



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 19 – JUNIO DE 2009

“PRÁCTICAS DE CITOLOGÍA PARA SECUNDARIA Y BACHILLERATO”

AUTORÍA ALMUDENA MORENO JARILLO
TEMÁTICA PRÁCTICAS DE BIOLOGÍA.
ETAPA SECUNDARIA Y BACHILLERATO

Resumen

Con la selección de prácticas de laboratorio, concretamente de citología, que en este documento se recopilan, se pretende facilitar la labor del profesorado. Con estas prácticas los alumno/as podrán realizar un frotis de sangre, para ver y analizar su composición. También estudiar las células vegetales, a partir de la epidermis de la cebolla y el lirio, así como del tallo de una monocotiledonea, de la pulpa de tomate, y de la patata.

Palabras clave

Frotis
Mitosis
Epidermis
Mucosa
Amiloplasto
Cromoplasto
Citología
Porta
Cubre
Bisturí
Microscopio
Tinción



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 19 – JUNIO DE 2009

1. EPIDERMIS DE CEBOLLA

OBJETIVOS:

Observar células vegetales describiendo las estructuras visibles al microscopio óptico. El material de estudio, será una cebolla.

MATERIALES:

- Microscopio.
- Portas y cubres.
- Pinzas finas.
- Tijeras finas.
- Bisturí.
- Cubeta.
- Soporte de tinciones.
- Pocillo de montar.
- Verde de metilo acético.
- Cebolla.
- Agujas enmangadas.

TÉCNICA DE LA PREPARACIÓN

De la parte cóncava de una de las hojas carnosas del bulbo de la cebolla y con la ayuda de un bisturí y una pinza fina, separar una pequeña porción de epidermis, procurando no arrancar el tejido subyacente, de tal forma que la parte desprendida tenga el aspecto de una fina película traslúcida como el celofán. Llevar el trozo desprendido a la cubeta o caja de Petri con agua. Apoyar el portaobjeto en el fondo de la caja y ayudándose con la pinza a extender el trocito de epidermis de cebolla sobre el porta. Depositar el porta-objetos sobre el soporte de tinciones, añadir unas gotas de verde de metilo acético, dejando actuar este colorante-fijador durante cinco minutos, procurando añadir más gotas si se evapora. Escurrir el colorante sobrante y lavar, dejando caer agua con un cuentagotas sobre la preparación. Colocar encima de la preparación un cubreobjetos y observar al microscopio, primero a pequeño aumento y luego a un aumento mayor.

OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO:

Se utilizarán primero los aumentos débiles con el fin de centrar la preparación y determinar la zona mejor para la visualización. Cambiar después a un aumento mayor. Las células de la epidermis de las hojas internas del bulbo de la cebolla, son de forma alargada y bastante grandes. La membrana celular celulósica se destaca muy clara teñida por el colorante. Los núcleos son grandes y muy visibles. En el citoplasma se distinguen algunas vacuolas grandes débilmente coloreadas.

2. FROTIS DE SANGRE

MATERIALES



ISSN 1988-6047

DEP. LEGAL: GR 2922/2007

Nº 19 – JUNIO DE 2009

- Microscopio.
- Portas y cubres.
- Soporte de preparaciones.
- Cubeta.
- Lanceta.
- Alcohol.
- Metanol
- Giemsa.

MATERIAL DE ESTUDIO

Sangre obtenida por un pinchazo en el pulpejo del dedo.

TÉCNICA DE LA PREPARACIÓN

Limpiar el pulpejo del dedo con una gota de alcohol, hacer una punción para conseguir una gota de sangre. Depositar la gota de sangre, en un lado y en el centro de un porta bien limpio. Seguidamente, con el empleo de un porta de borde esmerilado se hace un frotis o extensión de sangre. El porta con el que se hace la extensión debe deslizarse bien colocado y lo más perfectamente aplicado en su borde contra el otro porta sobre el que se hace la extensión. Sólo debe pasarse una vez, de forma continua e ininterrumpida. Es conveniente realizar dos o tres extensiones, con el fin de seleccionar para la tinción la mejor lograda. Las extensiones o frotis deben secarse al aire lo más rápidamente posible. La desecación se facilita con movimiento en forma de abanico, nunca soplando o por calor. La rápida desecación evita la deformación de los glóbulos sanguíneos.

TÉCNICA DE LA TINCIÓN

Depositar el porta con la extensión de sangre encima del soporte de tinciones y éste sobre la cubeta. Dejar caer sobre la extensión unas gotas de metanol y esperar que el alcohol se evapore, con lo que se consigue el fijado, depositarle cubriendo toda la extensión, unas gotas de Giemsa, evitar la desecación y dejar actuar el colorante unos cinco minutos. Lavar la preparación, hasta que arrastre todo el colorante. Tomando el porta por los cantos secar aireando el porta, o bien al calor muy lento de la llama del mechero.

OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO

Con débil aumento explorar la preparación para localizar la zona en la que el frotis es más perfecto. Los lugares más aptos son aquellos en los que la extensión de los glóbulos se ha conseguido en una sola capa, están bien teñidos y no se han producido precipitados de los colorantes. Cuando se observe una zona apta, pasar a aumentos más fuertes.

En el campo del microscopio, se verán con un dominio predominante los glóbulos rojos, hematíes o eritrocitos, teñidos en color rojo. No tienen núcleo y son más delgados por el centro que por los bordes. Los glóbulos blancos o leucocitos se identifican fácilmente por la presencia de núcleo. Hay varias clases de glóbulos blancos: Los linfocitos algo mayores que los glóbulos rojos, con un núcleo muy voluminoso



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 19 – JUNIO DE 2009

que ocupa casi todo el glóbulo, aparece fuertemente teñido en color violeta oscuro. Los monocitos son los leucocitos mayores, poco frecuentes normalmente, hay que desplazarse por la preparación para encontrar alguno. Tienen un núcleo muy grande y redondeado que aparece teñido en color violeta. (Es bueno que recuerdes su función que es la de fagocitosis). Los polinucleares presentan el núcleo como fragmentado o con aspecto arrosariado. Los eosinófilos, con granulaciones abundantes de color rojizo y el núcleo teñido de color azul marino. Estos glóbulos aumentan su número en caso de parasitosis o procesos alérgicos. Los basófilos presentan un núcleo teñido de rojo y las granulaciones del citoplasma de color muy oscuro. Las plaquetas aparecen como pequeños fragmentos teñidas de color violeta. Estas células intervienen en el proceso de coagulación sanguínea.

Si la extensión ha salido bien, merece la pena conservarla. Para ello, añadir una gota de euparal, dpx, u otro producto similar y colocar un cubre-objeto.

El número promedio de glóbulos rojos en el hombre es de 5.000.000 por mm^3 de sangre. La cifra media de glóbulos blancos es de 7.000 a 8.000 por mm^3 . Hay por tanto un glóbulo blanco por cada 600 ó 700 glóbulos rojos. Por lo tanto para ver todos los tipos de glóbulos blancos debes buscarlos en distintos campos de la preparación. El número de plaquetas es de unas 250,000 por mm^3

3. MITOSIS EN RAIZ DE CEBOLLA

OBJETIVO

El objetivo de esta práctica es observar e interpretar figuras de distintas fases de la mitosis en células vegetales

MATERIALES

- Microscopio
- Porta y cubre-objetos
- Vidrio de reloj
- Pinzas finas
- Cuchilla de afeitar
- Tiras de papel de filtro
- Orceína acética clorhídrica
- un bulbo de cebolla
- Pinzas de madera
- Mechero

FUNDAMENTO

El proceso de reproducción celular conocido con el nombre de mitosis, puede ser estudiado eligiendo un material constituido por células que se hallen en continua división. Esta condición la reúnen los meristemos terminales o primarios, tales como los que se encuentran en el ápice de las raíces. Un bulbo de cebolla cuya base se mantenga en contacto con el agua durante 4 ó 5 días, nos



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N° 19 – JUNIO DE 2009

proporciona abundante cantidad de raicillas jóvenes, muy apropiadas para la obtención de muestras destinadas a observar figuras de mitosis.

TÉCNICA DE LA PREPARACIÓN

Unos cinco días antes de realizar la práctica, se colocará un bulbo de cebolla tapando la boca de un frasco, que se llena hasta que el agua toca la base de la cebolla. Se logra así el desarrollo de numerosas raicillas jóvenes, cuando éstas tengan una longitud de 3 centímetros es el momento adecuado para hacer la preparación.

Cortar con unas tijeras finas o cuchilla de afeitar, los 5 últimos milímetros de las raicillas, depositándolas en un vidrio de reloj. Cubrir la muestra con orceína acética clorhídrica, aproximadamente unos 2 cm³. Dejar que actúe el colorante durante 10 minutos. Tomar el vidrio de reloj por los bordes, ayudándonos de una pinza de madera y calentarlo suavemente a la llama del mechero, evitando la ebullición y esperar hasta que se emitan vapores tenues. Con las pinzas finas tomar con cuidado una raíz y colocarla sobre un porta, cortar los últimos 2 ó 3 milímetros y desechar el resto. Colocar el cubre-objetos y encima una almohadilla hecha con papel de filtro sobre la que se ejerce presión con el dedo pulgar, primero suave, después más intensa, para aplastar la muestra, técnica conocida como squash. Aspirar con el papel de filtro el exceso de colorante. Observar al microscopio primero a pequeño aumento y luego con aumentos mayores, recorriendo diversos campos para descubrir en las células observadas, las distintas fases de la mitosis.

OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO

La preparación presenta el aspecto de una dispersión de células por todo el campo que abarca el microscopio. Se observarán células en distintas fases o estados de división celular. Con esta técnica de tinción se ven los cromosomas impregnados por la orceína en color morado. El aspecto reticulado, así como el mayor tamaño de algunos núcleos, corresponde a las células que se encontraban en los procesos iniciales de la división mitótica.

4. EPIDERMIS DE LIRIO

OBJETIVO

Observar los orificios respiratorios (estomas) de las hojas de lirio o de otra planta similar.

MATERIALES

- Microscopio
- Pinzas finas
- Portas y cubres
- Tijeras finas



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 19 – JUNIO DE 2009

- Bisturí
- Cubeta
- Pocillo de montar
- Agujas enmangadas
- Soporte de tinciones
- Verde de metilo acético

Es conveniente tratar la hoja con ácido nítrico al 25%, que facilitará separar más fácilmente la epidermis.

TÉCNICA DE LA PREPARACIÓN

Hacer con el bisturí, un corte transversal en una hoja de lirio o planta similar. Coger con una pinza fina la fina epidermis y tirar hasta conseguir una pequeña muestra que sea lo más transparente posible. Llevar el trozo desprendido a la cubeta o caja de Petri con agua, apoyar el portaobjeto en el fondo de la caja y ayudándose con la pinza extender el trocito de epidermis de lirio sobre el porta. Depositar el porta-objetos sobre el soporte de tinciones, añadir unas gotas de verde de metilo acético, dejando actuar este colorante-fijador durante cinco minutos, procurando añadir más gotas si se evapora. Escurrir el colorante sobrante y lavar, dejando caer agua con un cuentagotas sobre la preparación. Colocar encima de la preparación un cubreobjetos y observar al microscopio, primero a pequeño aumento y luego a un aumento mayor.

OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO

Se utilizarán primero los aumentos débiles con el fin de centrar la preparación y determinar la zona mejor para la visualización. Cambiar después a un aumento mayor. Las células de la epidermis de las hojas del lirio, son de forma alargada y bastante grandes. La membrana celular celulósica se destaca muy clara teñida por el colorante. Los núcleos son grandes y muy visibles. En el citoplasma se distinguen algunas vacuolas grandes débilmente coloreadas.

Lo más significativo en esta preparación, es la observación de los orificios respiratorios o estomas. Se observa que están constituidos por dos células con aspecto arriñonado o de habichuela, células en las que se pueden observar orgánulos verdes correspondientes a los cloroplastos. Estas dos células limitan un orificio que puede variar de diámetro y que se denomina ostiolo.

5. CORTE TALLO PLANTA MONOCOTILEDONEA

OBJETIVOS

Ver la estructura pluricelular de un órgano vegetal. Familiarizarse en el manejo del microscopio. Conocer una técnica de tinción doble. Diferenciar distintos tejidos vegetales



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 19 – JUNIO DE 2009

MATERIALES

- Microscopio
- Microtomo
- Agujas enmangadas
- Cubeta
- Pocillo de montaje
- Alcohol de 70º
- Carmín aluminico
- Portas y cubre-objetos
- Pinzas finas
- Pincel
- Batería de pocillos de tinción
- Batería de alcoholes
- Verde brillante
- Euparal o glicerina

MATERIAL DE ESTUDIO

Puede utilizarse un tallo joven de maíz, pedúnculo floral de lirio, azucena, gladiolo, etc. En general cualquier tallo o pedúnculo floral de una planta monocotiledónea.

TÉCNICA DELA PREPARACIÓN

Se realizan los cortes del tallo con el microtomo, si no se dispone de él, puede hacerse con una cuchilla de afeitar intentando sacar los cortes muy finos, casi transparentes. Los cortes se van tomando con un pincel y depositándolos en un pocillo con agua. Se seleccionan los cortes más finos y completos y se pasan a un pocillo de vidrio en el que se ha depositado el colorante verde brillante. Se deja que actúe el colorante un minuto.

A continuación los cortes deben lavarse con agua, por lo que se van llevando los cortes del tallo, ayudándose de una aguja enmangada a través de varios pocillos que contengan agua, para quitarles el exceso de colorante. Como sólo nos interesa que nos quede teñido una pequeña parte de la muestra, a continuación ponemos el corte en un pocillo de vidrio con alcohol de 70º para terminar de quitar el exceso de colorante verde brillante. Se lavan con agua para eliminar todo residuo de alcohol, para que pueda admitir el segundo colorante.

Colocar la muestra en un pocillo de vidrio que contenga carmín aluminico y dejarlo actuar como mínimo 15 minutos. Lavarlo con agua transcurrido el tiempo de tinción. Montar la preparación con una gota de glicerina o euparal.

OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO

La preparación debe ser observada, primero con aumentos débiles, haciendo un recorrido desde la corteza a la zona interna para que se logre obtener una visión general de la preparación. En la observación con el aumento menor se pueden observar estas distintas capas: Epidermis, formada por una capa de células, en la que se puede observar los estomas teñidos de verde brillante. El



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 19 – JUNIO DE 2009

parénquima cortical, formado por varias capas de células. El parénquima medular, células con membrana celulósica.

Al observar con mayor aumento pueden verse en detalle los vasos conductores: Cada haz conductor está formado de:

1. Un anillo de fibras lignificadas, teñidas con el verde brillante.
2. Vasos leñosos, cuyo conjunto constituyen el xilema, por el que circula la savia bruta.
3. Vasos liberianos, que forman el floema, por el que circula la savia elaborada.
4. Células del parénquima, teñidas por el carmín a causa de la constitución celulósica de sus membranas.

6.CROMOPLASTOS

OBJETIVO

Observar y diferenciar orgánulos de células vegetales: cromoplastos. Se observa fácilmente en tomate y zanahoria.

MATERIALES

- Microscopio
- Cubres y porta-objetos
- Bisturí o cuchilla afeitar
- Soporte tinciones
- Pulpa de tomate
- Raíz de zanahoria
- microtomo

TÉCNICA DE LA PREPARACIÓN

Pulpa de tomate:

1. Cortar con el bisturí un pequeño trozo de uno o dos milímetros de grosor, de la parte pulposa.
2. Llevarlo sobre un porta, sin poner agua.
3. Poner el cubre-objeto y comprimir suavemente la preparación.

Raíz de zanahoria:

1. Preparar un trocito prismático de la raíz de zanahoria.
2. Llevarlo al microtomo para obtener cortes finos.
3. Recoger los cortes con el pincel y llevarlos a la cubeta con agua.
4. Colocar en el porta. Tapar con el cubre-objetos.

OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N° 19 – JUNIO DE 2009

La pulpa del tomate nos muestra las células generalmente bastante sueltas unas de otras. En el citoplasma se percibe una serie de gránulos rojizos-anaranjados que son los cromoplastos. El núcleo puede llegar a observarse por su típico aspecto y tamaño. Es frecuente la presencia de gránulos de almidón de forma arriñonada. En las células menos alteradas por la compresión se ven grandes vacuolas incoloras.

En las células de la raíz de zanahoria se ven multitud de corpúsculos irregulares de color anaranjado que corresponden a los cromoplastos.

7. AMILOPLASTOS

OBJETIVO

Reconocer e identificar algunas diferenciaciones del citoplasma vegetal: amiloplastos.

- Microscopio
- Portas y cubre-objetos
- Cuchilla o bisturí
- Soporte preparaciones
- Pocillo de montar
- Lugol
- Patata
- Semillas de legumbres

FUNDAMENTO

El almidón, es un producto de reserva, que se acumula en ciertas partes de la planta, sobre todo en las raíces, tubérculos y semillas y que está destinado a sustentar a la planta. Podemos extraerla fácilmente de la patata. En esta se va acumulando en los plastos, acumulándose en capas.

TÉCNICA DE LA PREPARACIÓN

Partir una patata y raspar con la punta del bisturí, depositando el producto obtenido en un porta-objeto. Dejar secar completamente y teñir con unas gotas de lugol o yodo. Dejar actuar dos minutos. Poner el cubre-objeto y observar al microscopio. Puede rasparse también distintas semillas (judía, guisante, habichuela, maíz, etc, realizando el proceso similar al del raspado de la patata. Es conveniente para poder ver el aspecto distinto de amiloplastos en distintas plantas.

OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO

Con poco aumento buscar la zona de la preparación en la que los granos estén menos aglutinados, localizada ésta, cambiar a aumentos mayores. Observar cerrando el diafragma lo máximo permitido por el foco luminoso.



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 19 – JUNIO DE 2009

Los granos de almidón se tiñen en color violeta intenso por el lugol o iodo. Los granos muestran por lo general, capas concéntricas de crecimiento del grano, estas formas son muy variadas y por lo general específica de cada planta, fruto o semilla. Los de patata presentan las capas de crecimiento en bandas excéntricas alrededor de un punto central o hilio

8.CELULAS DE LA MUCOSA BUCAL

OBJETIVO

Observar células animales y diferenciar en ellas algunas estructuras.

- Microscopio
- Cubeta
- Soporte de tinciones
- Cuentagotas
- Aguja enmangada
- Portas y cubre-objetos
- Pocillo de montar
- Mechero de alcohol
- Azul de metileno

MATERIAL DE ESTUDIO

Mucosa bucal del hombre

TÉCNICA DE LA PREPARACIÓN.

Introducir el dedo en la cavidad bucal y raspar suavemente con la uña la cara interna del carrillo. Limpiar el producto obtenido, del borde interno de la uña, con una aguja enmangada y depositarla junto con una gotita de agua sobre el porta-objetos. Hacer una extensión frotando con la aguja sobre el porta. Calentar a la llama del mechero sin que llegue a quemar el porta sobre el dorso de la mano y colocar el porta sobre el soporte de tinción encima de la cubeta. Agregar unas gotas de azul de metileno o de verde de metilo acético, dejando actuar el colorante 2 ó 3 minutos. Verter el colorante sobrante y lavar la preparación hasta que no suelte color y poner encima un cubre-objetos, de forma que éste caiga como se cierran las tapas de un libro; dejando caer suavemente el cubre se evita todo riesgo de que queden burbujas de aire entre el porta y el cubre.

OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO

Empleando aumentos débiles localizar el área de la preparación más idónea, deben desestimarse las zonas poco o muy teñidas, los apilamientos de células unas encima de otras, etc. Enfocar las células aisladas con mayor aumento.

La preparación nos muestra una visión parecida a un mosaico formado por células planas, poligonales, más o menos irregulares; abundan las células aisladas, en cuyas caras se perciben los trazos de inserción de unas células con otras.

Como el material observado procede de la capa superficial, capa de descamación, del epitelio



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 19 – JUNIO DE 2009

pluriestratificado de la mucosa bucal, son en su mayoría células muertas o células que están en período de degeneración.

El azul de metileno tiñe intensamente el núcleo y con menos color el citoplasma ; éste presenta un cierto aspecto de alteración y suele ser algo granuloso.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Díaz Canales, R. (1967). *Prácticas de laboratorio de biología*. México: Compañía editorial continental.
- Gonzalez , M. P. (2003). *Prácticas de laboratorio y de aula*. Madrid: Narcea.
- www. Juntadeandalucia.es/averroes
- Panreac. (1999). *Métodos analíticos en alimentaria: Leche y productos lácteos*. Barcelona: Panreac Química S.A.

Autoría

- Almudena Moreno Jarillo.
- Huelva
- morenojarillo@hotmail.com