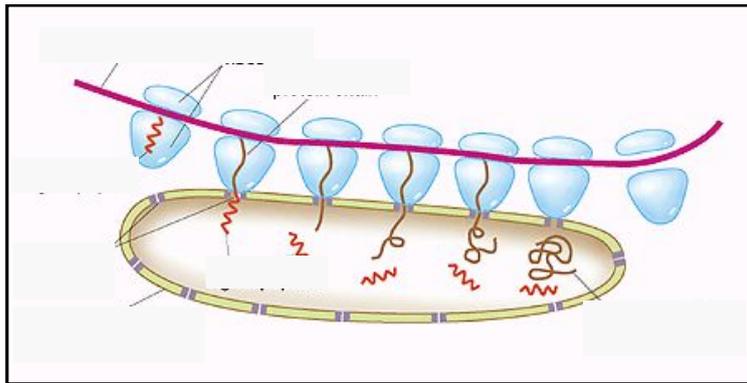
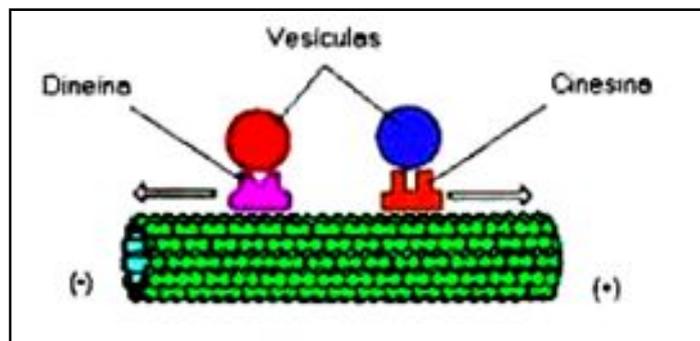


Imagen extraída de <http://www.cardionet.es/Enfermedades/V2/Las-proteinas-tienen-senales-intrinsecas-que-gobiernan-su-transporte-y-localizacion-en-la-celula.html>.

- d) Explique el procedimiento por el cual una vesícula se transporta de una organela del sistema intracelular de membranas hacia otra organela del mismo sistema.
- e) Indique en los siguientes esquemas, qué estructuras celulares están presentes, qué función realizan y qué relación guardan entre sí. Relacione la formación de vesículas con la endocitosis, la exocitosis y el sistema intracelular de membranas.



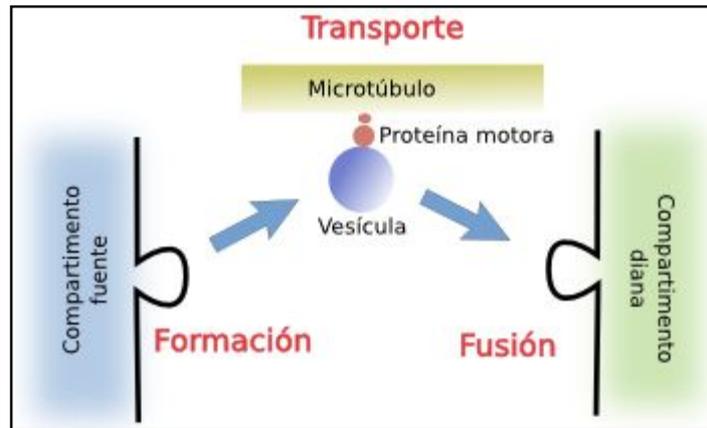


Imagen extraída del "Atlas de histología vegetal y animal".  
 Universidad de Vigo, España. <https://mmegias.webs.uvigo.es/5-celulas/ampliaciones/5-vesiculas.php>.

- f) Describa estructuralmente al aparato de Golgi. ¿Cómo definiría su función?
- g) ¿Cuál será el contenido interno del aparato de Golgi que le permita modificar las sustancias que a él le llegan?
- h) ¿Cuántos tipos de vesículas se pueden diferenciar en el aparato de Golgi?

#### BIBLIOGRAFÍA

- CURTIS H. y BARNES S., (2000), *Biología*. Buenos Aires, Argentina. 6° Edición, Editorial Médica Panamericana.
- CAMPBELL N.A. y REECE J.B., (2007), *Biología*. Buenos Aires, Argentina. 7° Edición, Editorial Médica Panamericana.
- CURTIS H., SCHNEK A., MASSARINI A., (2008), *Biología*. Buenos Aires, Argentina. 7° Edición, Editorial Médica Panamericana.
- PURVES W.K., SADAVA D., ORINAS G.H. Y SÉLLER H.C., (2003), *Vida, La Ciencia de la Biología*. Buenos Aires, Argentina. 6° Edición, Editorial Médica Panamericana.
- ALBERTS B., BRAY D., HOPKIN K., JOHNSON A., LEWIS J., RAFF M., ROBERTS K., WALTER P., (2006), *Introducción a la Biología Celular*. Buenos Aires, Argentina. 2° Edición, Editorial Médica Panamericana.
- LODISH H., BERK A., KAISER C.A., KRIEGER M., BRETSCHER A., PLOEGH H., AMON A. Y SCOTT M.P., (2005), *Biología Celular y Molecular*. Buenos Aires, Argentina. 5° Edición, Editorial Médica Panamericana.
- ESCUDERO N. et al., (2016), *Guía de Trabajos Prácticos de Biología General y Celular*. San Luis, Argentina. 1ª Edición San Luis, Nueva Editorial Universitaria-UNSL. ISBN: 978-987-733-049-6

## SITIOS WEBS

- Harvard University: <http://www.xvivo.net/animation/the-inner-life-of-the-cell/>. Video "The inner life of the cell" (Bio Visions al Harvard University. 2007).
- <http://mmegias.webs.uvigo.es/5-celulas/1-introduccion.php>.
- <https://mmegias.webs.uvigo.es/5-celulas/ampliaciones/5-vesiculas.php>.
- <https://www.genomasur.com>
- <http://www.cardionet.es/Enfermedades/V2/Las-proteinas-tienen-senales-intrinsecas-que-gobiernan-su-transporte-y-localizacion-en-la-celula.html>.

## TRABAJO PRÁCTICO N° 4

### METABOLISMO CELULAR: GLUCÓLISIS. MITOCONDRIA. RESPIRACIÓN CELULAR

#### OBJETIVOS

- Comprender el proceso de metabolismo celular.
- Interpretar la clasificación de las diferentes reacciones metabólicas.
- Identificar las diferentes rutas metabólicas constituyentes del metabolismo celular.
- Reconocer los sitios celulares donde se llevan a cabo las rutas metabólicas.
- Describir la mitocondria y comprender su importancia en la producción de energía.
- Entender cómo el transporte de electrones impulsa la síntesis de ATP en la mayoría de las células.
- Comprender el balance energético derivado del catabolismo aerobio y las diferencias fundamentales con el proceso anaerobio.
- Comprobar en el laboratorio la actividad metabólica de levaduras en presencia y ausencia de un inhibidor del metabolismo celular.

#### TEMARIO:

Metabolismo celular. Obtención de energía. Respiración celular. Glucólisis. Oxidación del piruvato. Ciclo de Krebs. Cadena respiratoria. Teoría quimioosmótica. Fermentación. Rendimiento energético.

#### ACTIVIDADES

##### CUESTIONARIO

1. Todos los organismos vivos llevan a cabo numerosas reacciones químicas en el interior de sus células, en una serie de procesos conocido conjuntamente como *metabolismo*. Dentro del metabolismo celular, algunas reacciones consumen energía mientras que otras la liberan.

Según este criterio:

- a. ¿Cómo clasificaría las reacciones metabólicas? Explique en qué se diferencian.
- b. Diferencie además reacciones catabólicas y anabólicas.

2. El siguiente cuadro muestra algunas reacciones generales de varios procesos metabólicos.

- A.  $\text{Glucosa} + \text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{ATP}$
- B.  $\text{Aminoácido} + \text{Aminoácido} + \dots + \text{Aminoácido} + \text{Energía} \rightarrow \text{Proteína}$
- C.  $\text{Glucosa} \rightarrow \text{Alcohol etílico} + \text{CO}_2 + \text{ATP}$
- D.  $\text{Acido graso} + \text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{ATP}$
- E.  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{Energía} \rightarrow \text{Glucosa} + \text{O}_2$

- a. Indique a qué rutas metabólicas corresponde cada reacción.
- b. Indique cuales corresponden al anabolismo autótrofo, anabolismo heterótrofo o al catabolismo.

3. En la siguiente microfotografía de una célula hepática, se observa un típico orgánulo subcelular ocupando la mayor parte de la misma.

a) ¿Cuál es su nombre? ¿Existe esta estructura en las células vegetales? ¿Y en las células procariontas? Explique.

b) ¿Qué función tiene este orgánulo y qué relación mantiene con el oxígeno?



Imagen extraída de introducción a la Biología Celular de Alberts. 2006.

4. En el esquema adjunto se muestran diversos procesos celulares que tienen lugar en el citoplasma y en la mitocondria.

- a. Describa la estructura de la mitocondria indicando sus componentes en la imagen.
- b. Identifique los procesos señalados con los números.

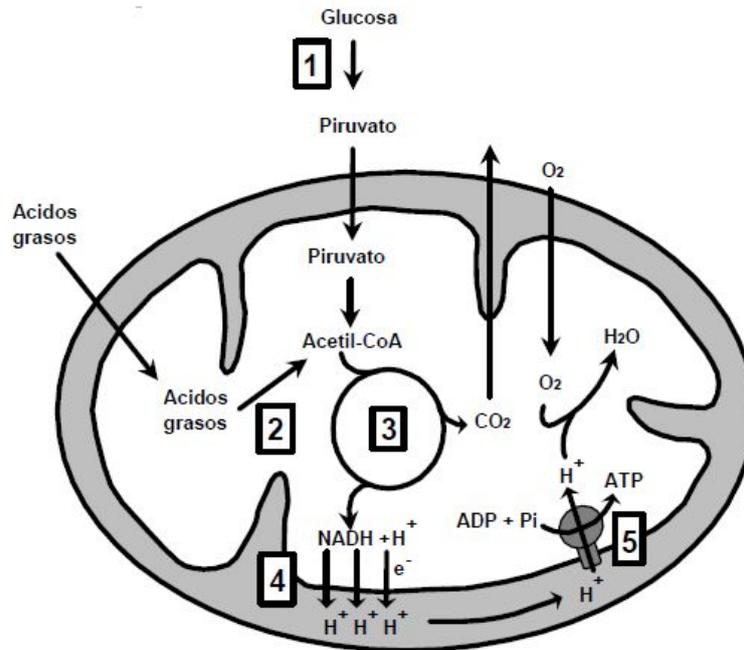


Imagen modificada de [www.genomasur.com](http://www.genomasur.com).

5. En la imagen adjunta se muestra sólo una pequeña parte de las reacciones químicas que ocurren en las células.

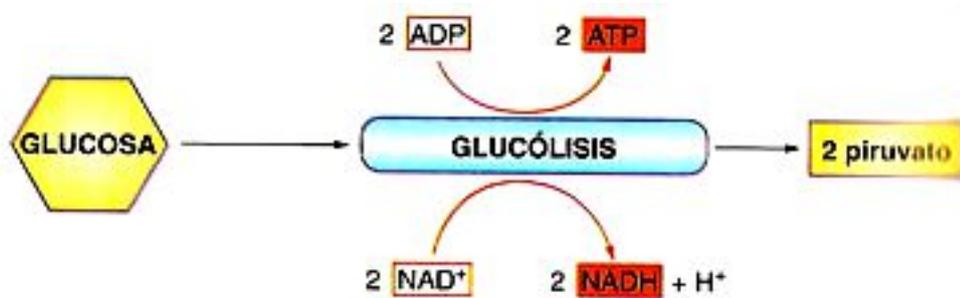


Imagen modificada de <http://www.mas-que-ciencia.com/glucolisis>.

- ¿En qué lugar de la célula se lleva a cabo?
- ¿Qué importancia fisiológica tiene este proceso en los glóbulos rojos humanos?

6. Utilizando la figura siguiente. Responda:

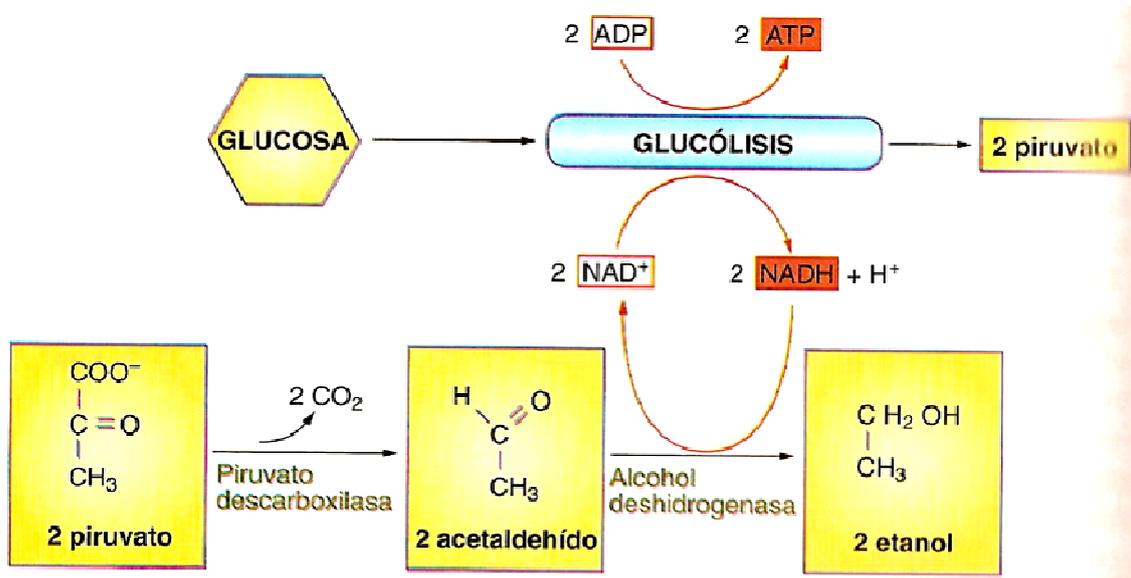


Imagen modificada de <http://www.mas-que-ciencia.com/glucolisis>.

- ¿Cómo se denomina la vía que da como resultado la formación de etanol?
- ¿Hay alguna relación entre la presencia de oxígeno en las células y el hecho de que el ácido pirúvico tome esta vía?

7. En la siguiente imagen se indican una serie de reacciones cíclicas que tienen lugar en la mitocondria. (C6, C5 y C4 son compuestos de 6, 5 y 4 átomos de carbono, respectivamente).

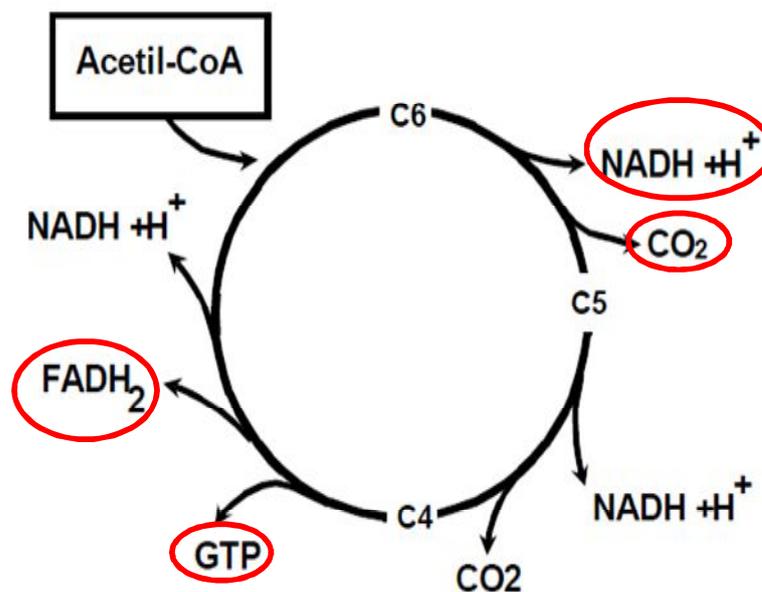


Imagen modificada de [www.genomasur.com](http://www.genomasur.com).

- ¿Qué proceso metabólico se representa? ¿Dedónde proviene el Acetil CoA y que destino tiene una vez producido? ¿El Acetil CoA, se forma también en condiciones de anaerobiosis? ¿Qué función cumple la coenzima A?
- ¿En qué lugar de las células se llevan a cabo las mismas?
- Usando sus conocimientos de metabolismo celular, indique cual es el destino de las diferentes moléculas producidas en el ciclo y encerradas en un círculo.

8. En el siguiente esquema:

- Coloque nombre a los procesos representados con los números del 1 al 3.
- ¿En qué lugar de la mitocondria ocurren?
- ¿Cómo actúan los siguientes pares: ADP / ATP,  $\text{NAD}^+$  / NADH y  $\text{FAD}$  /  $\text{FADH}_2$ ? Diga el nombre completo de ellos.
- ¿Dentro de qué tipo de compuestos químicos ubicaría los pares antes mencionados? Descríbalos.

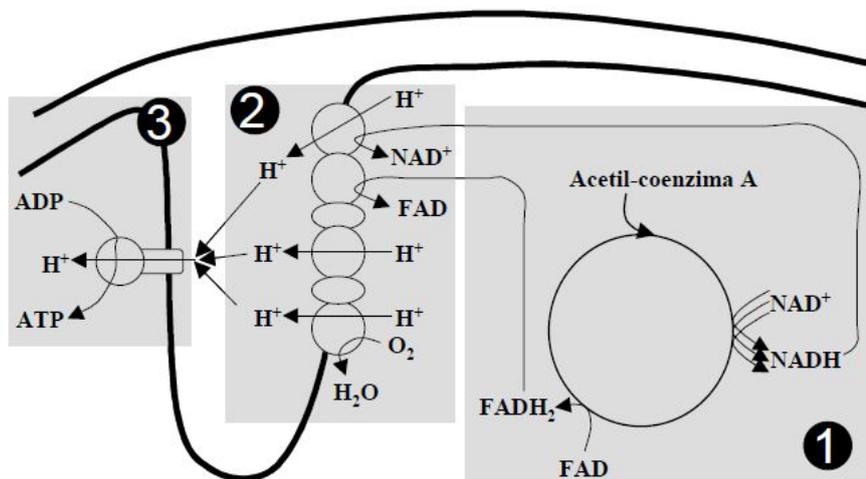


Imagen modificada de [www.genomasur.com](http://www.genomasur.com)

9. La siguiente figura muestra en detalle la cadena de transporte electrónico en la mitocondria:

- ¿Cómo está constituida? ¿En qué lugar de la mitocondria se localiza físicamente?
- ¿Qué función tiene?
- ¿Cómo funcionan los transportadores transmembrana que intervienen en la cadena? ¿Qué finalidad tienen?
- El monóxido de carbono es un poderoso inhibidor de la citocromo-oxidasa (complejo III), ¿qué efectos puede tener la intoxicación con monóxido de carbono sobre el consumo de  $\text{O}_2$ ? Explique.

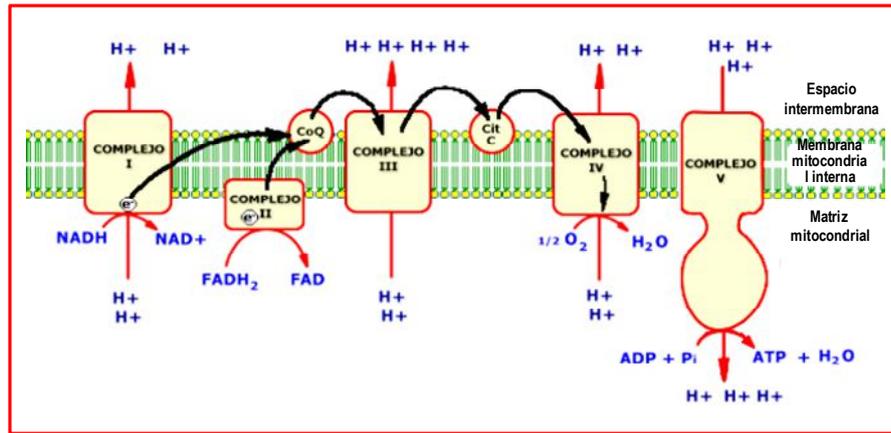


Imagen extraída de <http://gehirnbiophysik.blogspot.com.ar/>

10. La siguiente figura muestra el proceso de fosforilación oxidativa.

- Defina fosforilación oxidativa y establezca las diferencias con fosforilación a nivel sustrato.
- El ATP producido en este proceso es utilizado para distintos trabajos biológicos, ¿cómo se transporta al citoplasma celular?
- En la década del 40, algunos médicos recetaron bajas dosis de una droga llamada dinitrofenol (DNP) para ayudar a sus pacientes a bajar de peso. Posteriormente, varios estudios determinaron que el DNP permeabiliza la bicapa lipídica de la membrana interna de la mitocondria a los  $H^+$ . Explique qué proceso se encuentra desacoplado en estos pacientes:

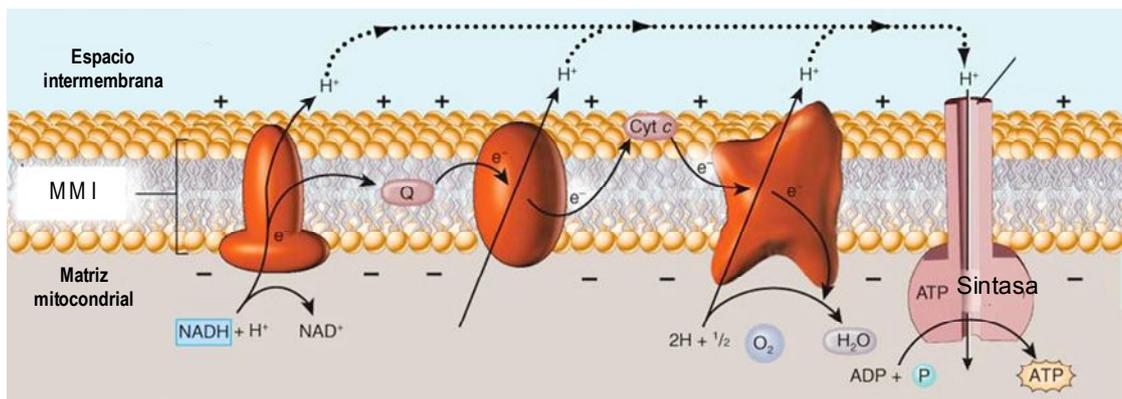


Imagen extraída de <http://www.uaz.edu.mx/>

11. Con la ayuda del siguiente esquema, complete el cuadro del balance energético del catabolismo aerobio de la glucosa.

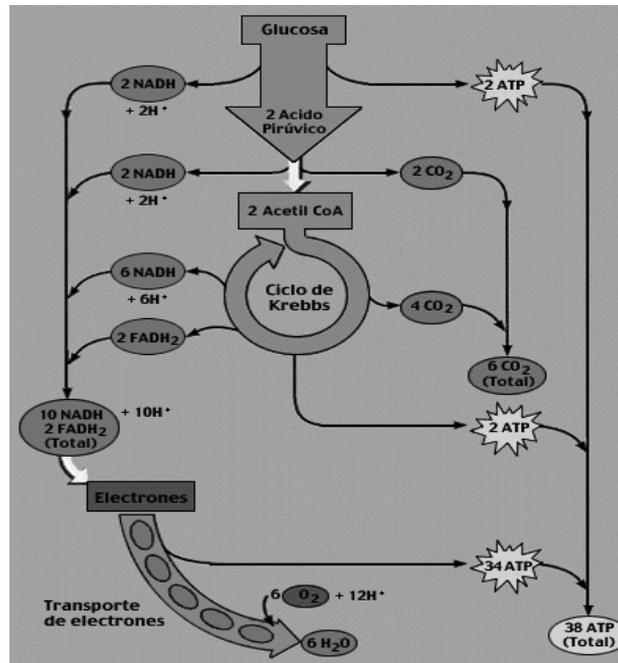


Imagen extraída de Introducción a la Biología Celular de Alberts. 2006.

	A partir de un mol de Glucosa	Nº de coenzimas reducidas	Producción de ATP por fosforilación oxidativa	Producción de ATP por fosforilación a nivel sustrato	Total
Citoplasma	Glucolisis		2x3= 6 ATP		
Mitocondria	Pirúvico a acético	2 NADH+ 2H <sup>+</sup>		0	
	Ciclo de Krebs				
Total					38 ATP

12. Si la glucosa está constituida por: carbono, hidrógeno y oxígeno, explique:

- ¿Cuál es el destino del H<sup>+</sup> que se desprende en el proceso catabólico?
- ¿En qué parte de la vía se produce CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O?
- ¿De dónde proviene la energía almacenada en la glucosa?

d. ¿Qué importancia tienen las enzimas en el proceso catabólico? ¿Y en el anabólico?

## BIBLIOGRAFÍA

- CAMPBELL N.A. y REECE J.B., (2007), *Biología*. Buenos Aires, Argentina. 7° Edición, Editorial Médica Panamericana.
- CURTIS H., SCHNEK A., MASSARINI A., (2008), *Biología*. Buenos Aires, Argentina. 7° Edición, Editorial Médica Panamericana.
- PURVES W.K., SADAVA D., ORINAS G.H. Y SÉLLER H.C., (2003), *Vida, La Ciencia de la Biología*. Buenos Aires, Argentina. 6° Edición, Editorial Médica Panamericana.
- ALBERTS B., BRAY D., HOPKIN K., JOHNSON A., LEWIS J., RAFF M., ROBERTS K., WALTER P., (2006), *Introducción a la Biología Celular*. Buenos Aires, Argentina. 2° Edición, Editorial Médica Panamericana.
- LODISH H., BERK A., KAISER C.A., KRIEGER M., BRETSCHER A., PLOEGH H., AMON A. Y SCOTT M.P., (2005), *Biología Celular y Molecular*. Buenos Aires, Argentina. 5° Edición, Editorial Médica Panamericana.
- LÓPEZ PÉREZ J.P. Y BORONAT GIL R., (2013), *Estudio de la inhibición de la respiración/fermentación en células de levadura por fluoruro de sodio*. Revista Eureka sobre Enseñanza y Divulgación de las Ciencias. 10(1), 133-138.
- ESCUDERO N. et al., (2016), *Guía de Trabajos Prácticos de Biología General y Celular*. San Luis, Argentina. 1ª Edición San Luis, Nueva Editorial Universitaria-UNSL. ISBN: 978-987-733-049-6.

## SITIOS WEBS

- <https://www.genomasur.com>.
- <http://www.mas-que-ciencia.com/glucolisis>.
- <http://gehirnbiophysik.blogspot.com.ar/>
- <http://www.uaz.edu.mx/>

## TRABAJO PRÁCTICO Nº 5

### FOTOSÍNTESIS

#### OBJETIVOS:

- Reconocer los organismos capaces de realizar fotosíntesis.
- Comprender la importancia biológica de la fotosíntesis y conocer los principales mecanismos del proceso fotosintético.
- Analizar la importancia de la energía lumínica y de los pigmentos en el proceso fotosintético.
- Identificar los productos de la fotosíntesis en órganos de reserva.
- Comprobar la presencia de otros plastos.

#### TEMARIO:

Fotosíntesis. Organismos fotosintéticos. Captación de la energía luminosa. Plastos: estructura y función. Fotosistemas. Etapas de la fotosíntesis.

#### MATERIALES

Hojas frescas de acelga	Discos de papel de filtro	Mortero
Hojas frescas de remolacha	Papel de filtro	Vasos de precipitación
Plantas de <i>Elodea</i> sp.	Cartulina negra	Placas de Petri
Hojas de Lirio	Algodón	Erlenmeyer
Banana, papa y/o arroz	Tizas blancas enteras	Tubos capilares
Alcohol etílico	Embudo	Bisturí
Ca Cl <sub>2</sub> anhidro	Tubos de ensayo	Portaobjetos, cubreobjetos
Azul de bromotimol	Pipetas	Microscopio
Solución de lugol	Probeta	Fuente de luz
Arena lavada	Gradillas	

## ACTIVIDADES

### 1. Extracción de pigmentos fotosintéticos

Los pigmentos fotosintéticos son solubles en solventes orgánicos, pudiendo extraerse simultáneamente todos ellos de la hoja y realizar con posterioridad una separación de los mismos mediante su corrida diferencial en un medio adecuado para tal fin.

En la siguiente experiencia se extraerán los distintos pigmentos liposolubles presentes en hojas frescas de plantas usando como solvente extractante alcohol etílico. Posteriormente, mediante una técnica sencilla de cromatografía en papel, usando también alcohol etílico como solvente de corrida, se procederá a la separación y diferenciación de los distintos pigmentos presentes. Dichos pigmentos aparecerán en el cromatograma a diferentes alturas.

a) **Extracción de pigmentos:** para la realización de esta experiencia observe las siguientes imágenes.

1. Tomar las hojas, descartar las nervaduras, cortar en partes pequeñas y machacarlas en el mortero. Agregar arena lavada y cantidad necesaria de alcohol de manera de obtener un extracto (Imágenes 1 y 2, Fig. 1).
2. Filtrar el extracto a través de algodón y luego a través de un disco de papel de filtro colocado en un embudo para obtener una solución de pigmentos en alcohol etílico. Agregar al filtrado una pizca de cloruro de calcio anhidro para extraer el agua (Imágenes 3 y 4, Fig. 1).

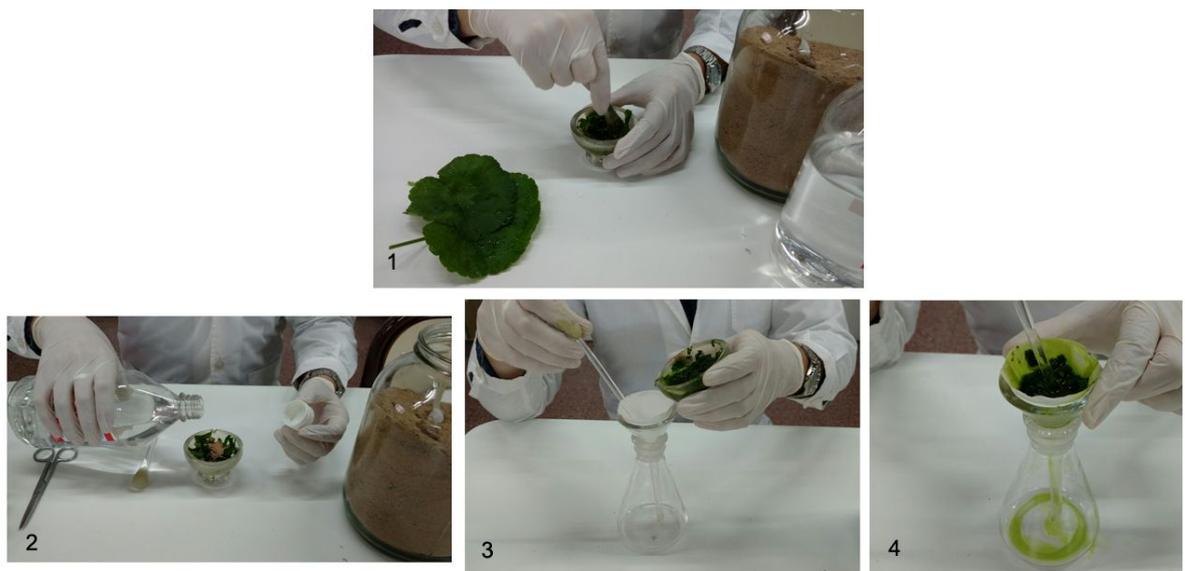


Figura 1: Extracción de pigmentos

b) **Separación de pigmentos:**

1. En rectángulos de papel de filtro, sembrar con un tubo capilar, el extracto de pigmentos a 2 cm del extremo (línea de siembra), dejando secar cada gota antes de agregar la siguiente. Realizar el mismo procedimiento en una tiza de color blanco (Fig. 2).
2. Se coloca el rectángulo de papel de filtro doblado por la mitad formando un ángulo, en un vaso de precipitado o una placa de Petri conteniendo alcohol de modo que éste apenas toque el papel, sin llegar a la línea de siembra. Colocar la tiza en forma vertical dentro de un Erlenmeyer con alcohol, de manera que éste quede por debajo de la línea de siembra (Fig. 3).
3. Dejar correr hasta que el solvente llegue a 1 cm del extremo superior del rectángulo de papel y la tiza. Retirar ambos y dejar secar. Esquematizar lo observado en cada caso colocando referencias.

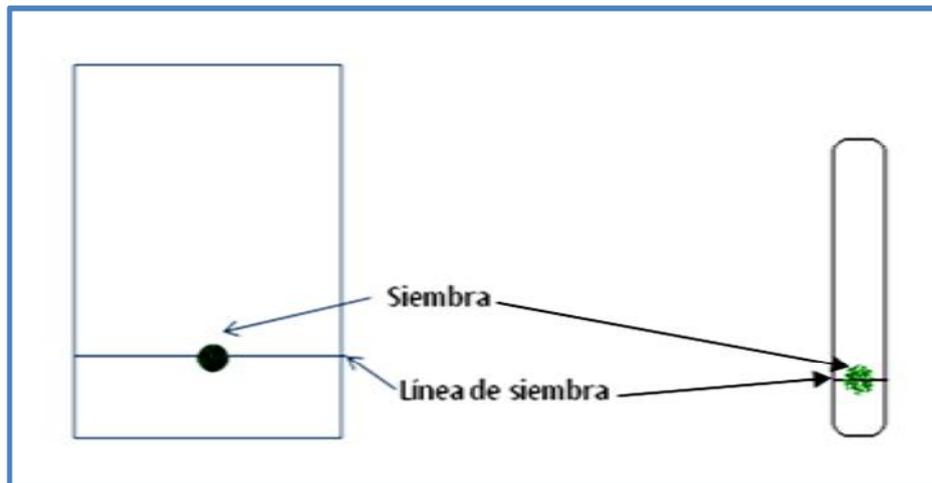


Figura 2: Siembra del extracto en papel de filtro y tiza.

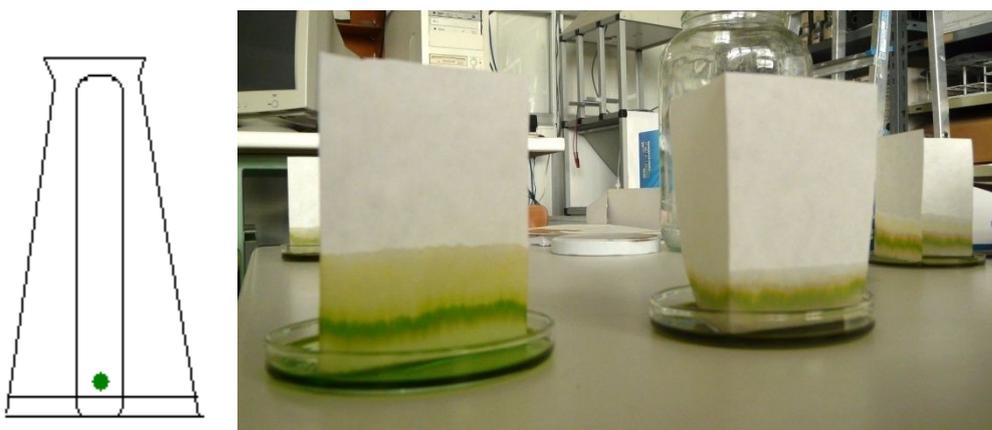


Figura 3: Desarrollo de la técnica cromatográfica.

Imagen extraída de <http://www.edu.xunta.gal/centros/iesxoanmontes/node/352>

Una vez realizada la experiencia, responda las siguientes preguntas:

1. ¿Qué pigmentos podría presumir que tienen las hojas de acuerdo al color que puede visualizar en ellas?
2. Luego de realizar la actividad anterior, establezca qué otros pigmentos se encuentran presentes en los vegetales y qué función cumplen.
3. Realizar un cuadro de clasificación de los pigmentos principales y accesorios presentes en las plantas.

## **2. Consumo de CO<sub>2</sub> durante la fotosíntesis**

Para la realización del punto 1 al 5 observar la Fig. 4.

1. En una probeta de 50 ml colocar 1 ml de solución de azul de bromotimol y llevar a 50 ml con agua corriente. El azul de bromotimol es un indicador de pH (pH 7,6 azul; pH 6 verde-amarillento). Medir el pH de las soluciones.
2. Colocar 10 ml de esta solución en un tubo de ensayo que será el testigo azul.
3. A la solución remanente de la probeta, insuflarle aire con una pipeta hasta que el indicador de pH, vire desde el azul al verde-amarillento.
4. Repartir la solución de color verde-amarillento en tres tubos de ensayo.
5. Uno de ellos será el testigo verde-amarillento; a otro tubo colocarle una ramita de "elodea" y exponer a la luz durante 40 minutos y al tercer tubo colocarle una ramita de "elodea" y tapar con el sobre de cartulina negra durante 40 minutos.
6. Extraer las ramas de "elodea" de ambos tubos de ensayo. Medir el pH de las mismas.
7. Observar y comparar los colores de las soluciones con los colores de los testigos.

Anotar las observaciones realizadas en la Tabla 1.

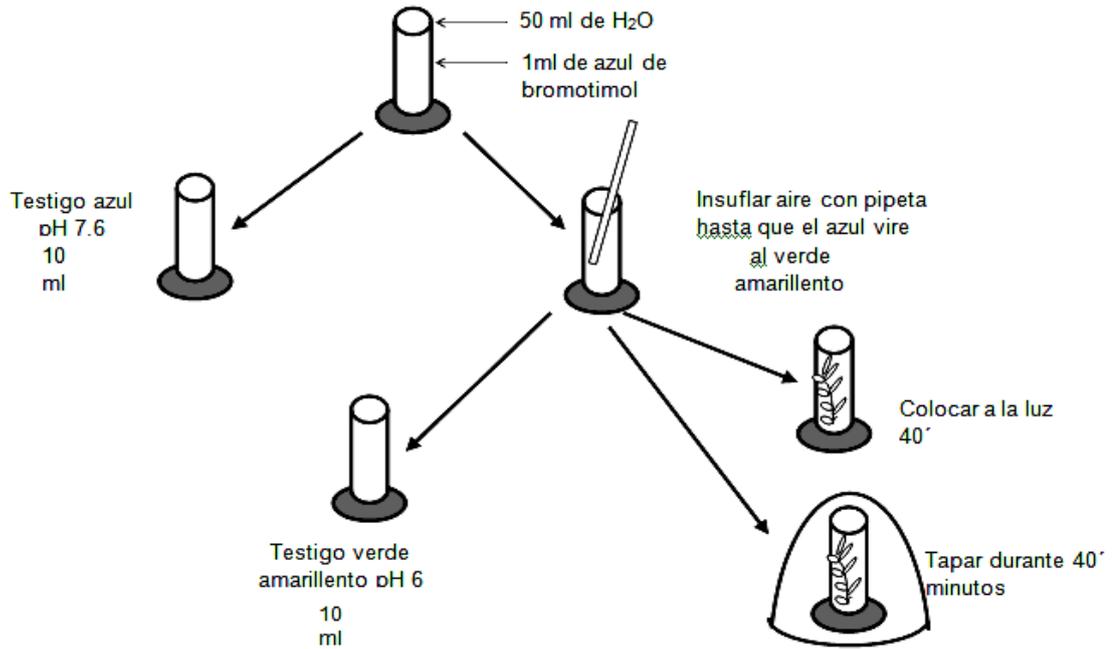


Figura 4: Esquema de preparación del ensayo para observación del consumo de CO<sub>2</sub> durante la fotosíntesis

Tabla 1.

Tratamientos	Color de la solución		pH de la solución	
	inicial	final	inicial	final
Planta + luz				
Planta + oscuridad				

Una vez realizada la experiencia, responder las siguientes preguntas:

1. ¿Por qué la solución cambió de color en el tubo con la planta expuesta a la luz?
2. ¿Qué ocurrió con la solución en el tubo que contiene la planta en la oscuridad?
3. Explique los cambios de pH detectados.

### 3. Observación de estomas en lirio.

1. Con la ayuda de una pinza y bisturí, extraiga una fina película de epidermis de hoja de lirio. Coloque el material extraído en un portaobjetos y por encima una gota de agua. Procure que la porción de epidermis no se arrugue (Fig. 5).



Figura 5: Imágenes obtenidas de <http://www.edu.xunta.gal/centros/iesxoanmontes/node/352>

2. Con el portaobjetos situado encima de la placa de Petri, añada a la muestra unas gotas de colorante azul de metileno y espere 5 minutos para que éste ejerza su acción (Fig. 6).



Figura 6: Imágenes obtenidas de <http://www.edu.xunta.gal/centros/iesxoanmontes/node/352>

3. Transcurrido los 5 minutos elimine el colorante, vertiendo agua sobre la muestra. El exceso de agua o de colorante que queda en los alrededores de la muestra se seca con un trozo de papel de filtro.
4. Coloque encima un cubreobjetos, evite que queden burbujas de aire entre portaobjeto y cubreobjetos.
5. Realice la observación microscópica comenzando con el objetivo de menor aumento para luego ir pasando por los de mayor aumento. Localice el área de la preparación más apta.

La forma de las células epidérmicas y la de los estomas depende del tipo de planta que estemos estudiando. En ocasiones el ostíolo no se ve por encontrarse cerrado; en estos casos se debe preparar otra muestra utilizando una hoja que esté

recién cortada, ya que los ostíolos suelen estar cerrados en las hojas marchitas o bien que llevan mucho tiempo cortadas. Reconocer la presencia de estomas, ver Fig. 7.

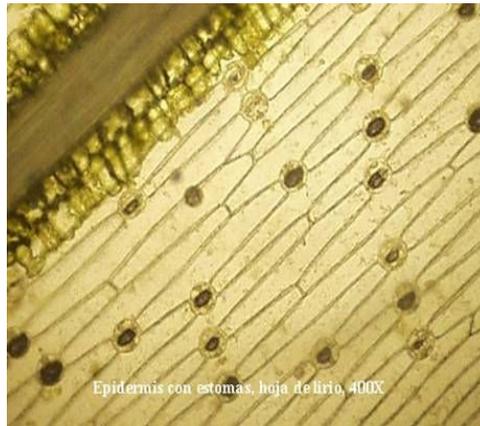
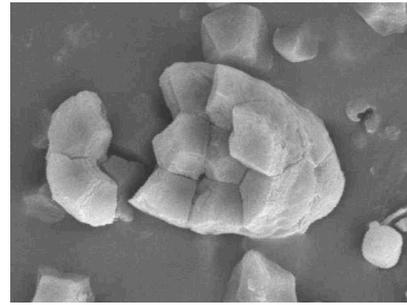
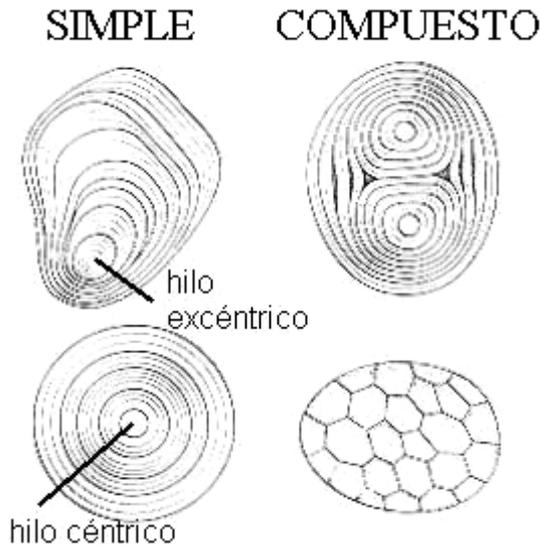


Figura 7: Estomas en hojas de lirio.  
Imagen extraída de: [http://www.classtools.net/brainybox/21\\_ALjmD2](http://www.classtools.net/brainybox/21_ALjmD2)

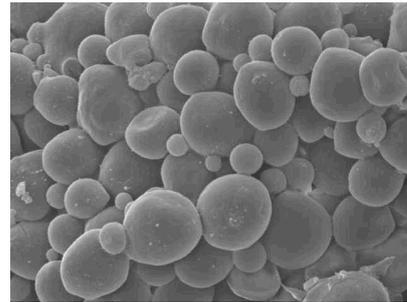
#### 4. Identificación de productos de la fotosíntesis: almidón

La glucosa es el producto directo de la fotosíntesis, pero no permanece como tal, sino que a medida que se forma, se sintetiza almidón, el cual se almacena en los **amiloplastos** de los vegetales. Éstos son plastos especiales que reservan almidón en los tejidos no fotosintéticos, tienen forma muy variada, esféricos, ovoides, alargados (en forma de fémur). Normalmente muestran una deposición en capas alrededor de un punto, el **hilo**, que puede ser **centríco** o **excéntrico**, cuando hay más de un hilo se forman **granos compuestos** (Fig. 8). Para reconocer el almidón se usa una solución de yodo en yoduro de potasio denominada lugol, de color amarillo, que en contacto con el mismo, vira al azul-negro debido a la adsorción o fijación de yodo por parte del almidón.

Microfotografías de Granos de almidón (MEB)



Granos de almidón en arroz (*Oryza sativa*).



Granos de almidón en maíz (*Zea mays*).

Figura 8: Estructura de los amiloplastos.  
Imagen extraída de Nultsch (1966)

1. Cortar un trozo de papa y frotarla sobre un portaobjetos, colocar una gota de solución de lugol, observar al microscopio con 40X. Esquematizar.

##### 5. Identificación de plastos con otras funciones.

La pulpa de tomate nos muestra células en cuyo citoplasma se observan, a través del microscopio óptico, una serie de gránulos rojizos-anaranjados que son los cromoplastos.

1. Partir en dos mitades el tomate con la ayuda de un bisturí.
2. Hacer un corte fino de la pulpa de una de las dos mitades.
3. Depositar el corte sobre un portaobjetos, sin adicionar agua.
4. Colocar un cubreobjetos y comprimir suavemente la preparación con los dedos hasta obtener un completo aplastamiento de la muestra.
5. Examinar la preparación al microscopio con el objetivo 10X y seleccionar una zona en la que las células estén menos aglutinadas.
6. Examinar la preparación al microscopio con los objetivos 40X.
7. Identificar los distintos orgánulos celulares visibles y dibujar las observaciones.

## BIBLIOGRAFÍA

- CAMPBELL N.A. y REECE J.B., (2007), *Biología*. Buenos Aires, Argentina. 7° Edición, Editorial Médica Panamericana.
- CURTIS H. y BARNES S., (2000), *Biología*. Buenos Aires, Argentina. 6° Edición, Editorial Médica Panamericana.
- CURTIS H., SCHNEK A., MASSARINI A., (2008), *Biología*. Buenos Aires, Argentina. 7° Edición, Editorial Médica Panamericana.
- ESCUDERO N. et al., (2016), *Guía de Trabajos Prácticos de Biología General y Celular*. San Luis, Argentina. 1ª Edición San Luis, Nueva Editorial Universitaria-UNSL. ISBN: 978-987-733-049-6.
- SADA VIA D., HELLER G., ORIAN S G., PURVES W., HILLISET D., (2009), *Vida: la ciencia de la biología*. Buenos Aires, Argentina. 7° Edición Editorial, Médica Panamericana.
- ESCUDERO N. et al., (2017), *Guía de trabajos prácticos de Biología General y Celular*. San Luis, Argentina. Nueva Editorial Universitaria-UNSL. ISSN 2545-7683.

## SITIOS WEBS

- <http://www.edu.xunta.gal/centros/iesxoanmontes/node/352>
- [http://www.classtools.net/brainybox/21\\_ALjmD2](http://www.classtools.net/brainybox/21_ALjmD2)

## TRABAJO PRÁCTICO N°6

### DIVISIÓN CELULAR: MITOSIS

#### OBJETIVOS

- Describir las etapas del Ciclo Celular y su regulación.
- Realizar preparados de mitosis utilizando meristema apical de *Allium cepa* (cebolla).
- Identificar y analizar las fases de la mitosis en preparados mitóticos temporarios y permanentes.
- Determinar el Índice Mitótico (IM).
- Comprender la importancia biológica de la mitosis.

#### TEMARIO:

Ciclo celular. Etapas. Control del Ciclo. Cromosomas. Descripción. Mitosis: características de cada fase de la mitosis. Número Haploide. Número Diploide. Valor C. Importancia biológica de la mitosis. Índice Mitótico, su importancia biológica. Citocinesis

#### MATERIALES

Microscopio	Pinzas de madera
Meristema apical de cebolla	Vasos de precipitación de 10 ml.
Alcohol	Papel de filtro
Ácido acético	Baño termostatzado
Colorante carmín acético	Pinzas y tijeras
	Portaobjetos y cubreobjetos

#### ACTIVIDAD PRÁCTICA

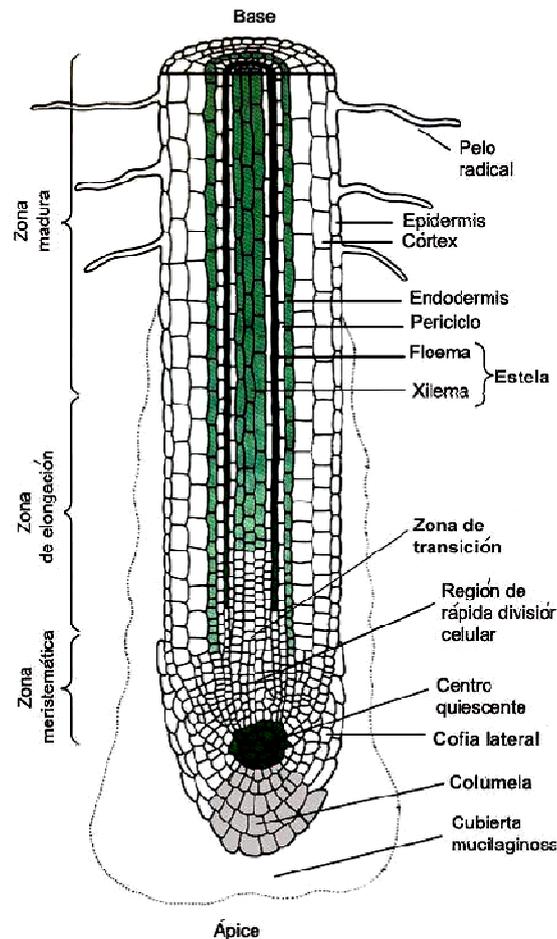
1- Realizar preparados de mitosis a partir de meristema apical de *Allium cepa*.

##### Meristemas

El cuerpo de los vegetales está constituido por dos tipos de tejidos: meristemas o tejidos embrionales y tejidos adultos. Después del crecimiento del embrión en la semilla, la formación de nuevas células queda casi enteramente restringida a los **meristemas**: tejidos permanentemente jóvenes, cuyas células se dividen por mitosis produciendo nuevas células de las cuales se originan nuevos tejidos. Histológicamente

este tejido embrionario está constituido por células de paredes primarias delgadas, núcleo grande y citoplasma denso sin plastos desarrollados.

Los meristemas primarios están presentes en los extremos de raíces y tallos, llamados meristemas apicales, responsables del crecimiento primario (en largo) de la planta. Cuando la planta completa su crecimiento primario aparecen los meristemas secundarios laterales.



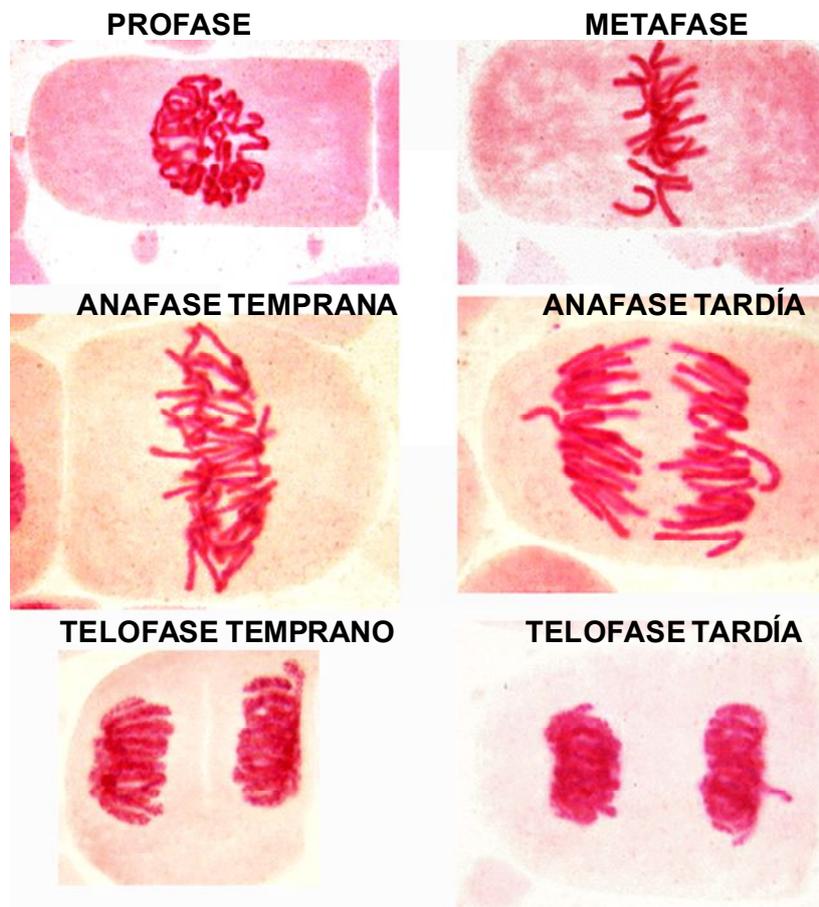
Corte longitudinal de raíz. Extraído de: [http:// biología la guía 2000.com](http://biología.la.guía.2000.com).

### Técnica:

El meristema apical de las raíces se obtiene sumergiendo los bulbos de *Allium cepa* (cebolla) en agua, de modo que ésta cubra la zona de donde emergerán las nuevas raicillas. A temperatura adecuada (25 °C) las raíces comienzan a crecer, al cabo de tres días alcanzan una longitud aproximada de 2 cm, tamaño adecuado para realizar los preparados.

1- Cortar las raicillas y colocarlas en un vaso de precipitación con fijador Carnoy (alcohol: ácido acético 3:1) cuidando que estén totalmente sumergidas.

- 2- Calentar el vaso a baño María con fijador durante 5 min, evitando que el líquido hierva.
- 3- Retirar las raicillas y colocarlas en otro vaso con el colorante carmín acético, calentar a baño María 5 min, moviendo lentamente para evitar ebullición.
- 4- Colocar las raicillas en una caja de Petri, cortar el extremo inferior de cada raíz (zona meristemática) y colocarla en un portaobjetos, agregar una gota de colorante y cubrir con un cubreobjetos.
- 5- Colocar sobre el cubreobjetos un papel de filtro varias veces plegado y presionar tratando de lograr una buena dispersión y disociación de los tejidos (Técnica: aplastado o squash).
- 6- Observar al microscopio con objetivos de 40X e identificar las fases de la mitosis en su preparado, tomando como guía las siguientes figuras:



Imágenes extraídas de [www.ucm.es/info/genetica/AVG/Magnificación 40X](http://www.ucm.es/info/genetica/AVG/Magnificación%2040X).

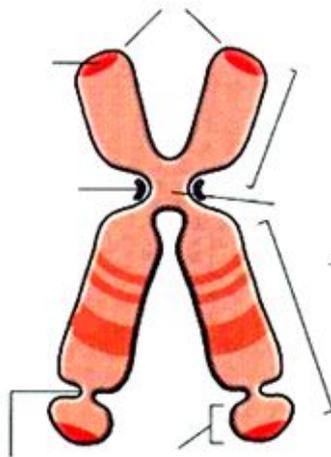
## 2- RESPONDER LAS SIGUIENTES CONSIGNAS

1. Dibuje un esquema del ciclo celular, indicando sus etapas.

2. Relacione los principales sucesos que a continuación se mencionan con las distintas etapas del ciclo celular e insértelos en el esquema que Ud. realizó.

- Crecimiento celular.
- Incremento del número de orgánulos.
- Síntesis de ARN.
- Síntesis de proteínas.
- Reparación del ADN.
- Duplicación del ADN.
- Síntesis de histonas.
- Síntesis de ciclina que interviene en la formación del FPM (Factor promotor de la mitosis).
- Formación del huso mitótico.
- Duplicación de los centriolos.
- Separación de los centriolos.
- Participación de los componentes del citoesqueleto.

3. La siguiente figura representa un cromosoma:

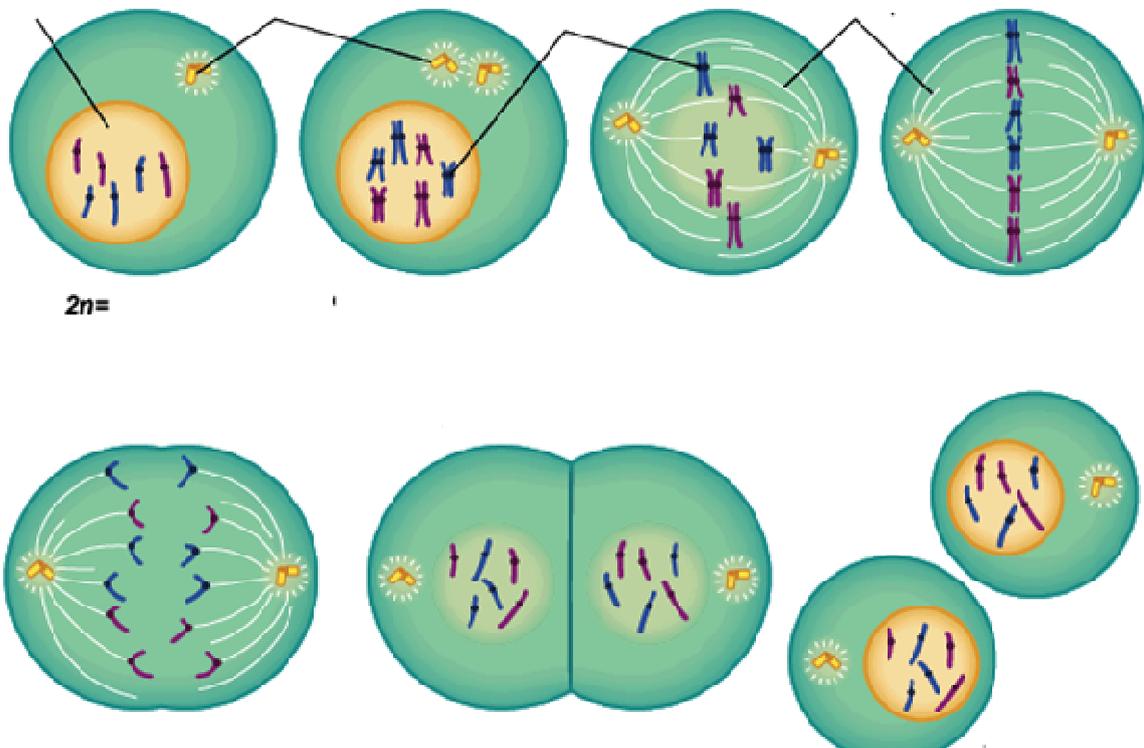


- ¿Qué es un cromosoma? Indique sus partes sobre la imagen.
- ¿Cuál es la composición química de un cromosoma?
- ¿Las cromátidas hermanas, llevan la misma información genética?
- Según la posición del centrómero ¿cómo es este cromosoma?
- ¿En qué fase de la mitosis los cromosomas alcanzan su máxima condensación?. ¿Cuál es la finalidad?

- Diferencie: gen/alelo, cromosomas duplicados/cromosomas homólogos, haploide/diploide, células somáticas/células germinales.

4. La figura siguiente representa un proceso de división celular.

- Asigne el nombre a cada fase y complete las líneas de cada figura.
- Indique el número cromosómico de la célula madre.
- ¿Las células resultantes podrían ser gametos? ¿Por qué?
- ¿Cuál es el significado biológico de la división celular por mitosis para los organismos unicelulares y cuál para los pluricelulares?



5. ¿Cómo se produce en los animales el proceso de citocinesis? Elija la opción correcta y luego explique el proceso.

- Por gemación
- Por escisión
- Por estrangulación
- Por formación de un tabique central

6. En los vegetales el proceso de citocinesis se realiza con la participación de vesículas procedentes del aparato de Golgi. ¿Por qué?

7. El tiempo y la velocidad de la división celular en distintas partes de un organismo son cruciales para el crecimiento, desarrollo y mantenimiento. Los mecanismos de regulación permiten controlar los ciclos vitales de células normales y comprender también porqué las células cancerosas escapan a este control. Basados en investigaciones realizadas en huevos de anfibios los investigadores imaginan la existencia de un “reloj central bioquímico” que controla las fases del ciclo.

- ¿Cuáles son las proteínas que regulan el “reloj” del ciclo celular?
- ¿Cómo interaccionan estas proteínas?
- ¿Qué es el factor promotor de la mitosis, como está formado y que procesos controla?
- ¿Cuáles son los principales puntos de control? y ¿qué se controla en cada una de ellos?

## BIBLIOGRAFÍA

- CURTIS H. y BARNES S., (2000), *Biología*. Buenos Aires, Argentina. 6º Edición, Editorial Médica Panamericana.
- PURVES W.K., SADAVA D., ORINAS G.H. Y SÉLLER H.C., (2003), *Vida, La Ciencia de la Biología*. Buenos Aires, Argentina. 6º Edición, Editorial Médica Panamericana.
- ALBERTS B., BRAY D., LEWIS J., RAFF M., ROBERTS K., WATSON J.D., (2004), *Biología Molecular de la Célula*. Barcelona, España. 4ª Edición, Editorial Omega.
- ALBERTS B., BRAY D., HOPKIN K., JOHNSON A., LEWIS J., RAFF M., ROBERTS K., WALTER P., (2006), *Introducción a la Biología Celular*. Buenos Aires, Argentina. 2º Edición, Editorial Médica Panamericana.
- LODISH H., BERK A., KAISER C.A., KRIEGER M., BRETSCHER A., PLOEGH H., AMON A. Y SCOTT M.P., (2005), *Biología Celular y Molecular*. Buenos Aires, Argentina. 5º Edición, Editorial Médica Panamericana.
- ESCUDERO N. et al., (2016), *Guía de Trabajos Prácticos de Biología General y Celular*. San Luis, Argentina. 1ª Edición San Luis, Nueva Editorial Universitaria-UNSL. ISBN: 978-987-733-049-6.

## **SITIOS WEBS**

- [http:// biología la guía 2000.com](http://biología.la.guía.2000.com).
- [http://www.ucm.es/info/genetica/AVG/Magnificación 40X](http://www.ucm.es/info/genetica/AVG/Magnificación_40X).

## TRABAJO PRÁCTICO N° 7

### MITOSIS Y MEIOSIS: PROCESOS SIMILARES PERO DIFERENTES

#### OBJETIVOS

- Describir detalladamente las fases de ambos tipos de división celular.
- Explicar el proceso de condensación del material genético.
- Analizar los mecanismos de distribución de los cromosomas en cada célula hija.
- Comprender la importancia de la mitosis en la constancia del material hereditario y de la meiosis en la diversidad genética.
- Reconocer la importancia de la variabilidad genética en los seres vivos y en el proceso evolutivo.
- Definir y usar correctamente el vocabulario específico.

#### TEMARIO

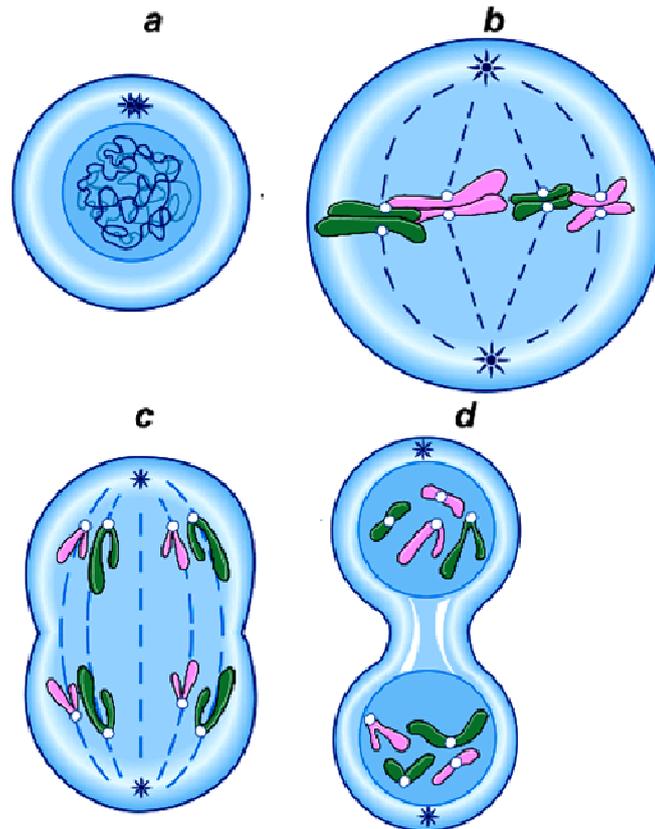
División celular. Empaquetamiento de ADN. Descripción general de mitosis, meiosis y citocinesis. Características de cada fase. Movimiento de los cromosomas. Importancia biológica. Variabilidad genética. Diferencia entre mitosis y meiosis.

Nota: para la realización de este trabajo practico, el alumno deberá saber definir y usar correctamente el siguiente vocabulario específico: gen, alelo, replicación de material genético, cromátides hermanas, cromosomas homólogos, cromosoma replicado, cromosoma no replicado. Haploide. Diploide.

1. Describa cada proceso mencionado a continuación, indicando en cada caso en qué momento del ciclo celular ocurre y en qué tipo de división:

- a. Empaquetamiento de ADN.
- b. Desorganización de la lámina nuclear.
- c. Movimiento de los cromosomas.
- d. Apareamiento de cromosomas homólogos.

2. Realice una gráfica de variación del valor C respecto al tiempo. Observe las siguientes imágenes y ubíquelas en dicha gráfica.



3. Diga si la siguiente aseveración es cierta:

**“En la mitosis la recombinación genética es entre cromátidas hermanas y en la meiosis entre cromátidas no hermanas de cromosomas homólogos”.**

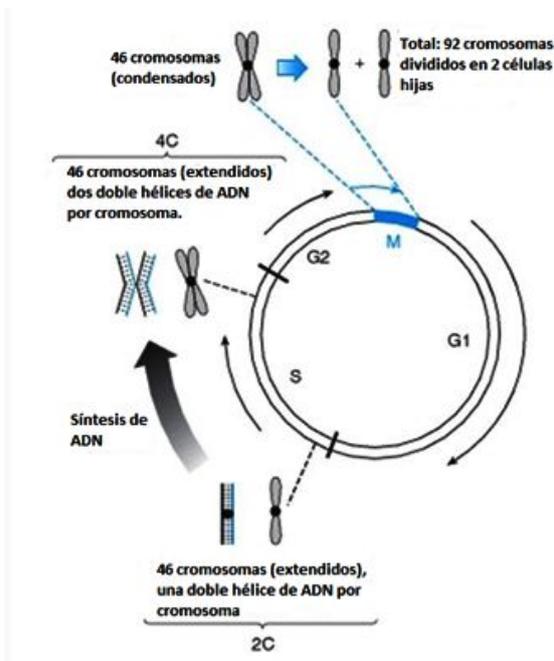
- Explique que es la recombinación genética.
- ¿Cuál es el resultado de esta recombinación genética, en el proceso meiótico y en el proceso evolutivo?
- ¿Cómo se produce la recombinación genética entre el cromosoma X e Y en la especie humana?

4. Durante la meiosis, se llama tétrada a:

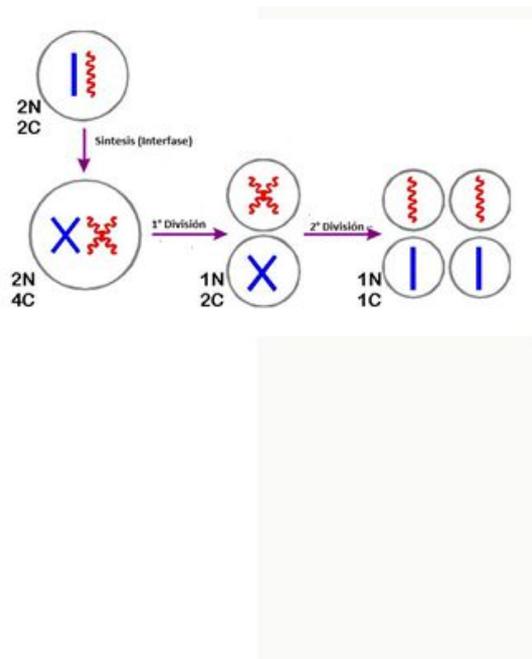
- Los cuatro núcleos haploides que resultan.
- Las cromátidas de los dos cromosomas homólogos apareados.
- Los dos cromosomas homólogos sin aparear.
- Los cuatro gametos que se originan.

5. a. Observe los siguientes esquemas a y b que representan el Valor C y n en mitosis y meiosis respectivamente. Defina valor C y n.

a. Valor C, n en el ciclo celular de células en mitosis



b. Valor C, n en meiosis



Imágenes extraídas y modificadas de “Genética 2014. II” Herencia.

b. Teniendo en cuenta los esquemas a) y b), analice el siguiente caso problemático:

Para estudiar la proliferación celular en las células hepáticas ( $2n=46$ ), usted realizó preparados en diferentes etapas del ciclo celular. Por una distracción, no marcó los preparados y accidentalmente se mezclaron con **preparados meióticos**. Ahora debe tratar de identificar a qué fase del ciclo celular, mitosis, meiosis o citocinesis corresponde cada preparado, la ploidía y el valor C de la célula de la cual proviene el preparado.

**Preparado 1:** célula con núcleo y 46 cromosomas descondensados, formados por una sola cromátida cada uno.

.....

**Preparado 2:** célula sin envoltura nuclear, cromosomas formando 15 tétradas alineados en el plano ecuatorial de la célula.

.....

**Preparado 3:** célula donde se observan cuatro cromátidas no recombinadas, dos migrando a cada uno de los polos de la célula.

.....  
**Preparado 4:** célula con 92 cromátidas, 46 migrando a cada polo de la célula.  
.....

**Preparado 5:** se observan cuatro envolturas nucleares en formación y dos citocinesis simultáneas. Cada núcleo en formación tiene 23 cromosomas de cada par.  
.....

**Preparado 6:** célula donde se observan cuatro cromátidas recombinadas en el ecuador de las células unidas a microtúbulos cinetocóricos del huso mitótico.

c. Tenga en cuenta el preparado 6 y dibuje las siguientes fases del ciclo celular y de la **meiosis**, calculando para cada una de las fases el valor C sabiendo que en esta especie las células germinales contienen 4 pg de ADN:

- Interfase I en G1
- Metafase II
- Anafase I
- Profase I (Diploteno)
- Citocinesis I
- Anafase II
- Metafase I.

6. ¿Por qué se dice que la meiosis es una división reduccional?

- a. Se reduce a la mitad el número de cromosomas, con el requisito de que cada célula obtenida lleve todos los cromosomas sexuales.
- b. Se reduce el número de cromosomas, pero no el de moléculas de ADN, por lo que a los gametos les llega la misma información.
- c. Se reduce el número de cromosomas. Sólo llevan algunos cromosomas, los que contienen la información imprescindible para el nuevo ser vivo.
- d. Se reduce a la mitad el número de cromosomas, para que luego de la fecundación el número diploide propio de la especie se mantenga.

7. Los espermatozoides en la especie humana son células haploides. Si se analiza su contenido en ADN, se observa que, normalmente, un 50 % de los espermatozoides contienen un poco más de ADN que el otro 50 %. ¿Puede ser esto posible? Justifique su respuesta.

8. Un determinado animal tiene un número cromosómico diploide igual a  $2n=16$ . ¿Cuántos cromosomas tendrán?:

- Una célula en profase II meiótica.....
- Una célula en profase mitótica.....
- Un óvulo.....
- Un cigoto o célula huevo.....

9. La mula es un animal híbrido generalmente estéril  $2n=63$ , resultante de la cruce de *Equus asinus* (burro) con número cromosómico  $2n=62$  y *Equus caballus* (yegua) con número cromosómico  $2n=64$ . Elabore una hipótesis sobre el número cromosómico de la mula.

## ACTIVIDADES

### 1. Explorando el proceso de división celular

En esta actividad, Usted tendrá que elaborar maquetas que representen los dos tipos de división celular, en las siguientes fases: profase mitótica/profase I meiótica; anafase mitótica/anafase I y II meiótica y telofase mitótica/ telofase I y II meiótica.

La célula madre es una célula animal diploide  $2n=4$  con un par de cromosomas metacéntricos grandes y un submetacéntrico mediano.

Ud. deberá traer el material que considere conveniente para representar a los cromosomas y demás estructuras participantes de los procesos de división celular tales como: centriolos, huso mitótico, complejo sinaptonémico, surco de segmentación, envoltura y lámina nuclear.

Una vez concluida la actividad Ud. deberá ser capaz de exponer lo realizado al resto de sus compañeros.

## BIBLIOGRAFÍA

- CURTIS H. y BARNES S., (2000), *Biología*. Buenos Aires, Argentina. 6° Edición, Editorial Médica Panamericana.
- .PURVES W.K., SADAVA D., ORINAS G.H. Y SÉLLER H.C., (2003), *Vida, La Ciencia de la Biología*. Buenos Aires, Argentina. 6° Edición, Editorial Médica Panamericana.
- LODISH H., BERK A., KAISER C.A., KRIEGER M., BRETSCHER A., PLOEGH H., AMON A. Y SCOTT M.P., (2005), *Biología Celular y Molecular*. Buenos Aires, Argentina. 5° Edición, Editorial Médica Panamericana.
- ALBERTS B., BRAY D., LEWIS J., RAFF M., ROBERTS K., WATSON J.D., (2004), *Biología Molecular de la Célula*. Barcelona, España. 4ª Edición, Editorial Omega.

- ESCUDERO N. et al., (2016), *Guía de Trabajos Prácticos de Biología General y Celular*. San Luis, Argentina. 1<sup>a</sup> Edición San Luis, Nueva Editorial Universitaria-UNSL. ISBN: 978-987-733-049-6.

## TRABAJO PRÁCTICO Nº 8

### GENÉTICA. PROBLEMAS

#### OBJETIVOS

- Comprender la importancia de las leyes básicas de la herencia.
- Interpretar el significado de los principales términos empleados en genética.
- Resolver problemas de herencia empleando rejilla o cuadrado de Punnet.

#### TEMARIO

Teoría Mendeliana de la Herencia. Experiencias de Mendel: hibridismo. Ley de la Segregación y Ley de la Distribución Independiente. Conceptos de dominancia y recesividad. Alelos. Homocigocis y heterocigocis. Genotipo y fenotipo. Dominancia incompleta. Alelos múltiples. Codominancia. Herencia ligada al sexo.

#### ACTIVIDADES

**Responda las siguientes preguntas:**

1. ¿Qué es la Genética? y ¿qué es la Herencia?
2. Se considera el éxito de Mendel a tres hechos fundamentales: a) organismo adecuado para experimentar, b) diseño y realización metódica de los experimentos y c) al análisis minucioso de los resultados. ¿Cuál fue el organismo elegido por Mendel y por qué fue el organismo adecuado?
3. ¿Cuál de todas las características ventajosas que presentaba el organismo elegido por Mendel, le permitió obtener plantas de líneas puras? ¿Cómo Mendel se aseguró que estas líneas fueran realmente puras?
4. En los experimentos realizados por Mendel, utilizó la técnica de hibridismo. ¿Qué es el hibridismo?
5. Se realizó una fertilización cruzada con los siguientes organismos:

Planta de línea pura con flores blancas X Planta de línea pura con flores púrpuras

F1: Todas las plantas con flores púrpuras

- a) ¿Por cuántos alelos está determinada el color de la flor?
- b) ¿Que ocurrió con el alelo que codifica para el color blanco?
- c) ¿En qué condiciones se expresará?
- c) ¿Cómo llamó Mendel al alelo que se expresó en F1?

d) Teniendo en cuenta sus respuesta y el resultado de la fertilización cruzada, simbolice el cruzamiento y la F1.

6. Los individuos de la línea pura (CC) originan gametos que tiene el alelo dominante C, mientras que los individuos de la línea pura blanca (cc) originan gametos que llevan el alelo recesivo c. Al unirse estas gametas en la fecundación se obtendrá una F1 **Cc**.

- a) A través de qué proceso estos individuos producen gametos?
- b) ¿Cómo se denominan los individuos que para una dada característica posee dos alelos iguales y como se llaman aquellos que presentan alelos diferentes para una característica dada?
- c) ¿Cómo obtuvo Mendel la F2 y cuáles fueron sus resultados?

7. Mendel descubrió que las semillas de color amarillo en los guisantes son dominantes sobre los de color verde. En los experimentos siguientes, padres con fenotipos conocidos pero genotipos desconocidos produjeron la siguiente descendencia:

	<i>Parentales</i>	<i>Amarillo</i>	<i>Verde</i>
<b>A</b>	<i>amarillo x verde</i>	<b>82</b>	<b>72</b>
<b>B</b>	<i>amarillo x amarillo</i>	<b>118</b>	<b>39</b>
<b>C</b>	<i>verde x verde</i>	<b>0</b>	<b>50</b>
<b>D</b>	<i>amarillo x verde</i>	<b>74</b>	<b>0</b>
<b>E</b>	<i>amarillo x amarillo</i>	<b>90</b>	<b>0</b>

- a) Dar los genotipos probables de cada parental.
- b) Teniendo en cuenta los resultados de los experimentos, establezca las proporciones.

8. La acondroplasia tiene un origen genético, es decir, hay una alteración en el ADN. El gen afectado en la acondroplasia es el gen **FGFR3**, gen encargado de codificar el receptor del factor de crecimiento 3 de los fibroblastos. Este gen está localizado en el cromosoma 4 (cromosoma autosómico) y se expresa en el cartílago, cerebro, intestino y riñones entre otros tejidos. La acondroplasia es una condición **congénita**, es decir con la que nace un individuo, ya sea hereditaria (presente en los gametos previo a la fecundación), o adquirida durante los primeros meses de desarrollo embrionario. En ambos casos esta anomalía afecta la estructura, funcionamiento o metabolismo del

organismo. Las personas con esta condición tienen baja estatura, miembros cortos, macrocefalia (cabeza grande) e inteligencia normal.

El 10-20 % de los casos de acondroplasia, se deben a la transmisión hereditaria de la mutación como un trastorno autosómico dominante. Esto quiere decir que en estos casos la acondroplasia es heredada de un progenitor acondroplásico.

En un 80-90 % de los casos restantes, la acondroplasia se produce por una mutación *de novo* en la línea germinal del progenitor masculino. Numerosos estudios relacionan el origen de estas mutaciones espontáneas durante la formación de espermatozoides (espermatogénesis) con la edad avanzada del padre (mayor de 35 años). Los espermatozoides son entonces portadores de la alteración en el gen FGFR3 y, por lo tanto, al fecundar al óvulo, formarán un embrión con una copia del receptor FGFR3 mutada.

- a) Observe la siguiente figura que muestra el origen de la acondroplasia de Tyrion Lannister y haciendo uso de sus conocimientos de genética explique el origen de la enfermedad de Tyrion.

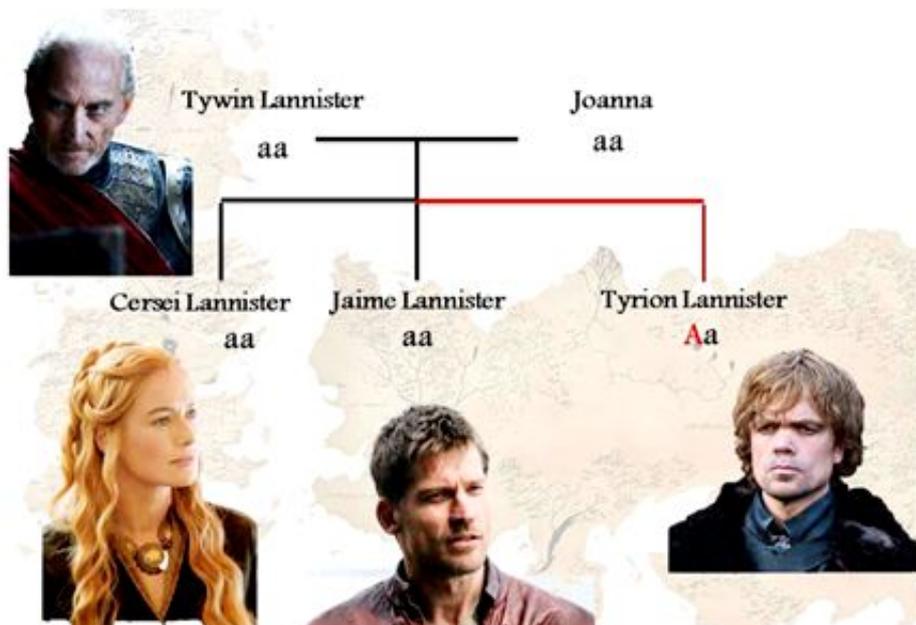


Imagen extraída de <https://genotipia.com/los-gene-de-tyrion-lannister>

9. Suponiendo que A es alto, a es enano, B es amarillo y b es verde. Escriba los genotipos de los siguientes individuos:

- Homocigoto dominante para amarillo.
- Doble heterocigoto.
- Enano.

d) Enano y amarillo heterocigoto.

e) Filial resultante entre la cruce de los ítems b y d.

Teniendo en cuenta los gametos establezca: ¿Cuáles serían los gametos resultantes de un individuo alto homocigoto? ¿Y cuál el número de un individuo Aabb?

**10.** Coloque la letra correspondiente dentro del paréntesis

( ) Forma alternativa de un gen que se hereda independientemente de cada padre a) Gen dominante b) Gen recesivo c) Cromosoma X d) Cromosoma Y e) Alelo.

( ) Células sexuales generalmente haploides a) Gametos b) Cromosomas sexuales c) Gen d) Autosomas e) Alelo.

( ) ¿A qué se le llama Segregación? a) A la separación de las células somáticas b) A la separación de los cromosomas durante la meiosis c) A la formación de dos células hijas a partir de una célula madre d) Es sinónimo de mutación e) Es la eliminación de caracteres dominantes durante la división celular.

( ) Apareamiento donde un organismo homocigoto recesivo es utilizado para conocer el genotipo de un organismo que expresa el fenotipo dominante. a) Cruzamiento de prueba b) Autopolinización c) Hibridismo d) Entrecruzamiento e) Cruzamiento al azar.

( ) El principio indica que cada par de caracteres heredables se separa durante la formación de los gametos de manera tal que cada gameto recibe solo uno de ellos ¿Cómo se denomina este principio? a) Herencia ligada al sexo b) Principio de Distribución independiente c) Principio de la conservación de la materia d) Principio de Segregación independiente e) Principio de Uniformidad.

**11.** Considerando la herencia del sistema ABO de grupos sanguíneos:

a) ¿Qué fenotipos y genotipos pueden aparecer en la descendencia de este matrimonio: mujer  $I^A i^O$  x varón  $I^A I^B$ . ¿Qué fenotipos no pueden aparecer?

b) Se presentó ante los tribunales de justicia el siguiente caso: la familia Fernández reclama que el bebé Rogelio, que les dieron en la maternidad, no les pertenece y que, en cambio, el bebé José, que tiene la familia López, es el suyo. La familia López niega este hecho, y el tribunal ordena el examen de los grupos sanguíneos de los bebés y de los padres, con los siguientes resultados:

	Madre	Padre	bebé
Familia Fernández/Rogelio	AB	O	A
Familia López/José	A	O	O

¿Qué familia tiene razón?

**12.** La variedad andaluza de gallina, llamada "azul", aunque en realidad es gris, se produce mediante cruce entre las variedades negra y blanca. Interviene sólo un par de alelos. ¿De qué color serían las gallinas (y en qué proporción) si se cruzan una azul y una negra? Explique.

**13.** Las mujeres tienen los cromosomas sexuales **XX**, y los hombres los cromosomas sexuales **XY**. ¿Cuál de los abuelos de un hombre no podría ser la fuente de los genes en su cromosoma **Y**?

**14.** Herencia ligada al sexo

Es la herencia relacionada con el par de cromosomas sexuales. El cromosoma X porta numerosos genes, pero el cromosoma Y solo unos pocos, la mayoría de ellos relacionados con los caracteres sexuales masculinos. El cromosoma X tiene gran cantidad de genes activos que codifican importantes productos, tales como las proteínas que intervienen en la coagulación de la sangre, por lo tanto, si las hembras tienen dos X deberían tener el doble de los productos o enzimas cuyos genes están en ese cromosoma con relación a los individuos del sexo masculino, sin embargo, esto no ocurre. Se ha observado en mamíferos que en las células somáticas del sexo femenino, solo uno de los dos cromosomas X es activo. El otro permanece inactivo y aparece en células en interfase como un cuerpo denso fuertemente coloreado, que se inactiva y se adosa a la envoltura nuclear en la periferia del núcleo. La inactivación del cromosoma X tiene lugar tempranamente luego de la fecundación. La selección del cromosoma X que se inactivará, es un fenómeno generalmente aleatorio teniendo en cuenta que al ocurrir la fecundación cada cromosoma X tiene origen materno y paterno, en unas células se inactivará el X materno ( $X_m$ ) y en otras el X paterno ( $X_p$ ). Una vez que se inactiva uno de los dos cromosomas X las células descendientes mantendrán el mismo cromosoma X inactivo originándose un clon celular ( $X_m$ ) o ( $X_p$ ) activos.

a. Teniendo en cuenta la composición química de los cromosomas, ¿qué cambios se producen en el cromosoma X inactivo que no ocurre en el cromosoma X activo en las mujeres?

b. Una mujer que es heterocigota para el carácter recesivo ligado al sexo que causa daltonismo, se casa con un hombre normal. ¿Qué proporción de sus hijos varones tendrán daltonismo?. Realice la combinación gamética que dará lugar a la proporción que se obtendría de este cruzamiento.

c. La hemofilia en humanos se debe a una mutación en el cromosoma X. ¿Cuál será la posible descendencia si una mujer normal tiene hijos con un hombre hemofílico?. Justifique su respuesta.

A. La mitad de las hijas son normales y la mitad de los hijos son hemofílicos.

- B. Todos los hijos son normales y todas las hijas son portadoras.
- C. La mitad de los hijos son normales y la otra mitad son hemofílicos; todas las hijas son portadoras.
- D. Todas las hijas son normales y todos los hijos son portadores.
- E. La mitad de las hijas son hemofílicas y la otra mitad de las hijas son portadoras; todos los hijos son normales.

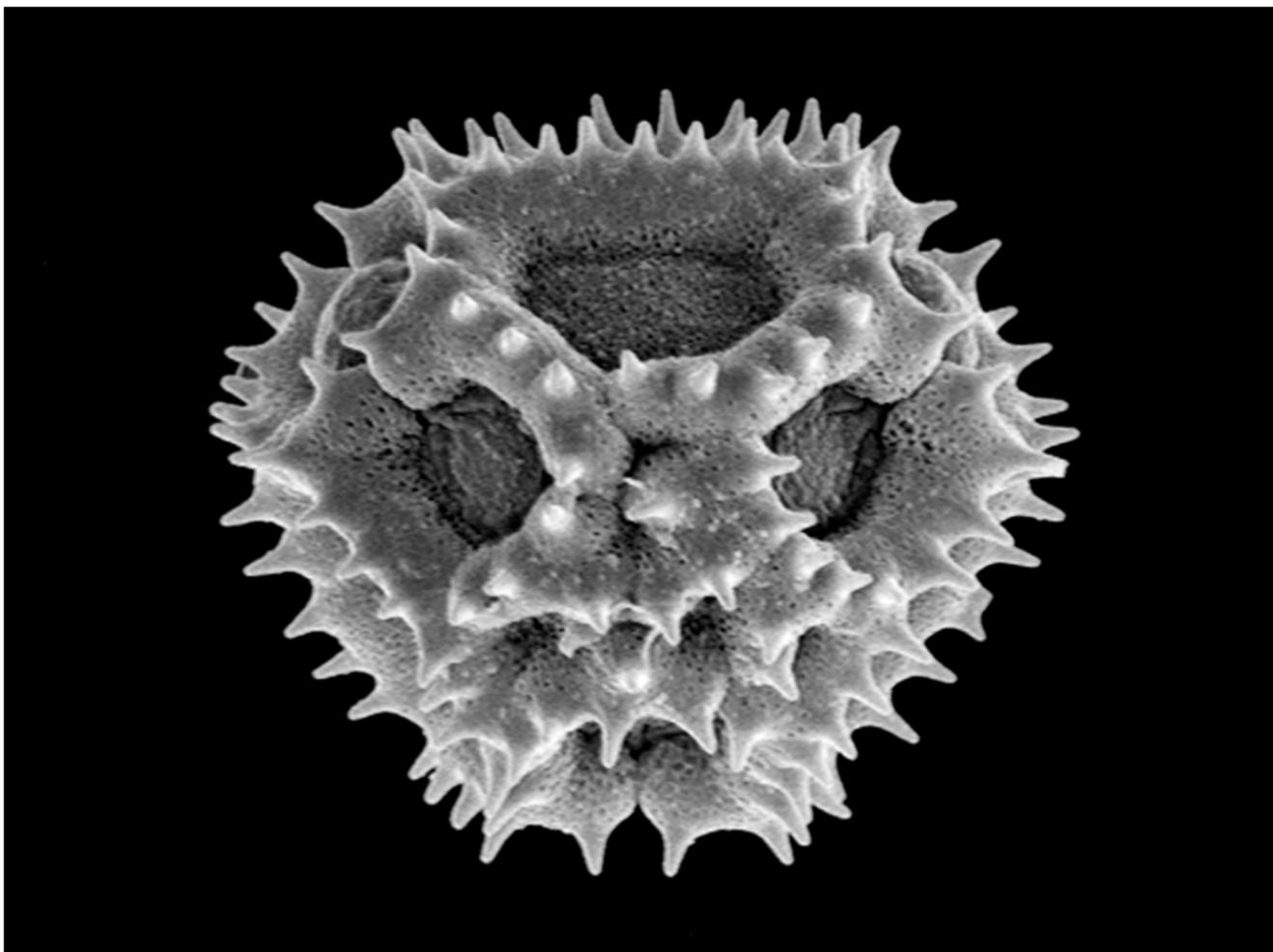
### **BIBLIOGRAFÍA**

- CURTIS H. y BARNES S., (2000), *Biología*. Buenos Aires, Argentina. 6° Edición, Editorial Médica Panamericana.
- SOLOMON E.P. BERG L. y MARTIN D.W., (2013), *Biología*. Madrid, España. 9° Edición, Editorial McGraw-Hill Interamericana.
- ESCUDERO N. et al., (2016), *Guía de Trabajos Prácticos de Biología General y Celular*. San Luis, Argentina. 1ª Edición San Luis, Nueva Editorial Universitaria-UNSL. ISBN: 978-987-733-049-6

### **SITIOS WEBS**

- Sociedad Española de Genética. URL: [www.seg.umh.es](http://www.seg.umh.es)
- [www.mendel.uab.es/genetica/curso/problemas](http://www.mendel.uab.es/genetica/curso/problemas)

**ANEXO I: “A TRAVÉS DEL MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO”**



Autores:  
M. Alejandra Cangiano  
Esteban Crespo

La figura de la portada es un grano de polen de *Taraxacum officinale*.v “diente de león”, obtenida con el microscopio electrónico de barrido.

**Autores:**  
**M. Alejandra Cangiano:** Lic. en Cs. Biológicas y Prof. en Enseñanza Media y Superior en Cs. Biológicas. Jefe de Trabajos prácticos del Área de Biología de la Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia de la UNSL.

**Esteban M. Crespo:** Biólogo. Técnico del LABMEM (CPA Profesional Adjunto). Jefe de Trabajos Prácticos de la Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia de la UNSL.



El video “A TRAVÉS DEL MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO” se exhibirá a los alumnos de BIOLOGÍA GENERAL Y CELULAR que cursan el primer año de las carreras de Bioquímica, Farmacia, Técnico Universitario en Laboratorio Biológico, Técnico Universitario en Esterilización, Profesor en Química y Analista Biológico (UNSL). El mismo forma parte de las actividades del Trabajo Práctico N° 1 “Microscopía”.

La proyección de este video tiene como objetivo mostrar el Microscopio Electrónico de Barrido (MEB), sus partes constitutivas, su funcionamiento y sus aplicaciones. Además, explicar los diferentes pasos a seguir para la preparación de la muestra de un grano de polen y la observación de la imagen en una pantalla.

Este microscopio se encuentra en el laboratorio de Microscopía Electrónica y Microanálisis de la Universidad Nacional de San Luis.

El **Laboratorio de Microscopía Electrónica y Microanálisis (LABMEM)** fue creado en el ámbito de la Universidad Nacional de San Luis en octubre de 2004.



Microscopio electrónico de barrido

Este laboratorio cuenta con un Microscopio Electrónico de Barrido (MEB o SEM, por sus siglas en inglés) y un equipamiento adicional incorporado que permiten llevar a cabo una serie de aplicaciones como:

Caracterización de materiales heterogéneos, análisis de muestras biológicas, estudios en el campo del arte y la arqueología, control de contaminación ambiental, caracterización de rocas, microanálisis no destructivo de materiales metálicos y no metálicos, entre otras actividades.

### **Observación de un grano de polen a través del MEB**

#### **Preparación de la muestra**

Las muestras destinadas al MEB deben estar **secas**, porque el microscopio funciona en condiciones de alto vacío y también deben ser buenas **conductoras** del calor y la electricidad, para permitir que circulen los electrones que impactan sobre ellas. Las muestras se colocan sobre stubs, portamuestras o tacos generalmente de aluminio. Para pegar o montar el material a analizar y mejorar la conductividad entre la

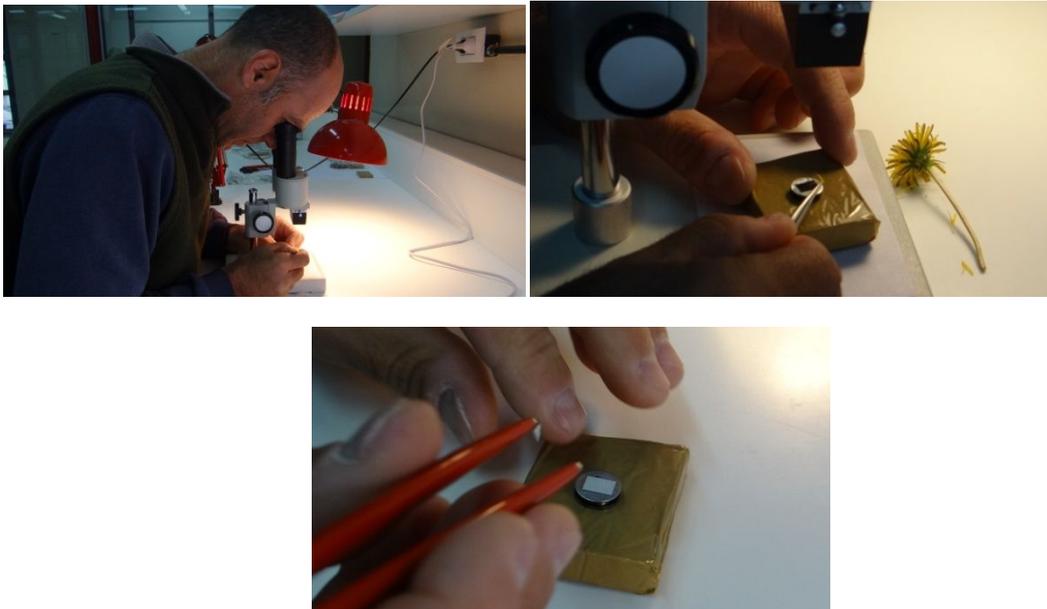
muestra y el taco, se puede emplear cinta adhesiva doble faz de carbono, aluminio, cobre, o pintura de carbono o plata.

En el caso de muestras biológicas, sensibles, o con contenido líquido, pueden observarse en el modo de **bajo vacío** del **MEB**, sin necesidad de ser metalizadas ni sufrir ningún tipo de tratamiento previo, o también pueden ser procesadas y deshidratadas en un **Secador por Punto Crítico**, para luego ser montadas, metalizadas y observadas en alto vacío.



Secador por Punto Crítico

Para observar un grano de polen al MEB, primero se realiza la disección de la flor bajo la lupa, luego se elige una antera con granos de polen maduros y se la pasa sobre la cinta doble faz de carbono, quedando los granos de polen adheridos en la misma.



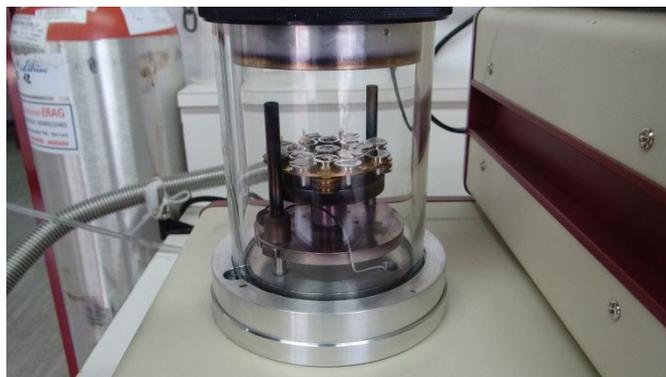
Porta muestra con cinta doble faz donde se pegan los granos de polen

A continuación se realiza la **METALIZACIÓN** de la muestra.

La metalización consiste en cubrir el material con un metal conductor como el oro, oro paladio, plata, etc. o con grafito. Este proceso se realiza en condiciones de vacío en la cámara de un metalizador.



Metalizador



Muestra en proceso de metalización con oro



Muestras impregnadas en oro

Platina con lugar para 8 muestras

Las muestras cubiertas con oro, normalmente una capa de 20 nm de espesor, están listas para ser colocadas en una platina de aproximadamente 5 cm de diámetro, con lugar para 8 (ocho) porta muestras o "stubs" (de 1,2 cm de diámetro). Dicha platina, una vez colocada en la cámara del MEB, puede moverse en diferentes direcciones posibilitando la observación de la muestra desde distintos ángulos.

### Funcionamiento del MEB

El microscopio electrónico de barrido (MEB) utiliza electrones en lugar de fotones para formar una imagen. Los electrones se originan al calentarse un filamento, en este caso de tungsteno, ubicado en un cilindro en la parte superior de la columna del MEB.



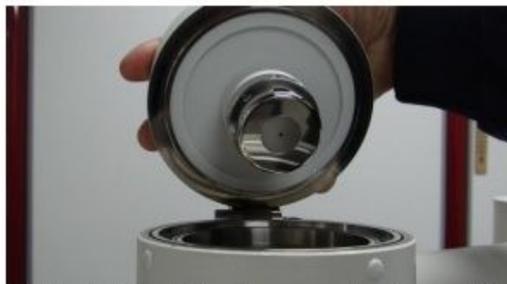
Filamentos de tungsteno



Parte superior del MEB, se observa el cilindro y la columna

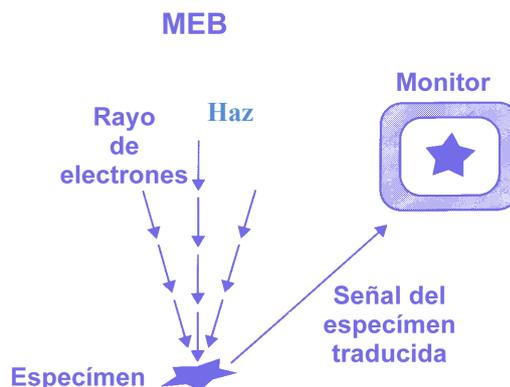
Cilindro

Columna



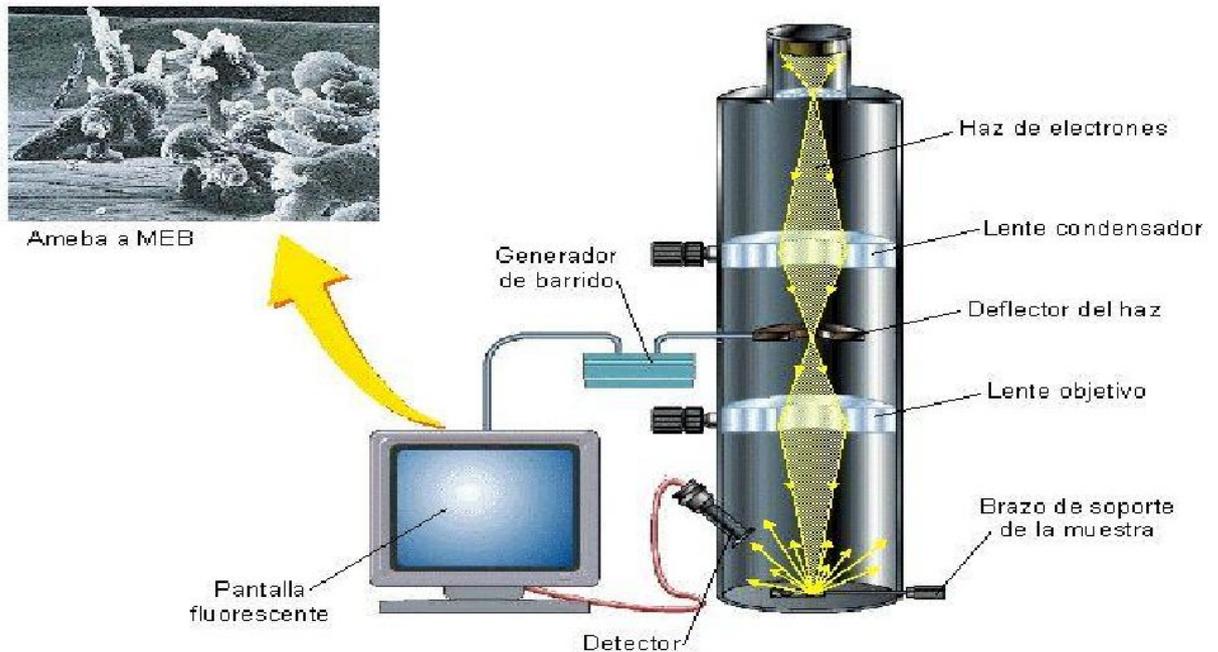
Cilindro de Wehnelt donde se encuentra alojado el filamento de tungsteno

Estos electrones viajan a través de una columna y mediante la acción de lentes o bobinas electromagnéticas son orientados formando un haz, que mediante la acción de otras bobinas “barre” la superficie de la muestra originando señales de distintos tipos (electrones secundarios, electrones retrodifundidos, electrones Auger, fotones o rayos X, fluorescencia), algunas de ellas visibles o traducidas como una imagen.



Las lentes crean un campo electromagnético perpendicular a la dirección de la ruta de los electrones haciendo que los electrones del haz, que tienden a dispersarse,

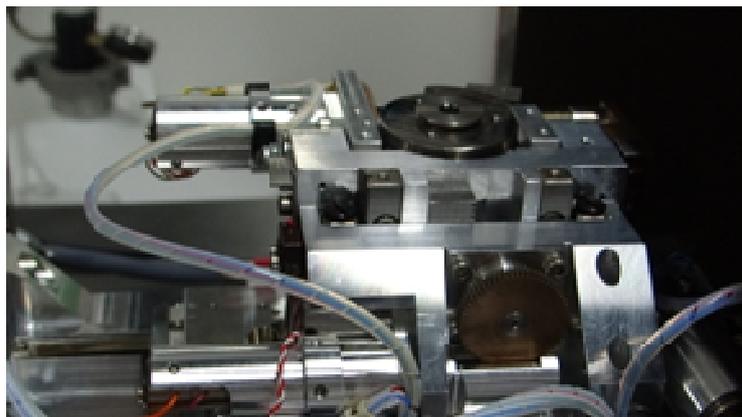
se junten y proyecten sobre un punto focal. Al final de la trayectoria la última lente, denominada lente objetivo, concentra el haz de electrones en un punto. Cuando el haz de electrones (primarios) incide sobre la superficie de la muestra, provoca que electrones secundarios o retrodispersados sean expulsados de la misma.



Los detectores recolectan electrones secundarios o retrodispersados y los convierten en una señal que es enviada a una pantalla originando una imagen. Los electrones secundarios son producidos por choques de los electrones primarios con los átomos de la muestra. Estos electrones poseen baja energía, del rango de 0 a 50 eV; por su baja energía se asume que estos electrones son generados por las moléculas más superficiales de la muestra y son utilizados para generar imágenes tridimensionales al ser recolectados mediante un detector para electrones secundarios.

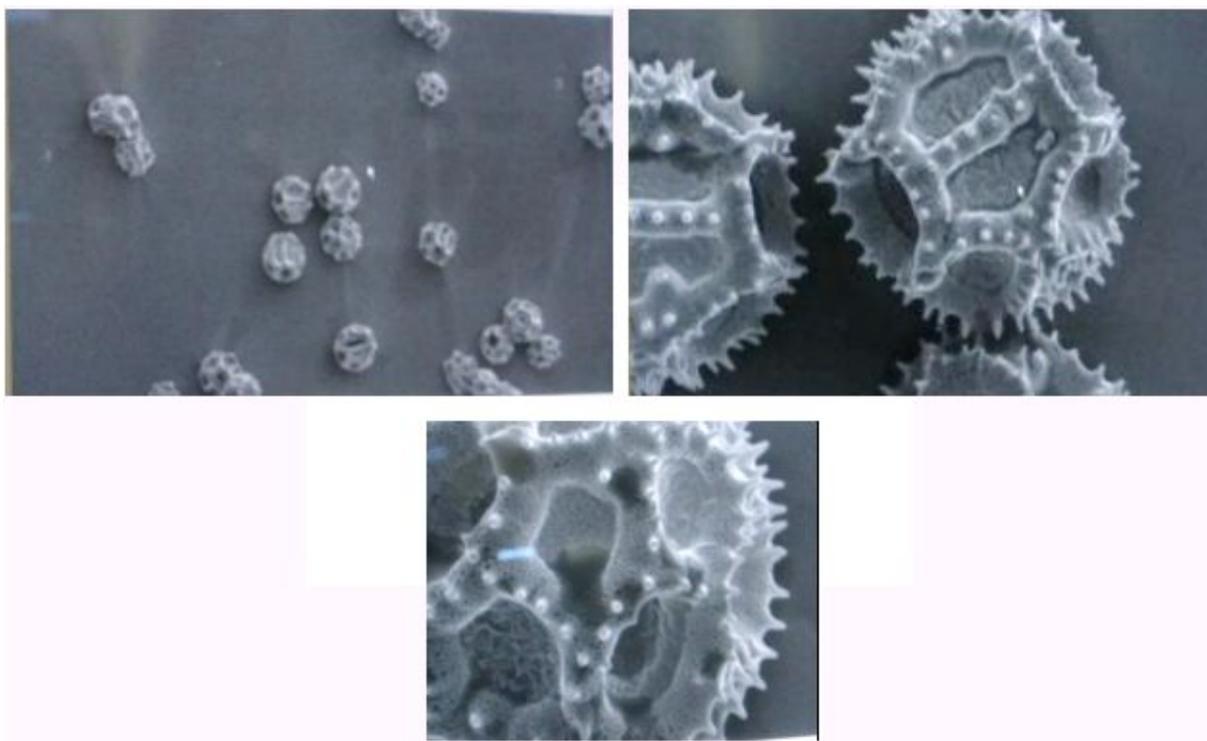
Mientras el MEB esté funcionando, la columna y la muestra están siempre en alto vacío, lo que significa que la mayoría de las moléculas de aire son removidas, eliminadas del interior del microscopio. La ausencia de moléculas en la ruta del haz, permite que éste viaje libremente y logre incidir con precisión sobre la muestra.

El vacío en un microscopio se logra mediante la combinación de una bomba rotatoria que hace un vacío previo y una bomba difusora o turbomolecular que logra el vacío final. El sistema de vacío es controlado de forma totalmente automática y está protegido contra fallas de operación.

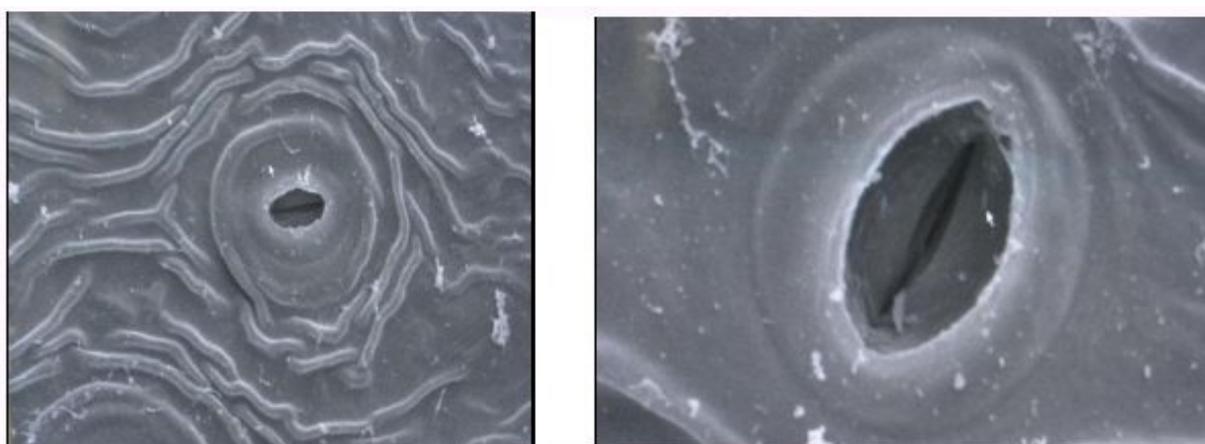


Cámara de MEB donde se coloca la platina con las muestras

### Imágenes de granos de polen a distintos aumentos



### Imágenes de estomas a distintos aumentos



### BIBLIOGRAFÍA

- Pagina web del Laboratorio de Microscopía Electrónica y Microanálisis:  
<http://labmem.unsl.edu.ar/laboratorio.htm#tecs>
- Técnicas de microscopía aplicadas a las Ciencias Forenses. Sesión Teórico-Práctica 5 Manipulación de muestras para su estudio al Microscopio Electrónico. Nicolás Ubero Pascal. Dpto. de Zoología y Antropología Física. Curso 2008-2009.