



UNIVERSIDAD  
DE GRANADA



# Protocolo de Prácticas de Biología (CTA)

## **Autores:**

Josué Martínez de la Puente <sup>1,2</sup>, Francisco José Palma Martín <sup>3</sup>, Mario Garrido Escudero<sup>1</sup>, Noel Amaurys Tejera García <sup>3</sup>

1. Departamento de Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada
2. Ciber de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP)
3. Departamento de Fisiología Vegetal, Facultad de Farmacia. Universidad de Granada

Curso 2022-23

# **Prácticas de Biología General Grado de Ciencia y Tecnología de los Alimentos**

## **CONTENIDO**

1. Observación de la mitosis en ápices de raíces de cebolla
2. Observación de células animales y vegetales
3. Observación de células de la mucosa bucal humana

## **OBSERVACIÓN DE LA MITOSIS EN ÁPICES DE RAÍCES DE CEBOLLA O DE AJO**

### **1. INTRODUCCIÓN**

La mayoría de las células atraviesa una secuencia regular y repetitiva de crecimiento y división que constituye el ciclo celular. Las células se reproducen mediante un proceso conocido como división celular, en el cual su material genético (ADN) se reparte entre dos células hijas. En las plantas y en los animales multicelulares, la división celular es el procedimiento por el cual el organismo crece, partiendo de una única célula y los tejidos son reparados y reemplazados. Una célula individual crece hasta alcanzar un cierto tamaño crítico y un cierto estado metabólico y entonces se divide.

Cuando la célula se divide, cada célula hija tiene que recibir una copia completa, y sólo una, de cada uno de los cromosomas. El proceso por el que se lleva a cabo este reparto se llama colectivamente mitosis. La mitosis habitualmente es seguida de un proceso de citocinesis que divide a las células en dos células nuevas en el cual el citoplasma materno es partido por la mitad.

Antes de que una célula pueda comenzar la mitosis y dividirse efectivamente, debe duplicar su ADN, sintetizar histonas y otras proteínas asociadas con el ADN de los cromosomas, producir una reserva adecuada de orgánulos para las dos células hijas y ensamblar las estructuras necesarias para que se lleven a cabo la mitosis y la citocinesis. Estos procesos preparatorios ocurren durante la interfase, en la cual, a su vez, se distinguen tres etapas: las fases  $G_1$ , S y  $G_2$ .

El proceso de la mitosis se divide convencionalmente en cuatro fases: profase, metafase, anafase y telofase. Durante toda la interfase, poco puede distinguirse dentro del núcleo. Sin embargo, al comienzo de la profase (habitualmente la etapa más larga de la mitosis), la cromatina ya se ha condensado lo suficiente como para que los cromosomas individuales sean visibles por el microscopio óptico. Cada cromosoma está compuesto por dos cromátidas dispuestas muy juntas y conectadas por sus centrómeros. Durante la profase, los pares de centriolos se separan y comienza la formación del huso. Los dos centriolos migran hacia los polos opuestos de la célula. Durante la metafase temprana, los pares de cromátidas se van ubicando en el plano ecuatorial, conducidos por las fibras cinetocóricas, como si fuesen atraídos primero por un polo y después por el otro. Finalmente los pares de cromátidas se disponen exactamente en el plano ecuatorial de la célula. Esto señala el final de la metafase. Al comienzo de la anafase, la etapa más rápida de la mitosis, los centrómeros se separan simultáneamente en todos los pares de cromátidas. Luego se separan las dos cromátidas de cada par, siendo cada una atraída hacia los polos opuestos. Al iniciarse la telofase, los cromosomas ya alcanzan los polos opuestos y el huso comienza a dispersarse en dímeros de tubulina. Durante la telofase tardía, se vuelven a formar las

---

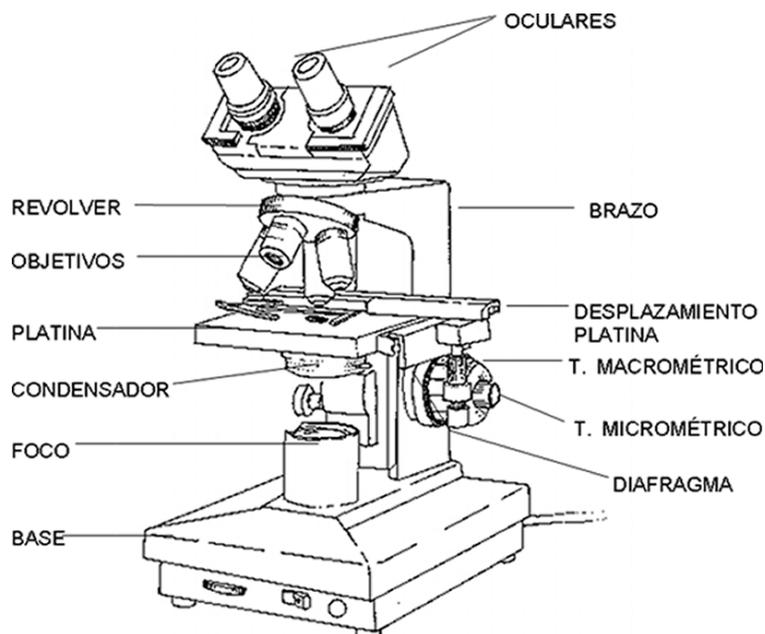
correspondientes envolturas nucleares alrededor de los dos conjuntos de cromosomas que, una vez más se vuelven difusos por descondensación de la cromatina. En cada núcleo reaparecen los nucléolos.

En la mitosis de una célula vegetal se puede observar el huso pero no hay centriolos ni ásteres visibles. El plano de la división celular se establece en la fase G<sub>2</sub> tardía del ciclo celular, cuando los microtúbulos se organizan en una estructura circular, conocida como banda preprofásica, justo por dentro de la pared celular. Aunque esta banda desaparece al empezar la profase, determina la ubicación futura del ecuador y de la placa celular. Los microtúbulos se ensamblan luego en el huso, en una zona clara que se origina alrededor del núcleo en la profase. En la citocinesis, que comienza durante la telofase, la placa celular se extiende gradualmente hacia afuera hasta que alcanza la región exacta de la pared celular ocupada previamente por la banda preprofásica. Las vesículas, producidas por el aparato de Golgi, que originan la pared celular son guiadas a su posición correcta por las fibras del huso que quedan entre los núcleos hijos.

## 2. MATERIALES Y REACTIVOS

- Microscopio
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- 1 pinzas
- 1 tijeras
- 1 pincel
- 1 escalpelo
- 1 aguja enmangada
- 1 Vidrio de reloj o porcelana excavada
- Papel de filtro
- 1 vaso de precipitado
- Orceína acética al 2%
- Orceína acética al 1%
- HCl 0.1N
- Alcohol de 70%
- Ápices de raíz de cebolla o de ajo

### Descripción del microscopio óptico



PARTES DE UN MICROSCOPIO ÓPTICO

### Uso de un microscopio óptico

- a. Coloque la preparación sobre la platina sujetándola con las pinzas.
- b. Compruebe previamente que la platina está baja, que el objetivo de menor aumento (el más corto) está dirigido hacia la platina y que el material a observar quede bien centrado.
- c. Asegúrese que el objetivo de 10 aumentos (10x) esté bien colocado. Para ello, gire el revólver y vuélvalo a poner hasta que se sienta un golpecito seco.
- d. Con el diafragma abierto, regule la luz sobre la preparación para obtener una imagen clara pero que no dañe la vista.
- e. Enfoque la preparación moviendo el tornillo macrométrico para acercar el objetivo hasta la preparación y después, mirando por el ocular, alejar lentamente el objetivo hasta el momento de ver la preparación.
- f. Ajustar la abertura del diafragma hasta obtener un poder resolutivo óptimo (percepción de los detalles de la preparación)
- g. Moviendo el tornillo micrométrico se logrará una imagen más nítida.
- h. Pase al objetivo de 40 aumentos (40x). Suba ligeramente el condensador. La imagen debe estar casi enfocada: afine el foco con el micrométrico. Si la imagen no está ni medianamente enfocada, es preferible volver a un enfoque con el objetivo de 10x. El objetivo de 40x trabaja muy cerca de la preparación y por ello es susceptible de accidente si se usa el macrométrico y ser Aclavado en la preparación, rompiéndose el cubreobjetos y pudiendo dañarse el objetivo.
- i. Finalizada la observación de la preparación, y antes de retirarla de la platina, se colocará el objetivo de menor aumento girando el revólver en sentido hacia él. Nunca retire la preparación con un objetivo largo en posición de observación.
- j. Retire la preparación y limpie cuidadosamente los objetivos.

### **3. METODOLOGÍA**

#### Preparación del material.

- a. En un vidrio de reloj se colocan 9 gotas de orceína acética al 2% y una gota de HCl 0.1N, mezclándolo bien.
  - b. Colocar dos ápices de raíz, procedentes de alcohol de 70%, en el vidrio de reloj y mantenerlo en estufa a 60°C durante 10 minutos.
  - c. Poner en el portaobjetos limpio una gota de orceína al 1% y sobre ella los ápices procedentes del vidrio de reloj, desechando el resto de la raíz.
  - d. Colocar sobre los ápices un cubreobjetos, protegerlo con un trozo de papel de filtro y se presiona suavemente con la uña hasta que el material se disgregue. Limpiar el exceso de colorante con un papel de filtro.
  - e. Observar al microscopio.
-

**4. RESULTADOS Y CUESTIONES**

- a) Dibujar un esquema de cada una de las etapas de la división observadas al microscopio.
- b) Indicar las diferencias entre la mitosis animal y vegetal.
- c) Cita alguna enfermedad que esté directamente relacionada con las alteraciones del ciclo celular en el hombre.





# OBSERVACIÓN DE CÉLULAS ANIMALES Y VEGETALES

## 1. INTRODUCCIÓN

Las células son pequeñas y complejas, para entender su funcionamiento un requisito previo esencial es comprender la organización estructural de las células. En los últimos años la microscopía óptica ha ido ganando importancia día a día ya que tiene una ventaja importante y es que la luz es relativamente poco destructiva y se pueden observar las células vivas y se pueden “etiquetar” sus componentes con colorantes y marcadores fluorescentes. Su limitación es que las estructuras más pequeñas que se pueden observar son las mitocondrias, ya que el poder de resolución de un buen microscopio óptico es de 0,2  $\mu\text{m}$ .

A pesar de la gran diversidad de células existentes presentan muchas similitudes. Cada célula es una unidad autónoma rodeada por una membrana que controla el paso de sustancias hacia y desde el interior, con un diseño común tanto para eucariotas como procariotas y que hace posible que la célula difiera bioquímica y estructuralmente del medio circundante. El núcleo es un cuerpo grande, frecuentemente esférico y, por lo común, la estructura más voluminosa dentro de las células eucariotas donde se encuentran los cromosomas. En las células eucariotas además existen numerosas membranas que definen y mantienen las diferencias entre los orgánulos y el citosol. En el citoplasma se encuentra el retículo endoplasmático que constituye la mayor parte del sistema de endomembranas, el aparato de Golgi, los lisosomas, peroxisomas y mitocondrias.

Las plantas son eucariotas y sus células tienen la característica organización que consta de núcleo y citoplasma. El citoplasma está rodeado por el plasmalema y contiene además de los orgánulos rodeados de membrana presentes en animales, los plastos (cloroplastos en los tejidos verdes, encargados de llevar a cabo la función fotosintética), y una gran vacuola central, que puede llegar a ocupar de un 30 a un 90% del volumen celular, separada del resto por el tonoplasto. El citoesqueleto formado por microtúbulos y microfilamentos participa en las corrientes citoplasmáticas, transporte de vesículas secretoras y deposición de microfibrillas de celulosa. Uno de los rasgos más característicos y distintivos de las células vegetales es la pared celular. Está compuesta mayoritariamente por polisacáridos (celulosa, hemicelulosa y pectinas) con pequeñas cantidades de glicoproteínas y fenoles, formando una estructura muy compleja.

## 2. MATERIALES Y REACTIVOS

- Microscopio
  - Portaobjetos
  - cubreobjetos
  - 1 pinzas y 1 tijeras
  - 1 pincel y 1 escalpelo
  - 1 Vidrio de reloj o porcelana excavada
  - Papel de filtro
  - 1 vaso de precipitado
  - 1 aguja enmangada
  - Paralelas para tinción
  - Cristalizador
  - Hojas de Elodea
  - Mejillón
  - Sacarosa 1M
-

### 3. METODOLOGÍA

#### Observación de células de hoja de *Elodea*.

Poner una gota de agua y montar entre porta y cubre el ápice de una hoja de *Elodea*. Usando el objetivo de mayor aumento (40x), observar un grupo de células próximas al borde del ápice.

#### Plasmolisis de las células de *Elodea* y observación de las corrientes citoplasmáticas

Una vez montada la preparación de *Elodea* y enfocada poner unas gotas de sacarosa 1M en uno de los bordes del cubreobjetos y retirar el agua con ayuda de un papel de filtro colocado en el lado opuesto del cubreobjetos y observar lo que ocurre

#### Observación de células de branquias de mejillón

Abrir un mejillón que esté vivo, introduciendo el borde de una navaja o cuchillo entre las dos valvas. La fuerza de incisión debe ser algo intensa, para forzar la separación de las dos valvas y procurar cortar el par de músculos que mantienen cerrada la concha. Hay que colocar el borde cortante entre ambas valvas y hacer presión suave pero continua hasta lograr suavemente la apertura de la concha.

Procurar que el líquido interno que contiene el mejillón no se pierda, dejándole gotear sobre un vidrio de reloj.

Poner unas gotas del líquido interno del mejillón sobre un portaobjetos utilizando un cuentagotas o un pincel.

Cortar con una navaja u hoja de afeitar un pequeño trozo de las branquias depositándolo con unas pinzas sobre el portaobjetos y cubrir con el cubreobjetos. Usando el objetivo de mayor aumento (40x), observar un grupo de células próximas al borde del tejido. Observar el movimiento de los cilios de las branquias.

### 4. RESULTADOS Y CUESTIONES

- a) Efectuar un dibujo esquemático de una célula de *Elodea* turgente y otra plasmolizada, rotulando sus diferentes partes.
- b) Describir lo que sucede a las células vegetales sumergidas en una solución concentrada de sacarosa (plasmolisis).
- c) Efectuar un dibujo esquemático de una célula de branquias del mejillón.
- d) Enumerar las diferencias entre las células animales y vegetales.





## OBSERVACIÓN DE CÉLULAS DE LA MUCOSA BUCAL HUMANA

### 1. INTRODUCCIÓN

La mucosa bucal es un epitelio plano poliestratificado no queratinizado asociado a numerosas glándulas secretoras de moco. Este epitelio está en continua descamación, no debido al roce (aunque si aumenta el roce, aumenta la descamación), sino que a la naturaleza del epitelio.

Las mujeres y los hombres sin ninguna anomalía cromosómica tienen 22 autosomas y dos cromosomas sexuales que son XX en las mujeres y XY en los hombres. Sólo en teoría, es posible especular que esta disparidad daría lugar a un problema de “dosis génica” entre mujeres y hombres para los genes ligados al sexo. Las mujeres tienen dos cromosomas X y los varones sólo uno. Los experimentos de Keith Moore y Barr en la especie humana demostraron la existencia en los mamíferos de un mecanismo genético que compensa la disparidad de dosis del cromosoma X. Barr y Moore observaron un cuerpo que se teñía de oscuro en células de la mucosa bucal de mujeres, pero no en células similares de hombre y se conoce como corpúsculo de Barr. Esta estructura altamente condensada, es una masa heterocromática, plana y convexa, con un tamaño de 0.7x1.2 µm que se encuentra pegada a la envoltura nuclear de células interfásicas se tiñe positivamente con la reacción de Feulgen para el ADN. De los dos cromosomas X sólo uno será activo y el que presenta el corpúsculo de Barr es el que está inactivado.

### 2. MATERIALES Y REACTIVOS

- Microscopio
- Portaobjetos
- 1 Vidrio de reloj o porcelana excavada
- Frasco lavador
- 1 palillo de dientes
- 1 aguja enmangada
- Azul de metileno
- Mucosa bucal humana

### 3. METODOLOGÍA

Raspar suavemente con un palillo de dientes la cara interna de la cavidad bucal. Limpiar el producto obtenido con una aguja y deposítelo sobre una gotita de agua en un portaobjetos. Hacer suavemente una extensión frotando con el palillo de dientes sobre el portaobjetos. Calentar suavemente hasta la desecación a la llama de un mechero. Colocar el portaobjetos sobre el soporte de tinción encima de una cubeta.

Agregar unas gotas de azul de metileno sobre toda el área de extensión realizada. Déjese actuar el colorante durante diez minutos. Inclinando el portaobjetos

---

verter el colorante en la cubeta. Echar unas gotas de agua con un frasco lavador para quitar el exceso de colorante hasta que ésta no suelte color. Dejar secar al aire y observar al microscopio.

#### **4. RESULTADOS Y CUESTIONES**

- a) Dibujar lo observado al microscopio.
- b) ¿Qué estructuras celulares has observado?
- c) ¿Observas algún orgánulo citoplasmático?

