PRÁCTICA # 0 - LABORATORIO DE BIOLOGÍA

Propósito:

Afianzar el manejo de las técnicas de laboratorio fundamentales (medición, preparación de soluciones físicas, observación, microscopía, disección y conservación) mediante la simulación de escenarios biológicos reales, fomentando la integración de herramientas para el análisis científico

Al finalizar la práctica, el alumno será capaz de:

- ✓ Medir y preparar soluciones utilizando unidades de concentración físicas (% m/v), aplicando el uso riguroso del material volumétrico y la balanza.
- ✓ Manipular y optimizar el uso del microscopio óptico compuesto para la observación de estructuras celulares y tisulares.
- ✓ Aplicar técnicas de disección, montaje y tinción para el estudio morfológico y celular de muestras biológicas (vegetal y animal).
- ✓ Integrar las técnicas de conservación y el etiquetado adecuado para la preservación de muestras biológicas.

Materiales necesarios que debe traer el alumno:

Materiales individuales: Materiales por equipo:

- ✓ Bata de laboratorio.
- ✓ Sal. Alcohol. Palillos. Hisopos. Lupa.
- ✓ Regla. Papel de filtro. Hojillas. Pinzas.
- ✓ Muestra de Cebolla.
- ✓ Muestra Vegetal (una flor compuesta) y Muestras Animales (insectos/lombriz/etc).
- ✓ Guía de laboratorio.
- ✓ Pre-Laboratorio.
- ✓ Un trapo limpio y pequeño.

PRE-LABORATORIO:

Lea previamente y en su totalidad la guía de laboratorio. Busque el significado de todos aquellos términos desconocidos y razone cada paso planteado, esto con la finalidad de asegurar la máxima comprensión de la misma. Repase las técnicas que se aplicarán durante la práctica.

En una hoja, **responda** las siguientes preguntas:

- 1. Una de las presentaciones del suero fisiológico que se comercializa es una solución de cloruro de sodio (sal) al 2 % (m/v). ¿Cuántos gramos de sal necesitaría para preparar 100 mL de esta solución? Describa brevemente el instrumental necesario para preparar esta solución con la mayor precisión posible.
- 2. ¿Cuál es la principal diferencia que el microscopio permite observar entre una célula vegetal (ej. de cebolla o pétalo) y una célula animal (ej. epitelial bucal)?
- 3. ¿Cuál es la función del aceite de inmersión en el microscopio y cómo se debe limpiar el objetivo después de usarlo?
- 4. Mencione las precauciones que debe tomar un biólogo al realizar una disección y al manipular el conservante biológico (formaldehído).
- 5. ¿Cómo podemos medir la temperatura ambiental con termómetros normales?
- 6. ¿Cuáles son las técnicas adecuadas para el manejo, traslado, manipulación y desecho de material biológico (tejido/órgano/muestra/etc) en un laboratorio?
- 7. ¿Por qué se emplea hipoclorito de sodio en la limpieza de los materiales no desechables al finalizar el trabajo con material biológico en el laboratorio?
- 8. Describa (en qué consiste, cómo se aplica, cuándo y para qué tipo de material biológico sirve) cada una de las técnicas de conservación de material biológico que se listan a continuación:
 - I. Conservación por Temperatura (Crio-conservación)
 - a. Refrigeración (4 °C a 8 °C)

- b. Congelación (- 20 °C)
- c. Ultracongelación (- 80 °C)
- d. Criogenización/Criopreservación (- 150 °C a 190 °C)
- II. Conservación Química (Fijación)
 - a. Fijadores Simples
 - b. Formaldehído (Formol)
 - c. Etanol (Alcohol Etílico)
 - d. Tetróxido de osmio (para microscopía electrónica)
 - e. Fijadores Compuestos
 - f. FAA (Formaldehído, Alcohol, Ácido Acético)
 - g. Líquido de Boüin
- III. Desecación (Eliminación de Agua)
 - a. Liofilización (Secado por sublimación)
 - b. Desecación al vacío (para microorganismos)
 - c. Desecación simple/Momificación (para partes de plantas, pelo, etc.)
 - d. Montaje en seco (para insectos)
- IV. Métodos para Estudio Morfológico (Histología/Anatomía)
 - a. Inclusión
 - b. Inclusión en Parafina
 - c. Corte sin Inclusión
 - d. Corte por Congelación (Criostato)
 - e. Conservación Macroscópica
 - f. Embalsamamiento
 - g. Disecado (Taxidermia)
 - h. Inmersión en Alcohol (Etanol 70 % o 95 % para colecciones)
- V. Métodos para Biología Molecular
 - a. Protectores de Ácidos Nucleicos
 - b. Inmersión en ARN-later (o medios similares)
 - c. Inclusión en FTA (Flinders Technology Associates) Cards
 - d. Aceite mineral (para microorganismos)

LABORATORIO:

Actividad # 1. Suero Fisiológico para Primeros Auxilios

Técnicas Integradas: Medición de masa, Medición de volumen de líquidos, Preparación de soluciones (% m/v), Filtración, Medición de pH.

Contexto: Un biólogo de campo necesita preparar urgentemente 100 mL de una solución de Suero Fisiológico (2 % m/v) para limpiar una herida menor. La sal que tiene parece tener algunas impurezas no disueltas.

Procedimiento Paso a Paso:

- 1. <u>Medición de Masa (Sólido):</u> Utilice la balanza de precisión para medir los gramos de NaCl (sal de mesa) calculados en un vaso de precipitado. Registre la masa exacta.
- 2. <u>Disolución:</u> Agregue aproximadamente 50 mL (la mitad de lo que se quiere preparar) de agua destilada. Agite con la varilla hasta disolver completamente.
- 3. <u>Filtración:</u> Si observa partículas no disueltas, filtre la solución pasando el líquido por papel filtro. En todo caso, al final transfiera la solución de sal a un matraz aforado de 100 mL.

- 4. Aforo (Medición de Volumen Precisa): Termine de llenar el matraz aforado con agua destilada hasta la línea de aforo (enrase), usando una pipeta y una pera de succión para el último tramo. Tape el matraz y homogenice la solución.
- 5. Medición de pH: Utilice el papel indicador de pH para medir el pH de la solución preparada. Registre el valor.

Actividad # 2. Control de Variables

Técnica Integrada: Uso de Termómetro.

Contexto: Se quiere saber cómo la temperatura afecta la estabilidad de la solución salina recién preparada.

Procedimiento Paso a Paso:

- 1. <u>Medición de Temperatura:</u> Utilice un termómetro para medir y registrar cada cierto tiempo la temperatura ambiente (T ambiente) y la temperatura del Suero Fisiológico (T solución).
- 2. Registre los cambios en las propiedades de la solución cada vez que mida la temperatura.

Actividad # 3. Hallazgo Biológico en el Campo

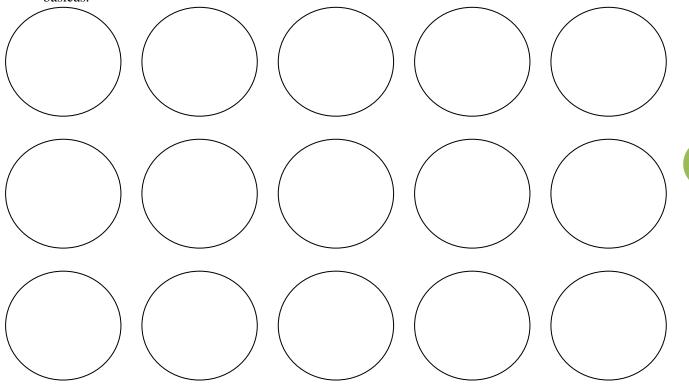
Técnicas Integradas: Manipulación de muestras biológicas, Disección, Observación macroscópica, Conservación, Preparación de muestra (frotis y montaje húmedo), Tinción, Microscopía.

Contexto: Un alumno encuentra una flor y un insecto extraño. Los trae al laboratorio para su estudio y conservación.

Procedimiento Paso a Paso:

- 1. <u>Disección de la Flor:</u> Coloque la flor en la bandeja de disección. Con las pinzas y el bisturí/hojillas/tijeras del estuche, separe y ordene las siguientes partes: pétalos, sépalos, estambres y pistilo. Realice un esquema rotulado de las partes separadas.
- 2. <u>Observación y Medición:</u> Con la lupa observe los detalles de cada una de las partes separadas de la flor. Utilice la regla para medir la longitud del pistilo.
- 3. Conservación (Tejido Animal): Tome uno de los insectos y aplique la técnica de conservación más adecuada. Coloque otros de los insectos o animales en un recipiente pequeño y añada la solución de conservación (Formaldehído o Alcohol) hasta cubrirlo. Etiquete con el nombre, fecha y el conservante, añadiendo el símbolo de peligro y, aparte, los datos del equipo que realizó la conservación.
- 4. <u>Cortes:</u> Con el bisturí/hojillas realice un corte transversal (lo más fino posible) de uno de los pedúnculos de la flor y colóquelo en un portaobjeto. Ahora, con el bisturí/hojillas realice un corte longitudinal (lo más fino posible) de otros de los pedúnculos de la flor y colóquelo en el mismo portaobjeto, junto al otro corte.
- 5. <u>Preparación de Muestra Vegetal:</u> Tome una porción muy fina de la epidermis de la cebolla con las pinzas. Colóquela en un portaobjetos con una gota de Lugol (para teñir). Cubra con el cubreobjetos (montaje húmedo). Repita, pero con una porción muy fina de la epidermis del pétalo que separó de la flor. Repita, pero ahora con un corte del pétalo.
- 6. <u>Preparación de Muestra Animal (Frotis):</u> Raspe suavemente la parte interna de su mejilla (interior de su boca) con un palillo limpio o hisopo (frotis bucal). Coloque la muestra en un portaobjetos, agregue una gota de azul de metileno y cubra.
- 7. Microscopía y Comparación:
 - a. Observe todas las preparaciones (vegetales y animales) iniciando con el objetivo de menor aumento (4x). Enfoque con el macrométrico. Luego pase al objetivo de (10x) y vuelva a observar.
 - b. Pase al objetivo de mayor aumento (40x), enfocando solo con el micrométrico.

c. Dibuje y rotule las células observadas de ambos tipos (vegetal y animal), identificando sus estructuras básicas.



POST-LABORATORIO:

Resultados: presente los resultados de cada una de las actividades a través de los cuadros, dibujos o gráficos correspondientes, todos debidamente identificados y colocados en el orden pertinente.

Discusión y Análisis: responda de forma argumentativa y concreta cada una de las siguientes preguntas:

- 1. ¿Cuál fue el volumen final de la solución de suero fisiológico? ¿Qué tan cerca estuvo el pH de la solución del pH neutro (7)? Explique por qué el aforo en el matraz volumétrico es crucial para la precisión de la concentración.
- 2. Basándose en sus observaciones microscópicas, mencione dos estructuras exclusivas de la célula vegetal (cebolla/pétalo) que no encontró en la célula animal (epitelio bucal). ¿Por qué fue necesaria la tinción (Lugol/Azul de metileno) en ambas muestras?
- 3. ¿Cómo el uso correcto de las pinzas y el bisturí (precisión en la manipulación) minimiza el daño a las estructuras delicadas de la flor durante la disección?
- 4. Explique el proceso de Conservación de la muestra animal. ¿Cuál es la importancia biológica de conservar una muestra de un "insecto extraño" encontrado en el campo?
- 5. Reflexione: El biólogo en el campo tuvo que aplicar la preparación de soluciones y la conservación. ¿Cómo el dominio de estas técnicas básicas y manuales lo convierte en un mejor científico al iniciar una investigación o enfrentar una emergencia?
- 6. Reflexione: ¿La disección de especies distintas al ser humano, o de sus órganos, para su estudio biológico y médico, se puede considerar un "acto de espejismo"? ¿Por qué?

Conclusiones: en función de los objetivos y de los resultados obtenidos, establezca en forma de lista las conclusiones a las que se llegó en la práctica.