



LICEO CIUDAD CAPITAL

“FORJANDO CIUDADANOS EN VALORES PARA EL TERCER MILENIO”

Educación Pre-escolar, Educación Básica Primaria y Secundaria

GUÍA DE LABORATORIO # 1 DÉCIMO (BIOLOGÍA)

CÉLULAS

Objetivos:

- ✓ Observación de diferentes organismos eucariotas y procariotas así como algunas diferencias.
- ✓ Identificar algunas características que diferencian a las células animales de las vegetales.

Materiales y reactivos:

- | | |
|--|--|
| ✓ Yogurt sin trozos de fruta. | ✓ Azul de lactofenol |
| ✓ Láminas portaobjetos | ✓ Alfileres con cabeza |
| ✓ Láminas o laminillas cubreobjetos | ✓ Aguja de micología |
| ✓ Caja de palillos de dientes. | ✓ Asa bacteriológica redonda y recta |
| ✓ Mechero | ✓ Lanceta estéril |
| ✓ Papel o toallitas absorbentes | ✓ Elodea |
| ✓ Azul de metileno | ✓ Muestras de agua de lagos, lagunas, ríos, pecera o florero |
| ✓ Microscopio | ✓ Cebolla cabezona |
| ✓ Pipetas Pasteur o goteros | ✓ Lugol |
| ✓ Claves taxonómicas para identificación de microalgas y protozoos | ✓ Fucsina o safranina |
| ✓ Solución de nicotina o metilcelulosa al 2% | ✓ Cristal violeta |
| ✓ Champiñón, muestras de hongos de pan o frutas | ✓ Alcohol-cetona |
| ✓ Muestra de levadura de panadería | ✓ Agua destilada en frasco lavador |
| | ✓ Cuchilla de disección o minora |

Experimento 0. (Partes del microscopio).

Identifique las partes del microscopio que tiene para trabajar en el laboratorio, teniendo como referencia la consulta sobre el microscopio que previamente realizó a este laboratorio. Es obligatorio conocer las partes, pues de esto depende el éxito del laboratorio.

Experimento 1. (Observación de procariotas).

a) Tome una gota de yogurt, depositela en una lámina portaobjetos y extiéndala con un palillo de dientes. Tomar por el borde de la lámina y pasarla de forma suave y rápida por la llama de mechero hasta secarla un máximo de tres veces y luego dejar que se seque al ambiente (este proceso se llama fijación). Luego cubra el frotis con azul de metileno durante 1 minuto. Despues del tiempo de tinción, lave el azul de metileno con un chorro suave de agua del frasco lavador. Seque la lámina colocando la toallita de papel absorbente suavemente sobre esta o déjela secar al ambiente, NO frote la lámina con la toallita o se perderá la muestra.

b) **Procedimiento de observación:** Ponga la lámina porta objetos en la platina, ubique el centro de la muestra sobre la abertura que permite el paso de la luz. Sitúe la platina en su nivel más bajo y posteriormente mire a través del ocular con el lente objetivo de más baja resolución (4X o 10X). Mientras observa, encuentre la muestra con la ayuda del tornillo macrométrico y enfoque con el tornillo micrométrico. Una vez ha encontrado y enfocado su muestra, puede cambiar de lente objetivo al siguiente de mayor aumento. Para enfocar SOLO debe mover el tornillo micrométrico pues no es necesario mover el macrométrico. Registre lo observado.

Experimento 2. (Algas y cianobacterias presentes en muestras de agua).

A partir de diferentes muestras de agua, tome una gota con una pipeta Pasteur (o un gotero), ponerla sobre el portaobjetos y cubrirla con un cubreobjetos (cuidado de no formar burbujas) y realice la observación como indica el procedimiento de observación del experimento 1.

Identifique la presencia de microalgas y cianobacterias (color verde). Observe y registre las diferentes tipos de morfologías (unicelular, colonial, pseudofilametoso, filamentoso), anotando sus principales características. Identifique detalles morfológicos como la presencia de flagelos, cubiertas extracelulares, gránulos, coloración, etc. Es posible usar guías o claves taxonómicas para identificar algunos de los especímenes que observe.

Experimento 3. (Protozoos presentes en muestras de agua).

a) A partir de diferentes muestras de agua, tome una gota con una pipeta Pasteur (o un gotero), ponerla sobre el portaobjetos y cubrirla con un cubreobjetos (cuidado de no formar burbujas) y realice la observación como indica el procedimiento de observación del experimento 1.

b) Agregue por el borde de la laminilla cubre objetos, una gota de solución de nicotina para retardar el movimiento de los protozoarios.

c) Identifique la presencia de distintos tipos de protozoos. Observe y registre las diferentes tipos de morfologías (unicelular, colonial, pseudofilametoso, amorfos), anotando sus principales características. Identifique las estructuras de locomoción y otros detalles morfológicos como la presencia de flagelos, cubiertas extracelulares, gránulos, coloración, etc. Es posible usar guías o claves taxonómicas para identificar algunos de los especímenes que observe.

Experimento 4. (Examen microscópico y macroscópico de hongos).

a) Identifique las características macroscópicas de los hongos que va a examinar, tales como forma de las colonias, color de las colonias, procedencia de la muestra, textura del micelio, pigmentos alrededor de la colonia (si hay o no).

b) Tome una gota muy pequeña de azul de Lactofenol (o metileno en su defecto) y ponerla en la lámina portaobjetos. Con un asa recta o aguja de micología, tomar una muestra del hongo y ponerla sobre la gota del colorante. Poner una laminilla en un ángulo de 45° y dejarla caer suavemente evitando la formación de burbujas. Repita este proceso para las diferentes muestras de hongos que tenga incluyendo la levadura.

c) Realice la observación como indica el procedimiento de observación del experimento 1.

Experimento 5. (Examen microscópico y macroscópico de hojas de una planta).

a) Tomar una hoja de elodea húmeda (si está muy seca agregue una gota de agua) y ponerla sobre el portaobjetos. Cubrir con una lámina cubreobjetos y realizar la observación como indica el procedimiento de observación del experimento 1.

b) Realizamos un corte no muy profundo en una cebolla y tomar la delgada capa externa (llamada epidermis o catafilo), extenderla sobre el portaobjetos con los alfileres, cubrir con laminillas cubre objetos y observar.

*Tomar otro trozo de epidermis en otra lámina portaobjetos agregándole una gota de agua y estirándola con los alfileres, luego retiramos su exceso, y cubrir con una gota de azul de metileno y/o safranina o fucsina la muestra durante 5 minutos. Despues retiramos el exceso del pigmento con el frasco lavador, colocar una laminilla cubre objeto y ubicamos en el microscopio la muestra preparada, observar con los diferentes objetos y proceder a dibujar y describir lo observado.

*También es posible tomar un trozo de epidermis, extenderla sobre el portaobjetos con los alfileres y poner una gota de agua, cubrir con la laminilla cubreobjetos, agregar una gota de solución de lugol a un lado del cubreobjetos y al lado opuesto ponga un pedazo de papel absorbente para facilitar la entrada del colorante a la muestra y limpiar el exceso. Observar al microscopio.

Experimento 6. (Examen microscópico de mucosa bucal).

a) Ponga una gota de agua sobre un portaobjeto. Enjuáguese la boca y con un palillo de dientes haga un raspado suave sobre la pared interna de las mejillas. Mezcle el raspado con la gota de agua, espárzalo sobre el portaobjetos, lo pasamos por el mechero tres veces para fijarlo y lo dejamos secar al ambiente. Realizamos tinción de Gram. Preparada la muestra la ubicamos en el microscopio observamos la diferencias de tamaño entre células eucariotas y procariotas bucales, con los diferentes lentes objetivos, procedemos a dibujar y describir lo observado.

Tinción de Gram:

Es una tinción diferencial que permite diferenciar bacterias en dos grupos, Gram positivas y Gram negativas según como se observen (si son de color rojo-rosado son Gram negativas y si son de color violeta-morado son Gram positivas). Esta tinción se realiza de la siguiente forma en estricto orden y tiempos establecidos:

1. Se fija la muestra con calor flameando tres veces sin llegar a hervir o sobre calentar la muestra.
2. Cubrir con cristal violeta por 1 minuto.
3. Enjuagar con agua del frasco lavador NO directamente sobre la muestra en un ángulo de 45°.
4. Agregar lugol y esperar un minuto aproximadamente.
5. Enjuagar con agua del frasco lavador NO directamente sobre la muestra en un ángulo de 45°.
6. Agregar alcohol acetona y esperar 15 segundos según la concentración del reactivo (parte crítica de la coloración, aquí las Gram negativas se decoloran y las Gram positivas no). Lavar inmediatamente con agua del frasco lavador en un ángulo de 45°.
7. Agregar safranina o fucsina básica por 30 segundos. Este tinte dejará de color rosado-rojizo las bacterias Gram negativas.
8. Lavar con agua del frasco lavador NO directamente sobre la muestra en un ángulo de 45°.
9. Dejar secar al aire o cubrir con un trozo de toalla absorbente sin frotar la lámina o quitar la muestra.

Experimento 7. (Examen micro).