

PRÁCTICA 1. RECONOCIMIENTO DE MATERIAL DE LABORATORIO.

- 1./ Portaobjetos: se trata de una placa de vidrio sobre la que se colocan las preparaciones microscópicas. Puede ser rugoso o esmerilado.
- 2./ Cubreobjetos: lámina de vidrio más fina que el porta, con la que se cubren las preparaciones.
- 3./ Puente de tinción o paralelas: dos varillas de vidrio unidas por gomas, sobre las que ponemos los portas para efectuar tinciones.
- 4./ Cubeta de tinciones o cristizador: es el recipiente en el que se encuentra el colorante tras efectuar una tinción sobre las paralelas.
- 5./ Frasco lavador: recipiente con agua destilada, con el que eliminamos el exceso de colorante de una muestra mediante un lavado por arrastre.
- 6./ Frascos para colorante: se pueden encontrar frascos transparentes u opacos, para proteger al colorante de las radiaciones solares. Hay dos modelos: con tetina y cuentagotas o sin tetina.
- 7./ Frasco de Borrell: sirve para lavados y tinciones de varias muestras simultáneas.
- 8./ Vidrio de reloj: pequeña cápsula de vidrio que puede contener pequeñas cantidades de líquido o sólido.
- 9./ Cápsula de porcelana: la utilizamos para fundir sólidos.
- 10./ Caja de Petri: Es un tarro pequeño de cristal, donde se llevan a cabo cultivos bacteriológicos.
- 11./ Tijeras: de punta fina, para efectuar disecciones.
- 12./ Pinzas: también en disecciones, o para tomar pequeños trozos de muestras sólidas.
- 13./ Escalpelo o bisturí: cuchilla muy fina y afilada para realizar incisiones precisas.
- 14./ Espátula y cuchara: para tomar muestras de sólidos pulverizados.
- 15./ Varilla de vidrio: para agitar preparaciones diluidas.
- 16./ Pipeta: es un tubo de vidrio hueco, con divisiones volumétricas, para medir pequeñas cantidades de líquidos.
- 17./ Probeta: medimos volúmenes. Suele estar graduada.
- 18./ Matraz Erlenmeyer: de fondo plano, tiene múltiples usos: medir volúmenes, preparación de disoluciones
- 19./ Mortero y pistilo: con él trituramos y machacamos sólidos.
- 20./ Mechero Bunsen: foco de alto poder calorífico que funciona con gas.
- 21./ Mechero de alcohol y caperuza: foco de calor menor que el Bunsen, y que calienta generalmente objetos pequeños o poca cantidad de muestra. La caperuza sirve para apagar la llama una vez se deje de usar el

mechero.

22./ Trípode y rejilla de amianto: con la unión de estos dos utensilios, podemos colocar las muestras sobre la llama del mechero de tal forma que no estén en contacto directo con el fuego, sino que la rejilla se encarga de distribuir uniformemente el calor.

23./ Vaso de precipitado: es un vaso de vidrio pirex, que tiene diferentes usos.

24./Aguja enmangada y lanceta: para disecciones.

25./ Tubos de ensayo: los usamos para contener líquidos y sólidos en pequeñas cantidades.

26./ Pinzas de madera: con ellas sostenemos los tubos de ensayo cuando los calentamos a la llama del mechero.

27./ Gradilla: para colocar verticalmente los tubos de ensayo.

28./ Envudo de vidrio: es el soporte en los procesos de filtración. Lo utilizamos para agregar líquidos en los tubos de ensayo.

29./ Escobilla: para limpiar por dentro tubos de ensayo, matraces y frascos.

PRÁCTICA 2. RECONOCIMIENTO DE HIDRATOS DE CARBONO.

Los hidratos de carbono son los principios inmediatos básicos. Sus funciones son:

- Reserva energética.
- Elementos estructurales de células y tejidos.
- Aportación de átomos de carbono para la realización de diversas funciones vitales.

Están formados por átomos de carbono, Hidrógeno y Oxígeno principalmente. Su fórmula general es: $(CH_2O)_n$.

La práctica que hoy nos ocupa, se realizará con tres hidratos de carbono:

- Glucosa = Monosacárido.
- Sacarosa = Disacárido.
- Almidón = Polisacárido.

La glucosa tiene carácter reductor gracias a su aporte de electrones. Este desprendimiento causa una posterior oxidación. La capacidad reductora de la glucosa reside en su grupo carbonilo, que cuando pierde electrones pasa a grupo carboxilo.

1./ Reacciones con Glucosa:

- Prueba en blanco



El resultado es un líquido precipitado de color negro.

- Prueba de Trommer

$\text{SO}_4\text{Cu} + \text{NaOH} + \text{Glucosa} \rightarrow \text{Cu}_2\text{O}$

El resultado es óxido de cobre de color rojo. El color del resultado varía porque el cobre, por acción de la glucosa, ha reducido su valencia, por lo que obtenemos este nuevo compuesto de color rojo.

- Reacción de Feeling

El licor de Feeling es sulfato de cobre (FA) + Tartrato potásico – sódico en medio alcalino (FB)

Licor de Feeling ! CuO Color negro

Permanece estable y de color azul, porque el tartrato (FB) bloquea al cobre, por lo que no toma óxido de cobre.

Licor de Feeling + Glucosa ! Cu_2O

El resultado es un compuesto monovalente de color rojo. Esto ocurre porque la glucosa actúa sobre el óxido de cobre bloqueado, convirtiéndolo en un compuesto monovalente (que no puede ser bloqueado por el ion tartrato), lo que, al reaccionar con los oxidrilos del ambiente (por estar en medio básico) da lugar a un compuesto color rojo.

2./ Reacciones con sacarosa (glucosa + fructosa).

Sacarosa + Trommer ! CuO

El resultado es un compuesto de color amarillento. No sale rojo porque los enlaces glucosídicos de la glucosa están ocupados en la unión con la fructosa para poder formar la sacarosa.

Sacarosa + HCl ! A + Trommer ! Cu_2O

El resultado es un compuesto de color rojo monovalente de cobre, pues los monosacáridos, glucosa y fructosa, ya pueden actuar como reductores.

3./ Reacciones con Almidón.

Almidón + I_2 + IK ! Compuesto de color violeta (I_2 + IK = lugol)

Esta reacción se realiza en ausencia de calor, ya que si se calienta el almidón mezclado con lugol se forma un compuesto pastoso (utilizado antiguamente como pegamento).

Resultados de la práctica:

1.– $\text{SO}_4\text{Cu} + \text{NaOH} \rightarrow \text{CuO}$

2.– $\text{SO}_4\text{Cu} + \text{NaOH} + \text{Glucosa} \rightarrow \text{Cu}_2\text{O}$

3.– FA + FB ! Licor de Feeling ! se mantiene el color

4.– Licor de Feeling + Glucosa ! Cu_2O

5.– Sacarosa + Trommer ! CuO

Sacarosa + HCl ! A + Trommer ! Cu₂O

6.- Almidón + I₂ + IK ! Compuesto violeta

PRÁCTICA 3. RECONOCIMIENTO DE PRÓTIDOS Y LÍPIDOS.

A.- Proteínas.

1./ Prueba de Biuret.

Esta prueba se basa en una reacción típica de los enlaces peptídicos, por la que los átomos de cobre del reactivo se unen a los grupos amino, provocando una coloración rosa – violácea. En nuestra práctica, el reactivo será SO₄Cu y la solución problema será la proteína ovoalbúmina.

SO₄Cu + NaOH + Ovoalbúmina ! Disolución violácea

Este color violeta, pone de manifiesto la presencia de péptidos, formando el complejo Biuret, entre los iones del cobre y los grupos amino.

2./ Reacción de Millón.

Se trata de identificar la presencia de péptidos, tiroxina en este caso.

Reactivo de Millón + Solución con tiroxina ! Fóculos color rosa – carne.

La no presencia de fóculos indica la ausencia de tiroxina en la disolución problema.

3./ Reacción Xantoprotéica.

Es una reacción que solo dará positivo si los aminoácidos de la disolución problema contienen en su estructura el anillo cromátido. Entre estos aminoácidos con anillo se encuentran la tiroxina y otros presentes en la ovoalbúmina, que será nuestra disolución problema. El reactivo usado será ácido nítrico (NO₃H).

H₂O + Ovoalbúmina + NO₃H ! Precipitado amarillo

B.- Lípidos.

1./ Saponificación.

Se trata de la formación de jabones a partir de ácidos grasos e hidróxido sódico. Al poner esta mezcla en medio básico y calentarla, se produce una rotura de enlaces, resultando, por un lado glicerina y por otro, jabones.

Triglicérido + Ác. Girasol + NaOH ! Glicerina + Jabones

2./ Colorantes.

En esta reacción tratamos de hacer una diferenciación entre dos colorantes muy distintos, como:

- Sudán III. Colorante hidrófobo, totalmente insoluble en agua, y específico de las grasas.
- Azul de Metileno. Colorante hidrófilo que tiñe fácilmente el agua, pero atraviesa los lípidos sin colorearlos.

Ponemos 2 mL de agua y 2mL de aceite en un tubo de ensayo. Se forma así una emulsión inestable, en la que las gotas de grasa (aceite), debido a que tienen menor densidad que el agua, suben y se unen entre si, formándose dos capas:

H₂O + Aceite ! 2 capas

Ahora, añadimos el Azul de Metileno, que atraviesa la capa de grasa sin mezclarse con ella, rompe la tensión superficial del agua y la tiñe de azul. Añadimos inmediatamente el Sudán III que tiñe la parte lipídica de rojo, sin que afecte al agua, teñida de azul.

(Agua + Aceite) + Azul de Metileno + Sudán III ! 2 capas

PRÁCTICA 4. RECONOCIMIENTO DE ENZIMAS: OXIDANTES Y REDUCTORES.

Tratamos de poner de manifiesto la actividad enzimática tanto en tejidos animales como vegetales. Una enzima es una proteína que por cualquier cambio en su estructura pierde su actividad.

1./ Catalasa.

Es la enzima encargada de transformar el agua oxigenada (H₂O₂) en agua (H₂O) y Oxígeno (O₂).

Tomamos distintas muestras de tejidos animales (hígado, corazón) y vegetales (manzana, pera) e introducimos la mitad en un tubo de ensayo con agua hirviendo, dejando la otra mitad al natural. Al añadir agua oxigenada a las muestras que quedaron en estado natural, notamos la actividad enzimática en un prominente burbujeo, propio de la separación del O₂ del agua oxigenada. Por el contrario, los tejidos hervidos no tienen ningún tipo de reacción al contacto con el agua oxigenada, señal evidente de que la enzima se ha desnaturalizado (es decir, se ha desactivado) por acción del cambio de temperatura.

2./ Peroxidasa.

Enzima abundante en tejidos vegetales. Se forma en reacciones metabólicas y es muy tóxica. También elimina el agua oxigenada del tejido, aunque lo hace de forma diferente a la catalasa: capta un sustrato reducido y toma agua, oxidando al sustrato. La peroxidasa no forma oxígeno. Tomamos una muestra de patata (tejido vegetal) a la que le añadimos polifenol (molécula con dos grupos OH). Cuando añadimos agua oxigenada, la patata toma una coloración azul, causada por la oxidación del polifenol.

3./ " – Amilasa.

Enzima abundante en la saliva y que ayuda a digerir los hidratos de carbono. El almidón está formado por dos polisacáridos (amilosa y amilopectina). La " – amilasa actúa sobre la amilosa, dando lugar a moléculas de maltosa (es decir, rompe los enlaces " – 1 – 4 de la amilosa).

El protocolo es el siguiente:

En un tubo de ensayo ponemos 2mL de almidón y " – amilasa activa. En un segundo tubo de ensayo, ponemos " – amilasa inactiva (hirviendo el extracto de malta, que contiene la " – amilasa, desnaturalizamos la proteína). A continuación, añadimos lugol, colorante específico del almidón, obteniendo:

Almidón + Extracto de malta + Lugol ! No hay cambio de color

!

Amilasa

En esta reacción, al no estar desnaturalizada la proteína contenida en el extracto de malta, ésta reacciona con el almidón y da lugar a una disolución que no se tiñe con lugol. El almidón está disuelto en agua.

Almidón + Extracto de malta hervido + Lugol ! Coloración violeta

En esta ocasión, el extracto de malta está desnaturalizado a causa de haberlo hervido, por lo que el almidón se tiñe con el lugol. El almidón también está disuelto en agua.

4./ Polifenol – Oxidasa.

Enzima abundante en tejidos vegetales, que actúa oxidando a los polifenoles:

El protocolo es: tomamos dos rodajas de patata con piel, y uno de ellos lo hervimos con agua en un tubo de ensayo. El otro lo ponemos en la caja de Petri. El colorante que vamos a usar es la bencidina (con polifenol). Cuando añadimos la bencidina al trozo hervido, éste no cambia de color, porque los polifenoles no se oxidan debido a que se ha desnaturalizado el polifenol – oxidasa. En cambio, cuando añadimos bencidina al trozo que teníamos en la caja de Petri, se colorea de un azul oscuro, señal de que el polifenol – oxidasa ha oxidado al polifenol, y permite a la bencidina colorear la muestra.

PRÁCTICA 5. EXTRACCIÓN Y SEPARACIÓN DE PIGMENTOS FOTOSINTÉTICOS.

La práctica que ahora nos ocupa está basada en la diferente solubilidad de los pigmentos fotosintéticos en etanol (disolvente orgánico), que es miscible con el agua. Haciendo avanzar el alcohol con los pigmentos disueltos por un papel cromatógrafo (de filtro), cuya celulosa contiene algo de agua debido a la humedad del ambiente, se separan los pigmentos debido a que el medio es cada vez más pobre en etanol y más rico en agua (separación por cromatografía).

El protocolo es así: tomamos las hojas del tomate, las cortamos y machacamos en el mortero, añadiendo etanol. Con el fin de eliminar enzimas oxidantes, ponemos la mezcla que nos ha resultado en un tubo de ensayo al baño María. Tomamos ahora papel de filtro para poder filtrar la muestra. La disolución filtrada es de etanol + clorofila + carotenos + xantofilas. Tras esperar unos minutos para permitir que los pigmentos se separen mientras avanzan por el papel, añadimos éter de petróleo (transparente). Una vez echo esto, los distintos disolventes se separan, y cada uno arrastra al pigmento que mejor disuelve en él.

- Zona verde = Éter de petróleo + clorofila
- Zona amarilla = Etanol + carotenos

La separación del etanol e el éter la realizamos basándonos en la solubilidad y en el coeficiente de separación de los distintos pigmentos (atendiendo a distintos parámetros, como el peso molecular). El resultado de la práctica es un papel de filtro de la siguiente forma y color:

PRÁCTICA 6. EL MICROSCOPIO COMPUESTO.

El microscopio es un instrumento científico encargado de permitir ver organismos que a simple vista escapan de la capacidad del ojo humano. El microscopio compuesto está formado por dos lentes distintas que en conjunto aumentan el tamaño de la muestra a observar. La imagen proviene de dos lentes convergentes, y puede ser monocular o binocular. Tiene tres partes:

– Mecánica. Es el soporte del micro, y está formada por varios componentes: pie o base del micro; brazo del micro; cabeza del micro, que es donde se encuentran las lentes. El pie alberga la luz. El brazo alberga dos

mecanismos:

- Macrométrico: es el apoyo de la preparación, que la acerca al objetivo. Se desplaza en sentido vertical.
- Micrométrico: situado a ambos lados del brazo, afina el enfoque.

La cabeza es móvil, y se desplaza en sentido circular girando un tornillo. Alberga las lentes, que son la parte óptica del micro.

– Óptica. Se divide en:

– Oculares, que son las lentes que el observador acerca a sus ojos. Existen dos tipos:

+ Monocular.

+ Binocular. Se desplazan en sentido horizontal. Hay que superponer las lentes para obtener una sola imagen. Son muy delicados.

– Revolver. Alberga los objetivos. Los objetivos son los que se acercan a la muestra. Poseen un tope que nos indica que se han alineado con el ocular. Estas cuatro o cinco lentes están dispuestas en orden ascendente. La imagen se capta de forma invertida. Los aumentos sufridos por la imagen al mirarla por el micro son el resultado de multiplicar el número del ocular por el del objetivo. Se empieza enfocando con el objetivo más corto (menos aumentos) y poco a poco vamos aumentando. Los dos primeros objetivos (5x y 10x) son secos, mientras que los otros dos (40x y 100x) son húmedos, es decir, se pueden introducir en la muestra, son retráctiles. Se les llama húmedos porque se les pone aceite de inmersión, que nos permite un mejor enfoque. Los microscopios que, como estos, no se desenfocan al cambiar de objetivo, se llaman parafocales.

– Sistema de iluminación. Está compuesto por:

– La bombilla. Graduable y con distintas intensidades de luz (de 0 a 9). Se sitúa en el pie.

– El condensador. Concentra el haz de luz desde la lámpara hasta el lugar en el que se encuentra la preparación. Con el diafragma (que funciona igual que el de una cámara fotográfica), podemos regular la luz. Se desplaza en sentido vertical.

– La platina. Contiene el foco luminoso y los tornillos que permiten desplazar el sistema de coordenadas para hacer barridos de las preparaciones.

Las normas de enfoque son: situamos el objetivo de menor aumento (el de 4x) en línea con el ocular, y situamos la platina al tope moviendo el macrométrico. Llegados a este punto, enfocamos lo más claramente posible con el micrométrico.

PRÁCTICA 7. OBSERVACIÓN DE ORGANISMOS PROCARIOTAS.

Los organismos procariotas son seres vivos cuyo tamaño oscila entre 0'5 y 2 . No poseen envoltura nuclear ni núcleo (no realizan la mitosis). Solo poseen lisosomas, mesosomas y una sola cadena de ADN. Se mueven gracias a la acción de unas estructuras submicroscópicas, los flagelos. Su fina pared celular está compuesta principalmente por proteoglucanos. Se trata de las arqueobacterias y eubacterias, del reino mónera. Morfológicamente se dividen en cuatro tipos:

- Bacilos: con forma de bastón. Se suelen presentar en cadenas lineales de individuos, debido a que se dividen en una sola dirección.

- Cocos: con forma esférica. Según su dirección de división, se clasifican en:
 - + Estreptococos: con división en una dirección.
 - + Estafilococo: con división en dos direcciones.
 - + Sarcinas: con división en tres direcciones. Forma asociaciones tridimensionales regulares.
 - Vibrios: con forma de gota, originan el virus del cólera.
 - Espirilos: con forma de bastón espirilado.

Realizaremos la práctica sobre un frotis de yoghurt, en el que encontraremos dos tipos de bacterias. *Bacillus lácticus* por un lado, y *Bacillus bulgaricus* por otro. El primero produce la acidificación de la leche. El segundo transforma la leche en yoghurt.

Protocolo: extendemos un pequeña cantidad de yoghurt por un portaobjetos (es decir, hacemos un frotis de yoghurt), de la forma más fina posible. Para ello, nos ayudamos de la aguja enmangada. Para dejar fijado el yoghurt en el porta, tenemos dos métodos: físicos o químicos. Nosotros utilizaremos uno físico, como es calentar el frotis a la llama del mechero. Cuando notemos que se forma una película pétreo, cortamos la llama del mechero tres veces y ya tenemos secada y fijada la muestra.

Lavamos la muestra con solución desengrasante (alcohol + cloroformo) por arrastre sobre el cristalizador. Lavamos para eliminar la película grasa, después agitamos y secamos al aire. Una vez seco, lo teñimos con azul de metileno (colorante hidrófilo). Si no hubiéramos quitado la capa grasienta, el colorante no podría teñir las partes hidrófilas de los organismos. Colocamos las paralelas sobre el cristalizador y el porta con la muestra sobre las paralelas y le aplicamos una cantidad generosa de tinte. Esperamos 5 minutos y eliminamos el exceso con agua destilada por arrastre. Secamos y observamos:

Frotis a simple vista Frotis en microscopio óptico

PRÁCTICA 8. OBSERVACIÓN DE ORGANISMOS EUCARIOTAS UNICELULARES.

Para el mejor estudio de estos organismos, en una cápsula de Petri con agua de lluvia y hojas secas unas cuantas dejamos reposar durante varios días, y obtenemos un medio de cultivo semisólido.

Tendremos entonces distintos organismos: algas unicelulares de agua dulce, vorticelas, pulgas de agua, amebas

Protocolo: tomamos una gota del medio de cultivo con un cuentagotas, y la colocamos en el porta, lo más centrada posible. Colocamos el cubre y vamos expulsando el aire ejerciendo pequeñas presiones con la base del lápiz. Ahora dejamos reposar la muestra durante unos pocos minutos. Seguidamente, ponemos el colorante que teñirá a los organismos, en este caso será rojo neutro, que no altera la actividad (ni la vida) del organismo. Haremos la tinción por capilaridad, es decir, colocamos la gota de colorante en el filo del cubre, y observamos como va entrando sola.

PRÁCTICA 9. OBSERVACIÓN DE FENÓMENOS OSMÓTICOS.

La ósmosis es un proceso de difusión, que ocurre cuando se ponen en contacto dos disoluciones de distinta concentración, separadas por una membrana semipermeable, que impide el paso de soluto. Las distintas concentraciones tienden a igualarse, haciendo que el disolvente pase de un lado a otro de la membrana (del más diluido al más concentrado). En los seres vivos, el disolvente universal es el agua.

La membrana citoplasmática es una membrana semipermeable, y da lugar a distintas respuestas frente a presiones osmóticas del medio externo. Si el medio externo es isotónico (misma concentración de iones), la célula no se deforma. Si es hipotónico (menor concentración de iones), la célula se hincha, porque se llena de agua. Es el fenómeno de la TURGENCIA. Si el medio externo es hipertónico (mayor concentración de iones), la célula pierde agua y se desinfla, dándose el fenómeno de la PLASMÓLISIS.

Protocolo: utilizaremos la epidermis de cebolla. La colocamos sobre un porta limpio y añadimos unas gotas de rojo neutro. Para poder observar el fenómeno de turgencia, tenemos que provocar que el medio sea hipotónico. Para esto, añadimos a la muestra una gota de agua destilada, y así, la concentración del medio externo será mucho menor que la del medio interno. Ahora observamos al micro y comprobamos que las células se han inflado de agua debido a la turgencia. La pared celular es la que impide que exploten las células.

Para apreciar el fenómeno de la plasmolisis necesitamos todo lo contrario, es decir, un medio hipertónico. Para conseguirlo, secamos la muestra anterior con papel de filtro y le añadimos NaCl al 10%, consiguiendo que el medio externo esté más concentrado que el interno. Si observamos ahora al micro, veremos las células desinfladas y arrugadas, debido a la pérdida de agua del interior, por culpa de la plasmolisis.

PRÁCTICA 10. OBSERVACIÓN DE INCLUSIONES CITOPLASMÁTICAS Y ORGÁNULOS EN CÉLULAS VEGETALES

+) Cristales de oxalacetato cálcico: Los cristales de oxalacetato cálcico provienen del metabolismo celular que se encuentra en el citoplasma de algunas células vegetales.

El ácido oxalacético forma cristales en presencia del Ca^{2+} formando, el conjunto de éstos, una malla.

–PROTOCOLO:

- **Tomamos una muestra de ínfimas dimensiones del tejido epitelial de la cebolla y lo colocamos sobre un portaobjetos.**

Vamos a trabajar con las células muertas de la capa exterior que protege a la cebolla y que se denominan catáfilos.

- La muestra ha de ser perfectamente translúcida, para dicho cometido le añadiremos una gota de glicerina al 50% de pureza.
- Ya sólo falta colocar delicadamente el cubreobjetos y observar el resultado. Podremos ver pequeñas celdas hexagonales, que son los cristales de oxalacetato cálcico.

+) Observación de plastos en células vegetales:

En el citoplasma de las células vegetales podemos encontrar dos formas diferenciadas de plastos:

–Incoloros: Aminoplastos

–Coloreados: Cloroplastos

Cromoplastos

• Carotenos

• Xantofilas

→) Observación de aminoplastos:

Los aminoplastos adoptan una forma característica en cada especie vegetal. Nosotros tomaremos como objeto de esta práctica una patata

+ PROTOCOLO:

- Cortamos un trozo de patata. Exactamente estamos tomando una muestra del tejido parenquimático.
- Para conseguir separar las células del tejido parenquimático raspamos la patata, obteniendo un líquido lechoso donde se encuentran las células a observar. Le añadimos agua destilada.
- Para reconocer el almidón utilizaremos el lugol. Depositamos una gota de dicho tinte en el extremo del cubreobjetos, y por capilaridad se teñirá la muestra.

→) Observación de Cromoplastos:

Los cromoplastos son un tipo de plastos que contienen pigmentos (carotenos y xantofilas) los cuales carecen de actividad fotosintética.

La observación la vamos a realizar a partir del parénquima, un tejido que en su interior contiene una elevada cantidad de agua.

Si la práctica a realizar es correcta, observaremos unas estructuras muy brillantes que corresponden a las moléculas de almidón.

La muestra aparecerá coloreada, pues alrededor del núcleo aparecen unos puntos coloreados que le dan al tomate su color. Estos puntos son los cromoplastos.

+ PROTOCOLO:

- Cogemos una pequeña muestra de pulpa de tomate (lo mas fina posible). No hará falta hidratar la muestra puesto que dichas células poseen mucho agua.
- A nuestra preparación le colocamos el cubreobjetos y procederemos a observarla.

PRÁCTICAS 11 Y 12. OBSERVACIÓN DE TEJIDOS VEGETALES

- Estomas
- Tricomas
- Esclerenquima
- Xilema y Floema

PRÁCTICA 13. PREPARACIÓN Y OBSERVACIÓN DE FROTIS SANGUÍNEO.

INTRODUCCIÓN:

La sangre es un tejido formado por células especializadas en distintas funciones (desarrollo, defensa, etc...).

Tiene dos tipos de componentes:

- Plasma: componente líquido.
- Elementos formes: componente sólido.
- Glóbulos rojos o hematites: contienen el pigmento hemoglobina que transporta O₂ y CO₂. Son las células más abundantes.

- Glóbulos blancos o leucocitos: son células incoloras de gran tamaño y con núcleo. Tienen función de defensa. Son menos abundantes que los glóbulos rojos.

Hay 2 tipos de leucocitos:

- Granulocitos: se forman en la médula ósea roja. Hay de tres tipos:
- Neutrófilos: poseen un núcleo fragmentado en varias partes unidos por fragmentos nucleares. Poseen del orden de un 60 o 70% de frecuencia entre todos los leucocitos.
- Eosinófilos: núcleo único con dos lóbulos unidos entre sí. Tienen entre un 1 y un 4%.
- Basófilos: núcleo compactado. Existen en una proporción del 0,5%.

2– Agranulocitos: tiene su origen en los órganos linfáticos. Hay 2 tipos:

- Linfocitos: el núcleo ocupa casi toda la célula.
- Monocitos: el citoplasma se observa claramente, aunque el núcleo sea grande.

3–Plaquetas: son fragmentos originados a raíz de megacariocitos que están en el plasma.

Cuando es necesaria la coagulación la plaqueta expulsa la enzima tromboplasquinasa que actúa sobre la tromboplasquina dando lugar al tromboplastinógeno que potencia la coagulación.

PROTOCOLO:

Utilizamos el colorante Giemsa que tiñe los glóbulos rojos de color rosa pálido, y los glóbulos blancos de color fucsia.

- Realizamos una punción en la mano izquierda (desechamos la primera gota de sangre), colocamos la sangre en el borde de un portaobjetos previamente desengrasado y seco.
- Con un segundo portaobjetos (de bordes esmerilados) hacemos un frotis o extensión de la siguiente forma:

Cuando esté hecha la extensión, se deja secar unos minutos.

- Fijamos la muestra con metanol, y lo dejamos que actúe durante 8 minutos.
- Pasado el tiempo, eliminamos el resto de alcohol y lo dejamos secar al aire.
- Añadimos a la muestra el colorante mencionado al principio de la práctica y dejamos actuar durante 30 minutos.
- Pasado el tiempo se lava la muestra con agua destilada sobre el cristalizador y se deja secar al aire.

RESULTADOS:

PRÁCTICA 14– OBSERVACIÓN DE TEJIDO ANIMAL

–Tejido Epitelial: es el tejido que recubre todas las cavidades internas. También llamado epitelio de revestimiento. Lo podemos clasificar atendiendo a:

+ N° de capas

+ Formas de las células

+ N° de células

Para realizar esta práctica que consiste en observar el epitelio vamos a utilizar el tejido que tapiza la cavidad

bucal (mucosa bucal). En la mucosa bucal las células están adosadas unas a otras, siendo un epitelio plano estratificado con varias capas.

– PROTOCOLO:

- Rascamos el interior de la boca con la capucha de un bolígrafo.
- Depositamos el material blanquecino en un portaobjetos añadiéndole una gota de agua
- Lo extenderemos sobre dicho porta con una aguja enmangada.
- Secamos la muestra con el mechero hasta que tome un color blanco intenso.
- Una vez seco, lo fijamos. Para esto podemos elegir entre utilizar el calor o un fijador, en nuestro caso utilizaremos el metanol.
- Ahora lo teñimos con azul de metileno, cubriendo toda la muestra y dejando que actúe durante 5 o 10 minutos.
- Eliminamos el exceso de colorante vertiéndolo sobre el cristalizador y posteriormente añadiremos a la mezcla para eliminar posibles impurezas.

La segunda parte de la práctica la vamos a realizar observando el epitelio cilíndrico vibrátil (posee cilios para moverse) que tomaremos de un mejillón.

– PROTOCOLO:

- Cortamos un trozo de mejillón correspondiente a la zona que mantiene unidas a las vulvas, este tejido contiene los cilios a observar.
- Utilizando las pinzas separamos las distintas capas de forma que nos quede lo mas fino posible y lo colocamos sobre el portaobjetos.
- Colocamos encima un cubreobjetos y lo presionamos con la aguja enmangada.
- Ahora procederemos a la tinción de la muestra. Para ello añadiremos a la muestra una gota de colorante rojo neutro, que esta absorberá por capilaridad.
- Eliminamos los excesos de colorante con papel de filtro.

De esta forma quedan teñidas las células, especialmente los núcleos, sin intervenir en la actividad de los cilios.

– Tejido Conectivo: tejido cuya misión es unir a los demás tejidos. Sus células no presentan unión entre ellas, sino que están inmersas en una matriz o sustancia fundamental y las fibras producidas por las células.

Vamos a observar 2 tejidos conectivos distintos:

+ Adiposo

+ Cartilaginoso

+) Adiposo: sus células son los adipocitos y sirve para acumular la grasa, por lo que utilizaremos un colorante lipófilo denominado Sudán 3, el cual da un tono rojizo a las grasas que se encuentran en el interior de los adipocitos antes nombrados.

+ PROTOCOLO:

- Hacemos un corte transversal a un trozo de tocino.
- Añadimos unas gotas de formol al 4%, dejándolo que repose 5 minutos.
- Ecurrimos el formol y lavamos la muestra con agua destilada.
- Cubrimos la muestra con el Sudán 3 y la dejamos reposar durante 5 minutos.
- Eliminamos los restos de colorante sobrante.

- Añadimos una gota de glicerina al 50% y le colocamos el cubreobjetos haciendo un poco de presión con la aguja enmangada.

+ Tejido Cartilaginoso Hialino: es el tejido que corresponde a la cabeza del hueso.

Procederemos a hacer una tinción diferencial, utilizando 2 colorantes diferentes.

- **PROTOCOLO:**

- Cortamos un trozo de la apófisis de un hueso de pollo.
- Lo colocamos en el portaobjetos y lo cortamos por la mitad, con la parte del interior de la hipófisis mirando hacia abajo.
- Depositamos un trozo lo mas fino posible en el porta y comenzamos la tinción.
- Añadimos unas gotas de hematosina y dejamos actuar 10 minutos, posteriormente eliminamos los restos de colorante con agua destilada.
- Fijamos la muestra con alcohol acético y esperamos 3 minutos.
- Lavamos la muestra con agua y la dejamos reposar. Le añadimos el colorante heosina y dejamos actuar durante 5 minutos.
- Pasado el tiempo de tinción lavamos los restos sobrantes con agua y añadimos una gota de glicerina al 50%.
- La muestra está preparada para ser observada.

Vamos a observar células cartilagosas, que son: los condrocitos y los condroblastos. Para observarlas mejor ajustaremos adecuadamente el diafragma.

PRÁCTICA 15– MITOSIS EN LA RAIZ DEL AJO

Esta práctica la vamos a realizar con el tejido meristemático (conserva siempre su capacidad de reproducción) de la raíz de un ajo. En el ápice de la raíz se encuentra dicho tejido.

Observaremos 2 procesos bien diferenciados:

- División Nuclear: Cariocinesis
- División Citoplasmática: Citocinesis
- Germinación de las raíces para que no se pudran: Se oxigenan dichas raíces utilizando el motor de una pecera. Después de un tiempo, en la raíz, observamos que han crecido dos partes:

+ Ápice

+ Unión con el ápice

Introducimos en el pocillo y lo sometemos a la acción del clorhídrico en caliente, que disuelve la pared celular y permite ver toda las células en el plano.

- utilizando unas pinzas finas, colocar uno de los trozos de la raíz sobre un vidrio de reloj agregando varias gotas de orceína.
- La orceína se daña por acción de la luz y en el momento de la tinción (35 minutos) precipita y puede llegar a desaparecer, por lo que debemos ir añadiendo el colorante continuamente. Cuando han pasado 35 minutos, cogemos una de las raíces y le cortamos el ápice con el escalpelo. Para distinguir el ápice observaremos que este ha engordado debido a la acción de la orceína.
- Colocamos el ápice sobre un portaobjetos y le añadimos una gota de colorante orceína B. Colocamos un cubreobjetos y presionamos hasta que el ápice aparezca difuminado.