

Capítulo 1

Prácticas de biología

Luz Marina Castillo Loaiza
Camilo Andrés Montaña

Introducción

El mundo microscópico nos ofrece una variedad de formas, texturas y contornos enormemente diversos. Más allá de lo que pueden alcanzar a diferenciar nuestros ojos (aproximadamente 0.2 micras [μm] de resolución), se esconde todo un microcosmos lleno de vida. El desarrollo del microscopio óptico nos permitió estudiar los microorganismos de una manera mucho más detallada y objetiva; a su vez, posibilitó el avance sobre el conocimiento de la estructura y funcionamiento de las células como unidades estructurales y básicas de todos los seres vivos. Actualmente en un laboratorio básico de biología es fundamental y obligatorio tener al alcance este instrumento de estudio, como parte del desarrollo y aplicación de las prácticas integrales en formación en ciencias naturales.

En este documento se recopilan un pequeño número de prácticas básicas de biología enfocadas a la comprensión de varios aspectos que pueden ser aplicadas por docentes y estudiantes por igual. El lector también corresponderá con el hecho de que la mayoría de las prácticas pueden ser realizadas con el uso de pocos insumos y reactivos que pueden ser obtenidos fácilmente. Dos prácticas revisan el funcionamiento de equipos de observación tales como el microscopio óptico y el estereoscopio microscopio. También existen tres prácticas dirigidas al estudio de las células vegetales, los tejidos animales y la comprensión de la diferenciación e identificación de bacterias mediante tinción Gram.

Práctica 1. Uso del microscopio óptico

Resultados de aprendizaje		
Actitudinal	Conocimiento	Desempeño
Realiza las observaciones microscópicas con el fin de establecer las diferencias entre las partes del microscopio y su uso eficiente en laboratorio	Identifica cuales son las principales características de los organismos a escala microscópica gracias al manejo correcto del microscopio en el laboratorio	Atiende a las explicaciones del docente sobre la forma de hacer y observar a través del microscopio

Conocimientos previos

El ojo humano percibe dimensiones con diferentes escalas, una de ellas se determina por el poder de resolución que aumenta la agudeza visual del ojo, es decir, la capacidad de percibir dos puntos muy cercanos entre sí

como elementos separados (por ejemplo, el punto sobre la i). Así, el promedio de agudeza visual de nuestros ojos es de unos 0,2 milímetros (mm) (Kremer, 2012).

Debido a esta falta de agudeza y resolución visual en el siglo XVII, Robert Hooke (1665), científico inglés, utilizó un equipo óptico sencillo, descubrió a las células y las describió en su obra *Micrographia*.

Hooke examinó un pedazo de corcho y dibujó y describió lo que vio. Hooke eligió el término célula porque el tejido le recordaba las pequeñas habitaciones en las que viven los monjes. Sin embargo, lo que Hooke vio no eran realmente células vivas, sino las paredes de las células del corcho muertas. Mucho después los científicos reconocieron que el interior encerrado por las paredes es la parte importante de las células vivas (Solomon et al., 2013).

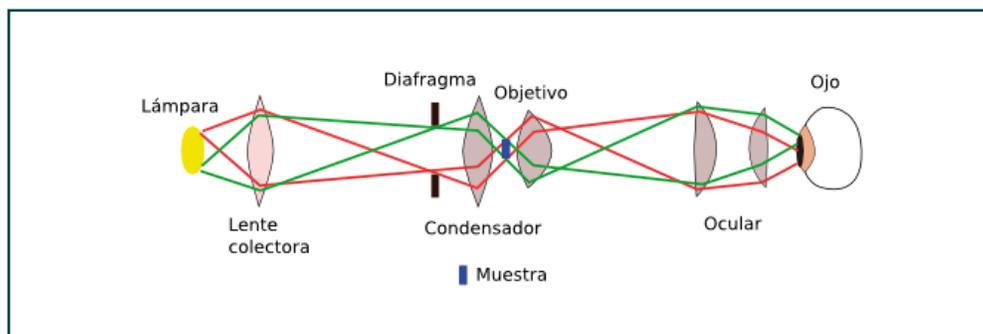
Paralelamente, Antonie van Leeuwenhoek estudió las células vivas con unas pequeñas lentes que había pulido ya que él era un experto en el arte de pulir lentes, creando así el primer microscopio con el cual pudo ampliar las imágenes más de 200 veces. Entre sus descubrimientos importantes están las bacterias, los protozoos, las células de la sangre y los espermatozoides. Sin embargo, a su muerte no compartió sus técnicas y solo 100 años después los microscopios se perfeccionaron lo suficiente para que los biólogos centraran seriamente su atención en el estudio de las células (Audesirk et al., 2013).

El microscopio es un equipo óptico usado para observar objetos o muestras diminutas de cualquier tejido o sustancia y de tamaños en escalas de micras que a simple vista no podemos ver. Así, el microscopio óptico (MO) sencillo es el equipo utilizado por la mayoría de los estudiantes; consiste en un tubo con lentes de vidrio en cada extremo. Como contiene varias lentes, el microscopio óptico moderno se denomina microscopio compuesto. La luz visible pasa a través de la muestra que se está observando y por medio de una primera lente, que refracta (desvía) la luz y se amplía la imagen (Solomon et al., 2013; Torre et al., 2005). La imagen obtenida pasa a un segundo lente (el ocular, el cual actúa como una lupa) y se constituye en una imagen invertida de mayor tamaño (Deliamc, 2014), siendo esta una imagen real aumentada e invertida (figura 1).

Entonces, esta imagen obtenida con el microscopio óptico (MO) se conoce como micrografía óptica (Solomon et al., 2013). Por ejemplo, al no observarse a simple vista las células tanto procariontas como eucariotas, se requiere de un microscopio, el cual dará una imagen aumentada de estas que depende de:

- El objeto por estudiar.
- La fuente de iluminación.
- El sistema óptico utilizado.

Figura 1 Recorrido de la luz desde la fuente, pasando a través de los diferentes lentes de un microscopio compuesto, hasta el observador



Nota. Tomado de Megías et al (2023).

Cuando se habla de nitidez existen dos características de un microscopio que la determinan, con la que se puede ver un objeto pequeño: el *aumento* y el poder de *resolución*. El aumento es la relación entre el tamaño de la imagen vista con el microscopio y el tamaño real del objeto. Los mejores microscopios ópticos normalmente amplían un objeto más de 2000 veces. Por su parte, la resolución (o poder de resolución), es la capacidad para distinguir detalles finos en una imagen; se define como la distancia mínima entre dos puntos a la cual ambos se pueden ver por separado y no como un único punto borroso. El poder de resolución depende de la calidad de las lentes y de la longitud de onda de la luz de iluminación. Conforme disminuye la longitud de onda, la resolución aumenta (Solomon et al., 2013).

La luz visible utilizada por los microscopios ópticos tiene longitudes de onda que oscilan de aproximadamente 400 nanómetros (nm, violeta) a 700nm (rojo); esto limita la resolución de los microscopios ópticos a detalles no más pequeños que el diámetro de una célula bacteriana pequeña (aproximadamente 0,2 μ m). A principios del siglo XX, se tuvo disponibilidad de versiones más refinadas del microscopio óptico (Solomon et al., 2013; Megías et al., 2023).

Conceptos

Célula: unidad funcional y estructural de la vida. Se han descrito dos tipos de células, las procariotas y las eucariotas. Las primeras de menor tamaño (0.2 a 10 μ m) y sin membranas internas u organelos. Las células eucariotas presentan mayor tamaño (10 a 100 μ m) y membranas internas que han originado a los organelos.

Láminas o cubreobjetos: también llamadas portaobjetos son simples láminas de vidrio rectangulares con un máximo de 1 mm de grosor y dimensiones estándar de 76 x 26mm con bordes pulidos o degastados.

Laminillas o portaobjetos: compuestos de vidrio muy delgado con forma cuadriculada de menos de 0.17mm de grosor con un área desde 18 x 18mm hasta 24 x 24mm. Se manipulan con pinzas.

Microscopio: equipo óptico creado por Antonie Van Leeuwenhoek a finales del siglo XVII, con el que se puede observar las células o tejidos que a simple vista no se pueden observar. Existen varios tipos de microscopios como son los electrónicos, confocales, de fluorescencia, de barrido, de transmisión electrónica, hasta los más simples como el óptico (monocular o binocular).

Materiales y recursos pedagógicos

Materiales

Micropreparados: uno con 4 tipos de fibras (Nylon, algodón, seda y lana), otro con un ala de insecto y uno con tejido muscular.

Reactivos

Aceite de inmersión.

Equipos

Microscopio óptico (se recomienda tener siete microscopios para un grupo de 28 estudiantes).

Equipo de seguridad

- Bata de laboratorio blanca.
- Guantes quirúrgicos desechables.
- Tapabocas quirúrgicos.
- Kit de bioseguridad.

Material por parte del estudiante

- Corta vidrios o destornillador con punta afilada.
- Papel para limpiar lentes (papel de arroz).
- Libreta de apuntes o cuaderno de notas.
- Láminas o portaobjetos.
- Laminillas o cubreobjetos.
- Lápiz, Bolígrafo y Marcador de vidrio.
- Borrador.

Procedimiento

Reconocimiento de las partes del microscopio, cuidados y limpieza, su funcionamiento, y el cálculo del aumento total de cada uno de los objetivos.

El o la docente dará una instrucción a los estudiantes sobre las partes del microscopio.

Partes del microscopio óptico. Las partes del MO se observan en la figura 2 para que el estudiante comience a familiarizarse con cada una de ellas (Guzmán, 2015; Pérez, 2014).



Figura 2 El microscopio óptico (MO) y sus partes

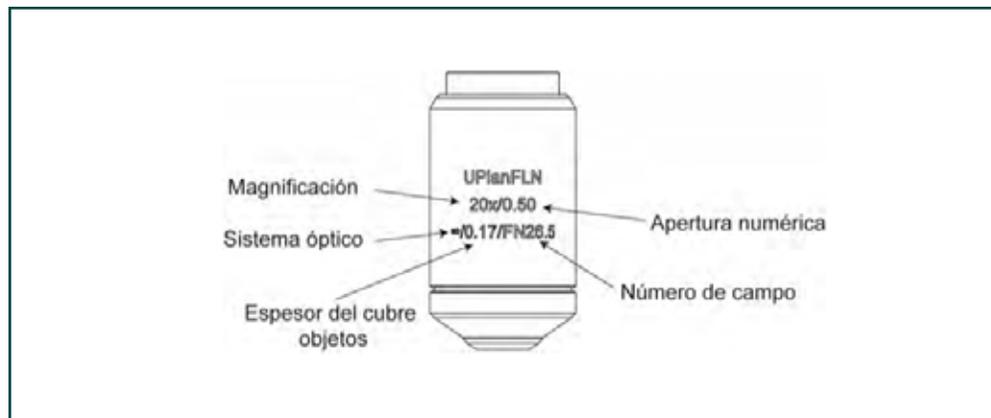
Nota. Los microscopios ópticos pueden ser monoculares o binoculares como se muestra en esta imagen. En general, ambos constan de las mismas partes. Tomado de Guzmán (2015).

Descripción de las partes del MO:

1. Tubo óptico: donde se encuentra ubicado el ocular.
2. Ocular: lente situada cerca del ojo del observador (10X).
3. Objetivos: lentes situadas cerca del objeto que se quiere observar, suelen ser intercambiables y el poder de aumento puede ir desde 5X hasta 25X.

Características del objetivo. El objetivo es quizás la parte más importante del microscopio, en este se encuentra la mayor parte de la capacidad de aumento del equipo debido a los distintos lentes ubicados en su interior. El objetivo posee una serie de información inscrita en su parte externa que es útil saber para realizar adecuadas observaciones y estimar su capacidad operativa (figura 3).

Figura 3 El lente objetivo del microscopio



Nota. Tomado de Guzmán (2015).

- **Magnificación o aumento:** un número seguido de una equis señala el aumento del objetivo, informando de las veces que aumenta la muestra.
- **Apertura numérica:** marca la inclinación del cono de luz incidente que capta el objetivo. Entre más alto, mejor la resolución.
- **Sistema óptico o Longitud del tubo:** distancia en mm que debe tener desde el ocular hasta el objetivo para observar la imagen. Un signo infinito (∞) informa de que los rayos de luz salen del objetivo de forma paralela.
- **Espesor recomendado del cubreobjetos:** esta cifra hace referencia al grosor que debe tener el portaobjetos utilizado para tener una menor aberración óptica. La cifra se marca en milímetros.
- **Número de campo:** con el cual se puede conocer el tamaño de campo en el plano de la muestra.

Los objetivos más comunes en uso se muestran en la figura 4. Estos se clasifican en:

- **Secos:** 4X, 10X y 40X.
- **De inmersión:** 100X, que se utiliza con aceite de inmersión, generalmente de cedro.

Figura 4 Objetivos

Nota. Los objetivos están en la parte del microscopio llamado revolver.



- Revólver: consta de un sistema giratorio que soporta a los objetivos y permite cambiarlos a voluntad.
- Platina: plataforma plana constituida por materiales como porcelana, metal u otros con forma cuadrada o circular y con una apertura para colocar y observar la muestra. Además, la mayoría de microscopios actuales posee un sistema de tornillos para desplazar la muestra y hacer múltiples observaciones a lo largo del preparado.
- Condensador: contiene un sistema óptico que concentra los rayos de luz de la lámpara sobre la muestra.
- Tornillos macrométrico y micrométrico: dos dispositivos mecánicos que acercan la muestra a los lentes de los objetivos. El primero realiza movimientos amplios; mientras que el último ajustes precisos.
- Brazo: soporta el tubo y permite el movimiento de los tornillos macrométrico y micrométrico.
- Lámpara: mecanismo eléctrico que suministra la luz que recorre el sistema óptico para observar la muestra.

Limpieza del microscopio. Todo microscopio debe mantenerse aislado del polvo, ya que este puede dañar los oculares y objetivos. Para esto *siempre* debe estar cubierto por un protector, el cual se quita antes de ser usado y nuevamente se coloca sobre el microscopio para protegerlo. La limpieza del microscopio se realiza con papel de arroz y de acuerdo con lo indicado por el o la docente.

Funcionamiento del microscopio (Kremer, 2012).

- Tomar una lámina y realice rayones sobre esta con ayuda de un corta vidrios o con la punta afilada de un destornillador (hacer esta operación con sumo cuidado evitando cortadas).
- Ubicar la lámina sobre la platina teniendo en cuenta que el o los rayones queden hacia arriba.
- Asegurar la lámina con la pinza giratoria del carro del microscopio.
- Encender el microscopio (el interruptor de la luz se encuentra en la base del microscopio como lo indicó el docente en la primera parte de esta práctica).
- Observar un campo diminuto en el orificio de la platina que atraviesa la lente superior del condensador. Este campo que atraviesa la luz es llamado "diafragma" y trabaja igual a la pupila de los ojos humanos.

- Girar los objetivos en la parte superior del microscopio (revolver) y fije el objetivo 4x en esta parte.
- Observar a través de los oculares como lo indica la o el docente.
- Corregir la iluminación con la apertura del diafragma de acuerdo con lo indicado por la o el docente.
- Manteniendo el ojo muy cerca a los oculares, girar despacio el tornillo macrométrico. Así la platina que contiene el carro se mueve de abajo hacia arriba.
- Realizar el giro hasta que se hagan visibles los primeros contornos medianamente claros de la muestra (rayones).
- Ajustar la visión con el tornillo del micrómetro.

Nota 1. La mayor parte del tiempo deberá dejar una mano sobre el tornillo del micrómetro. Para ajustar la nitidez en las distintas áreas del objeto que desees ver a medida que avanza en su observación.

- Ubicar el siguiente objetivo 10X en la parte superior.
- Corregir la apertura del diafragma como lo indicó la o el docente.
- Notar que la parte de la muestra seguirá estando más o menos en el centro del campo visual. Solo se ve más cercana.
- Enfocar la visión con el tornillo micrométrico. A veces se debe subir un poco el carro con ayuda del tornillo del macro.
- Realizar estos cuatro últimos pasos para observar la muestra con los demás objetivos (40X y 100X).
- Dibujar y describir lo que observa con cada objetivo (4X, 10X, 40X y 100X).
- Repetir el procedimiento anterior con cada uno de los micropreparados, las fibras con diferentes patrones y las alas de insecto.
- Realizar el cálculo del aumento de cada objetivo, como se menciona a continuación.

Cálculo del aumento total. Para saber estimar el aumento total multiplicar el número de aumentos del ocular por el número de aumentos del objetivo que se esté utilizando. El número de aumentos se encuentra grabado en cada lente, junto con el símbolo X.

$$\text{Aumento total} = \text{Aumento del ocular} \cdot \text{Aumento del objetivo}$$

Finalmente:

- Registrar las observaciones para cada muestra dada por la o el docente (para cada objetivo utilizado).

Recomendaciones. Cuando observe cada uno de los micropreparados, mantenga siempre ambos ojos abiertos, incluso en instrumentos con un solo ocular. Con la práctica podrá incluso observar y dibujar al mismo tiempo. Otro de los errores comunes de los principiantes es enfocar la vista a la misma distancia al a que se lee usualmente. Este proceso tensa los músculos oculares y cansan la visión en poco tiempo. Por eso lo conveniente es enfocar la vista con los músculos relajados como si se tratara de observar un paisaje lejano. Cuando se canse de la vista al tensionar los músculos del cristalino al observar de cerca, repose un momento y enfoque un plano distante como una ventana y con la misma posición vuelva a seguir con la observación con el equipo (Kremer, 2012).

Actividad 2

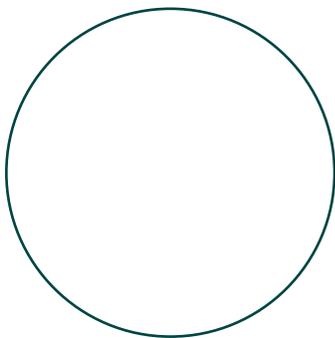
Análisis de datos

Realice los siguientes ejercicios y de sus respectivas respuestas. El estudiante debe tener especial atención en registrar los cuidados y recomendaciones antes, durante y después del uso microscopio compuesto.

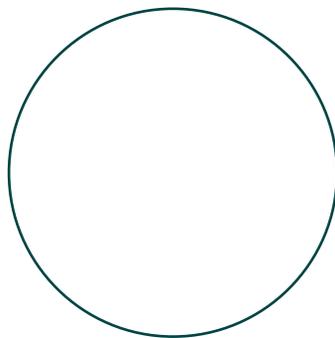
1. Use un *diagrama* de flujo combinado con dibujos a mano alzada para colocar cada uno de los procesos realizados en la práctica siguiendo un orden cronológico. Desde el reconocimiento de cada una de las partes del equipo, pasando por el encendido, calibración óptica según el usuario, montaje de la muestra, cambios de enfoque y de aumentos progresivos hasta el aumento de 40X.
2. Calcule el aumento obtenido con el uso combinado de los oculares y cada uno de los objetivos. Coloque sus respuestas en el siguiente cuadro:

Aumento del Ocular	Aumento de Cada Objetivo	Aumento combinado obtenido
10X	4X	40
	10X	100
	20X	¿ ?
	100X	¿ ?

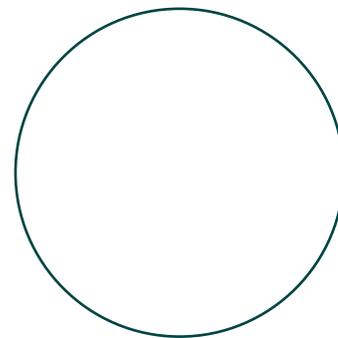
3. Registre y describa las observaciones de las tres muestras para cada objetivo utilizado siguiendo el patrón de figuras que se muestra abajo.



_____ x



_____ x

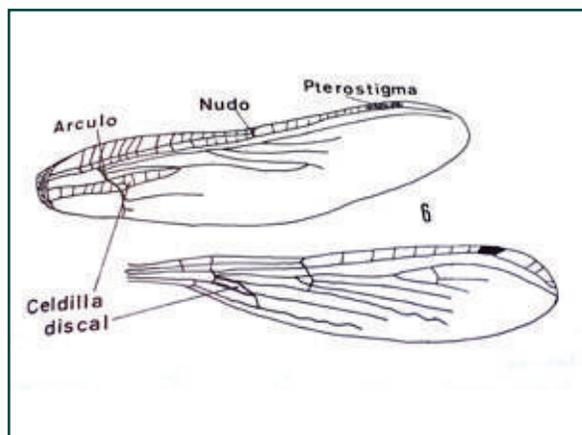
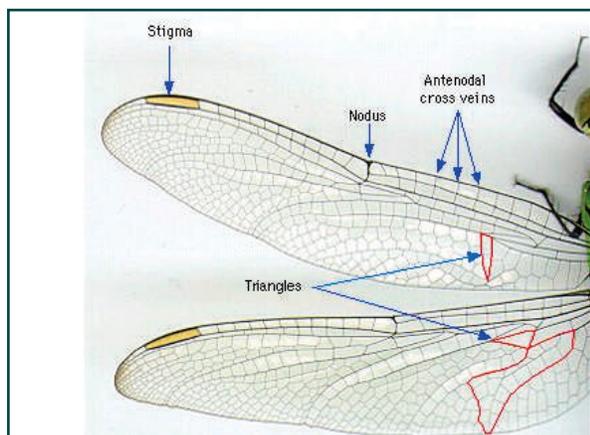


_____ x

4. Descripción de la observación

Recuerde

Para el micropreparado de las fibras dibuje los patrones y la distribución de las fibras de cada tipo, así como el cambio en la medida que se realiza con el incremento de la magnificación dada por cada objetivo. Para la muestra de ala de insecto dibuje los patrones y estructuras. Luego, identifique las partes que se observan en la siguiente figura.



Nota. Anatomía de un ala de insecto. Tomado de ABA6 (2014).

Para el micropreparado de tejido muscular observe y determine la forma de las células y su disposición espacial en cada uno de los objetivos.

Recomendaciones para la presentación de los recursos y la discusión

En los resultados deben estar todas las observaciones y registros realizados durante la práctica. Poner especial atención en el orden de los procesos y técnicas utilizadas.

En la discusión de resultados deben analizar cuáles son las dificultades relacionadas al uso y observación del equipo y por qué estas se presentan al realizar el tipo de observaciones registradas. Analizar y revisar por qué los procesos de enfoque difieren de acuerdo con el observador y la importancia del uso del equipo en

estudio de los seres vivos. Con respecto al análisis de los micropreparados, específicamente con el micropreparado de las fibras; deberán discernir si las distribuciones y ordenamientos espaciales determinan algunas propiedades o características de cada material. En la observación del ala de insecto y del tejido muscular mencionen y discutan si también existen relaciones de forma-función y su importancia.

Lo realizado en la práctica debe estar reflejado y revisado en el contenido de la libreta. Se elige una sola libreta por grupo, así que todos deben tener la libreta al día a lo largo del semestre y por cada práctica realizada.

Conclusiones

Elabore tres (3) conclusiones respecto a sus hallazgos en la práctica.

1.

2.

3.

Entregable (informe)

Ver la información al respecto ubicada al inicio de este manual.

Referencias

- ABA6. (2014, diciembre 8). *Alas Iberian Odonata*. <https://iberianodonataucm.myspecies.info/node/19>
- Albuquerque, V. (2017). Manejo del microscopio. *Vida Científica. Boletín Científico de la Escuela Preparatoria No. 4, 5(9)*. <https://www.uaeh.edu.mx/scige/boletin/prepa4/n9/pl.html>
- Audesirk, G., Audesirk, T. & Byers, B. (2013). *Biology: Life on Earth with Physiology* (10a ed.). Pearson.
- Deliamc. (2014, octubre 28). *Práctica N.º 2 introducción al manejo del microscopio*. Práctica de Hematología y Citología. <https://practicasdehematologiaycitologia.wordpress.com/2014/10/28/practica-no1-introduccion-al-manejo-del-microscopio/>
- Kremer, B. (2012). *ABC del microscópico: estructura, funcionamiento y preparaciones paso a paso*. Panamericana.
- Guzmán, M. (2015). *Remoción de la aberración cromática lateral en imágenes de microscopía óptica de campo claro* [Tesis doctoral, Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.]. IPICYT Repositorio. <https://ipicyt.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1010/815>
- Megías, M., Molist, P. y Pombal, M. (2023, abril 12). *Microscopio óptico*. Atlas de Histología Vegetal y Animal. <http://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/6-optico.php>
- Pérez, M. I. (2014). *El Microscopio: Equipo fundamental en el Laboratorio de Biología*. Con-ciencia. Boletín Científico de la Escuela Preparatoria No. 3, 1(1). <https://www.uaeh.edu.mx/scige/boletin/prepa3/n1/m9.html>
- Solomon, E., Berg, L. y Martin, D. (2013). *Biología* (9a ed.). Cengage Learning.
- Torre, J., Casares, J., Díaz, C., Martínez, J., Rimada, M. y Suárez, D. (2005). El microscopio óptico. En J. Torre (Coord.), *Prácticas de biología y geología* (pp. 20-22). Consejería de Educación y Ciencia.

Bibliografía complementaria

- González, R., Cuevas, B., Cortés, M. y Sánchez, M. (2020). *Las tinciones básicas en el Laboratorio de Microbiología: Un enfoque gráfico*. Universidad Nacional Autónoma de México. <https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/Portal2015/publicaciones/libros/cbiologicas/libros/Tinciones.pdf>
- Madigan, M., Martinko, J., Bender, K., Buckley, D. y Stahl, D. (2015). *Biología de los microorganismos*. Pearson.

Práctica 2. Morfología de animales a través del estereoscopio

Resultados de aprendizaje		
Actitudinal	Conocimiento	Desempeño
Establece diferencias y similitudes entre los principales grupos de organismos pluricelulares	Identifica cuáles son las principales características de los organismos metazoarios	Asume la importancia de los organismos multicelulares para el funcionamiento de la vida en la tierra

Conocimientos previos

El *estereoscopio* o *microscopio estereoscópico* posee dos lentes objetivos y tiene una profundidad de foco bastante mayor que la del microscopio compuesto; ambas características le permiten producir imágenes tridimensionales. El poder de resolución y de aumento del estereoscopio son considerablemente *menores* (entre siete y 40 aumentos generalmente, máximo hasta 100) que las del microscopio compuesto. Por esta razón el estereoscopio se utiliza para estudiar objetos y especímenes relativamente *grandes* (razón por la cual también se le llama microscopio de disección) (de Paz y Flores, 2016; Cárdenas et al., 2015).

En sí, las partes de este instrumento (figura 1) son prácticamente las mismas que las del microscopio compuesto. Es un equipo donde dos imágenes del mismo objeto se presentan al mismo tiempo, una a cada ojo, tomadas desde ángulos levemente diferentes; estas se observan a través de dos objetivos con lentes separadas e inclinadas para que coincidan y se unan las dos imágenes en una tridimensional (Carmona, 2016).

Figura 1 Partes del microscopio de disección



Nota. Tomado de Pérez (2018).

Uso del microscopio estereoscópico

Usualmente la mayoría de los microscopios de disección no poseen un botón de ajuste micrométrico. La fuente de luz (lámpara) puede estar separada del microscopio y ser situada en el brazo, debajo o al nivel de la platina. Muchos microscopios de disección no tienen objetivos separados para incrementar el aumento, pero tienen un botón de aumento (zoom) que puede acrecentarlo o disminuirlo. Las muestras son ubicadas sobre la platina, que se le mueve a mano. La luz puede ser transmitida a través de la placa, ajustando el espejo debajo de la muestra o la muestra puede observarse con luz proveniente de la parte superior (Riley, 2003).

Materiales y recursos pedagógicos

Materiales

- Pinzas de disección.
- Gotero.
- Vidrio de reloj.
- Caja de Petri.

Reactivos

Glicerol.

Equipos

Estereoscopio (se recomienda tener tres estereoscopios para un grupo de 15 estudiantes).

Equipo de seguridad

- Bata de laboratorio blanca.
- Guantes quirúrgicos desechables.
- Tapabocas quirúrgicos.
- Kit de bioseguridad.

Material por parte del estudiante

- Papel de arroz para limpiar lentes.
- Portaobjetos o láminas de vidrio.
- Cuaderno de notas o libreta de apuntes.
- Lápiz, bolígrafo y marcador de vidrio.
- Borrador.
- Organismos de grupos taxonómicos: insectos, macroinvertebrados, microinvertebrados, crustáceos y arácnidos; previamente preparados y conservados por los estudiantes.

Procedimiento

A continuación, se indican los pasos para realizar un uso adecuado y obtener observaciones acordes para identificar la anatomía externa de cada uno de los organismos problema de los tres grupos taxonómicos:

1. Reconocer las partes del equipo conforme al modelo de microscopio que esté utilizando.
2. Revisar la limpieza y estado del microscopio estereoscópico antes de comenzar a utilizar el equipo.
3. Conectar y encender el equipo.
4. Ubicar un objeto (una de las muestras de organismos) en una caja de Petri, o sobre un vidrio de reloj, y colocarlo en la parte central de la placa de observación.
5. Con el tornillo de enfoque bajar lo más posible el microscopio sin tocar su material de observación.
6. Observando por los oculares, subir lentamente el microscopio hasta observar su material.
7. Ajustar la abertura interpupilar de tal manera que vea un solo círculo de observación.
8. Ajustar la nitidez de su material observándolo a través del ocular fijo.
9. Ajustar la nitidez del ocular móvil.

Registrar las observaciones para cada muestra y por cada aumento realizado.

Actividad 3

Muestra	Estereoscopio	
	Observación 3D	Descripción
Arácnido		
Insecto		
Macroinvertebrado		

Crustáceos		
Microinvertebrados		

Recomendaciones para la presentación de los resultados y la discusión

A la hora de realizar la discusión de los datos tengan en cuenta las diferencias ópticas y mecánicas entre un microscopio compuesto y uno de disección. Una adecuada conservación y fijación de las muestras es importante para poder obtener observaciones de calidad (deben sacrificar previamente a los organismos y fijarlos con alfileres con punta sobre una base de espuma blanca, o sacrificarlos el día anterior y traerlos en un recipiente de vidrio o de plástico estéril y con tapa).

Durante el registro de las observaciones realice dibujos desde varias perspectivas y enfocando diferentes segmentos para cada muestra; también mencione los nombres de las principales estructuras. Sería aconsejable registrar la función del organismo en el sistema donde fue obtenido (ecología).

Lo realizado en la práctica debe estar reflejado y revisado en el contenido de la libreta. Se elige una sola libreta por grupo, así que todos deben tener la libreta al día a lo largo del semestre y por cada práctica realizada.

Conclusiones

Elabore tres (3) conclusiones respecto a sus hallazgos en la práctica.

1. _____

2. _____

3. _____

Entregable (informe)

Ver la información al respecto ubicada al inicio de este manual.

Referencias

Cárdenas, E., Morales, L. y Ussa, A. (2015). La estereoscopia, métodos y aplicaciones en diferentes áreas del conocimiento. *Revista Científica General José María Córdova*, 13(16), 201-219. <https://www.redalyc.org/pdf/4762/476247224010.pdf>

Carmona, T. (2016). *Practica I: microscopia*. Universidad Veracruzana. <https://www.uv.mx/personal/tcarmona/files/2016/08/practica-1.pdf>

De Paz, G. y Flores, M. (2016). *Manual de laboratorio: laboratorio de ciencias naturales*. Universidad Rural de Guatemala. <https://urural.edu.gt/wp-content/uploads/2016/02/MANUAL-DE-LABORATORIO-DE-CIENCIAS-NATURALES.pdf>

Pérez, A. (2018). Manejo del estereomicroscopio. En L. Gómez y G. Gómez (Eds.), *Del campo al laboratorio: Integración de procedimientos para el estudio de moscas* (pp. 19-24). Tecnológico de Antioquia. <https://dspace.tdea.edu.co/handle/tdea/1259>.

Riley, M. (2003). *Basic Microscopy - An Important Skill for Plant Pathologists*. APS. <https://doi.org/10.1094/PHI-I-2003-0130-02>

Práctica 3. Elaboración de un modelo del funcionamiento de un tejido animal

Resultados de aprendizaje		
Actitudinal	Conocimiento	Desempeño
Estimula el reconocimiento de las estructuras y funciones de las agrupaciones celulares para formar tejidos animales a través de imágenes en 3D	Comprende las principales funciones de los tejidos de los animales	Relaciona las funciones de los tejidos, su papel para la vida, la salud, su respectivo cuidado y protección

Un tejido (del latín *texere*=tejer) es un conjunto de células, matriz extracelular y fluido corporal. Las células de un tejido trabajan de manera coordinada para llevar a cabo una o varias funciones en un organismo multicelular. Estas células se unen y comunican entre sí por medio de interacciones directas entre estas, o a través de las moléculas que se encuentran entre estas y que forman la matriz extracelular. Hay cuatro tipos básicos de tejidos presentes en los animales: conectivo, epitelial, muscular y nervioso (Megías et al., 2023; MedlinePlus, 2023).

El estudio de la organización tisular de los seres vivos es la piedra angular para el entendimiento de los procesos morfológicos, fisiológicos, ontológicos, evolutivos, inclusive genéticos, que suceden en los organismos multicelulares.

Conceptos

Tejidos epiteliales: conformados por células estrechamente ajustadas entre sí para formar una capa o una lámina continua de células. Una superficie de la lámina suele estar expuesta porque cubre el cuerpo (capa externa de la piel) o reviste una cavidad, como el lumen (la cavidad en un órgano hueco) del intestino. La otra superficie de una capa epitelial se adhiere al tejido subyacente por medio de una membrana basal no celular que consta de fibras diminutas y material polisacárido inerte producido por las células epiteliales (Solomon et al., 2013).

Las funciones de los epitelios son muy variadas: protección frente a la desecación o la abrasión, filtración, absorción selectiva, secreción, intercambio de gases y otras moléculas y transporte de sustancias por su superficie. Además, pueden poseer células que actúan como células sensoriales (figura 1). Los tejidos epiteliales se pueden clasificar de acuerdo con:

- La forma de las células (aplanadas, cubicas y cilíndricas).
- El número de capas (simples, pseudoestratificados y estratificados).
- Si son de revestimiento o glandulares (exocrinos o endocrinos).
- Si presentan especializaciones celulares (ciliado, en chapa o con cutícula).

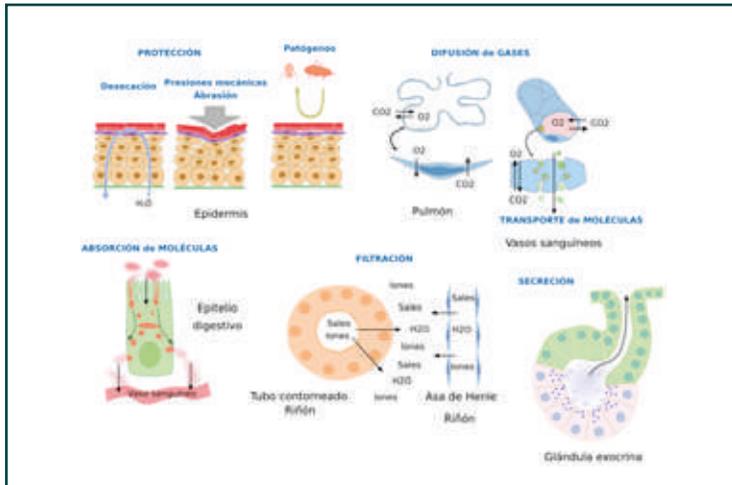
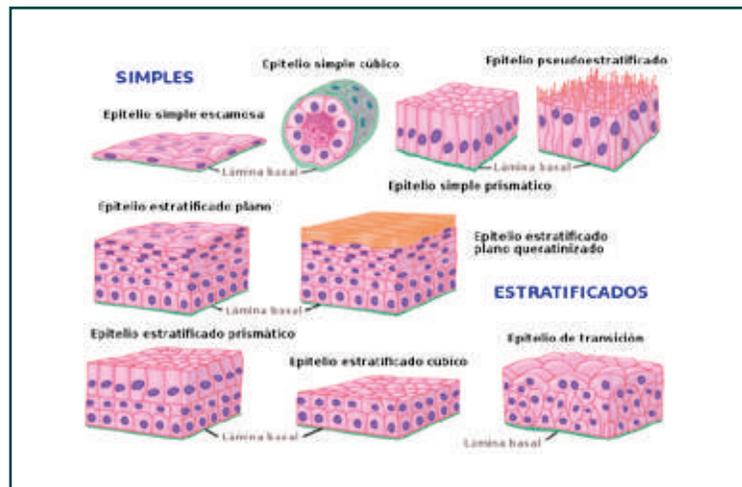


Figura 1 Funciones de los tejidos epiteliales

Nota. Tomado de Megías et al. (2023).

Figura 2 Esquema de los diferentes tipos de epitelios de revestimiento

Nota. Tomado de Megías et al. (2023).



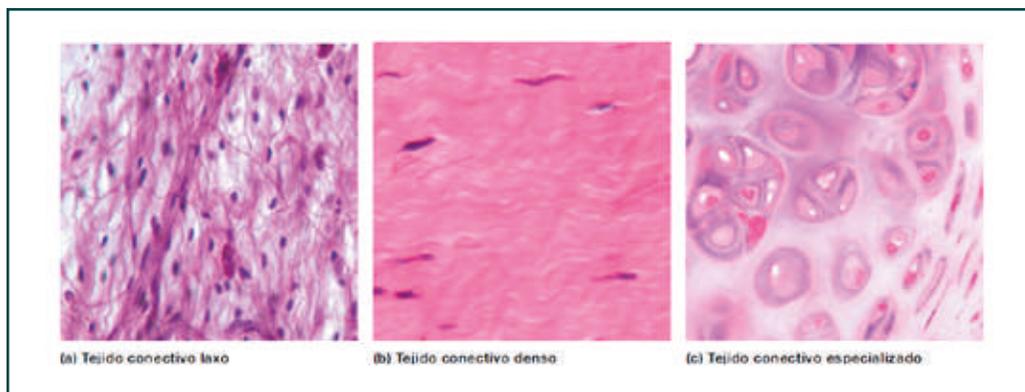
Tejidos conjuntivos: es el principal constituyente del organismo. Incluye una gran variedad de tejidos heterogéneos, pero con algunas características compartidas. Poseen un líquido de densidad y viscosidad variable con alta concentración de proteínas producto de la secreción activa de células que están inmersas en dicho fluido. Estas fibras pueden polimerizarse y formar fibras. En general, los tejidos conectivos se consideran como tejidos de sostén puesto que sujetan y cohesionan a otros tejidos dentro de los órganos, sirven de soporte a estructuras del organismo o al propio organismo, y protegen y aíslan a los órganos. Sin embargo, también facilitan la difusión.

Existen diversas clasificaciones de los tejidos conjuntivos según su nivel de especialización, madurez y función. Para efectos prácticos, existen dos tipos principales (figura 3) (Megías et al 2023; Montalvo, 2010):

- **Tejido conectivo laxo:** las células están ampliamente dispersas (fibroblastos) en matriz extracelular que forman fibras de proteínas de colágeno, elastina y reticuladas. Es el más común y da sostén a órganos y cavidades de órganos.

- **Tejido conectivo denso:** conformado por gran cantidad de fibras de colágeno. Puede formar fibras irregulares o polarizadas muy fuertes que conforman ligamentos y tendones.
- **Tejidos conectivos especializados:** cada uno posee células especializadas y diferentes conformaciones estructurales. Aquí se encuentran:
 - **Cartilaginoso:** constituido por células llamadas condroblastos, condrocitos y una matriz (fibras y sustancia fundamental), predominando la matriz sobre las células. Sus principales funciones son la de soporte de estructuras flexibles, permitir la articulación de los huesos y servir de molde sobre el que se formará el tejido óseo.
 - **Óseo:** compuesto de células llamadas osteoblastos, osteocitos, osteoclastos y matriz. Esta última consta de fibras y sustancia fundamental, impregnada de sales de calcio, lo que le confiere dureza y resistencia al hueso. Proporciona el soporte para la forma y movimiento del organismo gracias a la inserción de los músculos, protege al sistema nervioso central, y, en el interior de muchos huesos se forman las células sanguíneas.
 - **Adiposo:** las células principales son los *adipocitos*, que se encuentran en una malla de fibras reticulares. Sus funciones principales son almacenamiento de energía, termorregulación y acolchonamiento de estructuras.
 - **Sanguíneo:** compuestos principalmente de líquidos extracelulares donde se suspenden las proteínas y las células individuales. La porción celular de la sangre consta de *glóbulos rojos* (que transportan oxígeno), *glóbulos blancos* (que combaten infecciones) y los fragmentos de célula llamados *plaquetas* (que ayudan a la coagulación sanguínea). Estos componentes están suspendidos en el líquido extracelular llamado plasma.

Figura 3 Tipos de tejido conectivo



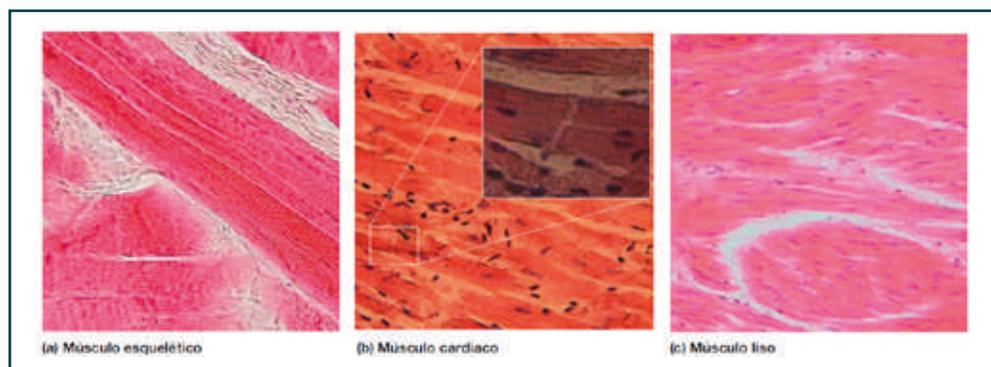
Nota. Tomado de Audesirk et al. (2013).

Tejidos musculares: la mayoría de los animales se mueven al contraer las largas células cilíndricas en forma de huso de tejido muscular. Las células musculares se denominan fibras musculares debido a su longitud. Cada fibra muscular posee muchas unidades contráctiles paralelas longitudinales delgadas llamadas miofibrillas. Dos proteínas, la miosina y la actina, son los componentes principales de las miofibrillas: cumplen una función

importante en la contracción de las fibras musculares (Audesirk et al., 2013). Los tejidos musculares se clasifican en tres tipos (figura 4) (Curtis et al., 2008; Solomon et al., 2013):

- **Muscular estriado esquelético:** constituye el 40% de la masa corporal de un individuo humano adulto y se encuentra en estrecha unión con los huesos. Las fibras musculares esqueléticas son muy largas y cada fibra tiene muchos núcleos. Los núcleos de las fibras musculares esqueléticas también son excepcionales en su posición. Se colocan justo bajo la membrana plasmática, lo cual libera toda la parte central de la fibra muscular esquelética para las miofibrillas. Esta adaptación parece aumentar la eficacia de contracción. Cuando los músculos esqueléticos se contraen, mueven partes del cuerpo; aunque las fibras musculares esqueléticas suelen estar bajo control voluntario, normalmente.
- **Muscular estriado cardiaco:** similar al estriado pero sus células son más cortas, con uno o dos núcleos céntricos, ramificadas; se vuelven a unir y sus contracciones son de tipo involuntario. Es el tejido principal del corazón. Un rasgo especializado es la presencia de discos intercalados, uniones especializadas donde se unen las fibras.
- **Muscular liso:** sus células se distinguen por presentar una morfología alargada (alrededor de 20 a 500 μm de longitud por cinco a ocho μm de espesor) en las cuales el núcleo está situado en una posición central y posee uno o dos nucleolos. Forman parte del tracto gastrointestinal los conductos de algunas glándulas, el árbol bronquial, el sistema genitourinario, las arterias, venas y vasos linfáticos de gran tamaño (Clínica Universidad de Navarra, 2023).

Figura 4 Tipos de tejido muscular



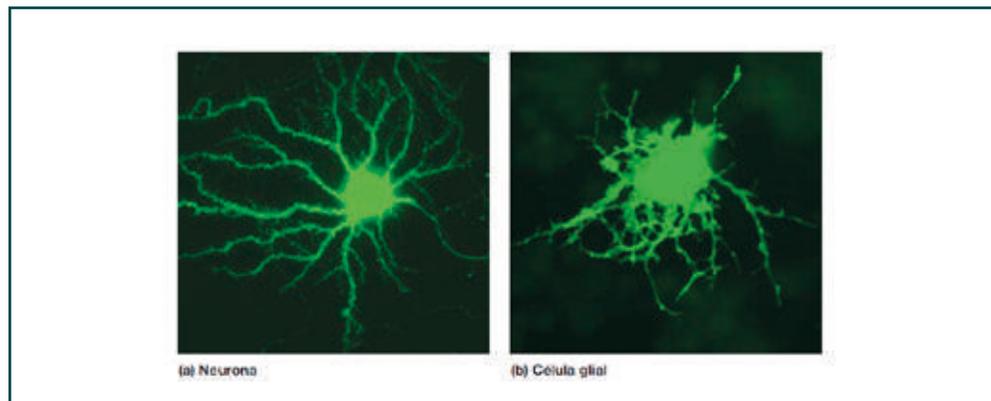
Nota. Audesirk et al. (2013)

Tejido nervioso: tejido formado principalmente por dos tipos celulares: neuronas y glía, y cuya misión es recibir información del medio externo e interno, procesarla y desencadenar una respuesta. Es también el responsable de controlar numerosas funciones vitales como la respiración, digestión, bombeo sanguíneo del corazón, regular el flujo sanguíneo, control del sistema endocrino, etcétera (figura 5) Megías et al. (2023).

Las neuronas se especializan en generar señales eléctricas y transmitir estas señales a otras neuronas, músculos o glándulas. Una célula nerviosa típica consta de: dendritas, especializadas en recibir señales de otras neuronas o del ambiente; un cuerpo celular (soma), que contiene al núcleo y realiza casi todo el metabolismo de la neurona; un axón que transporta la señal eléctrica de la neurona a un músculo, glándula u otra neurona,

y las terminales sinápticas que transmiten información a otras células. Las células gliales rodean, apoyan, aíslan eléctricamente y protegen a las neuronas. Asimismo, regulan la composición del líquido extracelular en el sistema nervioso, que permite a las neuronas funcionar de manera adecuada (Audesirk et al., 2013).

Figura 5 Tipos celulares del tejido nervioso



Nota. Tomado de Solomon et al. (2013).

Materiales y recursos pedagógicos

Para la realización de la práctica-taller, previamente deben revisar los siguientes recursos:

- Las diapositivas y la grabación de la clase sobre el tema de la célula.
- La herramienta educativa *Mosaik education*, la cual tiene dentro de sus contenidos unos simuladores en 3D sobre los tipos de tejidos epiteliales y conjuntivos. Para usar dicha herramienta deben registrarse previamente en la página Mozaweb (s.f.). También pueden descargarla para Android a través de la plataforma Play Store.

Procedimiento

Una vez se haya realizado la consulta de dichos recursos, los estudiantes deben realizar el modelo en 3D de un tejido animal. Para la elaboración del modelo pueden utilizar cualquier tipo de material (excepto materiales no reciclables o no biodegradables como icopor). El modelo *debe* simular o demostrar de una manera práctica la función del tejido seleccionado.

La actividad debe ser desarrollada en grupos o de forma individual según sean las condiciones determinadas por el o la docente (Si es grupal, el número será determinado previamente por el o la docente). Debido a que es una actividad libre, su consecución y alcance depende enteramente del estudiante. Los temas serán establecidos por el o la docente en el aula virtual con anterioridad.

Actividad 4

Análisis de datos

Los entregables para esta práctica deben tener en cuenta los siguientes parámetros.

- Originalidad y dinamismo en la elaboración de los recursos.
- Uso de los recursos Android y simuladores webs mencionados anteriormente.
- Pertinencia de acuerdo con el contenido bibliográfico y lo visto en las clases teóricas.
- Adaptabilidad de los recursos disponibles.
- Tengan claro qué hace y dónde se encuentra su tejido antes de empezar a comprar materiales.
- En algunos casos se puede hacer un órgano, pero se debe demostrar en otra parte o en el mismo modelo del tejido y su estructura.
- La maqueta *debe* ir con la simulación de la función.
- Prohibido utilizar tejidos u órganos de animales reales.

Conclusiones

Elabore tres (3) conclusiones respecto a sus hallazgos en la práctica.

1. _____

2. _____

3. _____

Entregable (informe)

El entregable va a ser un documento, únicamente en formato PDF, a computador, con portada y bibliografía, donde adjunten cuatro imágenes (como máximo) de los modelos y un video corto (adjuntar enlace activo y habilitado desde su cuenta institucional). La duración es de máximo un minuto, donde se presenten y expliquen estructura y función del modelo.

Referencias

- Audesirk, G., Audesirk, T. & Byers, B. (2013). *Biology: Life on Earth with Physiology* (10a ed.). Pearson.
- Clínica Universidad de Navarra. (2023). *Tejido muscular liso*. <https://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/tejido-muscular-liso>
- Curtis, H., Barnes, N., Schnek, A. y Massarini, A. (2008). *Curtis. Biología*. Editorial Medica Panamericana.
- MedlinePlus. (2023, abril 18). *Tipos de tejido*. https://medlineplus.gov/spanish/ency/esp_imagepages/8682.htm
- Megías, M., Molist, P. y Pombal, M. (2023, abril 12). *Microscopio óptico*. Atlas de Histología Vegetal y Animal. <http://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/6-optico.php>
- Montalvo, C. (2010, septiembre 28). *Tejido conjuntivo*. UNAM. https://bct.facmed.unam.mx/wp-content/uploads/2018/08/tejido_conjuntivo.pdf
- Mozaweb (s.f.). *Crear nueva cuenta*. <https://www.mozaweb.com/es/user.php?cmd=register>
- Solomon, E., Berg, L. y Martin, D. (2013). *Biología* (9a ed.). Cengage Learning.

Práctica 4. Observación de células vegetales

Resultados de aprendizaje		
Actitudinal	Conocimiento	Desempeño
Asocia las estructuras y funciones de organelos celulares con los procesos funcionales de las plantas	Diferencia las funciones de los distintos organelos y su papel en el funcionamiento de la célula vegetal	Explica la importancia del estudio de la célula para la vida y la salud

Conocimientos previos

Generalmente las células eucarióticas son de dos tipos: animal y vegetal, con muchos organelos en común. Los diferentes tipos de células vegetales (figura 1) pueden diferenciarse por la forma, espesor y constitución de la pared, como también por el contenido de la célula. Los humanos han sabido sacarle provecho a esta gran variedad de tipos celulares vegetales para su beneficio. Consumen los almidones y proteínas almacenados en sus tejidos de reserva, usan los pelos de la semilla del algodón (*Gossypium hirsutum*); así como las fibras del tallo del lino (*Linum usitatissimum*), para elaborar ropa y vestirse; otro ejemplo consiste en las células inertes, como el leño que se usa para construcciones y para hacer papel (Gonzalez, 2007).

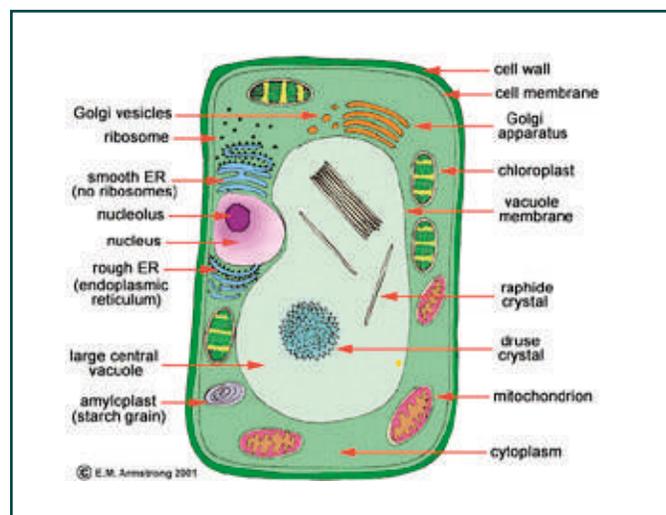


Figura 1 La célula vegetal

Nota. Tomado de Texas A&M (s.f.).

Conceptos

Vacuolas: tres cuartas partes (o más) del volumen de muchas células vegetales están ocupadas por una gran *vacuola central* que cumple diversas funciones. La vacuola central está llena básicamente de agua y participa en el equilibrio hídrico de la célula. También es un "vertedero" para los desechos peligrosos que la célula no

puede excretar. Algunas células vegetales almacenan venenos en las vacuolas, como el ácido sulfúrico; estos venenos disuaden a los animales de morder las suculentas hojas. También pueden almacenar sustancias nutritivas como almidones y proteínas.

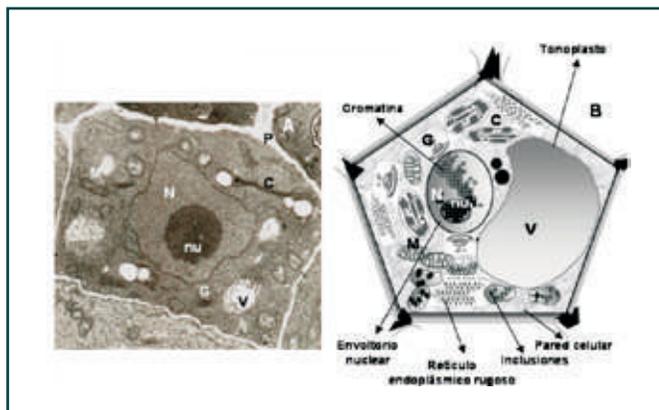
Cloroplastos: los cloroplastos son organelos discoidales que en las plantas terrestres tienen un tamaño aproximado de 5µm. Ellos son abundantes en las células de la hoja donde hay hasta 100 cloroplastos por célula. Están limitados y separados del citoplasma por una doble membrana bicapa denominada envoltorio. Su función es la de capturar la energía electromagnética derivada de la luz solar, para convertirla en energía química mediante la fotosíntesis, utilizándola después para sintetizar azúcares a partir del dióxido de carbono (CO₂) atmosférico (Cardemil et al., 2007).

Pared celular: aunque esta estructura no es exclusiva de las células vegetales (presente además en hongos y bacterias) su estructura y composición son diferentes. Poseen gruesas paredes celulares que contienen pequeñas fibras compuestas de celulosa. Otros polisacáridos presentes en la pared celular de la planta forman enlaces cruzados entre los haces de fibras de celulosa. Las paredes celulares suministran apoyo estructural, protegen a las células vegetales de organismos patógenos y ayudan a evitar un acúmulo excesivo de agua en las células para que no estallen. Las células jóvenes poseen una pared primaria y luego van aglutinando capas de paredes rígidas y gruesas llamadas paredes secundarias. Entre células colindantes existe una capa diferenciadora de polisacáridos llamada lamina media (Solomon et al., 2013).

Aparatos de Golgi (dictiosomas): en plantas este organelo es abundante en número por célula; además de cumplir funciones como la de modificar proteínas que se van a secretar, también cumple con una participación crucial en la biosíntesis de polisacáridos no-celulósicos de la pared celular; por lo anterior, la célula vegetal posee cientos de aparatos de Golgi. En la figura 2 se observan los organelos mencionados para las células vegetales.

Figura 2 Estructura de la célula vegetal

Nota. (A) Microfotografía electrónica de una célula vegetal de meristema de raíz de *Arabidopsis thaliana*. (B) diagrama de una célula vegetal, (N) núcleo, (un) nucléolo, (V) vacuola, (G) Golgi, (P) pared celular, (C) cloroplasto, (M) mitocondria (Cardemil et al., 2007).



Materiales y recursos pedagógicos

Materiales

- Gotero.
- Caja de Petri.

Reactivos

- Solución de Lugol 1%.
- Solución azul de metileno.

Equipos

Microscopios (se recomienda tener siete microscopios para un grupo de 28 estudiantes).

Equipo de seguridad

- Bata de laboratorio blanca.
- Guantes quirúrgicos desechables.
- Tapabocas quirúrgicos.
- Kit de bioseguridad.

Material por parte del estudiante.

- Papel para limpiar lentes.
- Portaobjetos o láminas de vidrio.
- Cubreobjetos o laminillas.
- Desinfectante alcohol al 75% y jabón neutro.
- Cuaderno de notas o libreta de apuntes.
- Lápiz, bolígrafo.
- Marcador de vidrio.
- Muestras vegetales sin manipular: papa, banano (no maduro), cebolla cabezona y *Eloдея sp* (preferiblemente plantas jóvenes).

Procedimiento

La práctica consta de dos secciones. La primera parte consistirá en la observación de células de papa, plátano y cebolla y la segunda se basará en la observación de cloroplastos en una macrófita del género *Eloдея sp*.

Montaje muestra de papa

Para la observación de las muestras de *papa* siga los siguientes pasos:

1. Cortar con un cuchillo una papa por la mitad.
2. Raspar con el bisturí la superficie para que salga algo de pulpa.
3. Depositar la pulpa en un portaobjetos limpio.
4. Añadir una gota de agua y revolver con una aguja de disección.
5. Sobre el portaobjetos poner el cubreobjetos en un ángulo de 45° y bajarlo lentamente para evitar que queden burbujas de aire. Usar pinzas en dado caso.
6. Limpiar agua extra en bordes con papel absorbente.
7. Observar la muestra empezando con poco aumento.

Para una adecuada observación de la muestra se puede aplicar una solución de *Lugol* (o tintura de yodo) de la siguiente forma:

1. Con el gotero colocar una gota de Lugol, por un lado, debajo del cubreobjetos y disolverlo en una gota de agua.
2. Acercar el reactivo diluido mediante un agitador de vidrio o con aguja de disección.
3. Poner en el extremo opuesto del portaobjetos, el borde corto de una tira de papel de filtro (5 X 1cm) para que absorba el agua y, por ende, el reactivo penetre la muestra desde el otro lado.
4. Evitar que las partes de metal y el sistema óptico del microscopio tengan contacto con los reactivos.

Montaje muestra de banano

1. Para la observación de la muestra de *banano* se debe extraer una muy pequeña cantidad de pulpa con una aguja de disección, disponerla en un portaobjetos limpio.
2. Agregar una gota de agua y esparcir la mezcla formando una delgada capa.
3. Finalmente colocar el cubreobjetos sobre el montaje para quedar totalmente plana y firme.
4. Observar con el objetivo de menor aumento y registrar las observaciones.
5. Para visualizar el almidón de los amiloplastos añadir solución de Lugol mediante el procedimiento ya mencionado en líneas anteriores.

Montaje muestra de cebolla

Para realizar la observación de células de cebolla, se realiza el siguiente proceso:

1. Cortar una cebolla cabezona común y quitar algunas de sus capas externas.
2. Retirar la membrana delgada y transparente de una de las capas aun adherida la cebolla.
3. Cortar un fragmento de membrana de aproximadamente 5 x 5mm, colocarlo en el portaobjetos, añadir una pequeña cantidad de agua y tapar ubicando el cubreobjetos encima.
4. Sacar las burbujas de aire haciendo presión sobre el cubreobjetos.
5. Registrar las observaciones de las estructuras en los campos de visión empezando por el menor aumento.

Para observar estructuras con mayor detalle, como es el caso del núcleo y contraste, agregar una gota de azul de metileno debajo de la muestra, siguiendo el mismo procedimiento para la solución de Lugol. Para observar elementos dentro del citoplasma con mayor claridad se pueden usar unas pocas gotas de Lugol o sumergir una membrana fina directamente en el reactivo.

Montaje muestra de *Elodea sp.*

Las plantas del género *Elodea* tienen ciertas características que las hacen ideales para observar bajo el microscopio. Poseen hojas muy delgadas y flexibles con solamente dos capas de células, por lo que no hay

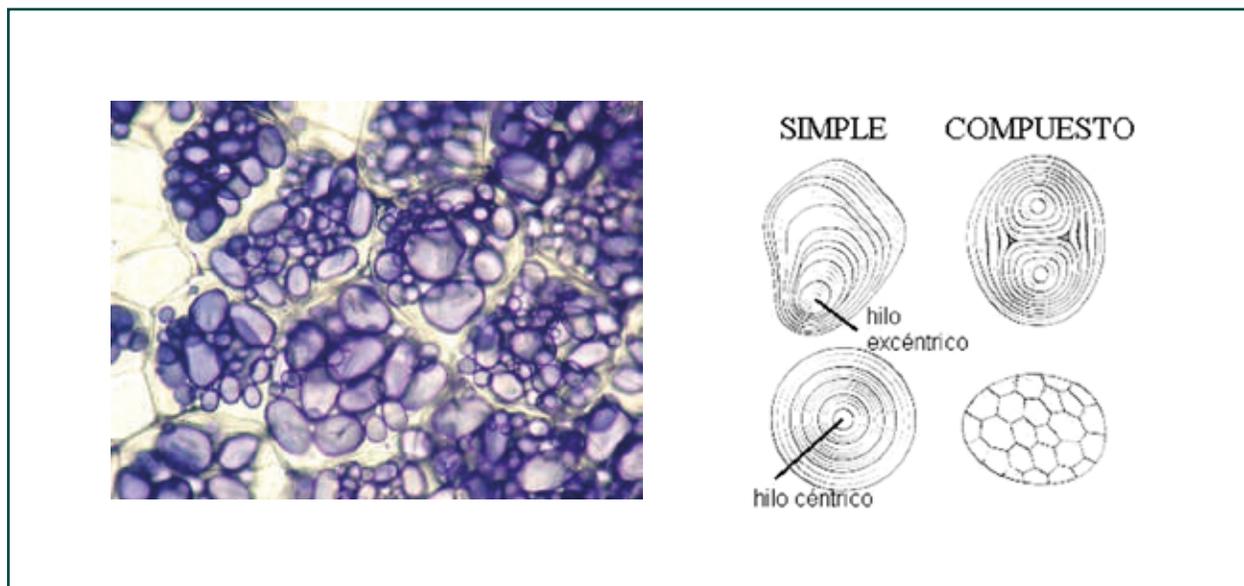
que realizar cortes en finas secciones o preparar montajes más complejos. Solamente se debe realizar el siguiente procedimiento:

- Cortar una hoja de *Elodea*, colocar en un portaobjetos una gota de agua y poner la muestra bajo el microscopio.
- Enfocar con el objetivo de menor aumento, identificar dentro de las células a los cloroplastos y dibujar lo observado.
- Dejar la preparación unos tres minutos y volver a observar los cloroplastos dentro de las células.

Actividad 5

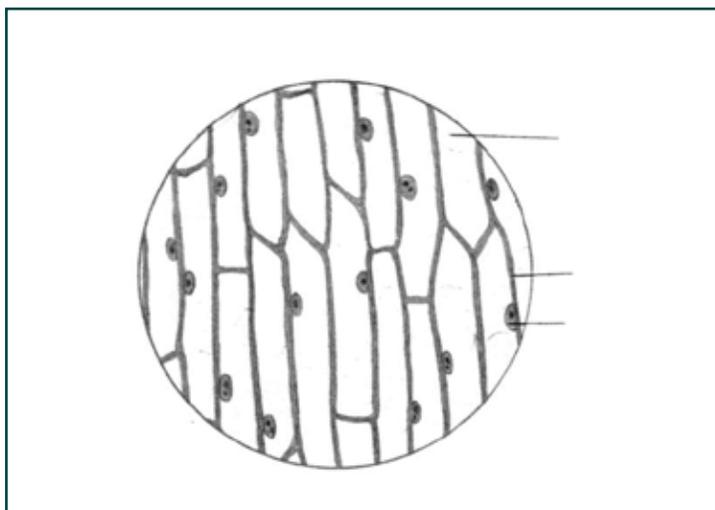
Análisis de datos

Para el caso de la muestra de papa y banano, deben diferenciar cuáles son los amiloplastos de las células y cómo se disponen espacialmente. Traten de diferenciar los límites de las capas de almidón que se desarrollan desde el centro hacia los bordes y la importancia de estos organelos para las plantas analizadas. Identifique si hay diferencias entre los amiloplastos de las dos muestras vegetales.



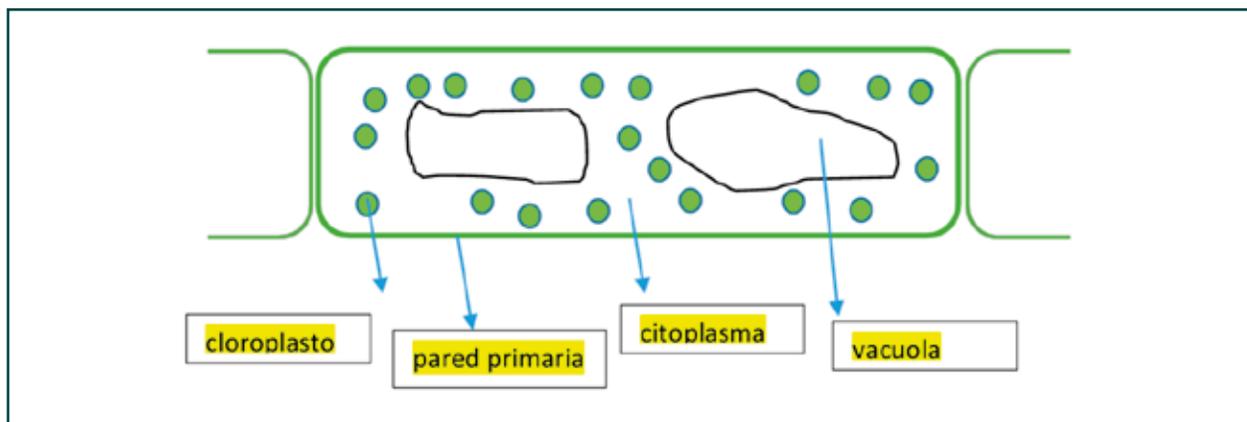
Nota. Tomado de FAUBA (2009).

Con el montaje de cebolla trate de diferenciar la organización y disposición espacial de las células. Observe si están aisladas o unidas entre sí. Tengan en cuenta el principio de forma-función en biología general y cuál es la función de ese grupo de células. Diferencien las vacuolas del tonoplasto que las protege. Identifique estructuras tales como el núcleo, el citoplasma y la pared celular.



Nota. Adaptado de IES VEGA DEL TURIA (2016).

Con la muestra de *Elodea sp.* es fácilmente observable la gran cantidad de cuerpos esféricos y de forma lenticular pigmentados de verde: son los cloroplastos. Al dejar pasar unos pocos minutos comienza a presentarse un movimiento generalizado de dichos organelos; establezca porqué se da este fenómeno y su importancia en la célula vegetal. Diferencie y dibuje las siguientes partes: pared celular, citoplasma, vacuola y cloroplasto. Con la muestra de *Elodea sp.* es fácilmente observable la gran cantidad de cuerpos esféricos y de forma lenticular pigmentados de verde, son los cloroplastos. Al dejar pasar unos pocos minutos comienza a presentarse un movimiento generalizado de dichos organelos; establezca porqué se da este fenómeno y su importancia en la célula vegetal. Diferencie y dibuje las siguientes partes: pared celular, citoplasma, vacuola y cloroplasto.



Nota. Adaptado de Universidad Nacional de la Plata (2022).

Recomendaciones para la presentación de los resultados y la discusión

Lo realizado en la práctica debe estar reflejado y revisado en el contenido de la libreta. Se elige una sola libreta por grupo, así que todos deben tener la libreta al día a lo largo del semestre y por cada práctica realizada.

Conclusiones

Elabore tres (3) conclusiones respecto a sus hallazgos en la práctica.

1.

2.

3.

Entregable (informe)

Ver la información al respecto ubicada al inicio de este manual.

Referencias

- Cardemil, L., Handford, M. y Meisel, L. (2007). La célula vegetal. En F. Squeo y L. Cardemil (Eds.), *Fisiología vegetal*. Ediciones Universidad de la Serena. <https://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/LaCelulaVegetal.pdf>
- FAUBA. (2009). HOY: "papas con lugol". Facultad de Agronomía UBA. <https://www.agro.uba.ar/noticias/foto-del-mes-news/hoy-papas-con-lugol>
- Gonzalez, A. (2007). *Hipertextos del área de la biología*. Universidad Nacional del Nordeste. http://www.biologia.edu.ar/plantas/cell_vegetal.htm
- Solomon, E., Berg, L. y Martin, D. (2013). *Biología* (9a ed.). Cengage Learning.
- Texas A&M. (2024). *Essential Knowledge: Plant vs. Animal Cells*. School of Veterinary Medicine & Biomedical Sciences. <https://vetmed.tamu.edu/peer/essential-knowledge-plant-vs-animal-cells/>

Bibliografía recomendada

- Kremer, B. (2012). *ABC del microscópico: estructura, funcionamiento y preparaciones paso a paso*. Panamericana.
- Santander, S. (2016, marzo 2). *Observación del tejido epidérmico de la cebolla*. ILibrary. <https://ilibrary.co/document/zwv6w921-pr%C3%A1ctica-observaci%C3%B3n-tejido-epid%C3%A9rmico-cebolla.html>
- Universidad Nacional de la Plata (2022). *Actividades de experimentación célula vegetal*. https://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/62969/mod_resource/content/1/ACTIV.%20EXP.%20C%C3%89LULA.pdf

Práctica 5. Comparación de los tejidos animales y vegetales usando la visión estereoscópica

Resultados de aprendizaje		
Actitudinal	Conocimiento	Desempeño
Estructura, a partir de las observaciones estereoscópicas, cuál es la función de los tejidos formados de células especializadas en animales y plantas	Contrasta con base en las observaciones estereoscópicas entre los tejidos y sus componentes celulares para animales y plantas	Ejemplifica, desde las observaciones estereoscópicas de tejidos de animales y plantas, su uso en su campo profesional

Conocimientos previos

La visión estereoscópica es un proceso inherente a los seres humanos, consistente en obtener una vista tridimensional de objetos percibidos mediante visión binocular (Cárdenas et al., 2015), la cual puede realizarse a través del equipo llamado *estereoscopio* o *microscopio estereoscópico*.

Este equipo tiene dos lentes objetivos (figura 1) con una profundidad de foco mucho mayor que la del microscopio simple o compuesto. Sin embargo, este se constituye en una herramienta para crear imágenes tridimensionales de mayor resolución a la producida por nuestro cerebro.

¿Cómo hace nuestro cerebro para obtener esa imagen en 3D? El cerebro humano interpreta la realidad a partir de las imágenes que le proporcionan los dos ojos, las cuales presentan diferencias entre sí, ocasionadas por su separación. La disparidad o paralaje entre dichas imágenes es utilizada por el cerebro para percibir la profundidad (Cárdenas et al., 2015).

Así, el estereoscopio es apropiado para observar objetos de tamaños relativamente grandes y distancias en los objetos observados que van desde un par de milímetros a centímetros a varios de ellos. En la tabla 1 se muestran algunos usos de la visión estereoscópica creada por este tipo de equipo.

También existen otras herramientas para crear esa visión estereoscópica como son los sistemas de visión paralela, visión cruzada, anaglifos, polarización, obturación, cascos de realidad virtual y monitor lenticular.



Figura 1 Partes del estereoscopio.

Nota. Tomado de Pérez (2018).

Tabla 1 Aplicación de la visión estereoscópica

Campo	Materia	Proceso	Aplicación
Representación de información gráfica compleja	Geología	La fotogeología estudia los sucesos geológicos a través de fotografías aéreas estereoscópicas	Identificación de rasgos geológicos en el terreno, imperceptibles en fotografía bidimensional
	Química	Visualización de moléculas complejas mediante técnicas estereoscópicas	En procesos didácticos
	Medicina	Herramientas didácticas y asistencial en cirugía	Interpretación de imágenes estereoscópicas para el diagnóstico: radiografías, ecografías, tomografía (TAC) y resonancia magnética nuclear (RMN)
Telepresencia	facilita el trabajo en entornos hostiles, peligrosos o simplemente difíciles	Robots teledirigidos, dotados de cámaras estereoscópicas	Desactivación de explosivos. Exploración espacial Exploración submarina Intervenciones quirúrgicas.
Entrenamiento de la percepción espacial	Entrenar la capacidad del alumno de representar en su imaginación una realidad tridimensional a partir de su representación plana y viceversa	Estereoscopios Anáglifos	Fotointerpretación Estudios de relieve Localización de proyectos de infraestructura
Realidad virtual	Creación de imágenes tridimensionales mediante el uso de software en computador	Técnicas estereoscópicas	Diseño en ingeniería, arquitectura e industria. · Uso de simuladores, vuelo, juegos, manejo de herramientas y vehículos (vuelo, conducción, navegación, etc.) · Herramientas de conocimiento y divulgación del patrimonio histórico artístico · Didáctica de un sinfín de materias, desde la medicina hasta el arte

Nota. También existen otras herramientas para crear esa visión estereoscópica como son los sistemas de visión paralela, visión cruzada, anáglifos, polarización, obturación, cascos de realidad virtual y monitor lenticular. Tomado de Cárdenas Quiroga et al. (2015).

Conceptos

Estereoscopio: también llamada microscopio estereoscopio, binocular con aumentos de 4 a 40X (veces), permite observar muestras opacas y realizar disecciones de estructuras en organismos pequeños debido a que su base le posibilita manipular los objetos mientras se visualiza. Proporciona una imagen tridimensional.

Órgano: unidad funcional de un organismo multicelular que constituye una unidad estructural y realiza una función determinada.

Tejido: conjunto complejo y organizado de células genotípicamente muy cercanas entre sí, distribuidas regularmente con un comportamiento fisiológico coordinado y un origen embrionario común, que realizan funciones específicas.

Materiales y recursos pedagógicos

Materiales

- Pinza.
- Caja de Petri.

Equipos

Estereoscopio.

Equipo de seguridad

- Bata de laboratorio blanca.
- Tapabocas quirúrgicos.
- Guantes quirúrgicos desechables.
- Kit de bioseguridad.

Material por parte del estudiante

- Cuchilla.
- Papel de arroz para limpiar los lentes y objetivos de estereoscopio.
- Láminas o portaobjetos.
- Laminillas o cubreobjetos.
- Libreta de apuntes.
- Lápiz, borrador, bolígrafo y marcador de vidrio.
- Muestras de: una pluma de ave, pelos de una mascota, corcho de botella, flor con tallo y hojas, insecto o artrópodo y una lombriz de tierra.

Procedimiento

Muestras de animales

1. Tomar el insecto o artrópodo y colocarlo en una base de caja de Petri con ayuda de una pinza.
2. Sobre la platina colocar la cápsula de Petri con el objeto a observar.
3. Encender y ajustar la fuente de luz. Asegurarse que la fuente de luz ilumine el objeto a observar.
4. Desplazar el cuerpo de la lupa por la columna hasta que los objetivos estén a unos 6cm del objeto, para esto debe utilizar el mando de bloqueo. ¡CON CUIDADO!
5. Ubicar los objetivos en aquellos de menor aumento.
6. Usando el mando de enfoque, enfocar utilizando el ocular sin anillo corrector. Fijar su atención en un punto concreto del objeto.
7. Cerrar el ojo izquierdo y abrir el derecho. Fijese en el mismo punto del objeto del apartado anterior. Si no ve nítido, mueva el anillo corrector de la visión hasta obtener una imagen nítida.
8. Ahora puede modificar el aumento girando el cuerpo de los objetivos y ajustando la luz según estime conveniente.
9. Dibujar y ubicar las estructuras de cada especie observada.
10. Realizar la misma operación con las muestras de pluma y pelos.

Muestras vegetales

¡Atención! Para esta parte solo debe seguir las instrucciones de su docente.

- Realizar un corte para las hojas y tallos de tu muestra vegetal de acuerdo con la figura 2, 3 y 4.
- Observar al estereoscopio como se indicó en el apartado anterior.
- Dibujar lo observado y contrastar sus observaciones.

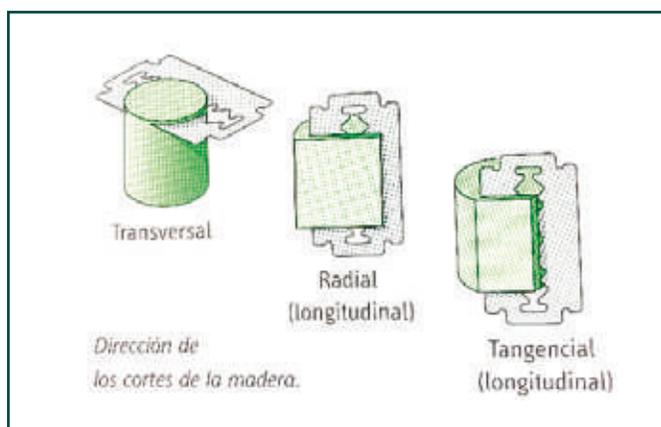
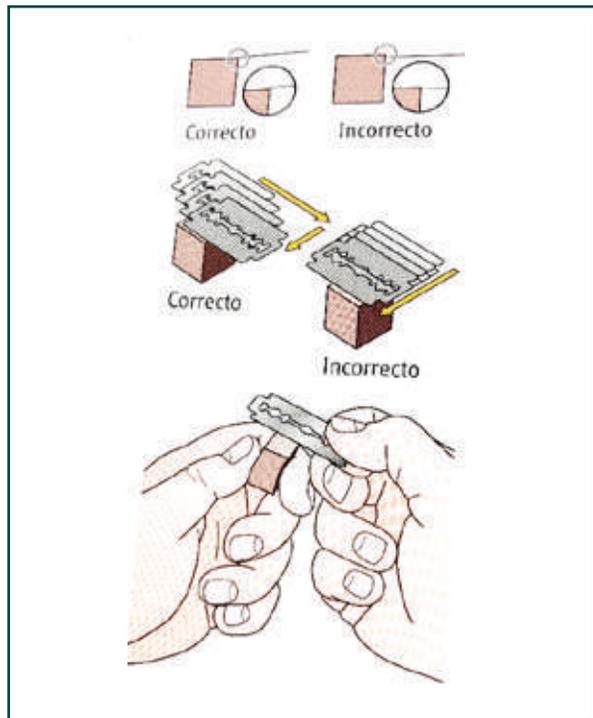


Figura 2 Tipos y direcciones de los cortes en madera o tallo de vegetales

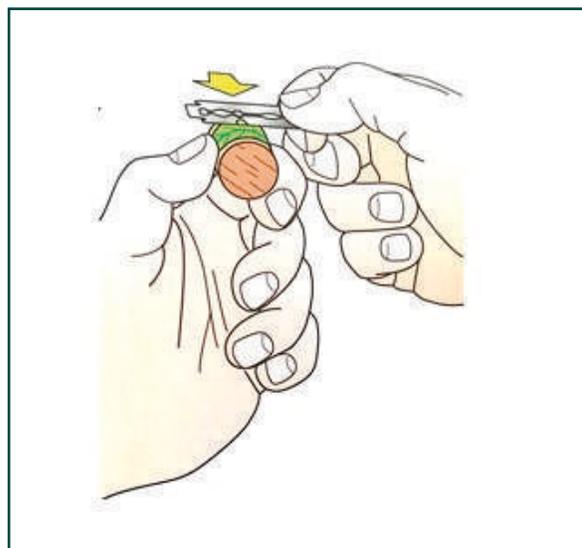
Nota. Tomado de Kremer (2012).

Figura 3. ¿Cómo cortar el tejido?



Nota. Tomado de Kremer (2012).

Figura 4 Incisiones al ras de una hoja



Nota. Para realizar incisiones al ras de una hoja, envuelva la hoja alrededor de un corcho de botella y dirija la cuchilla con cuidado, paralela a la superficie.

Actividad 6

Análisis de datos

1. A continuación, encontrará un cuadro donde puede ir adjuntando los resultados de las observaciones.

Cuadro. Resultados de las observaciones

Muestra	Visión estereoscópica	
	Observación	Descripción de la observación
Arácnidos		

Nemátodos		
Pluma		
Tallo		
Hoja		
Flor		
Tejido de mascota		

2. Contraste los resultados de los tejidos vegetales con los tejidos animales. Tenga en cuenta los resultados de sus compañeros para completar el cuadro.

Tejido	Célula estructural	Función fisiológica

Recomendaciones para la presentación de los resultados y la discusión

Coloque (si es preciso) en tablas o cuadros sus resultados o gráficas, esto le permitirá describirlos mejor y compararlos. Puede incluir los resultados de sus otros compañeros de clase. La discusión debe hacerse con

base en sus resultados y a los obtenidos por otros autores o compañeros de clase. Siempre debe darle un sustento bibliográfico a su discusión.

Conclusiones

Elabore tres (3) conclusiones respecto a sus hallazgos en la práctica.

1.

2.

3.

Entregable (informe)

Ver la información al respecto ubicada al inicio de este manual.

Referencias

- Cárdenas, E., Morales, L. y Ussa, A. (2015). La estereoscopia, métodos y aplicaciones en diferentes áreas del conocimiento. *Revista Científica General José María Córdova*, 13(16), 201-219. <https://www.redalyc.org/pdf/4762/476247224010.pdf>
- Pérez, A. (2018). Manejo del estereomicroscopio. En L. Gómez y G. Gómez (Eds.), *Del campo al laboratorio: Integración de procedimientos para el estudio de moscas* (pp. 19-24). Tecnológico de Antioquia. <https://dspace.tdea.edu.co/handle/tdea/1259>.

Bibliografía complementaria

- Deliamc. (2014, octubre 28). *Práctica N.º 2 introducción al manejo del microscopio*. Práctica de Hematología y Citología. <https://practicasdehematologiaycitologia.wordpress.com/2014/10/28/practica-no1-introduccion-al-manejo-del-microscopio/>
- Kremer, B. (2012). *ABC del microscópico: estructura, funcionamiento y preparaciones paso a paso*. Panamericana.
- Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. (s.f.). *Manejo del microscopio*. <https://www.uaeh.edu.mx/scige/boletin/prepa4/n9/pl.html>

Práctica 6. Aislamiento de agentes etiológicos asociados a riesgos biológicos

Resultados de aprendizaje		
Actitudinal	Conocimiento	Desempeño
Reflexiona sobre la presencia de agentes etiológicos asociados al riesgo biológico dentro de su población de estudiantil heterogénea	Determina las muestras potenciales donde se podrían localizar agentes etiológicos asociados al riesgo biológico que afronta una población de estudiantes heterogénea	Aísla de las muestras potenciales agentes etiológicos asociados al riesgo biológico que afronta una población de estudiantes heterogénea

Conocimientos previos

Ciertos microorganismos se consideran agentes etiológicos de enfermedad si se encuentran en espacios donde se desarrolla una actividad antropogénica o zonas anatómicas del cuerpo humano.

Para que un microorganismo (agente etiológico) cause enfermedad, primero debe establecerse en zonas anatómicas del cuerpo humano como son tracto digestivo, urinario, respiratorio; tejidos como la epidermis dañada y el aparato reproductor para desarrollarse hasta alcanzar un número suficiente para producir síntomas.

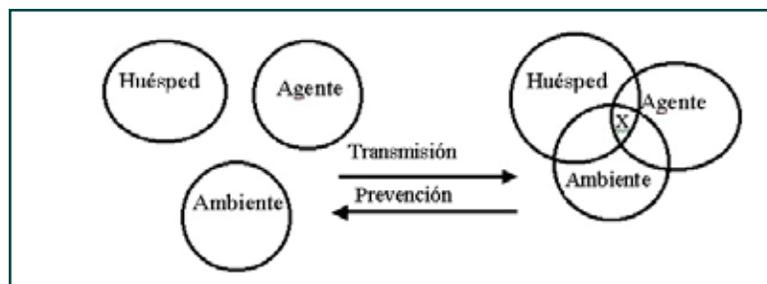
Por lo tanto, la mayoría de los agentes etiológicos de infecciones o enfermedades en la población humana debe comenzar por adherirse a la mucosa del tejido blanco que servirá de huésped para el agente. La presencia del microcosmo normal y el estado general del huésped afecta la capacidad del agente etiológico (microorganismo) para adherirse a la mucosa. La sobrevivencia o desarrollo en los tejidos del huésped sin causar daños manifiestos se llama colonización.

Para la Organización Panamericana de la Salud (OPAS) la inspección y vigilancia de las enfermedades en una población que realiza una actividad antropogénica (trabajo) se establece para realizar estudios epidemiológicos que prevengan o determinen la transmisión de agentes etiológicos asociados al riesgo de enfermedades. Así se descubre cuándo, dónde, por qué pueden ocurrir los riesgos biológicos y quiénes se ven afectados.

Esta inspección y vigilancia en los espacios laborales comprenden estudios del huésped, del agente y de los factores del medio como se observa en la figura 1.

Figura 1 Diagrama ambiente, agente, huésped. Transmisión y prevención

Nota. Tomado de OPAS (2022).



Entonces, en el ambiente podríamos encontrar agentes etiológicos en los alimentos, aguas, contaminación atmosférica, relaciones interpersonales, accidentes laborales, entre otros, que se relacionan con enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs), enfermedades cardiorrespiratorias, zoonosis, enfermedades de transmisión sexual, enfermedades gastrointestinales, etc. Los cuales afectan la diaria labor. (Quiñonez y Ovelar, 2017).

Conceptos

Agente biológico-infeccioso: cualquier microorganismo capaz de producir enfermedad cuando está presente en concentraciones suficientes (inóculo), en un ambiente propicio (supervivencia), en un hospedero susceptible y en presencia de una vía de entrada (Ministerio de Salud y Protección Social, 2020).

Higiene personal: normas para realizar antes, durante y después de las prácticas de laboratorio para mantener la salud de los estudiantes y docentes.

Material biológico: es todo material, muestra o producto de naturaleza biológica, tanto los encontrados en el ambiente como los generados *in vitro* (Ministerio de Salud y Protección Social, 2020).

Material peligroso: elemento, sustancia, compuesto, residuo o mezclas, independientemente de su estado físico, que representa un riesgo para el ambiente, la salud o los recursos naturales, por sus características corrosivas, reactivas, explosivas, tóxicas, inflamables o biológicas infecciosas (Ministerio de Salud y Protección Social, 2020).

Microrganismos patógenos del tracto respiratorio superior: procariotas y eucariotas del género Neisserias, estreptococos, estafilococos, difteroides, levaduras y bacilos entéricos gram negativos.

Peligro biológico: amenaza, fuente, situación o acción que tiene potencial de daño causado por agentes biológicos o toxinas (Ministerio de Salud y Protección Social, 2020).

Riesgo biológico: combinación de la probabilidad de ocurrencia de un daño y la severidad de este, cuando la fuente del daño es un agente biológico o toxina asociada (Ministerio de Salud y Protección Social, 2020).

Toxina: sustancia producida por un sistema biológico, que en cantidades pequeñas o moderadas produce un efecto adverso en humanos, animales o plantas (Ministerio de Salud y Protección Social, 2020).

Materiales y recursos pedagógicos

Materiales

- Erlenmeyer con agua destilada.
- 8 cajas de Petri estériles.
- 6 tubos tapa rosca estériles.
- 2 vasos de precipitado, esterilizados.
- Pipetas estériles de 5 o 10mL.
- 1 Erlenmeyer con tapón.
- 99mL de agua peptonada estéril.
- Mechero de alcohol.
- Pipeteador.
- Gradillas.
- Muestras biológicas (orofaríngea, nasal, de superficie, manos, alimentos y agua estancada).

Reactivos

- Erlenmeyer con agar nutritivo estéril.
- Erlenmeyer con PDA estéril.
- Agua peptonada.
- Agua destilada.
- Alcohol industrial.
- Solución de KCl 3 M para pHmetro.

Equipos

- Plancha de calentamiento.
- Autoclave.
- Incubadora.
- pHmetro.

Equipo de seguridad

- Bata de laboratorio blanca.
- Guantes quirúrgicos desechables.
- Tapabocas quirúrgicos.
- Kit de bioseguridad.

Material por parte del estudiante

- Asa bacteriológica.
- Asa recta.
- Hisopos estériles.
- Libreta de apuntes.
- Lápiz, bolígrafo y marcador de vidrio.

Procedimiento

Realice la observación de su población y determine los puntos de muestreo donde se pueden localizar potenciales agentes etiológicos asociados al riesgo biológico.

Muestras de espacios y zonas de mucosas

1. Tomar las muestras ayudado de un escobillón o hisopo esterilizado. Tener en cuenta la explicación de su docente respecto a la toma de muestra.
2. Sumergir el hisopo o escobillón en un tubo con medio de pre-enriquecimiento.
3. Mezclar el tubo con cuidado por un minuto.
4. Marcar las cajas de Petri con agar nutritivo y agar Saboreaud como lo indique su docente.
5. Colocar las cajas marcadas bajo una atmósfera reducida obtenida por la combustión de la llama de los mecheros de alcohol.
6. Aislar el agente etiológico presente en la muestra tomada y mezclada con ayuda de un asa bacteriológica previamente esterilizada (en su defecto con un hisopo estéril) mediante la técnica de agotamiento

por estrías, o cultivo masivo, o siembra en superficie. El docente dará la explicación práctica de cada una de estas técnicas.

7. Llevar a incubación de acuerdo con la temperatura óptima de los posibles microorganismos relacionados con el riesgo biológico.

Muestras ambientales

1. Tomar dos cajas de Petri con agar nutritivo y agar Sabouraud.
2. Marcar estas cajas como muestras ambientales como lo indique su docente.
3. Abrir las cajas marcadas en los espacios previamente determinados y que potencialmente tengan una relación con la presencia de agentes de riesgo biológico.
4. Dejar abiertas las cajas por cinco minutos.
5. Cerrar estas cajas pasado este tiempo e incubar a la temperatura óptima de los posibles microorganismos relacionados con el riesgo biológico.

Actividad 7

Análisis de datos

Lea sus cajas después del tiempo de incubación para la identificación macro y microscópica de los microorganismos aislados.

1. Esquematice y describa los resultados obtenidos

Muestra	Agar nutritivo	Agar Sabouraud

2. Realice una búsqueda en los portales académicos sobre la relación de lo observado en el aislamiento de agentes etiológicos y los riesgos a la salud de la población humana que realiza una labor. Anótela a continuación.

Recomendaciones para la presentación de los resultados y la discusión

Coloque (si es preciso) en tablas o cuadros sus resultados o gráfíquelos, esto le permitirá describirlos mejor y compararlos. Puede incluir los resultados de sus otros compañeros de clase. La discusión debe hacerse con base en sus resultados y a los obtenidos por otros autores o compañeros de clase. Siempre debe darle un sustento bibliográfico a su discusión.

Conclusiones

Elabore tres (3) conclusiones respecto a sus hallazgos en la práctica.

1. _____

2. _____

3.

Entregable (informe)

Ver la información al respecto ubicada al inicio de este manual.

Referencias

Ministerio de Salud y Protección Social. (2020). *Lineamientos generales de bioseguridad y biocontención para los laboratorios de la red nacional de laboratorios*. Minsalud. <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/VSP/ps>

Quiñonez de Meza, E.M y Ovelar, R.D. (2017). *Manual de vigilancia de enfermedades transmitidas por alimentos*. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social de Paraguay. <https://dgvs.mspbs.gov.py/wp-content/uploads/2022/11/Manual-de-Vigilancia-de-ETA.pdf>

Bibliografía complementaria

Olivas, E. (2015). *Manual de prácticas de laboratorio de microbiología-I*. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. <https://bivir.uacj.mx/Reserva/Documentos/rva2011296.pdf>

Rodríguez, J. y Rodríguez, E. (1988). *Manual de prácticas de bioquímica microbiana* (2a ed.). Universidad Autónoma de Nuevo León. <http://cdigital.dgb.uanl.mx/la/1020111465/1020111465.PDF>

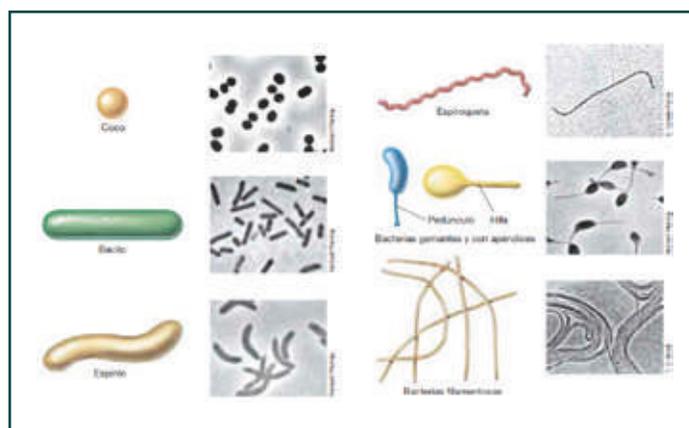
Práctica 7. Observación de bacterias por la tinción según Gram

Resultados de aprendizaje		
Actitudinal	Conocimiento	Desempeño
Establece las diferencias y similitudes entre los principales grupos de bacterias de acuerdo con la composición química de la pared celular	Identifica cuales son las principales características morfológicas de las bacterias a escala microscópica	Determina la importancia de las bacterias para el funcionamiento de la vida en la tierra

Conocimientos previos

Una de las características más importante de las bacterias es su morfología, definida por el tamaño, la forma, el arreglo y la estructura. Existen bacterias en forma redondeada denominadas cocos; en forma cilíndrica bajo el nombre de *bacilos* y una tercera morfología como son las que tienen forma de espirales, conocidas como *espirilos* (figura 1). A su vez cada categoría puede subclasificarse con base en diferentes arreglos. Estas características pueden determinarse examinando muestras al microscopio. Las células no teñidas son prácticamente transparentes, pero pueden observarse al microscopio de luz haciendo preparaciones entre lámina y laminilla o con microscopios especiales como de contraste de fases o de campo oscuro. Para obtener más información sobre la morfología y composición química de las bacterias debe recurrirse a tinciones diferenciales que involucran el uso de varios reactivos y pueden diferenciarse según el color que retienen (de Vizcarrondo y Gutiérrez, 2008).

Figura 1 Morfologías celulares.



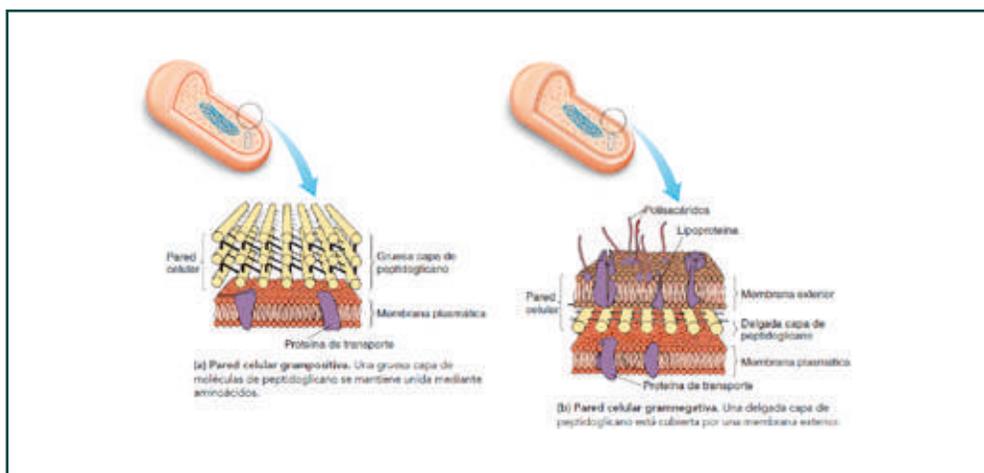
Nota. Junto a cada dibujo hay una micrografía por contraste de fases en la que se muestra la morfología. Cocco (diámetro celular en la micrografía: $1,5\mu\text{m}$); bacilo ($1\mu\text{m}$); espirilo ($1\mu\text{m}$); espiroqueta ($0,25\mu\text{m}$) gemadora ($1,2\mu\text{m}$); filamentosas ($0,8\mu\text{m}$). Todas las micrografías son de especies de bacteria. No todas estas morfologías se conocen en *Archaea* (Madigan et al., 2015).

Conceptos

Tinciones diferenciales: coloraciones más implementadas en el área de la microbiología por la enorme variedad de aplicaciones que posee para la salud. Este tipo de tinción es cuando se visualiza más de un color porque se utiliza más de un colorante y sirven para denotar las características de afinidad por ciertos colorantes de ciertos microorganismos. Se sustentan en que distintos tipos de células tienen distinta composición química y, por tanto, reaccionan de forma diferente frente a una tinción, lo que permite clasificar los microorganismos en diferentes grupos, según su capacidad de tinción (González et al., 2020).

Tinción Gram: técnica de laboratorio diseñada por Christian Gram en el año 1884. El objetivo de Gram era conseguir una técnica con la que fuera posible diferenciar variados grupos de bacterias para así poder estudiarlas y clasificarlas. Según la distribución del peptidoglicano de la pared celular que las envuelve, se tiñen de una forma u otra. Por medio de esta tinción se divide a los microorganismos en dos grandes grupos, *gram-positivos* y *gram-negativos*, según retenga o no el cristal violeta utilizado en la tinción (figura 2). Las diferencias en la composición de las paredes de las células gram-positivas, que poseen una capa robusta de peptidoglicano con numerosos enlaces cruzados de ácido teicoico, y las paredes de las células gram-negativas, en las que la capa de peptidoglicano es más delgada; explican las diferencias de tinción de Gram entre estos dos grupos importantes de bacterias. Es probable que el elevado número de enlaces cruzados de ácido teicoico de los microorganismos gram-positivos ayude a su capacidad de resistir la decoloración con alcohol. Si bien el colorante de contraste puede ser captado por los microorganismos gram-positivos, su color violeta no se altera (González et al., 2020).

Figura 2 Paredes celulares bacterianas



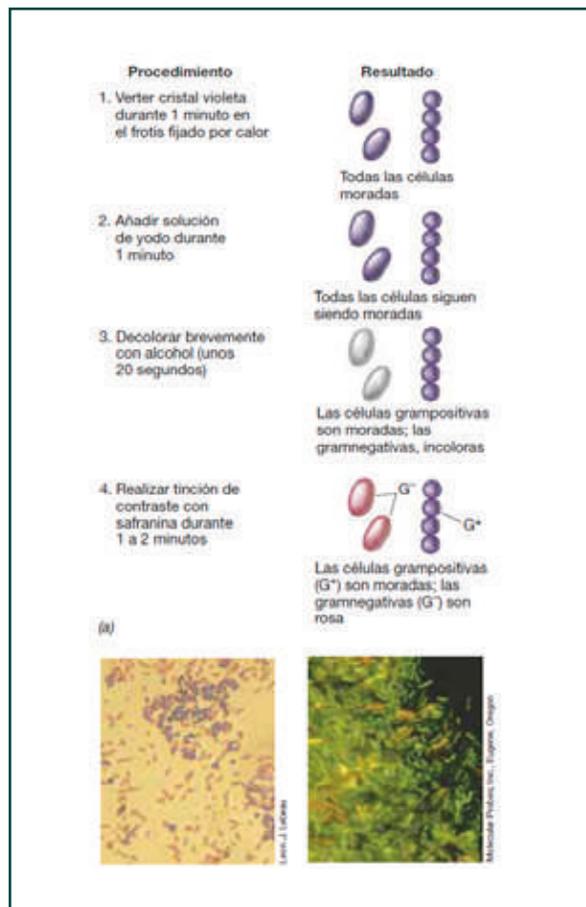
Nota. Tomado de Solomon et al. (2013).

La técnica puede resumirse de la siguiente forma: una vez que la preparación ha sido fijada a la lámina portaobjeto, se añade el colorante cristal violeta, el cual se deja en contacto por un minuto y las células se tiñen de color violeta. A continuación, se lava el exceso de tinte con agua destilada, luego se añade la solución de Lugol, que actúa como mordiente, y se deja en contacto por un minuto. El yodo se ajusta con el cristal violeta

y forma un compuesto que precipita en el interior de la célula; este complejo puede extraerse fácilmente con alcohol etílico de las gramnegativas, pero no se remueve fácilmente de las grampositivas. Una vez ejecutada la decoloración se añade el colorante de contraste, la safranina, la cual se deja en contacto por 30 segundos; el exceso de colorante se elimina con agua destilada. Las láminas así preparadas se secan a temperatura ambiente o con la ayuda de toallas absorbentes. Algunos autores recomiendan que el periodo de interacción con la safranina sea de un minuto (de Vizcarrondo y Gutiérrez, 2008).

Figura 3 Procedimiento para realizar tinción de Gram

Nota. Tomado de Madigan et al. (2015).



Materiales y recursos pedagógicos

Materiales

- Gotero.
- Mechero.

Reactivos

- Colorantes de tinción Gram (Cristal violeta, Lugol, Safranina).
- Solución salina.
- Alcohol acetona al 96%.

Equipos

Microscopios (se recomienda tener siete microscopios para un grupo de 28 estudiantes).

Insumos

Cultivo bacteriano en medio sólido crecido por 24 horas.

Equipo de seguridad

- Bata de laboratorio blanca.
- Guantes quirúrgicos desechables.
- Tapabocas quirúrgicos.
- Kit de bioseguridad.

Material por parte del estudiante.

- Asa de siembra.
- Portaobjetos.
- Cubreobjetos.
- Papel para limpiar lentes (papel de arroz).
- Cuaderno de notas o libreta de apuntes.
- Lápiz, bolígrafo y marcador de vidrio.

Procedimiento

Preparación de las láminas

Como primer paso es necesario preparar el extendido de la muestra sobre la lámina portaobjeto y fijarlo, para posteriormente añadir el o los colorantes y observar la muestra teñida bajo el microscopio de luz (de Vizcarrondo y Gutiérrez, 2008).

- Colocar en cada una de las láminas limpias, secas y desgrasadas, una gota de solución salina utilizando el asa de platino previamente esterilizada (figura 4).

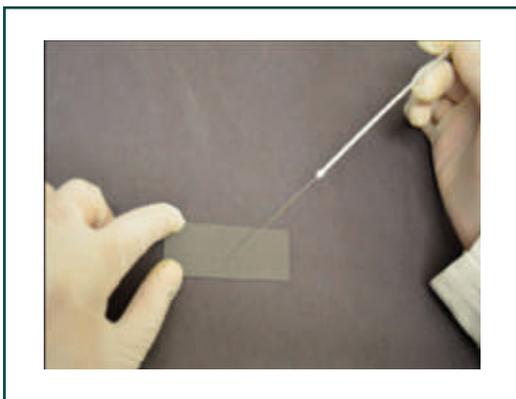


Figura 4 Colocación de microgota

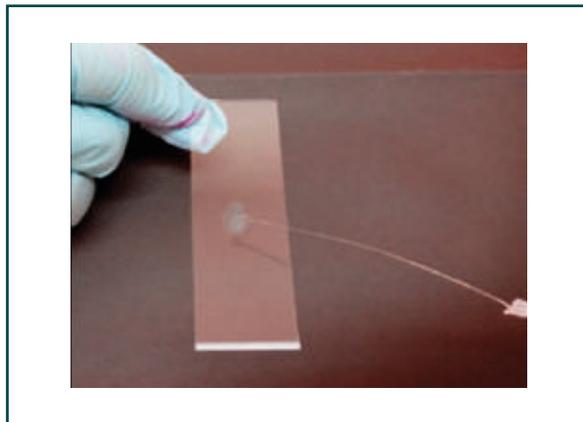
Nota. Tomado de González et al. (2020).

- Tomar asépticamente una pequeña muestra del cultivo sólido con el filamento y mezclar con la gota de solución salina para obtener una suspensión. También puede utilizarse un cultivo líquido, en dicho caso, la muestra se toma con el asa de platino y no es necesario colocar la gota de solución salina.

- c) Extender la suspensión con el asa de platino previamente esterilizada y enfriada. Observar la figura 5.

Figura 5 Extensión y homogeneización de la muestra

Nota. Tomado de González et al. (2020).



- d) Dejar secar la lámina a temperatura ambiente.
- e) Fijar la muestra extendida a la lámina utilizando calor. Esto se logra pasando la lámina varias veces por la llama del mechero (máximo tres veces). La lámina no debe calentarse demasiado y ello se comprueba tocando suavemente el dorso de la mano con la lámina. El operador debe soportar el calor, sin quemarse (figura 6).

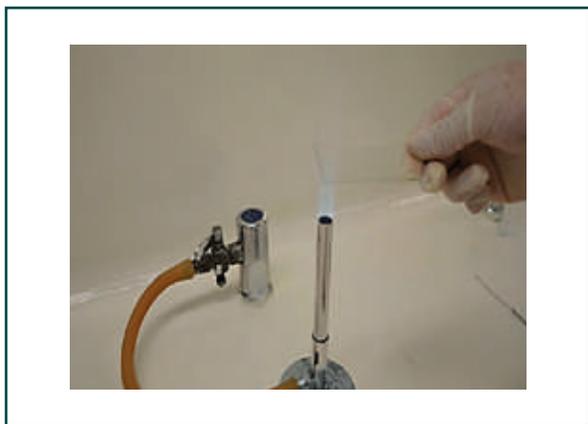


Figura 6 Fijación de la muestra

Nota. Tomado de González et al. (2020).

Tinción de Gram (de Vizcarrondo y Gutiérrez, 2008)

1. Colocar las láminas extendidas y fijadas en una bandeja adecuada. Cubrir su superficie con cristal violeta por un minuto. Lavar con agua destilada y escurrir (figura 7).

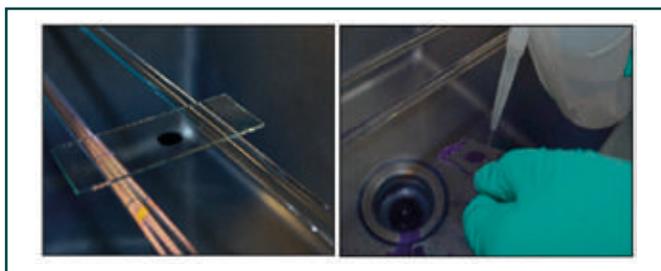


Figura 7 Aplicación de la solución de cristal violeta

Nota. Tomado de González et al. (2020).

2. Cubrir la superficie de la lámina con la solución de Lugol por un minuto. Lavar con agua destilada y escurrir (figura 8).

Figura 8 Aplicación de Lugol

Nota. Tomado de González et al. (2020).



3. Colocar cada una de las láminas en posición inclinada y decolorar con alcohol a 95° hasta que el color libre deje de salir (aproximadamente 10-20 segundos), tal como se muestra en la figura 9. Lavar con agua destilada y escurrir (el paso más importante es no exceder el tiempo).

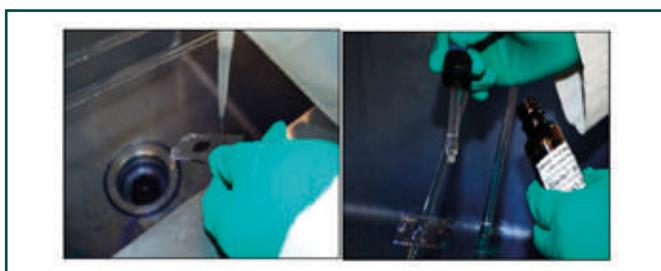


Figura 9 Lavado con agua y posterior aplicación alcohol-acetona

Nota. Tomado de González et al. (2020).

4. Cubrir las láminas con safranina por 30 segundos. Lavar con agua destilada y escurra. Observar la figura 10 para guiarse.

Figura 10 Aplicación de la safranina

Nota. Tomado de González et al. (2020).



5. Secar con cuidado las láminas utilizando papel absorbente.

Observación bajo el microscopio

Observar varios campos hasta encontrar aquél que permita una identificación de la morfología, estructura y reacción al Gram. Colocar una gota de aceite de inmersión sobre las láminas teñidas y secas. Examinarlas bajo un microscopio de luz, utilizando el objetivo de inmersión (100X).

Actividad 8

Análisis de datos

Para obtener un adecuado micropreparado de tinción Gram es necesario seguir el procedimiento en el orden estricto y en los tiempos mencionados. En la fase de extendido se debe garantizar que la preparación sea delgada y no gruesa, ya que si es muy gruesa no habrá el adecuado contraste y no se podrán individualizar las bacterias para su posterior identificación.

Durante la fijación debe garantizarse que quede realmente fija la muestra o al lavar las bacterias se perderán a lo largo de los continuos lavados durante el proceso. Por otra parte, debe evitarse el sobrecalentamiento porque desnaturalizaría las estructuras moleculares alteraría la morfología.

Recomendaciones para la presentación de los resultados y la discusión

Lo realizado en la práctica debe estar reflejado y revisado en el contenido de la libreta. Se elige una sola libreta por grupo, así que todos deben tener la libreta al día a lo largo del semestre y por cada práctica realizada.

Conclusiones

Elabore tres (3) conclusiones respecto a sus hallazgos en la práctica.

1. _____

2. _____

3.

Entregable (informe)

Ver la información al respecto ubicada al inicio de este manual.

Referencias

De Vizcarrondo, M. y Gutiérrez, S. (2008). *Trabajo práctico N.º 6. Morfología y tinción de los microorganismos*. Universidad Central de Venezuela. http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/10_Morfolog%C3%ADa_y_Tinci%C3%B3n.pdf

González, R., Cuevas, B., Cortés, M., Sánchez, M. (2020). *Las tinciones básicas en el Laboratorio de Microbiología: Un enfoque gráfico*. Universidad Nacional Autónoma de México. <https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/Portal2015/publicaciones/libros/cbiologicas/libros/Tinciones.pdf>

Madigan, M., Martinko, J., Bender, K., Buckley, D. & Stahl, D. (2015). *Biología de los microorganismos*. Pearson.

Solomon, E., Berg, L. y Martin, D. (2013). *Biología* (9a ed.). Cengage Learning.

Bibliografía complementaria

Kremer, B. (2012). *ABC del microscópico: estructura, funcionamiento y preparaciones paso a paso*. Panamericana.