

INTRODUCCIÓN A LA BIOLOGÍA MOLECULAR Y CELULAR

Guía de Trabajos Prácticos

Lic. en Biotecnología

Lic. en Bioinformática

Lic. e Ing. en Alimentos

Guía modificada en 2024 por Lic. Martín Vadillo, Lic. Carla Manuelian, Dra. Romina Mitarotonda, Dra. Julieta Leyt, Dr. Federico Prada.

Revisada 2022: Lic. Julián Cardozo, Lic. Martín Vadillo, Dra. Julieta Leyt.

Basada en la guía anterior confeccionada por: Dra. María Handel, Dra. Romina Girotti, Lic. Lorena Benedetti, Lic. Julián Cardozo, Lic. Carmen Sabio y García, Dr. Federico Prada, Dr. Leandro Martínez Tosar.

ÍNDICE

Normas de trabajo en el laboratorio.....	4
Pautas de aprobación de la materia	4
Trabajo Práctico Nº 1	5
Trabajo Práctico Nº 2	15
Trabajo Práctico Nº 3	21
Trabajo Práctico Nº 4	26
ANEXO	
Fichas de resultados	30
Pautas para realizar el Informe de laboratorio.....	39

NORMAS DE TRABAJO EN EL LABORATORIO Y RÉGIMEN DE APROBACIÓN DE TRABAJOS PRÁCTICOS

1- Para poder ingresar al laboratorio es OBLIGATORIO:

- Traer guardapolvos de manga larga que cubra el cuerpo hasta las rodillas (pueden traer guardapolvos descartables). Quienes no lo traigan no podrán ingresar y tendrán ausente.
- Usar ropa que cubra la totalidad del cuerpo. Está **prohibido** ingresar con faldas, pantalones cortos y calzado descubierto (ej: sandalias).
- En el caso de usar cabello largo, debe llevarlo recogido en forma de rodete.
- No utilizar elementos colgantes como aros, cadenas o collares.
- Es importante que limite al mínimo los maquillajes y pinturas de caras para no ensuciar oculares de microscopios y lupas.
- Deben traer impresos los preprácticos, material de escritura y calculadora.
- Traer leídas la guía de Trabajos Prácticos (TP) y las charlas proporcionadas por los docentes para facilitar la comprensión de las tareas a realizar.
- Las mochilas y otros elementos deben quedar fuera del laboratorio.
- Cada laboratorio comenzará estrictamente a la hora correspondiente dependiendo del turno que le haya sido asignado con un margen de tolerancia de 10 minutos. Quienes lleguen más tarde no podrán ingresar y tendrán ausente.

2- Dinámica de realización de los experimentos:

Al ingresar, deberán armar grupos de trabajo que no necesariamente deben mantenerse a lo largo de la cursada. La cantidad de alumnos por grupo será definida en cada fecha de TP por los docentes.

Cada grupo realizará las experiencias indicadas por el docente y deberán completar los preprácticos o informes de laboratorio.

Cada grupo deberá presentar un (1) informe completo al terminar el horario de laboratorio. El docente a cargo discutirá los resultados con todos los integrantes del grupo. En caso de tener que realizar correcciones, se realizarán en el momento. Una vez que el informe se encuentre aprobado, los alumnos tendrán el presente y el aprobado del Trabajo Práctico.

De no presentar el informe completo a tiempo o no estar presente en el momento de la discusión, la o el alumno tendrá ausente y el informe estará desaprobado.

3- Régimen de Aprobación de Trabajos Prácticos:

Para aprobar los Trabajos Prácticos de la materia, cada alumno deberá tener presente y aprobados los informes correspondientes a 3 de las 4 fechas de TP indicadas en el cronograma. En el caso de no cumplir con este requisito, la nota de TP será insuficiente y el alumno deberá **recursar la materia**. También, es condición obligatoria para la aprobación de los TPs haber **realizado y aprobado el Informe del trabajo práctico de “Enzimas”**.

<p style="text-align: center;">TRABAJO PRÁCTICO Nº 1</p> <p style="text-align: center;">COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS ORGANISMOS</p>

Parte I: COMPUESTOS INORGÁNICOS

OBJETIVOS

- Adquirir destreza y entrenamiento manual en la utilización de material de laboratorio mediante técnicas sencillas.
- Familiarizarse con técnicas de reconocimiento de iones y agua en muestras biológicas. Resolución de situaciones prácticas.

INTRODUCCIÓN

COMPUESTOS INORGÁNICOS:

Los seres vivos están constituidos por los mismos componentes químicos que los objetos inanimados, y obedecen a las mismas leyes físicas y químicas. Seis elementos (C, H, N, O, P y S) constituyen el 99% de la materia viva. Sólo unos veinte elementos son esenciales para la vida; algunos son de importancia universal como C, H, O, N, Na, K, Cl, Mg, P y S, pero otros son sólo necesarios para ciertas especies y no está demostrada su funcionalidad en otras. Con excepción del hidrógeno, todos los elementos mencionados pueden formar enlaces covalentes con dos o más átomos, dando lugar a las moléculas complejas que caracterizan a los sistemas vivos.

Dependiendo de su concentración en la materia viva pueden clasificarse en:

- Macroelementos: son los constituyentes principales (concentración mayor al 1%).
- Microelementos: son necesarios en concentraciones menores (entre 0,05% y 1%).
- Elementos traza: son necesarios en concentraciones aún más pequeñas (menores al 0,05%).

AGUA:

El agua es el líquido más común de la superficie terrestre y el componente principal de todos los seres vivos; en promedio, un 70% del peso total de un organismo es agua. Presenta un número de propiedades destacables que son consecuencia de su estructura molecular y son responsables de la "aptitud" del agua para desempeñar su papel en los sistemas vivos. El rol básico de esta molécula es aportar un sistema fluido donde ocurran las reacciones para los procesos fisicoquímicos vitales.

El agua es un disolvente muy potente de muchos tipos de compuestos distintos. Las sustancias que se mezclan y se disuelven bien en agua -como las sales, azúcares, ácidos, álcalis, y algunos gases (como el oxígeno o el dióxido de carbono, mediante carbonación)- son llamadas hidrofílicas, mientras que las que no combinan bien con el

agua -como lípidos y grasas- se denominan sustancias hidrofóbicas. Todos los componentes principales de las células como proteínas, ADN y azúcares se disuelven en agua.

DESARROLLO EXPERIMENTAL

Antes de comenzar con nuestro trabajo en mesada, es necesario hablar de algunos conceptos fundamentales al momento de hacer cualquier experimento:

¿Qué son la MUESTRA EXPERIMENTAL, el CONTROL POSITIVO y el CONTROL NEGATIVO?

Primero, vamos a recordar la siguiente reacción química:



A la izquierda de la flecha se ubican los reactivos, mientras que a la derecha de la flecha, los productos.

En este trabajo práctico nosotros utilizaremos diferentes “**reactivos de reconocimiento (RR)**” específicos que nos permitirán reconocer cada una de las moléculas estudiadas. Por lo tanto, la reacción química anterior quedará planteada de la siguiente manera:



En general, para interpretar correctamente una experiencia de reconocimiento de iones o moléculas deben realizarse simultáneamente 3 ensayos:

- Ensayo experimental de la muestra: es el que se realiza sobre la muestra o material biológico elegido, en el cual, se intenta determinar la presencia de una sustancia química; por ejemplo, si en una muestra de hígado tratamos de determinar la presencia de hierro.
- Control Positivo: también llamado testigo, es un tubo que contiene efectivamente la sustancia química que se intenta reconocer; este tubo debe producir una reacción positiva con el reactivo de reconocimiento, lo cual permitirá comprobar que éste actúa eficazmente y permite visualizar el resultado correcto de la reacción. Un resultado negativo en un testigo obliga a repetir todo el experimento. Por ejemplo, en este caso, deberíamos mezclar el reactivo de reconocimiento de hierro con una muestra de sulfato ferroso con concentración de hierro conocida.
- Control Negativo: contiene el reactivo de reconocimiento y las otras sustancias que se requieran para realizar la reacción (agua destilada, ácidos, álcalis, etc.) pero no contiene el componente que se desea reconocer; teóricamente debe dar un resultado negativo, permite comprobar que no hay contaminaciones en los reactivos que pudieran dar “falsos positivos” y también sirve para contrastar respecto del testigo. Un control negativo que arroja un resultado positivo nos obliga a desechar los reactivos y repetir el experimento usando reactivos nuevos. Por ejemplo, si el reactivo de reconocimiento

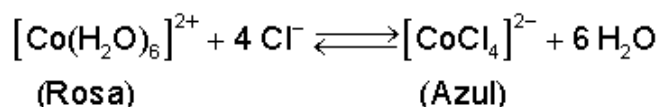
sirve para reconocer la presencia de hierro, utilizaríamos como control negativo algo que estemos seguros que no contiene hierro, por ejemplo, agua destilada.

a) Reconocimiento de agua:

La presencia de agua en material biológico fresco (como ser: granos de trigo, arroz o maíz) se detecta sometiendo la muestra a calentamiento y comprobando la acción del vapor desprendido y condensado sobre una sal anhidra (cloruro de cobalto), que tiene la propiedad de cambiar de color al hidratarse:

sal hidratada (color rosado)

sal anhidra (color celeste o azul)



Procedimiento:

- Se arma un aparato compuesto por un Erlenmeyer en cuya boca se ajusta un tubo de desprendimiento recto vertical, dentro del cual se coloca un papel de filtro o algodón con cloruro de cobalto anhidro. Para ello, se impregna previamente el papel o algodón con una solución de CoCl_2 al 2% y se seca en estufa a 60°C . Una vez seco, debe mantenerse aislado de la humedad ambiental.
- Dentro del Erlenmeyer se colocan aproximadamente 10 g de arroz y se calientan sobre llama débil, evitando carbonizar el material. Se observará el desprendimiento de vapor que se condensa sobre las paredes del Erlenmeyer y del tubo, cambiando el color del cloruro de cobalto.
- Anotar las condiciones iniciales y finales de la experiencia. Interpretar los resultados.

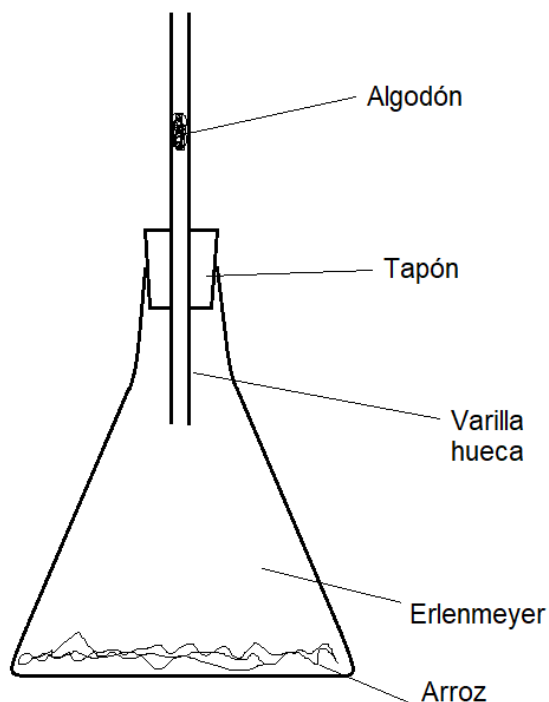


Figura 1. Esquema del dispositivo experimental.

b) Reconocimiento de hierro:

La presencia de catión hierro III (Fe^{3+}) se reconocerá mediante un ensayo analítico específico con el anión tiocianato (SCN^-), cuyo resultado es un complejo de color rojo intenso en medio ácido. El ensayo es sumamente sensible, pero debido a que el Fe^{3+} se encuentra con frecuencia comprometido en moléculas orgánicas complejas, es necesario calcinar previamente el material biológico para liberarlo. Por ello, este reconocimiento se realiza sobre cenizas de granos de trigo, maíz, hojas u otros materiales.

Procedimiento:

- 1- Rotular 3 tubos: - (Control negativo) , + (Control positivo) y M (muestra).
- 2- En otro tubo poner una pequeña cantidad de cenizas y agregar con mucha precaución 5-10 gotas de ácido clorhídrico (HCl) concentrado. Agitar un par de minutos. Agregar 3 mL de agua destilada; agitar y filtrar la suspensión con un embudo y papel de filtro o algodón directamente sobre el tubo M.
- 3- Completar los 3 tubos siguiendo las indicaciones (agregar primero el HCl y luego el KSCN).

Tubo	Contenido	HCl conc.	KSCN
-	2 ml H_2O dest.	5 gotas	2ml
+	2 ml FeCl_3 0.01%	5 gotas	2 ml
M	2 ml de filtrado	5 gotas	2 ml

- 4- Agitar los tubos. Observar y anotar los resultados. Sacar conclusiones.

c) Reconocimiento de calcio:

La presencia de calcio (Ca^{2+}), y otros cationes bivalentes como el magnesio y el manganeso, se detecta mediante la reacción con negro de eriocromo T en solución alcohólica (reactivo de reconocimiento), en medio alcalino. Por las mismas razones expuestas en el caso del hierro, este ensayo también se efectúa sobre material biológico calcinado.

Procedimiento:

- 1- Rotule 3 tubos: - (control negativo) , + (control positivo) y M (muestra).
- 2- En otro tubo ponga una pequeña cantidad de cenizas y agregue 3 ml de agua destilada; agite durante un par de minutos y filtre la suspensión mediante un embudo y algodón o papel de filtro directamente al tubo M (muestra).
- 3- Complete los 3 tubos siguiendo las indicaciones del cuadro:

Tubo	Contenido	Negro de eriocromo
-	2 ml H ₂ O dest.	1 gota
+	2 ml CaCl ₂ 0.1%	1 gota
M	2 ml de filtrado	1 gota

4- Agite los tubos. Observe y anote los resultados. Extraiga conclusiones.

Parte II: COMPUESTOS ORGÁNICOS

OBJETIVOS

- Que el alumno reconozca la presencia de hidratos de carbono, proteínas y ácidos nucleicos en materiales biológicos de origen animal y vegetal mediante el empleo de técnicas adecuadas
- Adquirir destreza y entrenamiento manual en la utilización de material de laboratorio mediante técnicas sencillas

INTRODUCCIÓN

En los organismos se encuentran cuatro tipos diferentes de moléculas orgánicas en gran cantidad: carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos; todas estas moléculas contienen carbono (C), hidrógeno (H) y oxígeno (O). Además, las proteínas contienen nitrógeno (N) y azufre (S), y los ácidos nucleicos, así como algunos lípidos, contienen nitrógeno (N) y fósforo (P).

Para recordar: carbohidratos (CHO), proteínas (CHONPS), ácidos nucleicos (CHONP) y lípidos (CHONP).

Se podría decir que la química de los organismos vivos es la química de los compuestos que contienen carbono, o sea, los compuestos orgánicos.

El carbono es singularmente adecuado para este papel central, por ser el átomo más liviano capaz de formar múltiples enlaces covalentes. A raíz de esta capacidad, el carbono puede combinarse con otros átomos de carbono y con otros elementos originando grupos funcionales que alteran drásticamente las propiedades de las cadenas carbonadas. Una característica general de todos los compuestos orgánicos es que liberan energía cuando se oxidan.

Los carbohidratos, normalmente conocidos como azúcares, son la fuente primaria de energía química para los sistemas vivos. Los carbohidratos almacenan energía que puede ser liberada al romper sus enlaces covalentes. Se clasifican en **monosacáridos**, disacáridos, polisacáridos y oligosacáridos según la cantidad de unidades que contengan.

Las proteínas son moléculas muy grandes compuestas de cadenas largas de **aminoácidos**, conocidas como cadenas polipeptídicas. A partir de sólo veinte aminoácidos diferentes se puede sintetizar una inmensa variedad de moléculas proteicas, cada una de las cuales cumple una función altamente específica en los sistemas vivos.

Los lípidos son biomoléculas compuestas principalmente por carbono e hidrógeno y en menor medida por oxígeno, también pueden contener fósforo, azufre y nitrógeno. Son insolubles en agua (hidrofóbicos) y solubles en solventes orgánicos. Son utilizados como reserva de energía y son importantes componentes estructurales de la célula. Incluyen las grasas y los aceites, los fosfolípidos, los glucolípidos, los esfingolípidos, las ceras, y los esteroides como el colesterol.

Los ácidos nucleicos son macromoléculas de longitud considerable, formadas por la polimerización de monómeros llamados **nucleótidos**. Estos monómeros están constituidos por un grupo fosfato, un azúcar de cinco carbonos y una base nitrogenada. Los nucleótidos también son indispensables como moléculas libres. El principal portador de energía en la mayoría de las reacciones químicas que ocurren dentro de las células es un nucleótido que lleva tres fosfatos: el ATP.

Se dice que los carbohidratos, proteínas y ácidos nucleicos son polímeros ya que están formados por monómeros repetitivos como ser: monosacáridos, aminoácidos y nucleótidos, respectivamente.

Muchas de las funciones específicas de los compuestos orgánicos derivan de sus grupos funcionales, definidos como grupos de átomos unidos entre sí que poseen determinadas propiedades y confieren características comunes a las moléculas que los portan.

DESARROLLO EXPERIMENTAL

a) Reconocimiento de azúcares reductores (hidratos de carbono):

Se investigará la presencia de azúcares reductores, es decir, que poseen un grupo químico fácilmente oxidable. El material biológico es leche entera, en la cual está presente la lactosa (disacárido formado por glucosa + galactosa), que es un azúcar reductor. El reactivo de reconocimiento usado es el reactivo de Benedict, que posee una sal de cobre (Cu^{2+} , de color celeste); que en presencia de azúcares reductores se reduce a un óxido de Cu^+ . El óxido cuproso forma un precipitado cuyo color puede variar desde el amarillento hasta el rojo ladrillo, esta variación de color depende de la concentración del azúcar presente.

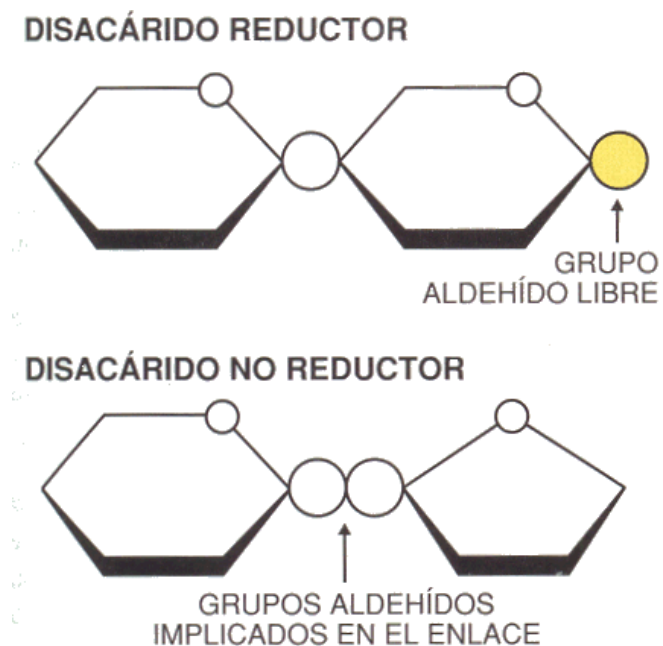


Figura 2. Ejemplo de azúcar reductor y no reductor.

Procedimiento:

- 1- Rotule 3 tubos: - (Control negativo) , + (Control positivo) y M (muestra).
- 2- Complete los tubos de acuerdo con las indicaciones.

Tubo	Contenido	react. Benedict
-	2 ml H ₂ O dest.	1 ml
+	2 ml lactosa 0,5 %	1 ml
M	2 ml leche	1 ml

- 3- Caliente a baño maría en ebullición durante 5 minutos.
- 4- Observe y anote los resultados obtenidos. Anote las conclusiones.

b) Reconocimiento de polisacáridos (hidratos de carbono):

Se investigará la presencia de almidón en papa, previa extracción acuosa del material. La amilosa y la amilopectina del almidón forman soluciones coloidales en agua, y son capaces de reaccionar con yodo (I₂) generando colores específicos: la amilosa produce color azul y la amilopectina un color rojo-violáceo. Se utilizará como reactivo de reconocimiento el Lugol, compuesto por I₂ en una solución de yoduro de potasio.

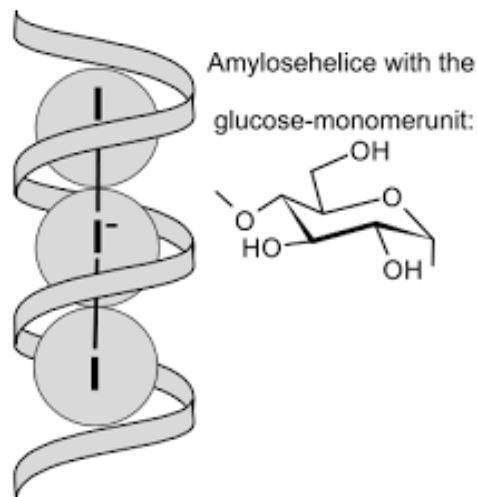


Figura 3. Polisacárido con lugol.

Procedimiento:

- 1- Rotule 3 tubos de ensayo: - (control negativo) , + (control positivo) y M (muestra).
- 2- El extracto acuoso de papa será preparado de antemano por los docentes. Tome el volumen del recipiente indicado.
- 3- Complete los tres tubos de acuerdo con las indicaciones:

Tubo	Contenido	Lugol
-	2 ml H ₂ O dest.	5 gotas
+	2 ml almidón 1%	5 gotas
M	2 ml extracto acuoso	5 gotas

- 4- Agite cada tubo. Observe y anote los resultados obtenidos. Anote las conclusiones.

c) Reconocimiento de proteínas:

Se investigará la presencia de proteínas en leche entera, que posee principalmente caseína, lactoalbúmina y lactoglobulina. El reactivo de reconocimiento que se empleará es el ácido nítrico (HNO₃) concentrado.

Este produce dos efectos :

- a) el aumento brusco de la acidez del medio provocado por el ácido conduce a la desnaturalización de las proteínas (cambios irreversibles en las estructuras secundaria y terciaria de las mismas). En estas condiciones, las moléculas de proteínas se agregan y forman partículas visibles llamadas coágulos (**reacción de coagulación**);
- b) el ácido nítrico tiene la propiedad de reaccionar específicamente con los aminoácidos de estructura aromática presentes en las proteínas, dando coloración amarilla; esta reacción se denomina **reacción xantoproteica**.

Procedimiento:

1- Rotule 4 tubos de ensayo: - (control negativo), +1 (control positivo 1), +2 (control positivo 2) y M (muestra)

2- Complete los tubos de la siguiente manera:

Tubo	Contenido	HNO ₃ conc.
-	2 ml H ₂ O dest.	5 gotas
+1	2 ml ovoalbúmina	5 gotas
+2	2 ml tirosina 0,1%	5 gotas
M	2 ml leche	5 gotas

3- Agite hasta mezclar bien. La reacción xantoproteica puede requerir calentamiento; en este caso, lleve todos los tubos a baño maría en ebullición durante 5 min.

4- Observe y anote los resultados obtenidos. Extraiga las conclusiones de la experiencia.

Reflexione: ¿Por qué cree que este experimento tiene dos controles positivos? Lo discutiremos en el laboratorio.

d) Extracción de ácidos nucleicos:

El ADN puede aislarse de material biológico fresco mediante los siguientes pasos:

- El material biológico (banana) se licúa con agua destilada, que provoca un shock osmótico.
- El material licuado se mezcla con detergente, que desorganiza la bicapa de lípidos de las membranas y desnaturaliza las proteínas, con lo cual se liberan los componentes celulares.
- De los materiales liberados, el ADN se insolubiliza con una solución salina concentrada.
- El extracto salino se pone en contacto con un solvente menos polar que el agua, alcohol etílico 96°, preferentemente frío. El ADN no es soluble en alcohol, de modo que comienza a precipitar en la capa de contacto en forma de filamentos finos blanquecinos, que se pueden retirar de la solución enrollándolos en una varilla. El aspecto filamentoso es característico y se debe a la gran longitud de las macromoléculas aisladas.

Este método de extracción de ácidos nucleicos no permite obtener ADN puro, sino con una cierta proporción de ARN y proteínas.

Procedimiento:

- 1- En una licuadora se procesa 1 banana con 300 ml de agua destilada, durante 15-20 seg. Cada grupo obtendrá una alícuota de 30/40 ml.
- 2- En otro vaso de precipitados se coloca detergente junto con una pizca de sal y unas gotas de agua y se mezclan suavemente con varilla de vidrio evitando la formación de espuma.
- 3- A esta solución se le agrega el procesado de banana y se mezcla suavemente durante 5 a 10 min con la varilla.
- 4- La mezcla se filtra con papel en un tubo de ensayos hasta obtener unos 5 ml de filtrado (guardar el resto por si se necesita repetir la experiencia).
- 5- Sobre el filtrado, añadir lentamente sobre la pared del tubo unos 10 ml de alcohol etílico frío. El alcohol, de menor densidad, formará una capa sobre el filtrado.
- 6- Se introduce una varilla de vidrio con cuidado hasta justo debajo de la separación de las fases y se mueve suavemente en círculos. Poco a poco se irán enrollando filamentos blancuzcos que corresponden a moléculas de ADN insolubilizado.
- 7- Retirar la varilla con el ADN adherido.
- 8- Describa el material obtenido y finalice la confección del informe.

TRABAJO PRÁCTICO Nº 2

ENZIMAS: propiedades, efecto del pH y la temperatura

OBJETIVO

- Poner de manifiesto la presencia de enzimas en los sistemas biológicos y los efectos que causan la variación de pH y la temperatura sobre su actividad.
- Demostrar la especificidad de sustrato que presentan las enzimas.

INTRODUCCIÓN

ACTIVIDAD ENZIMÁTICA:

Las enzimas son moléculas de naturaleza proteica que catalizan, o aceleran, reacciones químicas. En estas reacciones, las enzimas actúan sobre unas moléculas denominadas sustratos, las cuales se convierten en moléculas diferentes denominadas productos. Casi todos los procesos en las células necesitan enzimas para que las reacciones ocurran a una tasa significativa (rápida). A las reacciones mediadas por enzimas se las denomina reacciones enzimáticas.

Como todos los catalizadores, las enzimas funcionan disminuyendo la energía de activación (ΔE_a) de una reacción, de forma que se acelera sustancialmente la velocidad de la misma. Las enzimas no alteran el balance energético de las reacciones en que intervienen, ni modifican por lo tanto el equilibrio de la reacción, pero consiguen acelerar el proceso hasta millones de veces. Una reacción que se produce bajo el control de una enzima, o de un catalizador en general, alcanza el equilibrio mucho más deprisa que la correspondiente reacción no catalizada.

Al igual que ocurre con otros catalizadores, las enzimas no son consumidas por las reacciones que catalizan, ni alteran su equilibrio químico. Sin embargo, las enzimas difieren de otros catalizadores por ser más específicas. Las enzimas catalizan alrededor de 4.000 reacciones bioquímicas distintas. No todos los catalizadores bioquímicos son proteínas, dado que algunas moléculas de ARN son capaces de catalizar reacciones (como la subunidad 16S de los ribosomas en la que reside la actividad peptidil transferasa).

La actividad de las enzimas puede ser afectada por otras moléculas. Los inhibidores enzimáticos son moléculas que disminuyen o impiden la actividad de las enzimas, mientras que los activadores son moléculas que incrementan dicha actividad. Asimismo, gran cantidad de enzimas requieren de cofactores para su actividad. Muchas drogas o fármacos son moléculas inhibidoras.

Algunas enzimas son usadas comercialmente, por ejemplo, en la síntesis de antibióticos y productos domésticos de limpieza. Además, son ampliamente utilizadas en diversos procesos industriales, como son la fabricación de alimentos, destinción de jeans o producción de biocombustibles.

Las enzimas suelen ser muy específicas tanto del tipo de reacción que catalizan como del sustrato involucrado en la reacción. La forma, la carga y las características

hidrofílicas/hidrofóbicas de las enzimas y los sustratos son los responsables de dicha especificidad.

La actividad enzimática es afectada por la temperatura, el pH, la concentración de la propia enzima y del sustrato, y otros factores químicos y físico-químicos, dado que estos factores alteran la conformación (estructura) de las enzimas o su capacidad de interactuar con su sustrato. Durante este trabajo práctico se evaluará el efecto de la variación del pH y la temperatura sobre la actividad enzimática.

DESARROLLO EXPERIMENTAL

a) Acción enzimática

Se reconocerá el efecto de la acción de la catalasa, enzima presente en numerosos tejidos animales y vegetales, que cataliza la reacción de descomposición del peróxido de hidrógeno (sustrato), descrita por la ecuación:



La actividad enzimática se evaluará por el desprendimiento de O_2 gaseoso.

En este ensayo se trabajará con un extracto enzimático (no purificado) obtenido a partir de papa.

El objetivo de esta experiencia es testear la hipótesis de que la actividad enzimática depende de la integridad de la estructura tridimensional plegada de la enzima. Es decir, como la enzima es proteica su desplegamiento o desnaturalización afecta a la actividad enzimática. Para probar esto en un tubo comprometeremos el plegamiento de la enzima bajando el pH con HCl. Además, en otro tubo, a modo de control positivo, probaremos que la enzima es funcional en el extracto sin manipular.

Procedimiento:

1- Rotule los tubos 1 y 2. Complételos según las indicaciones (ver pasos 2 y 3 antes de colocar el contenido de los tubos).

Tubo	Contenido	HCl conc.	H_2O_2
1	extracto enzimático	10 gotas	2 ml
2	extracto enzimático	---	2 ml

2- El extracto enzimático será papa rallada muy fina y se deberá colocar igual cantidad en los dos tubos (aproximadamente 1cm de altura).

3- Luego de agregar el HCl mover el tubo y esperar al menos 15 segundos antes de agregar al agua oxigenada.

4- El ensayo se realiza a temperatura ambiente. Anote los resultados obtenidos en el informe, indicando si el desprendimiento gaseoso fue abundante, regular, escaso o nulo.

b) Especificidad de sustrato

Las enzimas pueden tener diversos grados de especificidad de sustrato; por ejemplo, algunas reconocen exclusivamente una sola sustancia como sustrato; otras, en cambio, reconocen como sustratos varias sustancias con similitudes químicas. Se estudiará el caso de la polifenoloxidasas, que cataliza la oxidación de sustancias con estructura fenólica. Partiendo de un sustrato incoloro, la reacción da un producto primario de color naranja; posteriores reacciones (enzimáticas y no enzimáticas) producen un desarrollo secuencial de colores: rojo → marrón → negro.

Se ensayará la acción de la enzima sobre tres sustancias de estructuras químicas relacionadas:

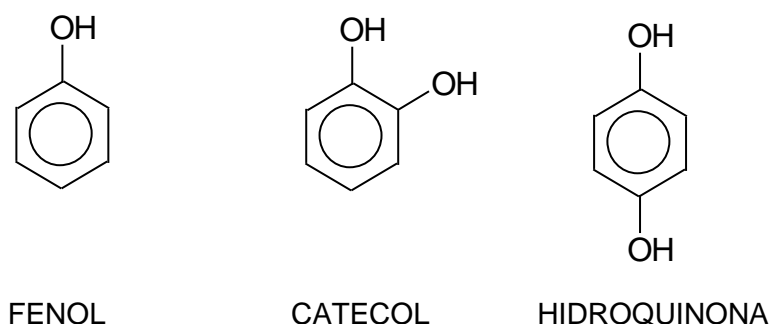


Figura 4. Estructura de fenoles utilizados en el TP.

La polifenoloxidasas es una proteína que contiene cobre como grupo prostético que puede catalizar la hidroxilación de monofenoles para producir o-difenoles y la remoción de hidrógenos de los o-difenoles para producir quinonas.

La enzima está presente en todas las plantas pero se encuentra en concentraciones particularmente altas en champiñón, papa, durazno, manzana, aguacate, hojas de té, café y tabaco. Es de gran importancia en la determinación de los atributos de calidad de frutas y hortalizas ya que a través de sus reacciones puede producir cambios de color, sabor y valor nutritivo en productos vegetales frescos, enlatados y congelados.

Se hará un extracto impurificado a partir de papa cruda similar al usado en el primer ensayo.

Procedimiento:

1- Coloque en un vaso de precipitados papa rallada, y triture con una varilla de vidrio. Agregue 10 ml de agua destilada. Mezcle y filtre por gasa o algodón. Use rápidamente porque la enzima comienza a actuar con el sustrato que posee el vegetal mismo.

2- El ensayo se efectúa a temperatura ambiente. Prepare 4 tubos según las indicaciones.

Tubo	Extracto enzimático	Agregar:
1	2 ml	2 ml agua destilada
2	2 ml	2 ml fenol 0,1%
3	2 ml	2 ml catecol 0,1%
4	2 ml	2 ml hidroquinona 0,1%

3- Agite cada tubo. Observe el color desarrollado a los 10 min, saque fotos y vuelva a observar al final del TP. Anote los resultados y extraiga la conclusión correspondiente acerca de la especificidad de la polifenoloxidasas.

4- Al momento de descartar el contenido de estos tubos, preguntar a los profesores dónde hacerlo, ya que no se pueden descartar en la bacha como los demás.

c) Influencia del pH sobre la actividad enzimática (escritura de informe)

Se comprobará cómo influye el grado de acidez (pH) del medio de la reacción sobre la actividad de la enzima amilasa. La amilasa cataliza la hidrólisis de almidones a polisacáridos de menor tamaño (dextrinas), liberando unidades del disacárido maltosa (formado por glucosa-glucosa). La actividad enzimática se evaluará midiendo la degradación del sustrato. Esto se comprobará mediante el reactivo de Lugol (solución de iodo en yoduro de potasio), que arroja los siguientes resultados:

- en presencia de almidón produce color azul o azul violáceo (ver TP N° 1 b);
- con dextrinas, color pardo-rojizo, dependiendo del tamaño del polisacárido;
- con dextrinas muy pequeñas o con maltosa libre no reacciona, manteniéndose el color pardo-amarillento del reactivo.

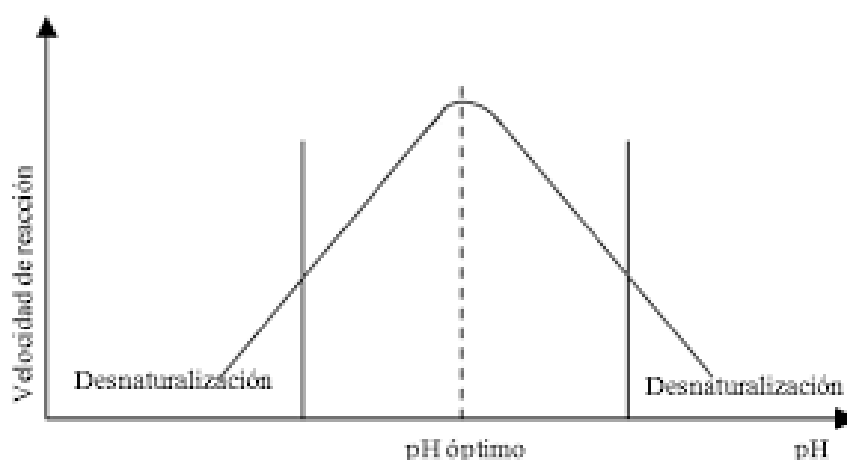


Figura 5. Efecto del PH sobre la actividad enzimática.

Procedimiento:

1- La experiencia debe realizarse a temperatura ambiente.

2- Rotule y prepare los tubos 1 a 6 según las indicaciones. Agregue la amilasa en último término. El tubo N°1 es un control de almidón inicial y no debe llevar amilasa.

Tubo	Agua dest.	Almidón 0,5%	Buffer		Amilasa 0,1%
			pH	volumen	
1	1 ml	3 ml	5	2 ml	NO
2	---	3 ml	1	2 ml	1 ml
3	---	3 ml	5	2 ml	1 ml
4	---	3 ml	7	2 ml	1 ml
5	---	3 ml	8	2 ml	1 ml
6	---	3 ml	9	2 ml	1 ml

3- Incube a temperatura ambiente durante 5 minutos exactamente. Interrumpa la reacción por dilución agregando a cada tubo 10 ml de agua destilada.

4- Agregue a cada tubo 2 gotas de Lugol. Mezcle bien por inversión. Observe y anote los resultados obtenidos. A partir de estos resultados indique cuál podría ser el pH óptimo para la actividad de esta enzima.

d) Influencia de la temperatura sobre la actividad enzimática (escritura de informe)

Se utilizará el mismo sistema del ensayo del T.P. anterior: almidón (sustrato)-amilasa (enzima), para observar cómo actúa una enzima a distintas temperaturas del medio de reacción, para lo cual se incubarán los tubos:

- a 0°C (en un baño de hielo),
- a temperatura ambiente (se deja la gradilla sobre la mesada del laboratorio),
- a 35-37°C (en un baño termostático) y
- a 100°C (en un baño maría en ebullición).

La evaluación de la actividad enzimática se hará del mismo modo que en el ensayo anterior, con Lugol para revelar la cantidad de almidón remanente.

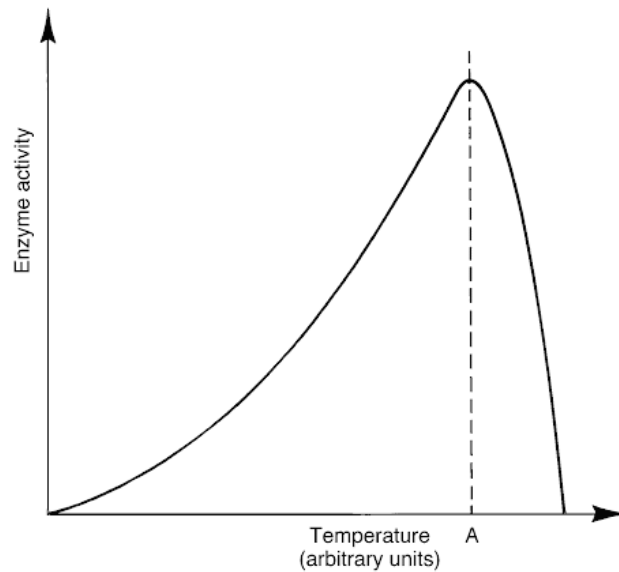


Figura 6. Efecto de la temperatura sobre la actividad enzimática.

Procedimiento:

1- Prepare 5 tubos rotulados del 1 al 5 de acuerdo con las siguientes indicaciones:

Tubo	Agua dest.	Almidón 0,5%	Buffer	Preincubación 5 min a:
1	1 ml	3 ml	2 ml	37°C
2	---	3 ml	2 ml	0°C
3	---	3 ml	2 ml	25°C (T° amb)
4	---	3 ml	2 ml	37°C
5	---	3 ml	2 ml	100°C

La preincubación es fundamental para que los tubos alcancen la temperatura de reacción correspondiente antes del agregado de la enzima. En lo posible, la solución de amilasa también debe estar a la temperatura de cada ensayo.

Excepto al tubo N°1 (control de almidón inicial), agregue a cada tubo 1 ml de solución de amilasa sin sacarlos del baño de temperatura en el cual están.

2- Incube durante 5 min exactamente después del agregado de la amilasa.

3- Sin sacarlos del baño de temperatura agregue a cada tubo 10 ml de agua destilada para detener la reacción enzimática por dilución.

4- Lleve los tubos a la gradilla, agregue 5 gotas de Lugol a cada uno, mezcle y observe el color resultante. A partir de estos resultados, indique cuál es la temperatura óptima para la actividad de esta enzima.

TRABAJO PRÁCTICO Nº 3

FOTOSÍNTESIS

Parte I: DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA FOTOSINTÉTICA EN PLANTAS ELODEA

OBJETIVOS

Demostrar que en el proceso respiratorio de las plantas se desprende anhídrido carbónico y que en el proceso fotosintético consumen el anhídrido carbónico del medio, que ingresa al ciclo de Calvin en los cloroplastos.

INTRODUCCIÓN

La fotosíntesis es la conversión de energía luminosa en energía química estable, siendo el adenosín trifosfato (ATP) la primera molécula en la que queda almacenada esa energía química. Con posterioridad, el ATP se usa para sintetizar moléculas orgánicas de mayor estabilidad. Se debe tener en cuenta que la vida en nuestro planeta se mantiene fundamentalmente debido a la fotosíntesis que realizan las algas, en el medio acuático, y las plantas, en el medio terrestre, que tienen la capacidad de sintetizar materia orgánica (imprescindible para la constitución de los seres vivos) partiendo de la luz y la materia inorgánica. De hecho, cada año los organismos fotosintetizadores fijan en forma de materia orgánica en torno a 100.000 millones de toneladas de carbono.

Las organelas citoplasmáticas encargadas de la realización de la fotosíntesis son los **cloroplastos**, unas estructuras polimorfas y de color verde (esta coloración es debida a la presencia de un pigmento denominado clorofila) propias de las células vegetales. En el interior de estas organelas se halla una cámara que contiene un medio interno llamado estroma, que alberga diversos componentes, entre los que cabe destacar enzimas encargadas de la transformación del dióxido de carbono en materia orgánica, y unos sacos aplastados denominados tilacoides o lamelas, cuya membrana contiene pigmentos fotosintéticos. En términos medios, una célula foliar contiene entre 50-70 cloroplastos en su interior.

Los organismos que tienen la capacidad de llevar a cabo la fotosíntesis son llamados fotoautótrofos (otra nomenclatura posible es la de autótrofos, pero se debe tener en cuenta que bajo esta denominación también se engloban aquellas bacterias que realizan la quimiosíntesis) y fijan el CO₂ atmosférico. En la actualidad se diferencian dos tipos de procesos fotosintéticos, que son la fotosíntesis oxigénica y la fotosíntesis anoxigénica. La primera de las modalidades es la propia de las plantas superiores, las algas y las cianobacterias, donde el dador inicial de electrones es el agua y, como consecuencia, se desprende oxígeno. Mientras que la segunda, también conocida con el nombre de fotosíntesis bacteriana, la realizan las bacterias purpúreas y verdes del azufre, en las que el dador de electrones es el sulfuro de hidrógeno, y consecuentemente, el elemento químico liberado no será oxígeno sino azufre, que puede ser acumulado en el interior de la bacteria, o en su defecto, expulsado al agua.

DESARROLLO EXPERIMENTAL

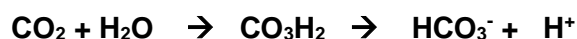
Durante este TP se estudiarán los procesos de fotosíntesis y respiración aeróbica en una planta acuática, Elodea. Estos procesos pueden evaluarse -entre otras- de dos maneras:

- por la producción de dióxido de carbono (CO₂) debida a la respiración aeróbica y,
- por el consumo de dióxido de carbono debido a la fotosíntesis.



Figura 7. Dibujo de planta elodea utilizada en el TP.

En medios acuosos, el dióxido de carbono se combina con el agua en forma proporcional a su concentración, de la siguiente manera:



En este TP, el CO₂ producido se evaluará por el aumento de la acidez debida a los iones H⁺, también llamados protones. La disminución de H⁺ y, en consecuencia, la disminución de la acidez (aumento de alcalinidad) indicará consumo de CO₂.

El aumento de H⁺ y, en consecuencia, el aumento de la acidez indicará producción de CO₂.

Se utilizará un indicador de pH denominado azul de bromotimol, que presenta:

- color azul en medio alcalino

- color verde en medio neutro
- color amarillo en medio ácido

Procedimiento:

- 1- Verter en un vaso de precipitados aproximadamente 40 ml de agua destilada.
- 2- Agregar una buena cantidad de azul de bromotimol y luego una gota de NaOH (compuesto alcalino). Se verá como el color de la solución pasa a azul.
- 3- Insuflar aire con un sorbete en la solución hasta que la misma quede de color verde. En caso de pasar a color amarillo, volver a agregar NaOH y repetir.
- 4- Prepare 4 tubos rotulados del 1 al 4 según las indicaciones.

Tubo	Solución con azul de bromotimol	Brote de Elodea	Vaselina	Incubación
1	10 ml	---	1 ml	expuesto a luz intensa
2	10 ml	1	1 ml	expuesto a luz intensa
3	10 ml	---	1 ml	en oscuridad
4	10 ml	1	1 ml	en oscuridad

- 5- Observar y anotar los resultados después de 3 hs de incubación. A partir de ellos extraer las conclusiones.

Parte II: DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA FOTOSINTÉTICA EN CLOROPLASTOS SOMETIDOS A ESTRÉS

OBJETIVOS

Ensayar la acción de distintos tratamientos estresantes sobre la capacidad fotosintética de cloroplastos.

INTRODUCCIÓN

Los cultivos pueden sufrir una gran cantidad de estreses ambientales tales como salinidad, sequía, y temperaturas extremas. Estos afectan diversos procesos fisiológicos, bioquímicos y moleculares, de los cuales el más importante es la

fotosíntesis. Como ya fue mencionado, la fotosíntesis es el conjunto de procesos que involucran la captación y transferencia de la energía lumínica y su almacenamiento en forma de energía química. En la fotosíntesis la energía de los fotones es utilizada para impulsar el transporte de electrones a través de una serie de compuestos que actúan como dadores y aceptores de electrones. La mayoría de estos electrones finalmente reduce el NADP^+ a NADPH y oxida H_2O a O_2 . La energía de la luz también es empleada para generar una fuerza protón motriz a través de la membrana tilacoidal de los cloroplastos, que es usada para sintetizar ATP. El NADPH y el ATP producidos son consumidos en la etapa fotoindependiente de la fotosíntesis, para sintetizar hidratos de carbono a partir de CO_2 . Los distintos estreses ambientales pueden impactar en cualquiera de estos pasos, dando como resultado una reducción en la capacidad fotosintética de la planta. En el presente trabajo práctico, estimaremos modificaciones en la eficiencia fotosintética de cloroplastos frente al estrés térmico y salino. Para esto se utilizará la actividad de la cadena transportadora de electrones del tilacoide como un estimador de la eficiencia fotosintética. El primer paso de la cadena transportadora de electrones es la fotólisis del agua, también conocida como Reacción de Hill. Esta reacción fue observada por primera vez en 1937 por Robert Hill, que demostró que cloroplastos aislados pueden producir O_2 en ausencia de CO_2 . Esto estableció que la fuente de electrones usada en las reacciones de la luz es el agua. En los cloroplastos el aceptor final de electrones es el NADP^+ , que es reducido a NADPH, pero la reacción de Hill puede ser estudiada en el laboratorio usando un aceptor de electrones artificial. En el presente trabajo práctico utilizaremos el 2,6-diclorofenol indofenol (DCPIP), un aceptor de electrones, que actúa a nivel del fotosistema II. El DCPIP es de color azul en su forma oxidada, pero al reducirse se torna incoloro, lo que permite monitorear el progreso de la reacción de Hill en cloroplastos aislados.

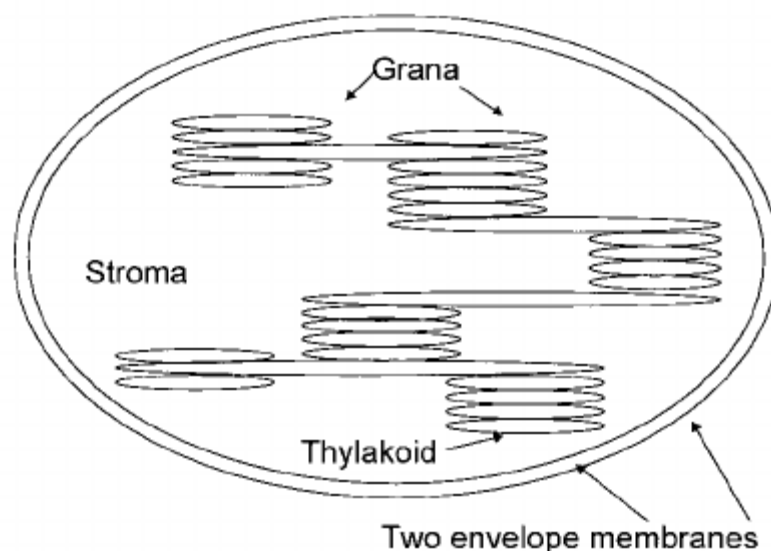


Figura 8. Dibujo de estructura de cloroplasto.

DESARROLLO EXPERIMENTAL

a) Obtención de la suspensión de cloroplastos

Coloque 5 hojas frescas de espinaca y 20 ml de BH10 en un homogeneizador de tejidos y mezcle hasta obtener una solución homogénea. Filtre la solución por un embudo con servilleta de papel hasta llenar un tubo de ensayo por la mitad y mezclar. Completar el volumen del tubo con BH10 y conservar en oscuridad. El filtrado obtenido es una solución concentrada conteniendo cloroplastos funcionales.

b) Reacción de Hill en condiciones no estresantes

Rotular 4 tubos de ensayo y agregarles BH10, DCPIP y suspensión de cloroplastos según indica la siguiente tabla:

Tubo	BH10	DCPIP	H₂O	Susp. de cloroplastos	Tratamiento
1	3 ml	1 ml	1 ml	-----	LUZ
2	3 ml	1 ml	-----	1 ml	
3	3 ml	1 ml	1 ml	-----	OSCURIDAD
4	3 ml	1 ml	-----	1 ml	

Una vez agregados los cloroplastos mezclar de inmediato agitando suavemente el tubo, y colocar una serie en la oscuridad y la otra bajo luz blanca como se indica en el cuadro. Luego de 5-7 minutos, observar e interpretar los cambios.

c) Efecto del estrés térmico sobre la reacción de Hill

Preparar 4 tubos conteniendo según indica la siguiente tabla (**agregar todo menos la suspensión de cloroplastos** y leer párrafo bajo la tabla):

Tubo	BH10	DCPIP	dH₂O	Suspensión de cloroplastos	Tratamiento
1	3 ml	1 ml	1 ml	-----	Control
2	3 ml	1 ml	-----	1 ml	
3	3 ml	1 ml	1 ml	-----	Calor (70°C)
4	3 ml	1 ml	-----	1 ml	

Preincubar los tubos 3 y 4 durante 5 minutos a 70°C y luego agregar a los tubos 2 y 4 la suspensión de cloroplastos. Mezclar de inmediato agitando suavemente el tubo, y dejar una serie a temperatura ambiente, otra en baño térmico 70°C, todos bajo luz blanca. Luego de 5-7 minutos, observar e interpretar los cambios.

<p style="text-align: center;">TRABAJO PRÁCTICO Nº 4</p> <p style="text-align: center;">MANIPULACIÓN DE UN MODELO BIOLÓGICO ANIMAL</p> <p style="text-align: center;">(<i>Drosophila melanogaster</i>)</p>

OBJETIVOS

- Conocer el trabajo dentro del “Flyroom” de UADELabs.
- Entrar en contacto con el modelo de *Drosophila melanogaster* como animal de experimentación. Reconocer las características principales de los individuos (sexo, estadio, fenotipos más comunes).
- Visualizar individuos transgénicos en el estadio de larva portadores en su genoma del gen de la proteína verde fluorescente (GFP).

INTRODUCCIÓN

Uno de los modelos biológicos más utilizados para el estudio de la genética en humanos y otros organismos en general es la mosca *Drosophila melanogaster*. Este insecto, de no más de tres milímetros de largo se convirtió, a principios del 1900, en un excelente aliado de los científicos interesados en la transmisión de la información genética.

Si bien muchas personas la llaman erróneamente “la mosca de la fruta” su verdadero apodo es “la mosca del vinagre” debido a que la misma se la encuentra siempre que un proceso de fermentación se esté llevando a cabo (industrial o naturalmente).

Una característica importante es que cerca del 75% de los genes humanos vinculados con enfermedades tienen su homólogo en el genoma de esta mosca (un gen homólogo significa que tiene la misma función).

El genoma de *Drosophila melanogaster* fue secuenciado en el año 2000 por el consorcio público y Celera Genomics. Este importante logro terminó de convertir al modelo biológico en una de las herramientas más importantes de todo biólogo molecular y profesional relacionado con el estudio del desarrollo y la genética animal.

El genoma de esta mosca está compuesto por 4 pares de cromosomas: 3 autosomas (cromosomas no sexuales) y un par X/Y. Los autosomas se denominan par 2, par 3 y par 4; éste último par es pequeño y muchas veces no se tiene en cuenta. La determinación del sexo en *Drosophila* se produce por la relación de cromosomas X a autosomas, y no debido a la presencia de un cromosoma Y como ocurre en la determinación del sexo en humanos. El genoma de esta especie tiene unos 140 millones de pares de bases y alrededor de 15 mil genes.

El ciclo de vida de la mosca *Drosophila melanogaster* posee dos estadios bien diferenciados (esto ocurre en los insectos que poseen desarrollo holometábolo). El adulto posee la forma de mosca, tal cual la conocemos, y las larvas son los mal llamados “gusanitos” que muchas veces visualizamos en alimentos u organismos en descomposición. El adulto, luego de la fecundación, deposita los huevos que darán las larvas. Estas últimas comerán para aumentar de tamaño hasta la generación de la pupa (en las mariposas conocidas como crisálidas). Luego de la metamorfosis saldrán nuevos adultos listos para copular y comenzar el ciclo nuevamente. Una vez depositado el

huevo, el ciclo de vida tarda aproximadamente 10 días hasta formar la mosca adulta, que vive alrededor de 35 días en un ambiente a 29°C.

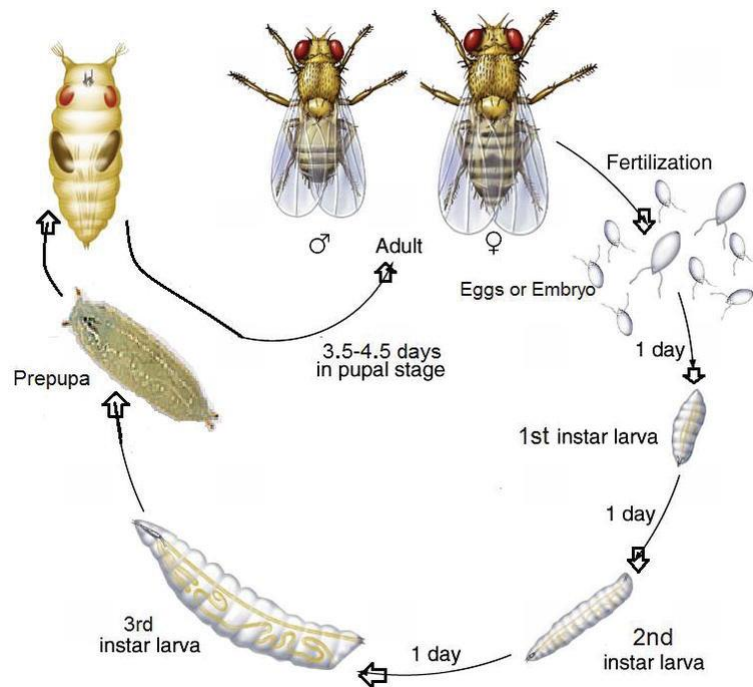


Figura 9. Ciclo de vida de *Drosophila melanogaster*

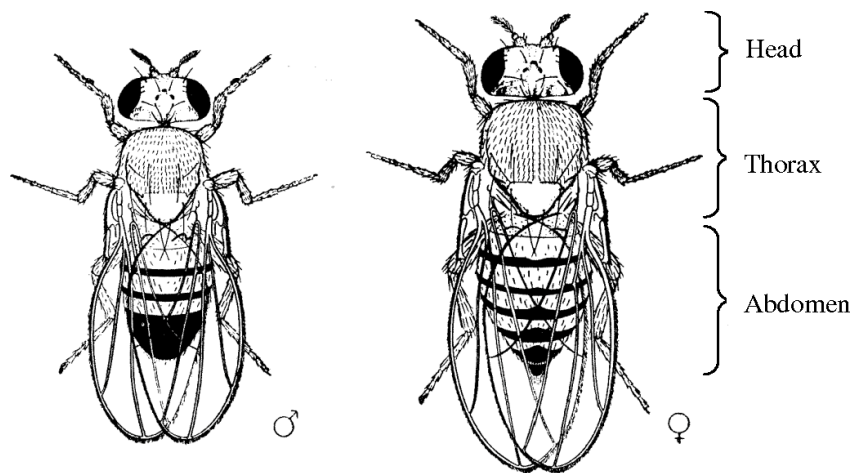


Figura 10. Dimorfismo sexual de *Drosophila melanogaster*.

MATERIALES

- Stocks de moscas UADE
- Incubadora de moscas (a 25°C)
- Viales de *Drosophila melanogaster* vivas en distintos estadios de desarrollo
- Viales con alimento fresco
- Tapones de algodón para viales
- Pinceles
- Lupas esteroscópicas
- Estaciones de trabajo con sistema de CO₂
- Marcadores indelebles

DESARROLLO DEL EXPERIMENTO

- 1- Los docentes y/o técnicos del laboratorio se encargarán de proveer a los alumnos los viales con moscas (adultos, pupas y larvas).
- 2- Dormir/anestesiarse a los adultos del vial utilizando CO₂ de las estaciones de trabajo.
- 3- Identificar machos y hembras mediante observación bajo lupa.
- 4- Visualizar otros fenotipos característicos como: color de ojos, marcas en alas, alas curvas, quetas en dorso, color de cuerpo, etc.
- 5- Visualizar y separar hembras vírgenes para realizar cruzamientos (ya le indicaremos cuál es su fenotipo).
- 6- Diseñar junto con el docente el cruzamiento a realizar. Tener en cuenta todos los fenotipos visibles de la hembra y el macho de la pareja formada.
- 7- Colocar el macho y la hembra seleccionados dentro de un vial con alimento fresco. Tomar la precaución de no inclinar el vial verticalmente hasta que las moscas despierten de su anestesia. Si no se respeta este punto los individuos podrían quedar pegados en la humedad del alimento.

Si bien el resultado de los cruzamientos no podrá ser visualizado hasta pasados los 10 a 12 días del TP, les ofrecemos coordinar una fecha para que puedan observar los resultados del cruzamiento.

ANEXO

A continuación, encontrará las **fichas de resultados** para presentar una vez terminado cada trabajo práctico. Recuerde que cada ficha se debe entregar por el grupo de estudiantes que ha trabajado en mesada. Todos los estudiantes deben participar en la elaboración de las fichas de resultados.

Por último, encontrará las indicaciones para elaborar el **Informe de laboratorio** de lo trabajado en el TP N 2 con la enzima amilasa. Recuerde que es condición **obligatoria** tener aprobado este informe para regularizar la materia.

FICHA DE RESULTADOS

TRABAJO PRÁCTICO Nº 1
COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS ORGANISMOS

INTEGRANTES:

DÍA y TURNO:

PARTE I:

Reconocimiento de agua

Estado inicial	Estado final	Conclusiones

Reconocimiento de catión hierro III

Tubo	Resultado obtenido (solo observación)
-	
+	
Muestra	

Conclusiones:

Reconocimiento de catión calcio

Tubo	Resultado obtenido (solo observación)
-	
+	
Muestra	

Conclusiones:

PARTE II:

Reconocimiento de azúcares reductores

Tubo	Resultado obtenido (solo observación)
-	
+	
M	

Conclusiones:

Reconocimiento de polisacáridos

Tubo	Resultado obtenido (solo observación)
-	
+	
M	

Conclusiones:

Reconocimiento de proteínas

Tubo	Resultado obtenido (solo observación)
-	
+1	
+2	
M	

Conclusiones:

Reconocimiento de ácidos nucleicos

Aspecto del material aislado y conclusiones generales:

FICHA DE RESULTADOS

TRABAJO PRÁCTICO Nº 2

ENZIMAS: PROPIEDADES, EFECTO DEL PH Y LA TEMPERATURA

INTEGRANTES:

DÍA y TURNO:

Acción enzimática

Tubo	Resultado obtenido (solo observación)
1	
2	

Conclusión:

Especificidad de sustrato

Tubo	Resultado obtenido (solo observación)
1	
2	
3	
4	

Conclusión: El sustrato más específico de la polifenoloxidasa es, y el segundo más específico es

Explicar:

Los ensayos realizados con la enzima amilasa llevan un informe escrito que debe estar aprobado al momento de finalizar la materia para poder rendir el examen final. Ver anexo al final del archivo para la confección del mismo.

FICHA DE RESULTADOS

TRABAJO PRÁCTICO Nº 3
FOTOSÍNTESIS

INTEGRANTES:

DÍA y TURNO:

PARTE I:

Tubo	Resultado obtenido (solo observación)
1	
2	
3	
4	

Conclusiones:

PARTE II:

Reacción de Hill en condiciones no estresantes

Tubo	Resultado obtenido (solo observación)
1	
2	
3	
4	

Conclusiones:

Efecto del estrés térmico sobre la reacción de Hill

Tubo	Resultado obtenido (solo observación)
1	
2	
3	
4	

Conclusiones:

Efecto del estrés osmótico sobre la reacción de Hill

Tubo	Resultado obtenido (solo observación)
1	
2	
3	
4	

Conclusiones:

PAUTAS PARA ELABORAR INFORME DE LABORATORIO

El informe de laboratorio es un documento mediante el cual los lectores deben tener un recuento claro y completo de las actividades realizadas y las conclusiones obtenidas. El documento debe estar escrito de manera tal que cualquiera sea el lector, realizando el mismo procedimiento pueda llegar a las mismas conclusiones.

El informe no debe ser considerado como un documento que se presenta con el solo fin para que el docente juzgue el trabajo realizado, sino que debe ser pensado como un texto que sea capaz de mostrar que hemos ganado la habilidad de comunicar por escrito nuestras ideas y resultados.

Redactamos el informe cuando terminamos de ordenar nuestros datos, gráficos, anotaciones y, sobre todo, nuestras ideas. El objetivo final del informe es terminar de comprender los temas que abarca, practicar la redacción y la comunicación científica. Es importante expresarse de manera clara utilizando el vocabulario científico de manera correcta.

El informe de laboratorio sigue una estructura similar a la de un artículo científico.

ESTRUCTURA SUGERIDA:

- *Título
- *Autores y filiación
- *Resumen
- *Introducción
- *Desarrollo experimental o Materiales y Métodos
- *Resultados y discusión (esto puede dividirse en secciones, si fuese necesario)
- *Conclusiones
- *Referencias o Bibliografía

Ejemplo

Título del trabajo

Julia Uno, Juan Dos y Andrés Tres

uno@udesa.edu.ar, dos@arnet.com, tres@hotmail.com

Turno Viernes 8-12 - Curso de Economía 1- Universidad de San Pepe

RESUMEN

Debe dar una visión completa del trabajo realizado, en forma breve debe describir cuál es el objetivo del trabajo, qué se hizo y cuál fue el resultado. No más de 150 palabras. Debe estar escrito en infinitivo o 3ra persona.

INTRODUCCIÓN

En esta sección se deben plantear los conocimientos teóricos necesarios para que el lector comprenda el trabajo realizado. En esta parte, también se exponen las

motivaciones del trabajo. Mencione al final de esta sección la hipótesis de trabajo (recuerde que la misma debe estar escrita como una afirmación). También, los objetivos perseguidos en cada práctica.

¿Cómo debe ser escrita esta sección? Puede estar escrito en tiempo presente o pasado. Al final de la introducción indicar el objetivo de la práctica. Esto permite vincular la introducción con la siguiente sección. No deben incluirse resultados ni conclusiones.

DESARROLLO EXPERIMENTAL

En esta sección se deben dar detalles del ensayo realizado y estará basada en el protocolo de la guía de TPs de la materia. Asimismo, se recomienda presentar esquemas o fotos del procedimiento. No se deben incluir resultados.

Las figuras o imágenes que acompañen esta sección deben estar numeradas de la siguiente manera:

Figura 1. Esquema del dispositivo experimental.

Figuras y tablas: cada figura o tabla debe estar numerada y debe contener una leyenda al pie si es una figura o arriba si es una tabla, que permita entenderla. La descripción detallada de la figura debe estar incluida también en el texto, en el cual debe ser citada por su número. Los gráficos son figuras y por lo tanto se numeran en forma correlativa con las mismas.

Este apartado puede escribirse en tiempo pasado, siempre en 3ra persona (se puede usar voz pasiva).

RESULTADOS

En esta sección los resultados obtenidos/mediciones/etc deben presentarse de la manera más apropiada, preferentemente en forma de gráficos (sin embargo, también pueden emplearse tablas de datos dependiendo del tipo de experimento que se realice). Si se presentan tablas de los datos recordar escribir sus correspondientes incertezas. En los gráficos, identificar claramente los nombres de cada eje y las unidades de cada uno (en este caso los resultados son cualitativos por lo que solo pueden realizarse tablas y no gráficos).

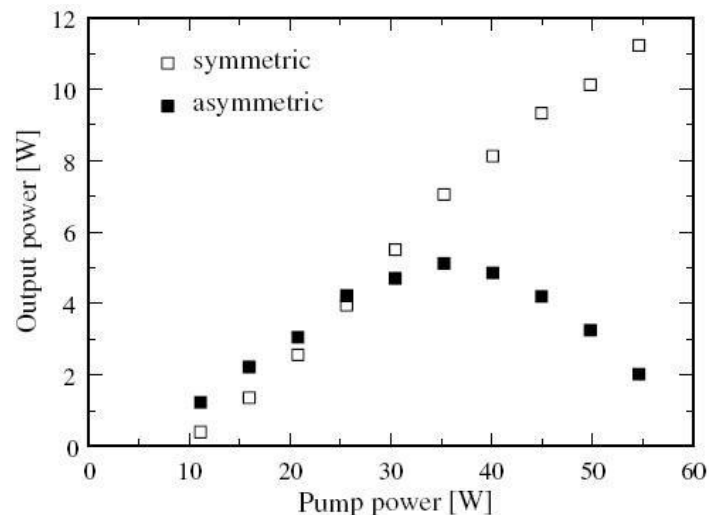


Fig. 2. Output powers for the symmetric and asymmetric cavities.

Si y sólo si esta sección es “Resultados y discusión” puede desarrollarse un análisis de estos resultados. Debe escribirse en infinitivo, en tiempo presente.

CONCLUSIONES

Esta sección es la más corta y contiene la discusión de cómo, a partir de los resultados, se demuestra aquello que se planteó como objetivo del trabajo. Básicamente, en esta sección debería corroborar o rechazar la hipótesis. Recuerde que todas sus conclusiones deben estar basadas en los datos experimentales, en caso contrario no deben ser consideradas como producto de su actividad experimental.

REFERENCIAS

En esta sección se especifica la bibliografía citada durante el desarrollo del trabajo (en este caso se puede citar la presente guía de TPs y cualquier otro material utilizado). Las referencias bibliográficas deben contener el apellido y nombre de los autores de las publicaciones (artículos en revistas o libros) citados en el texto, el título de los trabajos; el nombre de la revista o editorial que los publicó; además se debe incluir los datos que ayuden a la identificación de los mismos: volumen donde están incluidos, capítulo, página, fecha de publicación, etc. Ver los ejemplos que figuran abajo.

[1] Guía de Trabajos Prácticos de IBMC, UADE, 2024

[2] Alberts, Johnson, Molecular Biology of the Cell 6ed, 2016, cap. 2 y 3

Atención: No se aceptarán informes que contengan textos copiados (aun si están citados en esta sección) pues esto es considerado plagio.

APÉNDICES

En los distintos apéndices se debe colocar la información complementaria que ayude a clarificar el contenido de las partes anteriores (por ej. los cálculos realizados para

obtener los resultados o estimar las incertezas) pero que en el cuerpo principal del informe distraerían la atención del lector. En el texto principal deberemos orientar al lector para que consulte estos apéndices.