

Ricardo Ibáñez Gastón
Elena Bodegas Frías
Marina Martín Rodríguez
Juana Fernández Rodríguez
Iñigo Izal Azcárate
Silvia Cenoz Zubillaga
David González Fernández
David Galicia Paredes

ENSEÑANDO BIOLOGÍA III

Reservados todos los derechos. Quedan prohibidos, sin el permiso escrito de los autores o editores, la reproducción o la transmisión total o parcial de esta obra por cualquier procedimiento o electrónico, incluyendo la reprografía y el tratamiento informático

Enseñando Biología III. Curso formativo práctico para profesores de Bachillerato.

© Ricardo Ibañez, Elena Bodegas, Marina Martín, Juana Fernández, Iñigo Izal, Silvia Cenoz, David González, David Galicia.

Editores: Enrique Cobos Urbina y Santiago Caireta Serra (Universidad de Navarra).
Servicio de Publicaciones de la Universidad de Navarra.

ISBN: 978-84-8081-620-5

Depósito Legal: NA 2590-2018

Diseño e impresión: Idazluma, s.a.

ÍNDICE

MORFOLOGÍA E IDENTIFICACIÓN DE PLANTAS.....	7
Objetivos.....	9
Introducción.....	9
Parte 1. Diversidad morfológica de las angiospermas y su “correcta” interpretación.....	10
Parte 2. Diversidad taxonómica y su interpretación mediante claves de identificación.....	11
Enlaces de interés.....	12
INTRODUCCIÓN A LA MICROSCOPIA	15
Objetivos	17
Conceptos.....	17
Procesamiento histológico.....	17
Fijación	17
Inclusión	18
Corte.....	18
Tinción/Contraste	19
USANDO ENERGÍAS RENOVABLES	21
Reflexionar sobre el modelo energético.....	24
Caracterización de las condiciones meteorológicas y climáticas.....	24
Modelos de energías renovables.....	25
Energía solar	25
Energía solar fotovoltaica.	25
Energía solar térmica.....	26
Calentador solar de agua.....	27
Desalinizador solar.	28
Energía eólica.....	29
Molino de viento.....	29
Materiales necesarios.....	29
Energía hidráulica.....	30
Noria hidráulica.	30
Energía procedente de la biomasa.....	31
Digestor biológico de materia orgánica.....	31

EXTRACCIÓN Y VISUALIZACIÓN DE ADN MEDIANTE ELECTROFORESIS	33
Parte I. Extracción de ADN.	35
Introducción.	35
Material necesario.	36
Procedimiento.....	36
Parte II. Fragmentación de ADN.	36
Material necesario.	37
Procedimiento.....	37
Fragmentación mecánica.....	37
Fragmentación con peróxido de hidrógeno.	37
Fragmentación con hidróxido sódico.	37
Parte III. Visualización de ADN mediante electroforesis horizontal.	37
Material necesario.	38
Procedimiento.....	38
Preparación del gel de electroforesis.....	38
Electroforesis.	39
NUESTROS PEQUEÑOS-GRANDES ALIADOS EN LA ELABORACIÓN DEL PAN ..	41
Breve introducción al trabajo de un laboratorio de microbiología.	43
Normas generales de laboratorio.	43
Manejo del microscopio.....	43
Tinción simple de levaduras.....	46
Observación de microorganismos mediante la tinción simple (levaduras).....	47
Fundamento.....	47
Realización.	47
Bibliografía.	48
MUSEO DE CIENCIAS.....	49

Morfología e identificación de plantas

Ricardo Ibáñez Gastón

Objetivos.

- Conocer la diversidad morfológica de las plantas espermafitas y su correcta interpretación.
- Conocer la diversidad taxonómica de las espermafitas y su identificación mediante el uso de claves de identificación.

Introducción.

Las plantas presentan una extraordinaria diversidad de formas y estructuras morfológicas. En dicha diversidad podemos reconocer ciertas pautas de semejanza entre las estructuras que conforman sus partes. En muchas ocasiones, las semejanzas resultan obvias para el observador, pero en determinadas ocasiones el grado de complejidad puede ser alto.

Por una parte, podemos reconocer determinadas estructuras formadas por conjuntos de células y tejidos que cumplen con unas funciones vitales para las plantas, conformando lo que denominamos *órganos vegetales*. La complejidad a este nivel surge cuando encontramos órganos que son cosas bien distintas a lo que parecen (por ejemplo, tallos que asemejan hojas, hojas que asemejan tallos, o tallos con forma de raíces).

A su vez, podemos reconocer cómo conjuntos de órganos vegetales conforman unas entidades más o menos discretas que reconocemos como *individuos*. A este nivel la complejidad surge en la propia definición de individuo vegetal, no siempre clara, y también porque en un mismo individuo los órganos varían a lo largo del desarrollo ontogenético del mismo, lo cual dificulta su reconocimiento e interpretación.

Finalmente, encontramos una enorme diversidad de individuos, diferentes entre sí independientemente del estado ontogenético de los mismos. Dicho reconocimiento nos permite diferenciar entidades que reconocemos como *especies*. Pero en ocasiones, el concepto de especie es poco claro en el mundo vegetal y, además, la cantidad de especies de plantas de un mismo territorio suele ser muy elevada, lo cual supone una complejidad en el reconocimiento de las especies.

Resulta necesario conocer una serie de pautas básicas que nos faciliten un reconocimiento correcto de la morfología de las plantas, tanto a nivel de órganos, como de individuo o de especie. Debido a la gran complejidad que supone la interpretación de la enorme variabilidad morfológica de los distintos grupos de plantas, en esta práctica nos centraremos en un grupo concreto, el de las comúnmente denominadas plantas con

flores (angiospermas). A continuación, se enumeran unas cuantas pautas que resultan claves para una correcta interpretación de las estructuras vegetativas y reproductoras de las angiospermas, así como para su correcta identificación.

Parte 1. Diversidad morfológica de las angiospermas y su “correcta” interpretación.

A) Estructuras vegetativas: reconocimiento de raíces, tallos y hojas.

- Sólo encontramos tres tipos de órganos: raíces, tallos y hojas... ¡Pero con gran variedad de formas, tamaños y funciones!
- Brote = tallo con hojas.
- Hoja y brote axilar siempre aparecen juntos (estructura modular de las plantas).
- Las hojas siempre salen de los tallos.
- En climas templados existen periodos de reposo que provocan parones en el crecimiento y pérdida de órganos (hojas y brotes reproductores). Esto permite reconocer brotes de distintas temporadas.

B) Estructuras reproductoras: reconocimiento de las flores, sus componentes y su disposición.

- Flor = brote reproductor = braquiblasto (tallo corto) con esporófilos (hojas que producen esporas, estambres y carpelos) y, no siempre, periantio (hojas florales estériles).
- Estambres y periantio frecuentemente dispuestos en verticilos.
- Máximo 2 verticilos de estambres por flor. Máximo 2 verticilos de periantio por flor.
- Siempre dispuestas en el mismo orden, de dentro hacia fuera: gineceo, androceo y periantio (corola y cáliz, si diferenciados).
- Si no sabemos lo que es una flor: buscamos esporófilos (los estambres son fáciles de reconocer) y posteriormente el resto de piezas florales teniendo en cuenta el orden de su disposición (pueden faltar piezas y verticilos florales).
- Ley de la isomería: mismo número de piezas por verticilo floral (5, 4 ó 3).
- Ley de la alternancia: las piezas de un verticilo alternan con las de los vecinos.
- Inflorescencia = renuevo fértil con más de una flor (a diferencia de una flor solitaria).

Práctica: interpretar los órganos vegetativos y reproductores de varios casos de angiospermas. Observar las características comentadas en los puntos anteriores.

Parte 2. Diversidad taxonómica y su interpretación mediante claves de identificación.

- Es necesaria una correcta interpretación de la morfología para utilizar de forma correcta las claves de identificación.
- Las claves suelen ser dicótomas y jerárquicas.
- Utilizar claves de floras que abarquen el territorio donde crecen las plantas a identificar.
- Utilizar la información ecológica y corológica, no sólo la información morfológica.
- Utilizar otras fuentes de consulta como bases de datos corológicas o bancos de imágenes de plantas.

Tabla 1: Clave de identificación múltiple para la identificación de los dos grandes grupos de plantas con flores: monocotiledóneas y dicotiledóneas.

Monocotiledóneas	Dicotiledóneas
1 cotiledón (rara vez visible)	2 cotiledones
Herbáceas	Leñosas o herbáceas
Hojas paralelinervias	Hojas penninervias o palmatinervias
Vaina desarrollada	Vaina generalmente poco desarrollada
Periantio no diferenciado	Periantio diferenciado en cáliz y corola
Flores trímeras	Flores pentámeras o tetrámeras

Práctica: clasificar varias plantas angiospermas en monocotiledóneas o dicotiledóneas señalando qué características típicas presentan de su grupo.

Enlaces de interés.

- *GBIF*-Global Biodiversity Information Facility. Nodo Español de *GBIF*. <https://www.gbif.org/> (6 nov 2017). Información corológica de todos los grupos taxonómicos a escala global.
- Instituto Pirenaico de Ecología y Gobierno de Aragón. Atlas de la flora de Aragón. <http://floragon.ipe.csic.es/index.php> (6 nov 2017). Información ecológica y corológica de la flora vascular de Aragón.
- Proyecto *Anthos*. Sistema de información sobre plantas de España. <http://www.anthos.es/> (5 sep 2016). Información corológica de la flora vascular ibérica.
- Real Jardín Botánico. CSIC. *Flora ibérica*. <http://www.floraiberica.es/> (6 nov 2017). Claves de identificación, información ecológica y descripciones de especies, géneros y familias de la flora vascular ibérica.

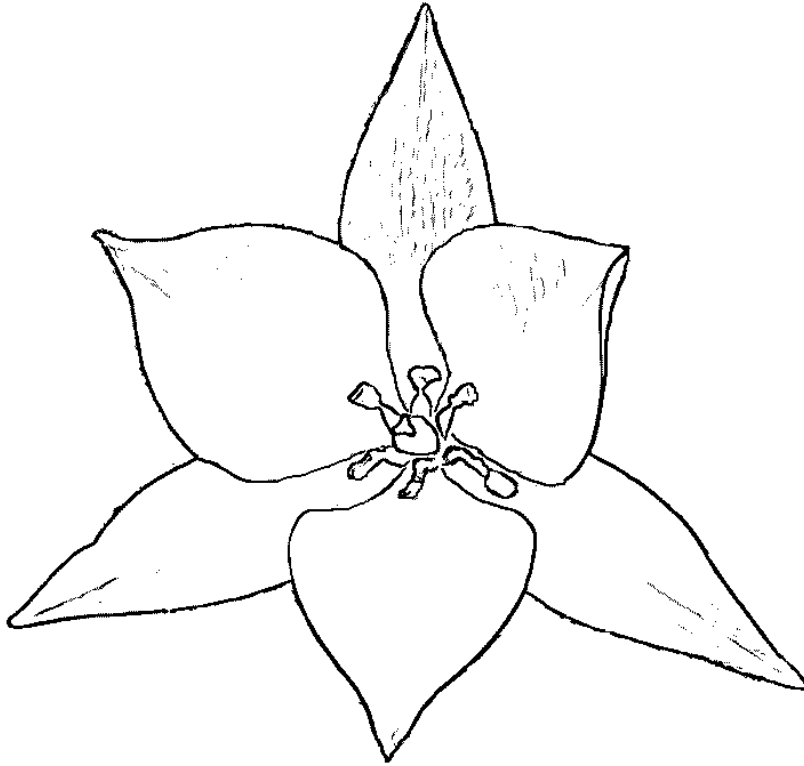


Figura 1: Flor trímica de la monocotiledónea *Tulipa sylvestris* subsp. *australis* (Link) Pamp. Todas las piezas florales se encuentran agrupadas en verticilos siguiendo las leyes de la alternancia y de la isomería.

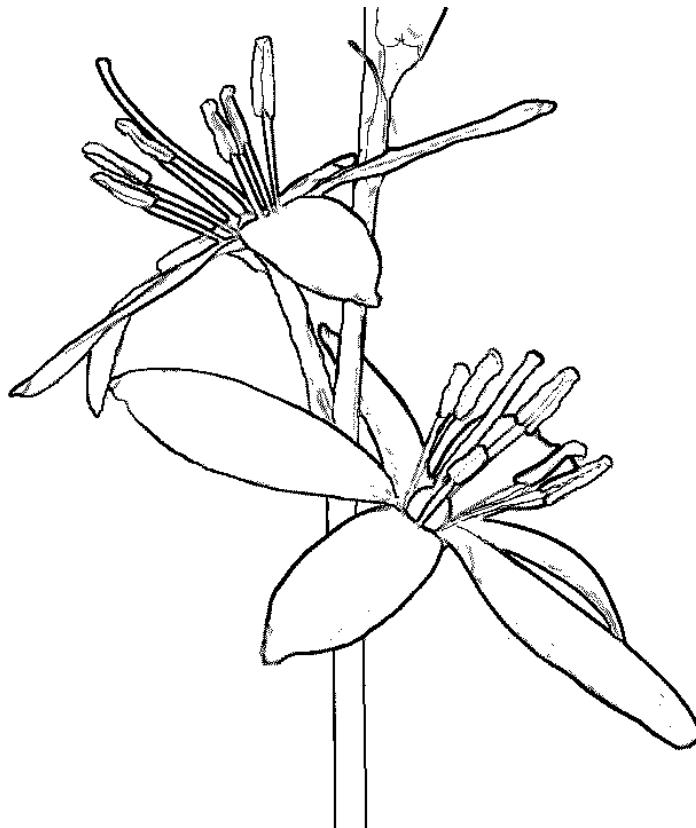


Figura 2: Flores trímeras de la monocotiledónea *Anthericum liliago* subsp. *liliago* L. Interpretamos que existen dos verticilos de tépalos y dos de estambres.



Figura 3: Flor pentámera de la dicotiledónea *Stellaria holostea* L. Presenta dos verticilos de periantio diferenciados en sépalos y pétalos, así como dos verticilos de estambres.

Introducción a la microscopía

Elena Bodegas Frías y Marina Martín Rodríguez

Objetivos:

- Aprender los conceptos y las técnicas básicas del procesamiento histológico para microscopía electrónica.
- Estudiar el material utilizado en el procesamiento histológico para microscopía electrónica.
- Observar orgánulos y estructuras celulares en imágenes de microscopía electrónica de transmisión.

Conceptos:

Procesamiento histológico¹.

Cuando analizamos una muestra con el microscopio electrónico debemos poner los medios para que lo observado se corresponda lo más posible a la realidad biológica. Debemos optimizar la conservación y manipulación del tejido. Esto incluye la realización de una serie de pasos, lo que se denomina *procesamiento histológico*, cuyo objetivo es poner de manifiesto las estructuras tisulares de un modo lo más parecido a su *estado in vivo*.

Los pasos generales que incluyen este procesamiento son: la fijación, la inclusión el corte y la tinción.

Fijación: todos los tejidos cuando se extraen de un organismo sufren dos tipos de procesos degradativos: autólisis por acción de enzimas intracelulares, y putrefacción por acción bacteriana. La fijación permite frenar ambos procesos. Los fijadores evitan la autólisis, protegen frente a ataques bacterianos, insolubilizan elementos solubles para ser estudiados posteriormente, evitan distorsiones y retracciones tisulares, penetran y preparan el tejido para poder llevar a cabo tinciones específicas posteriores, etcétera.

Hay muchas formas de hacer la fijación histológica y muchos fijadores posibles dependiendo del tipo de muestra que tengamos y las técnicas que posteriormente vayamos a realizar sobre los cortes de la misma. En el caso de muestras que vayan a ser observadas en el microscopio electrónico de transmisión el fijador más utilizado en el glutaraldehído.

¹ Todos los conceptos sobre procesamiento histológico para microscopía electrónica que aquí se resumen pueden analizarse con mayor profundidad mediante la visualización del siguiente vídeo: <https://www.youtube.com/watch?v=TfbOez7gHXA>

Se introduce el tejido por inmersión en un recipiente con un volumen de glutaraldehído 10 veces superior al de la pieza que vamos a fijar. Este proceso debe durar 24 horas. Pasado este tiempo las muestras se lavarán con una mezcla de PBS/sacarosa durante 24 horas (o hasta que la muestra deje de flotar en la mezcla).

Previamente a introducir el tejido en el fijador es necesario tallar ese tejido. El tallado consiste en seccionar la muestra de manera que obtengamos piezas de un milímetro de grosor.

Inclusión: Una vez fijado el tejido el siguiente objetivo del procesamiento histológico es conseguir secciones ultrafinas del mismo (50 nm). Para obtener secciones de este grosor es necesario incluir el tejido en una sustancia de elevada dureza. Estas sustancias suelen ser resinas epóxicas, una de las más utilizadas es el epon. Dada la naturaleza hidrófoba del epon, previamente hay que deshidratar el tejido. Para ello se utiliza un protocolo secuencial que constituye en sustituir el agua del tejido por alcoholes de gradación creciente (70°, 80°, 96° y 99°). Posteriormente el alcohol se sustituye por óxido de propileno, un disolvente orgánico miscible tanto en alcohol como en epon. Finalmente se sumerge la muestra en una cápsula plástica que contiene epon líquido. Se deja en la estufa a 37°C para que la resina polimerice.

Corte: para realizar los cortes histológicos que van a ser observados al microscopio electrónico de transmisión se utiliza el *ultramicrotomo*. Se trata de un instrumento de precisión con el que se obtienen secciones ininterrumpidas de tejido de grosor determinado y homogéneo. El ultramicrotomo consta de un portacápsula, un sistema de avance de la cápsula que permite controlar el grosor de los cortes, una cuchilla de vidrio o diamante y un mecanismo para pasar el bloque por la cuchilla. Los cortes pueden ser semifinos (1 μ m) o finos (20-40 nm). Los cortes semifinos se colocan en un portaobjetos y los cortes finos se colocan sobre una superficie metálica denominada red.

Tinción/Contraste: Cuando observamos al microscopio una sección histológica sin teñir es complicado apreciar la estructura del tejido. Para poner de manifiesto estas estructuras es necesario crear de forma artificial un contraste entre los diversos componentes del tejido. En el caso de los cortes semifinos que están en portaobjetos se tiñen con colorantes acuosos, siendo la tinción más utilizada el azul de toluidina. En el caso de los cortes finos que están en una red se realiza el contraste con metales para poder visualizarla de forma correcta. Para ello se utiliza tetróxido de osmio, acetato de uranilo y citrato de plomo. Estos metales se unirán de forma diferencial a las distintas estructuras histológicas. Esta unión diferencial permitirá observar la muestra al microscopio en distintas intensidades de gris.

Usando energías renovables

Juana Fernández Rodríguez

Introducción.

En esta actividad se pretende reflexionar principalmente sobre el modelo energético actual y conocer el funcionamiento de las energías renovables como alternativa sostenible. En un mundo con una dependencia creciente de los combustibles fósiles, los problemas ambientales derivados de su uso son cada vez más acuciantes. Las energías renovables son una apuesta de presente y de futuro.

Se van a estudiar las siguientes fuentes de energía:

- **Energía solar:**
 - Solar fotovoltaica:
 - Coche de agua.
 - Solar térmica:
 - Horno solar.
 - Calentador solar de agua.
 - Desalinizadora.
- **Energía eólica:**
 - Molino de viento.
- **Energía hidráulica:**
 - Noria hidráulica.
- **Energía procedente de la biomasa:**
 - Digestor biológico de materia orgánica.

Reflexionar sobre el modelo energético.

En esta primera parte se podría incluir un apartado teórico que consiste en analizar las fuentes de energía de uso cotidiano y proponer lluvia de ideas sobre el modelo energético actual basado fundamentalmente en los combustibles fósiles. Se puede elaborar un diagrama sobre la energía para iniciar el debate:

- ¿Qué es la energía?
- ¿Cuántas fuentes de energía conoces?
- ¿Cómo se mide la energía?
- ¿Puede acabarse la energía?
- ¿De quién es la energía?
- ¿Cuánta energía usas en casa y en el instituto?
- ¿Qué es el modelo energético?
- ¿Se relacionan modelo energético y social?
- ¿En qué consiste el problema energético actual?

Caracterización de las condiciones meteorológicas y climáticas.

El uso de las energías renovables requiere conocer en profundidad las condiciones meteorológicas debido a la gran dependencia que presentan. Por ello se muestra, a modo de ejemplo, una estación meteorológica, que consta de veleta, anemómetro, termómetro y pluviómetro.

El anemómetro y la veleta miden la velocidad y dirección del viento respectivamente. Las cubetas del anemómetro captan el viento y lo hacen girar. Cuanto más rápido gira, mayor es la velocidad del viento. La veleta apunta en la dirección de donde sopla el viento, que puede ser conocida observando la brújula. El pluviómetro mide la cantidad de lluvia caída. El embudo evita que el agua contenida en el tubo se evapore hasta que se efectúe la medida. El termómetro mide la temperatura del aire. El líquido que contiene se expande cuando se calienta y se contrae cuando se enfría, cuantificando la temperatura.

Para estimar la radiación solar que llega a un punto determinado se puede emplear un disco solar (modelo simplificado). Con la brújula de la estación meteorológica se orienta en la dirección norte-sur y con un disco interno se selecciona la radiación solar que llegaría a los diferentes puntos. En las estaciones reales se usan los radiómetros que

son dispositivos para medir la intensidad de energía térmica radiante, especialmente, mide la incidencia de rayos infrarrojos.

Modelos de energías renovables.

Energía solar:

Energía solar fotovoltaica.

En esta práctica se muestra el funcionamiento de un coche de hidrógeno que usa la energía solar para provocar la electrolisis del agua y que posteriormente es movido por la energía liberada al recombinarse el hidrógeno y el oxígeno.

Materiales necesarios:

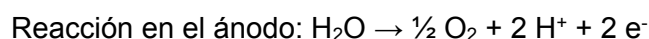
- Energía solar o equivalente.
- Agua desionizada.
- Coche de agua, modelo HYDROCAR:

Se trata de un coche, tamaño juguete, que consta de una celda de combustible reversible con membrana de intercambio protónico (PEM), con el fin de llevar a cabo la electrolisis del agua y la reacción inversa. Además, consta de dos depósitos de almacenamiento de gases usando la técnica de sello hidráulico, un panel solar fotovoltaico (formados por un conjunto de dispositivo electrónico que permite transformar la energía de los fotones de luz incidente en un flujo de electrones libres -células fotovoltaicas-; produciendo electricidad mediante el efecto fotoeléctrico) y una placa control para el automatismo.

La peculiaridad de la celda es la de poder funcionar alternativamente en dos modalidades: electrólisis, divide la molécula de agua en hidrógeno y oxígeno; y la electrólisis inversa, es decir, la recombinación del hidrógeno y el oxígeno obteniendo energía eléctrica.

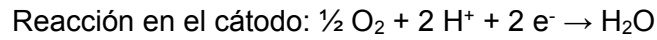
Las reacciones que tienen lugar son:

-Modo electrólisis:



-Modo electrólisis inversa:





Procedimiento:

- Alimentar la celda con agua desionizada.
- Conectar la placa solar fotovoltaico y colocarla en orientación hacia el sol (si no hay, se puede utilizar una bombilla incandescente).
- Observar la acumulación de hidrógeno y oxígeno en los depósitos correspondientes.
- Conectar la celda al motor eléctrico del coche y observar el movimiento del coche.

Resultados:

La reacción química entre el hidrógeno y el oxígeno, genera energía que se transforma en energía eléctrica que mueve el coche.

Propuestas de discusión:

Relacionado con la práctica, se plantean los siguientes temas:

- Energía del hidrógeno: ventajas e inconvenientes.
- Concepto de residuo cero.

Energía solar térmica.

En esta práctica se muestra el funcionamiento de un horno solar, un calentador solar y un desalinizador solar.

Horno solar: Es una estructura cuyo fin es concentrar la energía solar e incrementar la temperatura en su interior. Suelen disponer de paredes pulidas para reflejar hacia el interior al máximo la energía solar incidente, concretamente la radiación ultravioleta procedente del sol. Suele tener usos industriales, pero hay muchas propuestas de hornos solares caseros como el que se muestra en esta práctica.

Materiales necesarios:

- Energía solar o equivalente.
- Cartón.
- Papel de aluminio o espejos.
- Soporte.

- Termómetro.
- Algo para cocinar; ejemplos: huevos, chocolate, queso, etc.

Procedimiento:

- El horno se puede construir disponiendo las láminas de cartón (forradas con el papel de aluminio) o espejos en forma de pirámide invertida.
- Poner la comida o lo que se pretenda calentar en su interior.
- Se pueden poner controles de temperatura (dentro y fuera del horno) para cuantificar la concentración de energía.
- Poner al sol. Observar al cabo del tiempo.

Resultados:

El horno solar consigue concentrar la temperatura hasta sobrepasar los 80 °C en muchos casos. Consigue “cocinar” alimentos usando una fuente de energía renovable, la energía solar.

Propuestas de discusión:

Relacionado con la práctica, se plantean los siguientes temas:

- Horno solar industrial: Horno de Odeillo (Francia).
- Relación coste-obtención de energía.

Calentador solar de agua.

Es un sistema cuyo fin es captar la energía solar térmica que se utiliza para producir agua caliente.

Materiales necesarios:

- Energía solar o equivalente.
- Agua.
- Tubo flexible.
- Panel oscuro con hendiduras.
- Depósito.

Procedimiento:

- Llenar el depósito con agua del grifo.

- Hacer pasar el tubo flexible por el panel.
- Cerrar el sistema.
- Poner el panel negro al sol y esperar.
- Observar el termómetro del depósito.

Resultados:

El agua se va calentando y la temperatura se va incrementando.

Propuestas de discusión:

Relacionado con la práctica, se plantean los siguientes temas:

- Bajo impacto ambiental de la energía solar térmica.
- Relación entre las horas de sol de tu ciudad y el uso de los calentadores solares comparados con otras ciudades.

Desalinizador solar.

Es una estructura cuyo fin es evaporar agua de agua salada, utilizando la energía solar. El agua evaporada condensa sobre una película y es recogida en un recipiente.

Materiales necesarios:

- Energía solar o equivalente.
- Agua salada de mar (puede ser agua + sal).
- Colorante (opcional).
- Dos recipientes de vidrio, uno más grande que otro.
- Film de cocina o plástico transparente.
- Una goma elástica.
- Una piedra.

Procedimiento:

- Colocar el recipiente más pequeño dentro del recipiente más grande.
- Pon el agua salada y coloreada (si se desea) en el recipiente grande.
- Cierra el recipiente grande con el film transparente (poner una goma elástica para asegurar la estanqueidad del sistema).

- Poner la piedra sobre el film de manera que se forme un ligero cono cuyo vértice apunte al recipiente menor.
- Poner al sol. Observar al cabo del tiempo.

Resultados:

El agua va condensando sobre el film y escurriendo hasta el recipiente pequeño. El agua recogida no tiene colorante, por lo que podemos ver cómo se ha quedado concentrado tanto el colorante como la sal en el recipiente grande.

Propuestas de discusión:

Relacionado con la práctica, se plantean los siguientes temas:

- La operación unitaria de evaporación.
- Problemática de la escasez de agua potable en zonas costeras.

Energía eólica:

Molino de viento.

En esta práctica se muestra el funcionamiento de un molino de viento que usa la energía eólica para producir electricidad que enciende un led.

Materiales necesarios:

- Energía eólica o equivalente.
- Molino eólico:

Se trata de un molino, tamaño juguete, que consta de aspas conectadas a un motor, que a su vez está acoplado a un led.

Procedimiento:

- Colocar el molino en la dirección opuesta a la del viento.
- Observar el sistema.

Resultados:

La energía mecánica de las aspas se transforma en energía eléctrica en el motor, que enciende la bombilla led.

Propuestas de discusión:

Relacionado con la práctica, se plantean los siguientes temas:

- Energía eólica: Impacto ambiental y controversias.
- Zonas donde sopla fuertemente el viento en tu región.

Energía hidráulica:

Noria hidráulica.

En esta práctica se muestra el funcionamiento de una noria movida por una corriente de agua y cuya energía se usa para mover un objeto.

Materiales necesarios:

- Jarra.
- Agua.
- Cuerda fina.
- Bolitas de madera o pequeñas piedras.
- Noria hidráulica:

Se trata de un sistema circular que consta de aletas transversales que se mueven por la energía del flujo de agua. Dicha energía se emplea para mover objetos o desplazar agua.

Procedimiento:

- Colocar la noria en el recipiente.
- Dejar caer agua para que impacte frontalmente con las aletas transversales.
- Observar el sistema.

Resultados:

La cuerda unida a la noria comienza a enrollarse en el eje, elevando la bola de madera.

Propuestas de discusión:

Relacionado con la práctica, se plantean los siguientes temas:

- Historia y usos de la energía hidráulica.
- Ciclo del agua.

Energía procedente de la biomasa:

Digestor biológico de materia orgánica.

En esta práctica se muestra el funcionamiento de un reactor aislado alimentado con materia orgánica.

Materiales necesarios:

- Recipiente transparente cerrado con un agujero en la tapa.
- Recipiente más pequeño.
- Pajita o tubo flexible.
- Agua a unos 35°C.
- Harina.
- Azúcar.
- Levadura.

Procedimiento:

- Mezclar un poco de harina y azúcar en agua.
- Añadir un poco de levadura, que constituye los microorganismos responsables del proceso.
- Llenar el reactor hasta las $\frac{3}{4}$ partes de su capacidad.
- Cerrar el sistema y esperar algunas horas.
- Llenar el recipiente pequeño de agua.
- Abrir el tubo de salida del reactor e introducirlo en el recipiente pequeño por debajo del nivel de agua.

Resultados:

La materia orgánica (procedente de la harina y del azúcar) se ha degradado desprendiendo CO₂, este gas sale por el tubo y se manifiesta en el recipiente pequeño mediante un borboteo. Ha tenido lugar el proceso de fermentación del sustrato.

Propuestas de discusión:

Relacionado con la práctica, se plantean los siguientes temas:

- Biometanización de los residuos orgánicos.
- Tratamientos biológicos de la materia orgánica: compostaje vs biometanización.

Extracción y visualización de ADN mediante electroforesis

Iñigo Izal Azcárate y Silvia Cenoz Zubillaga

Parte I. Extracción de ADN.

Introducción.

El ácido desoxirribonucleico o ADN es la molécula que contiene nuestros genes, codifica nuestras proteínas y se transmite de generación en generación determinando miles de procesos biológicos. No vamos a describir ni su funcionamiento (además, hay aún mucho por descubrir) ni su estructura química, pero sí aquellas propiedades que nos van a permitir su obtención y visualización.

No es difícil extraer ADN de material biológico. Es posible hacerlo con material y reactivos muy comunes. Lo que sí es complicado es hacerlo en unas condiciones de pureza tales que permitan realizar ciertas técnicas con él (secuenciarlo, manipularlo, clonar algunos o parte de sus genes...), así que dejaremos eso para los laboratorios de biología molecular o de genética. En nuestro improvisado laboratorio casero, sí que podremos sin embargo, extraerlo y visualizarlo.

El ADN está localizado en el interior del núcleo de las células del tejido en cuestión, las cuales están embebidas en lo que llamamos la matriz extracelular del tejido, toda una suerte de proteínas fibrilares que dan estructura tridimensional al fluido en el que las células viven su día a día. Por ello, para acceder al ADN necesitaremos dos pasos, el primero para extraer las células de la matriz y el segundo para acceder al núcleo de éstas.

El primero de los pasos es mecánico. Aunque suene poco científico, lo que haremos será triturar el tejido de forma mecánica (machacándolo) y de esta forma forzaremos a las células a liberarse de la matriz. El segundo será químico. Para romper las células, liberar y abrir los núcleos necesitamos deshacernos de la membrana lipídica que separa a la célula del exterior y al núcleo del citoplasma. Para ello, nada mejor que un detergente.

Finalmente, para separar el ADN del resto de componentes utilizaremos una propiedad química del ADN. Sabemos que éste es insoluble en alcoholes, por ello utilizaremos alcohol de alta graduación para poder extraerlo de la disolución resultante.

Material necesario.

- Fruta (plátano, fresas o algo similar).
- Bolsas de plástico con cierre hermético.
- Agua o buffer salino (0,9 % de NaCl).
- Detergente (es recomendable el más simple, sin colorantes, aunque cualquiera sirve).
- Filtros de café.
- Alcohol de alta gradación (95-99 %).

Procedimiento.

1. Introducir la fruta troceada en la bolsa (aproximadamente unos 100 g).
2. Añadir agua o buffer salino (unos 50-100 mL).
3. Triturar la muestra con una cuchara o con las propias manos hasta alcanzar una consistencia cremosa. Añadir agua o buffer, si está demasiado sólido.
4. Abrir la bolsa y añadir detergente (unos 5 mL por cada 120 mL de solución).
5. Mezclar bien y deja runos 20 minutos (en este tiempo, el detergente solubiliza las membranas y permite la salida del contenido citoplasmático y del contenido nuclear, donde está el DNA genómico).
6. Filtrar el contenido de la bolsa a un recipiente limpio.
7. Añadir el alcohol, aproximadamente el doble del volumen que tenemos, lo suficiente para que cree una capa por encima de la capa acuosa y muy despacio, para evitar que se mezclen. El DNA aparecerá en forma de grumos en la interfase.
8. Recoger en DNA utilizando un bastoncito, una jeringa o una pipeta.

La extracción se podría realizar también a partir de células humanas. Bastaría con enjuagarse la boca con agua, ponerla en la bolsa y pasar directamente al paso 4 del procedimiento.

Parte II. Fragmentación de ADN.

Una vez tengamos el DNA genómico extraído vamos a proceder a su visualización. No obstante, nos interesa hacer alguna manipulación en este punto, que nos permita experimentar, comparar técnicas o “jugar” de alguna forma, para que el alumno pueda hacer algún tipo de experimento. Se proponen distintos tipos de fragmentación, una mecánica y dos químicas, para que se puedan visualizar distintos tipos de bandas o comparar los distintos métodos. En el caso de las químicas se podrían proponer

experimentos a los alumnos en el que comparen distintas concentraciones para determinar la más efectiva.

Material necesario.

- Jeringas de insulina.
- Agua oxigenada (H_2O_2) 4 mM.
- NaOH (sosa cáustica) 8 M.

Procedimiento.

Fragmentación mecánica.

Este método es muy sencillo, basta con hacer pasar la solución con el DNA varias veces y de forma enérgica a través de la aguja de una jeringa de insulina. El estrés mecánico que sufren las hebras de DNA al atravesar un canal muy estrecho llega a fragmentar, de forma aleatoria el DNA.

Fragmentación con peróxido de hidrógeno.

1. Colocar aproximadamente 1 mL del DNA genómico extraído en la parte I en un tubo de ensayo.
2. Añadir 1 mL de H_2O_2 4 mM (concentración final 2 mM) y mezclar bien.
3. Incubar unos 15 minutos.

Fragmentación con hidróxido sódico.

1. Colocar aproximadamente 1 mL del DNA genómico extraído en la parte I en un tubo de ensayo.
2. Añadir 1 mL NaOH 8 M (concentración final 4 M) y mezclar bien.
3. Incubar unos 15 minutos.

Parte III. Visualización de ADN mediante electroforesis horizontal.

Para visualizar el resultado de nuestra extracción y fragmentación de DNA proponemos realizar una de las técnicas más comunes en un laboratorio de biología molecular, una electroforesis en gel de agarosa. La electroforesis es una técnica que se basa en la migración de las moléculas de DNA al ser sometidas a un campo eléctrico. El DNA, en condiciones normales, en disolución acuosa y pH neutro están cargadas negativamente, por lo que, al estar incluidas dentro de un campo eléctrico migrarán hacia el polo positivo. Si hacemos que se muevan en el interior de un gel, compuesto por una red tridimensional de tamaño nanométrico de fibras de agarosa, encontrarán cierta

dificultad. Esta dificultad permitirá una velocidad mayor de migración cuanto menor sea el tamaño de la molécula, con lo que separaremos las diferentes moléculas presentes en la disolución (y procedentes de la fragmentación del DNA genómico extraído en la parte I) en función de su longitud. En la figura 1, podemos observar un esquema general del montaje de la electroforesis.

Para ello, y evitando el uso de reactivos complicados de obtener, vamos a utilizar un gel fabricado a partir de agar-agar, que puede ser adquirido en cualquier tienda de comestibles.

Material necesario.

- *Tupper* u otro contenedor similar.
- Peine fabricado con cartulina u otro material (ver figura 1).
- Agar-agar.
- *Buffer* de electroforesis (0,05 g de NaCl, 2 g de bicarbonato sódico, 1 L de agua).
- *Buffer* de carga (0,5 mL de glicerol, 0,1 mL de agua).
- Azul de metileno (desinfectante para acuarios).
- Cables y accesorios.
- Pilas (ver figura 2 para la descripción de la parte eléctrica).

Procedimiento.

Preparación del gel de electroforesis.

1. Disolver 1,2 g de agar en 100 mL de buffer de electroforesis (con esto se obtiene un gel al 1,2 %. El volumen de buffer depende también del recipiente en el que se va a preparar el gel).
2. Disolverlo con calor (microondas).
3. Verter el líquido en el *tupper* o el recipiente correspondiente. El gel debería tener unos 0,5 a 1 cm de grosor.
4. Colocar el peine (figura 1A).

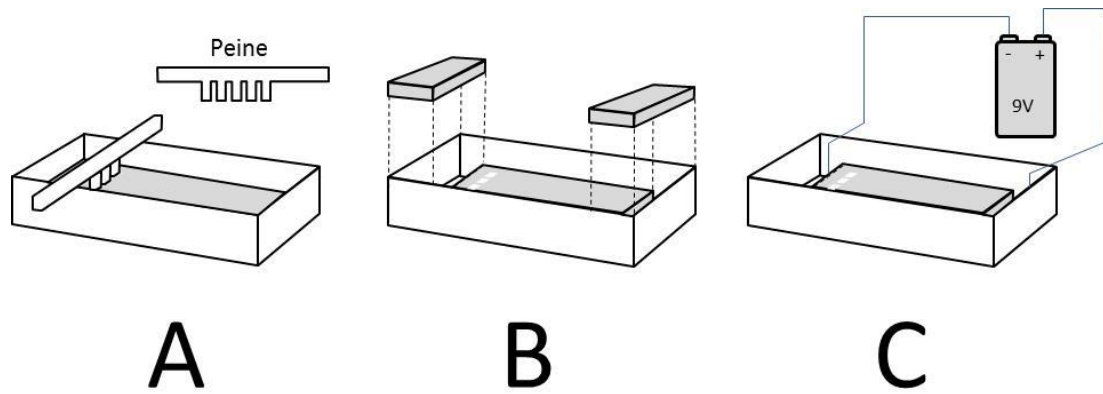


Figura 1. Esquema de la construcción y montaje de la electroforesis. Preparar el gel en un recipiente o *tupper*, colocando el peine para formar los pocillos (A). El peine se puede construir utilizando cartulina o una regla de un material que se pueda recortar, dándole la forma indicada en la figura. Con un cuchillo afilado, recortar los dos extremos del gel y retirarlos (B). Finalmente, colocar los cables conectados a la batería (C). Para más detalles de esta última parte, ver la figura 2.

Electroforesis.

1. Preparar la muestra añadiendo 0,1 mL aproximadamente de *buffer* de carga por cada mL de muestra.
2. Utilizando un cuchillo o un bisturí, cortar los extremos del gel, tal y como aparece en la figura 1B.
3. Rellenar el *tupper* hasta que cubra el gel por completo utilizando *buffer* de electroforesis.
4. Retirar el peine y cargar la muestra en los pocillos correspondientes.
5. Colocar un extremo de los cables en contacto con el *buffer*, a ambos extremos del gel y (ver figura 2A) el otro con la pila o el conjunto de pilas (ver figura 2B).
6. Dejar transcurrir la electroforesis durante 1-4 horas.
7. Teñir el gel sumergiéndolo en azul de metileno al 0,02 % durante toda la noche.
8. Visualizar y fotografiar.

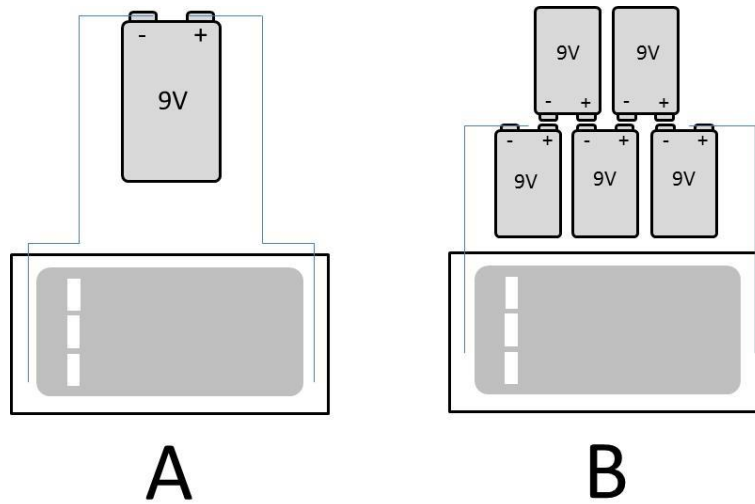


Figura 2. Esquema de la parte eléctrica de la electroforesis. Se propone utilizar pilas pp3, de 9 V. Hay que asegurarse de que la carga positiva queda alejada de los pocillos, ya que hacia ahí migrará el DNA. Con una sola pila (A), la electroforesis habrá de realizarse durante una noche aproximadamente. Se pueden utilizar varias pilas en serie (B) con lo que la velocidad aumentará considerablemente. Con el esquema de 7 pilas indicado en la figura, la electroforesis durará unas dos horas aproximadamente. El cableado no es relevante para la electroforesis, cualquier sistema de pinzas o cables encontrado en una ferretería, capaz de poner en contacto el polo de la pila y el líquido en el que está sumergido el gel, servirá.

Nuestros pequeños-grandes aliados en la elaboración del pan

David González Fernández

Breve introducción al trabajo de un laboratorio de microbiología.

Normas generales de laboratorio.

En el laboratorio se van a manejar microorganismos y para evitar accidentes hay que tener una serie de normas básicas:

- El laboratorio debe estar limpio y ordenado.
- Trabajaremos siempre en condiciones de esterilidad: en la proximidad de una llama.
- No se va a trabajar con microorganismos patógenos, pero sí que son potencialmente patógenos por lo que se trabajará con ellos con las consiguientes precauciones.
- Evitar contaminarse uno mismo o a un compañero.
- Evitar contaminar las muestras con microorganismos ambientales.
- Está prohibido comer, beber y fumar en el laboratorio.
- Evitar llevarse las manos a la nariz, boca, ojos, etc.
- Es imprescindible la bata.
- Al iniciar y finalizar las prácticas los alumnos se lavarán las manos con agua y jabón.
- Nunca tirar nada a la basura común ni por la fregadera.
- Bajo ningún concepto debe sacarse una muestra contaminada del laboratorio.
- Vigilar los mecheros mientras están encendidos. No abrir las ventanas ni crear corrientes de aire que puedan apagarlos.
- No pipetear nunca con la boca.

Manejo del microscopio.

- Los microscopios deben quedar como los han encontrado: enchufados, con la funda puesta, los objetivos en posición de lupa y apagados.
- Para encenderlos disponen de un interruptor en la parte de delante o en la parte de la derecha.
- Para regular la intensidad de luz al lado del interruptor hay una rueda o palanca llamada reostato. Suele estar numerada. Una intensidad de 7-8 suele estar bien.
- Poner la preparación en la platina.

- Colocar el primer objetivo que suele ser el de 10x aumentos (en microbiología el aumento de 4x no se utiliza). El sistema óptico del microscopio consta del ocular que tiene un aumento fijo de 10x y de 3 objetivos de 10x, 40x y 100x montados sobre una pieza móvil llamada revolver que dispone de una rueda dentada. Para cambiar de objetivo hay que hacerlo sin “agarrar” los objetivos sino cogiendo el revolver por la zona dentada. Los objetivos están enroscados en el revolver de tal forma que los planos focales de las lentes están a la misma altura, así si enfocamos con uno de ellos al cambiar de objetivo la preparación estará prácticamente enfocada. A esta propiedad se le llama parafofocalidad del microscopio. Si “agarramos” los objetivos podemos desenroscarlos perdiendo esta propiedad.
- Regulamos la luz: la intensidad ya la hemos regulado con el reostato. Otro elemento MUY IMPORTANTE para regular la luz es el condensador: colocado debajo de la platina. El condensador es una lente que concentra la luz en un punto o la dispersa al subir y bajar. Se mueve con una rueda colocada en el lado izquierdo debajo de la platina. Otro elemento que regula la luz es el diafragma, elemento colocado debajo de la platina y que funciona como un iris que se abre y se cierra con una palanca que se mueve de izquierda a derecha para dejar pasar más o menos luz.
- Con el objetivo de 10x entra mucha luz por lo que con el diafragma abierto y el condensador hacia la mitad tendremos una buena iluminación.
- Enfocamos la preparación utilizando unas ruedas concéntricas colocadas en el brazo del microscopio: la más grande y externa sube y baja la platina rápidamente y la más pequeña e interna lo hace muy despacio. Una manera de enfocar es subir al máximo la platina (los microscopios tienen un tope, aunque no todos, por eso hacer esta operación sin mirar por el ocular para no clavar la preparación e el objetivo) e ir bajando la platina despacio con el macrométrico hasta enfocar teniendo en cuenta que lo primero que se enfoca es la parte de abajo del porta.
- Una vez hemos enfocado con el objetivo de 10x colocamos el objetivo de 40x moviendo el revolver por la rueda dentada. Ahora el objetivo está muy cerca de la preparación y al mirar por el ocular vemos que entra mucha menos luz, por

eso antes de enfocar subimos el condensador hasta que el campo esté claro. Una vez hemos mejorado la iluminación enfocamos con el micrométrico muy despacio porque si hemos enfocado bien a 10x la preparación estará prácticamente enfocada.

- Una vez hemos enfocado podemos movernos por la preparación y elegir una zona en la que no haya ni muy poca ni mucha muestra para una buena observación. Es importante elegir una buena zona.
- Ahora vamos a colocar el objetivo de 100x. Este objetivo es especial y necesita aceite de inmersión. Debemos colocar una gota de un aceite mineral especial cuyo índice de refracción es igual al del vidrio del porta, de esta forma los rayos de luz no se refractan y conseguimos aumentar el límite de resolución como si aumentáramos el tamaño de la lente.

$$\bullet \quad LR = \frac{0.61 \times \lambda}{N \times \text{sen} \alpha}$$

Apertura

- El límite de resolución es la menor distancia entre dos puntos para poder observarlos como puntos separados y viene determinado por esta fórmula en la que λ es la longitud de onda y N es el índice de refracción del medio en el que se propaga la luz y α es el ángulo que forma el último rayo de luz que entra en la lente con respecto al eje de la lente. En esta fórmula si hacemos que el denominador (es decir, la apertura numérica) sea mayor conseguiremos disminuir el límite de resolución y por lo tanto aumentar la resolución. El índice de refracción del aire es N=1 pero el índice del vidrio y del aceite de inmersión es N=1,66 por lo que al colocar la gota de aceite estamos aumentando la resolución.
- Para colocar la gota de aceite giramos el revolver hacia el objetivo de 100 pero sin ponerlo, subimos del todo el condensador y sobre el punto de luz que atraviesa la preparación colocamos una gotita de aceite y después colocamos el objetivo sobre la gota que debe tocar la lente. cuidado de no manchar otros objetivos con aceite.

- Para enfocar movemos ligeramente el micrométrico (ahora la preparación está tocando la muestra) la muestra debe estar prácticamente enfocada.
- Ahora que está enfocada la preparación podemos movernos por ella.
- Al terminar de observar colocar el objetivo de menor aumento y entonces quitar la preparación. Limpiar con papel absorbente la lente de 100x, apagar el microscopio y colocar la funda.

Recomendaciones:

- Si no se consigue enfocar con el objetivo de 40x no intentarlo con el de 100x, volver al de 10x.
- Si con el objetivo de 100x no se consigue enfocar volver a enfocar con el objetivo de 10x pero en una zona sin aceite. no manchar los objetivos. Una vez se ha puesto el aceite no se puede observar esa zona con los objetivos de 10x y 40x.
- No se puede ni adivinar la morfología de las bacterias a 10x o 40x.

Tinción simple de levaduras.

*Cuando se relacionan microbios y alimentación habitualmente se asocia a un suceso poco apetecible: un *Staphylococcus aureus* o un *Bacillus cereus* que nos hemos llevado a la boca nos tiene con una buena gastroenteritis pegados a la taza del váter. Sin embargo, hay una serie de microbios que, lejos de hacernos daño, son saludables y beneficiosos. Entre estos últimos está *Saccharomyces cerevisiae*. Bajo este nombre se oculta una levadura considerada por los investigadores como “el buque insignia” de la dieta mediterránea a escala microbiológica. Y es que *S. cerevisiae* es el microbio implicado en la producción de alimentos como el pan, el vino y la cerveza.*

Observación de microorganismos mediante la tinción simple (levaduras).

Fundamento.

Es una tinción en la que se hace uso de un único colorante y es utilizada para poder observar los microorganismos, ya que estos normalmente son transparentes, con el colorante se aumenta el contraste entre los microorganismos y el medio circundante, lo que nos facilita su visualización.

Con esta tinción podemos diferenciar entre bacterias, levaduras y hongos y nos permite ver la morfología y el tamaño de los microorganismos.

Realización.

- Toma de inóculo. (normas de esterilidad): Siempre en condiciones de esterilidad: evitar paseos, corrientes, no hablar mientras se está trabajando, sembrar y trabajar alrededor del mechero. Esterilizar el asa de siembra colocando el asa verticalmente en la llama hasta incandescencia. Retirar el asa y dejar enfriarla unos segundos para no quemar la muestra. Poner la muestra sobre el porta.
- Extensión: Extender la muestra sobre el porta. Esto nos permitirá observar adecuadamente los microorganismos, si estuvieran todos “apelotonados” no veríamos nada.
- Fijación: Pasar el porta por la llama hasta evaporar totalmente el contenido acuoso de la muestra. Esto nos permite teñir la muestra etc...tratarla sin temor a perderla. Hacerlo con movimientos rápidos para evitar que se caliente el porta en exceso y quememos la muestra. Esta operación hacerla con la mano para ir controlando la temperatura del porta. No usar pinzas.
- Cristal Violeta o Safranina: que son colorantes básicos que se unen a las células cargadas negativamente. Dejamos actuar 1 minuto. Lavamos con abundante agua.
- Secar la preparación de igual forma que como se realizó la fijación, con el fin de evaporar el contenido acuoso.
- Observación al microscopio con el objetivo de inmersión.

S. cerevisiae, es de forma esférica, y su tamaño es el doble del habitual en la mayoría de las bacterias. Está dentro de los microbios que normalmente comemos junto con bacterias, otras levaduras y mohos.

Las levaduras forman parte de los llamados fermentos, que producen los alimentos fermentados. El nombre de fermento viene del latín *fervere*, que significa hervir, ya que en el proceso los fermentos ocasionan un efecto que recuerda a la ebullición.

S. cerevisiae se encuentra sobre todo asociada a alimentos de origen vegetal. Esto se debe a que los vegetales, a través de la clorofila y la fotosíntesis, son capaces de sintetizar en su interior azúcares en gran cantidad. Y a *S. cerevisiae* "le gusta" fermentar azúcares con los que produce otros compuestos, como el dióxido de carbono o el etanol.

Precisamente es así como se consigue el vino. En la fermentación del mosto –que se obtiene por el estrujado de la uva–, esta levadura produce etanol. En el caso de la cerveza, se fermenta la cebada, lo que se obtiene calentando el grano con agua. En ambos casos, antes de ser embotelladas se eliminan las células que enturbian las bebidas.

Con respecto al pan, al fermentar los azúcares, la levadura produce un gas que queda atrapado en la masa, provocando que crezca. Las levaduras mueren por efecto del calor.

Bibliografía.

C. Gamazo, I. López-Goñi, R. Díaz, B. Alonso-Urmeneta, I. García-Jalón, D. González, S. Hernáez, J. Leiva, G. Martínez de Tejada, M.F. Rubio, A. Vitas. Manual práctico de microbiología. Tercera edición. 2005. Editorial Masson, Barcelona, España.

Museo de Ciencias

David Galicia Paredes

Gabinetes de Historia Natural, oportunidades didácticas al alcance de todos.

Las colecciones de historia natural ofrecen una oportunidad única para ayudar a los alumnos de una forma práctica y entretenida a profundizar en multitud de aspectos de la biología de los organismos como son su anatomía y su diversidad. Sin embargo, no siempre resulta fácil contar en los propios centros educativos con el material necesario para cubrir la demanda de los distintos programas docentes, de manera que es habitual programar la visita a algún Museo de Historia Natural que ofrezca estos recursos.

En esta práctica, mostraremos los procedimientos de preservación y preparación de material biológico que se realizan rutinariamente en el Museo de Ciencias Naturales de la Universidad de Navarra. Conoceremos las distintas tipologías de piezas conservadas en sus fondos y los protocolos de catalogación para asegurar la labor de conservación propia de estas instituciones. Veremos formas de conservación accesibles incluso en condiciones de limitados recursos y estudiaremos las posibilidades educativas que nos ofrecen los distintos tipos de piezas y qué restricciones nos impone la legislación actual a la recogida de material biológico. Visitaremos los fondos donde se almacena el material y la zona expuesta al público con la intención de buscar aquellos elementos que se puedan adaptar a los recursos con los que cuenta cada profesor en sus centros de origen.

Durante la sesión se cubrirán los siguientes temas:

1. Técnicas de conservación en seco.
 - a. Preparación de esqueletos.
 - b. Preparación de pieles.
 - c. Naturalización.
 - d. Liofilización.
 - e. Desección de ejemplares tridimensionales.
 - f. Pliegos.
2. Técnicas de conservación en fluido.
 - a. Líquidos conservantes.
 - b. Fluidos de inclusión.
3. Presentación del material.
 - a. Naturalización.
 - b. Montaje de estructuras.
 - c. Cajas didácticas.
4. Visita de la zona expositiva del Museo.
5. Visita al depósito y colecciones de investigación.



idad de Navarra

10 cm

Ejemplar de abejaruco (*Merops apiaster*) naturalizado fotografiado con cámara réflex digita Nikon D100 (foto: Ana Amezcua).



Ejemplar de colémbolo *Heteromurus major*, fotografiado con un microscopio electrónico de barrido (foto: Enrique Baquero).



Caja entomológica con diversos ejemplares de lepidópteros fotografiados en una mesa de reproducción para cámara réflex (foto: Arturo Ariño).



Bote con un ejemplar de *Ammodytes tobianus* conservado en alcohol fotografiado con una cámara réflex Nikon D100 (foto: David Galicia).



Ejemplar de *Carabus splendens* de una colección entomológica fotografiado con una lupa binocular (foto: Arturo Ariño).

