



## INDICE

<b>ACTIVIDAD</b>	<b>Página</b>
Índice	1
Normas de Seguridad	2
Calendario de Actividades Prácticas	4
Pauta e instrucciones para de elaboración de informes	4
Trabajo Práctico N°1: Introducción a la microscopía	5
Trabajo Práctico N°2: Diversidad Celular y Tejidos.	10
Trabajo Práctico N°3: Biomoléculas en contexto: preparación de pan	15
Trabajo Práctico N°4: Membranas: características e importancia	18
Trabajo Práctico N°5: Ciclo celular.	20

## NORMAS DE SEGURIDAD LABORATORIOS DOCENCIA EN CIENCIAS

### Estimado(a) Estudiante

Por su seguridad y la de sus compañeros es imperativo que cumpla en todo momento las reglas de seguridad detalladas en la presente normativa. Esta normativa podrá ser complementada con indicaciones específicas por parte del profesor, ayudante, u otro profesional a cargo del práctico a realizar. Resulta imposible anticiparse a todo suceso posible, por lo que, ningún manual podrá jamás reemplazar el sentido común y la experiencia cuando usted se encuentre trabajando en cualquier Laboratorio de Docencia en Ciencias.

Si luego de leer la normativa adjunta tuviera alguna duda, consulte a su profesor, ayudante, o al encargado del laboratorio. Familiarizarse con ella y repasarla antes de cada práctico **le permitirá desarrollar una actividad SIN PELIGRO PARA USTED Y SUS COMPAÑEROS(AS).**

### **LAS REGLAS PRINCIPALES DE SEGURIDAD SON:**

1. El uso de delantal abotonado, calzado cerrado y gafas de seguridad es **obligatorio** durante todo el desarrollo del trabajo práctico. De igual manera, no se permitirán pantalones “short” o bermudas y/o faldas cortas, sandalias u otros elementos que no permitan proteger adecuadamente la piel de las piernas contra salpicaduras o proyecciones de otros elementos. Las gafas de seguridad serán proporcionadas junto a los materiales, y deberán ser devueltas al término del trabajo.
2. Con el objeto de evitar su inflamación accidental por contacto con la llama de mecheros u otras fuentes de ignición, no se permiten el uso de pañuelos, bufandas, colgantes o pulseras de cualquier tipo que sobresalgan del delantal, tanto del cuello como de los puños o mangas. Además, el pelo deberá estar tomado y/o recogido.
3. No se permite fumar, comer o beber dentro del recinto de laboratorios.
4. Los efectos personales y ropa de abrigo deben quedar en los percheros u otros lugares habilitados, nunca deben quedar sobre los mesones de trabajo, o en las repisas inmediatamente adyacentes. **Esto incluye su celular.**
5. Mantenga su área de trabajo limpia y ordenada, antes, durante y al término de su trabajo práctico. Si derrama algún reactivo, limpie inmediatamente el área afectada utilizando guantes de látex, papel absorbente y los basureros para residuos dispuestos en el laboratorio. **¡Especial cuidado si el derrame es de un oxidante poderoso! El papel u otro absorbente orgánico puede inflamarse. ¡¡ Solicite la ayuda de su Profesor, Ayudante o Encargado de laboratorio!!**
6. El estudiante sólo puede desarrollar el trabajo práctico previsto, y solo bajo la supervisión correspondiente. En ningún caso puede trabajar solo, o desarrollar experimentos no autorizados.
7. Preste atención a las salidas de emergencia, localización de los extintores de incendio, duchas de emergencia y botellas o sistemas de lavado para los ojos.
8. El uso de mascarillas de protección respiratoria, guantes de látex y campanas extractoras de gases, serán siempre indicados por el profesional a cargo del práctico.
9. Cuando caliente líquidos en un tubo de ensayo, apunte la boca del tubo lejos de usted o de sus compañeros. Mantenga su rostro alejado de vasos o matraces con líquidos en ebullición.
10. Nunca succione líquidos utilizando la boca, utilice siempre los pipeteadores o propipetas disponibles, y evite inhalar vapores o gases provenientes de los envases.
11. Utilice la campana extractora de gases, siempre que esté utilizando sustancias que puedan liberar gases tóxicos o irritantes.
12. Evite utilizar equipo de vidrio que esté en mal estado. Solicite a su ayudante el cambio del material dañado.
13. No caliente líquidos en envases o sistemas cerrados.

14. Evite calentar líquidos inflamables sobre una llama abierta (mechero). Utilice, siempre que sea posible, una placa o manto calefactor.
15. Lea cuidadosamente las etiquetas de los reactivos. Utilice los reactivos solamente en las cantidades y la concentración que se especifica en los procedimientos. Emplee los utensilios dispuestos al efecto. Siga el procedimiento descrito en su guía de trabajo.
16. Nunca añada agua a un ácido o base concentrada. El ácido concentrado se diluye añadiendo lentamente el ácido al agua, y agitando para evitar el sobrecalentamiento y posible proyección.
17. No introduzca pipetas o espátulas directamente en las botellas de reactivos comunes, en vez de esto, transfiera una cantidad aproximada del reactivo que va a utilizar a un envase apropiado. No devuelva los sobrantes a los frascos de origen.
18. No elimine en los desagües los desperdicios generados durante el práctico. Utilice para este propósito los recipientes que para estos fines se colocan en los laboratorios.
19. Evite frotarse los ojos mientras esté en el laboratorio, particularmente si ha manejado agentes químicos irritantes o vidrio quebrado. Lávese las manos antes de salir del laboratorio y siempre que manipule sustancias irritantes o tóxicas.
20. Si tiene duda sobre algún procedimiento, consulte con el profesional a cargo del práctico. **¡¡NO EXISTE LA PREGUNTA TONTA!!**
21. Preste particular atención a las advertencias de seguridad, que han sido incorporadas en los procedimientos descritos en su guía de laboratorio, o que reciba de parte de los profesionales que dirigen el práctico.
22. Notifique al profesor inmediatamente de todos los accidentes o incidentes de riesgo, al igual que de escapes de gas u otras situaciones potencialmente peligrosas.
23. Están prohibidas las bromas y los juegos en el laboratorio. Igualmente, evite las entradas y salidas repetidas del laboratorio. Por la naturaleza de los elementos que se emplean en un laboratorio, el distraerse o distraer a otro mientras se realiza un trabajo práctico, puede causar un accidente de consecuencias incalculables.
24. Debe notificar a su profesor(a) de cualquier condición médica (hipertensión, hipo-glicemia, alergias, diabetes, dificultad visual, dificultad motora, embarazo, epilepsia tratamiento médico, etc.) que pueda afectar su seguridad en el laboratorio. De ser necesario por su seguridad, debe traer notificación médica que certifique que puede trabajar en el laboratorio en su condición.

Corte en la línea punteada.

**CERTIFICO QUE HE LEÍDO LA REGLAS DE SEGURIDAD ARRIBA DESCRITAS Y QUE ME HAGO RESPONSABLE DE SU CUMPLIMIENTO EN TODO MOMENTO EN QUE ME ENCUENTRE EN EL LABORATORIO.**

**ME HAGO RESPONSABLE POR CUALQUIER INCONVENIENTE, ACCIDENTE O DAÑOS QUE OCURRAN COMO CONSECUENCIA DIRECTA DE LA NO OBSERVANCIA DE ESTAS REGLAS DE SEGURIDAD. EXIMO DE TODA RESPONSABILIDAD A LAS PERSONAS QUE DIRIGEN EL PRACTICO U OTRAS AUTORIDADES DEL RECINTO UNIVERSITARIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA UNIVERSIDAD DE CHILE, POR CUALQUIER DAÑO QUE YO SUFRA A CONSECUENCIA DEL NO CUMPLIMIENTO POR MI PARTE DE LAS NORMAS ARRIBA ESTABLECIDAS.**

Fecha: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / 2022

Nombre del Estudiante

Firma del Estudiante

**INSTRUCCIONES: FIRME Y SAQUE UNA FOTO. SÚBALA A LA TAREA CORRESPONDIENTE EN U-CURSOS.**

## CALENDARIO DE ACTIVIDADES 2do Semestre 2022

**TP1: 20 de Octubre 2022**

**TP2: 27 de Octubre 2022**

**TP3: 3 de Noviembre 2022**

**TP4: 24 de Noviembre 2022**

**TP5: 1 de Diciembre 2022**

### PAUTA E INSTRUCCIONES PARA LA ELABORACIÓN DE INFORMES.

Los informes serán entregados MEDIANTE U-CURSOS (Tareas) por 1 persona de cada grupo de 3 integrantes. En general, los informes científicos constan de secciones clásicas que se describen a continuación.:

a) Presentación:

- i. Título
- ii. Autores
- iii. Datos de contacto (email)
- iv. Institución

Sugerencia: pueden sobrar datos de contexto, pero no pueden faltar.

b) Resumen:

- i. Ubicado al principio del escrito.
- ii. Debe incluir todas las demás secciones del resto del informe siguiendo su mismo orden y debe poder leerse de forma independiente.
- iii. Extensión: generalmente de 250 a 300 palabras. No muchas menos, ¡y nunca una más por arriba de las instrucciones! (si no hay instrucciones específicas, ajuste a 250 palabras).

c) Introducción.

- i. Presentar el tema, el problema y los conceptos claves.
- ii. Brindar el marco teórico con referencias. En caso de un informe de laboratorio, evite repetir lo que dice la guía de trabajos prácticos, pero si lo hace, cite adecuadamente.
- iii. Presentar los objetivos de forma explícita, con afirmaciones o preguntas de investigación:
  - "El objetivo de este trabajo es evaluar cuál es la importancia de un microscopio".
  - "El objetivo de este práctico es resolver la siguiente pregunta de investigación: ¿cuál es la importancia de un microscopio?"
- iv. Si se le pide que exprese una opinión o plantee una hipótesis, esto suele hacerse en el último párrafo de la introducción. En el caso de un trabajo de investigación y experimentación esta sería presentada en forma de "Hipótesis". En informes solamente bibliográficos, lo que debe enunciar es su opinión fundamentada.

d) Métodos (también llamado: Materiales y Métodos).

- i. Esta sección es exclusiva de trabajos de investigación donde se debe describir la tarea que se realizó de manera que otro pueda repetirla.
- ii. En el caso de su investigación bibliográfica, no se requiere que la detalle. Como es evidente, si presenta un informe de laboratorio debe incluir esta sección.

e) Desarrollo (Resultados) y Discusión (los resultados en contexto de la realidad)

- i. Detallar los conceptos abordados. Llevar a cabo los objetivos enunciados.

- ii. Si es un informe basado en bibliografía, contraponer las diferentes posiciones, los conocimientos y las teorías, y adoptar una posición informada.
- iii. Contrastar la opinión propia con los datos y las opiniones expresadas por otros.
- iv. Si es un informe de laboratorio, incluir los experimentos realizados, mediciones registradas, fotos, esquemas, tablas y/o dibujos de lo observado.
- v. Si hay preguntas enunciadas en la guía de laboratorio, aquí es donde se responden específicamente (vuelva a enunciar la pregunta y diferencie claramente su respuesta).
- vi. Este texto debe mostrar un desarrollo temático armónico, con una lógica propia y sin redundancias. Las maneras de asegurarse de esto son:

- Leer el texto en voz alta.
- Comparar las figuras y los gráficos con las aseveraciones para asegurarse que son consistentes.

- vii. Usar gráficos y tablas, los cuales deben ser mencionados en el texto (no son adornos).
  - Estos deben ser numerados e incluir una leyenda que permita leerlos sin tener que revisar el texto. Un gráfico o una imagen sin leyenda es de poca o nula utilidad.
  - Si el gráfico o la imagen son propios, no se incorporan referencias salvo que haya sido publicado previamente.
  - Si los materiales de la imagen o el gráfico provienen de otros autores, deben citarse. El no citarlos equivale a apropiarse de su trabajo.
- viii. Algunos formatos de informe mantienen la descripción de los resultados independiente de la discusión .

NOTA: La discusión nunca se refiere a si hay discrepancias entre los miembros del equipo. Usar una frase como “no tuvimos diferencias de opinión” indica que no entienden a qué se refiere este texto.

#### f) Conclusiones

- i. Listar las afirmaciones y aprendizajes principales que resultaron de la experiencia, distinguiendo entre conclusiones generales y específicas.
- ii. Explicitar lo que se ha hecho, evaluar su impacto y alcance. Sugerir los desenlaces posibles o las consecuencias a futuro.

Sugerencias:

- Repetir las afirmaciones ya escritas antes, pero formuladas de otra manera.
- Declarar la validez (o no) de las opiniones expresadas.
- Se pueden incluir aquellas acciones que salieron mal, limitaciones de la experiencia o interrogantes sin respuestas claras.

#### g) Referencias

- i. Revisar la guía específica para la elaboración de referencias y la obtención de información confiable.
- ii. Elegir un sistema de citación (APA o Harvard).
- iii. Ser críticos con respecto a referencias que se usan. No es lo mismo, una referencia de las revistas Science o Nature, que Wikipedia u otras fuentes menos confiables.
- iv: Si por algún motivo está obligado/a a citar una referencia que le parece poco confiable, incluya un comentario donde especifique esto.

## TRABAJO PRÁCTICO Nº1. MICROSCOPIA

### INTRODUCCION.

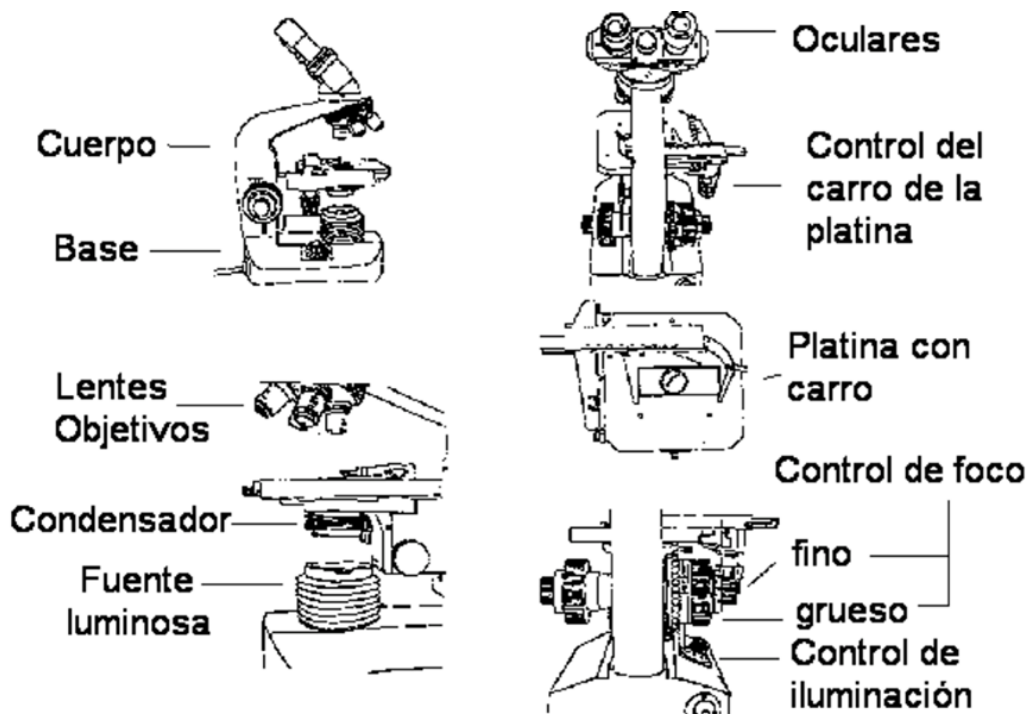
Las células, componentes básicos de los seres vivos, poseen una estructura general que les permite desarrollar los procesos que conservan su unidad. Sin embargo, cada tipo de célula se diferencia de otras células por las funciones particulares que realiza. Esta especialización funcional va acompañada, generalmente, de modificaciones morfológicas de la configuración celular básica (en eucariotas, mitocondrias, retículo endoplasmático, lisosomas, etc.). El microscopio es la herramienta principal utilizada para la observación de la estructura celular y la caracterización morfológica de los distintos tipos celulares.

### OBJETIVO GENERAL

Familiarizarse con el uso del microscopio y utilizarlo como herramienta para el estudio de la estructura celular.

### USO DEL MICROSCOPIO.

Usted dispondrá de un microscopio compuesto y de un frotis de sangre teñido. Enchufe el microscopio y encienda la fuente de luz (ver Fig. 1.1). Para lograr una iluminación óptima proceda de la siguiente manera: ponga un trozo de papel blanco en la platina (Fig. 1.1), donde normalmente se pone la muestra a observar, y simultáneamente coloque la punta de un lápiz inmediatamente sobre la fuente de luz; gire el tornillo de enfoque del lente condensador (Fig. 1.1) hasta que la imagen de la punta del lápiz en su pantalla de papel esté perfectamente en foco. No mueva el lente condensador de esa posición; si necesita ajustar la cantidad de luz que recibe la preparación use el diafragma y el control de iluminación. El diafragma le permitirá modificar la resolución y/o el contraste con el que puede observar su preparación;



es MUY IMPORTANTE QUE APRENDA A OPTIMIZAR LA ILUMINACIÓN. Con el diafragma más cerrado logrará un alto contraste, pero menor resolución, mientras que cuando el diafragma está totalmente abierto la preparación estará más iluminada y el contraste será menor. Dependiendo del tipo de preparación a observar deberá decidir cuál es el aumento, el contraste o la resolución que necesita.

Figura 1.1. Esquema general de un microscopio óptico binocular, indicando sus principales componentes ópticos, mecánicos y eléctricos.

Coloque ahora su preparación teñida y proceda a enfocar con el lente de menor aumento. Para esto ajuste la distancia entre la preparación y el lente objetivo haciendo uso del tornillo macrométrico. Si tiene problemas, enfoque el borde del cubreobjetos. La parte superior del cubreobjetos será lo primero que aparece en foco, luego la parte inferior que coincide con la muestra. Una vez encontrado el foco, ajuste la intensidad de la luz y el contraste con el diafragma hasta optimizar la imagen observada. Con aumentos bajos necesita una intensidad menor de luz que con aumentos altos.

En los microscopios binoculares la separación entre ambos oculares es ajustable y en algunos de ellos el foco de uno o de ambos oculares es también ajustable. Cambie al siguiente objetivo y ajuste nuevamente, si es necesario, el foco con el tornillo micrométrico. La mayoría de los microscopios son parafocales de manera que al cambiar al lente objetivo siguiente la preparación estará muy cerca del foco.

Reconozca en la preparación las partes fundamentales de la célula: núcleo y citoplasma.

Use todos los objetivos, incluso el de inmersión. Para usar este lente, enfoque la zona de interés con el objetivo de 40X y desplace lateralmente el objetivo con el revolver, de manera que la zona de interés en el portaobjetos quede libre: **NO CAMBIE EL FOCO**. Ponga una pequeña gota de aceite de inmersión y disponga el lente de inmersión en posición de observar. Enfoque con un movimiento fino del micrométrico; tenga mucho cuidado en este paso ya que la distancia de trabajo con este lente es muy pequeña. Si hace un movimiento brusco es fácil romper la preparación y/o dañar el lente. Antes de sacar la preparación poner el objetivo de 10X (es el más corto) para evitar ensuciar con aceite el lente de 40X. Limpie inmediatamente el lente y la preparación con una mezcla de alcohol: éter. Solo use papel especial para limpiar lentes. Limpie la preparación con la misma solución y papel absorbente corriente.

Nunca use el lente de inmersión con una preparación fresca sin supervisión; se arriesga a dañar el lente objetivo.

Una vez que se sienta familiarizado con el manejo del instrumento, continúe con las siguientes actividades.

#### MEDICIONES.

Usted usará el microscopio no sólo para conocer y describir la forma celular, sino también para medir las células y sus componentes. Para esto deben calibrar su instrumento.

Calibración del micrómetro ocular: Se hará en un microscopio binocular que contiene un micrómetro en uno de sus lentes oculares. El micrómetro del ocular es una reglilla que tiene 10 divisiones mayores numeradas y 10 divisiones menores entre números sucesivos. Al observar a través del ocular verá que la reglilla queda automáticamente en foco; de no ser así, mueva el control de dioptrías del ocular hasta que este aparezca en foco. En seguida proceda a colocar el micrómetro del objetivo en la platina del microscopio. Este es un disco plástico que contiene una reglilla que mide en total 0,5 cm (5 mm), y tiene marcadas 100 divisiones: por lo tanto, la distancia entre las divisiones más pequeñas es de 0,05 mm o 50  $\mu\text{m}$  (NOTA: en la página 36 de esta guía dispone de un esquema de cómo verán ambas reglillas con distintos lentes objetivos). Enfoque esta reglilla con el objetivo de 4X y determine cuantos micrómetros de esta reglilla corresponden, por ejemplo, a 100 unidades del micrómetro del ocular. Calcule cuantos micrómetros "mide" una división del micrómetro del ocular. Con este procedimiento habrá calibrado su micrómetro ocular de manera que ahora podrá medir las estructuras que enfoque. Mida el diámetro del campo visual del microscopio. Repita el procedimiento con el objetivo de 10X, 40X y 100X, incluyendo la determinación del diámetro del campo visual en cada condición. Es importante que incorpore en su memoria estos valores ya que le permitirán estimar el tamaño de las estructuras observadas. Saque el disco que contiene el micrómetro del objetivo y enfoque nuevamente el frotis teñido, midiendo glóbulos blancos y rojos (10 c/u). Considere que hay varios microscopios con oculares diferentes en la sala, de manera que no todos obtendrán exactamente los mismos valores de calibración.

NOTA: En el informe utilice los datos de todos los integrantes del grupo. Calcule medidas de tendencia central y dispersión para todas sus mediciones. Recuerde que el aumento total del microscopio es el producto entre el aumento del lente objetivo y el ocular.

Construya un gráfico del diámetro del campo en función del aumento del lente objetivo.

Construya un gráfico comparativo de la distribución de los diámetros de los tipos celulares medidos (eritrocitos y leucocitos), con los valores expresados en  $\mu\text{m}$ .

RECOMENDACIONES GENERALES IMPORTANTES: La preparación debe estar siempre limpia y con el cubreobjetos hacia arriba. Porta y cubreobjetos se manipulan por los bordes para evitar ensuciarlos con la grasa y polvo de los dedos.

Cuando su microscopio no está en uso, bajar la intensidad de la fuente de luz al mínimo en vez de prenderlo y apagarlo cada vez; esto alarga la vida útil de las ampollitas, que son de costo elevado.

#### OBSERVACIÓN DE CÉLULAS.

1. Se le entregarán suspensiones de bacterias y levaduras; coloque una gota de cada una de ellas sobre un portaobjetos limpio, y usando el borde de otro portaobjetos o de un cubreobjetos, esparza la gota sobre la superficie del vidrio de manera que quede una capa muy delgada de la suspensión. A esto se le llama un frotis. Añada una(s) gota(s) de azul de metileno (0,1%) sobre el frotis y espere unos 30 segundos. Luego cubra el frotis con un cubreobjetos y seque cuidadosamente el exceso de colorante con un trozo pequeño de papel absorbente. Observe su preparación al microscopio. Haga un esquema y mida las células. Dispondrá de varias muestras diferentes, por lo que cuide de no mezclar las pipetas de las distintas preparaciones.

2. Ponga una gota de agua de charca sobre un portaobjetos. Cubra y observe. Haga esquemas y mediciones de los microorganismos que ve.

3. Al finalizar sus observaciones el microscopio debe quedar con la platina abajo, el objetivo de menor aumento en la posición de observación, con todos sus lentes limpios, con el cable enrollado al cuerpo del microscopio y con su cubierta puesta.

TAREA (debe incorporarse al informe del trabajo práctico).

1.- Estime el tamaño del campo y la calibración para un aumento ficticio de un lente objetivo 1000X en su microscopio. Describa el método de estimación que utilizó. ¿Cómo se comparan estos valores con los datos medidos en el práctico?

2.- Cuando se desea medir el diámetro de una célula en un tejido se debe sacar un promedio de varias mediciones. ¿Por qué?

3.- ¿De qué tamaño son las células que observó en el trabajo práctico? (**Todas ellas**).

4.- ¿Pudo observar detalles en su estructura? ¿Por qué?

5.- ¿Cuál es el límite de resolución de **SU** microscopio? Describa el método de cálculo.

6.- Averigüe en qué consisten las técnicas de fijación, inclusión y tinción y para que se usan.

7.- ¿Cómo procedería para observar células vivas?

#### INSTRUCCIONES PARA LA ELABORACIÓN DE LOS ESQUEMAS DE LAS OBSERVACIONES.

1. El hacer esquemas de las preparaciones ayuda a la comprensión de lo observado.

2. Los esquemas deben ser hechos con líneas nítidas, marcando los límites más importantes de referencia. El aumento usado en cada observación debe ser indicado.

3. No agregue sombra a los detalles, pero puede usar el achurado o punteado para destacarlos.

NOTA: si utiliza fotografías obtenidas en el práctico, estas deben tener calibración y estar absolutamente en foco; si esto no lo puede lograr, utilice esquemas.



4. Los esquemas deben ser suficientemente grandes, claros y limpios, conservando las proporciones, tanto entre las diferentes estructuras, como en relación con la extensión del campo visual del microscopio.
5. Con letras mayúsculas de imprenta escriba el título del capítulo que se está estudiando.
6. Cada esquema debe tener un subtítulo, indicando el aumento con el cual se ha hecho la observación.
7. Las estructuras que interesa señalar deben ser rotuladas e indicadas por líneas segmentadas.
8. Cada preparación debe ser observada, primero con el aumento menor (10x) y luego con los aumentos mayores, para ver más detalles. Es conveniente hacer esquemas de todas las observaciones, aunque usted debe usar su criterio para decidir qué observaciones son importantes de ilustrar.
9. No olvide incluir en su informe el diámetro del campo con los distintos aumentos totales.

NOTA: En la sección microscopía del capítulo 4 del libro de Alberts y cols., que se incluye con las guías, encontrará los fundamentos del funcionamiento del microscopio.

Lea las instrucciones de esta guía cuidadosamente, el correcto uso del microscopio será evaluado por los ayudantes con notas 1-2 o 6-7 durante los 3 prácticos en que se usa el microscopio (son particularmente importantes el uso correcto del lente de inmersión, capacidad de enfocar y de optimizar la luz, limpieza de los lentes y de las preparaciones). Esta nota se considerará como una prueba más.

NOTA: RECUERDE QUE EL INFORME SE ENTREGA POR MEDIO DE U-CURSOS EN LA FECHA SEÑALADA Y NO SE ACEPTAN RETRASOS.

#### *Preguntas disciplinares*

- a) ¿Qué ventajas generan, las diferencias que se presentan entre un microscopio de fluorescencia y uno confocal?
- b) Defina los siguientes conceptos: inmunofluorescencia, microscopio invertido, anillo de Airy, difracción, iluminación de Köhler
- c) En el desarrollo de la biología, ¿qué relevancia le asigna usted, a la invención de este tipo de instrumentos?

#### VINCULOS A PAGINAS DE CONSULTA.

[http://www.wisc-online.com/objects/index\\_tj.asp?objid=BI0905](http://www.wisc-online.com/objects/index_tj.asp?objid=BI0905)  
<http://micro.magnet.fsu.edu/primer/anatomy/anatomy.html>  
<http://www.ruf.rice.edu/~bioslabs/methods/microscopy/microscopy.html>  
<http://www.uni-mainz.de/FB/Medizin/Anatomie/workshop/EM/Schemazelle.html>  
<http://www.cellsalive.com>  
<https://www.biologyonline.com/dictionary/plant-cell>  
<https://microbenotes.com/plant-cell/>  
<https://www.youtube.com/watch?v=tv9GX0RZeBE> (calibración microscopio)  
<https://youtu.be/8TIyj8OrtWA> (calibración microscopio)  
<https://youtu.be/nxVayzvG8ME> (calibración microscopio)

## **TRABAJO PRÁCTICO Nº2. ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD CELULAR.**

### **Recomendaciones generales**

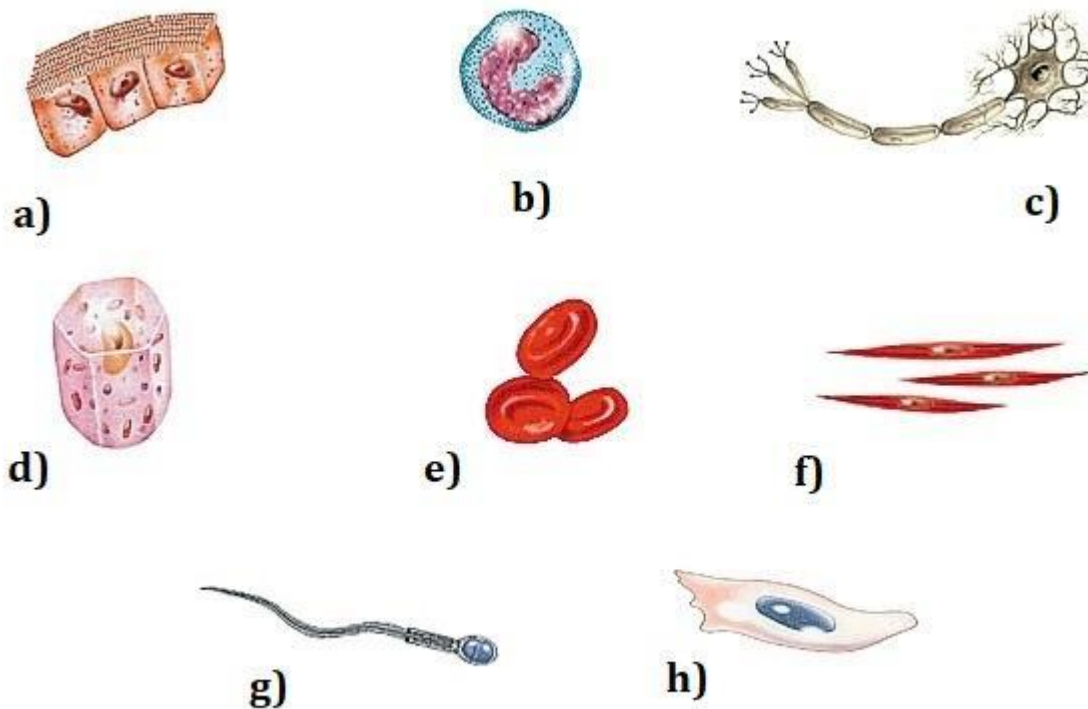
Las observaciones al microscopio óptico deberán combinarse con la inspección detallada de las fotomicrografías electrónicas correspondientes.

En este último material, utilice el aumento indicado en cada una de ellas, para calcular los tamaños aproximados de las estructuras que se observan.

Utilice **todos** los aumentos posibles para la observación de cada preparación histológica.

## Conocimientos previos

1.- A partir de las siguientes imágenes, responde las preguntas que se formulan a continuación



- Identifica y nombra los tipos celulares que reconozcas.
- Escoge dos de ellas, para comentar elementos estructurales que presenten en común y que las diferencien.

## Identificación de células

1.- Complete la siguiente tabla con los dibujos que asocie con los elementos que se indican.

<b>TEJIDOS</b>	<b>CÉLULAS</b>	<b>ORGANELOS EN LA CÉLULA</b>

**2.- Emplee el espacio a continuación, para explicar, en caso de ser necesario, elementos que no se encuentran considerados en cada dibujo.**

**3.- Se le entregará una muestra de corte transversal por intestino de rata, teñido con Hematoxilina-Eosina.**

- a) Identifique en el corte las capas musculares, vellosidades intestinales, submucosa y el tejido

- epitelial que las recubre las vellosidades.
- Reconozca el núcleo, citoplasma de las células epiteliales y la chapa estriada, que reviste la superficie apical de las vellosidades identificadas.
  - Compare sus dibujos con las observaciones que acaba de realizar y tome nota de los elementos efectivamente considerados y aquellos que no han sido incluidos. En este último caso, explique posibles causas para no incluirlas.
  - Compare las observaciones microscópicas realizadas, con las fotomicrografías que se le entregarán y responda: ¿Son incorrectas las observaciones realizadas previamente, respecto de las fotomicrografías revisadas?

## **Identificación de estructuras subcelulares**

### **1.- Se le entregará una muestra de corte por páncreas de ratón teñido con Hematoxilina-Eosina.**

- Identifique los lóbulos, lobulillos, islotes de Langerhans y acinos pancreáticos, que corresponden al sitio de producción de hormonas y enzimas del jugo pancreático, respectivamente.
- Identifique las células secretoras del acino y reconozca la distribución espacial de los siguientes componentes celulares: núcleo celular y sustancia basófila nuclear y citoplasmática, citoplasma granular y lumen del acino.
- Compare sus dibujos con las observaciones que acaba de realizar y tome nota de los elementos subcelulares efectivamente considerados y aquellos que no han sido incluidos. En este último caso, explique posibles causas de no incluirlas.
- Compare las observaciones microscópicas realizadas, con las fotomicrografías que se le entregarán y responda: ¿Qué sentido pedagógico presenta la exploración del tejido que desarrolló, para los estudiantes de educación media en la clase de biología?

### **2.- Revise el montaje completo de una sección transversal por el tallo de cardenal fresco con y sin tinción con Lugol.**

- Identifique la estructura general del corte, reconociendo epidermis, parénquima cortical, esclerénquima y parénquima medular.
- Observe las células del parénquima medular y distinga las siguientes estructuras: pared celular, cloroplastos, gránulos de almidón, núcleo y vacuola.
- Compare las observaciones microscópicas realizadas, con las fotomicrografías que se le entregarán y responda: ¿Qué consideraciones debieran darse, en una clase de biología para educación media, respecto de las diferencias estructurales entre células animales y vegetales?

## **Diversidad celular**

### **1.- Corte transversal por médula espinal de gato.**

- Identifique la estructura general de la médula, astas dorsales, ventrales y canal del epéndimo. En el asta ventral, reconozca motoneuronas y los núcleos de las células gliales.
- En las motoneuronas distinga el cuerpo o pericarion y las prolongaciones, el núcleo y su nucléolo.
- Compare las fotomicrografías revisadas en las actividades previas con las que se le entregarán y comente las relaciones y diferencias que identifica entre ambas muestras. A continuación responda la siguiente pregunta: ¿Qué valor estructural y biológico le asigna a la variación en las formas que exponen las estructuras subcelulares analizadas?

**2.- Observe el frotis de sangre humana teñido con May-Grunwald-Giemsa que se le entregará.**

a) Realice un dibujo en el cual dé a conocer las células que considera, se presentarán en el frotis que revisará

b) En la muestra entregada, identifique, según la morfología del núcleo, tamaño celular y contenido citoplasmático los diferentes tipos celulares que se presentan y dibuje cada una de ellas.

c) Compare esta diversidad de células encontradas con los dibujos

d) Según sus conocimientos responda: ¿Debiera la sangre presentar una variación celular de este tipo?

## **Estructuras celulares específicas**

A continuación, se entregarán diversas fotomicrografías de estructuras subcelulares. Para cada una de ellas, identifique los componentes que se indican y realice un dibujo en el cual se registren sus observaciones.

### **1.- Cilios de branquia de almeja en corte transversal.**

a) Analice la estructura de los cilios y la disposición de sus microtúbulos.

### **2.- Mitocondria de célula pancreática.**

a) Identifique la membrana externa e interna, las crestas y la matriz y sus gránulos.

b) Identifique la estructura del retículo endoplásmico rugoso.

### **3.- Cloroplasto**

- a) Identifique la membrana externa e interna del organelo, así como la matriz, los tilacoides y las membranas intergrana.

### **4.- Leucocito polimorfonuclear (eosinófilo).**

- a) Identifique el núcleo, la envoltura nuclear, eucromatina, heterocromatina, gránulos citoplasmáticos, retículo endoplásmico rugoso y membrana celular.

VINCULOS A PAGINAS DE CONSULTA.

<http://www.cytochemistry.net/Cell-biology>

<http://www.estrellamountain.edu/faculty/farabee/biobk/BioBookCELL2.html>

[http://www.funsci.com/fun3\\_en/blood/blood.htm#16](http://www.funsci.com/fun3_en/blood/blood.htm#16)

<http://www.uni-mainz.de/FB/Medizin/Anatomie/workshop/EM/SchemazellE.html>

<http://www.cellsalive.com>

## TRABAJO PRÁCTICO N° 3

### La preparación del Pan: levaduras, proteínas y azúcares.

#### ¿Qué le da su sabor?

Muchas de las culturas humanas preparan algún tipo de alimento que asemeja al pan, pero, ¿qué es? ¿Cómo se produce? ¿Qué fenómenos bioquímicos participan en su elaboración? ¿Por qué hablamos de biotecnología cuando hacemos referencia a él? Hoy prepararemos pan, pero en el proceso exploraremos varias de las características que posee este alimento. Este trabajo tiene varios pasos entre los cuales hay momentos de espera, por lo que entre uno y otro realizaremos otras actividades.

Las características del pan están definidas por tres tipos de biomoléculas contenidas en la harina de trigo (o de otros granos que permiten hacer pan). En su informe debe consignar de donde proviene la harina y cual es el origen y función de estas biomoléculas, además del proceso mediante el cual se prepara la harina. Entre estas biomoléculas, las primeras que consideraremos son las proteínas, que al hidratarse y manipularse darán origen al gluten, detalle en su informe cuáles proteínas componen esta molécula, sus características, el proceso de formación de gluten y su importancia en la elaboración del pan. Por otra parte, la harina posee una importante proporción de hidratos de carbono, los cuales corresponden buena parte de las calorías del pan (defina caloría). ¿En qué parte de la elaboración del pan son importantes? ¿Qué ocurre con estos hidratos de carbono al cocinar el pan? ¿Cuál es la diferencia entre la costra y la miga del pan? Finalmente, los lípidos: ¿qué función cumplen? ¿Qué tipo de lípidos se utilizan? ¿Cuál es su estructura química y que determina los procedimientos que hacemos? Finalmente, consigne los esfuerzos que se hacen por preparar pan sin algunos de estos componentes. ¿Cuáles son los motivos y los resultados?

#### Experimento N°1: Pan amasado

##### Materiales:

Mida y pese los materiales con exactitud. Harina (500 g), levadura fresca (15 g), azúcar de mesa (sacarosa; 5 g), sal común (NaCl; 10 g), 1 taza de leche (250 mL), Manteca Vegetal (75 g) o aceite (75 mL).

##### Equipamiento:

Balanza, cuenco (“*bowl*”) chico, cuenco grande, cucharas, sartén, Paños de cocina, Bandejas de cocina, Papel aluminio, Horno, Mechero, Balanza

#### Procedimiento

1. Activar la levadura: Disolver 5 g de azúcar en 15 mL de agua y agregar 15 g de levadura fresca. Revolver hasta formar una pasta homogénea y dejar actuar por 10 min (Responder en el informe, ¿qué papel cumple este paso?).
2. Derretir la manteca en un recipiente sobre la llama de un mechero (puede estar preparada o se puede usar aceite). Responder en el informe: ¿cuál es la diferencia entre el aceite y la manteca? ¿Qué hace que uno sea líquido y otro sólido?
3. Poner 500 g de Harina en un bol grande. Agregar la sal, mezclar y hacer un hoyo al centro (volcán).
4. Agregar 250 mL de leche, 75 g de manteca y la mezcla de levaduras.
5. Mezclar hasta obtener una masa homogénea

6. Amasar DENTRO del cuenco hasta sentir el cambio de estructura. (*Nota: no dejar que los utensilios o la masa toquen el mesón*).
7. Cubrir con un paño de cocina y dejar reposar por 30 min a temperatura ambiente.
8. Pausa: ir al experimento 2 y volver.
9. Amasar un poco más, aplanar y poner sobre una bandeja del horno (cubierta con papel encerado)
10. Pinchar con tenedor (responder en la guía cuál es la necesidad de hacer esto).
11. Hornear Pausa: mientras hornea, ir al experimento 3.

#### Experimento N°2: El pan está vivo

Utilizando las técnicas de microscopía que hemos visto en la sesión anterior, prepararemos un frotis de una solución diluida 1:10 de las levaduras activadas. Para esto:

1. Tomaremos 5  $\mu\text{L}$  de la mezcla de levaduras y agua y le agregaremos un volumen de agua para que quede 10 veces más diluida. Anote el volumen de agua que agregó.
2. Prepare un frotis de su solución diluida. Tome 10  $\mu\text{L}$  y póngalos sobre un portaobjetos de vidrio. No lo ponga en el centro, sino casi al final del vidrio (cuidado de no ponerlo sobre una zona esmerilada; esa es para escribir).
3. Apoye un cubreobjetos sobre el portaobjetos (en un ángulo aproximado de  $45^\circ$ ) y llévelo al contacto con la gota.
4. En un movimiento continuo, disperse la gota por sobre la superficie del portaobjetos (frotis).
5. Cubra con un nuevo cubreobjetos y observe a diferentes aumentos en el microscopio. Describa lo que observa.
  - Registre sus imágenes en el microscopio asociado a una cámara.
  - Describa, ¿de qué tamaño son las levaduras? ¿Cómo lo determinaría?

(Vuelva al experimento N°1)

#### Experimento N°3 Reacciones de Maillard, ¿qué pasa cuando doramos cebolla?

La costra y la miga del pan proceden de la misma masa, sin embargo adquieren diferentes características, entre las que se destaca su sabor. Esta diferencia se produce por una reacción de un azúcar con un grupo amino en lo que se denominan “reacciones de Maillard”. En el siguiente experimento usted utilizará cebollas para determinar cómo afecta el pH a las reacciones de Maillard y explicará lo que observa en su informe.

- Cebolla picada (pese 50 g)
  - 10 mL de aceite (mida)
  - Mechero
  - 100  $\mu\text{g}$  bicarbonato
  - 100  $\mu\text{L}$  de vinagre.
1. Pique cebolla (a pluma, bajo extractor. ¿Por qué? )
  2. Prenda el mechero
  3. Caliente el sartén al fuego
  4. Agregue el aceite y caliente 30 segundos



5. Agregue la cebolla y agregue bicarbonato o vinagre a uno de los sartenes.

Tratamiento

Observaciones

Control

Bicarbonato

Vinagre

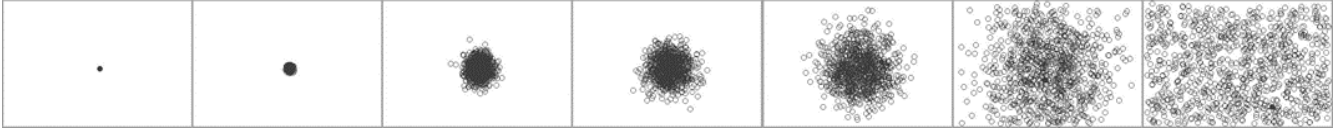
Describa, ¿dónde espera ver reacciones de Maillard en la cocción del pan?

Explique, ¿por qué sirve picar la cebolla bajo un extractor?

### TRABAJO PRÁCTICO N°4. MEMBRANAS: CARACTERÍSTICAS E IMPORTANCIA.

Basado en el trabajo práctico de la Dra. Cecilia Vergara

a) A partir del esquema que se adjunta, el cual representa la disolución de una cucharada de azúcar, explique las implicaciones biológicas que carga dicho fenómeno para los procesos celulares.



b) Refiérase a la relación de la imagen con los conceptos de semipermeabilidad, difusión y gradiente de concentración.

c) En 1828, el francés Henry Dutrochet, realizó la siguiente observación experimental:

*“...la difusión del solvente, a través de una membrana semipermeable, ocurría siempre desde la solución de menor concentración de un soluto, que no puede pasar, hacia la solución de mayor concentración; además, el solvente que fluye, es capaz de desarrollar una presión sobre la membrana<sup>1</sup>”*

A partir de esta conclusión, dé a conocer el concepto biológico que asume dicha definición e ilústrela mediante un esquema.

<sup>1</sup> [http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen1/ciencia2/16/html/sec\\_4.html](http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen1/ciencia2/16/html/sec_4.html)

## 1.- Estructuras de las membranas

- Realice una preparación de mucosa oral y tñíala con azul de metileno; reconozca en su preparación, las células y sus componentes citoplasmáticos teñidos.
- Identifique los diferentes tipos de estructuras superficiales de la célula (filopodios, microvellosidades y ampollas) en la fotomicrografía electrónica de barrido que se le entregará.
- En la fotomicrografía electrónica de barrido que se le entregará, identifique las membranas celulares presentes y reconozca las unidades de membrana que se presentan en ellas.

## 2.- Procesos regulados por membranas

### 2.1.- Difusión:

a) Les serán suministrados 3 frascos cuya tapa tiene un pequeño agujero y tres contenedores con agua a temperatura ambiente. Llenen totalmente el primer frasco con agua con colorante a temperatura ambiente, el segundo con agua caliente con colorante y el tercero con vino tinto a temperatura ambiente. Coloquen la tapa a cada frasco. Con su dedo índice tapen el agujero y sumerjan cada frasco en un contenedor con agua a temperatura ambiente. Retiren el dedo del agujero y observen qué ocurre en cada situación. Como alternativa pueden cubrir el agujero con cinta de enmascarar (“*masking tape*”) y perforarlo con una aguja de jeringa gruesa una vez en el agua.

### 2.2.- Osmosis/selectividad/solubilidad en lípidos.

a) A partir de una solución de 2 mol/L de sacarosa prepare 20 mL de diluciones 0,3; 0,8 y 1,5 mol/L. Dispondrán de 4 placas Petri; pongan en una de ellas aproximadamente 15 mL de agua destilada y en las otras las diluciones descritas. Corten un cilindro de la papa que se les entregará y luego obtengan 4 trozos de un cm de espesor. pesen cada uno de los trozos de papa, anoten este valor y colóquenlos dentro de cada una de las placas. Durante el transcurso del práctico, cada 45 min retiren cada trozo, séquenlo muy suavemente con papel toalla y vuelvan a pesarlo. Anoten ese valor y devuélvanlo a su placa. Si pueden, vuelvan al día siguiente y repitan estas mediciones.

b) Coeficiente de partición de alcoholes.

Dispondrán de dos series de tubos con 1 mL cada uno de metanol, etanol, propanol, butanol y alcohol amílico. En la primera serie los alcoholes están puros y en la segunda todos están diluidos a 0.3 M en agua. Tendrán también un último tubo con 1 mL de agua como control. Se les entregará un trozo de betarraga de aproximadamente 1 mm de ancho, 0.5 mm de espesor y varios cm de largo. Elijan un trozo homogéneo y corten 11 trozos de 1cm de largo. Coloquen 1 trozo de betarraga en cada tubo, agiten y luego de 30 min comparen la cantidad de pigmento (y por lo tanto si se rompieron o no las membranas de las células) en cada condición. Con base en la tabla que se muestra a continuación generen una explicación para sus observaciones (que se debe incluir en el informe).

Alcohol	Fórmula	Peso Molecular	Coeficiente Partición
Metanol	CH <sub>3</sub> OH	32,04	0,01
Etanol	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	46,07	0,03
L-Propanol	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> OH	60,09	0,13
1-Butanol	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> OH	74,12	0,58
1-pentanol	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> OH	88,15	2,00

## TRABAJO PRÁCTICO N° 5

### Ciclo celular.

Este trabajo práctico intenta que los estudiantes se familiaricen con la preparación de material para observar mitosis y determinar la longitud de los ciclos celulares.

#### **Detección de células mitóticas e interfásicas en el ápice radicular de la cebolla**

**Obtención de raicillas nuevas.** Cebollas listas para el consumo y de mediano tamaño se colocan en la apertura de frascos de vidrio o plástico de boca ancha llenos de agua potable, hasta cubrir las raicillas secas. Este procedimiento se inicia 3-4 días antes de iniciar la observación de las primeras raicillas nuevas. Estas aparecen entre las viejas como pequeños apéndices de color blanco. Es aconsejable mantener una lámpara de luz blanca encendida frente a los frascos para asegurar 24 h de fotosíntesis. A medida que pasa el tiempo las primeras raicillas crecerán y alcanzarán varios cms de longitud mientras nuevas raicillas seguirán emergiendo del polo radicular de la cebolla. Para detectar células en división es aconsejable usar raicillas nuevas de unos pocos mm de longitud.

#### **Procedimiento para teñir mitosis.**

(a) Retiro y fijación de raicillas: con una tijera u hoja de afeitar retire 2-4 raicillas nuevas y póngalas en HCl 1N contenido en un tubo Eppendorff de 1,5 mL. Caliente el tubo con su contenido a baño María o con un Termoblocker a 60 °C por 12 min.

(a) Lavado: remueva el HCl con mucho cuidado usando una pipeta Pasteur y viértalo en la botella de recolección de residuos correspondiente. Lave las raicillas a temperatura ambiente con agua destilada en el mismo Eppendorff por 20-30 min con cambios cada 5 min.

(b) Tinción: con una pipeta Pasteur agregue al tubo Eppendorff la suficiente cantidad de Azul de Toluidina al 0,05% que cubra las raicillas. Tiña por 12 min a temperatura ambiente.

(c) Lavado: retire el azul Toluidina con una pipeta Pasteur y viértalo a la botella de recolección de residuos correspondiente. Lave por 20-30 min con varios cambios de agua destilada.

(d) Montaje: retire con cuidado las raicillas del tubo Eppendorff para no dañar su extremo apical cónico que contiene las células en división. Deposite la(s) raicilla(s) sobre un portaobjetos y monte con agua destilada o glicerina/agua destilada en la proporción de 9:1. Una vez colocado el cubreobjetos comprima suavemente ("*squash*") para aplanar la raicilla. Después de este acto la preparación puede protegerse de la desecación pintando los bordes del cubreobjetos con barniz de uñas.

#### **Observaciones.**

(a) A bajo aumento. Reconozca las 3 regiones de la punta de la raicilla que, de ápice a basal son: región protectora, región de abundantes mitosis (meristema) y región de elongación celular. En la primera región las células son cuboideas, tienen un núcleo redondeado y se alinean en columnas longitudinales. En la región de mitosis, que está unos mm alejada de la primera región, persiste la forma y ordenamiento de la células pero sus núcleos presentan una cromatina de variada intensidad de tinción o simplemente sus núcleos han sido reemplazados por voluminosos cromosomas. Reconozca las células alargadas de la tercera región.

(b) A mayor aumento. Distinga núcleos interfásicos y mitóticos y entre los últimos los que se encuentran en distintos períodos de la mitosis: profase, metafase, anafase y telofase. Como las células en división están ordenadas en columnas longitudinales usted podrá contar, con suerte, el número de células que hay entre dos mitosis sucesivas de una columna y así calcular el tiempo de ciclo celular. Debe estar seguro/a que no está contando células de dos columnas adyacentes o dos veces la misma célula de una columna. Para determinar el tiempo de ciclo promedio tendrá que realizar varias determinaciones en una misma raicilla.  
Elabore los esquemas correspondientes.