

INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS CENTRO DE INVESTIGACIONES COSTERAS

TEXTO

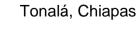
MANUAL DE PRÁCTICAS DE BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIATURA EN BIOLOGÍA MARINA Y MANEJO INTEGRAL DE CUENCAS

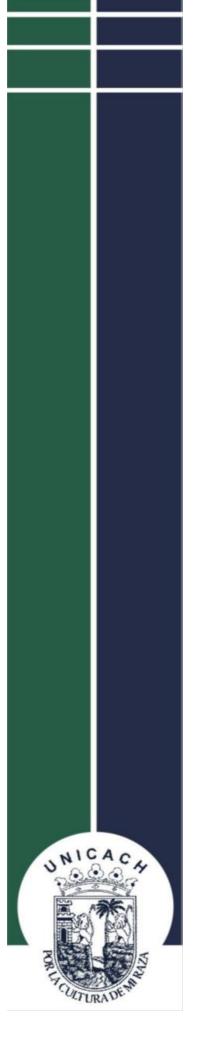
PRESENTA

SHERIDAN DUWEYNE HERNÁDEZ SANTOS



MARZO 2019





UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS

INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS CENTRO DE INVESTIGACIONES COSTERAS

TEXTO

MANUAL DE PRÁCTICAS DE BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIATURA EN BIOLOGÍA MARINA Y MANEJO INTEGRAL DE CUENCAS

PRESENTA

SHERIDAN DUWEYNE HERNÁDEZ SANTOS

DIRECTOR

Dr. EMILIO ISMAEL ROMERO BERNY

CENTRO DE INVESTIGACIONES COSTERAS-IB. UNICACH

ASESOR - EXTERNO

Dra. SELENE LUCERO AGUILAR GORDILLO

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE CHIAPAS. UNACH

ASESOR

M. en C. DELMAR CANCINO HERNÁNDEZ

CENTRO DE INVESTIGACIONES COSTERAS-IB. UNICACH

ENTRO DE INVESTIGACIONES COSTERAS-IB. UNICAC

Tonalá, Chiapas

MARZO 2019

DEDICATORIA

Aunque la mayoría no crea en él, dedico con amor mi trabajo a Dios y Jesús quienes estuvieron conmigo en todo momento, recalcándome uno de sus textos "Mira que te mando que te esfuerces y seas valiente..." Josué 1:9, dándome la gracia en sabiduría para poder terminar una profesión. Y cuando creí que todo estaba perdido... siguen conmigo, "Él dijo: Lo que es imposible para los hombres, es posible para Dios" Lucas 18:27.

Con gran amor va dedicado a mi Madre María del Carmen, que es mi gran ejemplo de vida, corrigiéndome y apoyando cada decisión que he tomado; sin importar la distancia ella ha estado conmigo siempre, llegado hasta donde estoy gracias a su esfuerzo que da por mi enseñándome cada día los principales valores de vida; sin ella yo no sería nadie... te amo Mamá.

A mis hermanas Carol K. y Walyorly S., a pesar de las diferencias, estuvieron apoyándome a sus maneras, si no estuvieran en mi vida, no hubiese tenido el valor de seguir soñando; gracias por los consejo, regaños que me dieron y estar conmigo en un logro más, aunque no acostumbre a decirles saben bien que las amo y adoro.

Mis cinco hijos (mis sobrinos) los cuales adoro y amo con el alma, no se quedan atrás gracias por sus sonrisas y locuras animándome a seguir y no rendirme, sé que he sido un ejemplo para ustedes no cometan los mismos errores que he cometido, pero si sean valientes en seguir sus sueños sin importar lo que digan.

A 216 llegaron a mi vida, en el tiempo correcto, dando alegría a mis días con sus inocencias, son el mejor regalo que la vida medio, aunque temí, me enseñaron a perder el miedo enseñándome nueva cosas, sus sonrisas me dan paz, a pesar de la distancia y el tiempo siempre estarán conmigo, siempre estaré con ustedes sin importar las circunstancias... los amo.

A mi cuñado Orlando C., que ha sido como un padre, uno de mis mayores ejemplos a seguir, gracias por ayudarme en mi camino profesional y confiar en que si se puede llegar lejos y por estar orgullosos de mí.

A mi cuñado Rogelio., gracias por los consejos, la confianza y apoyo que medio en su momento.

Con gran cariño va dedicado a otro de mis mayores ejemplos a seguir M. en C. Selene Lucero Aguilar Gordillo quien confió en mí, brindándome su amistad, su cariño, sus consejos en los momentos más difíciles, gracias por su tiempo y enseñanzas que me ha dedico.

Con gran cariño también va dedicado a Mayanin Alvares Ochoa quien me apoyo en una etapa de mi vida, ayudándome en a elegir uno de mis sueños y a tener valor en perder el miedo; con cada sonrisas y abrazos me hizo sentir en casa, que a pesar de la distancia sé que estuve en unas de sus oraciones, gracias por confiar en mí.

A mis tías (o) Socorro Rodríguez Clemente, Jesús Guadalupe Rodríguez, Abelardo Frotis; gracias por ser parte de mí familia, por el amor que me brindaron, los consejos que me dieron, el tiempo y sobre todo por la confianza que tuvieron en mí.

A mi gran amigo a pesar del genio que tiene, sus consejos siempre han sido para bien gracias por tú tiempo y todo lo que has hecho.

DaNter no sé qué sería de mí, si no hubieses llegado a mi vida querido amigo.

AGRADECIMENTO

A Dios

Por la vida en gracia para seguir adelante y por su promesa salmos 37:4, en concederme los deseos de mi corazón.

A mi Director

Emilio Ismael Romero Berny, "Gracias por la ayuda que me ha brindado cuando creí que todo estaba perdido, fue mi auxilio" gracias por creer confiar en mi...

A mi Asesor externo

M. en C. Selene Lucero Aguilar Gordillo y M. en C. Miguel Ángel Hernández Espinosa, por la paciencia, el apoyo, compartiéndome sus conocimientos y la confianza que tuvieron en que lograra concluir mi trabajo.

A los maestros que forman parte de CEICO

Selene Lucero Aguilar Gordillo, Miguel Ángel Hernández Espinosa, Emilio Ismael Romero Berny, Georgina Pascasio, Delmar Cancino Hernández, Juan Pedro Arias, Citlalli López Tapia, Arkady Uscanga Martínez, Natalia Perales García, Ignacio Díaz Galdámez, José Reyes Gallegos, Verónica Hernández Tipac, Javier Toledo Solís, Jesús López Vila, Antonio Ramiro Hidalgo Gonzales, Eduardo Ortiz, Miguel Angel Rosales Orantes, Adriana Cano, etc.

Por coadyuvar en la enseñanza que recibí al principio y final de mi preparación académica.

A mis amigos

Raúl E., Jennifer Z., Guadalupe A., Luis C., Mónica R., Jennifer G., Berenice C. con quienes tengo historias formando parte de mi familia, confiando que lograría cumplir mis sueños han estado animándome, apoyándome desde el inicio y cada vez que los necesitaba.

Nelson S., Miguel C., Edith D., Gricelda M., Sindi C., Grisel E., Angelina P., Paola F., Guadalupe V., Itzel L., Adriana T., Santiago E., Abiner G., Alex T., Thomas J., Ernesto T., Gabriela L., Ceci R., Madai V., Alberto A., Jairo L., Carlos G., Alberto P., Daniel R., Kevin M., Carlos R., Ervin A., Juan T., Alondra V., Nelvi H., Jesús F., Juliana O. etc. Los encontré en el transcurso de mi camino, teniendo agradables momentos e inolvidables convirtiéndose en una familia, apoyándome en cada, momento; los extrañare.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	
OBJETIVOS	III
METODOLOGÍA	IV
CUERPO DEL TEXTO	1
PRÁCTICA 1	
TECNICAS BASICAS DE MICROSCOPIA OPTICA CON APLICACIÓN EN BIOLOGÍ.	A CELULAR Y
MOLECULAR	1
PRÁCTICA 2	
ESTRUCTURA CELULAR	12
PRÁCTICA 3	
DIVERSIDAD CEULAR: PROCARIOTAS – EUCARIOTAS Y UNICELULARES –	
PLURICELULARES	23
PRÁCTICA 4	
BACTERIAS	33
PRÁCTICA 5	
PROCESO DE TRANPORTE DE LA MEMBRANA	
PRÁCTICA 6	
LISOSOMAS	64
PRÁCTICA 7	
IDENTIFICACION DE CLOROPLASTOS EN UN PROCESO DE AISLAMIENTO	70

PRÁCTICA 8

MITOSIS	78
PRÁCTICA 9	
PROCESO DE LA MEIOSIS	89
PRÁCTICA 10	
TECNICA DE EXTRACCION DE ADN	.96
PRÁCTICA 11	
ALINEAMIENTO DE SECUENCIAS DE NUCLEÓTIDOS CON BIOINFORMÁTICA	105
PRÁCTICA 12	
APLICCIÓN DE BIOINFORMÁTICA EN ALINEAMIENTO DE PROTEÍNAS	110
ANEXOS A (PROGRAMA DE ASIGNATURA)	117
ANEXOS B (MATERIAL UTILIZADO)	122

I. INTRODUCCIÓN

La biología celular o citología es una rama de la biología relativamente joven nacida hace aproximadamente 150 años; sólo después de que se estableció la teoría celular en 1832 se reconoció como disciplina, su objetivo inicial fue: "describir con máxima precisión todas las estructuras características de las células animales y vegetales y de los seres unicelulares, las modificaciones en el curso de la vida de las células". Veinte años después aproximadamente, la biología celular cambio por completo su orientación tras la introducción de la biología molecular, con los conocimientos sobre la estructura y funcionamiento de los genes que se obtenían por métodos de genética molecular. En la actualidad, la biología celular y molecular es la ciencia fundamentada, dotada de instrumentos de análisis cada vez más poderoso para los procesos internos de la célula, gracias a los avances tecnológicos (Callen, 2005).

La biología molecular se centra en el estudio de los proceso que se desarrollan en la célula viva, a nivel de su estructura molecular; principalmente material genético (ADN y ARN), a partir de 1953 se inició el estudio intensivo de los mecanismos moleculares que permiten la duplicación, reparación, recombinación y transposición del DNA y del procesamiento celular de la información genética presente en esta molécula (Jiménez y Merchant, 2003).

Por su parte, la biología molecular es el estudio de la biología a un nivel molecular; se ocupa de las interacciones entre los diferentes sistemas celulares incluyendo la interacción entre ácidos nucleicos y las proteínas y como estas interacciones son reguladas. Los estudios de biología molecular o tecnología del ADN recombinante incluyen los análisis en que el material de interés son los ácidos nucleicos: ADN y ARN. El conocimiento de las características y propiedades de estas dos biomoléculas ha permitido la implementación de técnicas utilizadas en investigación y en la práctica (Salazar *et al.*, 2013).

Los modernos sistemas de conocimiento científico son organismos en crecimiento: mientras están vivos, cambian sin pausa. Esta es una de las razones por las cuales la ciencia es éticamente valiosa; porque nos recuerda que la corrección de errores es tan valiosa como "no cometerlos", y que probar cosas nuevas e inciertas es preferible a rendir culto a las viejas garantías. Por lo tanto, es necesario investigar a fondo para identificar aquellos factores que impiden un proceso de enseñanza-aprendizaje eficaz (en algunas instituciones no cuentan con apoyos didácticos para mejorar el aprendizaje, de las materias), Una finalidad secundaria de carácter práctico promueven el desarrollo de nuevas aplicaciones de prácticas de conocimiento científico como efectivas herramientas y estrategias de enseñanza, que permitan facilitar el aprendizaje en un enfoque de investigación en el que la observación, el planteamiento de hipótesis y la experimentación formen parte del método mismo de la enseñanza, de esta manera contribuir a la formación integral de profesionales con una amplia visión respecto a la utilización del método científico, despertando y motivando su interés por la investigación científica (Lucumí, 2015).

En la materia de Biología Celular y Molecular que se imparte durante el 5º semestre con el 1er Plan de Estudios de la Licenciatura en Biología Marina y Manejo integral de cuencas del Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. La materia, con clave LBMC090527 contempla 80 horas durante el semestre, con 48 horas teóricas y 32 de práctica (Nettel *et al.* 2009). El objetivo de la materia plasmado en el plan de estudios vigente señala "comprender la ubicación de los procesos bioquímicos dentro de la célula, el flujo de información genética y la comunicación celular; así como la relación de estos procesos en el metabolismo general y la interacción con el ambiente que los rodea."

Aunque la asignatura cuenta con un manual de prácticas para la materia en Biología Celular y Molecular, este resulta insuficiente para abarcar algunos temas que se encuentran en el plan de estudios, es la razón por la cual surge la necesidad de crear prácticas como apoyo didáctico; el anterior manual fue

consultado como guía en la elaboración de dos prácticas, innovando técnicas e utilizando otros materiales para la mejor de aprendizaje del alumno.

Por lo anterior el manual presentan 12 prácticas con imágenes para reforzar las unidades de aprendizaje del programa de la materia, con el fin de enseñar los procesos celulares y moleculares, sus principales característica como lo son sus funcionamientos a distintos niveles de organización; en un marco contextual, referencial y metodológico, así como actividades de aprendizaje que incluye la elaboración de cuestionarios teniendo como objetivo principal el permitir al estudiante familiarizarse con el equipamiento de laboratorios, reactivos y materiales de uso común a la par que desarrollaran habilidades en el manejo de los mismos con el fin de aplicar sus conocimientos con un criterio analítico.

II. OBJETIVOS

Objetivo general

Desarrollar un manual práctico de laboratorio que fortalezca el proceso de enseñanza-aprendizaje del contenido de la materia de Biología celular y molecular del 1^{er} plan de estudios de la Licenciatura en Biología Marina y Manejo Integral de cuencas de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas.

Objetivos específicos

- Organizar las prácticas propuestas en función del plan de estudios de la materia.
- Fomentar prácticas realizables de acuerdo al material disponible en los laboratorios de docencia.
- Verificar la pertinencia y factibilidad del manual mediante la realización de las prácticas.
- Propiciar la investigación autodidacta de los alumnos mediante la formulación de cuestionarios para cada práctica.

III. METODOLOGÍA

Para la elaboración del Manual de prácticas de Biología Celular y Molecular se realizaron los siguientes procedimientos.

- ✓ Se consultó y se revisó el programa de estudio de la asignatura biología celular y molecular impartida en 5to semestre con clave LBMC090527, de la Licenciatura en Biología Marina y Manejo Integral de Cuencas.
- ✓ Se realizó la búsqueda bibliográfica en prácticas de distintas universidades nacionales como internacionales (Cuadro. 1).
- ✓ Se hizo el proceso de selección de doce prácticas que brindaran soporte pedagógico al desarrollo adecuad de la materia, y se visitó los laboratorios de docencia para confirmar que estos contaran con el equipo y material accesible con el objetivo de poder realizar las prácticas seleccionadas.
- ✓ Cada práctica construida a partir de las fuentes bibliográficas, fueron realizadas solo un 80% de las prácticas en laboratorio de docencia C del Centro de Investigaciones Costeras (CEICO) modificada en cuanto a la metodología y el tipo de material a implementar, en base a las necesidades del programa de estudio.

MANUAL DE PRÁCTICAS DE LABORATORIO DE BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR

Cuadro 1.- Manuales consultados para la selección de prácticas.

TITULO/ INSTITUCIÓN	AUTOR	AÑO
Manual de Laboratorio de Biología. Universidad de los Andes,	Chataing. B., Nieves. Elsa.	2009
Autoridades Universitarias (UNIANDES)		
Manual de Laboratorio Biología Celular. Facultad de Ciencias	Cañas. A.	2012
Químicas, Universidad Autónoma de Chiapas (UNACH).		
Manual de Prácticas de Biología 1. Colegio de Estudios Científicos	Constantino. E., Santiago.	2012
y Tecnológicos del Estado de Chiapas (CECYTE).	M., Meza. A.	
Manual de Prácticas de Laboratorio Biología Celular, Universidad	Ducolomb. Y., Fierro. R.,	2012
Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa (UAM).	González. C.	
Manual de Prácticas en Biología Celular. Facultad de Medicina	Vega. L., Ortega., C.	2013
Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de		
México (FMVZ).		
Manual del Laboratorio de Biología Celular y Molecular 1.	Chávez. J., Medina. M.,	2013
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH).	Sánchez. S.	
Guía de Laboratorio de Biología. Facultad de Medicina, Pontificia	Anónimo	2013
Universidad Católica de Ecuador (PUCE).		
Biología Celular e Histología Médica. Facultad de Medicina,	Castell. A., Lecuona. M.,	2013
Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).	Sampedro. E.	
Manual de prácticas Biología General. Facultad de ciencias	Anónimo	2014
químicas y farmacia biología biología general, Universidad de san		
Carlos de Guatemala (USAC).		
Guía de Laboratorio de Biología Molecular Básica. Centro	Suarez. H., Escobar. R.,	2014
internacional de agricultura tropical (CIAT).	Zapata. P.	
Extracción de ADN, Experimento con reactivos de la vida	Martínez. L.	2015
cotidiana. Grado genética, Universidad Autónoma de Barcelona		
(UAB).		
Manual práctico Biología Celular y Molecular. Facultada de	Millan. P., Paez. P.,	2015
medicina, Universidad el Bosque.	Acosta. J.	
Manual de Prácticas de Laboratorio de Química General.	Alcázar. D., Fuentes. F.,	2015
Universidad de la Costa (CUC).	Gallardo. M.	
Manual de prácticas de Biología Celular y Molecular. Universidad De Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH-CEICO).	Aguilar. S., Hernández. M.	2016

IV. CUERPO DEL TEXTO

PRÁCTICA 1

"TECNICAS BASICAS DE MICROSCOPIA OPTICA CON APLICACIÓN EN BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR"

INTRODUCCIÓN

El descubrimiento de la organización celular de todos los seres vivos se relacionan estrechamente con el progreso de los instrumentos de óptica. El microscopio compuesto, constituido por dos lentes, comenzó a emplearse a fines del siglo XVI, gracias a él, Hooke descubrió por primera vez (1665) la organización alveolaria de finos cortes de corcho (de hecho observo las paredes de células muertas) y propuso la palabra "célula" de latín *cellula:* pequeña cámara (Callen, 2005).

Las células y sus estructuras son demasiado pequeñas para observarlas, escucharlas o tocarlas de manera directa. A pesar de esta enorme dificultad, las células son el tema de miles de publicaciones y casi sin excepción cada aspecto de su minúscula estructura se encuentra bajo investigación. De muchas maneras, el estudio de la biología celular y molecular permanece como tributo a la curiosidad humana por investigar, descubrir, y a la inteligencia humana creativa para diseñar instrumentos complejos así como técnicas elaboradas gracias a las cuales se puedan realizar tales descubrimientos (Karp, 2009).

Se han desarrollado diferentes sistemas de iluminación para el microscopio, que permiten observar células, tejidos vivos, fijados y teñidos. El microscopio de campo claro es útil para la observación de material teñido, la tinción incrementa el contraste entre la muestra y el medio que lo rodea, la imagen formada resalta sobre un fondo blanco brillante. En este sistema, el trayecto que sigue la luz va desde la lámpara hasta el ojo del observador pasando por un sistema de lentes que la alinea y la concentra (De Robertis, 2008).

August Köhler físico alemán, desarrolló 1665, un sistema que permite el alineamiento del sistema óptico con el sistema de iluminación sobre un mismo eje. Esto se realiza tomando como referencia el diafragma de campo, que es un dispositivo que se encuentra sobre a la fuente de luz, que regula la apertura para el paso de ésta. El diafragma de campo permite centrar el condensador móvil. La iluminación de Köhler crea un campo visual que ilumina uniformemente el espécimen. Esta técnica evita la aberración cromática, mejorando la resolución de las imágenes.

NÚMERO	TEMA DEL PROGRAMA	NÚMERO DE
DE UNIDAD DEL	(Es opcional utilizar esta práctica,	HORAS PARA
PROGRAMA	como apoyo didáctico en el programa)	REALIZAR LA PRACTICA
Unidad I	Introducción a la célula	Dos horas

OBJETIVO GENERAL

Identificar los enfoques y tipos de iluminación del microscopio óptico para una mejor observación celular.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- * Reconocer las partes que integran al microscopio de campo claro.
- Aprender a enfocar y operar adecuadamente el microscopio óptico.
- ❖ Distinguir diversas estructuras celulares con objetivos de 10X, 40X y 100X.

MATERIALES

Material proporcionado en el laboratorio	Sustancias	Material proporcionado por el alumno
 → Microscopio → Sanitas → Un vidrio de reloj → Tres pipetas Pasteur → Piceta con etanol → Tres Porta objetos y Cubre objetos → Agua destilada 	→ Aceite de inmersión → Azul de metileno	 → Agua encharcada → Insecto muerto → Solución de levadura

NORMAS DE SEGURIDAD

Tipos de riesgo	Como evitarlo	Como proceder en caso de accidente
•Herirse con el uso inadecuado del bisturí	•Realizar adecuadamente el proceso de la práctica	•Informar al asesor de práctica o recurrir al botiquín

MÉTODO

Antes de iniciar debes recordar que:

→ Para que los microscopios proporcionen imágenes de buena calidad las lentes deben estar limpias, por lo que debe evitar tocarlas, ya que las huellas digitales alteran la calidad de la imagen observada.

→ Solo si es imprescindible debe limpiar las lentes, para llevarlo a cabo utilice únicamente papel especial para la limpieza de las lentes (toallas absorbentes o clínex), no emplee otro tipo de papel o hisopos. En el ambiente se encuentran pequeñas partículas de polvo y si no se utiliza el material adecuado, las lentes se deterioran dañando la calidad de la imagen.

→ Use aceite de inmersión solo cuando va a utilizar el objetivo de 100X. Evite que los demás objetivos entren en contacto con el aceite. Al finalizar la sesión de laboratorio siempre limpie el aceite de la lente.

→ Cada vez que observe con el objetivo de 100X, deberá colocar sobre el cubreobjetos de la preparación, una pequeña gota de aceite de inmersión, la lente del objetivo deberá quedar inmersa en el aceite para tener un mejor resultado. Al retirarlo, absorba el aceite de la lente usando papel ya antes mencionado. NO OLVIDE LIMPIAR BIEN las lentes de 40X y 100X.

A continuación realizaremos los siguientes procedimientos con el microscopio.

A) Iluminación de Köhler

- **1.** Identifique con la ayuda de la Fig. 1,2 y 3, las partes del microscopio y verifique su funcionamiento.
- **2.** Abra el diafragma de iris y el diafragma de campo.
- **3.** Suba el condensador hasta el tope, utilizando el tornillo de la porta condensador (Fig. 2).

- 4. Seleccione el objetivo de 10X.
- **5.** Ajuste la distancia interpupilar. Enfoque una preparación con el tornillo macrométrico. Para realizar el enfoque fino use el tornillo micrométrico. Afine el enfoque para el ojo izquierdo con el diópter.

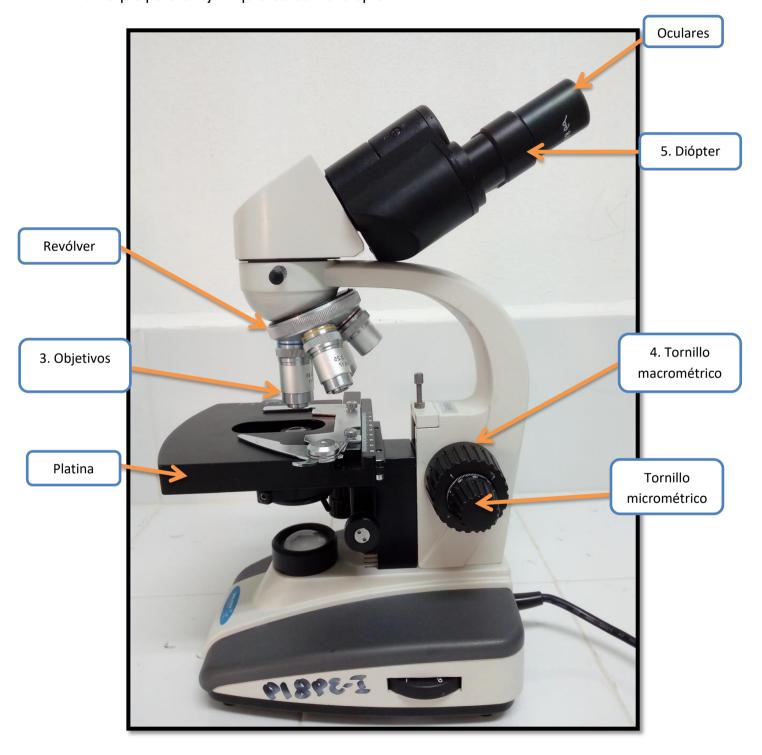


Figura 1. Partes de un microscopio óptico (vista lateral).

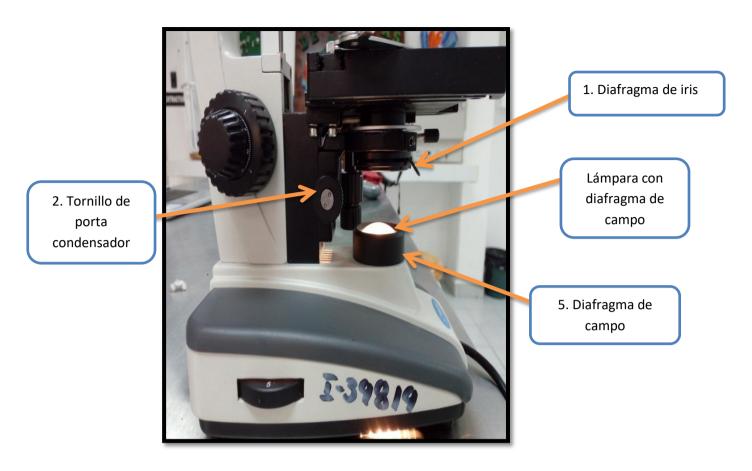


Figura 2. Partes de un microscopio óptico (vista lateral inferior).



Figura 3. Partes de un microscopio óptico (vista frontal inferior).

- **6.** Cierre el diafragma de campo completamente, se debe ver una luz difusa como aparece en la Fig. 4.
- 7. Anote sus observaciones y si no logro ver una luz difusa, repita los pasos.

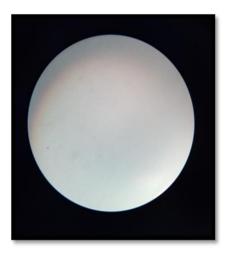


Figura 4. Luz de cierre de diafragma.

B) Observación de agua encharcada.

- 1. Con la pipeta tome una pequeña porción de agua estancada y coloque una gota en el portaobjetos que se encuentre limpio y seco.
- 2. Coloque el cubreobjetos y observa al microscopio, (si es necesario retira el exceso de agua) (Fig. 5)
- 3. Observa primero con el objetivo 10X y 40X.
- 4. Anota tus observaciones y compáralas con las que se muestran en la Fig. 6.







Figura 5. Preparación de la muestra a observar en el microscopio.

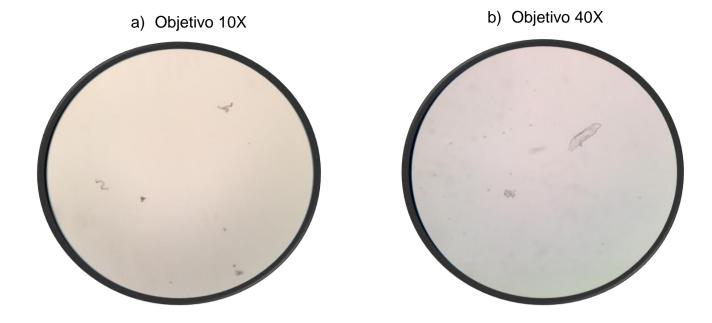
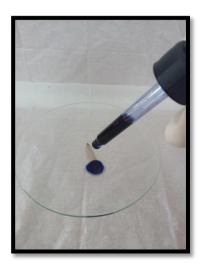


Figura 6. Observación de protozoarios en agua encharcada con objetivos: a) 10X y b) 40X.

C) Observación de insecto.

- 1. Coloque en el vidrio de reloj parte de un insecto (la parte que prefiera), agregue gotas de azul de metileno espere un minuto, con una pinza retire la muestra colocándola en un portaobjetos y cubre objetos (Fig. 7).
- 2. Observe con los objetivos 10X, 40X y 100X
- 3. Anota tus observaciones y compáralas con las que se muestran en la Fig. 8.





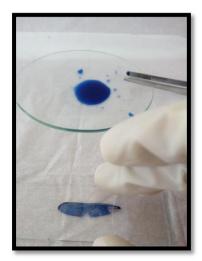


Figura 7. Procedimiento para la observación microscópica de insecto.

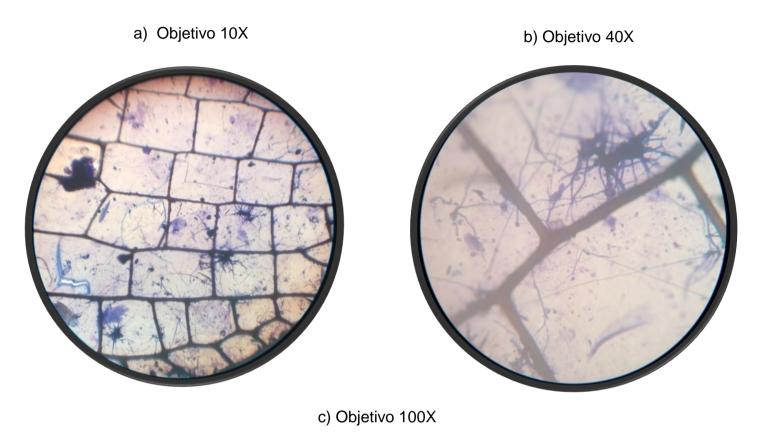




Figura 8. Observación microscópica de ala de un insecto con objetivos: a) 10X, b) 40X y c) 100X.

D) Observación de levadura.

- 1. En un tubo de ensayo coloque unos granos de levadura.
- 2. Agregue agua destilada y agite hasta tener una solución muy diluida.
- 3. Con la pipeta deposite una gota sobre el portaobjetos y ponga el cubreobjetos (Fig. 9).
- 4. Observe al microscopio con los objetivos 10X, 40X y 100X.
- 5. Anota tus observaciones y compáralas con las que se muestran en la Fig. 10.







Figura 9. Procedimiento para la observación microscópica de levaduras.

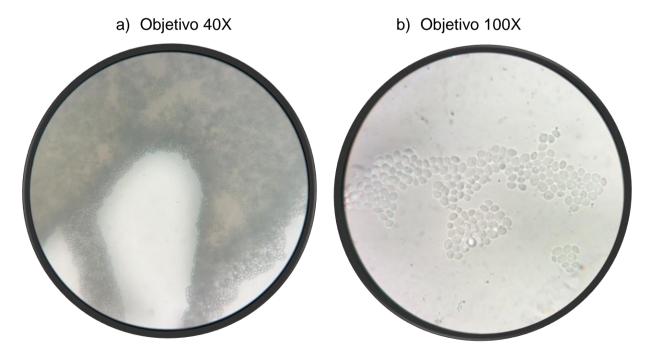


Figura 10. Observación microscópica de levaduras con objetivos: a) 40X y b) 100X.

NORMAS DE BIOSEGURIDAD

Tipos de desechos	Como desecharlos	Tipo de contenedor	
Vegetal	Directamente al contenedor	Basura orgánica	
Animal	Directamente al contenedor	Basura inorgánica	
Levadura	Lavar el material con suficiente agua y jabón		

CUESTIONARIO

- 1. ¿Qué importancia tiene realizar la iluminación de Köhler?
- 2. Menciona las diferencias que observaste al utilizar los lentes de diferente aumento:
- 3. ¿Qué cuidados hay que tener al utilizar el aceite de inmersión?
 Y ¿Por qué se utiliza aceite de inmersión con el objetivo 100X?
- 4. ¿Cuál es la diferencia entre microscopio simple y uno compuesto?

PRÁCTICA 2

"ESTRUCTURA CELULAR"

INTRODUCCIÓN

La forma y tamaño de las células varían despendiendo de las funciones específicas que desempeñan dentro de un organismo multicelular. Existen células de una enorme variedad de formas y tamaños que representan su adaptación evolutiva a distintos ambientes o a diferentes funciones especializadas (Angulo *et al.*, 2012).

Una vez que el microscopio electrónico estuvo disponible, los biólogos fueron capaces de examinar la estructura interna de una gran variedad de células, a partir de estos estudios se encontró que existen dos tipos básicos de células, que se diferencian por su tamaño y tipos de estructuras internas u organelos (Karp, 2009).

Los biólogos celulares suelen referirse a "la célula" sin especificar ninguna en particular, sin embargo las células no son todas iguales y, de hecho, pueden ser sumamente diferentes. Se estima que existen, por lo menos, 10 millones –quizás 100 millones- de especies distintas de organismos vivos en el mundo (Alberts *et al.*, 2011).

Las células presentan una gran variedad de tamaños y formas.

- Célula nerviosa del cerebelo (parte del cerebro que controla el movimiento):
 Tiene prolongaciones sumamente ramificadas.
- Paramecium: Este protozoo-una sola célula gigante- nada gracia a los cilios propulsores.
- Corte de tallo de una planta joven: La celulosa está teñida de rojo y la pectina de anaranjado.
- Bacteria pequeña Bdellovibrio bacteriovorus: utiliza un flagelo terminal para impulsarse.
- Leucocito humano: neutrófilo que se acerca y fagocita un glóbulo rojo.

NÚMERO	TEMA DEL PROGRAMA	NÚMERO DE
DE UNIDAD DEL	(Es opcional utilizar esta práctica,	HORAS PARA
PROGRAMA	como apoyo didáctico en el programa)	REALIZAR LA PRACTICA
	Introducción a la célula	
Unidad I	Tipos de células	Tres horas

OBJETIVO GENERAL

Identificar las diferentes estructuras que presentan las células, a través de un microscopio.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descubrir la forma de una célula con el material a utilizar en los objetivos 10X, 40X Y 100X.
- ❖ Distinguir la estructura celular en cada muestra analizar.

MATERIALES

Material proporcionado en el laboratorio	Sustancias	Material proporcionado por el alumno
 → Microscopio → Una lanceta → Tres Sanitas → Aceite de inmersión → Un vidrio de reloj → Tres pipetas Pasteur → Pinzas de disección → Piceta con etanol → Tres Porta objetos y Cubre objetos 	→ 2ml de azul de metileno al 2% → 2 ml de rojo de metileno al 0.1% → 2 ml de NaCl al 0.9%	 → Hisopos → Cebolla (Allium cepa) → Hoja de hierba santa (Piper auritum) → Algodón → Bisturí #15

NORMAS DE SEGURIDAD

Tipos de riesgo	Como evitarlo	Como proceder en caso de accidente
 Herirse con el uso inadecuado del bisturí Infectarse con el mal uso de lancetas o jeringa 	 Realizar adecuadamente el proceso de la práctica Pedir ayuda para usar adecuadamente la jeringa en caso de requerirla 	•Informar al asesor de práctica o recurrir al botiquín

MÉTODOS

A) Células de la saliva (epiteliales).

- 1. Con un hisopo raspe la superficie interna de la mejilla y frótelo sobre un portaobjetos perfectamente limpio, agregue una gota de azul de metileno al 0.2% (Fig. 1), coloque el cubreobjetos.
- 2. Observe al microscopio con el objetivo de 10X, 40X y 100X.
- 3. Anota tus observaciones y compáralas con las que se muestran (Fig. 2).



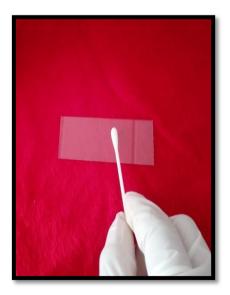


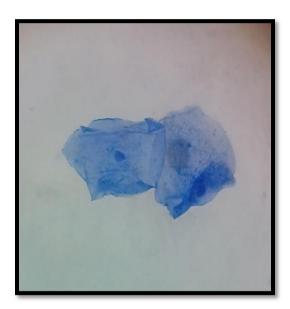


Figura 1. Procedimiento para la observación de la mucosa bucal.

a) Objetivo 10X







c) Objetivo 100X

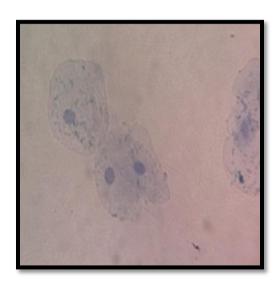


Figura 2. Observación microscópica de la mucosa bucal con objetivos: a) 10X, b) 40X y c) 100X.

B) Eritrocitos

1. Limpie con un algodón con alcohol la yema de alguno de sus dedos y píquelo con una lanceta estéril (en caso de usar lancetas, utilice jeringa), coloque una gota de sangre en un vidrio de reloj (Fig. 3) que contenga 2 ml de solución de NaCl al 0.9%. Coloque una gota de esta suspensión en un portaobjetos, coloque un cubreobjetos y observe al microscopio con los objetivos de 10X y 40X (Fig. 4).



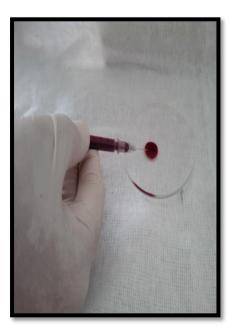




Figura 3. Procedimiento para la observación de eritrocitos (glóbulos rojos).

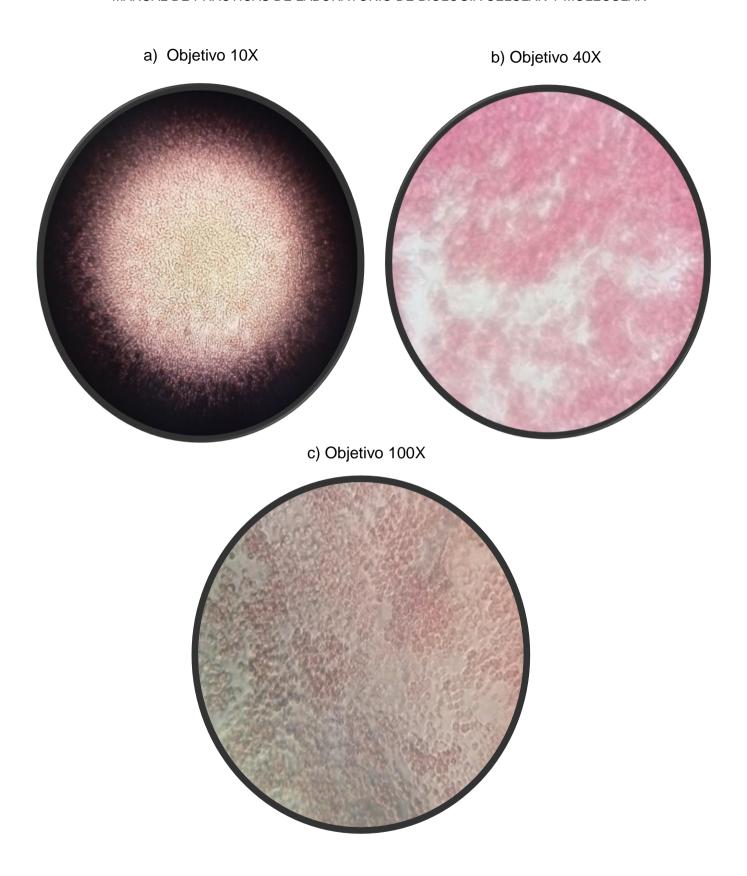


Figura 4. Observación microscópica de eritrocitos con objetivos: a) 10X, b) 40X y c) 100X.

C) Célula epidermis de cebolla (Allium cepa)

- 1.1 Desprenda un fragmento de epidermis de cebolla *(Allium cepa)*, deposítelo en el portaobjetos cuidando que quede completamente extendido, agregue una gota de azul de metileno al 0.2% (Fig. 5), coloque el cubreobjetos y observe con el objetivo de 10X y 40X (Fig. 6).
- 1.2 Evite que su muestra se seque agregando una gota de la solución correspondiente por los bordes del cubreobjetos.

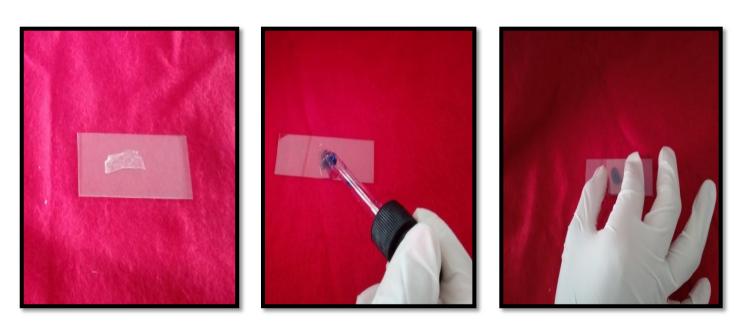


Figura 5. Procedimiento para la observación de epidermis de la cebolla (Allium cepa).

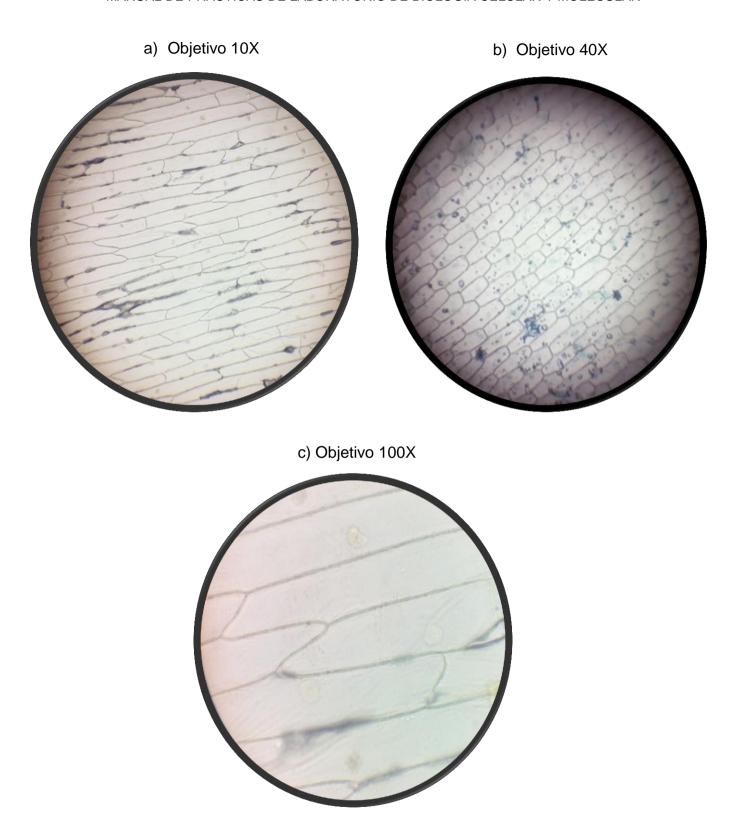


Figura 6. Observación microscópica de células epidérmicas de la cebolla *(Allium cepa)* con objetivos: a) 10X, b) 40X y c) 100X.

- 1.3 Realice un corte transversal en la hoja de hierba santa (*Piper auritum*), coloque parte de la epidermis en un porta objeto agregue dos gotas de rojo de metilo cubra con el cubreobjetos (Fig. 7) y observe con los objetivos de 10X y 40X (Fig. 8)
- 1.4 Evite que su muestra se seque agregando una gota de la solución correspondiente por los bordes del cubreobjetos.

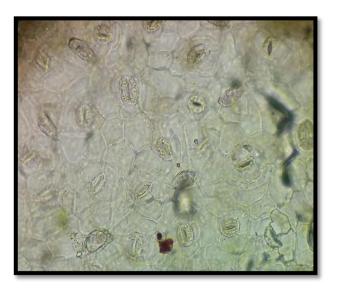




Figura 7. Procedimiento para la observación de epidermis en la hoja de hierba santa.

a) Objetivo 10X





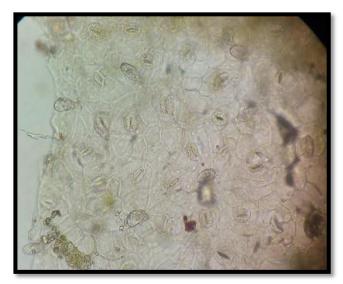


Figura 8. Observación microscópica de células epidérmicas en la hoja de hierba santa (*Piper auritum*) con objetivos: a) 10X, b) 40X.

NORMAS DE BIOSEGURIDAD

Tipos de desechos	Como desecharlos	Tipo de contenedor
Vegetal	Directamente al contenedor	Basura orgánica
Hisopos	Directamente al contenedor	Basura inorgánica
Sangre con Cloruro de Sodio	Lavar el material con suficiente agua y jabón	

CUESTIONARIO

- 1. Analice y explique a que se debe los diferentes tipos de estructura.
- 2. Discuta si cree que las soluciones utilizadas en la práctica sea un de factores en modificar la estructura celular.
- 3. Investigue y mencione cinco ejemplos de células y esquematice aparte de lo que observo que otras células cambian su forma.

4. Esquematice las células de las muestras observadas

OBSERVACIONES CON MICROSCOPIO EN DIFRENTES OBJETIVOS			
TIPO CELULAR	10X	40X	100X
Células de la saliva (epiteliales)			
Eritrocitos			
Epidermis de la cebolla			
Hoja de hierba Santa			

PRÁCTICA 3

"DIVERSIDAD CEULAR: PROCARIOTAS – EUCARIOTAS Y UNICELULARES – PLURICELULARES"

INTRODUCCIÓN

Todos los organismos vivos están constituidos por esa unidad funcional "llamada célula, que está formada por geles formados por proteínas, carbohidratos, grasas, ácidos nucleicos y elementos inorgánicos, de acuerdo con la distribución de su material nuclear los organismos celulares, las células pueden ser de distintos tipos; además los seres vivos pueden estar formados de una o más células (Karp, 2009).

Las células se clasifican atendiendo al grado de complejidad que presentan en su estructura. De este modo se distinguen:

- ➤ Célula procariota: Se caracterizan por la escases de membranas, los seres vivos que tienen células procariontes se denominan *procariotas*, comprendiendo las bacterias y las *cianofíceas* o algas verde-azuladas, estas contienen ribosomas y algunos sistemas de membranas que no forman verdaderos orgánulos.
- ➤ Célula eucariota: Son más grandes y más complejas que las bacterias y las arqueas, algunas tienen vida independiente como organismos unicelulares como las amebas y las levaduras; otras, forman agrupaciones pluricelulares.
- Unicelular: Está representada, tanto en el mundo animal como en el vegetal, por seres con cuerpo formado por una sola célula, esta única célula tiene a su cargo todas las funciones vitales (digestivas, contráctiles, sensoriales, locomotrices, etc.), presenta una complejidad estructural superior a la de las células que forman los organismos pluricelulares, Los seres unicelulares son los seres de organización más sencilla. Están formados por una sola célula. Son microscópicos y pueden ser procariotas (bacterias) o eucariotas (algas, protozoos y algunos hongos).
- Pluricelular: Los seres pluricelulares no son el resultado de una reunión de células dispersas, sino que todas las que forman parte de su cuerpo derivan de una única célula inicial, que por sucesivas divisiones ha originado otras que

- a su vez, multiplicándose y diferenciándose, acaban formando todas las que integran el organismo.
- ➤ Los organismos pluricelulares, como los animales, las plantas y los hongos, están formados por muchas células. Además de poder alcanzar un tamaño mayor que los seres unicelulares, los organismos pluricelulares tienen la ventaja de poder dividir el trabajo entre sus células (Paniagua *et al.*, 2007).

OBJETIVO GENERAL

Distinguir los diversos tipos celulares a través del microscopio, para establecer diferencias, similitudes entre células animales y vegetales, eucariotas-procariotas y unicelulares-pluricelulares.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Diferenciar entre células animales y vegetales.
- Identificar las características principales de células vegetales y animales.
- Establecer diferencias y similitudes entre los tipos de células.

NÚMERO	TEMA DEL PROGRAMA	NÚMERO DE
DE UNIDAD DEL	(Es opcional utilizar esta práctica,	HORAS PARA
PROGRAMA	como apoyo didáctico en el programa)	REALIZAR LA PRACTICA
Unidad I	Tipos de célula procariotas y eucariotas	Tres horas

MATERIALES

Material proporcionado en el laboratorio	Sustancias	Material proporcionado por el alumno
→Microscopio →Agua destilada →Estuche de disección →Cuatro porta y Cubreobjetos → Sanitas	→Azul de metileno →Lugol	→Tomate (Solanum lycopersicum) →Hoja de bisturí # 15 →Hisopos estériles →Hoja de Elodea canadensis o Egeria densa

NORMAS DE SEGURIDAD

Tipos de riesgo	Como evitarlo	Como proceder en caso de accidente
•Herirse con el uso inadecuado del bisturí	•Realizar adecuadamente el proceso de la práctica	•Informar al asesor de práctica o recurrir al botiquín

MÉTODOS

A) CÉLULA VEGETAL

Observación de células de tomate (Solanum lycopersicum)

- 1. Utilizando una pinza y una hoja de bisturí separe la epidermis interior del tomate y pulpa de tomate.
- 2. Sobre un portaobjetos, agregue una gota de Lugol. Tome el fragmento de la epidermis del tomate y colóquelo sobre la sustancia, asegurándose de que la parte interna de la epidermis sea la que entre en contacto con el Lugol. (Fig.1) En el caso de la pulpa, colocar directamente sobre la sustancia.
- 3. Coloque un cubreobjetos y observe en objetivos a 10X y 40X (Fig. 2).
- 4. Dibuje la imagen que observó en el microscopio e identifique la pared celular, membrana plasmática, citoplasma, núcleo y nucléolo.
- 5. Haga una descripción detallada de la imagen que observó.







Figura 1. Procedimiento para la observación de epidermis y pulpa de tomate (*Solanum lycopersicum*).

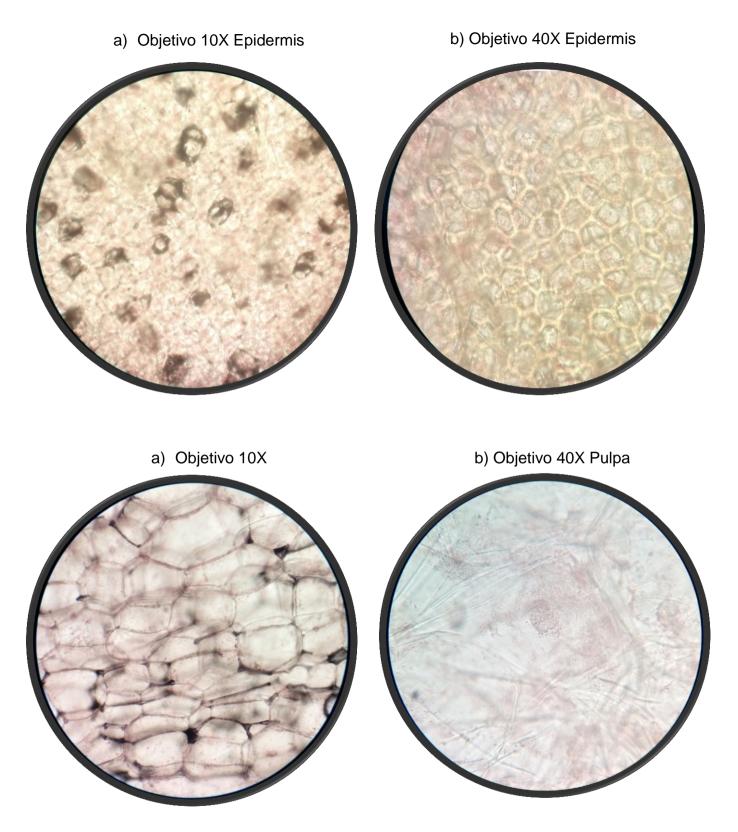


Figura 2. Observación microscópica de epidermis y pulpa de tomate *(Solanum lycopersicum)* con objetivos: a) 10X y b) 40X.

Observación de cloroplastos en células de Egeria densa o Elodea canadensis

- 1. Tome una hoja de Egeria densa o Elodea canadensis con una pinza.
- 2. Coloque la hoja en un portaobjetos, agregue una gota de agua destilada y cúbrala con un cubreobjetos (Flg.3).
- 3. Observe en objetivos a 10X y 40X (Fig.4).
- 4. Identifique a la célula, pared celular y los cloroplastos.
- 5. Observe cuidadosamente y describa lo que observe.
- 6. Dibuje la imagen que observó con detalles de estructuras internas.



Figura 3. Procedimiento para la observación de cloroplastos en hoja *Egeria densa*.

a) Objetivo 10X b) Objetivo 40X

Figura 4. Observación microscópica de cloroplastos con objetivos: a) 10X y b) 40X.

B) CÉLULA ANIMAL

Observación de células epiteliales

- 1. Con un hisopo estéril, raspe cuidadosamente una muestra de su mucosa bucal para obtener células epiteliales.
- 2. Frote el hisopo en un portaobjetos y agregue una gota de azul de metileno, Coloque el cubreobjetos (Fig.5).
- 3. Observe en objetivos 10X y 40X (Fig. 6) dibuje las células y descríbalas.

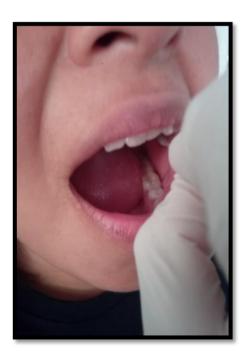






Figura 5. Procedimiento para la observación de células epiteliales.

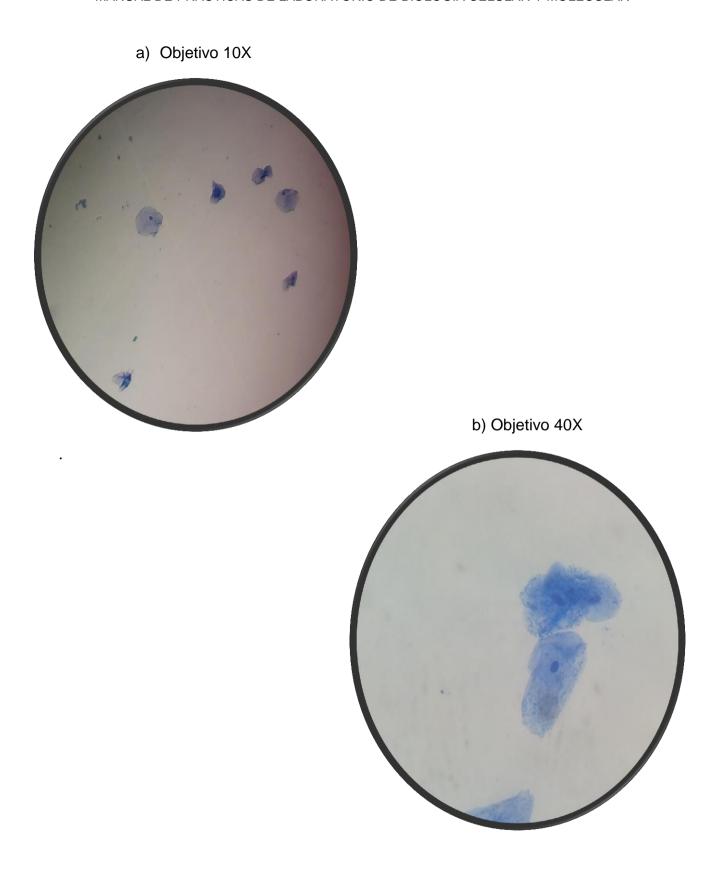


Figura 6. Observación microscópica de células epiteliales con objetivos: a) 10X y b) 40X.

NORMAS DE BIOSEGURIDAD

Tipos de desechos	Como desecharlos	Tipo de contenedor
Vegetal	Directamente al contenedor	Basura orgánica
Hisopos	Directamente al contenedor	Basura inorgánica

CUESTIONARIO

- 1. Elabore un cuadro que indique el nombre y la función de las estructuras celulares presentes en células eucariotas.
- 2. ¿Cuáles son las diferencias entre células animales y células vegetales?
- 3. Esquematice un cloroplasto y sus componentes principales.
- 4. Elabore un esquema indicando ¿Qué fue lo que observo en la epidermis y pulpa del tomate?
- 5. ¿Por qué consideras la importancia del uso de Lugol en esta práctica?

PRÁCTICA 4

"BACTERIAS"

INTRODUCCIÓN

Las primeras bacterias fueron observadas por el holandés Antón Van Leeuwenhoek en 1687 usando un microscopio de lente simple diseñado por el mismo, las denomino *animálculos*. El nombre bacteria fue introducido más tarde en 1828 por Ehrenberg deriva del griego $\beta \alpha \kappa \tau \eta \rho i o v \alpha$ bacterion, que significa bastón pequeño, (el termino bacteria se aplicó tradicionalmente a todos los microorganismos procariotas).

Las bacterias son células pequeñas, miden de 1.1- 1.5 µm de grosor y 2.0 - 6.0 µm de largo. Las formas más comunes son las formas cilíndricas llamadas bacilos, los cuales pueden estar aislados, de dos en dos o formando cadenas. Las formas esféricas son llamados cocos y pueden estar aislados, unidos de dos en dos, formando cadenas, racimos y cubos. Algunas bacterias tienen forma helicoidal, siempre están aisladas, es decir, no se asocian entre ellas. Las que son rígidas se llaman espirilos y las que son flexibles se llaman espiroquetas. Cuando son muy cortos se llaman vibriones (Angulo *et al.*, 2012).

El estudio de la estructura de las bacterias revela que ellas presentan una *membrana* plasmática que rodea su citoplasma y entorno de la cual se encuentra una capa, la pared bacteriana (Junqueria et al., 2003).

En el mundo de las bacterias, el foco de la biología molecular recayó sobre todo en una especie: *Escherichia coli o E. coli*, esta pequeña célula bacteriana bastoniforme suele habitar en el intestino de los seres humanos y de otros vertebrados, pero puede crecer con facilidad en un medio nutritivo simple en un frasco de cultivo *E. coli* sobrelleva bien las condiciones químicas variables de su medio y se reproduce con rapidez. (Alberts *et al.*, 2011).

NÚMERO	TEMA DEL PROGRAMA	NÚMERO DE
DE UNIDAD DEL	(Es opcional utilizar esta práctica,	HORAS PARA
PROGRAMA	como apoyo didáctico en el programa)	REALIZAR LA PRACTICA
Unidad I	Tipos do cálulo proporiotos y quagriotos	Dos horas
Unidad I	Tipos de célula procariotas y eucariotas	Dos notas

OBJETIVO GENERAL

Saber identificar los microorganismos que se encuentran en nuestro entorno.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descubrir que tipos de bacteria nos encontramos rodeados.
- ❖ Distinguir el tipo de microorganismos que se encentran presentes.

MATERIALES

Material proporcionado en el laboratorio	Sustancias	Material proporcionado por el alumno
 → Caja Petri → Un mechero bunsen → Un matraz Erlen-Meyer de 250 ml. 		 → Grenetina o gelatina sin sabor → Un cubo de caldo de pollo → Encendedor o cerillos

NORMAS DE SEGURIDAD

Tipos de riesgo	Como evitarlo	Como proceder en caso de accidente
•	•Usar adecuadamente los materiales de laboratorio	•Usar el botiquín de primeros auxilios

MÉTODOS

Cultivando bacterias

- 1. En un matraz Erlen-Meyer, agrega 250 ml de agua, disuelve un cubo de caldo de pollo y un sobre de gelatina (grenetina). Calienta y déjalo hervir durante 10min.
- 2. Coloca la mezcla en una caja Petri; deja que se enfrié y solidifique la preparación (Fig. 1).
- 3. Ensúciate las manos o sin lavártelas, toca con la yema de tus dedos la gelatina ya solidificada.
- 4. Tapa la caja Petri y déjalo en un lugar cálido durante 24 o 36 horas.
- 5. Pasado este tiempo, observa si hubo crecimiento, en las cajas (Fig. 2).
- 6. Una vez tenido el crecimiento de bacterias, tomar un poco de muestra colocándolo en una porta objetos, observar en los objetivos 10X y 40X.

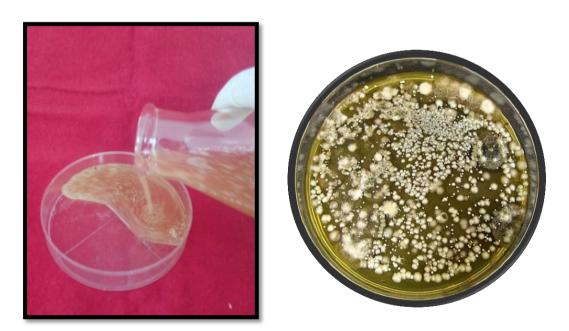


Figura 1. Procedimiento para el cultivo de bacterias y Crecimiento de bacterias después de 24 horas.

NORMAS DE BIOSEGURIDAD

Tipos de desechos	Como desecharlos	Tipo de contenedor
Gelatina	Directamente al contenedor	Basura orgánica

CUESTIONARIO

- 1. Si logro cultivar bacterias con éxitos, ¿A qué Dominio pertenecen las bacterias que se cultivó?
- 2. Investigue los siguientes términos y explique por qué las bacterias son consideradas de esa manera.
 - Aerobias
 - Anaerobias
 - Anaerobias facultativas
- 3. Considera que virus y bacterias es lo mismo, explique ¿Por qué?

4. Mencione cinco enfermedades que han sido provocadas por bacterias

Enfermedad	Agente	Contagio	Síntomas

PRÁCTICA 5

"PROCESO DE TRANPORTE DE LA MEMBRANA"

INTRODUCCIÓN

Las membranas celulares se comportan como membranas semipermeables; es decir, el agua se mueve con mayor facilidad que la mayoría de los solutos y se desplaza hacia donde éstos están más concentrados. Este proceso se llama ósmosis. El agua tiende a entrar en las células, donde la concentración de iones y pequeñas moléculas es mayor que en el medio externo (Para compensar esa entrada de agua, las células han desarrollado diferentes estrategias, como la presencia de paredes celulares rígidas (bacterias, células vegetales), de orgánulos activos en la expulsión de agua (vacuolas pulsátiles) o de bombas de membrana). Por otra parte, además del agua, muchas otras moléculas pueden atravesar la membrana plasmática (Paniagua *et al.*, 2007).

La membrana plasmática también llamada plasmalema, delimita el territorio de la célula y controla su contenido químico, es decir, la célula está rodeada por una membrana que representa el límite entre el medio extracelular y el intracelular; a través de ella se transmiten mensajes que permiten a las células realizar numerosas funciones.

Las funciones de la membrana plasmática son:

- Regula el paso de sustancias hacia el interior de la célula y viceversa.
 Permite el paso de ciertas sustancias e impide el paso de otras, actuando como barrera con permeabilidad selectiva.
- Es una estructura continua que rodea a la célula. Por un lado, está en contacto con el citoplasma (medio interno) y por el otro, con el medio extracelular que representa el medio externo.
- Contiene receptores específicos que permiten a la célula interaccionar con mensajeros químicos y emitir la respuesta adecuada y, por consiguiente,

proporciona el medio apropiado para el funcionamiento de las proteínas de membrana.

 Aísla y protege a la célula del ambiente externo, confiriéndole su individualidad, al separarla del medio externo (Angulo et al., 2012).

La membrana plasmática de las células vegetales y animales es muy permeable al agua, siendo pocas las sustancias que la atraviesan con igual facilidad, esto ocasiona que cuando exista entrada y salida de ella, la célula también se altere en su forma, ya que ésta, en parte está determinada por el estado de hidratación.

- Crenación: Este proceso ocurre cuando la célula animal está expuesta a una solución de tipo hipertónica (solución con alta concentración de soluto), esto provoca encogimiento de la célula al perder agua, modificando así su morfología.
- <u>Hemolisis:</u> Ocurre cuando la célula animal, se ve expuesta a un medio hipotónico (medio con baja concentración de soluto), absorbiendo agua y provocando su estallamiento (rompe a la célula).
- Plasmólisis: Se denomina así al proceso por el cual las células vegetales se ven expuestas a medios hipertónicos, perdiendo agua, solo que la pared celular es más rígida, la deformación es menos brusca que en la célula animal.
- Froceso por el cual la célula vegetal está expuesta a un medio hipotónico, absorbe agua y estalla (Vázquez et al., 2000).

NÚMERO	TEMA DEL PROGRAMA	NÚMERO DE
DE UNIDAD DEL	(Es opcional utilizar esta práctica,	HORAS PARA
PROGRAMA	como apoyo en el programa)	REALIZAR LA PRACTICA
Unidad II	Membrana celular	Tres horas
Officad II	Wombrana coldial	1100 110100

OBJETIVO GENERAL

Distinguir los fenómenos de hipotonía, isotonia e hipertonía en células animales y vegetales.

OBJETIVOS ESPECÍFICO

- ❖ Identificar y describir el proceso de isotonia en células animales y vegetales.
- Analizar y diferenciar los procesos de turgencia, hemólisis y plasmólisis, en células animales y vegetales.
- Comparar el mecanismo de crenación (célula animal) con el proceso de plasmólisis (células vegetales).

MATERIALES

Material proporcionado en el laboratorio	Sustancias	Material proporcionado por el alumno
 → Microscopio → Seis portaobjetos y cubreobjetos → Pizeta con etanol → Agua destilada → Pipeta Pasteur 	 → Solución NaCl al 0.6% → Solución de NaCl al 0.9% → Solución de NaCl al 1.2% → Solución de NaCl al 10% 	→ Hoja <i>Elodea canadensis</i> → Lancetas o jeringa

NORMAS DE SEGURIDAD

Tipos de riesgo	Como evitarlo	Como proceder en caso de accidente
•Herirse con el uso inadecuado del bisturí	Utilizar lancetas nuevas	Consultar al asesor de práctica

MÉTODO

1. Células sanguíneas

- Empleando una lanceta estéril (o con una jeringa) obtenga una gota de sangre, colóquela en un portaobjetos limpio y seco, ponga el cubreobjetos (Fig. 1). Observe con loa objetivos 10X y 40X. Compare sus resultados con la Fig. 2.
- No realice las preparaciones al mismo tiempo. Para obtener resultados satisfactorios es muy importante que concluya con la observación de una muestra antes de preparar la siguiente.

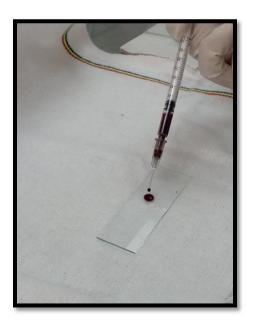




Figura 1. Procedimiento para la observación de los eritrocitos.

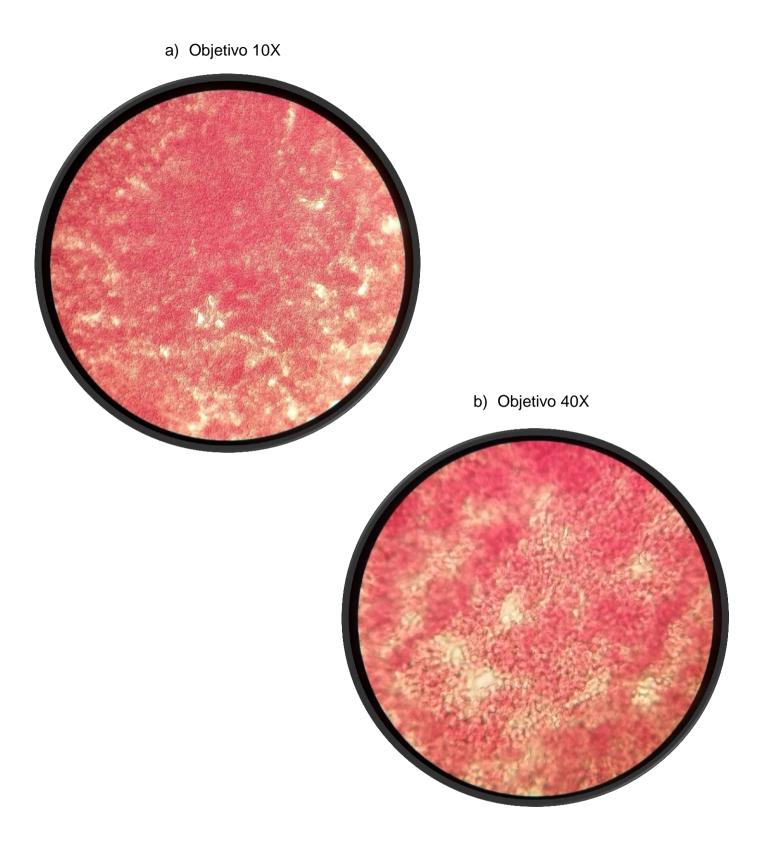


Figura 2. Observación microscópica de eritrocitos con objetivos: a) 10X y b) 40X.

1.1 Repita el paso 1 pero ahora agregando a su muestra de sangre 2 gotas de agua destilada (Fig. 3) Observe con los objetivos 10X y 40X compruebe sus resultados con la Fig. 4.

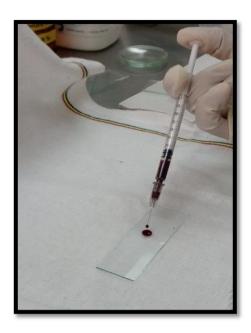


Figura 3. Procedimiento para la observación de los eritrocitos con agua destilada.

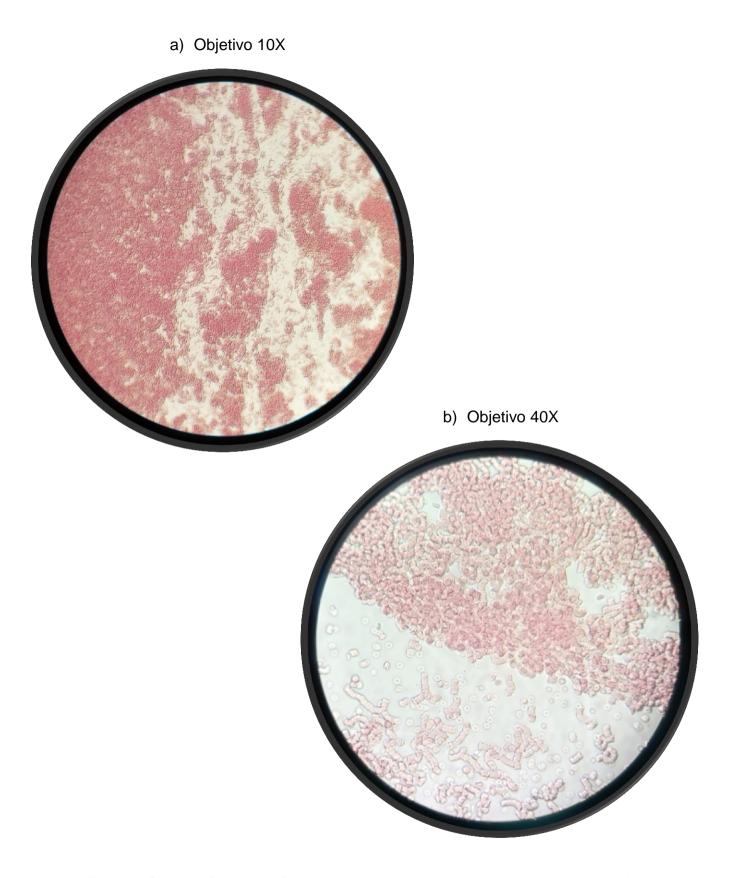


Figura 4. Observación microscópica de eritrocitos con agua destilada en objetivos: a) 10X y b) 40X.

1.2 Repita el paso 1, adicione a la muestra 2 gotas de las siguientes solución NaCl al 0.6%, (Fig. 5) Observe con los objetivos 10X y 40X compruebe resultados con la Fig. 6.



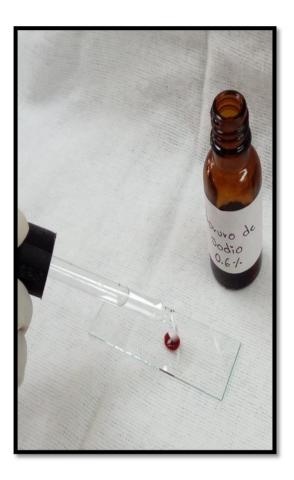


Figura 5. Procedimiento para la observación de los eritrocitos con las siguientes solución NaCl al 0.6%.

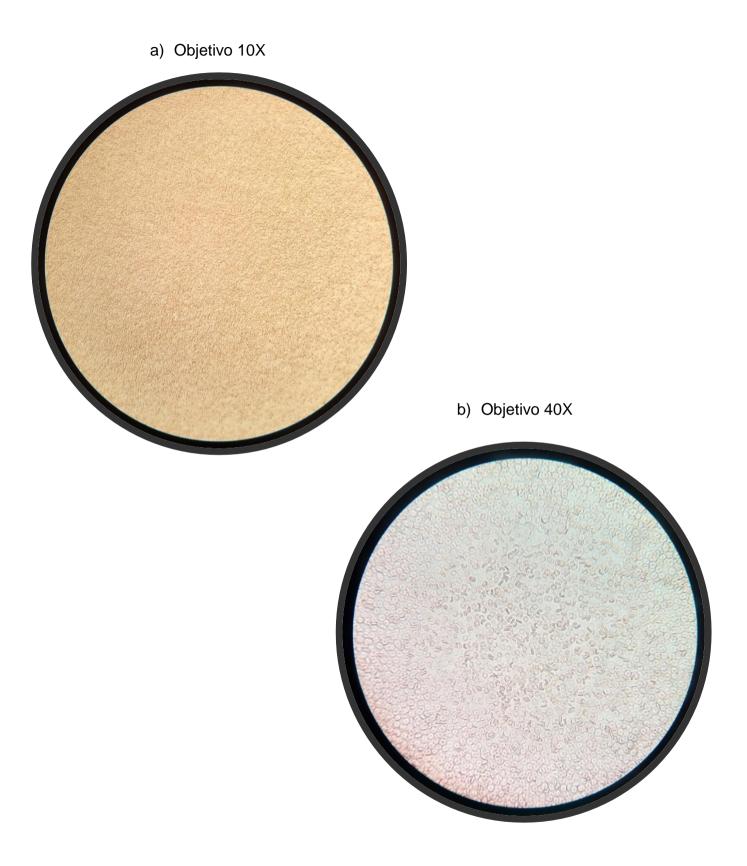


Figura 6. Observación microscópica de eritrocitos con la siguiente solución NaCl 0.6% con los objetivos: a) 10X y b) 40X.

1.3 Repita el paso 1, adicione a la muestra 2 gotas de las siguientes solución NaCl al 0.9%, (Fig. 7) Observe con los objetivos 10X y 40X y compruebe resultados con la Fig. 8.





Figura 7. Procedimiento para la observación de los eritrocitos con las siguientes solución NaCl al 0.9%.

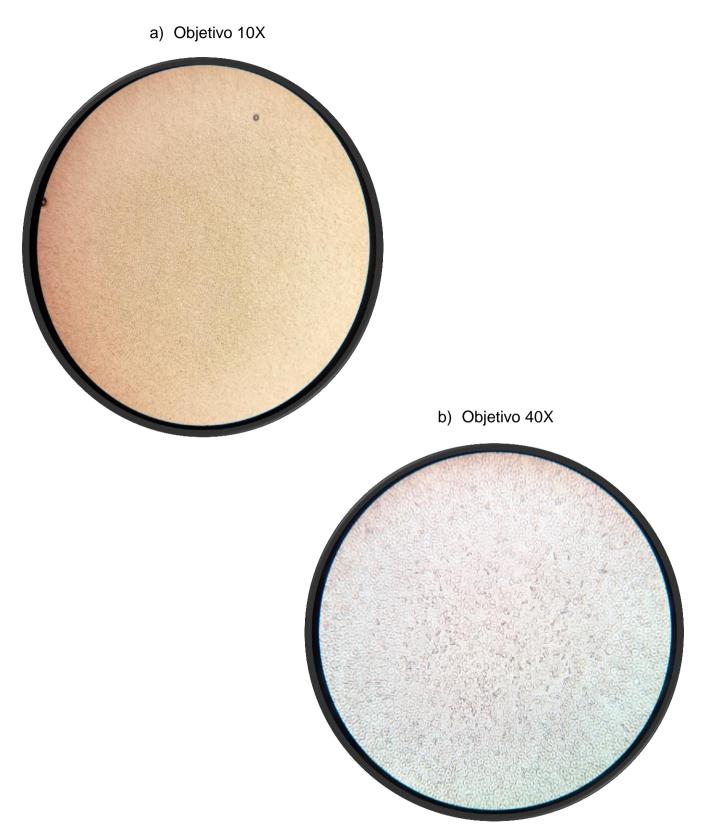


Figura 8. Observación microscópica de los eritrocitos con las siguientes solución NaCl al 0.9% con los objetivos: a) 10X y b) 40X.

1.4 Repita el paso 1, adicione a la muestra 2 gotas de las siguientes solución NaCl al 1.2 %, (Fig. 9) observe en los objetivos 10X y 40X compruebe resultados con la Fig.10.

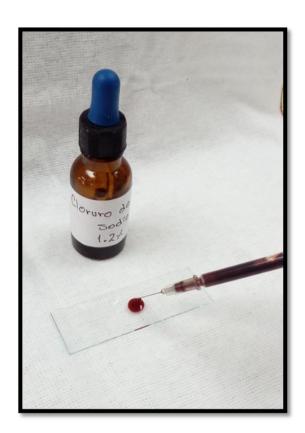




Figura 9. Procedimiento para la observación de los eritrocitos con las siguientes solución NaCl al 1.2%.

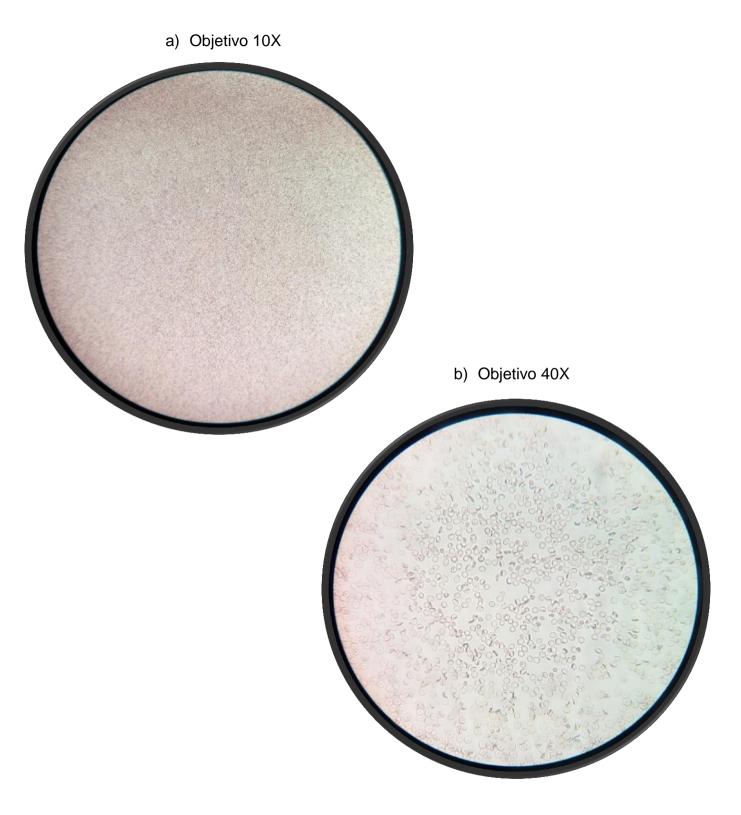


Figura 10. Observación microscópica de los eritrocitos con las siguientes solución NaCl al 1.2% con los objetivos: a) 10X y b) 40X.

1.5 Repita el paso 1, adicione a la muestra 2 gotas de las siguientes solución NaCl al 1.2 %, (Fig. 11) Observe en los objetivos 10X y 40X compruebe resultados con la Fig.12.

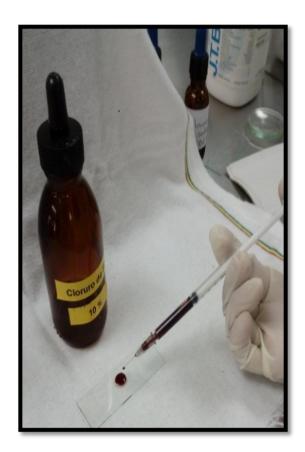




Figura 11. Procedimiento para la observación de los eritrocitos con las siguientes solución NaCl al 10%.



Figura 12. Observación microscópica de los eritrocitos con la siguiente solución NaCl al 10X% con los objetivos: a) 10X y b) 40X.

2. Células vegetales

- 1. Seleccione una hoja de *Elodea canadesnsis* en buen estado y colóquela sobre un vidrio de reloj limpio y seco, con el envés de la hoja hacia arriba. Adicione gotas de agua de su medio, suficientes para cubrir la hoja totalmente, ponga con cuidado en un portaobjetos y cubreobjetos. Realice las observaciones correspondientes al microscopio.
- 2. Repita el paso 1, pero ahora agregando dos gotas de agua destilada (Fig. 13) Observe con los objetivos 10X y 40X.







Figura 13. Procedimiento para la observación de la hoja de *Elodea canadensis* con agua destilada.

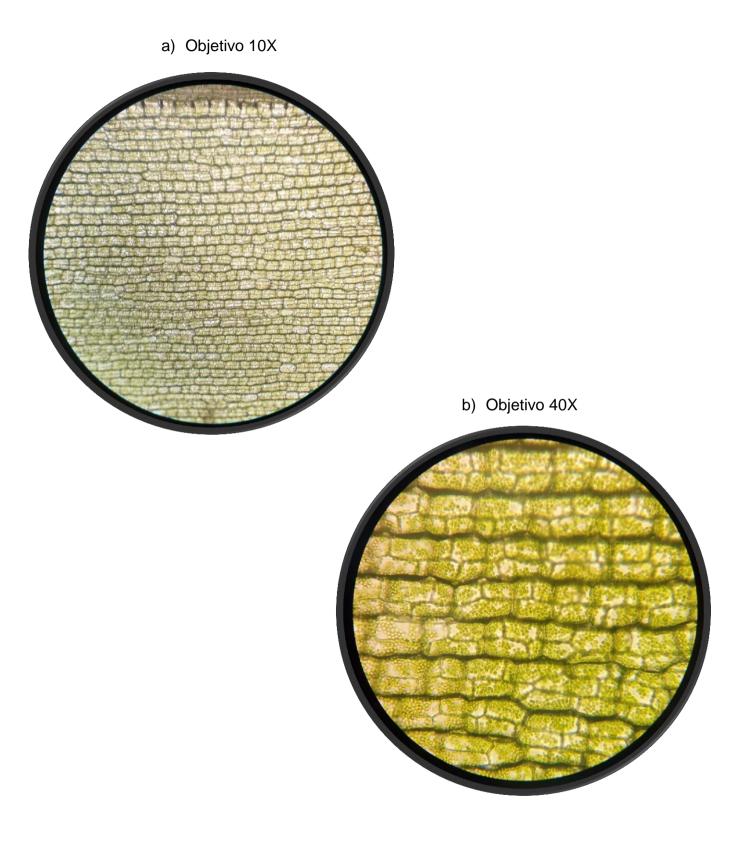


Figura 13. Observación microscópica de la hoja de *Elodea canadensis* con agua destilada siguiente con los objetivos: a) 10X y b) 40X.

2.2 Repita el paso 1 y adicione a la muestra en lugar de agua, agregue gotas de NaCl al 0.6% (Fig.14) Observe con los objetivos 10X y 40X Fig.15.







Figura 14. Procedimiento para la observación de la hoja de *Elodea canadensis* con la solución NaCl 0.6%.

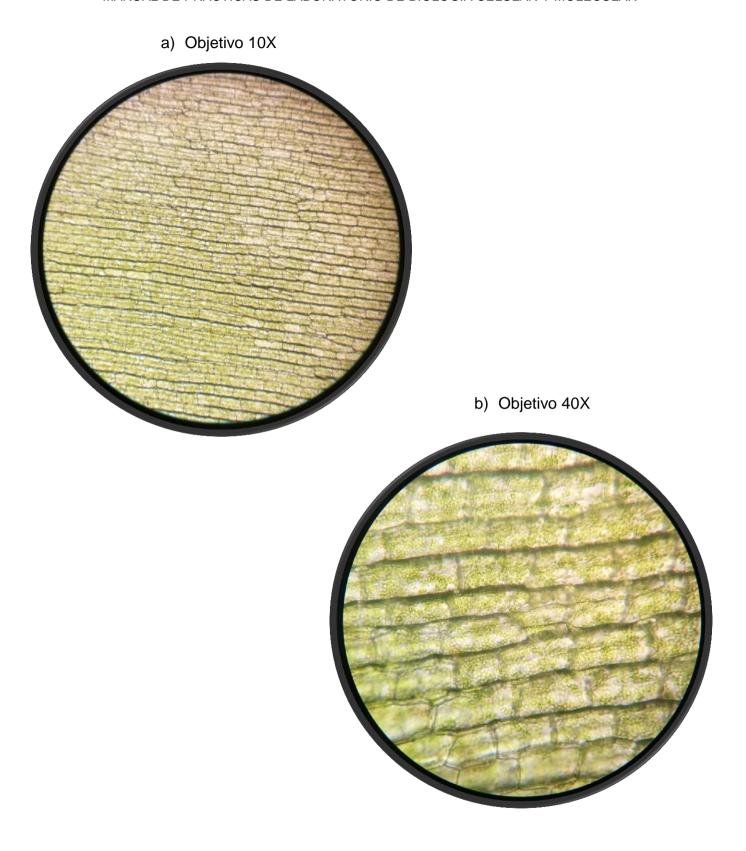


Figura 15. Observación microscópica de la hoja de *Elodea Canadensis* con la solución NaCl al 0.6% con los objetivos: a) 10X y b) 40X.

2.3 Repita el paso 1 y adicione a la muestra en lugar de agua, agregue gotas de NaCl al 0.9% (Fig.16) Observe con los objetivos 10X y 40X Fig.17.





Figura 16. Procedimiento para la observación de la hoja de *Elodea Canadensis* con la solución NaCl 0.9%.

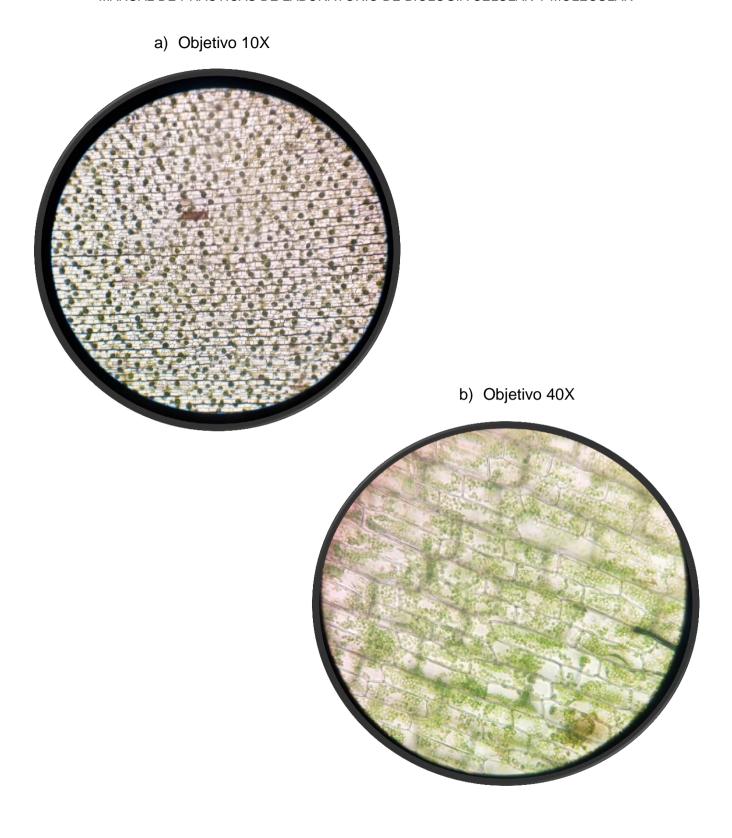


Figura 17. Observación microscópica de la hoja de *Elodea canadensis* con la solución NaCl al 0.9% con los objetivos: a) 10X y b) 40X.

2.4 Repita el paso 1 y adicione a la muestra en lugar de agua, agregue gotas de NaCl al 1.2% (Fig.18) Observe con los objetivos 10X y 40X Fig.19.



Figura 18. Procedimiento para la observación de la hoja de *Elodea canadensis* con la solución NaCl 1.2%.

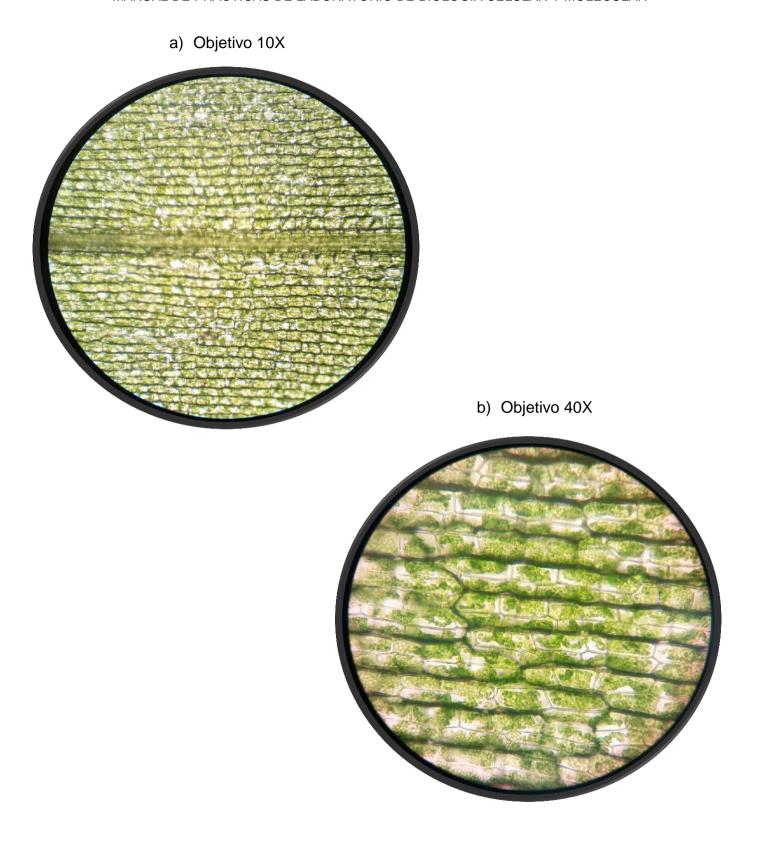


Figura 19. Observación microscópica de la hoja de *Elodea canadensis* con la solución NaCl al 1.2% con los objetivos: a) 10X y b) 40X.

2.5 Repita el paso 1 y adicione a la muestra en lugar de agua, agregue gotas de NaCl al 10% (Fig.20) Observe con los objetivos 10X y 40X Fig.21.







Figura 20. Procedimiento para la observación de la hoja de *Elodea canadesnsis* con la solución NaCl 10%.

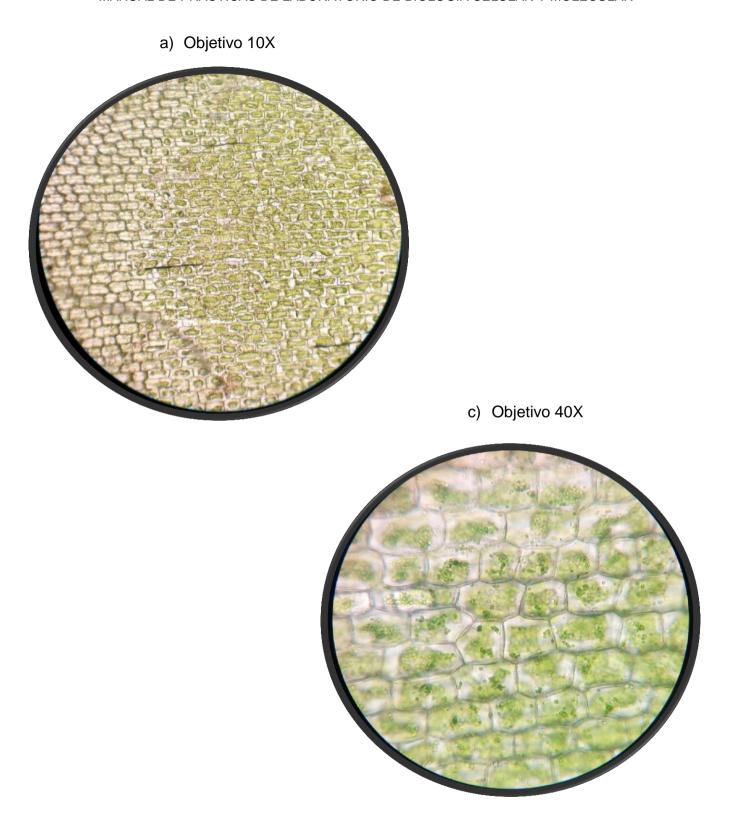


Figura 21. Observación microscópica de la hoja de *Elodea canadensis* con la solución NaCl al 10% con los objetivos: a) 10X y b) 40X.

NORMAS DE BIOSEGURIDAD

Tipos de desechos	Como desecharlos	Tipo de contenedor
Vegetal	Directamente al contenedor	Basura orgánica
Eritrocitos con NaCl	Lavar el material con suficiente agua y jabón	

CUESTIONARIO

- Mencione las diferencias observadas entre el comportamiento de la célula vegetal y animal. Explique.
- 2. Describe lo que sucede en una célula cuando se coloca en un medio: a) hipotónico, b) isotónico, c) hipertónico.
- 3. Explique en qué consisten los fenómenos de ósmosis y de difusión.

PRÁCTICA 6

"LISOSOMAS"

INTRODUCCIÓN

Los lisosomas son corpúsculos esféricos, que miden aproximadamente 0.5 nm., están delimitados por una unidad de membrana y contienen enzimas hidrolíticas cuya actividad máxima se produce en *pH* ácido, las enzimas varían con el tipo celular considerado; la fosfatasa ácida es la enzima que más comúnmente se encuentra y por ello se la utiliza para identificar lisosomas. (Junqueria *et al.*, 2003).

Los lisosomas son los organelos digestivos de una célula animal, un lisosoma típico contiene cerca de 50 enzimas hidrofílicas diferentes que se producen en el retículo endoplásmatico rugoso y se dirigen a estos organelos. Considerada en conjunto, las enzimas lisosómicas pueden hidrolizar todo tipo de macromoléculas biológicas (Karp, 2009).

Sin lisosomas, una célula no podría tener enzimas hidrolíticas activas pues se digeriría a sí misma. La membrana del lisosoma contiene proteínas de transporte que permiten que los productos finales de la digestión de las macromoléculas como los aminoácidos, los azúcares y los nucleótidos, sean transferidos hacia el citosol, desde donde la célula pueda excretarlos o utilizarlos.

Lisosomas primarios: Se forman mediante la gemación a partir del aparato de Golgi. Sus enzimas hidrolíticas se sintetizan en el retículo endoplásmico rugoso (RER). A medida que estas enzimas pasan por la luz del RER, se agregan azúcares a cada molécula, identificándola como unidad para un lisosoma. Esta señal permite al aparato de Golgi clasificar la enzima para enviarla a los lisosomas en lugar de ser exportada al exterior de la célula. Las bacterias (o los restos celulares) ingeridos por medio de fagocitosis son incluidas en una vesícula formada a partir de la membrana plasmática. Uno o más lisosomas primarios se fusionan con la vesícula que contiene el material ingerido formando una vesícula más grande denominada

Lisosoma secundario: Las potentes enzimas del lisosoma secundario entran en contacto con las moléculas ingeridas y las degradan en sus componentes. (Angulo *et al.*, 2012).

NÚMERO	TEMA DEL PROGRAMA	NÚMERO DE
DE UNIDAD	(Es opcional utilizar esta práctica,	HORAS PARA
DEL	como apoyo didáctico en el programa)	REALIZAR LA
PROGRAMA		PRACTICA
	Características estructurales y funcionales de	
Unidad III	los organelos celulares	Dos horas

OBJETIVO GENERAL

Analizar la función de los lisosomas de manera análoga en ciliados.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Identificar la función que realizan los lisosomas en las células.
- * Reconocer su morfología de los lisosomas en los ciliados.

MATERIALES

Material proporcionado en el laboratorio	Sustancias	Material proporcionado por el alumno
 → Microscopio → Porta y cubreobjetos → Pipeta Pasteur → Mechero de alcohol → 6 tubos de ensaye 15 x 150 mm → Gradilla → Pinzas → Tela de asbesto → Trípode → Recipiente para baño maría → Agua destilada → Matraz Erlen-Meyer → Vaso precipitado de 100ml 	→ Rojo Congo al 0.4%	 → Termómetro → Hoja de papel aluminio → Cultivo de levaduras de pan. (30 ml.) → Cultivo de ciliados (Paramecium spp.)

NORMAS DE SEGURIDAD

Tipos de riesgo	Como evitarlo	Como proceder en caso de accidente
	•Usar adecuadamente el Mechero de Bunsen	•Usar el botiquín de primeros auxilios

MÉTODOS

Antes de realizar la práctica realice los siguientes cultivos:

CULTIVO DE LEVADURA DE PAN

- 1. En un Matraz colocar 30 ml de agua destilada
- 2. 0.3 gr de levadura de pan
- 3. 0.3 gr de glucosa o sacarosa
- 4. Por ultimo cubrir el Matraz e Incubar a 30°C por 24 horas.

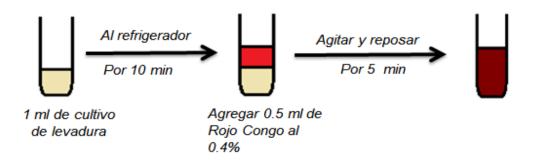


CULTIVO DE CILIADOS

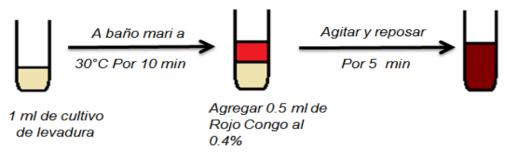
- 1. En un vaso precipitado de 100ml o 250ml agregar Paja
- 2. Dejar caer el agua encharcada con paramecios
- 3. Guardarlo por dos semanas en un lugar poco iluminado



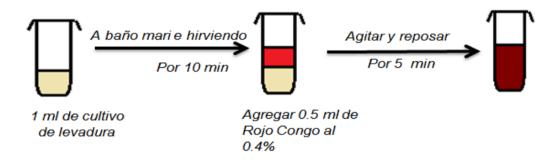
- 1.- Coloque en tres tubos de ensaye, un mililitro del cultivo de levaduras; realizar el mismo procedimiento en os tres tubos de ensaye después de ser expuestos en distintas temperaturas.
- 2.- En uno de los tubos se pone en el refrigerador durante 10 minutos, después de la expiación de temperatura agregar de inmediato 0.5 ml de rojo Congo al 0.4% agitar y dejar reposar 5 minutos realice las observaciones al microscopio de cada uno de los tubos, poniendo atención al grado de tinción que se presenta.



2.- El segundo tubo de ensaye se coloca en el baño María a 30°C, después de la expiación de temperatura agregar de inmediato 0.5 ml de rojo Congo al 0.4% agitar y dejar reposar 5 minutos realice las observaciones al microscopio de cada uno de los tubos, poniendo atención al grado de tinción que se presenta.



3.- El último se tapa con papel aluminio y se pone en un baño María hirviendo durante 10 minutos, después de la expiación de temperatura agregar de inmediato 0.5 ml de rojo Congo al 0.4% agitar y dejar reposar 5 minutos realice las observaciones al microscopio de cada uno de los tubos, poniendo atención al grado de tinción que se presenta.



4.- En base en sus observaciones seleccione el cultivo de levaduras para cumplir mejor el objetivo de su práctica. Coloque sobre un portaobjetos unas gotas del cultivo de levaduras más teñida con gotas del cultivo de ciliados. Observe al microscopio y realice un esquema inicial. Siga observando cuidadosamente hasta visualizar de manera análoga la función de los lisosomas en ciliados (cambio de color).

NORMAS DE BIOSEGURIDAD

Tipos de desechos	Como desecharlos	Tipo de contenedor
Papel de aluminio	Directamente al contenedor	Basura inorgánica
Cultivo de levaduras y ciliados	Lavar el material con suficiente agua y jabón	

CUESTIONARIO

- 1. Tomando en cuenta tus observaciones experimentales, ¿Qué ocurre con las células de levadura dentro de los ciliados y porque?
- 2. Discuta el mecanismo que ocurre al calentar las levaduras y al agregar el colorante.
- 3. Realice un esquema de los lisosomas y dibuje lo que logro observar.
- 4. ¿Cuál es la importancia de los lisosomas en las células?
- 5. ¿Por qué se considera los lisosomas como los responsables de eliminar la basura?
- 6. ¿Por qué se consideran lisosomas primarios y se

PRÁCTICA 7

"IDENTIFICACION DE CLOROPLASTOS EN UN PROCESO DE AISLAMIENTO"

INTRODUCCIÓN

Los cloroplastos son orgánulos verdes, grandes, que se encuentran solo en las células de plantas y algas, no en células de animales ni de hongos. Tiene una estructura muy compleja que la de las mitocondrias: además de las dos membranas que las rodean, presentan membranas internas apiladas que contienen el pigmento verde *clorofila* (cuando se mantiene una planta en la oscuridad, su color verde desaparece; cuando se coloca otras vez en la luz, vuelve a parecer. Esto sugiere que la clorofila – y los cloroplastos que la contienen – son cruciales para la relación especial que tienen las plantas y las algas con la luz) (Alberts *et al.*, 2011).

Los cloroplastos se localizan principalmente las células del mesófilo, tejido que se encuentra en las hojas de las plantas superiores y en las algas, cada célula tiene un número considerable de cloroplastos, de forma esférica, ovoide o discoide. Su tamaño varía considerablemente, pero en promedio tiene un diámetro de 4 a 6 µm. Esta medida suele ser constante para cada tipo celular; en general en las plantas que crecen en la sombra los cloroplastos son más grandes y más ricos en clorofila. El número de cloroplastos se mantiene relativamente constante en los diversos vegetales. Las algas poseen a menudo un solo cloroplasto muy voluminoso, en las plantas superiores existen ente 20 y 40 por célula, en las hojas de algunas especies se ha calculado que hay alrededor de 400.000 cloroplastos por mm² de superficie (De Robertis, 2008).

Los cloroplastos realizan una tarea esencial para la vida en la Tierra, la fotosíntesis, es decir, capturan la energía de la luz solar en moléculas de clorofila y la utilizan para elaborar moléculas de azúcar ricas en energía. Todas las partes

verdes de una planta contienen cloroplastos, pero en la mayoría de las plantas, las hojas son los sitios principales de la fotosíntesis (Angulo *et al.*, 2012).

Si se requiere estudiar la función particular de los cloroplastos u otro orgánulo resulta de gran valor poder aislar en estado puro el orgánulo que interesa. La separación de un orgánulo, por lo general se hace mediante la técnica de centrifugación diferencial, la cual depende de las partículas en el tamaño diverso se desplazan hacia el fondo del tubo de centrifuga a diferentes velocidades cuando se les coloca en un campo centrifugo.

Los cloroplastos cuando son aislados cuidadosamente son capaces de reducir el colorante, la reducción se debe a que capta los electrones en lugar del NADPox en la parte no cíclica de la fotosíntesis.

NÚMERO		NÚMERO DE
DE UNIDAD	TEMA DEL PROGRAMA	HORAS PARA
DEL	(Es opcional utilizar esta práctica,	REALIZAR LA
PROGRAMA	como apoyo didáctico en el programa)	PRACTICA
	Características estructurales y funcionales de	
Unidad III	los organelos celulares	Tres horas

OBJETIVO GENERAL

Utilizar un método de aislamiento de cloroplastos y observar su funcionamiento en condiciones óptimas con estrés osmótico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar el proceso que se realiza en el aislamiento de clorofila en las plantas.
- Distinguir la reducción de colórate en el proceso de centrifugación.

MATERIALES

Material proporcionado en el laboratorio	Sustancias	Material proporcionado por el alumno
 → Mortero y pistilo → Pipeta de 10 ml → Pipeta de un ml → Vaso de precipitados de 100 ml → 6 tubos de ensayo 15mm X 150 mm → Gradilla → Embudo → Charola metálica → Pipeta Pasteur con goma → Piceta con agua destilada → 3 espectrofotómetros 	 → Solución de NaCl 0.35 → Buffer de fosfatos 0.02 M, pH 8 → Solución de DCPIP 0.3 mM 	→ Hojas de espinaca (Spinacia oleracea) o de acelga (Beta vulgaris) → Lámpara con foco → Tijeras → Bolsa de hielo → Sobre de gasas → Papel milimétrico

NORMAS DE SEGURIDAD

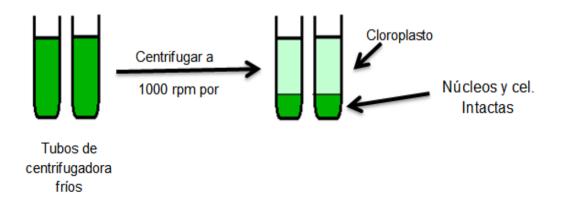
Tipos de riesgo	Como evitarlo	Como proceder en caso de accidente
 Presentar cortaduras con el mal uso de material 	Manejar adecuadamente los materiales	 Usar el botiquín de primeros auxilios

MÉTODOS

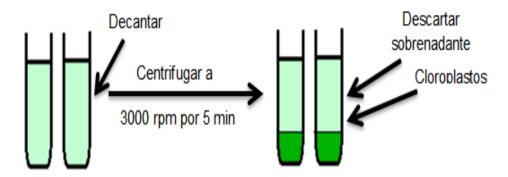
1. Enfrié con anticipación el mortero con hielo, agregue 20 ml de buffer salino frío y las partes verdes de sus hojas de espinacas (o Acelga). Tritúrelas durante 5 minutos como máximo y en seguida filtre el homogenizado a través de gasa doble previamente humedecida con 10 ml de buffer salino.



- 2. El filtrado se distribuye de manera equitativa en dos tubos de ensayo y se centrifuga a 1000 rpm. durante tres minutos (recuerde que los tubos deben tener la misma cantidad de líquido al centrifugar por lo que hay que agregarle solución buffer si es necesario para igualarlos), se obtienen dos fases:
 - (A) El precipitado: que tiene células intactas y núcleos.



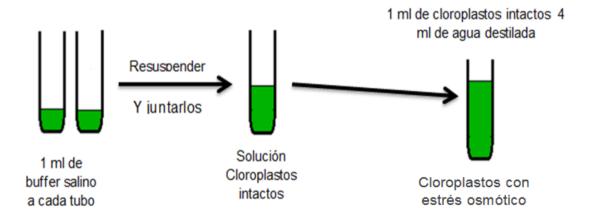
(B) El sobrenadante: que contiene los cloroplastos en suspensión.



El sobrenadante obtenido se coloca en tubos de ensayo fríos. Se desecha el precipitado. Se coloca de nuevo el sobrenadante en tubos de centrífuga y se centrifuga a 3000rpm durante 5 minutos.

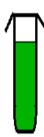
Al final de este tiempo se descarta el sobrenadante y el precipitado se suspende en buffer salino frío utilizando en total 2 ml por cada tubo. De esta manera se tiene preparada la suspensión de cloroplastos intactos.

Para preparar la suspensión de cloroplastos con estrés osmótico se coloca en un tubo 1 ml de la suspensión de cloroplastos intactos y 4 ml de agua destilada.



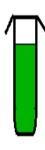
3. Envuelva cuatro tubos de ensayo con papel aluminio, y después se preparan los tubos de la siguiente manera:

Tubo 1



- ✓ 0.5 ml de DCPIP
- √ 9.3 ml de buffer salino
- 0.2 ml de la suspensión de los cloroplastos con estrés osmótico

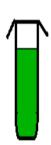
Tubo 2



- ✓ 0.5 ml de DCPIP
- √ 9.3 ml de buffer salino
- ✓ 0.2 ml de la suspensión de cloroplastos intactos.

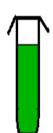
NO EXPONER A LA LUZ

Tubo 3



- ✓ 0.5 ml de DCPIP
- √ 9.3 ml de buffer salino
- √ 0.2 ml de la suspensión de cloroplastos intactos

Tubo 4 (TUBO BLANCO.)



- ✓ 0.5 ml de DCPIP✓ 9.5 ml de buffer salino

- 4. Antes de proceder a tomar las lecturas correspondientes debe agitar perfectamente bien todos los tubos.
- 5. Para calibrar el espectrofotómetro primero ajuste a 0% de absorbancia a una longitud de onda de 450 nm, luego llene una celda con el contenido del tubo No. 4 (TUBO BLANCO) y calibre a 0% de absorbancia a la misma longitud de onda. Una vez calibrado el espectrofotómetro obtenga las lecturas de absorbancia a 450 nm de los tubos 1, 2 y 3 al tiempo de 0 minutos de exposición a la luz. Enseguida exponga los tubos 1, 2 y 4 a la luz, colocándolos a una distancia aproximada de 15 cm del foco durante un minuto. Al término de este tiempo tápelos nuevamente con papel aluminio y proceda a realizar las lecturas de absorbancia a 450 nm de los tubos 1, 2 y 3 en el espectrofotómetro ya calibrado como en el paso 4.
- Repita el paso 5, cuatro veces más, es decir, los tubos son expuestos a la luz por un tiempo total de 5 minutos, en intervalos de un minuto de exposición.

Calibración del espectrofotómetro:

- 1.- Con el tubo 4 calibrar a 0 % Absorbancia a una longitud de onda 450 nm.
- 2.- Leer tubos 1, 2 y 3 antes de exponer a la luz.
- 3.- Exponer tubos 1, 2 y 4 a la luz a 15 cm del foco por un 1 min. Taparlos y leer la Absorbancia de los tubos 1, 2 y 3.
- 4.- Calibrar el aparato con el tubo 4 cada vez.
- 5.- Repetir cuatro veces para un total de 5 min de exposición.

Graficar: Absorbancia (450nm) contra tiempo de exposición a la luz.

NORMAS DE BIOSEGURIDAD

Tipos de desechos	Como desecharlos	Tipo de contenedor
Vegetal	Directamente al contenedor	Basura orgánica
Plástico	Directamente al contenedor	Basura inorgánica

CUESTIONARIO

- 1. Analice y esplique por qué se debe trabajar a bajas temperaturas al momento del aislamiento de cloroplastos.
- 2. ¿Porque considera que se deba utiliza la solución buffer salina?
- 3. Investigue si existen otras técnicas para determinar la fotosíntesis.
- 4. Explique la importancia del estudio de los cloroplastos.
- 5. Explica con tus propias palabras el estrés osmótico.

PRÁCTICA 8

"MITOSIS"

INTRODUCCIÓN

La mitosis es un proceso de división nuclear en que las moléculas replicadas de ADN de cada cromosoma se reparte con exactitud en dos núcleos, suele acompañarse de la citocinesis, un proceso por el que una célula en división se separa en dos, con lo que el citoplasma se divide en dos paquetes celulares, (es una etapa del ciclo celular en la que la célula dedica toda su energía a una sola actividad: la separación cromosómica) (Karp, 2009).

La mitosis es un proceso altamente organizado que permite que una célula progenitora transmita una copia de cada cromosoma a cada una de sus células hijas, es decir, los dos nuevos núcleos reciben el mismo número y tipo de cromosomas característicos del núcleo original, La mitosis inicia al finalizar la fase G₂. La mitosis en realidad es un ciclo continuo, pero con fin didáctico se divide en cinco etapas: profase, prometafase, metafase, anafase y telofase. (Angulo *et al.,* 2012).

- Profase: se caracteriza por los cambios físico-químicos del citoplasma, la célula se vuelve esférica. En ese momento las largas hebras de cromatina empiezan un proceso de condensación (enrollamiento) que las hace más gruesas y cortas. Una vez que se ha producido la condensación, la cromatina recibe el nombre de cromosomas, y los cromosomas se ven como unidades individuales (La membrana nuclear desaparece al final de esta fase).
- Prometafase: Esta fase inicia cuando la envoltura nuclear ha sido desintegrada (comienza bruscamente la ruptura de la envoltura nuclear) los cromosomas pueden unirse ahora a los microtúbulos del huso mitótico se fijan al cinetocoro de los cromosomas, los cromosomas se desplazan hacia el plano ecuatorial del huso.

- Metafase: Los cromosomas se alinean en el ecuador del huso, a mitad de camino entre sus polos (Los cromosomas se alinean en el plano ecuatorial de la célula).
- Anafase: Las cromátidas hermanas se separan sincrónicamente y cada una es arrastrada lentamente hacia el polo del huso al que está adherida (estos cromosomas emigran a polos opuestos usando los microtúbulos del huso como guías).
- Telofase: Los dos grupos de cromosomas llegan a los polos del huso, se construye una nueva envoltura nuclear alrededor de cada grupo, lo que completa la formación de dos núcleos y mara el final de mitosis, (la división del citoplasma comienza con la formación del anillo contráctil.
- Citocinesis: De una célula animal el citoplasma se divide en dos por un anillo contráctil de filamentos de actina y miosina que estrangula la célula y da lugar a la formación de dos células hijas, cada una de ellas con un núcleo (Alberts et al., 2011).

Este es un proceso necesario para remplazar las células muerta, el tiempo que dura un ciclo celular varía entre las especies y entre distintos tejidos de la misma especie; en una célula vegetal o animal su crecimiento es de 8 a 20 horas Cuando las células alcanzan cierto tamaño, deben dejar de crecer o bien dividirse.

NÚMERO	TEMA DEL PROGRAMA	NÚMERO DE
DE UNIDAD DEL	(Es opcional utilizar esta práctica,	HORAS PARA
PROGRAMA	como apoyo didáctico en el programa)	REALIZAR LA PRACTICA
Unidad VI	Reproducción celular	Tres horas

OBJETIVO GENERAL

Identificar y aprender las diferentes fases de la mitosis en las células.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- * Reconocer y diferenciar los procesos de la mitosis en las raicillas de cebolla.
- ❖ Aplicar técnicas de fijación para observar cromosomas en células atreves del microscopio.

MATERIALES

Material proporcionado en el laboratorio	Sustancias	Material proporcionado por el alumno
 → Microscopio → 2 Vidrios de reloj → 1 Mechero de alcohol → 1 Microscopio → Estuche de disección → Pipetas graduadas → 4 Porta y cubre objetos → Agua destilada 	→ Orceina Acética → Aceite de Inmersión	 → Una cebolla (Allium cepa) con raicillas nuevas y frescas (cinco días de germinación) → Semillas de haba (Vicia faba) o frijol (Phaseolus vulgaris) con más de cuatro días de germinación →Lápiz con goma (nuevo) → Fósforos o encendedor

NORMAS DE SEGURIDAD

Tipos de riesgo	Como evitarlo	Como proceder en caso de accidente
Presentar quemaduras por el mechero bunsen	Usar adecuadamente el Mechero de Bunsen	•Usar el botiquín de primeros auxilios

MÉTODOS

1. Cultivo de raicillas de cebolla (Allium cepa)

Cinco días antes de la práctica, llenar un vaso de precipitados de 100 ml (la medida del vaso precipitado a utilizar será con base al tamaño de la cebolla *Allium cepa*) con agua y colocar un bulbo de cebolla sujeto con dos o tres palillos de manera que la parte inferior quede inmersa en el agua como se aprecia en la Fig.1 Al cabo de 3-4 días aparecerán numerosas raicillas en crecimiento de unos 3 o 4 cm de longitud.







Figura 1. Proceso de cultivo de raicillas de cebolla (Allium cepa) en 4 días.

2. Cultivo de semillas de frijol (Phaseolus vulgaris) o haba (Vicia faba).

Escoger unas semillas de haba (Vicia faba) (en caso de tener semillas de haba sustituir por semillas de frijol *Phaseolus lycopersicum*) colocar algodón sobre una caja Petri junto con las semillas y humedecerlas durante ocho días para lograr su germinación (Fig.2).



Figura 2. Proceso de cultivo de semillas de frijoles (Phaseolus vulgaris).

3. Proceso de las raicillas de la cebolla (Allium cepa)

1. Saque la cebolla del agua y corte las raicillas (2 mm de largo aproximadamente), tome con la pinza la raicillas colocarla en vidrios de reloj para dividir las raicillas en dos (Fig.3).

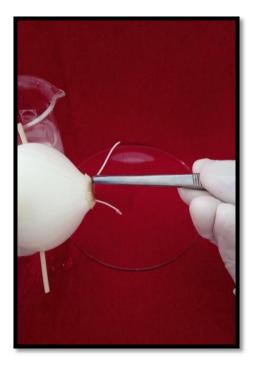




Figura 3. Proceso de preparación de raicillas de cebolla (Allium cepa).

2. Coloque la primera raicilla cortada en un vidrio de reloj que contenga 3 ml de orceina acética, manténgalas sumergidas durante unos cinco minutos, Caliente suavemente sobre el mechero de alcohol (el mechero se recomienda que la flama sea suave de color azul, hasta que empiecen a salir los primeros vapores). Evite quemar las raicillas, sin dejar que el colorante hierva ni se seque; para evitarlo, debe retirar el vidrio de reloj de la llama cada vez que sea necesario (Fig. 4).



Figura 4. Preparación de raicillas de cebolla (Allium cepa) con orceina acética.

3. Dejar enfriar, Tome la raicilla y deposítela en un portaobjetos limpio y seco, colocar el cubre objetos; presione suavemente con el borrador de un lápiz sobre el cubreobjetos para disgregar el tejido y separar las células, limpie el exceso de colorante Fig. 5. Observe al microscopio con el objetivo 40X y 100X, (Fig. 6).



Figura 5. Proceso de la raicilla de cebolla *(Allium cepa)* para la observación en microscopio en objetivos 40X y100X.

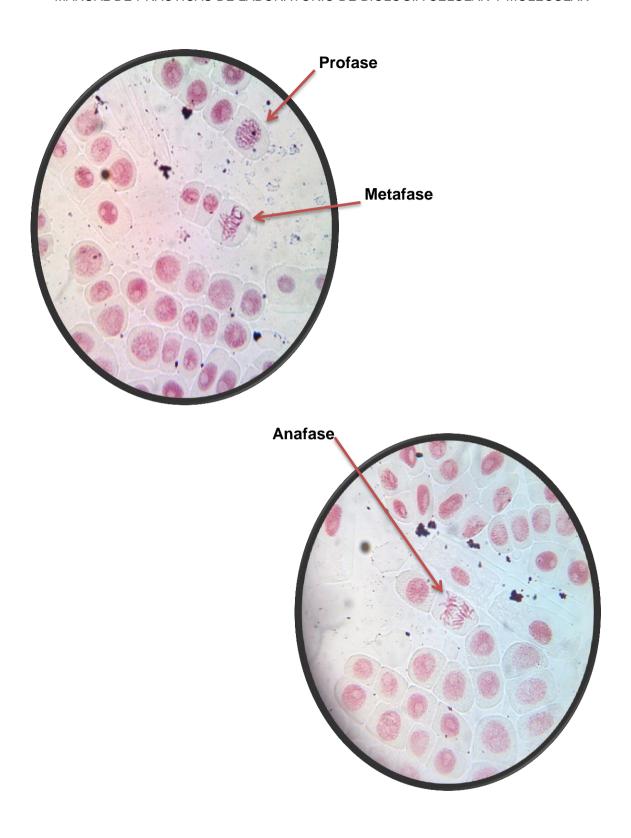


Figura 6. Observación de raicilla de cebolla (Allium cepa) en el microscopio en objetivos 40 X.

- 4. Con la pinza tomar la segunda raicilla en un vidrio de reloj agregar 3ml agua destilada (mantener sumergida durante cinco minutos), colocarla sobre un portaobjetos y el cubreobjetos con mucho cuidado.
- 5. Presione suavemente con el borrador de un lápiz sobre el cubreobjetos para disgregar el tejido y separar las células, limpie el exceso de agua. Observe al microscopio con el objetivo de 40X y 100X.

4. Proceso de las raicillas de la semilla de frijol (Phaseolus vulgaris)

1. Realice cortes transversales lo más delgado posible en los ápices de las habas o frijol, colocarlos en el vidrio de reloj y cubrirlos con orceina acética espera cinco minutos, Fig. 1.





Figura 1. Proceso de preparación de raicillas de frijol (Phaseolus vulgaris).

2. Con una pinza colocarlo en un porta objetos y colocar el cubre objetos (Presione suavemente con el borrador de un lápiz). Fig. 2. Observe al microscopio con el objetivo de 40X y 100X (fig. 3).



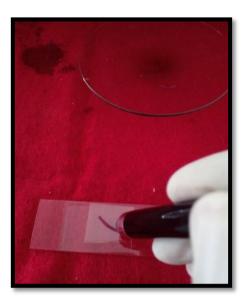


Figura 2. Preparación de raicilla de frijol *(Phaseolus vulgaris)* para observación en microscopio en objetivos 40X y 100X.

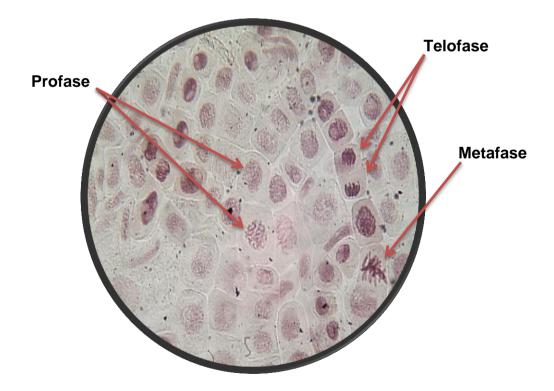


Figura 3. Observación de raicilla de frijol (Phaseolus vulgaris) en el microscopio en objetivos 40X.

NORMAS DE BIOSEGURIDAD

Tipos de desechos	Como desecharlos	Tipo de contenedor
Vegetal	Directamente al contenedor	Basura orgánica
	Lavar el material con suficiente agua y jabón	

CUESTIONARIO

- 1. ¿Analicé y explique cuál es la importancia de la mitosis en los seres vivos?
- 2. Mencione los eventos que se llevan a cabo en cada fase del ciclo celular (interface y división).
- 3. ¿Qué pasaría si alguna de las etapas de la mitosis no se llegara a completar? ¿Explique?
- 4. Esquematice y describa el ciclo celular.

"PROCESO DE LA MEIOSIS"

INTRODUCCIÓN

El término *meiosis* significa "hacer más pequeño". La meiosis es un proceso que reduce el número de cromosomas a la mitad, las etapas de la meiosis son parecidas a las de la mitosis, con cuatro diferencias importantes:

- ✓ La meiosis implica dos divisiones nucleares y citoplásmicas sucesivas, produciendo cuatro células.
- ✓ Aunque son dos divisiones nucleares sucesivas, el ADN y otros componentes del cromosoma, solo se duplican una vez, durante la interfase de la primera división meiótica.
- ✓ Cada una de las cuatro células generadas en la meiosis, contiene un número cromosómico haploide, es decir, solo un juego de cromosomas con un representante de cada par homólogo.
- ✓ Durante la meiosis, cada par de cromosomas homólogos se mezcla, de tal forma que las células resultantes poseen una combinación de genes única.

En la meiosis, una célula realiza dos divisiones celulares y citoplasmáticas conocidas como:

Primera división meiótica o meiosis I: Los miembros de cada par de cromosomas homólogos se unen primero, y se separan después, para desplazarse a núcleos distintos.

Segunda división meiótica o meiosis II: Las cromátidas hermanas que forman cada uno de los cromosomas duplicados, se separan entre ellas y se distribuyen en núcleos diferentes (Angulo *et al.*, 2012).

La meiosis es el proceso durante el cual el número de cromosomas se reduce de modo que se forman células que sólo contienen un miembro de cada par de cromosomas homólogos. Así, la meiosis garantiza la producción de una fase haploide en el ciclo de vida, y la fertilización asegura una fase diploide. Sin meiosis, la reproducción sexual sería imposible. A diferencia de la mitosis, en la

meiosis la duplicación de los cromosomas va seguida por dos divisiones en secuencia que distribuyen los cromosomas entre cuatro núcleos.

Meiosis I (o división reductora)

INTERFASE: La célula duplica su material genético

PROFASE I: Entrecruzamiento cromosómico

METAFASE I: Alineamiento de los cromosomas en el plano ecuatorial ANAFASE I: Desplazamiento de los cromosomas hacia polos opuestos TELOFASE I: Se forma la membrana nuclear y comienza la citocinesis

Meiosis II (o división ecuatorial)

PROFASE II: Es muy corta; se rompe la membrana nuclear y se forma el nuevo huso.

METAFASE II: Alineación de los cromosomas en el plano ecuatorial.

ANAFASE II: Se separan las cromátidas de cada cromosoma.

TELOFASE II: Reaparece la membrana nuclear. Aparece la cromatina y los nucléolos. Desaparece el áster y el huso acromático. El citoplasma de cada célula se divide dando origen a cuatro células hijas en total (Salazar *et al.*, 2013).

NÚMERO	TEMA DEL PROGRAMA	NÚMERO DE
DE UNIDAD DEL	(Es opcional utilizar esta práctica,	HORAS PARA
PROGRAMA	como apoyo didáctico en el programa)	REALIZAR LA PRACTICA
Unidad VI	Reproducción celular	Tres horas

OBJETIVO GENERAL

Identificar y saber diferencias los procesos que se realizan en las fases de la meiosis.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Distinguir el proceso de la meiosis que se realiza con el grillo.
- Prepara una buena tinción con los materiales a utilizar para hacer más practicó la observación microscópica.

MATERIALES

Material proporcionado en el laboratorio	Sustancias	Material proporcionado por el alumno
 → Microscopio → Estuche de disección → 3 Caja Petri → Vaso precipitado → Sanitas → Agua destilada →3 porta y cubre objetos 	 → Orceina Acética → Aceite de inmersión → NaCl al 10% → Formol 	 → Grillos machos (Acheta domesticus) → Papel limpia lentes o clínex → Algodón → Lápiz con goma nueva

NORMAS DE SEGURIDAD

Tipos de riesgo	Como evitarlo	Como proceder en caso de accidente
•Cortarse con el mal uso inadecuado del bisturí.	•Usar adecuadamente los materiales de laboratorio	•Usar el botiquín de primeros auxilios

MÉTODOS

Identificación de hembra y macho en grillos (Acheta domesticus)

Selección del Animal: Es conveniente distinguir el macho de la hembra para evitar que ella sea sacrificada inútilmente. Difieren externamente por la forma de los extremos posteriores del abdomen.

En la hembra es aguzado y presenta ovopositor, que dependiendo de la familia a la que pertenece la especie, puede ser corto o muy largo, pero siempre constituido por dos valvas inferiores y dos superiores (Fig.1).

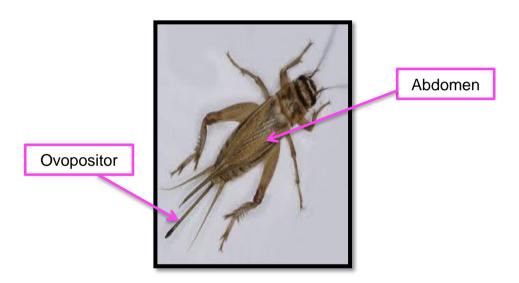


Figura 1. Identificación de grillo (Phaseolus vulgaris) hembra.

En el macho es ovalado o redondo con o sin espículas, el sistema reproductor consta de dos testículos por encima del intestino, dos vasos deferentes, que van de los testículos a las vesículas seminales y que se unen para formar el conducto eyaculador común, y el órgano copulador o pene. Los grillos los podemos encontrar debajo de las piedras, en zonas oscuras Fig. 2.

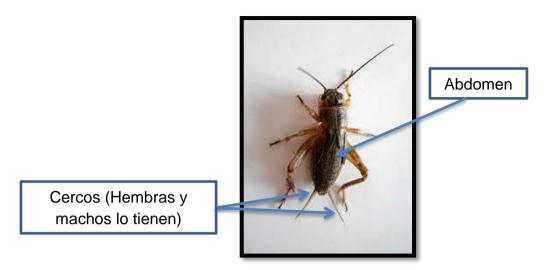


Figura 2. Identificación de grillo (Acheta domesticus) macho.

- 1. Colocar algodón con formol en un vaso precipitado, después a los grillos machos esto permite dormir las especies y facilitar la disección.
- 2. Esperar unos tres minutos mientras los grillos se duermen o se mueren con el formol.
- 3. Con la ayuda de una aguja de disección, procedemos a sacar los testículos de los grillos, ubicados en la parte abdominal de cada grillo.
- 4. Luego de sacar los testículos de color blanco lechoso, colocamos todos los en una Caja de Petri con NaCl al 10%.
- 5. Extirpamos con la ayuda de la aguja de disección las muestras extraídas, con el fin de facilitar el montaje de las muestras.
- Agregamos unas gotas de orceina a la Caja Petri en donde colocamos los testículos de los grillos (esperar tres minutos para que las muestras se tiñan). Fig. 3.



Figura 3. Procedimiento de muestra.

- 7. Luego coloque una pequeña porción de la muestra sobre el portaobjeto, coloque el cubre objeto de la forma adecuada, realice el squash con el borrador de un lápiz de forma suave).
- 8. Coloque la muestra ya preparada en el microscopio y proceda a observar.

NORMAS DE BIOSEGURIDAD

Tipos de desechos	Como desecharlos	Tipo de contenedor
Animal	Directamente al contenedor	Basura orgánica

CUESTIONARIO

- 1. ¿Cuál es la importancia del estudio de la meiosis?
- 2. ¿Qué diferencia existe en la mitosis con la meiosis?
- 3. Realice un esquema sobre el proceso de la meiosis y explica detalladamente los procesos.
- 4. ¿Con que otro tipo de animales se puede trabajar, para poder estudiar el proceso de la meiosis?

PRÁCTICA 10

"TECNICA DE EXTRACCION DE ADN"

INTRODUCCIÓN

Es muy probable que en la actualidad todo mundo haya escuchado hablar de los ácidos nucleicos, en particular del ADN simplemente por los descubrimientos y por las grandes innovaciones tecnológicas en la investigación, el conocimiento de los de los ácidos nucleicos están fundamental para la biología (Wallace, 2002).

A partir de 1953 se inició el estudio intensivo de los mecanismos moleculares que permiten la duplicación, reparación, recombinación y transposición del DNA y del procesamiento celular de la información genética presente en esta molécula. Actualmente sabemos que la información genética de todas las células se encuentra en el DNA. La principal función del DNA es contener la información, que, al expresarse de manera selectiva y regulada, permite generar una nueva célula (organismos unicelulares) o un nuevo organismo, a partir de un óvulo fecundado por un espermatozoide (organismos multicelulares complejos). La información genética de las células se encuentra en el DNA, se transcribe a moléculas de RNA y finalmente se traduce a proteínas (Jiménez y Merchant, 2003)

Los ácidos nucleicos son macromoléculas de suma importancia biológica. Todos los organismos vivos contienen ácidos nucleicos en forma de ácido desoxirribonucleico (ADN). En las células superiores el ADN se halla principalmente en el núcleo integrado los cromosomas, una pequeña cantidad se encuentra en el citoplasma, dentro de las mitocondrias y los cloroplastos, los ácidos nucleicos están formados por un azúcar(pentosa), una base nitrogenada (purina o perimidina) y ácido fosfórico (De Robertis, 2008).

Los ácidos nucleicos constituyen el material genético de los organismos y son necesarios para el almacenamiento y la expresión de la información genética. El ADN funciona como el almacén de la información genética y se localiza en los cromosomas del núcleo, las mitocondrias y los cloroplastos de las células

eucariotas. En las células procariotas el ADN se encuentra en su único cromosoma y, de manera extracromosómica, en forma de plásmidos (Salazar *et al.*, 2013).

TEMA DEL PROGRAMA	NÚMERO DE
(Es opcional utilizar esta práctica,	HORAS PARA
como apoyo didáctico en el programa)	REALIZAR LA PRACTICA
Ingeniería genética	Dos horas
	(Es opcional utilizar esta práctica, como apoyo didáctico en el programa)

OBJETIVO GENERAL

Extraer el ADN delas muestras con técnicas sencillas y materiales básicos de usos cotidianos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Experimentar con técnicas básicas los procesos de extracción de ADN.
- Adquirir conociendo con la manipulación demuestras para la extracción de ADN.
- ❖ Analizar la importancia del estudio del ADN, en distintos seres vivos.

MATERIALES

Material proporcionado en el laboratorio	Sustancias	Material proporcionado por el alumno
 → Piseta con agua destiada → Pipeta de 10 ml → 2 Vaso precipitados de 250 ml → 2 Matraz Erlen-Meyer → Termómetro → Colador y filtro → Embudo → 4 Tubos de ensayo → 2 Pipeta Pasteur → Balanza 	→ Piseta con etanol	 → Plátano (Musa paradisiaca) → Piña (Ananas comosus) → Agua caliente → 2 Recipiente de plástico medianos → Detergente líquido → Sal de mesa → Cubos de hielo → Licuadora o batidora → Cuchillo → Tenedor → Tabla para picar → Cuchara

NORMAS DE SEGURIDAD

Tipos de riesgo	Como evitarlo	Como proceder en caso de accidente
•Cortarse con el mal uso inadecuado del material.	•Realizar adecuadamente el proceso de la práctica.	•Informar al asesor de práctica o recurrir al botiquín.

MÉTODO

Nota: en caso de no realizar a practica con plátano (*Musa paradisiaca*) y piña (*Ananas comosus*) puedes sustituirlos con tomate (*Solanum lycopersicum*), kiwi (*Actinidia deliciosa*), fresa (*Fragaria sp.*).

Preparación de muestra con el plátano (Musa paradisiaca)

✓ Colocar en un recipiente pequeño hielo, e introducir en un tubo de ensayo con 10 ml de alcohol, y dejar enfriar (Para tener la medición exacta de alcohol utilizar la pipeta de 10 ml) Fig. 1.



Figura 1. Preparación de enfriamiento del alcohol antes de realizar la práctica.

1. Con la ayuda de un cuchillo cortamos unos 100 g aproximadamente de plátano, en forma de cubos pequeños, después aplastamos todos los trozos con un tenedor para formar una pasta más o menos homogénea. Depositamos esta pasta en un vaso precipitado de 250ml (Fig. 2).





Figura 2. Proceso de trituración del plátano (Musa paradisiaca).

2. Pesamos con la balanza 3g de sal, agregarlo en un matraz Erlen-Meyer después vertimos 100ml de agua destilada, junto con 10ml de detergente líquido, agitar suavemente la mezcla provocando no formar muchas burbujas hasta que la sal se disuelva completamente Fig. 3.

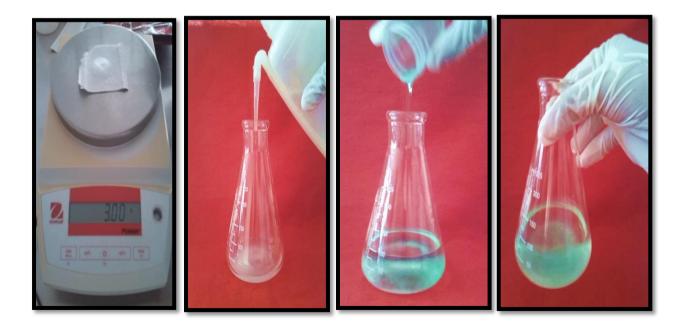


Figura 3. Proceso para diluir la sal, con el agua destilada y el detergente líquido.

3. Agregar el contenido que se preparó en el matraz Erlen-Meyer en el vaso de precipitados que contiene el plátano y lo mezclamos todo procurando de nuevo no hacer muchas burbujas; en un recipiente colocar agua y poner a calentar en la parrilla eléctrica (en caso de no tener la parrilla eléctrica colocar el agua caliente en un recipiente de plástico) con el termómetro medir la temperatura hasta que alcance unos 60°C, introducir el vaso precipitado con la mezcla de 10 a 15 minutos, mientras se calienta la muestra con la ayuda de la cuchara mover el plátano contra las paredes del vaso (Fig. 4).



Figura 4. Proceso de calentamiento de la mezcla de plátano (*Musa paradisiaca*), en 10 o 15 minutos.

4. Con el segundo recipiente agregamos agua y hielos, introducir el vaso precipitado durante 5 minutos, moviendo constantemente la mezcla contra las paredes del vaso para romper las células y liberar el ADN. Pasando los 5 minutos, colocar dentro del matraz Erlen-Meyer el embudo y encima el colador junto con el papel filtro (este proceso en colar la muestra puede tardar unos minutos), con una probeta tomar 5ml de muestra colada agregarlo en el tubo de ensayo (Fig. 5).



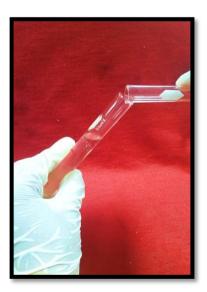




Figura 5. Enfriamiento de 5 minutos y colado de la muestra.

5. Ya colocada la muestra en el tubo de ensayo, adicionar los 5ml de alcohol frio, con cuidado y muy lentamente en las paredes del tubo con la solución, (Al cabo de pocos segundos seremos capaces de observar tres capas bien diferenciadas. Encima de todo estará el alcohol, debajo de todo estarán los restos) Fig. 6.





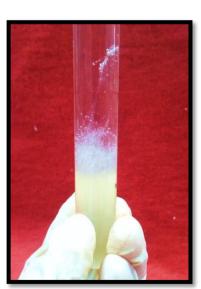


Figura 6. Proceso de adición de alcohol en la sustancia y separación de capas.

Nota: Si usamos fresas (Fragaria sp.) o tomate (Solanum lycopersicum), las podemos colocar en una bolsa con cierre hermético y las machacamos, en el caso del kiwi (Actinidia deliciosa) se licua; pero se realiza en mismo procedimiento que el zumo de piña (Ananas comosus).

Preparación de muestra del zumo de piña (Ananas comosus)

- ✓ Mientras esperamos que pasen los 5 minutos de enfriamiento con la muestra de plátano (Musa paradisiaca), proseguir con la preparación del zumo de piña (Ananas comosus).
- **1.** Quitamos la cascara a la piña (*Ananas comosus*) para triturar la parte central o corazón en la batidora o licuadora, colar la pasta con el colador y el papel filtro agregándolo en un vaso precipitado para obtener el zumo Fig. 1.







Figura 1. Preparación para obtener zumo de piña (Ananas comosus).

2. Con una pipeta Pasteur tomar 5ml de zumo de piña (*Ananas comosus*), y agregarla en el tubo de ensayo, dejando reposar de 5 a 10 minutos. Pasando los minutos de reposo de la muestra, adicionar los 5ml de alcohol frio, con cuidado y muy lentamente en las paredes del tubo con la solución, (Al cabo de pocos segundos seremos capaces de observar tres capas bien diferenciadas. Encima de todo estará el alcohol, debajo de todo estarán los restos) Fig. 2.







Figura 2. Proceso de adición de alcohol en el sumo de piña (*Ananas comosus*) y separación de capas.

NORMAS DE BIOSEGURIDAD

Tipos de desechos	Como desecharlos	Tipo de contenedor
Vegetal	Directamente al contenedor	Basura orgánica

CUESTIONARIO

- 1. El procedimiento de extracción de DNA es en realidad un procedimiento de extracción de ácidos nucleicos, ¿Qué tipo de mezcla es lo que se observó?
- ¿Por qué se utiliza detergente líquido y en que ayuda en la extracción de ADN?
- 3. ¿Cómo influye el baño caliente y el frío en este proseo?
- 4. ¿Si hubiera usado otro organismo con más cromosomas hubiera obtenido más DNA?
- Menciona otros métodos que se pueden o se utilizan para la extracción de ADN.

PRÁCTICA 11

"ALINEAMIENTO DE SECUENCIAS DE NUCLEÓTIDOS CON BIOINFORMÁTICA"

INTRODUCCIÓN

Bioinformática es una disciplina que se encuentra en la interacción entre las ciencias de la vida y de la información, esta disciplina se encuentra dentro de la biología, donde las herramientas de la computación tiene una función primordial, al manejo y análisis de bases de datos biológicas- principalmente de secuencias (Cañedo y Arencibia, 2004).

La bioinformática sus orígenes remontan a los primeros análisis con ordenador de las secuencias de ADN y proteínas. Hoy en día hay muchas especies de las cuales ya se ha obtenido su genoma completo y estos son relativamente fáciles de conseguir a través de la página WEB del NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) de donde se pueden descargar los ficheros en formato FASTA (Lahoz-Beltrá, 2004).

La base de datos más utilizada presente en el NCBI es GenBank, donde se pueden hacer búsquedas que van desde pocas de bases de longitud hasta cientos de bases. La base de datos es registrada e intenta alinear la secuencia desconocida proporcionada por ti con aquellas que se encuentran almacenadas en la base de datos. Dentro de la búsqueda encontraras las siguientes opciones:

- ♣ BLASTN: Compara una secuencia de nucleótidos desconocida contra una base de datos de nucleótidos.
- ♣ BLASTP: Compara una secuencia de aminoácidos desconocida contra una base de datos de proteínas.
- ♣ BLASTX: Compara los seis marcos de lectura teóricos (de ambos sentidos de traducción) de una secuencia de nucleótidos desconocida contra una base de datos de proteínas.
- ♣ TBLASTN: Compara una secuencia desconocida de proteína contra una base de datos de nucleótidos dinámicamente traducida en los seis marcos de lecturas de ambos sentidos de traducción.

➡ TBLASTX: Compara los seis marcos de lectura teóricos de una secuencia de nucleótidos desconocidos contra los seis marcos de lectura de una base de datos de nucleótidos.

NÚMERO	TEMA DEL PROGRAMA	NÚMERO DE
DE UNIDAD DEL	(Es opcional utilizar esta práctica,	HORAS PARA
PROGRAMA	como apoyo didáctico en el programa)	REALIZAR LA PRACTICA
Unidad VII	Ingeniería genética	Tres horas

OBJETIVO GENERAL

Conocer el proceso de bioinformática en la base de datos NCBI, permitiendo el análisis de ADN en diversos organismos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Utilizar la página WEB del NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/), para obtener conocimiento de la secuencia de los nucleótidos.
- ❖ Aplicar adecuadamente el programa, para obtener destreza y conocimiento.
- Emplear lo conocido, con diferentes tipos de organismos.

MATERIALES

Material proporcionado en el laboratorio	Sustancias	Material proporcionado por el alumno
		 → Computadora → Secuencias de ADN e internet.

NORMAS DE SEGURIDAD

Tipos de riesgo	Como evitarlo	Como proceder en caso de accidente
Ninguna		

MÉTODO

- Accede al sitio web del NCBI ubicado en la siguiente dirección: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/
- 2. Realiza una búsqueda de HIV-1. Asegúrate de que ha definido una búsqueda en todas las bases de datos en el menú desplegable ubicado en la esquina superior izquierda y digite el término "HIV-1". A continuación presione el botón "go".
- 3. Obviamente es posible escoger cualquiera de las posibilidades ofrecidas en el menú. Son de destacar Pubmed, Protein y Nucleotide, con las cuales buscamos directamente en la base de datos de bibliografía, DNA o proteínas respectivamente. Unos segundos después seremos llevados a la página web del sistema *ENTREZ* del NCBI, desde donde tendremos una perspectiva general de la información relacionada con nuestra secuencia presente en el NCBI.
- 4. De esta manera es posible saber qué información existe para nuestro término de búsqueda en todo el sitio web del NCBI (ej, 590807 entradas de proteínas, 1 entrada en la sección de taxonomía y 513202 entradas de nucleótidos). ENTREZ es, de manera sencilla, el sistema que mantiene unida toda la información presente en el NCBI, algo así como el "GOOGLE" del NCBI, y es quien realiza la búsqueda de nuestro término a través de todas las bases de datos presentes en el NCBI.

5. A continuación presiona el hipervínculo de la sección Genome. Espera unos segundos, te encontrarás con una página de resultados similar a la Fig. 1.



Figura 1. Reporte del virus de inmunodeficiencia humana (HIV-1).

- 6. Realiza nuevamente la búsqueda en el sistema ENTREZ y explore las diversas entradas que muestra la página de resultados (ej, Protein, UniGene, OMIM, Pubmed etc.). Corrobore dichos resultados con los que arrojan las búsquedas con las opciones en el menú desplegable del sitio web del NCBI.
- 7. Ahora copia la secuencia de nucleótidos dada a continuación:

GenBank: GQ981176.1

GGCTTACTATGCAAGTCGAGCGGTAGCACAGGGGAGCTTGCTCCCTGGGTG ACGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGTATGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGG ATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACCAAAGAG GGGGACCTTCGGGCCTCTTGCCATCAGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTAGT AGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGAT GACCAGCCACACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGC AGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGT AGCTTAATACGTTCATCAATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACT CCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTAC TGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTTGTTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGG GCTCAACCTGGGAACTGCATTTGAAACTGGCAAGCTAGAGTCTCGTAGAGGG GGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACC GGTGGCGAAGGCGCCCCTGGACGAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGC GTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGT CGATTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAA TCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCAAATGAATTGACGG GGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAA CCTTA

- 8. Una vez copiada la secuencia, se debe ir a la página del NCBI. http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi
 - a.- Seleccionar nucleotide blast
 - b.- Pegar la secuencia en la ventana
 - c.- Seleccionar la base de datos *nr* o no redundante (está seleccionado por default),y
 - d.- Click en BLAST!
- **9.** Anota los datos obtenidos: tamaño de la secuencia que introdujiste, con que genes presenta homología y a que organismos pertenecen, posible función de tu gen, porcentaje de homología con las primeras cinco coincidencias.

NORMAS DE BIOSEGURIDAD

Tipos de desechos	Como desecharlos	Tipo de contenedor
Ninguna		

CUESTIONARIO

- 1. ¿Por qué es importante tener conocimiento sobre Bioinformática?
- 2. ¿Cuál es la importancia de estudio en alineamiento de secuencias de ADN?
- 3. ¿Existen otra base de datos, donde se pueda hacer la secuencia de alineación?
- 4. ¿Qué significa alinear una secuencia?
- 5. ¿Se puede utilizar la bioinformática, en distintos organismos?
- 6. ¿Menciona tres ejemplos?

PRÁCTICA 12

"APLICCIÓN DE BIOINFORMÁTICA EN ALINEAMIENTO DE PROTEÍNAS" INTRODUCCIÓN

La traducción ocurre en el citoplasma de la célula, con la formación del complejo traduccional, formado por tres tipos de ARN, mensajero (ARNm), de transferencia (ARNt) y ribosomal (ARNr). El ARNm es una molécula de ácido nucleico de cadena sencilla que contiene la información genética almacenada en el ADN y su secuencia es complementaria a una de las cadenas del ADN, a la que se la llama cadena molde.

Se conoce como traducción a la síntesis de una proteína de acuerdo con la información genética y se emplea como molde una molécula de ARNm. Se llama traducción porque interpreta la información contenida en el gen utilizando un código genético a través del cual desarrolla una lectura de la secuencia de nucleótidos contenidos en el ARNm. La cadena molde que la traducción requiere para su inicio es el ARNm, que se codifica por el código genético, el modo de lectura del ARNm es igual al observado en la transcripción, Un gen contiene la información necesaria para transcribir se en un ARNm, que a su vez puede expresarse como una proteína. Esta expresión se da debido a que las instrucciones trasladadas del ADN al ARN y en especial del ARNm a las proteínas se transmiten en forma de códigos (Salazar *et al.*, 2013).

La traducción genética y la biosíntesis de proteínas se caracterizan por tres etapas: iniciación, elongación y terminación. La traducción del RNA mensajero, una vez asentado en el ribosoma, casi siempre se inicia mediante la exposición del triplete (Tejada, 2007).

La base de datos del NCBI nos permite comparar secuencias de aminoácidos con las de otros organismos, pudiendo establecer la posible función de nuestra proteína. Conocer la homología que presenta nuestra proteína también nos permite establecer filogenia entre proteínas de organismos similares. En este sentido el BLASTP compara una secuencia de aminoácidos desconocida (la

nuestra) contra una base de datos de proteínas, que nos dará todas las proteínas que se parezcan en una sección o completamente con la nuestra, indicándonos los aminoácidos que son idénticos, similares (del mismo grupo) o los aminoácidos ausentes en una región con respecto a la secuencia de aminoácidos comparada (las obtenidas por la base de datos).

NÚMERO	TEMA DEL PROGRAMA	NÚMERO DE
DE UNIDAD DEL	(Es opcional utilizar esta práctica,	HORAS PARA
PROGRAMA	como apoyo didáctico en el programa)	REALIZAR LA PRACTICA
Unidad VII	Ingeniería genética	Tres horas

OBJETIVO GENERAL

Utilizar el método bioinformática de la base de dato NCBI, que permitan analizar la secuencia de aminoácidos en distintos organismos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Conocer los procesos de bioinformáticas, en el procesos experimental.
- Identificar y analizar la secuencia de aminoácidos.

MATERIALES

Material proporcionado en el laboratorio	Sustancias	Material proporcionado por el alumno
		 → Computadora → Secuencias de ADN e internet.

NORMAS DE SEGURIDAD

Tipos de riesgo	Como evitarlo	Como proceder en caso de accidente
Ninguna		

MÉTODO

Copia la secuencia de aminoácidos dada a continuación:
 AAF00097.1

FGCIDQNRDGVINKSDLKETYAQLGKLNVSDEELESMLTEGKGPINFTVFLTLFGE KLNGTDPEETILAAFKLFDPNATGVVNKDEFKRLLMTQADKFTAEEVDQAFAVAPI DVAGNIDYKSLCYIITHGDEKEES.

2. Una vez copiada la secuencia, se debe ir a la página del NCBI:

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/

- a.- Seleccionar protein blast
 - b.- Pegar la secuencia en la ventana
 - c.- Seleccionar la base de datos *nr* o no redundante (está seleccionado por default),
 - d.- Click en BLAST!
- **3.** Anota los datos obtenidos: tamaño de la secuencia que introdujiste, con que proteínas homología y a que organismos pertenecen, posible función de tu proteína, porcentaje de similitud e identidad con las primeras cinco coincidencias.

NORMAS DE BIOSEGURIDAD

Tipos de desechos	Como desecharlos	Tipo de contenedor
Ninguna		

CUESTIONARIO

- 1. ¿Qué son los aminoácidos?
- 2. ¿Conque fin se estudian la secuencia de aminoácidos?
- 3. ¿Qué conocimientos adquiriste en realizar esta práctica de aminoácidos?
- 4. ¿Qué información te proporciona conocer la homología de tu secuencia de aminoácidos?
- 5. ¿Qué significa alinear una secuencia de aminoácidos?

REFERENCIAS

- Aguilar. S., Hernández. M., (2016). Manual de Prácticas de Biología Celular y Molecular. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas Campus del Mar (UNICACH-CEICO).
- Alberst. B., Bray. D., Hopkin. K., (2011). Introducción a la Biología Celular, 3^a. ed.
 Panamericana. Buenos aires.732pág.
- Alcázar. D., Fuentes. F., Gallardo. M., (2015). Manual de Prácticas de Laboratorio de Química General. EDUCOSTA Editorial Universitaria de la Costa (CUC).
- Angulo. R., Galindo. R., Avendaño. R., (2012). Biología celular, 1ª. ed. Universidad
 Culiacán Sinaloa. México.223pág.
- Callen. J., (2005). Biología Celular De Las Moléculas y Los Organismos, 1a. ed.
 Compañía editorial contextual. México.472pág.
- Cañas. A., (2012). Manual de laboratorio Biología Celular, Facultad de Ciencias Químicas Universidad Autónoma de Chiapas (UNACH).
- Cañedo. R., Arencibia. R., (2004). Bioinformática: En busca de los secretos moleculares de la vida. Ciudad de habana.
- Castell. A., Lecuona. M., Sampedro. E., (2013). Manual De Prácticas Biología Celular E Histología Médica. Departamento de Biología Celular y Tisular Facultad de Medicina Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).
- Chataing. B., Nieves. Elsa (2009). Manual de Laboratorio de Biología, Autoridades Universitarias Universidad de los Andes (UNIDADES).
- Chávez. J., Medina. M., Sánchez. S., (2013). Manual del Laboratorio de Biología
 Celular y Molecular I. Facultad de biología. Universidad Michoacana De San Nicolás De Hidalgo (UMSNH).
- Constantino. E., Santiago. M., Meza. A., (2012). Manual de Prácticas de Biología I.
 Colegio de Estudios Científicos y Tecnológicos del Estado de Chiapas (CECYTE).
- De Robertis. E., (2008). Fundamentos de Biología Celular y Molecular, 15 a. ed. El ateneo. Buenos aires.442pág.
- Ducolomb. Y., Fierro. R., González. C., (2012). Manual de prácticas de laboratorio.
 Biología Celular. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa (UAM).
- Guía De Laboratorio De Biología, (2013). Facultad De Medicina. Pontificia
 Universidad Católica De Ecuador (PUCE).

- Jiménez. J., MERCHANT. H., (2003). Biología Celular y Molecular, 1a. ed. Pearson educación. Mexico.912pág.
- Juqueria. C., Carneiro. J., López. S., (2003). Biología Celular, 3a. ed. Guanábana
 Koogan. Rio de janeiro, Brasil.288pág.
- Karp. G., (2009). Biología Celular y Molecular, 6a. ed. McGraw-HiLL.
 Interamericana de España.840pág.
- Lahoz-Beltrá. R., (2004). Bioinformática: Simulación, vida artificial e inteligencia artificial. 1a. ed. Díaz de Santos. Madrid.
- Lucumí. A., (2015). Retos en la enseñanza de la Biología Molecular y la Bioquímica en las carreras del área de la salud.
- Manual de prácticas biología general (2014). Facultad de ciencias químicas y farmacia departamento de biología general. Universidad de san Carlos de Guatemala (USAC).
- Martínez. L., (2015). Extracción de ADN, Experimento con reactivos de la vida cotidiana. Grado genética. Universidad Autónoma de Barcelona (UAB).
- Millan. P., Paez. P., Acosta. J., (2015). Manual práctico Biología Celular y Molecular. Facultad de medicina, Universidad el Bosque.
- o Paniagua. R., Nistal. M., Sesma. P., (2007). Biología Celular, 3a. ed. McGraw-HiLL.México.421pág.
- Salazar. A., Sandoval. A., Armendáriz. J., (2013). Biología Molecular, Fundamentos y Aplicación en la Ciencias de la salud, 1a. ed. McGraw-HiLL education.Mexico.388pág.
- Suarez. H., Escobar. R., Zapata. P., (2014). Guía de Laboratorio de Biología Molecular Básica, Centro internacional de agricultura tropical (CIAT).
- Vázquez. D., Sixto. A., Julian. L., (2000). Diccionarios OXFORRD-COMPUTENSE,
 1a. ed. Computense. Madrid.
- Vega. L., Ortega., C., (2013). Manual de Prácticas de Biología Celular. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México (FMVZ).
- Wallace. R., King. J., (2002). Biología Molecular y herencia: la ciencia de la vida
 2a. ed. Trillas. Mexico.424pág.

ANEXOS A (PROGRAMA DE ASIGNATURA)

Programa de Asignatura

Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas

Datos Generales.

Asignatura:	Biolo	gía Celular y Molecular		
Clave:	LBMC	LBMC090527		
Escuela o Centro:	Camp	us del Mar		
Carrera:	Licen	ciatura en Biología Marina y I	Manejo	Integral de Cuencas
Semestre:	Quint	the second secon		
Área de Formación' ¹ :		Científica Básica	X	Profesional (disciplinaria)
		Terminal e Integración		Sello Institucional
Carácter/1:	X	Obligatorio salidas 1 y 2		Optativo
Tipo de Asignatura/1:	X	Teórica	X	Práctica
Derecho a E.E./3;	X	Sí		No
Requisitos'2:	Bioqu	ímica		
Créditos:	8			
Duración del Curso:	16	Semanas		

- 1/ Marque con una X. 2/ Nombre de la asignatura inmediatamente antecedente 3/ Examen Extraordinario

Carga Académica.

Horas	Semana	Semestre
De Teoría De Práctica	3	48
De Práctica	2	32
Total	5	80

Objetivo General.

Comprender la ubicación de los procesos bioquímicos dentro de la célula, el flujo de información genética y la comunicación celular; así cómo la relación de estos procesos en el metabolismo general de los organismos y su interacción con el ambiente que los rodea.

Temas v Subtemas.

Temas y Subtemas.				
1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA CÉL	UL	A		
1.1 Introducción a la célula				
1.2 Tipos de células: Procariotas y Eucariotas				
1.3 Células vegetales y animales				
1.4 Introducción a los microorganismos				
2. MEMBRANA CELULAR				
2.1 Introducción				
2.2 Modelos moleculares de la membrana				
2.3 Transporte molecular: activo y pasivo				
2.4 Endocitosis y excitosis				
3. CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES	Y	FUNCIONALES	DE	LOS
ORGANELOS CELULARES				
3.1 Ribosomas				
3.2 Retículo endoplásmico liso y rugoso				

3.3	Aparato de Golgi
3.4	Lisosomas
3.5	Peroxisomas
3.6	Glioxisomas
3.7	Vacuolas
3.8	Mitocondria
3.9	Cloroplastos
) Citoesqueleto
	Núcleo Núcleo
4. F	ORMACIÓN DE TEJIDOS Y COMUNICACIÓN CELULAR
4.1	Adhesión celular y uniones celulares
	Superficies celulares
	Proteínas receptoras
	Tipos de tejidos y su formación
	Señales celulares
	Comunicación celular
5. B	ASES MOLECULARES DE LA INFORMACIÓN GENÉTICA
	Repaso de genética molecular básica
	Tipos de ADN y ARN
	Cromosomas y su estructura
	Genes , Genoma y Proteoma
	Expresión genética
	Regulación de la expresión genética
	Influencia del ambiente en la expresión de genes
	EPRODUCCIÓN CELULAR
	Ciclo celular
	División celular: Mitosis
-	Meiosis
-	Genes reguladores y represores
	Gametogénesis
7.11	NGENIERÍA GENÉTICA
	Introducción a las técnicas básicas: PCR, electroforesis, análisis de fragmentos,
	enciación, microarreglos. FISH
	ADN recombinante
7.3	Cultivo de células y tejidos animales y vegetales
	Clonación de genes en microorganismos
	Clonación de células animales
	Modificación genética de animales
	Modificación genética de plantas
	Implicaciones éticas
8.	Ecología molecular
	Genética de la conservación
	Código de barras
	Genómica y genómica ambiental
	Estudio de comunidades microbianas
	Aplicaciones a pesquerías y acuicultura

Objetivos Específicos4/

- Conocer las características principales de los diferentes tipos de células, incluyendo a los organismos unicelulares.
- Describir las características moleculares de las membranas celulares, su función e importancia.
- Conocer la estructura y función de los diversos organelos que constituyen una célula eucariota. Identificar la ubicación celular de las diferentes reacciones metabólicas.
- Conocer las estructuras que permiten la cohesión entre células, así como las bases moleculares de la comunicación celular.
- Establecer las bases moleculares de la transferencia y expresión de la información genética.
- Mostrar las diferentes etapas del ciclo celular, así como sus bases moleculares y su influencia en la reproducción de los organismos.
- 7. Estudiar las bases de la ingeniería genética y sus alcances tecnológicos, sociales y éticos.
- Conocer las bases de la aplicación de las técnicas moleculares a estudios ecológicos, con énfasis en pesquerías y acuicultura.

Duración de los Temas^{5/}

No.	Tema	Duración
1.	Características generales de la célula	6
2.	Membrana celular	6
3.	Características estructurales y funcionales de los organelos celulares	6
4.	Formación de tejidos y comunicación celular	6
5.	Bases moleculares de la información genética	6
6.	Reproducción celular	6
6. 7.	Ingeniería genética	6
8.	Ecología molecular	6
	Total de Horas de Teoría	48

^{5/} Se refiere a las exposiciones teóricas del profesor.

Duración de las Prácticas6/

No.	Nombre de la Práctica	Duración
1.	Diversidad celular	4
2.	Transporte activo y pasivo a través de membranas	4
3.	Elaboración de modelos celulares	4
4.	Introducción a los tejidos animales y vegetales	4
5.	Obtención de cromosomas politénicos	4
6.	Las fases de la mitosis	4
7.	Introducción a la bioinformática	4
8.	Diferenciación de poblaciones por métodos moleculares	4
	Total de Horas de Práctica	32

^{6/} En caso de tener horas de práctica

Técnicas de Enseñanza7/

No.	Técnica	
1.	Exposición	X
2.	Panel	
3.	Mesa redonda	
4.	Lectura comentada	X

^{4/} Cada tema puede tener uno o más objetivos específicos.

5.	Estudio de casos	
6.	Juego de papeles	
7.	Salida de campo	
8.	Práctica de laboratorio	X
9.	Visita guiada	
10.	Preguntas y respuestas	X

^{7/} Marque con una X.

Elementos de Evaluación Sugeridos.

No.	Elemento	Porcentaje
1.	Participación en clase	20%
2.	Exámenes Parciales	50%
3.	Reportes de Laboratorios	30%
	Total	100%

Asignaturas Antecedentes.

No.	Asignatura	Clave
1.	Química General	LBMC090104
2.	Biología	LBMC090102
3.	Bioquímica	LBMC090417

Asignaturas Consecuentes.

No.	Asignatura	Clave
1.	Genética (salida Acuicultura)	LBMC090634
2.	Dinámica de Poblaciones (salida Recursos Pesqueros)	LBMC090743

Bibliografia Básica8/

No.	Autor (Apellidos, Nombres), Título, Editorial, Lugar, Año, Número de Páginas			
1.	Alberts, B. Bray, D. Et. Al. Introducción a la biología celular. 2ª ed. Editorial Médica Panamericana, Madrid. 2006.			
2	Karp G. Biología Celular y Molecular. Mcgraw-Hill/Interamericana, México. 2006			
3	De Robertis E.H.F., Hib J., fundamentos de biología celular y molecular. 4ª ed. Buenos aires: el ateneo, 2004: 442p			
4	Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. y Watson, J.D. (2004) Biología Molecular de la Célula. 4° ed. Ediciones Omega.			

^{8/} En orden de importancia.

Bibliografia Complementaria9/

No.	Autor (Apellidos, Nombres), Título, Editorial, Lugar, Año, Número de Páginas
1.	Cooper G. La Célula. 2º Edición. Editorial Marbán. 2006: 716p.
2.	Jimenez L.F., Merchant H. Biología Celular y Molecular. México: Pearson Educación. 2003: 912p
3.	Paniagua, r. et al. Biología Celular. 2ª ed. Madrid: Editorial Mc Graw-Hill, 2003;381p

^{9/} En orden alfabético.

Material de Apoyo10/

No.	Descripción
1.	Lap top
2.	Cañón
3	Proyector de acetatos
4.	Material, reactivos y equipo de laboratorio
5,	Revistas y Journals disponibles en la red para búsqueda de artículos relacionados con los temas de la materia y de los trabajos de investigación.

^{10/} Otras fuentes de consulta como fuente hemerográficas, videográficas, discográfi7cas y software de apoyo.

Perfil del Docente

Biólogo o Químico Biólogo con posgrado en el área de la biología celular o molecular y experiencia en laboratorio.

Lugar y Fecha.

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, Abril de 2009

ANEXOS B (MATERIAL UTILIZADO)







Balanza milimétrica

Parrilla de calentamiento







Caja Petri

Mechero con alcohol

Matraz Erlen-Meyer







Vidrio de reloj

Tubo de ensayo

Gradilla







Piseta con agua

















NaCL

NaCL preparado al 0.6%







NaCL preparado al 0.9%

NaCL preparado al 1.2%

NaCL preparado al 10%







Azul de metileno

Azul de metileno preparado

Orceina Acética





Orceina Acética preparada



Lugol



Agua encharcada



Bisturí # 15



Lápiz con goma



Cuchillo y tenedor



Encendedor



Algodón

126





Raicillas de cebolla y Semillas de frijol germinado



Grenetina o gelatina sin sabor y cubito de Nork-suiza

