

Manual

de laboratorio de biología

- Bernardo Chataing
- Elsa Nieves



PUBLICACIONES
VICERRECTORADO ACADÉMICO
CODEPRE

Manual de laboratorio de biología

Manual de laboratorio de biología

- Bernardo Chataing
- Elsa Nieves

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
Autoridades Universitarias

- *Rector*
Mario Bonucci Rossini
- *Vicerrector Académico*
Manuel Dagert
- *Vicerrector Administrativo*
Manuel Aranguren
- *Secretaria*
José María Anderez

PUBLICACIONES
VICERRECTORADO
ACADÉMICO

- *Director*
Manuel Dagert
- *Coordinación editorial*
Luis Ricardo Dávila
- *Producción editorial*
Yelliza A. García A.

COLECCIÓN
Textos Universitarios

Comité editorial
María del Carmen Araque
Bernardo Fontal
Raquel Flores
Osmán Gómez
Hebert Lobo
Josefina Peña
Marlene Peñaloza
Iris Perdomo
José Villalobos

COLECCIÓN
Textos Universitarios

Publicaciones
del Vicerrectorado
Académico

Manual de laboratorio de biología

Primera edición, 2009

- © Universidad de Los Andes
Vicerrectorado Académico
CODEPRE
- © Bernardo Chataing / Elsa Nieves

- *Concepto de colección
y diseño gráfico*
Kataliñ Alava
- *Corrección*
Fredy Parra Jahn
- *Impresión*
Centro Editorial Litorama, C.A.

HECHO EL DEPÓSITO DE LEY
Depósito Legal: LF 23720085741415
ISBN: 978-980-11-1151

Prohibida la reproducción
total o parcial de esta obra
sin la autorización escrita
del autor y el editor

Universidad de Los Andes
Av. 3 Independencia
Edificio Central del Rectorado
Mérida, Venezuela
publicacionesva@ula.ve
[http://viceacademico.ula.ve/
publicacionesva](http://viceacademico.ula.ve/publicacionesva)

- Los trabajos publicados en la
Colección Textos Universitarios
han sido rigurosamente
seleccionados y arbitrados
por especialistas en las
diferentes disciplinas.

Impreso en Venezuela
Printed in Venezuela

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
Autoridades Universitarias

- *Rector*
Mario Bonucci Rossini
- *Vicerrectora Académica*
Patricia Rosenzweig
- *Vicerrector Administrativo*
Manuel Aranguren Rincón
- *Secretario*
José María Andrés

PUBLICACIONES
VICERRECTORADO
ACADÉMICO

- *Dirección editorial*
Patricia Rosenzweig
- *Coordinación editorial*
Víctor García
- *Coordinación del Consejo editorial*
Roberto Donoso
- *Consejo editorial*
Rosa Amelia Asuaje
Pedro Rivas
Rosalba Linares
Carlos Baptista
Tomasz Suárez Litvin
Ricardo Rafael Contreras
- *Producción editorial*
Yelliza García A.
- *Producción libro electrónico*
Miguel Rodríguez

Primera edición digital 2011

Hecho el depósito de ley

Universidad de Los Andes
Av. 3 Independencia
Edificio Central del Rectorado
Mérida, Venezuela
publicacionesva@ula.ve
publicacionesva@gmail.com
www2.ula.ve/publicacionesacademico

Los trabajos publicados en esta Colección han sido rigurosamente seleccionados y arbitrados por especialistas en las diferentes disciplinas

PREFACIO

Los avances en la investigación biológica abren nuevos caminos a la enseñanza y la comprensión de las ciencias biológicas que representan un gran reto, con nuevos desafíos. Estos cambios y nuevos conocimientos de la biología nos han dado la oportunidad de brindar nuestro esfuerzo por presentar una serie de trabajos de laboratorio sencillos, fáciles de realizar, dinámicos y de bajo costo que se adaptan a los tiempos de hoy.

El presente *Manual de laboratorio de biología* ha sido diseñado para facilitar el aprendizaje a los estudiantes que se inician en el campo del estudio del fascinante mundo de las ciencias biológicas. El Manual ha sido preparado teniendo en cuenta el perfil de un investigador, utilizando el método científico como su eje fundamental, para facilitar el aprendizaje de los conceptos más generales de las ciencias biológicas que complementan la programación teórica en Biología que recibe el estudiante. Con este manual se pretende establecer un contacto directo con los fenómenos biológicos y las actividades de investigación científica, de tal manera que podamos preparar profesionales calificados y con una formación integral en el conocimiento biológico.

En el Manual se incluyen aspectos básicos para la realización de los trabajos prácticos como el uso adecuado de un instrumental básico, el microscopio, la balanza, el pHmetro, el espectrofotómetro, entre otros; los fundamentos básicos de las técnicas utilizadas en los procesos biológicos así como actividades de desarrollo científico, normas de bioseguridad y actividades de campo.

Para que el estudiante por sí mismo evalúe su aprendizaje, se han introducido conceptos básicos, literatura apropiada, ejercicios y cuestionarios de autoevaluación en cada una de las prácticas.

Bernardo Chataing
Elsa Nieves

Objetivo

Este manual de prácticas tiene como objetivo introducir al estudiante universitario en la observación directa de los fenómenos biológicos, a través del método científico y consolidar los conocimientos de la teoría de un curso introductorio de Biología General, de tal manera que sea capaz de aplicar conceptos y relacionarlos, además de facilitar la integración del conocimiento y despertar el interés del estudiante en esta ciencia.

Instrucciones generales

El *Manual de laboratorio de biología* es un auxiliar didáctico al estudio de las “Ciencias de la vida”. Se ha planificado, de tal manera, que el estudiante reciba una información sobre la naturaleza del fenómeno “vida”, “los organismos vivos” y el “método científico”, de una manera general, lo cual le permite integrar los conocimientos de la Biología básica que ha adquirido en los cursos previos, así como sentar las bases de los conocimientos que irá adquiriendo en los cursos más avanzados.

La biología, actualmente, tiene un amplio espectro de acción y está involucrada en una serie de actividades que de una u otra forma, inciden en el comportamiento del individuo y en su entorno. Ya no podemos hablar de la biología como una ciencia que se divide en áreas conexas a través del fenómeno “vida”, sino que también involucra un cambio radical en la forma de pensar y actuar de los individuos y su relación con temas sociales como la sobrepoblación, la contaminación, la bioética, etc. Inicialmente, y hasta cerca de la tercera parte del siglo XX, se mantuvo una división de la biología en áreas como la botánica y la zoología, la ecología, la bioquímica y la biofísica, la evolución, la genética y la fisiología. Esta división, aun cuando se presentó con fines prácticos, ha sido desbordada por el desarrollo que se ha logrado en la biología, lo cual ha ampliado de tal manera sus fronteras que ahora incluye campos tan diversos como la cibernética, la ingeniería y la manipulación genética; la producción de organismos artificiales a través de manipulaciones de células, como en el estudio de células madres; su

impacto en la medicina y en la producción de productos medicinales y de uso industrial; en el medio ambiente y en la agricultura, en la que se están produciendo especies manipuladas por el hombre, como en el caso de los productos transgénicos de consumo humano y animal que han llevado a una controversia en la sociedad que no se conocía desde los tiempos de la presentación de la teoría evolucionista de Darwin. En este aspecto, la biología ha pasado a constituir una herramienta del conocimiento necesaria para poder resolver algunos de los múltiples problemas sociales que aquejan a la sociedad moderna.

En este manual presentamos un conjunto de prácticas que representan modelos de estudio en cada una de las áreas clásicas de la biología con la finalidad de que permitan al estudiante tener una idea más integradora de los procesos biológicos fundamentales.

Temas

Tres pilares fundamentales constituyen los temas del *Manual de laboratorio de biología*: introducción al método científico, la vida como un fenómeno fisicoquímico y los fenómenos biológicos fundamentales.

Normas para el trabajo en el laboratorio

El laboratorio es un lugar de trabajo en el que se realizan los experimentos diseñados previamente para contrastar una hipótesis por medio de resultados observables cualitativamente o cuantitativamente. Es por ello, que debe ser un lugar agradable que invite a pensar y a reflexionar sobre el problema por resolver o por observar, y para esto, debemos mantenerlo limpio, cuidar los instrumentos y colocar cada cosa en su lugar, así como mantener y poner en práctica las medidas de seguridad personal, tales como el uso de la bata de laboratorio.

Autoevaluación

En cada práctica de laboratorio el estudiante tiene la oportunidad de evaluar su dominio del tema.

Glosario

El aprendizaje se facilita por la identificación de términos clave y sus definiciones, por medio de ejercicios y cuestionarios.

- Introducción
- Objetivos
- Conocimientos necesarios
- Experimental
- Ejercicios y autoevaluación
- Bibliografía

Introducción

La ciencia es la actividad humana que racionaliza la comunicación del hombre con el universo. Su avance se sustenta, paradójicamente, en la negación del conocimiento prevaleciente y tomando como válido un nuevo conocimiento. Este raciocinio comprende desde la indagación empírica y la simple lógica deductiva hasta la investigación dirigida, utilizando equipos, técnicas, análisis, etc. El conocimiento científico se enriquece sobre la base de la refutación de las tesis existentes tomadas como verdades, exponiendo sus errores, limitaciones o, simplemente, su falsedad, cuando sus conclusiones no resisten las evidencias expuestas por la estricta aplicación del método científico. Este consiste en el proceso de observar, cuantificar, valorar y juzgar nuestro entorno, de modo objetivo, con el propósito concreto de aprenderlo y entenderlo, mejorando o negando afirmaciones previas.

Objetivos

Analizar el método científico y sus alcances, analizar las técnicas de investigación y examinar algunos problemas en la investigación científica actual. Relacionar la investigación con la sociedad.

Conocimientos necesarios

Los siguientes términos: ciencia, la biología como ciencia, áreas de la biología, metodología de la investigación científica, perspectivas del biólogo en Venezuela.

Experimental

A) Resolver y discutir los siguientes ejercicios

1 ¿Cuál es la relación entre una hipótesis y un experimento?

2 ¿Cuál es la diferencia entre estas dos frases?

- Juan es pesado.

- Juan pesa 80 Kg.

- ¿Cuál de las dos es de mayor utilidad para un trabajo científico?

3 Hay diferentes formas mediante las cuales pueden ser clasificadas las propiedades de un objeto. Una de ellas es en estructuras y funciones.

• Diga si las siguientes propiedades son estructurales o funcionales:

a) pelota de goma

b) misil cilíndrico

c) catalizador

d) computador

e) termómetro

f) átomo de hidrógeno.

4 ¿Cuál o cuáles de las siguientes características se adaptan al pensamiento científico?:

a) subjetividad

b) objetividad

c) especulación

d) formal

e) experimentación.

5 Para dar validez a sus experimentos, un científico quería probar la efectividad de una vacuna. Se fue a una población que estaba compuesta por 50% de nativos y 50% de no nativos. Se suponía que la vacuna podría prevenir cierta enfermedad a la cual eran susceptibles. ¿Cuál de las siguientes pruebas debió hacer el científico para probar el suero de una manera válida?

a) Vacunar a los nativos, pero no a los otros habitantes y observar los resultados.

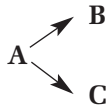
b) Vacunar a los otros habitantes y no a los nativos y observar los resultados.

c) Aplicar la vacuna a los nativos y una solución de sal inocua a los otros habitantes y observar los resultados.

d) Aplicar la vacuna a la mitad de los nativos y a la mitad de los otros habitantes y darles a las respectivas mitades una solución de sal inocua.

- e) Ud. no puede llevar a cabo un experimento controlado válido con seres humanos porque estos son muy complejos.

6 Un biólogo encuentra que al remover el órgano A, una glándula endocrina de un mamífero adulto, causa que los órganos B y C dejen de funcionar. El órgano B es también una glándula endocrina. Las tres explicaciones posibles para este hecho, que se han representado en el diagrama a continuación con el símbolo $A \rightarrow B$, que quiere decir “A es necesario para B”, son las siguientes:



- a) Diseñe un experimento o experimentos que ponga a prueba estas posibilidades y que nos permitan distinguir entre ellas.
 b) ¿Cuál o cuáles son variables dependientes y cuál o cuáles son las variables independientes?

7 Explique por qué la siguiente hipótesis es inaceptable para un científico: la vida se originó en otro planeta en algún punto del universo y llegó a la Tierra hace millones de años dentro de un meteoro.

8 De las siguientes observaciones obtenidas de un experimento sobre la nutrición mineral en plantas, trate de llegar a una conclusión con respecto al factor o factores necesarios para el desarrollo de clorofila en las plantas verdes.

- Observación # 1: Las plantas que crecieron en terreno que contenía cloruro, pero sin magnesio y suficiente luz, se pusieron verdes.
- Observación # 2: Las plantas que crecieron en un terreno que contenía cloruro, pero sin magnesio y que fueron expuestas a la luz, permanecieron descoloridas.
- Observación # 3: Las plantas crecidas en terreno que contenía cloruro y magnesio, pero que se mantuvieron en la oscuridad, permanecieron descoloridas.
- Observación # 4: Las plantas desarrolladas en terreno que contenía magnesio pero no contenía cloruro y fueron expuestas a la luz, se pusieron verdes.
- Observación # 5: Las plantas desarrolladas en terreno que contenía cloruro pero no magnesio, y que se mantuvieron en la oscuridad, permanecieron descoloridas.
- Observación # 6: Las plantas que crecieron en terreno que no contenía ni magnesio ni cloruro pero fueron expuestas a la luz, permanecieron descoloridas.
- Observación # 7: Las plantas que crecieron en terreno que contenía magnesio pero no contenía cloruro y se mantuvieron en la oscuridad, permanecieron descoloridas.
- Observación # 8: Las plantas que crecieron en terreno que no contenía ni cloruro ni magnesio y que permanecieron en la oscuridad, permanecieron descoloridas.

Conclusión:

El (los) factor(es) que inciden en el desarrollo de la clorofila, como puede juzgarse de los experimentos anteriores es (son)...

9 El impacto ambiental resultante del turismo practicado en áreas protegidas, que crea situaciones cuyas consecuencias son desastrosas para la naturaleza y, por eso, debe ser controlado, a fin de evitar un mal mayor.

- Todas las alternativas presentan situaciones de este tipo excepto, por ejemplo:
 - a) La introducción de animales exóticos que no compiten con especies nativas.
 - b) La colección de animales, plantas y rocas que no dañan los atractivos naturales.
 - c) La pesca con caña que no amenaza con la extinción de especies de peces.

10 ¿Cuales son los pasos del método científico?

B) Examine algunos problemas científicos

1 El estudiante recibirá el siguiente material: tesis, monografía, seminario, libros, artículos científicos.

- Formará grupos de discusión para:
 - a) Estudiar las características de los materiales recibidos y sus diferencias.
 - b) Realizar la ficha bibliográfica respectiva.
 - c) Plantear un problema y utilizando el método científico esquematizar los pasos.
 - d) Leer un artículo científico y realizar un resumen:

► Roche M. Nueva tendencia de la investigación científica venezolana. En: Péfaur J, Fuenmayor F, editores. Deambular por la ciencia. Mérida: Publicaciones Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes; 1999. p. 137-138.

Ejercicios y autoevaluación

Los ejercicios del presente tema se encuentran en la página WEB “el placer de aprender ciencias del Centro SOLCYT de la Facultad de Ciencias. ULA y en <http://web-delprofesor.ula.ve/ciencias/chataing>. En esta última web puede encontrar un variado número de enlaces que le permitirán tener acceso a muchos tópicos de la biología.

1. ¿Cuáles son las dimensiones éticas de la ciencia?
2. ¿Cómo explicaría el método científico?

3. ¿Qué se entiende por un experimento “controlado”?
4. Defina “hipótesis”.

► Bibliografía

- Baker JJ, Allen GE. Biología e investigación científica. México: Fondo Educativo Interamericano S.A; 1970.
- Polit DF, Hungler BP. Investigación Científica. En: Ciencias de la Salud. México: Mc Graw-Hill Interamericana; 1997.
- Tamayo-Tamayo M. El proceso de la investigación científica. México: Editorial Limusa; 1999.
- Chataing B. Introducción a la bioquímica celular, Vol. 1. Mérida: Consejo de Publicaciones de la Universidad de Los Andes; 1995.
- Roche M. Nueva tendencia de la investigación científica venezolana. En Péfaur J, Fuenmayor F, editores. Deambular por la ciencia. Mérida: Publicaciones Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes; 1999. p. 137-138.

ANOTACIONES

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____
7. _____
8. _____
9. _____
10. _____
11. _____
12. _____
13. _____
14. _____
15. _____
16. _____
17. _____
18. _____
19. _____
20. _____
21. _____
22. _____
23. _____

ANOTACIONES

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____
7. _____
8. _____
9. _____
10. _____
11. _____
12. _____
13. _____
14. _____
15. _____
16. _____
17. _____
18. _____
19. _____
20. _____
21. _____
22. _____
23. _____
24. _____
25. _____
26. _____
27. _____
28. _____
29. _____
30. _____
31. _____
32. _____
33. _____
34. _____
35. _____
36. _____
37. _____
38. _____
39. _____
40. _____
41. _____
42. _____
43. _____

- Introducción
- Objetivos
- Conocimientos necesarios
- Experimental
- Ejercicios y autoevaluación
- Bibliografía

2

Introducción

Como todo en nuestro planeta, los seres vivos están compuestos por átomos y moléculas. En los seres vivos estos elementos básicos están organizados de una manera muy específica formando polímeros o agregados de alto peso molecular, como son los polisacáridos, las proteínas, los ácidos nucleicos y los lípidos que aun cuando no forman polímeros se asocian entre sí. Los átomos y las moléculas también interactúan unos con otros, en una forma muy precisa de manera que mantienen el flujo de energía necesario para la vida. Gran parte de la biología moderna se enfoca en la biología molecular: esto es, la química y física de las moléculas que constituyen a los seres vivos. Para entender los procesos que rigen la vida es necesario conocer algunos principios básicos de la fisicoquímica.

Objetivos

Los organismos vivos realizan diferentes tipos de trabajo biológico (mecánico, eléctrico, visual, transporte, etc.) que depende de las particularidades de cada organismo. Este trabajo biológico se realiza en la mayoría de los casos manteniendo sus moléculas en un medio acuoso, formando soluciones. De hecho, para realizar los experimentos biológicos es necesario preparar soluciones, la mayoría de ellas muy específicas para cada tipo de experimentos que se realiza. Por ejemplo, es conocido que muchas enzimas funcionan solamente en una determinada solución, la cual debe contener, no solamente algunos de los factores esenciales para su actividad, sino que los mismos, deben estar en cantidades definidas. Es por ello, que se requiere un conocimiento de las unidades de concentración para preparar soluciones y de los métodos más simples para llevar a cabo este proceso en el laboratorio. Así, el principal objetivo de esta práctica es introducir al estudiante en la preparación de soluciones de concentraciones conocidas.

Para ello se debe:

- Ubicar el fenómeno vida como un sistema fisicoquímico, familiarizarse con los componentes más simples que constituyen la materia viva como lo son los átomos y las moléculas que participan en la formación y en los procesos metabólicos de los seres vivos.
- Conocer las diferentes formas de expresar concentraciones de soluciones.
- Introducir al estudiante en los principios básicos de la instrumentación científica.
- Definir y usar términos físico-químicos.

Conocimientos necesarios

Macromoléculas biológicas.

Preparación de soluciones.

Bioseguridad en el laboratorio.

Experimental

A) Lea el siguiente texto y discútalos con el profesor y sus compañeros:

1 NORMAS DE TRABAJO EN EL LABORATORIO

1.1 DE LAS ÁREAS DEL LABORATORIO

- En el laboratorio hay áreas exclusivas para trabajar con parásitos y animales infectados y áreas para labores rutinarias. **NUNCA TRABAJE LOS PARÁSITOS Y ANIMALES INFECTADOS FUERA DE LAS ÁREAS ESTABLECIDAS.** Utilice en las áreas contaminantes papel para delimitar el área de trabajo y límpiela cuidadosamente una vez finalizada su experiencia.
- NO TRANSITE CON MATERIAL CONTAMINANTE A TRAVÉS DEL LABORATORIO. TRATE DE MANTENER TODO EL EQUIPO Y EL MATERIAL NECESARIO EN EL ÁREA DE TRABAJO ANTES DE COMENZAR.**
- NO COMA NI BEBA** dentro de las áreas del laboratorio. Utilice las oficinas o el salón de docencia para ello. Recuerde que cualquier alimento o bebida dentro del laboratorio pudiera contaminarse o contaminar el área poniendo en peligro su salud.
- Si tiene visitas, utilice el salón de docencia o atiéndalas fuera del laboratorio. De esta manera no interrumpe las labores de otras personas que trabajan en el mismo.

1.2 REACTIVOS

- a) Los reactivos del laboratorio deben permanecer en su lugar respectivo. Si necesita de un reactivo tome la cantidad que necesite del envase SIN INTRODUCIR SUSTANCIAS O UTILIZAR LAS ESPÁTULAS, QUE NO HAYAN SIDO PREVIAMENTE LIMPIADAS, DENTRO DEL MISMO. Al finalizar coloque el envase en su sitio respectivo. NO DEVUELVA MATERIAL QUE HA SIDO SACADO DEL ENVASE AL MISMO, SI NO ESTÁ SEGURO DE QUE NO SE ENCUENTRA CONTAMINADO O MEZCLADO CON OTRAS SUSTANCIAS.
- b) En el caso de que se acabe un reactivo, repórtelo inmediatamente para solicitarlo.
- c) Los reactivos en la cava deben ser sacados, utilizados inmediatamente y retornados a la misma en el menor tiempo posible. En el caso de los reactivos almacenados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, espere que el frasco alcance la temperatura ambiente antes de abrir y pesar la cantidad requerida.
- d) No guarde reactivos ni soluciones en matraces aforados u otro material de vidrio de uso cotidiano en el laboratorio como es el caso de cilindros, fiolas, etc. Guarde sus reactivos en botellas.

1.3 EQUIPOS

- a) Los equipos deben ser mantenidos completamente limpios después de haber sido utilizados
- b) Si no sabe como opera un equipo, solicite el catálogo de funcionamiento o que se le enseñe a operarlo.

• La balanza:

Esta debe estar completamente limpia antes de pesar cualquier sustancia y una vez utilizada debe tener cuidado de mantenerla en condiciones excelentes de limpieza. NUNCA QUITE DE LA BALANZA LA SUSTANCIA PESADA SI ANTES LA BALANZA NO HA SIDO APAGADA. No deje derramar líquidos o sustancias corrosivas sobre la balanza.

• Las centrífugas:

- Es recomendable secar las centrífugas refrigeradas después de una hora de haber sido utilizadas.

- Los rotores y tubos de centrífuga deben ser lavados con agua destilada después de su uso. No utilice solventes orgánicos en los tubos de centrífuga para lavarlos o realizar centrifugaciones si antes no ha consultado la resistencia del tipo de tubo a dicho solvente.

- Chequee la velocidad máxima permitida para el rotor que va a utilizar. Así mismo, chequee el modelo de centrífuga en el cual es posible utilizar el rotor.

• El espectrómetro:

- Estos equipos son muy delicados por lo cual es conveniente leer las instrucciones de uso antes de ser utilizados.

1.4 MATERIAL DE VIDRIO FUNGIBLE

- a) El material de vidrio y los fungibles deben ser colocados en su sitio después de haber sido utilizados. Lave el material de vidrio cuidadosamente y enjuáguelo al menos tres veces con agua destilada.
- b) Si utilizó material de vidrio con sustancias u organismos contaminantes, debe ASEGURARSE DE LAVARLO PREVIAMENTE CON CLORO o con hipoclorito de sodio u otro producto desinfectante antes de colocarlo en el fregadero. Trate de utilizar guantes al lavar el material.
- c) No utilice material de vidrio roto y cuando se rompa algún material, sepárelo del resto y repórtelo.

B) Realice los cálculos básicos y discuta los aspectos de instrumentación científica**1** Repasar cálculos básicos:

a) Diluciones seriadas:

Si tienes una solución de cloruro de sodio (NaCl) al 10% y quieres una solución 1.000.000 de veces más diluida. ¿Cómo procedes?

b) Porcentaje:

- Deseas preparar 30 ml de formol al 70%. ¿Cómo procedes?

- ¿Como procedes para preparar 100 cc de glucosa al 1%?

2 Manejo, cuidados y recomendaciones en el uso de la instrumentación científica:

- Cristalería: pipetas, cilindros graduados, vasos precipitados, etc.

- pHmetro

- balanza

- agitador magnético

- reactivos

- destilador

- autoclave

C) Preparación de soluciones

Siguiendo las instrucciones del profesor, prepare las siguientes soluciones:

1. 50 ml de una solución de alcohol 70%. (v/v) en agua.
2. 10 ml de una solución de formol al 5%.
3. Solución salina isotónica (SSI) (0,15 M NaCl)
 - NaCl (8,5 g)
 - H₂O destilada (1000 ml)

Disuelva la sal en un cierto volumen de agua y lleve luego a su volumen final con el resto del agua. Distribuir a razón de 100 ml por cada botella de 250 ml, autoclavar a 15 lbs, 250 °F por 15 minutos.

Cada grupo preparará 100 ml

4. Solución salina fosfatada (SSF) (0,15 M, pH 7,2)
 - NaCl (8,00 g)
 - KCl (0,20 g)
 - Na₂HPO₄ (fosfato básico de sodio) (1,15 g)
 - KH₂PO₄ (fosfato ácido de potasio) (0,20 g)
 - H₂O destilada hasta (1000 ml)

Disolver la sal en un cierto volumen de agua y llevar luego a volumen final con el resto del agua. Ajustar el pH requerido, autoclavar.

Cada grupo preparará 100 ml.

5. Solución de Carnoy (30 ml)
 - Alcohol absoluto (6 partes)
 - Acido acético glacial (1 parte)
 - Cloroformo (3 partes)
 - Cada grupo preparará 30 ml

Ejercicios y autoevaluación

1. ¿Cuáles son las normas y hábitos que deben ser adoptados en un laboratorio?
2. ¿Qué distingue a un soluto de un solvente?
3. ¿Cuáles son los cuidados y recomendaciones en el uso de la:
 - cristalería,
 - pHmetro,
 - balanza?
4. Al pesar un reactivo, ¿qué cuidados hay que tomar en cuenta?

► Bibliografía

- Donald V. Bioquímica. Manual de soluciones. España: Ediciones Omega; 1993.
- Nelson DL, Cox MM. Lehninger AL. Principios de bioquímica. España: Ediciones Omega; 2001
- Chataing B. Preparación de soluciones. Temas de técnicas disponible en URL:
- webdelprofesor.ula.ve/ciencias/chataing.

ANOTACIONES

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____
7. _____
8. _____
9. _____
10. _____
11. _____
12. _____
13. _____
14. _____
15. _____
16. _____
17. _____
18. _____
19. _____
20. _____
21. _____
22. _____
23. _____
24. _____
25. _____
26. _____
27. _____
28. _____
29. _____
30. _____
31. _____
32. _____
33. _____
34. _____
35. _____
36. _____
37. _____
38. _____
39. _____
40. _____
41. _____
42. _____
43. _____

- Introducción
- Objetivos
- Conocimientos necesarios
- Experimental
- Autoevaluación
- Fotografías
- Bibliografía

Introducción

La complejidad real de nuestro medio ambiente no fue apreciada hasta que el uso del microscopio reveló la existencia de los microorganismos. El hombre en su intensa búsqueda del conocimiento del mundo que lo rodea, ha construido una serie de instrumentos para ampliar su campo de observación. El microscopio es un instrumento de gran ayuda para el biólogo, que cada día amplía su campo de acción, obviando en cierta manera la limitación de los sentidos.

Objetivos

- El estudiante debe ser capaz de identificar las partes del microscopio óptico y usarlo adecuadamente.
- Reconocer la importancia del microscopio en el trabajo del biólogo y reconocer los diferentes tipos de microscopios.

Conocimientos necesarios

Lea el siguiente texto:

Cuidados que requiere el microscopio óptico:

Existen distintos modelos de microscopio que se adaptan a diferentes aplicaciones. Todos ellos constan de tres partes:

- Sistema mecánico
- Sistema óptico
- Sistema de iluminación

Como todo instrumento, debe tratarse con cuidado para que se conserve en buen estado. En el caso de la manipulación del microscopio ten siempre presente las siguientes precauciones:

1. Debe trasladarlo agarrándolo por el asa con una mano y apoyando el pie del microscopio sobre la palma de la otra mano. Así evitará que las lentes, tubo y espejo puedan salirse de su sitio.
2. Evite por todos los medios la caída de cualquiera de las lentes, porque esto las inutiliza.
3. Bajo ninguna circunstancia debe sacar los objetivos del revólver.
4. Todas las partes movibles del microscopio funcionan suave y fácilmente. Si esto no ocurre comuníquese de inmediato a su profesor.
5. Nunca debes tocar con los dedos la superficie de las lentes.
6. La limpieza de las lentes sólo debe hacerse con papel especial para lentes; cualquier otro material puede dejarle pelusas o producir rayas en los vidrios.
7. Si las lentes tienen grasa, use el papel para lentes ligeramente humedecido con xilol e inmediatamente seque con otro papel del mismo tipo. Jamás use alcohol, ni xilol en exceso, pues disuelven el cemento que pega las lentes.
8. Si involuntariamente se mojan las lentes, límpielas inmediatamente con papel para lentes.
9. La platina también debe mantenerse seca y limpia. Si por cualquier circunstancia se moja, séquela de inmediato con un paño limpio y suave.
10. Retire el porta-objetos al finalizar el trabajo y guarde el microscopio en su caja o cúbrelo con su funda.

Manejo del microscopio

1. Identifique el objetivo de menor aumento y colóquelo en su sitio girando el revólver. Haciendo uso del tornillo macrométrico, baja la platina con lentitud.
2. Mueva el condensador hacia arriba, hasta unos pocos milímetros por debajo de la platina, abra completamente el diafragma y mire por el ocular hasta lograr que el campo esté brillante y uniformemente iluminado.
3. Coloque la preparación sobre la platina,
4. Mire por el ocular y con el tornillo macrométrico suba lentamente hasta que aparezca la imagen del objeto.
5. Utilizando el tornillo micrométrico, focalice la imagen hasta que ésta sea nítida.
6. Después de haber enfocado con el objetivo de menor aumento, gire el revólver y coloca en posición el objetivo de mediano aumento.
7. Focalice la imagen hasta ser nítida, utilizando el tornillo micrométrico.

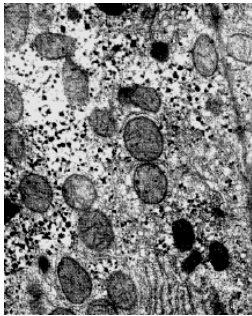
8. Para utilizar el objetivo de 100X, debe girar el revólver y dejar despejada la preparación sin objetivo, colocar una gota de aceite de inmersión, girar el revólver de nuevo y colocar el objetivo de 100X.
9. Focalice la imagen, utilizando el tornillo micrométrico.
10. Gire el revólver, retire la preparación.
11. Limpie el objetivo de 100X con papel especial.
12. Guarde el microscopio o colóquele la funda.

Experimental

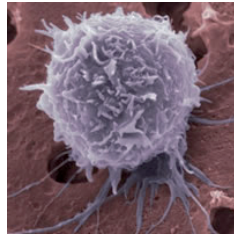
A) Aspectos básicos del microscopio

a. Siguiendo las instrucciones del profesor, y con la ayuda de los libros, estudiar y reconocer las diferentes partes del microscopio óptico (mecánica y óptica) y sus funciones. Discutir los siguientes aspectos: cuidados y limpieza del microscopio óptico, monocular, binocular, trionocular, límite de resolución (LR), enfoque, tipos de objetivos, objetivo de inmersión, revólver, condensador, tornillo macrométrico, tornillo micrométrico, platina, aumento, abertura numérica (AN), índice de refracción.

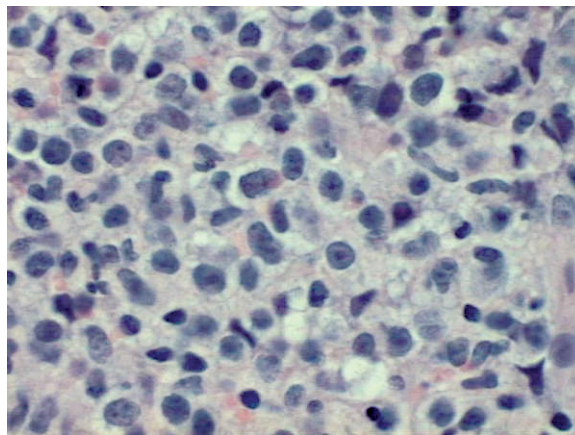
b. Investigar y discutir las potencialidades del microscopio y la tecnología innovadora: microscopios de multiobservación, gama modular de iluminaciones, epiluminación, filtros, sistema de microfotografía y vídeo, sistema de cámara clara, sistema para documentar y archivar imágenes, microscopio con cámara de incubación, con micromanipuladores, sistema de microscopio controlado por computadora para microinyección y microfluorometría. Tipos de microscopios: microscopio invertido (Figura 2), microscopio estereoscópico de fluorescencia (Figura 3), microscopio estereoscópico (Figura 4), microscopio con campo oscuro, con campo claro, con contraste de fases, contraste interferencial, con polarización, de fluorescencia, microscopio electrónico de transmisión, electrónico de barrido, confocal, microscopía digital y acceso a los parámetros de medición. Aplicación y diferencias (Figura 1).



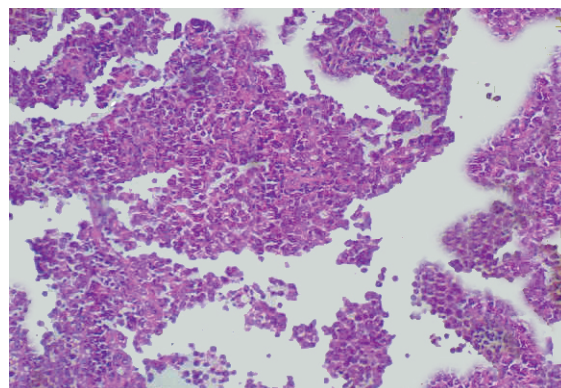
a.



b.



c.



e.

Figura 1. Fotografías adaptadas de los catálogos de microscopios Zeiss

a) Células endoteliales de la arteria pulmonar; b) células epiteliales Hep-2; c) células epiteliales Hep2;
d) hígado de rata; e) cromosomas; f) células proliferantes.

B) Adquirir práctica en el uso del microscopio

- a) Siguiendo las instrucciones, ajuste el sistema de iluminación de Kohler del microscopio:
1. Mirando por el ocular del microscopio, mueva cuidadosamente el condensador hacia abajo
 2. Abra completamente el diafragma hasta que el campo esté completamente iluminado.
 3. Ajuste la abertura del diafragma hasta que el campo quede concéntrico y reduzca la abertura hasta que el campo quede reducido aproximadamente a sus 3/4 partes.
 4. Focalice hasta ser nítida la imagen, subiendo o bajando el condensador.
 5. Abra el diafragma hasta iluminar uniformemente el campo.

Nota: en los microscopios que poseen condensador, si la abertura del diafragma no es concéntrica con el campo es porque el condensador está fuera del centro. Si el condensador no tiene movimientos laterales, colocarlo en el centro es problema que debe resolver un técnico.

- b) Siguiendo las instrucciones del profesor y el manual del manejo del microscopio, observe las diferentes muestras (fresca *in vivo* con y sin colorantes, muestras fijadas y coloreadas), enfóquelas a diferentes aumentos (10X, 40X y 100X) y describa las diferencias.
- c) Procedimientos de tinción y su aplicación como técnicas microscópicas. Siguiendo las instrucciones del profesor: prepare un colorante vital (azul de metileno: 1 parte del colorante por 10.000 partes de alcohol absoluto) y utilícelo para colorear las muestras.

Límites de resolución

Ojo humano	0,2 mm	
Microscopio óptico	0,2 μm	$\text{m} = 10^{-3} \text{ mm}$
Microscopio electrónico	0,2 nm	$\text{nm} = 10^{-6} \text{ mm}$

Autoevaluación

1. Identifique las partes de los microscopios en las Figuras 2,3 y 4.
2. ¿Maneja apropiadamente el microscopio con pequeño y mediano aumento?
3. ¿Cuáles son los cuidados que debemos tener con el microscopio óptico?
4. ¿Qué procedimiento seguiría usted para el uso del objetivo de mayor aumento?
5. ¿Cómo ajustaría la luz para obtener una buena imagen?

6. ¿Cómo se determina el grado de aumento con que se observa un objeto al microscopio?
7. ¿Cuál es la diferencia entre aumento y resolución?
8. ¿Cuáles son los datos que aparecen en un objetivo?
9. ¿Cómo se determina el límite de resolución?
10. ¿Cómo determina el límite de resolución para objetivo de 100X con N.A.=0,75 y otro de N.A.= 1,4; ¿cuál sería mejor? $K= 0,61$ y $\lambda= 550$ nm.

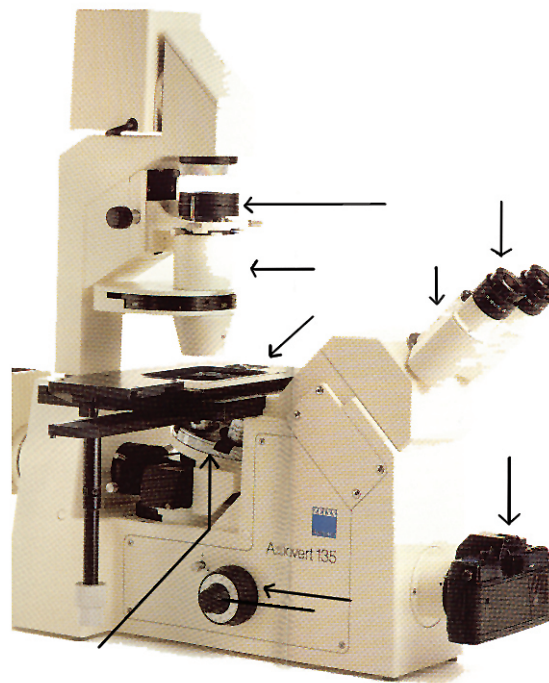


Figura 2. Microscopio óptico invertido

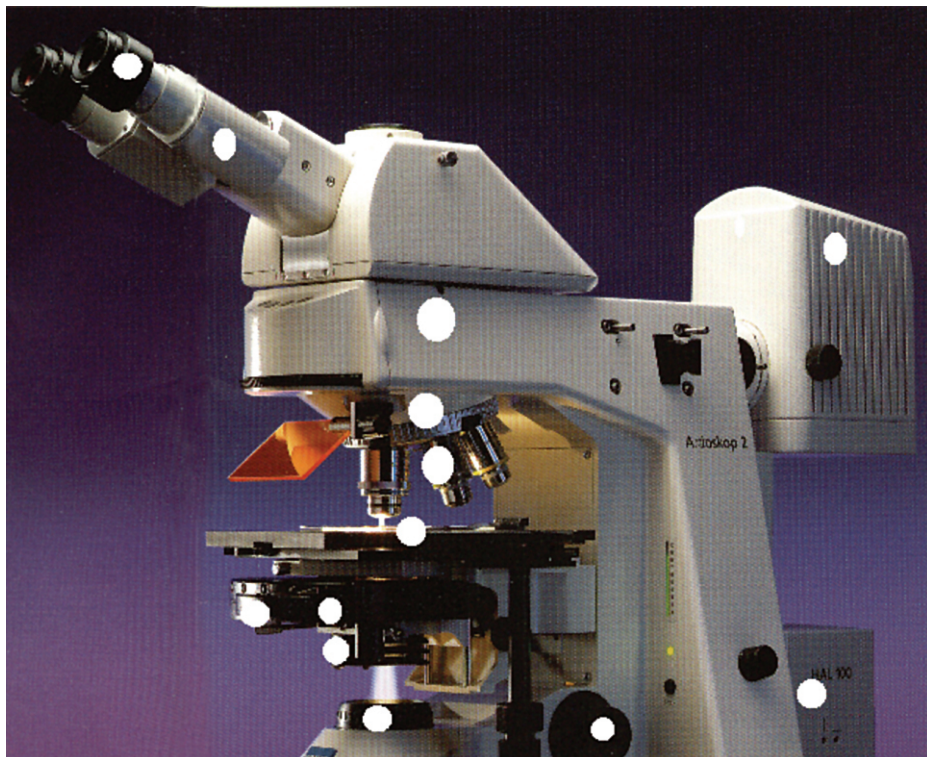


Figura 3. Microscopio de fluorescencia

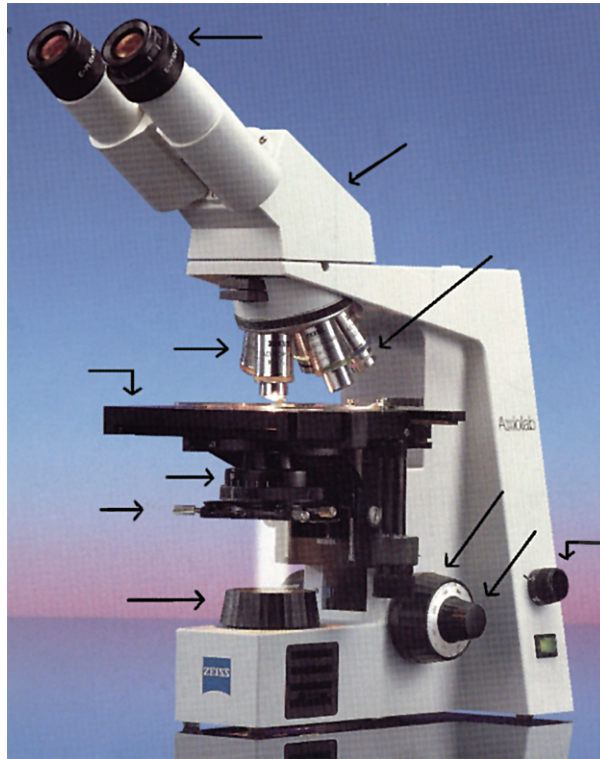


Figura 4. Microscopio estereoscópico

► Bibliografía

- Cooper's GM. La célula. España: Marban Libros; 2004.
- Salomón EP, Berg LR, Martin DW. Biología. México: McGraw-Hill Interamericana; 1999.
- Soto TS, Durán FT. Parasitología: Manual de trabajos prácticos. Venezuela: Editorial de la Universidad del Zulia; 1996.

- Introducción
- Objetivos
- Conocimientos necesarios
- Experimental
- Autoevaluación
- Bibliografía

Introducción

La idea de que las células son las unidades fundamentales de los organismos vivos es parte de la teoría celular. La mayor parte de las células son microscópicas, pero su tamaño y forma varían en un rango muy amplio, lo cual se relaciona con las funciones que éstas realizan.

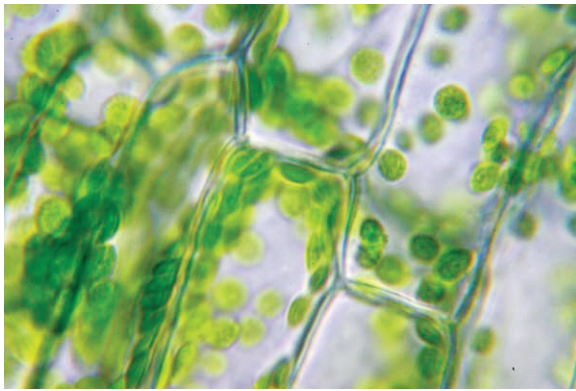
Los organismos pueden clasificarse en dos grupos fundamentalmente diferentes, según la estructura y complejidad de sus células en eucariotes y procariotes. Aunque las plantas y animales son eucariotes, las células vegetales difieren de las células animales en varios aspectos.

Objetivos

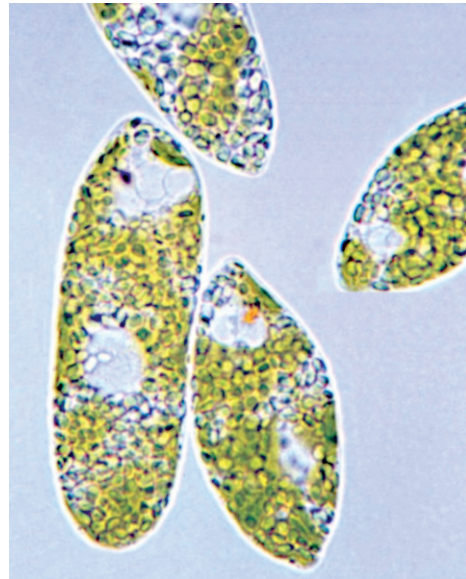
- Evidenciar las diferencias entre las células procariotas y las eucariotas.
- Observar diferencias entre la célula vegetal y la célula animal.
- Reconocer diferentes formas, tamaños y estructuras celulares.

Conocimientos necesarios

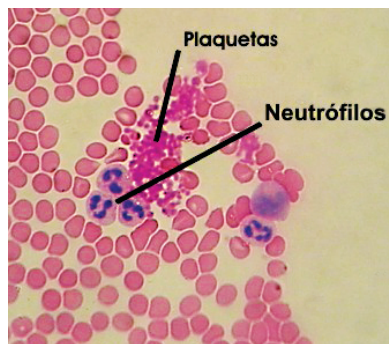
La célula. Estructura, tipos y teoría celular.



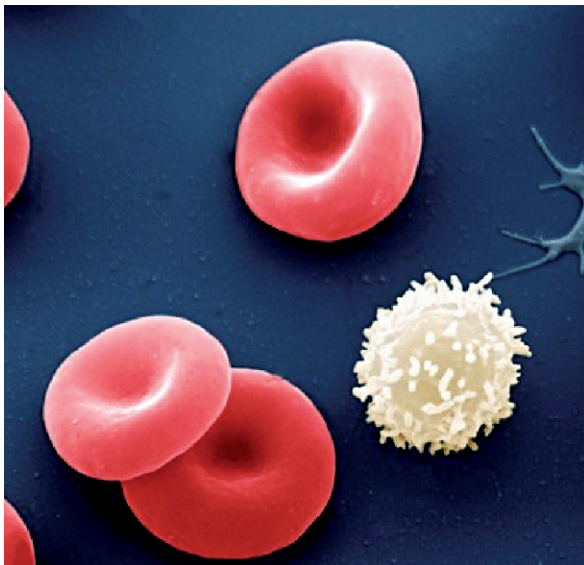
a. Elodea



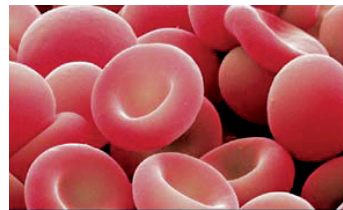
b. Euglena



c. Sangre



e. Eritrocitos y linfocitos



d. Eritrocitos

Figura 1. Fotografías adaptadas de los catálogos de los microscopios Zeiss

Experimental

A) Complejidad celular. Las células eucarióticas y las procarióticas.

Bacterias y otros microorganismos

1 Células procarióticas:

- a) Tome una muestra con un hisopo estéril de la mucosa bucal o de los oídos o nariz.
- b) Realice un frotis en una lámina portaobjeto limpia.
- c) Deje secar, fije la muestra cubriendo la lámina con varias gotas de metanol durante 1 minuto.
- d) Coloree la muestra utilizando el método de GRAM.
- e) Una vez coloreada y seca la muestra, observe al microscopio, primero a bajo aumento, luego a mediano aumento y posteriormente con aumento de 100X (inmersión).

Método de GRAM

- a) Fijar la muestra en la lámina portaobjeto con un mechero
- b) Cubra el extendido fijado con violeta de genciana por 1 minuto.
- c) Lave abundantemente con agua destilada.
- d) Cubra con lugol durante 1 minuto.
- e) Lave con alcohol hasta que no salga más colorante (o con una mezcla de alcohol-acetona 1:1 v/v).
- f) Coloque la lámina en una solución de safranina durante 1/2 minuto.
- g) Lave abundantemente con agua.
- h) Deje secar.
- i) Observe al microscopio (con poco aumento y luego con el objetivo 100X).
- j) Si aparecen bacterias coloreadas de morado son Gram positivas y si aparecen de color rojo son Gram negativas.

Método de Wright

El método permite apreciar con bastante claridad las células sanguíneas. Para ello se procede de la siguiente manera:

- a) Coloque una muestra de sangre en un portaobjeto y extiéndala utilizando otro portaobjeto.
- b) Caliente la muestra sobre un mechero para fijarla
- c) Coloque la lámina en solución de Wright durante 1 minuto.
- d) Agregue agua destilada a la lámina y deje en ésta durante 1,5 minutos.
- e) Lave la placa con abundante agua.

2 Células eucarióticas:

- a) Coloque una o dos gotas de agua estancada (acuario) en cada una de las láminas limpias y déjelas secar.
- b) Fíjelas con varias gotas de metanol hasta cubrir la muestra. Deje durante 1 min.
- c) Coloree una lámina con azul de metileno por 10 min. y la otra con Giemsa por 20 min.
- d) Observe las láminas secas con bajo y alto aumento.

3 Organismos unicelulares:

- a) Observar las láminas coloreadas entregadas por el profesor de: *bacteria* (procariota), *Leishmania* (eucariota) u otro organismo unicelular.

B) Diferencias entre las células vegetales y animales**1** Célula vegetal:

- a) Coloque una gota de agua destilada en una lámina porta objeto y monte una hoja de elodea o de musgo cubriéndola con una laminilla cubre objeto.
- b) Observe al microscopio con el ocular de 10X y 40X.
- c) Observe la estructura vegetal, particularmente los cloroplastos característicos de las células vegetales.
- d) Realice pequeños cortes finos de material vegetal: raíces, hojas, grama, raspado de papa, cebolla, plantas de jardín, etc.
- e) Móntelos en unas gotas de solución fisiológica y cúbralos con una laminilla.
- f) Observe al microscopio las estructuras vegetales: cloroplasto, la pared celular y la membrana celular.

1 Célula animal:

- a) Realice la disección de un insecto: grillo, cucaracha, etc. o lombriz de tierra, larva, etc. y extraiga el tubo digestivo.
- b) Prepare cortes finos y móntelos en unas gotas de solución fisiológica y cúbralos con una laminilla.
- c) Observe al microscopio las células animales.
- d) Observar las láminas coloreadas entregadas por el profesor de cortes coloreados de hígado y bazo.
- e) Con la ayuda de los libros identifique las estructuras.

C) Estructura y funciones de la célula.**Formas, tamaño, cilios, flagelos, cloroplastos, vacuolas****1** Protozoarios de vida libre:

- a) Coloque una o dos gotas de agua estancada (acuario) en una lámina limpia.
- b) Cúbrala con una laminilla.
- c) Observe al microscopio con aumento de 10X y 40X.
- d) Observe los microorganismos que presentan movimiento. Tome nota de las diversas estructuras que utilizan para su desplazamiento. Tipos celulares, tamaños, membrana celular, cilios, flagelos, cloroplasto, vacuolas, núcleo, etc.
- e) Prepare una muestra con colorante vital. Observe.
- f) Trate de identificar las formas vivientes que observa con ayuda de las ilustraciones, claves y textos de consulta.

2 Tipos sanguíneos:

- a) Limpie el dedo anular con algodón empapado en alcohol.
- b) Voluntariamente se tomarán muestras de sangre con la ayuda de unas lancetas desechables. Pinche el dedo y coloque la gota de sangre en un extremo de los porta objetos limpios.
- c) Se prepararán frotis finos: extienda la gota de sangre con el borde de otro porta objeto formando un ángulo de 45°, deslice suavemente hasta el otro extremo de la lámina y deje secar el frotis.
- d) Fije el frotis con metanol por 1 minuto.
- e) Coloree con reactivo de Giemsa al 10% por 20 min.
- f) Observe con inmersión los diferentes tipos celulares.

Método de Giemsa

- a) Fije la muestra con metanol por 1 minuto.
- b) Prepare el Giemsa al 10% en solución tamponada pH 7,2.
- c) Cubra el extendido fijado con el colorante por 20 minutos (2 ml por lámina)
- d) Lave con abundante agua y deje secar.
- e) Observe al microscopio con aumento menor, mediano y con inmersión.

En la siguiente figura presentamos la organización de los organismos vivos:

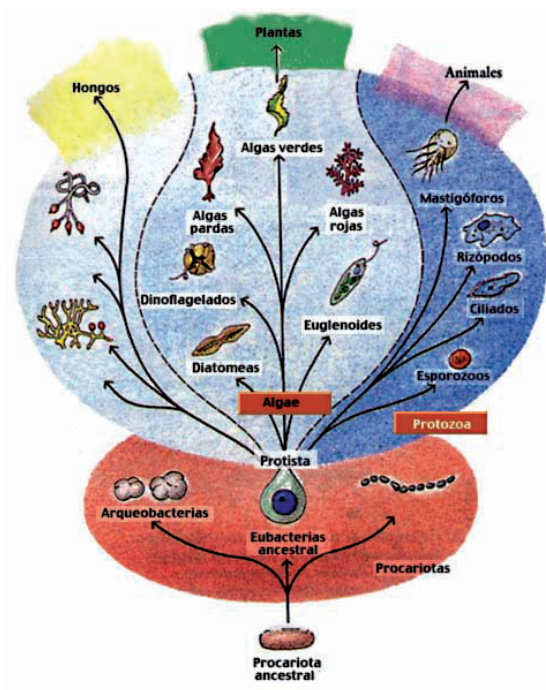


Figura 2. Los Reinos de la naturaleza

Autoevaluación

1. ¿Qué es un colorante vital?
2. ¿Por qué utiliza aceite de inmersión al observar una lámina con el objetivo de 100X?
3. ¿Cuáles son los aceites de inmersión comúnmente utilizados?
4. ¿Diga 6 diferencias fundamentales entre la célula eucariota y procariota?
5. ¿Cuáles serían las diferencias entre una célula vegetal y una célula animal?

► Bibliografía

- Cooper's GM. La célula. España: Marban Libros; 2004
- Curtis H, Barnes NS. Biología. 5ª ed. España: Editorial Médica Panamericana; 2001
- Lodish H, Berk A, Matsudaria P, Kaiser C, Krieger M, Scott M, Zipurky L, Darnell J. 5ª ed. Biología molecular de la célula. España: Editorial Panamericana; 2006.
- Solomon EP, Berg LR, Martín DW. Biología. México: McGraw-Hill Internacional Editores; 2001.

- Introducción
- Objetivos
- Conocimientos necesarios
- Experimental
- Ejercicios y autoevaluación
- Bibliografía

Introducción

La primera Ley de la Termodinámica establece que *si un sistema es sometido a una transformación cíclica, el trabajo producido en el ambiente es igual al calor que fluye desde el ambiente*. Ello lleva a enunciar el término Energía del sistema y su diferencia como:

$\Delta E = Q - W$, donde Q y W son respectivamente el calor y el trabajo.

El trabajo se define como una cantidad que fluye a través de la frontera de un sistema durante un cambio de estado y que puede utilizarse para elevar un cuerpo en el entorno: $W = m \cdot g \cdot h$. Ya que $m \cdot g = P_{op} \cdot A$, donde P_{op} es la presión externa, A el área de un cilindro y $A \cdot h = \Delta V$, podemos transformar W en una expresión del tipo $W = P_{op} \Delta V$, donde ΔV es la variación de volumen durante un cambio de estado. El trabajo sólo aparece cuando hay un cambio de estado. Debemos aclarar que un cuerpo no posee trabajo.

El calor se define como una cantidad que fluye a través de la frontera de un sistema durante un cambio de estado, en virtud de una diferencia de temperatura entre el sistema y el entorno, y que fluye de un punto de temperatura mayor a otro de temperatura menor. La cantidad de calor Q es igual al número de gramos de agua del entorno que aumentan su temperatura en un grado partiendo de una temperatura específica, bajo una presión específica. $Q = m \cdot c \cdot \Delta T$. c es una constante para una sustancia y se denomina *la capacidad calorífica* y viene expresada en calorías/grado.gramo. La capacidad calorífica molar es $C = c/n$, donde n es el número de moles de la sustancia. La capacidad calorífica permite que la energía suministrada al sistema sea medida en términos de la elevación de la temperatura resultante. Cuando C es grande, la transferencia de una cantidad dada de calor a un sistema lleva a una pequeña elevación en la temperatura, mientras que cuando la capacidad calorífica es pequeña, la misma cantidad de calor provoca un mayor aumento de la temperatura. El calor es una propiedad que fluye cuando se produce un cambio de estado. Un cuerpo no posee calor pero sí temperatura.

La *energía interna del sistema* es una propiedad que depende del volumen y la temperatura y puede describirse matemáticamente como:

$$\Delta E = C_v dT + \left(\frac{\partial E}{\partial V} \right)_T dV$$

donde C_v es la capacidad calorífica determinada a volumen constante.

Para la mayoría de las sustancias, ΔE puede considerarse como un cambio de energía en un proceso a volumen constante y $\Delta E = Q_v$, donde este último término es el calor a volumen constante.

Sin embargo, para la mayoría de las sustancias líquidas y sólidas es conveniente medir una función termodinámica denominada la entalpía, representada como:

$$\Delta H = \Delta E + \Delta(PV)$$

La entalpía es el calor transferido desde el ambiente en un proceso a presión constante. El cambio de entalpía de un sistema es, entonces,

$$\Delta H = Q_p$$

La *entalpía* es una propiedad que depende de la temperatura y de la presión. Ya que la mayoría de los experimentos se realizan a temperatura y presión constante, es conveniente determinar valores de entalpía en vez de valores de energía interna.

Para una reacción, en la cual se transforman reactantes en productos, en general se produce absorción o liberación de calor. Este calor se denomina *calor de reacción* y es el calor tomado del ambiente en la transformación de reactantes a T y P dadas en productos a igual T y P. Si el sistema se encuentra más caliente después de la reacción, debe fluir calor hacia el entorno para que el sistema recupere su temperatura inicial. En este caso se dice que la reacción es *exotérmica*. Por otra parte, si el sistema se encuentra más frío después de la reacción, debe fluir calor desde el ambiente para restablecer la temperatura inicial. En este caso la reacción es *endotérmica*.

Por otra parte, es útil determinar en los procesos biológicos y en los sistemas químicos una propiedad inherente a los mismos que refleja la energía *útil* o aprovechable de un proceso. Esa energía útil es definida como LA ENERGIA LIBRE DE GIBBS, dada por la ecuación: $G = H - TS$. Esta propiedad es muy útil ya que nos permite determinar el estado de equilibrio, y consecuentemente, las concentraciones en equilibrio, en un sistema químico. A temperatura y presión constante, el estado de equilibrio corresponde a un mínimo de energía libre. En una reacción química del tipo $aA + bB \rightarrow cC + dD$, el cambio de energía libre viene dado por la expresión:

$$\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln \left(\frac{C^c D^d}{A^a B^b} \right)$$

donde ΔG y ΔG^0 son el cambio de la energía libre en las condiciones de reacción y en condiciones estándar (¿cuáles son esas condiciones?) respectivamente, y A, B, C y D son las concentraciones de cada sustancia. En el equilibrio, $\Delta G = 0$ y

$$\Delta G^0 = -RT \ln K_{\text{equilibrio}}$$

Objetivos

- Ilustrar el desprendimiento o la absorción de calor del ambiente en las reacciones químicas.
- Observar reacciones endotérmicas y exotérmicas.
- Observar reacciones en procesos de equilibrio
- Observar reacciones de oxido-reducción.

Conceptos necesarios

Procesos de transformación de la energía. La primera Ley de la Termodinámica. Calor y temperatura. Entalpía. Reacciones exotérmicas y endotérmicas. Entropía y energía libre. Reacciones exergónicas y endergónicas. Ejemplos comunes en el metabolismo de los seres vivos. El concepto de equilibrio. Reacciones de óxido-reducción. Agentes oxidantes y agentes reductores.

Experimental

A) Tipos de reacciones

a. Coloque unos 50 ml de agua en un vaso de precipitado. Mida la temperatura del agua. Coloque el termómetro en el mesón y mida la temperatura ambiental ¿Son iguales o diferentes? Agregue al agua 5 ml de H_2SO_4 concentrado. Mida la temperatura cada 5 minutos. Deje reposar y mida la temperatura final. ¿Qué observa?

b. Coloque unos 50 ml de agua en un vaso de precipitado, y al igual que en el experimento anterior, mida su temperatura. Agregue 5 g o 5 ml de una solución 2 M de NaOH al agua y mida la temperatura. ¿Qué observa?

c. Coloque 10 ml de agua en un vaso de precipitado y mida su temperatura. Agregue 5 g de poliacrilamida y mida su temperatura.

d. Prepare una solución sulfocrómica, de acuerdo al protocolo abajo indicado:

1 Preparación de la mezcla cromosulfúrica:

- a) Coloque 100 g de $K_2Cr_2O_7$ (dicromato de potasio) en 1 litro de agua caliente.

- b) Disuelva, deje enfriar y agregue, colocando en un baño de hielo y lentamente, 300 ml de H_2SO_4 concentrado.

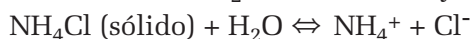
B) Tipos de procesos

- a) Coloque hielo en un vaso de precipitado y mida su temperatura. Determine la temperatura cada media hora y deje en reposo. Mida nuevamente la temperatura final.
- b) Coloque 100 ml de agua en un vaso de precipitado. Mida su temperatura. Caliente el agua y mida su temperatura cada 5 minutos. Deje reposar media hora y mida nuevamente la temperatura.

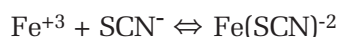
C) Procesos de equilibrio químico

Se realizarán algunas demostraciones, dependiendo de la accesibilidad de los reactivos en el depósito.

1 Se tienen los siguientes equilibrios:

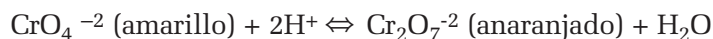


- a) Disuelva NH_4Cl en agua hasta su completa solubilización y agregue gota a gota una solución acuosa de cloruro de sodio. ¿Qué observa?
- b) Prepare una solución de cloruro férrico (amarillo pálido) y una solución de tiocianato de potasio (incolora). Al mezclar ambas soluciones se produce tiocianato férrico, de color rojizo:



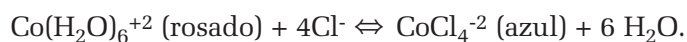
- c) Agregue a dicha solución cloruro férrico y observe los cambios. Agregue a la solución nitrato de plata y observe los cambios.

2 Para el equilibrio:



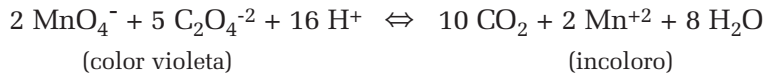
- a) Agregue un ácido fuerte o una base como hidróxido de sodio y observe los cambios.

3 Dado el equilibrio:



- a) ¿Qué ocurrirá al agregar cloruro de amonio?

3 Dada la siguiente reacción de óxido-reducción:



- a) Realice la siguiente experiencia: coloque 1 ml de oxalato de sodio 0,1 M en un tubo de ensayo y agregue 1 ml de ácido sulfúrico 0,1 M, luego agregue a la mezcla de reacción 1 ml. de permanganato de potasio 0,1 M. ¿Qué observa? Repita la experiencia agregando a la mezcla de reacción anterior 0,5 ml de sulfato de manganeso 0,1 M ¿qué observa? Repita esta misma experiencia pero colocando la mezcla de reacción en un baño de agua caliente.

Autoevaluación

1. ¿Cuál es la diferencia entre calor y temperatura?
2. ¿Son correctas las frases: ¿tengo calor o temperatura?; ¿hace calor?
3. Indique de sus observaciones en la vida diaria, cuáles experiencias podría presentar de procesos exo o endotérmicos.
4. ¿Por qué razón a un organismo humano que tiene fiebre se le cubre con mantas o se le coloca en una bañera con agua fría?
5. ¿Por qué los beduinos y la gente que vive en los desiertos se cubre completamente, aun cuando viven en un ambiente de altas temperaturas? Explique o dé razones de este proceder
6. Las bombas y los proyectiles en general, ¿liberan calor al ambiente? ¿Esas reacciones son endo o exergónicas?
7. Los organismos vivos se clasifican en poiquiloterms y homeoterms. ¿Cuál es la razón de esta clasificación? Dé ejemplos.

► Bibliografía

- Chataing B. Introducción a la bioquímica celular. Vol. 2. Mérida: Consejo de Publicaciones ULA; 1998.
- Curtis H, Barnes N S. Biología. 6ª ed. España: Editorial Médica Panamericana; 2001.
- Lodish H, Berk A, Matsudaria P, Kaiser C, Krieger M, Scott M, Zipurky L, Darnell J. Biología molecular de la célula. 5ª ed. España: Editorial Panamericana; 2006.
- Chataing B. Preparación de soluciones. Temas de Físicoquímica disponible en URL: webdelprofesor.ula.ve/ciencias/chataing.
- Solomon EP, Berg LR, Martin DW. Biología. México: McGraw-Hill Internacional Editores; 2001.

ANOTACIONES

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____
7. _____
8. _____
9. _____
10. _____
11. _____
12. _____
13. _____
14. _____
15. _____
16. _____
17. _____
18. _____
19. _____
20. _____
21. _____
22. _____
23. _____
24. _____
25. _____
26. _____
27. _____
28. _____
29. _____
30. _____
31. _____
32. _____
33. _____
34. _____
35. _____
36. _____
37. _____
38. _____
39. _____
40. _____
41. _____
42. _____
43. _____

- Introducción
- Objetivos
- Conocimientos necesarios
- Experimental
- Autoevaluación
- Bibliografía

Introducción

Las *enzimas* son proteínas que aceleran las velocidades de las reacciones dentro de la célula. Las enzimas se caracterizan por ser altamente específicas, tanto en la reacción catalizada como en sus sustratos. Las enzimas poseen un centro activo en el cual se introduce el sustrato. Se considera que entre las posibles propiedades de las enzimas que le permiten su inmenso poder catalítico, se encuentra el hecho de que éstas aceleran las velocidades de las reacciones, debido a la estabilización del estado de transición. La α -amilasa cataliza la hidrólisis de los enlaces α -1,4 del almidón, glucógeno y amilopectina, pero no los enlaces β de la celulosa ni los enlaces α 1,6 del glucógeno o el almidón, produciendo azúcares reductores, principalmente maltosa con un poco de glucosa y maltotriosa:

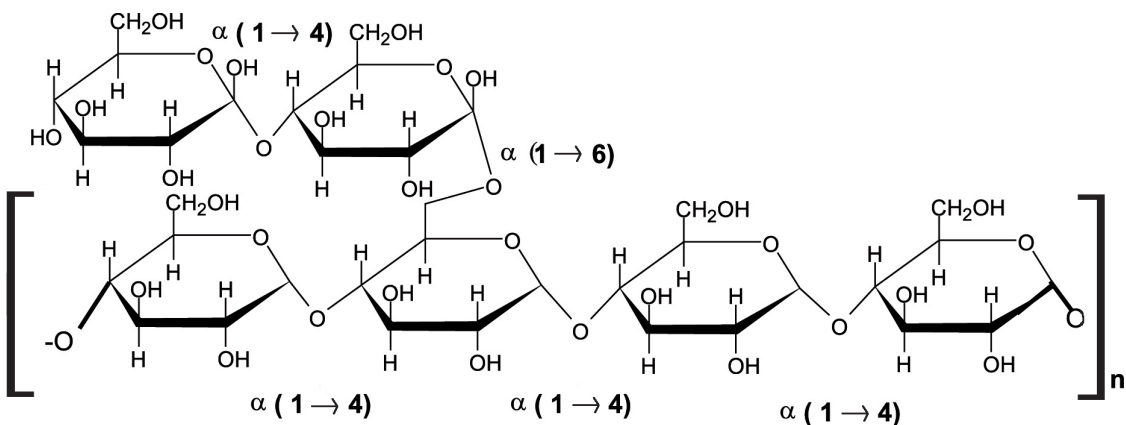


Figura 1. Almidón

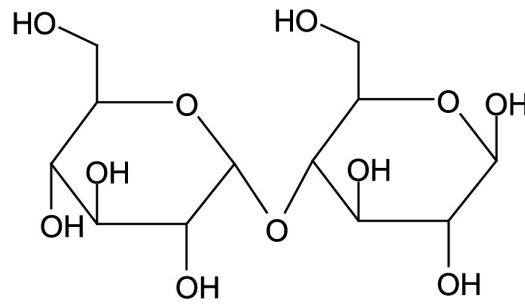
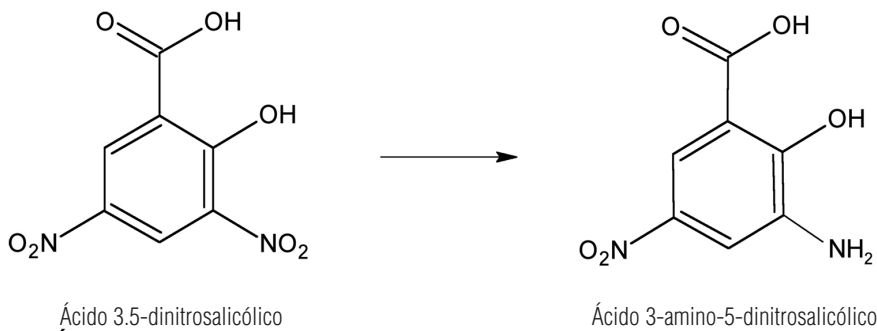


Figura 2. Maltosa

La enzima se encuentra en microorganismos, en plantas y en particular con una alta actividad, en cereales en germinación. En los organismos animales se encuentra especialmente en gránulos secretorios de las células de las glándulas salivales y del páncreas, así como en las secreciones de dichos órganos.

La actividad α -amilasa puede ser medida por medio de un decrecimiento de la viscosidad de una solución de almidón, el decrecimiento de la turbidez de una suspensión de almidón, el decrecimiento de la intensidad de la coloración de la reacción almidón-yodo (reactivo de Lugol, que consiste en 5 mM de yodo suspendido en una solución de 30 g/litro KI) y el incremento de los grupos reductores (glucosa en maltosa). Estos últimos pueden ser determinados por el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico que se reduce a ácido 3-amino-5-dinitrosalicílico produciendo una coloración que se mide en el espectrofotómetro a 540 nm, o se puede determinar con el método de Somogyi-Nelson.



Dos métodos semi-cuantitativos para determinar azúcares, particularmente para esta reacción, es detectar el almidón con yodo, el cual adquiere una coloración azul, mientras que el glucógeno y el almidón parcialmente hidrolizado reaccionan con yodo para producir una coloración pardo rojiza, que disminuye a medida que transcurre la reacción.

α -amilasa muestra un pH óptimo de 6,9. La enzima es activada por iones cloruro en una concentración de 10 mM y el ión calcio se une fuertemente a la enzima de tal forma que puede ser removido únicamente por diálisis o con EDTA.

Objetivos

- Realizar curvas de calibración (en el presente caso se utilizará la curva de calibración de la cantidad de la glucosa) para determinar la concentración de un determinado metabolito que absorbe luz a una determinada longitud de onda, por lo cual se puede determinar la densidad óptica o su absorbancia.
- Detectar la concentración adecuada de α -amilasa para el ensayo cinético (la actividad en función de la concentración de enzima, a una concentración de sustrato y tiempo fijos).
- Detectar la reacción de hidrólisis del almidón producida por la α -amilasa presente en pastillas comerciales de Festal.
- Determinar el efecto del pH y la temperatura sobre la reacción enzimática.

Conocimientos necesarios

Concepto de enzimas. Propiedades de las enzimas. Efectos del pH y la temperatura sobre la actividad enzimática. Métodos físicos y químicos para la detección del cambio de concentración de un metabolito. La Ley de Beer y el uso del espectrofotómetro para determinar la velocidad de una reacción enzimática.

Experimental

A) Preparación de los reactivos*

- 1** Preparación del ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS):
 - a) Disuelva, con calentamiento, 2,5 g de ácido dinitrosalicílico en 50 ml de hidróxido de sodio 2N.
 - b) Disuelva 75 g de tartrato de sodio y potasio en 100 ml de agua.
 - c) Mezcle las soluciones 1 y 2 y complete el volumen hasta 250 ml con agua destilada.
- 2** Preparación de cloruro de sodio (NaCl) 0,9 % (w/v):
 - a) Pese 0,9 g de NaCl y disuelva en 100 ml de agua destilada.
- 3** Preparación de NaOH (hidróxido de sodio) 2N:
 - a) Pese 8 g de NaOH y disuelva en 100 ml de agua destilada.
- 4** Preparación del buffer fosfato 20 mM y 10 mM en NaCl (pH 6,9):
 - a) Mezcle 1,97 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ con 1,23 g de KH_2PO_4 en 800 ml de agua destilada. Agregue a la solución 65 ml de NaCl 0,9% (w/v). Mida el pH y ajuste a 6,9 con NaOH 0,1 N. Complete el volumen a 1 litro con agua destilada.

*El método de elección dependerá de las facilidades del depósito de reactivos.

5 Preparación de solución de glucosa estándar (1 mg/ml):

- a) Pese 0,1 g de glucosa y disuelva en 10 ml de agua. Tome 1 ml de la solución y diluya a 10 ml con agua destilada.

6 Preparación de la solución de almidón [0,1% (w/v)]:

- a) Pese 0,1 g de almidón y disuelva en 100 ml de buffer fosfato, pH 6,9.

7 Preparación de la α -amilasa:

- a) Tome una pastilla de Festal, la cual contiene 5000 U de amilasa y muelela a un polvo fino en un mortero. Agregue 20 ml de buffer fosfato (pH 6,9) y mantenga en hielo.

B) Método alternativo con el reactivo de Somogyi-Nelson

En este método se calienta el azúcar en una solución alcalina de tartrato de cobre, produciéndose óxido cuproso, que al reaccionar con arsenomolibdato da azul de molibdeno, con un color azul que puede medirse en el espectrofotómetro a 510 nm.

a. *Solución alcalina de tartrato de cobre:* se disuelven 4 g de CuSO_4 , 5 H_2O , 24 g de Na_2CO_3 anhidro, 16 g de tartrato de sodio y potasio (sal de Rochelle) y 180 g de Na_2SO_4 anhidro y se completa a 1 litro con agua destilada

- b. Obtenga reactivo de arsenomolibdato comercial.

En el procedimiento se coloca en un tubo 1,5 ml de agua y 0,1 ml de muestra conteniendo 50-100 μg de azúcar y se mezcla vigorosamente. Se le añade a la mezcla 0,2 ml de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ y 0,2 ml de sulfato de zinc acuoso, mezcle y centrifugue. Tome 1 ml de sobrenadante y agregue 1 ml de reactivo alcalino de cobre. Caliente en un baño hirviendo durante 15 minutos. Deje enfriar y agregue 1 ml de reactivo arsenomolibdato. Diluya el color azul con agua hasta 10 ml y mida la absorbancia a 510 nm.

C) Procedimientos experimentales**1** Curva de calibración de la glucosa:

- a) Prepare 10 tubos de ensayo y agrégueles glucosa (1 mg/ml) en las siguientes cantidades: 0,0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9 y 1,0 ml. Complete a un volumen de 2,5 ml con buffer fosfato. Incube 5 minutos y agregue a cada tubo 1 ml de DNS. Ebulle las muestras durante 5 minutos. Deje enfriar y mida la absorbancia a 546 nm.
- b) Grafique Absorbancia *versus* mg de glucosa.

2 Determinación de la concentración óptima de enzima:

Al igual que en el experimento anterior prepare diferentes tubos con las siguientes cantidades de reactivos:

- a) 1 ml de almidón (0,1%).
- b) Cantidades variables de enzima (desde 0; 0,025; 0,050; 0,075; 0,075; 0,1; 0,15 y 0,2 ml). Complete la cantidad de enzima hasta 2,5 ml agre-

gando buffer fosfato. Incube durante 5 minutos y detenga la reacción agregando 1 ml de DNS. Ebulle las muestras durante 5 minutos, complete el volumen hasta 5 ml con 1,5 ml de agua destilada y mida la absorbancia a 546 nm.

- c) Grafique la absorbancia *versus* la cantidad de enzima (μg o mg). Elija la concentración de enzima más recomendable para el ensayo cinético.

3 Determinación de la velocidad de reacción:

- a) Incube en diferentes tubos de ensayo 1 ml de almidón; la cantidad de enzima determinada en el ensayo anterior y el volumen de buffer fosfato necesario para completar (enzima+ buffer) la cantidad de 1.5 ml. Incube las muestras a tiempos variables de 15, 30, 45, 60 segundos y 1,5; 2, 3, 4 y 5 minutos. Pare la reacción a cada período de tiempo agregando 1 ml de DNS. Ebulle 5 minutos. Complete el volumen con 2 ml de agua destilada (volumen total 5 ml) y mida la absorbancia a 546 nm. Grafique absorbancia *versus* tiempo y determine la pendiente inicial (velocidad inicial) de la reacción.

► Nota: el blanco de las reacciones y ensayos es el sistema completo con almidón sin enzima.

4 Determinación del efecto del pH en la actividad enzimática:

- a) Para la determinación de pH se elige la concentración de enzima adecuada (determinada en el experimento b); la misma cantidad de almidón y DNS y la misma cantidad de buffer, excepto que este último se prepara a diferentes pH (4,5; 5; 6,9; 7 y 8).

5 Determinación de la energía de activación de Arrhenius:

La velocidad de una reacción catalizada por una enzima aumenta con la temperatura hasta llegar a ciertas temperaturas en las cuales la enzima se desnaturaliza y por consiguiente, pierde su actividad. Existe una temperatura óptima a la cual la enzima presenta su máxima actividad.

La ecuación de Arrhenius: $\ln k = E_a/RT$ permite determinar la energía de activación E_a , si se realizan ensayos cinéticos a diferentes temperaturas. Para ello se procede de la manera siguiente:

- a) Prepare tubos de ensayo conteniendo almidón (1 ml) y el buffer fosfato a pH 6,9 (al igual que en el experimento anterior). Incube a la temperatura deseada en un baño de María (hielo, temperatura ambiente, 30, 40 y 50 °C).
- b) Agregue la enzima (volumen óptimo determinado en la parte b) y complete el volumen de enzima con buffer fosfato a pH 6,9 de tal manera que el volumen de enzima más buffer sea de 1 ml. Incube 5 minutos y agregue 1 ml de DNS. Ebulle 5 minutos, agregue 2 ml de agua destilada

y mida la absorbancia a 546 nm. Determine la velocidad inicial y grafique la constante de velocidad *versus* el inverso de la temperatura ($^{\circ}\text{K}$). La pendiente del gráfico es $-E_a/R$.

- Nota: Las mismas experiencias pueden realizarse en forma cualitativa (o cuantitativa) utilizando reactivo de Lugol en vez del ácido dinitrosalicílico y se detiene la reacción incubando los tubos 5 minutos en agua hirviendo.

6 Experiencia con el reactivo de Lugol:

- a) Prepare ocho tubos de ensayo y agregue la mezcla de reacción indicada en la Tabla 1 a cada uno de los tubos.

Tabla 1

CONTENIDO	VOLUMEN (ML)
Almidón (5 g/l)	2,5
Buffer fosfato 0,1 M (pH 6,7)	1,0
NaCl (10 g/l)	0,5

- a) Deje incubar los tubos 10 minutos y a 7 de los tubos agregue 0,3 ml de la solución de la enzima (1 pastilla disuelta en 20 ml de buffer fosfato). Al octavo tubo agregue 0,3 ml de agua en vez de enzima.
- b) Incube los tubos durante 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 minutos y detenga la reacción colocando los tubos en agua hirviendo.
- c) Deje enfriar los tubos y a cada uno agregue 5 gotas [100-200 uL de reactivo] de Lugol. Observe los efectos o mida la absorbancia de cada tubo a la longitud de onda seleccionada

Autoevaluación

1. ¿Qué es un azúcar reductor?
2. ¿Cuál es la reacción que cataliza la α -amilasa?, ¿y la β -amilasa?
3. ¿Cuál es la estructura del almidón? ¿Cuál es la estructura de la maltosa?
4. ¿Qué es un enlace glicosídico α ? ¿y un enlace glicosídico β ?
5. ¿Cuáles son las características esenciales de una enzima?
6. ¿Por qué la actividad enzimática varía con el pH?
7. ¿Qué se entiende por desnaturalización de una proteína?
8. ¿Para qué realiza una curva de calibración con glucosa?

► Bibliografía

- Philip N. Física biológica, energía, información y vida. España: Editorial Reverte; 2005.
- Solomon EP, Berg LR, Martin DW. Biología. México: McGraw-Hill Internacional Editores; 2001.
- Plummer DT. Introducción a la bioquímica práctica. 2ª ed. Colombia: McGraw Hill Latinoamericana S.A.; 1981.

ANOTACIONES

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____
7. _____
8. _____
9. _____
10. _____
11. _____
12. _____
13. _____
14. _____
15. _____
16. _____
17. _____
18. _____
19. _____
20. _____
21. _____
22. _____
23. _____
24. _____
25. _____
26. _____
27. _____
28. _____
29. _____
30. _____
31. _____
32. _____
33. _____

ANOTACIONES

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____
7. _____
8. _____
9. _____
10. _____
11. _____
12. _____
13. _____
14. _____
15. _____
16. _____
17. _____
18. _____
19. _____
20. _____
21. _____
22. _____
23. _____
24. _____
25. _____
26. _____
27. _____
28. _____
29. _____
30. _____
31. _____
32. _____
33. _____
34. _____
35. _____
36. _____
37. _____
38. _____
39. _____
40. _____
41. _____
42. _____
43. _____

- Introducción
- Objetivos
- Conocimientos necesarios
- Experimental
- Ejercicios y autoevaluación
- Bibliografía

Introducción

En este tema consideraremos cómo la energía luminosa, el origen primordial de toda la energía bioquímica, es absorbida por las células fotosintéticas para convertirla en energía química, la cual a su vez es utilizada para reducir el dióxido de carbono y formar la glucosa.

El término fotosíntesis usualmente se refiere al proceso total mediante el cual la glucosa es formada a partir de CO_2 y H_2O , a expensas de la energía solar. Sin embargo, la luz es directamente requerida únicamente en las primeras etapas de la fotosíntesis, en las cuales la energía luminosa capturada es convertida en energía química. Esas primeras reacciones se denominan las reacciones luminosas. Las reacciones remanentes, en las que se forma la glucosa a partir de CO_2 , en presencia de energía química, pueden proceder en la oscuridad o la ausencia de luz y se denominan las reacciones en la oscuridad (el ciclo de Calvin).

Las reacciones luminosas son únicas en las células fotosintéticas, mientras que la mayoría de las reacciones en la oscuridad también ocurren en células heterotróficas.

Los organismos fototróficos atrapan la energía luminosa y la convierten en su equivalente químico, mediante un proceso denominado la fotosíntesis. En este proceso ocurren reacciones que requieren de la presencia de la luz, en las cuales se forma ATP (fotofosforilación) y NADPH (fotorreducción). Tanto el ATP y el NADPH producido se utilizan para la biosíntesis de glucosa, a partir de CO_2 y H_2O , mediante ciclo de Calvin.

Las moléculas de pigmentos del aparato especializado en atrapar la energía luminosa se ensamblan en arreglos que absorben la energía en centros fotosintéticos denominados fotosistemas. En células fototróficas eucarióticas, el aparato que atrapa la luz es localizado en la membrana interna de los sacos tilacoides.

1. El mecanismo de la fotosíntesis es complejo y requiere de muchas macromoléculas y pequeñas moléculas, tales como proteínas transportadoras de electrones, ATPasas y pigmentos fotosintéticos. La energía luminosa es atrapada, co-

mo primer paso para la fotosíntesis, por moléculas fotorreceptoras (que atrapan o reciben la luz) llamadas clorofilas y otros pigmentos fotosensitivos (Figura 1)

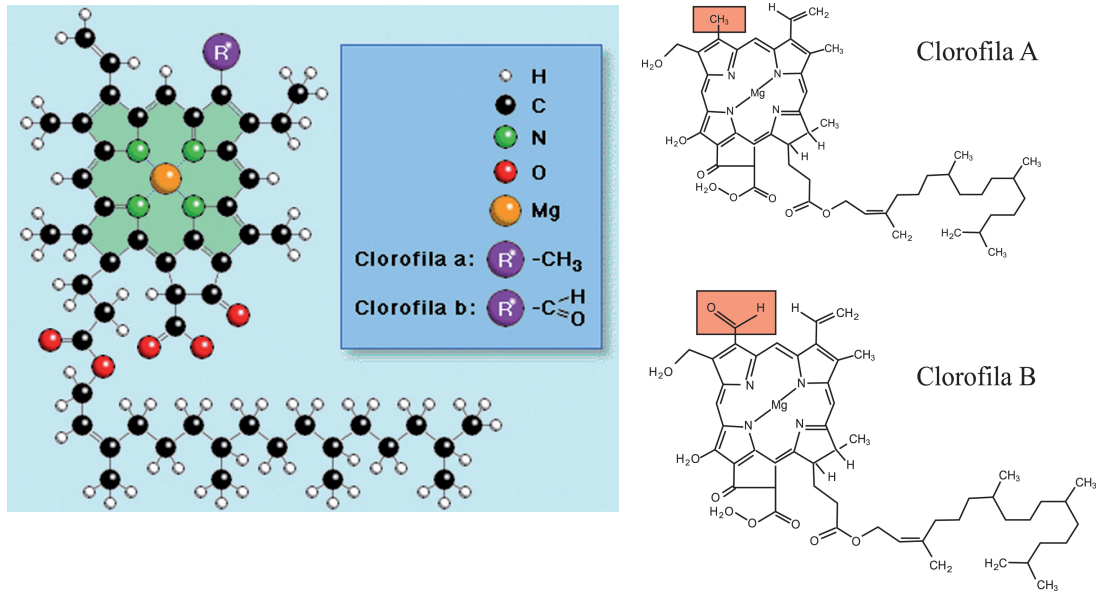


Figura 1. Estructura de pigmentos fotosintéticos

2. Los organismos fototróficos contienen pigmentos que absorben la energía de los fotones. Entre estos pigmentos se encuentran las clorofilas. Al igual que el ojo, la clorofila es selectiva en cuanto a la longitud de onda de la luz que absorbe (Figura 2).

$\nu \approx 1 \times 10^4$	1×10^7	1×10^8	1×10^9	1×10^{12}	4×10^{14}	8×10^{14}	1×10^{16}	1×10^{19}	1×10^{24}
RADIO	TV	RADAR	MICRO ONDAS	INFRA ROJO	VISIBLE	ULTRA VIOLETA	RAYOS X	RAYOS γ	
$\lambda \approx$	10^3m	10^{10}m	1m	1 cm	10^{-3}cm	$5 \times 10^2\text{nm}$	10^2nm	10^{-1}nm	10^{-5}nm

ROJO	ANARANJADO	AMARILLO	VERDE	AZUL	VIOLETA	UV
$\lambda \approx 760\text{nm}$		600nm		500nm		380nm
E= 41 kcal/mo		48 kcal/mol		57 kcal/mol		72 kcal/mol

Figura 2. El espectro electromagnético

3. La clorofila absorbe la mayor parte de la luz azul y la violeta y también algo de la roja. La clorofila permite que la luz de longitudes de onda que producen otros colores pase a través de ella y sea transmitida. El hecho de que la planta sea verde muestra que la clorofila transmite las longitudes de onda que causan este color (no lo absorbe) [Figura 3].

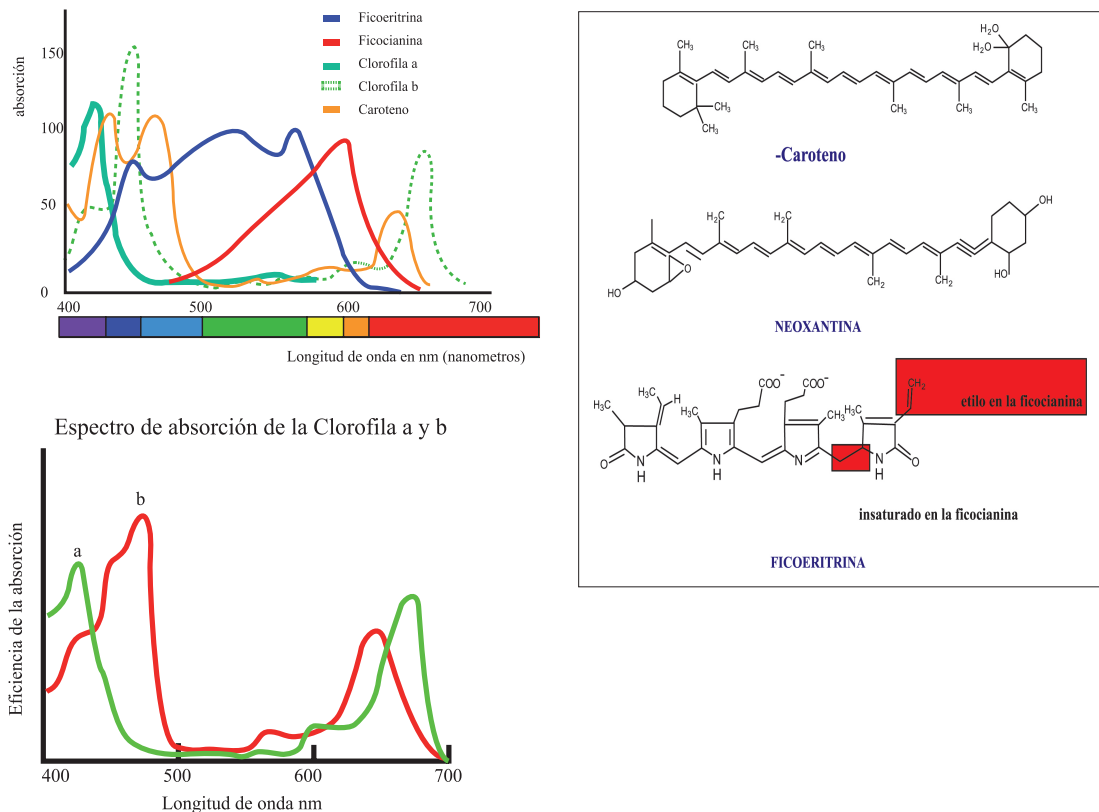
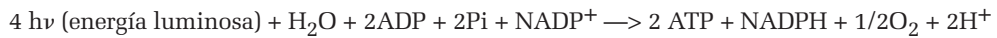


Figura 3. Espectros de absorción de algunos pigmentos fotosintéticos

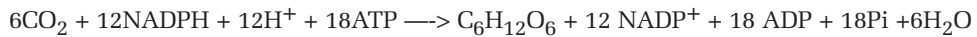
4. La fotosíntesis en las plantas verdes ocurre en organelas especializadas denominados cloroplastos.
5. Los pigmentos fotosensitivos (clorofilas, carotenoides y otros) se organizan en estructuras especializadas para atrapar la luz. Estas estructuras, en fotófitos eucarióticos, dentro de los cloroplastos, reciben el nombre de fotosistemas.
6. Aparte de los pigmentos fotosensitivos, las membranas sensibles a la luz en los organismos fototróficos contienen sistemas de transporte de electrones en los cuales ocurren las reacciones de óxido-reducción. Los componentes de tales sistemas incluyen: plastoquinona, 2 tipos de *citocromo b*, *citocromo f*, *citocromo c*, plastocianina, una proteína que contiene cobre, y ferredoxina, una

proteína rica en hierro. La ferredoxina parece ser el transportador de electrones más electronegativo que se conoce en relación con las reacciones de óxido-reducción.

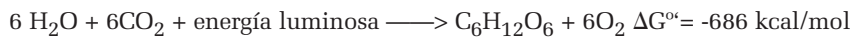
7. Las células fototróficas eucarióticas contienen 2 fotosistemas.
8. El oxígeno liberado en la fotosíntesis proviene del agua.
9. La glucosa es el producto primario de la fotosíntesis. El ATP y el NADPH generados en el transporte de los electrones se utiliza para la biosíntesis de la glucosa, a partir de CO_2 y H_2O .
10. El balance de masa o la ecuación para el proceso de transporte de electrones es:



Y la ecuación para el proceso de la transformación de CO_2 en glucosa es:



El proceso total, combinando ambas ecuaciones, lleva a la expresión:



Las células fotosintéticas también pueden contener otros pigmentos como los **carotenoides** y las **ficobilinas**, que sirven como receptores suplementarios de luz para aquellas porciones del espectro visible que no son cubiertas por las clorofilas. Cada molécula diferente de clorofila absorbe en una región determinada del espectro (Figura 1). La clorofila **a** absorbe alrededor de 663 nm, pero dentro del cloroplasto absorbe a 678 nm, mientras que la clorofila **b** absorbe alrededor de 635 nm.

Objetivos

- Detectar la existencia de pigmentos fotosensitivos en las hojas de las plantas.
- Demostrar la producción de almidón en el proceso de fotosíntesis.

Conocimientos necesarios

- Fotosíntesis, pigmentos fotosensitivos, ciclo de Calvin, reacciones luminosas, energía luminosa, espectro electromagnético.

Experimental

A) Aislamiento de moléculas de clorofila y pigmentos fotosensitivos

a. Lave con agua las hojas de espinaca o elodea, déjelas escurrir y pese unos 5 g de hojas.

b. Corte las hojas en pequeños trozos y agregue 5 ml de metanol. Triture las hojas en un mortero para extraer el jugo. Filtre, usando papel Whatman N° 1, y recoja la solución obtenida en un vaso de precipitado. Agréguele a las hojas 5 ml de una solución de acetona en agua 80% v/v. Enjuague la solución con 5 ml de solución acuosa de acetona y mida la absorbancia de la muestra en un espectrofotómetro, desde 340 a 700 nm con intervalos de 10 nm. Utilice la solución acuosa de acetona como blanco.

B) Aislamiento de clorofilas a y b

[Diehls-Jones SM. The chlorophylls. J. Chem. Educ. 1984; 61: 454-455]

- a. En un mortero, triture 5 g de hojas de espinaca en 10 ml de metanol.
- b. Decante el metanol y seque bien las hojas.
- c. Repita la trituración de las hojas en 5 ml de metanol y 7 ml de éter de petróleo (el éter de petróleo es una mezcla de pentano y hexano)
- d. Filtre la mezcla en un embudo al cual se le ha colocado un tapón de lana de vidrio y recoja el filtrado en un embudo de separación.
- e. Repita la trituración de las hojas con 5 ml de metanol y 10 ml de éter de petróleo y filtre nuevamente.
- f. Remueva la fase inferior de metanol en un embudo de separación y decántela.
- g. Agregue 50 ml de agua destilada a la solución de éter de petróleo en el embudo de separación. Remueva la fase acuosa y seque con Na_2SO_4 .
- h. Decante el extracto resultante y caliente la solución en una plancha de calentamiento hasta obtener 5 ml de extracto. Enfríe y tape el frasco. Guarde en la nevera.
- i. Mida la absorbancia desde 350 hasta 750 nm. Utilice el solvente como blanco.

C) Producción de almidón durante la fotosíntesis

a. Tome hojas de espinaca o elodea y cubra la mitad de cada una con papel aluminio. Exponga la hoja (con la mitad descubierta y la otra mitad tapada) a un bombillo de 100 w por 1 hora.

b. Corte la hoja en pequeños pedazos y una porción de hojas en la oscuridad y otra en hojas iluminadas con el bombillo colóquelas en cápsulas de Petri que contienen yodo o reactivo de Lugol. Compare la forma en la cual se han coloreado las hojas.

c. Otra porción de las hojas, tanto las que estuvieron en la oscuridad como las que fueron irradiadas por un bombillo, colóquelas en un beaker con alcohol caliente sobre una plancha de calentamiento. Lave nuevamente con alcohol y saque las hojas. Coloque las hojas en una cápsula de Petri con yodo y observe los cambios.

Autoevaluación

1. ¿Todos los organismos fototróficos poseen cloroplastos?
2. Describa las características estructurales y funcionales de los cloroplastos.
3. ¿Las flores poseen los mismos pigmentos y en las mismas cantidades que las hojas?
4. ¿De dónde proviene el oxígeno generado en la fotosíntesis?
5. ¿Las plantas respiran? Si es así, ¿es un proceso simultáneo con el de la fotosíntesis o separado temporalmente?
6. ¿De donde proviene el azúcar producido durante la fotosíntesis?
7. ¿Por qué colorean las hojas con yodo?

► Bibliografía

- Plummer DT. Introducción a la bioquímica práctica. Bogotá: McGraw Hill Interamericana S.A.; 1981.
- Chataing B. Introducción a la bioquímica celular. Vol. II. Mérida: Consejo de Publicaciones ULA; 1998.
- Diehls-Jones SM. The chlorophylls. J. Chem. Educ. 1984; 61: 454-455.
- Izco J. Botánica. 2ª Ed. España: Editorial Mc GrawHill; 2004.
- Solomon EP, Berg LR, Martín DW. Biología. México: McGraw-Hill Internacional Editores; 2001.

ANOTACIONES

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____
7. _____
8. _____
9. _____
10. _____
11. _____
12. _____
13. _____
14. _____
15. _____
16. _____
17. _____
18. _____

- Introducción
- Objetivos
- Conocimientos necesarios
- Experimental
- Autoevaluación
- Bibliografía

Introducción

A) Organismos anaeróbicos, aeróbicos y facultativos

Existe un grupo de organismos eucarióticos y procarióticos que son estrictamente aeróbicos, los cuales pueden metabolizar y crecer únicamente en la presencia del oxígeno atmosférico.

Un segundo grupo de organismos son los estrictamente anaeróbicos, que metabolizan y crecen en la ausencia de oxígeno libre. Además, tales organismos requieren de la exclusión de oxígeno, que de otra forma puede ser letal.

Un tercer tipo de organismos lo forman los facultativos, que son capaces de transformar su maquinaria metabólica de un modo aeróbico (respiratorio) a un modo anaeróbico (fermentativo), dependiendo del ambiente en el cual ellos se encuentran.

Entre los organismos estrictamente aeróbicos se encuentran los organismos procarióticos streptomycetos y la mayoría de los hongos filamentosos eucarióticos (asociados con la producción de quesos y alimentos fermentados).

Entre los organismos estrictamente anaeróbicos, tenemos los miembros del género bacterial *Clostridium*, de los cuales, *C. botulinum*, el productor de la toxina del botulismo, es un ejemplo notorio. Otro ejemplo, lo constituye la bacteria del suelo, *Perfringens welchii*.

Por otra parte, la levadura, que puede tanto respirar como fermentar ciertos sustratos, representa un tipo de organismo facultativo. Las células del tejido muscular, dependiendo de la cantidad accesible de oxígeno, representan otro ejemplo de una célula facultativa. Algunos ejemplos de organismos aeróbicos, anaeróbicos y facultativos son presentados en la Tabla 1.

Tabla 1: Organismos aeróbicos, anaeróbicos y facultativos

ORGANISMOS ANAERÓBICOS OBLIGADOS	ORGANISMOS AERÓBICOS OBLIGADOS
Clostridia (<i>C. botulinum</i> , <i>P. Welchii</i>)	Streptomyces
	Hongos filamentosos
	Bacilos que forman esporas
	Bacilo de la tuberculosis
ORGANISMOS FACULTATIVOS	ORGANISMOS AEROTOLERANTES ANAERÓBICOS
Levaduras	Algunas de las bacterias
Enterobacteria	
(<i>Tripanosomas</i>)	

El metabolismo anaeróbico es menos eficiente que la respiración, debido a que la fermentación no explota toda la energía en el sustrato orgánico para producir ATP y para sintetizar las sustancias de la célula. Algunos sustratos potenciales son excretados de la célula en la forma de productos de degradación que pueden ser posteriormente oxidados a CO₂ y H₂O. Los productos de la fermentación, como el etanol liberado por la fermentación en la levadura, no pueden ser posteriormente procesados anaeróbicamente por el organismo que lo manufactura.

B) La fermentación y la respiración

La glucólisis (*Gluc*: azúcar; *lisis*: rompimiento) es la secuencia de reacciones que convierten a la glucosa en piruvato, con la concomitante formación de ATP.

La secuencia de reacciones desde la glucosa al piruvato es muy similar en todos los organismos y en todas las especies de células. En los organismos aeróbicos, la glucólisis es el prelude del *ácido cítrico* y de la *cadena de transporte de electrones*. En condiciones aeróbicas, el piruvato en la mitocondria es oxidado completamente a CO₂ y H₂O. El aceptor final de electrones es el oxígeno.

En contraste, en los organismos anaeróbicos y facultativos (en presencia de una baja concentración de oxígeno), el destino del piruvato es variable, dependiendo del organismo (Tabla 2)

Tabla 2: Organismos que realizan diferentes tipos de fermentaciones

FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	FERMENTACIÓN HOMOLÁCTICA
Fermentación alcohólica: levaduras	<i>Lactobacillus casei</i>
Fermentación butírica: <i>Clostridium</i>	<i>Streptococcus cremoris</i>
Fermentación propiónica: Propionibacterias	Streptococci patógenos
FERMENTACIÓN HETEROLÁCTICA (FÓRMICA)	
Enterobacterias	

Así, la levadura fermenta una hexosa, como la glucosa o fructosa, dando origen a dos moléculas de etanol y dos moléculas de CO₂ (fermentación alcohólica); el músculo en presencia de bajas concentraciones de oxígeno puede transformar el piruvato en lactato (fermentación láctica).

La bacteria *Clostridium acetobutylicum* produce butanol y acetona. Una lista de productos industriales obtenidos de microorganismos y de células cultivadas de mamíferos es mostrada en la Tabla 3.

Tabla 3: Productos producidos por diferentes microorganismos

ORGANISMO	TIPO	PRODUCTO
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	levadura	vino de levadura, sake
<i>Saccharomyces carisbergensis</i>	levadura	cerveza
<i>Saccharomyces rouxii</i>	levadura	salsa de soya
<i>Streptococcus thermophils</i>	bacteria	yogurt
<i>Propionibacterium shermanii</i>	bacteria	queso suizo
<i>Gluconobacteria suboxidans</i>	bacteria	vinagre
<i>Penicillium camembertii</i>	moho	queso camembert y brie
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	levadura	etanol (de Glucosa)
<i>Clostridium acetobutylicum</i>	bacteria	acetona y butanol
<i>Aspergillus niger</i>	moho	ácido cítrico
<i>Xanthomonas campestris</i>	bacteria	polisacáridos
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	bacteria	L-lisina, ácido 5'
		Guanfílico, ácido 5'
		inosínico.
<i>Saccaromycopsis lipolytica</i>	levadura	proteína microbial de alcanos del petróleo
<i>Eremothecium ashbyi</i>	levadura	Riboflavina
<i>Pseudomonas denitrificans</i>	bacteria	vitamina B ₁₂
<i>Propionibacterium</i>	bacteria	vitamina B ₁₂
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	bacteria	dextranos
<i>Penicillium chrysogenum</i>	moho	penicilinas
<i>Bacillus brevis</i>	bacteria	gramicidin S
<i>Blakeslea trispora</i>	moho	beta-caroteno
<i>Bacillus popilliae</i>	bacteria	bioinsecticidas
Híbridomas		inmunoglobulinas y anticuerpos monoclonales
Líneas de células de mamíferos		interferón

Dentro de condiciones aeróbicas, el piruvato obtenido en el proceso de glucólisis es transformado completamente a dióxido de carbono y agua, como lo indicamos anteriormente, y la energía liberada en el proceso es utilizada para formar ATP a partir de ADP y Pi, vía el ciclo del ácido cítrico, la cadena de transporte de electrones y la oxidación fosforilativa. El centro de este proceso es la repetida reducción de cofactores

transportadores de electrones, tales como NAD^+ , con la concomitante oxidación de los carbonos de los carbohidratos a CO_2 , seguido por la reoxidación de los cofactores reducidos a expensas del oxígeno.

En la respiración anaeróbica, el *aceptor final de electrones no es el oxígeno* (Tabla 4) y la fosforilación a nivel de sustrato permite la regeneración de ATP.

Los productos reducidos son orígenes potenciales de energía y de nutrientes para otros organismos.

Tabla 4: Aceptores de electrones en la respiración anaeróbica

TIPO DE RESPIRACIÓN	ACEPTOR DE ELECTRONES	PRODUCTO REDUCIDO
Respiración de azufre	Azufre (S)	Sulfuro ($\text{S}^=$)
Respiración de sulfato	Sulfato (SO_4^{-2})	Sulfuro
Respiración de carbonato (bacteria acetogénica)	CO_2	Acetato (CH_3COO^-)
Respiración de carbonato*		Metano (CH_4)
Respiración de nitrato	Nitrato (NO_3^-)	Nitrito (NO_2^-)
Respiración de hierro	Férrico (Fe^{+3})	Ferroso (Fe^{+2})
Compuestos orgánicos	Fumarato, glicina	Succinato, acetato

* En bacteria metanogénica

► Adaptado de Smith C, Wood EJ. Energy in biological systems Hong Kong: Chapman & Hall; 1991.

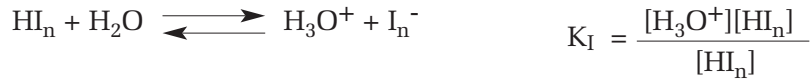
Antes de continuar, diremos que la fermentación es un proceso generador de ATP, en el cual los compuestos orgánicos (metabolitos) actúan como donante y aceptor de electrones. En este proceso no hay aceptor externo de electrones y la formación de ATP se logra por medio de fosforilación a nivel de sustrato. En este proceso, las moléculas de alimento son degradadas formando dos especies de productos: uno es la forma reducida del carbono, tal como etanol, lactato o succinato, y el otro es una forma oxidada del carbono, usualmente dióxido de carbono.

En el proceso de la fermentación no se involucra a un aceptor externo de electrones. En la fermentación no hay oxidación neta del sustrato. Tal proceso produce energía al romper el sustrato en dos fragmentos, de tal forma que los electrones son transferidos de un fragmento a otro, con un ΔG° lo suficientemente negativo como para producir la formación de ATP. Las fermentaciones son frecuentemente nombradas de acuerdo con el producto final. En la levadura, el camino glicolítico culmina en la *fermentación alcohólica*, debido a que el producto final es etanol. El acetaldehído intermedio en el proceso sirve ambas funciones de donante y aceptor de electrones.

C) Indicadores ácido-base

Existen colorantes cuyo color depende de la concentración de H_3O^+ . Esos indicadores por sí mismos son ácidos o bases débiles cuyo par conjugado presenta un color diferente.

Por ejemplo, rojo de fenol se ioniza como:



si	$\frac{[\text{I}_n^-]}{[\text{HI}_n]} = 0,1$	Solución roja
	$\frac{[\text{I}_n^-]}{[\text{HI}_n]} = 1,0$	Solución anaranjada
	$\frac{[\text{I}_n^-]}{[\text{HI}_n]} = 10$	Solución amarilla

Otros colorantes son:

COLORANTE	pH (INTERVALO)	CAMBIO DE COLOR
Timol azul	1,2 - 2,8	Rojo - Amarillo
Anaranjado de metilo	2,1 - 4,4	Anaranjado - Amarillo
Rojo de metilo	4,2 - 6,3	Rojo - Amarillo
Azul de bromotimol	6,0 - 7,6	Amarillo - Azul
Rojo de cresol	7,2 - 8,8	Incoloro - Rojo
Fenolftaleína	8,3 - 10,0	Incoloro - Rojo
Amarillo de alizarina	10,1 - 12,0	Amarillo - Rojo

Objetivos

- Detectar la producción de CO_2 en la fermentación alcohólica de la levadura.
- Detectar la presencia de piruvato y acetaldehído durante la fermentación de la glucosa por levaduras.

Conocimientos necesarios

Respiración aeróbica y anaeróbica, fermentación, glucólisis, ciclo de Krebs, cadena de la oxidación fosforilativa, ATPasas, gradiente de protones.

Experimental

A) Detección de CO₂ durante la fermentación alcohólica de la levadura.

La levadura *Saccharomyces cereviceae* en presencia de glucosa transforma este sustrato en etanol y CO₂ de acuerdo con la reacción:



La detección de la presencia de CO₂ puede realizarse recogiendo el gas sobre agua en un tubo de ensayo que contenga un indicador ácido-base como el rojo de fenol (¿Por qué se puede detectar de esta forma el dióxido de carbono?).

- Ejercicio:
Escriba la ecuación química mediante la cual se puede determinar CO₂ con el rojo de fenol.

Procedimiento

1 En 4 generadores de gases, sellados con papel parafilm, como los ilustrados en la Figura 1, agregue las siguientes soluciones en las proporciones señaladas: 10 ml de solución que contenga levaduras en agua (20 g/100ml) y 10 ml de glucosa 10 mM:

- glucosa + (agua tibia + levaduras vivas) *
- (agua tibia + levaduras lisadas) + glucosa
- agua tibia (sin levaduras) + glucosa
- (agua tibia + levaduras vivas) +10 ml de agua tibia.

Las levaduras se encuentran suspendidas en agua, por lo cual los 10 ml son de levadura en agua tibia.

2 Espere unos 15 a 30 minutos y quite el papel “parafilm” de la boca de los generadores de gases y coloque la punta de los mismos en tubos de ensayo que contienen agua con el rojo de fenol (coloque una pequeña cantidad de colorante de aproximadamente 2 ml) y observe lo que sucede ¿Por qué cambia de color el colorante? Escriba la ecuación del proceso que Ud. cree está ocurriendo.

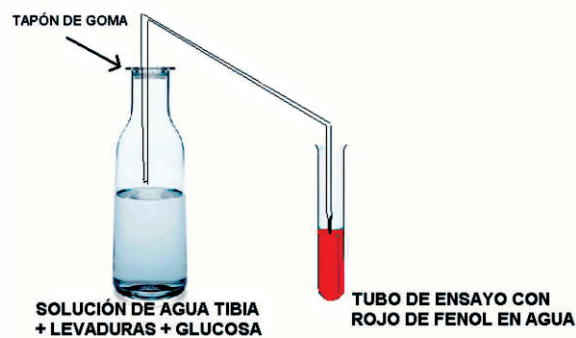


Figura 1. Diseño experimental

A) Detección de piruvato y acetaldehído durante la fermentación de glucosa por levadura

► Plumier DT. Introducción a la bioquímica práctica. 2ª ed. Colombia: Mc Graw Hill Interamericana S. A.; 1981).

(LA PRESENTE SECCIÓN SE REALIZARÁ SI HAY LOS REACTIVOS Y LAS CONDICIONES APROPIADAS EN EL LABORATORIO).

En dos tubos de ensayo (A y B) pipetee 5 ml de la *solución de glucosa* (1 g/10 ml); al tubo A agregue 5 ml de *suspensión de levaduras* en solución ligeramente alcalina de Na_2HPO_4 (2 g/10 ml de levaduras en Na_2HPO_4 pH ~ 8.0); y al tubo B añada 5 ml de suspensión de levaduras en solución ácida de KH_2PO_4 (2 g/10 ml de levaduras en solución de KH_2PO_4 , pH ~5). Coloque los tubos en un baño de agua a 37 °C durante 1 h, luego añada a cada tubo 2 ml de solución de ácido tricloroacético, mezcle vigorosamente y centrifugue durante 10 min a 2500 g. Separe el sobrenadante y úselo para la determinación del piruvato.

Determinación de piruvato con nitroprusiato de sodio:

En un tubo de ensayo agregue 2 ml del sobrenadante hervido previamente en 1 g de sulfato de amonio sólido. Agregue 1 ml de nitroprusiato de sodio (0.50 g/ 10 ml), mezcle vigorosamente y deje deslizar cuidadosamente, por las paredes del tubo, amoníaco concentrado hasta que se formen dos capas. Si hay piruvato, se forma un anillo verde o azul en la interfase de los dos líquidos. La formación de un anillo rosado transitorio en la interfase indica la presencia de grupos tioles y con frecuencia se observa antes de la coloración azul o verdosa característica de la reacción con piruvato.

Determinación de piruvato con 2,4-dinitrofenilhidrazina:

Otro método de determinar piruvato es con 2,4 dinitrofenilhidrazina. Para ello se agrega 1 ml de una solución saturada de 2,4-dinitrofenilhidrazina (solución saturada en HCl 2M) a 2 ml de sobrenadante, se mezcla fuertemente y se colocan dos o tres gotas de la mezcla en un tubo de ensayo, se le agrega 1 ml de hidróxido de sodio (5 g/100 ml) y se diluye con agua hasta 5 ml. La formación de un color rojo indica la presencia de piruvato.

Determinación de acetaldehído

En dos tubos marcados C y D, pipetee 5 ml de la solución de glucosa (5 g/ 1 ml.), agregue a ambos tubos 5 ml de la suspensión de levadura en agua (20 g/100 ml de agua). Al tubo D añada 0,5 g de sulfito de sodio. Mezcle vigorosamente e incube los tubos a 37 °C durante 1 h. Centrifugue y separe los sobrenadantes. Mezcle 2 ml de sobrenadante con 2 ml de solución fresca de nitroprusiato de sodio (0,50 g/10 ml) y 2 ml de piperidina acuosa (30 g/l en solución acuosa) y agite. Si hay acetaldehído presente, se observará una coloración azul.

Autoevaluación

1. ¿Qué son organismos aeróbicos, anaeróbicos y facultativos? Dé ejemplos de cada uno de ellos.
2. ¿Qué es una fermentación? ¿Qué es la respiración?
3. ¿Puede haber respiración anaeróbica? Si la hay, ¿en qué se diferencia de la fermentación?
4. ¿En cuáles etapas del proceso respiratorio se genera CO₂?
5. ¿En cuáles etapas del proceso fermentativo se genera CO₂?
6. ¿Por qué en la determinación de acetaldehído agrega sulfito de sodio a uno de los tubos?
7. La ecuación general del proceso de la respiración es la siguiente:



- a) ¿Esta reacción es endergónica o exergónica?
- b) Existen sustancias que se hidratan con facilidad, por lo cual se utilizan como desecantes. Por ejemplo, sulfato de sodio, sulfato de magnesio, cloruro de calcio, carbonato de potasio, hidróxido de potasio. Con base en la ecuación dada y las experiencias que ha realizado en el laboratorio diseñe un experimento en el cual pudiera demostrar la eficiencia o rendimiento (% de glucosa consumida con respecto a la cantidad de CO₂ producido) de la respiración. ¿Qué reactivos o técnicas utilizaría para detectar cada componente de la reacción?

► Bibliografía

- Curtis H, Barnes N S. Biología. 6ª ed. España: Editorial Médica Panamericana.;2001.
- Chataing B. Introducción a la bioquímica celular. Vol. II. Mérida, Venezuela: Consejo de Publicaciones ULA; 1998.
- Philip N. Física biológica, energía, información y vida. España: Editorial Reverte; 2005.
- Smith C, Wood EJ. Energy in biological systems Hong Kong: Chapman & Hall; 1991.
- Plummer DT. Introducción a la bioquímica práctica. 2ª ed. Colombia: Mc Graw Hill Interamericana S.A.; 1981.

ANOTACIONES

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____
7. _____
8. _____
9. _____
10. _____
11. _____
12. _____
13. _____
14. _____
15. _____
16. _____
17. _____
18. _____
19. _____
20. _____
21. _____
22. _____
23. _____
24. _____
25. _____
26. _____
27. _____
28. _____
29. _____
30. _____

ANOTACIONES

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____
7. _____
8. _____
9. _____
10. _____
11. _____
12. _____
13. _____
14. _____
15. _____
16. _____
17. _____
18. _____
19. _____
20. _____
21. _____
22. _____
23. _____
24. _____
25. _____
26. _____
27. _____
28. _____
29. _____
30. _____
31. _____
32. _____
33. _____
34. _____
35. _____
36. _____
37. _____
38. _____
39. _____
40. _____
41. _____
42. _____
43. _____

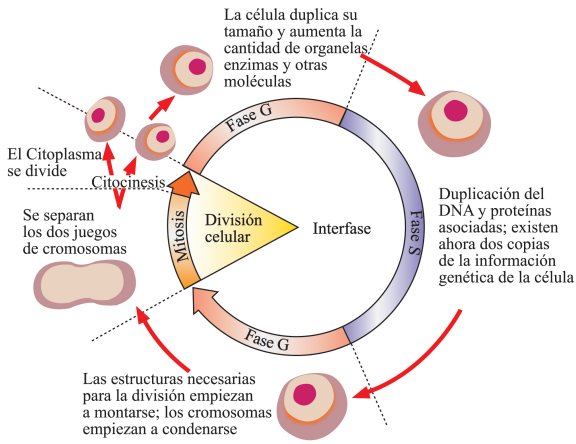
- Introducción
- Objetivos
- Conocimientos necesarios
- Experimental
- Ejercicios y autoevaluación
- Bibliografía

Introducción

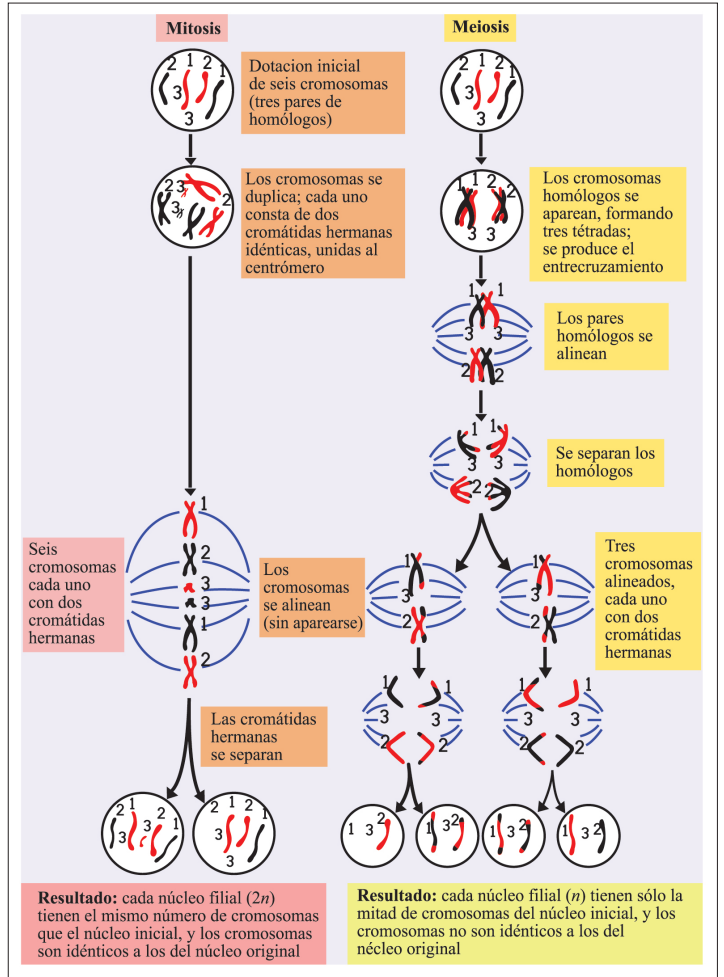
A) La reproducción celular

La idea de que los hijos se parecen a los padres es tan antigua como la propia humanidad. La herencia biológica ha sido quizás el factor más relevante en moldear la evolución social de la humanidad. ¿Qué entendemos realmente por herencia? ¿Cuál es la fuente de este gran poder? ¿Qué es lo que se transfiere de generación en generación? La manera como la vida se perpetúa de generación en generación, y cómo el macho y la hembra contribuyen en las características de su descendencia, son preguntas fundamentales de las ciencias biológicas. Nuestra historia empieza con algo, al parecer simple, la reproducción de una célula. Las células se reproducen mediante un proceso de duplicación de sus contenidos, conocido como división celular. Este ciclo de división celular es fundamental para que todos los seres vivos sean reproducibles. En organismos unicelulares, tales como bacterias, levaduras, protozoarios, cada división celular produce un organismo adicional. En especies pluricelulares, son necesarios diversos ciclos de división celular. La división celular es necesaria, inclusive en el individuo adulto para sustituir las células que son dañadas.

La duración del ciclo celular varía grandemente de un tipo de célula a otra. Así, los embriones de la mosca tienen los ciclos celulares más cortos, cada uno de 8 minutos, mientras que la célula hepática de mamíferos puede tener ciclos celulares superiores a los 12 meses. El ciclo celular es tradicionalmente dividido en fases distintas (profase, metafase, anafase, telofase). Los procesos fácilmente visibles de división nuclear (mitosis), que son llamados de fase M, típicamente ocupan una pequeña fracción del ciclo celular. La otra parte más larga del ciclo es llamada de interfase. Una célula crece tomando materiales de su ambiente y utiliza estos materiales en la síntesis de nuevas moléculas estructurales y funcionales. Las nuevas células hijas son estructuralmente y funcionalmente casi idénticas entre sí como lo son de su célula progenitora.

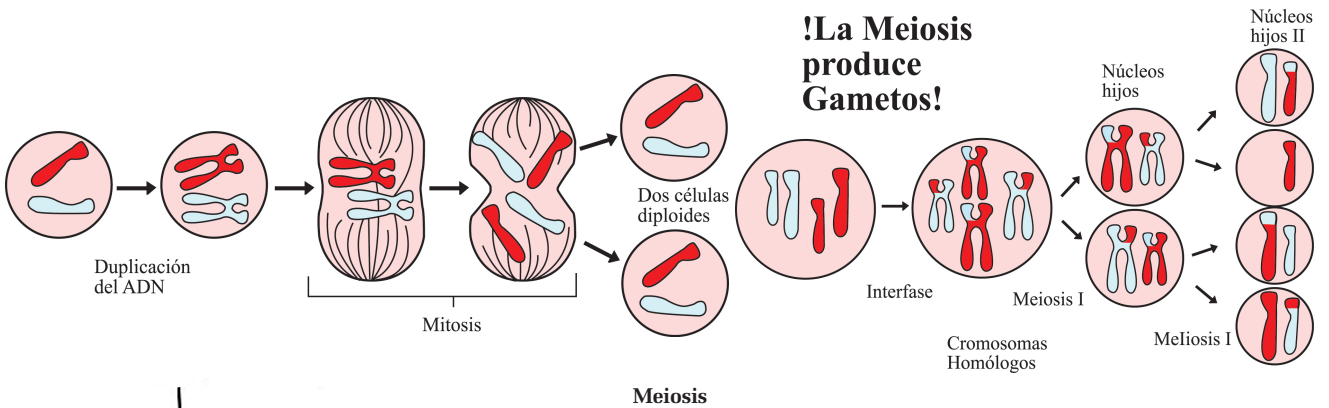


Ciclo celular

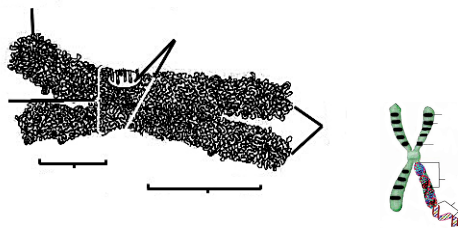


Mitosis

Meiosis



Meiosis



La distribución de la información hereditaria en las células procariotas es relativamente sencilla. El material hereditario (ADN) se duplica antes de la división celular, la membrana plasmática se invagina y la célula se segmenta en dos, separando los dos citoplasmas y las réplicas exactas de la célula inicial.

En los organismos unicelulares, la mitosis es un proceso clave para la reproducción. La mitosis también juega un papel importante en la reproducción de ciertos organismos pluricelulares, que pueden formar nuevos individuos que se separan y se vuelven independientes. Este tipo de reproducción mediante la mitosis recibe el nombre de *reproducción asexual*. Por otra parte, la inmensa mayoría de los organismos eucariotas se *reproducen sexualmente*. La reproducción sexual generalmente obliga a que haya dos progenitores y siempre implica acciones de fecundación y de meiosis. Todos los individuos con reproducción sexual, forman gametos y estos al fusionarse dan origen a un huevo con igual carga cromosómica que los progenitores. La meiosis es un tipo especial de división nuclear y celular que se cree, evolucionó de la mitosis, y utiliza básicamente los mismos mecanismos celulares.

B) La regulación térmica

Una de las ventajas de los seres pluricelulares es su mayor capacidad homeostática: el mantenimiento de unas constantes fisiológicas internas en unos niveles poco variables, en los que las células pueden vivir y funcionar con normalidad. En los animales hay un gran número de actividades que contribuyen a la homeóstasis. Entre algunos ejemplos específicos tenemos la regulación de la composición química de los líquidos internos, los niveles de azúcar en la sangre, la captación y distribución del oxígeno entre las células y la eliminación del dióxido de carbono en el cuerpo. En esta práctica examinaremos una de las funciones homeostáticas más notable, como es la regulación de la temperatura corporal.

Objetivos

- Observar el proceso de división celular.
- Diferenciar células que están en división de las que no lo están.
- Analizar la importancia de la meiosis para los organismos que tienen reproducción sexual.
- Explicar el mecanismo de termorregulación del cuerpo humano.
- Relacionar organismos homeotermos con organismos poiquilotermos frente a variaciones de la temperatura del ambiente.

Conocimientos necesarios

Teoría celular, meiosis, mitosis y mecanismos homeostáticos.

Experimental

A) La división celular

Material:

Levadura en polvo
Glucosa o melaza
Fiolas de 300 ml
H₂O tibia

Procedimiento:

1. Prepare dos fiolas. Disuelva en cada una 1 gr. de melaza en 100 ml. de agua tibia. Añada 1 gr. de la levadura en polvo en cada una, agite y tape el recipiente.
2. Coloque un cultivo a 37 °C por 48 horas, y el otro cultivo durante 1 hora de incubación.
3. Al cabo de ese tiempo saque una pequeña muestra (gota) del cultivo y colóquela sobre una lámina portaobjetos, extienda bien el líquido, de manera que forme una película fina.
4. Coloque encima un cubre objeto y observe al microscopio con bajo y medio aumento.
5. Repita la operación con el otro cultivo, observe, compare y discuta.

Observación:

Verá unas células, que son levaduras, muchas de las cuales presentan una especie de “gemas” que salen de ellas y que crecerán mientras dura su observación. Las levaduras son hongos que están formados por una sola célula, cuando encuentran suficiente alimento crecen, entonces nuevas levaduras se formarán brotando como unas “gemas” de las células ya desarrolladas, permaneciendo unidas en muchos casos a las células madres (gemación).

B) Fases de la mitosis

Material:

- Bulbos de cebollas, de ajo, semillas con raicillas recién formadas (material preparado con una semana de anticipación).
- Solución de HCl 1 N.
- Acido acético al 45%.

- Solución de Carnoy (6 partes de alcohol absoluto, 1 parte de ácido acético glacial y 3 partes de cloroformo)

- Solución de acetocarmín, saturada, filtrada y madurada con 2 gotas de cloruro férrico al 29% por cada 100 ml de solución al momento de utilizar (hervir 0,5 g de Carmín en 100 ml de 45% ácido acético durante 3 minutos, deje enfriar y filtre. Para teñir cromosomas se diluye una parte de la solución con 2 partes de ácido acético al 45% y se añaden 2 gotas de cloruro férrico al 29%).

Procedimiento:

1. Con un bisturí haga cortes transversales finos de las raíces seleccionadas a diferentes tiempos (48, 4 y 1 hora). Cuide que el corte quede lo más fino posible.

2. Coloque el corte en el portaobjeto y añada una gota de solución de ácido acético al 45% por 10 min (permite fijar la muestra: la estructura celular con todo sus elementos dispuestos en la forma que estaban en condiciones naturales).

3. Retire el líquido y añada una gota de HCl 1 N por 1 1/2 min (ayuda a disolver sustancias pépticas de la laminilla media). Maceración.

4. Retire el líquido y lávelas con una gota de agua destilada.

5. Coloque una gota de Carnoy por 3 min.

6. Retire el líquido y añada una gota de colorante acetocarmín por 5 min.

7. Retire el líquido y coloque un cubreobjeto, presione con suavidad y seque el exceso de colorante con papel absorbente.

8. Presione nuevamente con cuidado.

9. Observe las preparaciones al microscopio, primero con pequeño aumento y luego con aumento mediano. Observe los diferentes aspectos de las células (núcleo con aspecto granular o con los cromosomas teñidos, que pueden verse con nitidez) y trate de identificar las diferentes fases de la mitosis.

10. Para preservar las preparaciones, seque los bordes del cubreobjeto y con un pincel fino coloque parafina, esperma o esmalte de uñas. También puede sellar con otro sellador disponible.

C) División celular por meiosis

Material:

Hojas de helechos, flores de jardín.

Procedimiento:

- Hojas de helechos:

1. Observe las hojas de los helechos por su parte interior, envés, observe los pequeños abultamiento de color oscuro llamadas soros.

2. Obsérvela bajo la lupa.

3. Con ayuda de bisturí corte la estructura y observe las esporas producida por la planta de helecho.

- Flores de jardín:

1. Observe las partes de la flor y estudie con ayuda del libro los órganos que se encuentran.

2. Identifique los estambres que en su extremo llevan una parte engrosada, denominada antena.

3. Corte el extremo de los estambres que contienen la antena, realice otro corte a nivel de la antena, en cuyo interior existen unos granulillos que constituyen el polen.

4. Coloque los granos de polen en un porta objeto con una gota de glicerina. Observe los granos de polen de la flor que está estudiando.

5. Discuta la importancia de la meiosis en el proceso de formación del polen.

D) Regulación térmica

1. Termostato natural

Material:

- Termómetro clínico, alcohol y algodón
- Agua fría, chocolate.

Procedimiento:

1. Un estudiante voluntario debe permanecer en reposo, sentado. Un compañero le tomará la temperatura del cuerpo con un termómetro oral y colocará un termómetro en cada mano. A los 3 min, registre la temperatura.

2. El compañero empapa un trozo de algodón en agua helada y frota la parte interna de la muñeca izquierda. El estudiante voluntario describe lo que siente, mientras el agua se va evaporando.

3. El compañero registra la temperatura ambiente, la del cuerpo y las manos.

4. Inmediatamente después, empapa otro algodón con alcohol y moja la parte interna de la muñeca derecha.

5. Toma la temperatura ambiente, la del cuerpo y manos.

6. Observa y verás que el alcohol se ha secado mucho más rápido que el agua. Tu muñeca izquierda se enfría mientras el agua se evapora, pero sentirás mas fría la muñeca derecha.

7. Explique lo sucedido.

8. Tome agua bien fría, describa lo que siente e inmediatamente el compañero registrará la temperatura ambiente así como también la temperatura de su cuerpo.

9. Compare y discuta los resultados con sus compañeros y saque conclusiones pertinentes.

E) Control de temperatura

Material:

Dependiendo de la disponibilidad del laboratorio y tiempo, realice la siguiente experiencia,

- Sapo, tortuga, hámster, ratón.
- Hielo
- Agua tibia 45 °C

Procedimiento:

1. Prepare un dispositivo con dos vasos de precipitado, uno dentro del otro, dependiendo del tamaño y tipo de animal a utilizar.
2. Dentro del vaso mayor coloque hielo.
3. Mida la temperatura del animal.
4. Coloque el animal dentro del vaso menor y déjelo por 10 min.
5. Retire el animal e inmediatamente mida la temperatura.
6. Repita el procedimiento sustituyendo el hielo por agua caliente.
7. Discuta sus resultados.

Autoevaluación

1. Distinga entre los siguientes términos: haploide, diploide, meiosis, mitosis, cromosoma, endotermo, homeotermos y poiquilotermos.
2. Compare la metafase de la mitosis con la metafase II de la meiosis y anafase de la mitosis con la anafase I y anafase II de la meiosis.
3. Compare las semejanzas y diferencias en el proceso y en consecuencias genéticas de la mitosis y la meiosis.
4. ¿En qué parte de nuestro cuerpo se producen la mitosis y la meiosis?
5. Describa qué ocurre en el cuerpo humano cuando la temperatura sube. Lo mismo cuando baja.
6. Investigue acerca de los mecanismos adaptativos de los poiquilotermos para regular el medio interno.

► Bibliografía

- Cooper's GM. La célula. España: Marban Libros; 2004
- Lodish H, Berk A, Matsudaria P, Kaiser C, Krieger M, Scott M, Zipurky L, Darnell J. Biología molecular de la célula. 5ª ed. España: Editorial Panamericana; 2006.
- Salomón EP, Berg LR, Martín DW. Biología. España: McGraw-Hill Interamericana; 1999.

ANOTACIONES

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____
7. _____
8. _____
9. _____
10. _____
11. _____
12. _____
13. _____
14. _____
15. _____
16. _____
17. _____
18. _____
19. _____
20. _____
21. _____
22. _____
23. _____
24. _____
25. _____
26. _____
27. _____
28. _____
29. _____
30. _____
31. _____
32. _____
33. _____
34. _____
35. _____
36. _____
37. _____
38. _____
39. _____
40. _____
41. _____
42. _____
43. _____

- Introducción
- Objetivos
- Conocimientos necesarios
- Experimental
- Autoevaluación
- Bibliografía

Introducción

El conjunto de los componentes bióticos (vivos) y abióticos (no vivos), a través de los cuales fluye la energía y ciclan los materiales, forma lo que se llama un sistema ecológico o ecosistema. Dentro del ecosistema, las distintas poblaciones interactúan con la porción abiótica del entorno. Tales interacciones tienen dos consecuencias: un flujo unidireccional de energía que va desde los autótrofos (generalmente organismos fotosintetizadores) a los heterótrofos, que son los que consumen, bien sea a autótrofos o a otros heterótrofos, y una circulación o ciclo de materiales que se mueven desde el entorno abiótico, pasan por los cuerpos de organismos vivos y retornan otra vez al entorno abiótico. Este ciclado de los materiales depende de la existencia de descomponedores, organismos que descomponen los materiales orgánicos en moléculas más simples que pueden ser usadas por los autótrofos. La práctica consiste en el estudio de una comunidad en su medio natural.

Objetivos

- Estudiar algunas relaciones que se producen entre los organismos y entre éstos y el ambiente.
- Determinar el flujo de energía como factor importante en la organización de los ecosistemas.
- Observar los diferentes niveles tróficos.
- Explicar por qué, en ambientes diferentes, se desarrollan comunidades distintas.

Conocimientos necesarios

Organismos autotróficos y heterotróficos, ecosistemas y cadenas tróficas.

Experimental

A) Visita a bosque nublado de monte Zerpa o a cualquier otro lugar

1. Determine el tipo de paisaje (sabana, páramos, selvas, bosques, manglares, desierto).
2. Observe la diversidad de flora y fauna en un área de 10 m.
3. Determine el flujo de energía del ecosistema.
4. Determine los diferentes niveles tróficos.

B) Pequeños ecosistemas:

1. Trate de establecer pequeños ecosistemas:
Acuáticos, tronco de árbol podrido, debajo de piedra grande, etc.
2. Determine las relaciones que pueden establecerse entre los organismos y entre éstos y los factores abióticos:

a. Factores abióticos: (cuantifíquelos cualitativamente)

Temperatura
Luz
Humedad
Tipo de suelo

b. Plantas presentes: (trate de clasificarlas dentro de grandes grupos)

Algas
Hongos
Líquenes
Helechos
Hierbas
Arbustos
Árboles
Orquídeas
Otros grupos

c. Animales presentes: (trate de clasificarlos dentro de grandes grupos)

• Invertebrados:
Anélidos
Platelmintos
Nematelmintos
Moluscos
Artrópodos
Otros grupos

- Vertebrados:

- Peces

- Anfibios

- Reptiles

- Aves

- Mamíferos

b. Trate de encontrar: las relaciones existentes entre los diferentes miembros de la comunidad y entre estos y su ambiente físico.

c. Relaciones

- La vegetación es uniforme o variada
- La fauna es muy variada, dónde se refugian, qué comen, horas en las cuales permanecen activos

C) El papel de cada organismo en el ecosistema

Considere cada uno de los organismos indicados a continuación y haga una lista de los efectos de cada uno en sus ecosistemas respectivos, considere, para cada organismo, cómo recibe su energía y nutrientes, a dónde va lo que produce o excreta (residuos metabólicos, descendientes, cadáveres) y sus efectos sobre otros organismos.

- Lombriz de tierra.
- Planta herbácea.
- Grillo.
- Pájaro.

D) Impacto ecológico

a. Formule una hipótesis que explique lo que sucedería en la comunidad estudiada si cambiara un determinado factor ambiental abiótico: luz, temperatura, humedad, viento.

b. Imagine un medio ambiente diferente al que estudió: Lagunillas, El Valle, y formule la hipótesis de lo que le sucedería a alguno de los integrantes de la comunidad estudiada.

- c.** Discuta un proyecto de posible explotación racional de los recursos.
- d.** La vegetación contribuye a evitar la erosión.

Autoevaluación

1. Defina los siguientes términos: ecosistema, comunidad, biótico, abiótico, cadena trófica, consumidor, descomponedor, paisaje, bioma.
2. Por qué hay diversidad de ecosistemas en Venezuela y en el mundo.

3. Describa lo que le ocurre a la energía luminosa cuando incide sobre un ecosistema de bosque templado, un campo de maíz, laguna y sobre campo en el que pastorea el ganado.
4. Describa lo que le ocurre a los nutrientes minerales en un ecosistema.

► **Bibliografía**

- Curtis H, Barnes NS. Biología. España: Editorial Médica Panamericana; 2001.
- Dieter H, Hergt M. Atlas de ecología. España: Alianza Editorial; 2000.
- Salomon EP, Berg LR, Martín DW. Biología. México: McGraw-Hill Interamericana; 1999.

ANOTACIONES

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____
7. _____
8. _____
9. _____
10. _____
11. _____
12. _____
13. _____
14. _____
15. _____
16. _____
17. _____
18. _____
19. _____
20. _____
21. _____
22. _____
23. _____
24. _____

Materiales necesarios para las prácticas

Práctica 1 Introducción al método científico

No necesita reactivos ni instrumentación especial.

Material llevado por el profesor: tesis, monografías, seminarios, libros, artículos científicos recientes.

Práctica 2 Macromoléculas y preparación de soluciones

- | | |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> •Cristalería: 30 pipetas 10 cilindros graduados 100ml 10 vasos precipitados 500ml 10 vasos precipitados 100 ml 30 erlenmeyer 250 ml 10 frascos 500 ml 5 botellas ámbar 250 ml | <ul style="list-style-type: none"> •Equipos: PHmetro Balanza Agitadores magnéticos Plato de calentamiento y agitación Destilador Autoclave Campana extractora |
| <ul style="list-style-type: none"> •Material: 10 propipetas 10 guantes 10 tapa bocas | <ul style="list-style-type: none"> •Reactivos: Cloruro de sodio (NaCl) Formol Alcohol Cloruro de potasio (KCl) Fosfato básico de sodio (Na_2HPO_4) Fosfato ácido de potasio (KH_2PO_4) Ácido acético glacial Cloroformo |

Práctica 3 Microscopio

- | | |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> •Reactivos: Azul de metileno Alcohol absoluto | <ul style="list-style-type: none"> •Material biológico: Láminas fijadas y coloreadas: cortes de tejidos, bacterias, etc. Agua estancada |
| <ul style="list-style-type: none"> •Cristalería: 10 frascos ámbar 30 ml 1 frasco ámbar 500 ml 10 cilindros 50 ml | <ul style="list-style-type: none"> •Equipos: Balanza 20 microscopios 10 microscopios estereoscópicos Microscopio con equipo de video |
| <ul style="list-style-type: none"> •Material: Papel especial para limpieza del microscopio Aceite de inmersión | |

Práctica 4 La célula

- **Material:**
 - Hisopo estéril
 - Porta objeto
 - Cubre objetos
 - Papel especial de limpieza de microscopio
 - Bisturí
 - Hojas de bisturí
 - Lancetas desechables
- **Reactivos:**
 - Metanol
 - Solución salina (ya preparadas en otras prácticas)
 - Solución tamponada pH 7,2 (ya preparadas en otras prácticas)
 - Aceite de inmersión
 - Azul de metileno
 - Giemsa
 - Violeta de genciana
 - Alcohol
 - Lugol
- **Material biológico:**
 - Láminas coloreadas de bacteria (Procariota) y *Leishmania* (Eucariota) u otro organismo unicelular
 - Láminas de cortes coloreados de hígado y bazo
 - Agua estancada
 - Hoja de elodea o de musgo
 - Raíces, hojas, grama, raspado de papa, cebolla, plantas de jardín, etc.
 - Grillo, cucaracha, etc. o lombriz de tierra, larva, etc. y extraiga el tubo digestivo
- **Equipos:**
 - 20 microscopios

Práctica 5 Las reacciones químicas en biología

- **Materiales y equipos:**
 - Vasos de precipitado de 100, 250 ml y 1 litro de capacidad
 - Termómetros
 - Baños de María
 - Goteros
 - Pipetas Pasteur tallo corto
 - Tubos de ensayo
 - Hielo
 - Mecheros, soportes y rejillas
 - Pinzas de madera
- **Reactivos esenciales:**
 - H_2SO_4 concentrado
 - NaOH 2 N
 - Poliacrilamida
 - $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$
 - NaCl
 - NH_4Cl
 - FeCl_3
 - KSCN
 - AgNO_3
 - $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_4$
 - $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
 - Na_2CoCl_4

Práctica 6 Las enzimas

- **Materiales y equipos:**
 - Vasos de precipitado de 250 y 500 ml. de capacidad
 - Cilindros de 10, 50 y 100 ml de capacidad
 - Matraz aforado de 100, 250 y 1 litro
 - Termómetro
 - Baño de María
 - Cava para hielo
 - Espectrofotómetro visible
 - Agitador
 - Vortex
 - Plancha de calentamiento
 - Pipetas Pasteur y chupón
 - Tubos de ensayo
 - Pinzas de madera
 - PH metro
- **Reactivos esenciales:**
 - Ácido 3,5- dinitrosalicílico
 - Hidróxido de sodio
 - Tartrato de sodio y potasio
 - NaCl
 - $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
 - KH_2PO_4
 - Glucosa
 - Maltosa
 - Almidón hidrosoluble
 - Festal
 - Tartrato de cobre
 - Carbonato de sodio anhidro
 - Sulfato de sodio anhidro
 - Hidróxido de Bario
 - Sulfato de zinc

Práctica 7 La fotosíntesis

- **Materiales y equipos:**
 - Hojas de elodea o espinaca (este material lo debe suministrar el alumno)
 - Tijeras
 - Mortero
 - Filtros
 - Embudos de filtración y soportes
 - Papel de filtro Whatman # 1
 - Espectrofotómetro
 - Tubos de ensayo
 - Embudos de separación
- **Reactivos esenciales:**
 - Plancha de calentamiento
 - Papel de aluminio
 - Bombillo de 100 w
 - Cápsulas de Petri
 - Vasos de precipitado
 - Metanol
 - Acetona
 - Éter de petróleo
 - Yodo

Práctica 8 La fermentación y la respiración

- **Materiales y equipos:**
 - Generadores de gases, tapones de goma
 - Papel parafilm
 - Tubos de vidrio
 - Tubos de ensayo
 - Pipetas Pasteur y su chupón
 - Baño de agua
 - Centrífuga de mesa
- **Reactivos esenciales:**
 - Marcadores
 - Tirro
 - Vasos de precipitado
 - Mecheros y soportes
 - Pinzas
 - PH metro

• **Reactivos:**

Levaduras
Glucosa
Rojo de fenol
 Na_2HPO_4
NaOH
 KH_2PO_4

HCl
Sulfato de amonio
Nitroprusiato de sodio
2,4 dinitrofenil hidrazina
Sulfito de sodio
Piperidina

Práctica 9 División celular y regulación térmica

- El estudiante debe preparar el material una semana antes:
Bulbos de cebollas, de ajo, semillas con raicillas recién formadas (material preparado con una semana de anticipación)
Levadura en polvo
Glucosa o melaza
Sapo, tortuga, hámster, ratón
Láminas de cortes de raíz de cebolla
Hojas de helechos, flores de jardín

• **Cristalería:**

10 fioles de 300 ml
10 mecheros
10 embudos
5 vasos precipitado 1lt
5 vasos precipitado 500 ml
Láminas
Cubre objetos

• **Reactivos:**

Solución de HCl 1 N
Ácido acético al 45%
de cloroformo

Solución de acetocarmín saturada
Solución de Carnoy (preparada en prácticas anteriores)
Cloruro férrico
Ácido acético
Álcohol

• **Material:**

Hielo
Mechero
Trípode con gradilla
Papel de filtro
Termómetro clínico
Algodón
Balanza
Agua fría
Chocolate
Bisturí
Pincel
Esmalte de uñas

• **Equipos:**

Microscopios
Microscopios estereoscópicos

Práctica 10 Ecosistemas

• **Actividad:**

Visita a un bosque nublado o cualquier otro lugar con un ecosistema característico, dependiendo del sitio, se puede requerir transporte.

Glosario

A

- **Ácido.** Sustancia capaz de ceder protones a una sustancia aceptora de los mismos.
- **Almidón.** Polímero de glucosa con enlaces α (1 \rightarrow 4) ramificaciones α (1 \rightarrow 6) que es la principal reserva de carbohidratos en las plantas.
- **Aminoácido.** Unidad monomérica de las proteínas que consta de un átomo de carbono unido a un grupo α -carboxílico, a un grupo α -amino, a un átomo de hidrógeno, y a una cadena lateral específica que determina sus características.
- **Anafase.** Fase de la mitosis durante la cual las cromátidas hermanas se separan y migran a polos opuestos del huso.
- **Aparato de Golgi.** Organela citoplasmática implicado en el procesamiento y distribución de proteínas y lípidos.
- **Autótrofo.** Organismo que sintetiza compuestos orgánicos complejos a partir de materias primas inorgánicas simples. También llamado productor o productor primario.

C

- **Cadena trófica.** Relaciones alimentarias entre organismos que se encuentran en un ecosistema.
- **Calor.** Cantidad total de energía cinética en una muestra de una sustancia. Es la energía transmitida por una diferencia de temperatura entre un sistema y sus alrededores. El calor es una forma de incrementar la energía interna porque estimula el movimiento molecular.
- **Células eucariotas.** Células que presentan una envoltura nuclear, organelas citoplasmáticas y un citoesqueleto.
- **Células procariotas.** Células que carecen de envoltura nuclear, de organelas citoplasmáticas y de citoesqueleto.
- **Celulosa.** Principal componente estructural de la pared celular vegetal, polímero lineal de glucosa unido mediante enlaces glicosídicos β (1 \rightarrow 4).
- **Centríolo.** Estructura cilíndrica consistente en nueve tripletes de microtúbulos en los centrosomas de la mayoría de las células animales.
- **Cilio.** Proyección de la membrana plasmática, constituida por microtúbulos, que mueve a la célula a través de fluidos o al fluido sobre la célula.
- **Clorofila.** Principal pigmento fotosintético de células vegetales.
- **Cloroplasto.** Organela limitada por una doble membrana, en el cual ocurre la fotosíntesis en los organismos eucariotas
- **Cromatina.** Complejo fibroso de ADN eucariota y proteínas histonas.

E

- **Ecología.** El estudio de las interacciones de los organismos con su ambiente físico y entre sí, y los resultados de esas interacciones.
- **Ecosistema.** Los organismos de una comunidad y los factores abióticos asociados con los que están en interacción.
- **Energía potencial.** Es la energía que posee un cuerpo en virtud de su posición en un campo de fuerzas.
- **Energía.** Capacidad de realizar trabajo, puede expresarse en kilojoules o kilocalorías.
- **Enlaces de alta energía.** Enlaces químicos que liberan una gran cantidad de energía libre cuando se rompen.
- **Entalpía o contenido de calor.** El calor retirado del ambiente en una transformación realizada a presión constante.
- **Entropía.** Medida de la aleatoriedad o desorden de un sistema.
- **Envoltura nuclear.** Barrera que separa el núcleo del citoplasma, compuesta de una membrana interna y otra externa, una lámina nuclear, y complejos de poros nucleares.
- **Enzimas.** Proteínas que catalizan reacciones biológicas.
- **Eritrocitos.** Glóbulos rojos sanguíneos.
- **Exergónico.** Proceso o reacción química que libera energía libre.

F

- **Fermentación.** Proceso anaerobio por medio de cual se produce ATP en una serie de reacciones redox en las que compuestos orgánicos actúan como donadores y aceptores de electrones.
- **Flagelo.** Estructura filamentosa que se encuentra en los eucariotas y se utiliza en la locomoción y la alimentación, tiene una estructura interna de 9 pares de microtúbulos que rodean a dos microtúbulos centrales.
- **Fotosíntesis.** Proceso mediante el cual las células aprovechan la energía de la luz solar y sintetizan glucosa a partir de CO₂ y agua.

G

- **Glucólisis.** Primera fase de la respiración celular, literalmente “rotura de azúcar”. Conversión metabólica de glucosa en piruvato, acompañada de la producción de ATP.

H

- **Hábitat.** Lugar en el que pueden encontrarse habitualmente los individuos de una especie determinada.
- **Heterótrofo.** Organismo que debe alimentarse de sustancias orgánicas sintetizadas por otros organismos para obtener energía.

- **Hipótesis.** Suposición que puede someterse a prueba acerca de la naturaleza de una observación o relación.

L

- **Longitud de onda.** Distancia de una cresta de onda a la siguiente, la energía de la radiación electromagnética es inversamente proporcional a su longitud de onda.

M

- **Meiosis.** División de células diploides en una progenie haploide, consistente en dos rondas secuenciales de división nuclear y celular.
- **Método deductivo.** Enfoque que pone de relieve el uso del razonamiento deductivo para probar hipótesis
- **Método inductivo.** Enfoque que pone de relieve el uso del razonamiento inductivo para descubrir nuevos principios generales.
- **Microscopía de fluorescencia.** Tipo de microscopía en donde las moléculas son detectadas con base en la emisión de luz fluorescente.
- **Microscopio electrónico.** Microscopio capaz de producir imágenes de alta resolución y muy ampliadas mediante un haz de electrones. Los microscopios electrónicos de transmisión producen imágenes de cortes delgados; los microscopios electrónicos de barrido producen imágenes de superficies.
- **Mitosis.** Proceso de división nuclear que da origen a células hijas con igual carga cromosómica.
- **Molécula.** Partícula más pequeña de un compuesto.

N

- **Neurona.** Célula nerviosa, célula conductora del sistema nervioso que típicamente consta de cuerpo celular, dendritas y un axón.
- **Nivel trófico.** Cada organismo en un ecosistema se asigna a un nivel trófico con base en su fuente primaria de nutrición.
- **Núcleo.** Es un organelo de las células eucariotas que contiene el material genético.

O

- **Oxidación.** Proceso mediante el cual una sustancia cede electrones a otra sustancia aceptora de los mismos.

P

- **Pared celular.** Estructura producida por la célula que rodea la membrana celular de las plantas, algas, hongos y procariotas.

- **Pigmento.** Sustancia que absorbe selectivamente luz de diferentes longitudes de onda.
- **Polisacárido.** Carbohidrato consistente de muchas subunidades de monosacárido, ya sean estos similares (almidón, glucógeno, celulosa) o diferentes.
- **Procariota.** Célula que carece de núcleo y organelas limitadas por membrana.
- **Profase.** Etapa temprana de la división nuclear caracterizada por condensación de los cromosomas hacia el ecuador del huso.
- **Proteína.** Compuesto orgánico constituido por una o más cadenas polipeptídicas, cada una formada por aminoácidos enlazados a través de enlaces peptídicos.

R

- **Reacción endergónica.** Reacción no espontánea, la que requiere un aporte neto de energía libre.
- **Reacción exergónica.** Reacción caracterizada por la liberación de energía libre.
- **Reacción química.** Interacción entre átomos, iones o moléculas que da por resultado la formación de nuevas combinaciones de átomos o moléculas. Una reacción química representa un rearrreglo de átomos.
- **Reacciones fotodependientes.** Reacciones de la fotosíntesis en las cuales la energía lumínica absorbida por la clorofila es utilizada para sintetizar ATP y por lo común NADPH.
- **Reactivo.** Sustancia que participa en una reacción química.
- **Respiración celular.** Es el proceso por el cual las células generan ATP a través de una serie de reacciones redox en las que el aceptor final de electrones es un compuesto inorgánico. En la respiración celular aeróbica el aceptor final de electrones es oxígeno molecular, mientras que en la respiración celular anaerobia, el aceptor final es una molécula inorgánica distinta al oxígeno.

S

- **Solución.** Mezcla homogénea, a nivel molecular, de dos o más sustancias.
- **Soluto.** Sustancia disuelta que se encuentra formando una solución en menor concentración.
- **Solvente.** Sustancia capaz de disolver otras sustancias. Se considera la sustancia en mayor concentración en la formación de soluciones. En el caso de soluciones acuosas, el agua se considera el solvente.
- **Sustrato.** Sustancia específica sobre la cual actúa una enzima. Representa el reactivo en una reacción catalizada por una enzima.

T

- **Tejido.** Grupo de células similares organizadas en una unidad estructural y funcional.

- **Temperatura.** Energía cinética promedio de las partículas en una muestra de una sustancia. El concepto de temperatura se introdujo inicialmente como un resultado de la observación de que todos los cuerpos tienden gradualmente a un estado de equilibrio térmico.
- **Teoría.** Principio ampliamente aceptado y apoyado por un gran cuerpo de observaciones y experimentos. Una buena teoría relaciona hechos que parecen no estar relacionados, predice nuevos hechos y sugiere nuevas relaciones.
- **Termodinámica.** Estudio de las transformaciones de la energía.
- **Trabajo.** Es una manera de transferir energía. El trabajo aparece únicamente durante un cambio de estado y se manifiesta por un efecto en el ambiente (levantar o bajar un peso). El trabajo implica un movimiento organizado

V

- **Vacuola.** Organela limitada por una membrana llena de líquido, situada en el citoplasma de una célula.
- **Virus.** Partícula compuesta de ácido nucleico y cubierta proteica, capaz de infectar células vivas.

► Bibliografía general

- Ackoff R. con la colaboración de Gupta SK y Sayer Minas J. Scientific method; optimizing applied research decisions. New York: John Wiley & Sons; 1962.
- Acuña RA, Boscán JP, Franco, JR. Técnicas de documentación e investigación. 6ª ed. Caracas: Universidad Nacional Abierta; 1984.
- Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. Molecular Biology of the cell. 3ª ed. New York: Garland Publishing Inc.;1994.
- Audesirk T. Biología 1. 4ª ed. México: Prentice Hall; 1997.
- Baker JJ, Allen GE. Biología e investigación científica. México: Fondo Educativo Interamericano S.A.; 1970.
- Bergmeyer HU. Methods of enzymatic Analysis. Volumen 2. 2ª ed. New York: Academic Press; 1996.
- Bertrand, R. El conocimiento humano. México: Editorial Orbis; 1983.
- Bollag DM, Edelman SJ. Protein Methods. New York: Wiley-Liss; 1991.
- Chataing B. Introducción a la bioquímica celular. Vol. I. Mérida: Consejo de Publicaciones ULA; 1995.
- Chataing B. Introducción a la bioquímica celular. VOL. II. Mérida: Consejo de Publicaciones, ULA; 1998.
- Cooper's GM. La célula. España: Marban Libros; 2004.
- Curtis H, Barnes NS. Biología. 6ª ed. España: Editorial Médica Panamericana; 2001.
- Curtis H, Barnes NS. Invitación a la biología. 5ª ed. España: Editorial Médica Panamericana; 1999.
- Diehls-Jones SM. The chlorophylls. J. Chem. Educ. 1984; 61:454-455
- Dieter H, Hergt N. Atlas de ecología. España: Alianza Editorial; 2000.
- Donald V. Bioquímica. Manual de soluciones. España: Ediciones Omega; 1993.
- Gardner EJ, Simmons MJ, Snustad DP. Principios de genética. 4ª Elements of General and Biological Chemistry.
- Holum JR. Elements of General and Biological Chemistry. 4ª ed. New York: John Wiley & Sons; 1975.
- Izco J. Botánica. 2ª ed. España: Editorial Mc GrawHill; 2004
- Karp G. Biología celular. España: Editorial Mc GrawHill;1999.
- Kimball JW. Biología. México: Addison-Wesley Iberoamericana; 1986.
- Lodish H, Berk A, Matsudaria P, Kaiser C, Krieger M, Scott M, Zipurky L, Darnell J. 5ª ed. Biología molecular de la célula. España: Editorial Panamericana; 2006.
- López Cano JL. Método e hipótesis científicos. 4 ed. México: Edit.Trillas; 1978.
- Mahan B. University chemistry. New York: Mc Graw Hill; 1987.
- Morris JG. Fisicoquímica para biólogos. 2ª ed. México: Editorial Reverté; 1974.
- Nash LK. Stoichiometry. Reading (NY): Addison-Wesley Pub. Company; 1972.
- Nelson DL, Cox MM. Lehninger AL. Principios de bioquímica. España: Ediciones Omega; 2001.
- Ouellette RJ. Introductory Chemistry. 2ª ed. New York: Harper & Row Pub.; 1975.
- Pavia DL, Lampman GM, Kriz Jr GS. Introduction to Organic laboratory techniques. A contemporary approach. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1976.
- Philip N. Física biológica, energía, información y vida. España: Editorial Reverté; 2005.

- Plummer DT. Introducción a la bioquímica práctica. 2ª ed. Bogotá: Mc Graw Hill Interamericana S. A.; 1981.
- Polit DF, Hungler BP. Investigación científica. En: Ciencias de la salud. México: McGraw-Hill Interamericana; 1997.
- Resh HM. Cultivos hidropónicos. Madrid (España): Edit. Mundi-Prensa; 1982.
- Riveros HG. El método científico aplicado a las ciencias experimentales. México: Edit. Trillas; 1982.
- Roche M. Nueva tendencia de la investigación científica venezolana. En: Péfaur J, Fuenmayor F, editores. Deambular por la ciencia. Mérida: Publicaciones Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes; 1999: p. 137-138.
- Sabino CA. Los caminos de la ciencia. Bogotá: Panamericana Editorial Ltda.; 1996.
- Segel IH. Biochemical calculations. New York: John, Wiley & Sons; 1976.
- Smith CA, Wood EJ. Energy in biological systems. New York: Chapman & Hall; 1991.
- Smith CA, Wood EJ. Moléculas biológicas. México: Addison Wesley Longman; 1998.
- Solomon EP, Berg LR, Martín DW, Villee C. Biología De Ville. 4ª ed. México: Mc Graw-Hill Interamericana; 1998.
- Solomon EP, Berg LR, Martín DW. Biología. México: McGraw-Hill Internacional Editores; 2001.
- Soto TS, Durán FT. Parasitología: manual de trabajos prácticos. Venezuela: Editorial de la Universidad del Zulia; 1996
- Tamayo-Tamayo M. El proceso de la investigación científica. México: Editorial Limusa; 1999.
- The Open University (UK). La ciencia: sus orígenes, escalas y limitaciones. México: Mc Graw Hill; 1975.

► **En Internet**

- Chataing B. Temas de biología, bioquímica, fisicoquímica y técnicas, además de enlaces en Internet, disponible en URL: webdelprofesor.ula.ve/ciencias/chataing.
- <http://www.nationalgeographic.com> (página de la revista National Geographic).
- <http://www.cienciahoy.org> (página para acceder a los artículos de la revista Ciencia Hoy).
- <http://www.nature.com>
- <http://www.amnh.org>
- <http://www.literatur> <http://www.e.org>
- <http://www.coby.edu/biology/B1398/senses.html>

Índice

7	Prefacio
9	Objetivo
9	Instrucciones generales
1	práctica
11	Introducción al método científico
2	práctica
17	Macromoléculas y preparación de soluciones
3	práctica
23	El microscopio y sus características
4	práctica
31	La célula
5	práctica
37	Las reacciones químicas en biología y los procesos de transferencia de energía
6	práctica
43	Las enzimas: propiedades de α -amilasa
7	práctica
51	La fotosíntesis
8	práctica
57	Fermentación y respiración
9	práctica
67	División celular y regulación térmica
10	práctica
75	Ecosistemas
79	Materiales necesarios para las prácticas
83	Glosario
88	Bibliografía general

La presente edición de 500 ejemplares
se terminó de imprimir
el mes de abril de 2009
en el Centro Editorial Litorama C.A

Mérida-Venezuela

Información técnica:

Programas: QuarkXpress Passport 7.0 y Adobe Illustrator CS3

Impresión: papel Saima antique y cartulina Sulfato

Fuentes tipográficas: Melior, Arial Rounded Bold y Helvéticas