



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Zaragoza



Carrera de Biología



Manual de prácticas del
Laboratorio de Investigación Formativa III

(LIF III)



Universidad Nacional Autónoma de México



Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Carrera de Biología

Manual de prácticas del
Laboratorio de Investigación Formativa III
(LIF III)

Autores:

M. en C. Carlos Bautista Reyes
M. en C. Carlos Castillejos Cruz
Biol. Jorge Alberto Gutiérrez Gallegos
M en C José Misael Vicente Hernández Vázquez
Biól. Carlos Martínez Montoya
M. en C. Sonia Rojas Chávez
Biól. Reynalda Roldán Pérez
M en C. Luis Sánchez Sánchez
Dr. Eloy Solano Camacho
M.C. Raúl Zavala Chavero

Compiladores:

M. en C. Carlos Bautista Reyes
M en C. Luis Sánchez Sánchez
Dr. Eloy Solano Camacho
M. C. Raúl Zavala Chavero

Índice

| | Página |
|--|--------|
| Prólogo | iv |
| Criterios de evaluación del LIF III | v |
| Unidad 1 Biología Molecular de la Célula I | |
| Introducción | 2 |
| Criterios de evaluación de la unidad | 3 |
| Práctica no. 1 | |
| Diferencias estructurales entre la célula vegetal y animal | 5 |
| Práctica no. 2 | |
| Mitosis en células vegetales | 10 |
| Práctica no. 3 | |
| Observación de meiosis en machos de <i>Stenomacra marginella</i> | 15 |
| Práctica no. 4 | |
| Cuantificación de glucosa en plasma humano | 20 |
| Práctica no. 5 | |
| Cuantificación de proteínas por el método de Bradford | 24 |
| Práctica no. 6 | |
| Extracción y cuantificación de colesterol en plasma humano | 28 |
| Unidad 2 Embriología Animal | |
| Introducción | 32 |
| Criterios de evaluación de la unidad | 34 |
| Práctica no. 7 | |
| Gametogénesis | 36 |
| Práctica no. 8 | |
| Viabilidad de gametos | 54 |
| Práctica no. 9 | |
| Embriogénesis | 64 |
| Práctica no. 10 | |
| Teratogénesis | 72 |
| Unidad 3 Plantas sin Semilla | |
| Introducción | 81 |
| Criterios de evaluación de la unidad | 83 |
| Práctica 11 | |
| Técnicas de herborización y determinación taxonómica de briofitas, helechos y plantas afines | 84 |
| Práctica 12 | |
| Morfología y anatomía de briofitas | 87 |
| Práctica 13 | |
| Morfología y anatomía de helechos y plantas afines | 90 |
| Práctica 14 | |
| Organografía de raíz, tallo y hoja | 93 |
| Unidad 4 Proyecto de investigación | 125 |

Prólogo

En el tercer semestre se cursan las asignaturas: Biología evolutiva, Físicoquímica I, Biometría, Plantas sin semilla, Embriología animal, y Biología molecular de la célula I. Estas tres últimas participan en los contenidos del laboratorio de investigación formativa III

En el Plan de estudios 2006, el laboratorio abandona su papel tradicional en el que funcionaba como un acompañante o subordinado de la teoría y obtiene la relevancia que merece, como el espacio didáctico en donde el alumno desarrolla y construye su propio proceso de aprendizaje a través de actividades que lo orientan, tanto en la búsqueda de información, como en el diseño de su trabajo experimental. De esta manera, el alumno además de adquirir algún conocimiento específico en determinado campo de la ciencia, puede también desarrollar en orden de complejidad creciente: destrezas manuales, habilidades intelectuales en el manejo y aplicación de los conocimientos y reforzar actitudes hacia el trabajo científico y su entorno social.

La filosofía de la FES Zaragoza establece la necesidad de iniciar al alumno en la enseñanza activa, en razón de que a través de ella se posibilita el desarrollo de las potencialidades del alumno. Así, la enseñanza activa no significa tener al alumno continuamente ocupado, sino que desarrolle sus procesos de conocimiento a partir de sus experiencias orientadas a la búsqueda de información. El mejor escenario para ello, son los LIF's. En estos, el docente reconoce los conocimientos previos del alumno, por lo tanto, el contenido que le presenta debe relacionarse con información que ya posee, de una manera lógica y jerárquica, en un ambiente motivacional de buena comunicación entre docentes y alumnos.

En este tercer semestre el tiempo de laboratorio se divide en 50% prácticas y 50% al proyecto de investigación-docencia.

Básicamente se pueden señalar como objetivos del laboratorio:

Entender la estructura y función celular; el origen evolutivo y el desarrollo embrionario de los animales y la morfología de las plantas sin semilla. Así como aplicar los conocimientos teórico-prácticos para plantear, desarrollar, analizar y exponer trabajos de investigación científica de forma oral y escrita.

La Institución otorga la infraestructura, el personal académico-administrativo y la planta docente para el logro de estos objetivos, te invitamos a que realices tu mejor esfuerzo en la parte que a ti te corresponde.

Criterios de evaluación del Laboratorio de Investigación Formativa III

Cada una de las cuatro unidades que constituyen el LIF III, tiene una duración similar, cuatro semanas. En todas y cada una de ellas se debe cubrir al menos el 80% de asistencia. En caso de no cumplir este requisito no se tendrá derecho a calificación.

El alumno deberá obtener una calificación aprobatoria (mínimo de seis) en cada una de las cuatro unidades de que consta el laboratorio, su calificación final se obtendrá mediante el promedio aritmético de las mismas.

Si, alguna o algunas de las unidades 1, 2 ó 3, no se aprueban, será necesario presentarlas en el examen final ordinario A, en caso de no aprobarlo presentará el ordinario B, si en esta oportunidad, aún quedan una o más unidades reprobadas no acreditará el laboratorio y por tanto será necesario recurrarlo (si le asiste ese derecho), o bien presentará el examen extraordinario.

Para el caso de la unidad 4, el proyecto tendrá las características que el asesor con el cual trabaje el alumno pues depende en mucho de las áreas que concurren en él, la disponibilidad de material y equipo, así como del tiempo que se otorgue para la presentación de éste y obtenga su aprobación del asesor para la realización de la parte experimental. Si al término del tiempo dedicado al proyecto no obtiene una calificación aprobatoria, las observaciones que el profesor haga, serán atendidas por el equipo y lo presentarán en la fecha asignada al ordinario A, de ser necesario atender aún algunas observaciones la última oportunidad será presentarlo en la fecha asignada al ordinario B. Si en esta ocasión no se aprueba no acredita el LIF III.

El examen extraordinario se diseña con dos componentes una parte teórica que si es aprobada se presenta entonces la parte práctica.

Unidad 1

Biología Molecular de la Célula I

INTRODUCCIÓN

El Laboratorio de Investigación Formativa III de la Carrera de Biología, tiene como finalidad y el desarrollo embrionario de los animales y de las plantas sin semilla.

El conjunto de prácticas de la unidad correspondiente a Biología Molecular de la Célula I, brinda apoyo experimental a los contenidos de la asignatura teórica mediante la adquisición de conocimientos y habilidades durante el trabajo en el laboratorio, contribuye al conocimiento básico necesario para la formación profesional del estudiante, teniendo como objetivo que el estudiante entienda la estructura y función celular, el origen evolutivo, los procesos de reproducción celular y las biomoléculas que participan en su metabolismo.

Todas las criaturas vivas están formadas por células, pequeños compartimentos rodeados de membrana y llenos de una solución acuosa concentrada de compuestos químicos. Las formas más simples de vida son células solitarias que se propagan dividiéndose en dos. Los organismos superiores, como nosotros mismos, son como ciudades celulares en las que grupos de células realizan funciones especializadas y están unidos por intrincados sistemas de comunicación. Las células ocupan un punto intermedio en la escala de la complejidad biológica. Las estudiamos para aprender, por un lado, cómo están formadas a partir de las moléculas y, por otro, cómo cooperan para constituir un organismo tan complejo como un ser humano.

Se cree que todos los organismos, y todas las células que los constituyen, descienden por evolución mediante selección natural de una célula ancestral común. La evolución implica dos procesos esenciales: 1° la aparición de una variación al azar en la información genética transmitida de un individuo a sus descendientes, y 2° la selección de la información genética que ayuda a su portador a sobrevivir y multiplicarse. La evolución es el principio central de la biología, ya que nos ayuda a comprender la asombrosa diversidad del mundo vivo.

CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LA UNIDAD

Cada una de las unidades tendrá una mecánica de evaluación independiente que al finalizar el curso se plasmará en calificaciones específicas por unidad, que deberán ser aprobatorias para poder exentar de primera y segunda vuelta dicho laboratorio.

REGLAS GENERALES

La asistencia al laboratorio es obligatoria y el alumno deberá de tener por lo menos un 80% de asistencias para poder tener derecho a la calificación correspondiente.

La puntualidad es importante y se dará una tolerancia máxima de 15 min. para poder llegar al laboratorio y tener derecho a la asistencia correspondiente

El alumno tiene estrictamente prohibido ingerir alimento y bebidas en el laboratorio.

El alumno tiene la obligación de usar bata durante su permanencia en el laboratorio; no podrá trabajar sin bata.

Durante una sesión de laboratorio el alumno solo podrá abandonarlo bajo consentimiento del profesor de laboratorio correspondiente

En el caso específico de esta unidad se dará una pequeña introducción previa a cada práctica donde se tocarán los contenidos más importantes de teoría y de fundamentación metodológica para inmediatamente iniciar la metodología correspondiente.

Para el trabajo en el laboratorio los alumnos formaran equipos.

Los cuestionarios y reportes de prácticas serán entregados manuscritos y en un cuaderno especial para la unidad, para ser revisados por el profesor.

Al inicio de cada práctica el alumno entregará de manera individual la metodología en un diagrama de flujo y el cuestionario resuelto que viene al final de cada práctica

Se entregara de manera individual un reporte por cada una de las prácticas; que tendrá los siguientes rubros:

- a). Título.
- b). Introducción.
- c). Objetivos.
- d). Metodología fundamentada.
- e). Material y equipo.
- f). Resultados.
- g): Análisis de resultados.
- h). Conclusiones.
- i). Bibliografía.

MECANISMO DE EVALUACIÓN

La evaluación de la unidad considera:

Promedio de calificaciones por práctica, que incluye los siguientes rubros: a). Asistencia y puntualidad, b). Comportamiento y desempeño del alumno en el laboratorio, c). Entrega de trabajos de laboratorio (cuestionarios, reportes de práctica etc.). Tendrá un valor de **40%** de la calificación de la unidad.

Promedio de calificaciones de exámenes uno por cada una de las prácticas de la unidad abarcando teoría y fundamentación metodológica; Tendrá un valor de **60%** de la calificación de la unidad.

Ambos promedios, deberán de ser aprobatorios para obtener la calificación de exención. En caso contrario el alumno presentará esta unidad en la primera vuelta mediante un examen global teórico de todas las prácticas la calificación mínima aprobatoria será de **6**; en caso de reprobación ésta, tendrá que presentar en segunda vuelta un examen global teórico práctico que será la calificación definitiva de la unidad.

PRÁCTICA No. 1

DIFERENCIAS ESTRUCTURALES ENTRE LA CÉLULA VEGETAL Y ANIMAL

INTRODUCCIÓN

En el mundo viviente se encuentran básicamente dos tipos de células: las procarióticas y las eucarióticas. Las células procarióticas (del griego *pro*, antes de; *karyon*, núcleo) carecen de un núcleo bien definido, son unicelulares y pertenecen al grupo de las Moneras, que incluyen las bacterias y cianobacterias (algas verde-azules). El ADN de las células procarióticas está confinado a una o más regiones nucleares, que se denominan nucleoides, que se encuentran rodeados por citoplasma, pero carecen de membrana. Un gran número de células procarióticas, están rodeadas por paredes celulares, que carecen de celulosa, lo que las hace diferentes de las paredes celulares de las plantas superiores. Las células procarióticas son las más primitivas de la tierra, hicieron su aparición en los océanos hace aproximadamente 3.5 millones de años; mientras que las células eucarióticas fósiles tienen menos de un millón de años.

Todas las células eucarióticas (del griego *eu*, verdadero y *karyon*, núcleo), contienen un núcleo rodeado por una doble membrana. Estas células presentan también varios organelos limitados por membranas que dividen el citoplasma celular en varios compartimientos, como son los cloroplastos, las mitocondrias, el retículo endoplasmático, el aparato de Golgi, vacuolas, etc.

Todos los organismos vivos están compuestos por células. El inglés, Robert Hooke en 1665, realizó cortes finos de una muestra de corcho y observó usando un microscopio rudimentario unos pequeños compartimientos, que no eran más que las paredes celulares de esas células muertas y las llamó células (del latín *cellula*, que significa habitación pequeña); ya que éste tejido le recordaba las celdas pequeñas que habitaban los monjes de aquella época. No fue sino hasta el siglo XIX, que dos científicos alemanes, el botánico Matthias Jakob Schleiden y el zoólogo Theodor Schwann, enunciaron en 1839 la primera teoría celular: "Todas las plantas y animales están compuestos por grupos de células y éstas son la unidad básica de todos los organismos vivos". Esta teoría fue completada en 1855, por Rudolph Virchow, quien estableció que las células nuevas se formaban a partir de células preexistentes (*omni cellula e cellula*).

La teoría celular actualmente se puede resumir de la siguiente forma:

Todos los organismos vivos están formados por células y productos celulares.

Sólo se forman células nuevas a partir de células preexistentes.

La información genética que se necesita durante la vida de las células y la que se requiere para la producción de nuevas células se transmite de una generación a la siguiente.

Las reacciones químicas de un organismo, esto es su metabolismo, tienen lugar en las células.

Las células, que constituyen la unidad de vida de las plantas y animales, presentan una organización básica similar. Pero poseen características propias. Veamos cuales son mediante las figuras 1 y 2.

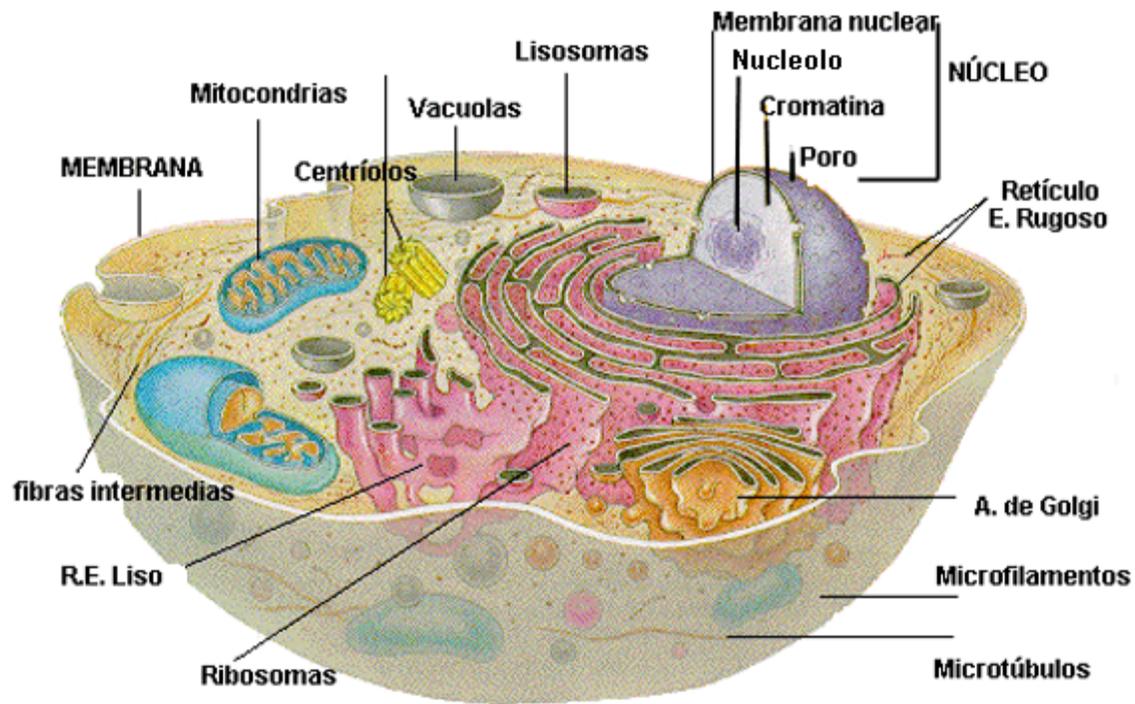


Fig. 1. Estructura general de la célula animal.

http://www.botanica.cnba.uba.ar/Trabprac/Tp1/animal_vegetal.html (modificada)

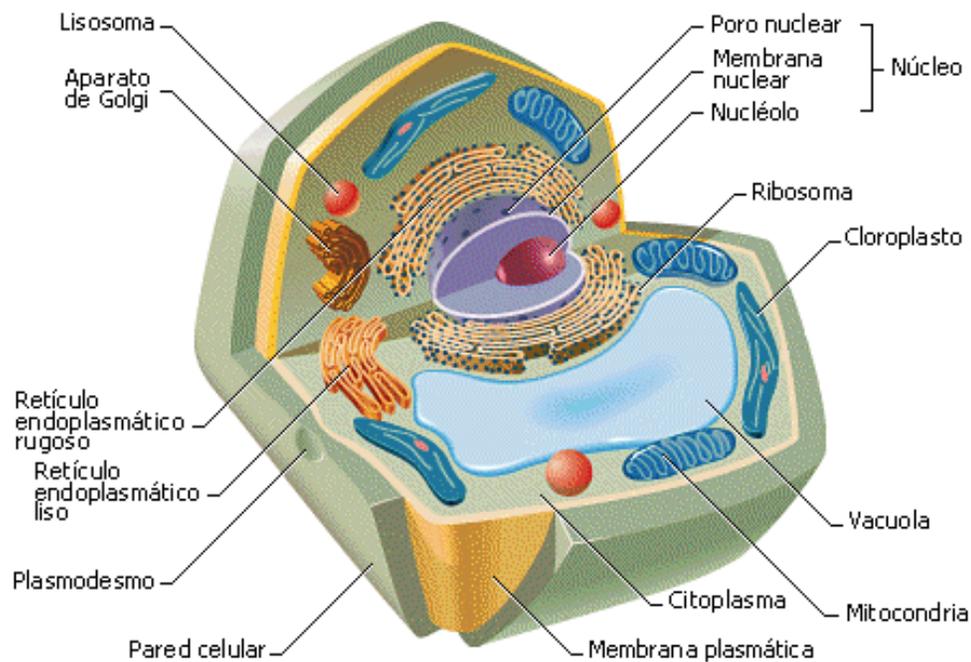


Fig. 2. Estructura general de la célula vegetal.

http://www.botanica.cnba.uba.ar/Trabprac/Tp1/animal_vegetal.html (modificada)

Las células animales poseen una membrana plasmática, es un complejo formado por lípidos, proteínas e hidratos de carbono. Contiene sistemas de señales y transporte ya que, al ser semi-permeable, permite el paso diferencial de distintos compuestos del medio externo y subproductos celulares desde y hacia el interior de la célula. Tiene la función de proveer una barrera (la única en el caso de las células animales) que proteja del medio externo. El citoplasma es el contenido celular que se encuentra entre la membrana celular y el núcleo. Es un gel, semi-líquido que representa el 55% del volumen celular, donde se hallan inmersos el citoesqueleto y los organelos de la célula. En el núcleo, se encuentra almacenada la información genética de la célula en forma de ADN. Está protegido por una doble membrana que recibe el nombre de membrana nuclear, delimitando la cromatina y el nucleolo. En esta doble membrana, se encuentran poros que permiten una comunicación bidireccional con el citoplasma. Los principales organelos de la célula animal son: mitocondrias, retículo endoplasmático liso y rugoso (con ribosomas adheridos a él), aparato de Golgi, lisosomas, peroxisomas y vacuolas.

Al igual que las células animales, las células vegetales contienen varias estructuras internas rodeadas de membrana que reciben el nombre de organelos. Incluyen un núcleo que contiene el material genético, ribosomas que fabrican proteínas, retículo endoplásmico liso que interviene en la síntesis de los lípidos que forman la membrana celular y una membrana lipídica que rodea a la célula. Sin embargo, sólo las células vegetales contienen cloroplastos, organelos capaces de sintetizar azúcares a partir del dióxido de carbono, agua y energía solar, una vacuola grande que almacena sustancias que la célula necesita y una pared celular rígida que protege a la célula y da forma a la misma.

OBJETIVO

Determinar, las principales diferencias estructurales entre la célula vegetal y animal, mediante la observación de muestras al microscopio

FUNDAMENTO

Una de las principales herramientas para el estudio de la célula es el microscopio. En general las células y tejidos vivos son difíciles de estudiar con el microscopio; ya que los tejidos multicelulares son demasiado gruesos para dejar pasar la luz y las células vivas aisladas suelen ser transparentes, con poco contraste entre los detalles internos. Sin embargo, se pueden realizar estudios de tejidos, realizando cortes y haciendo observaciones con el microscopio óptico, previo montaje de la muestra sobre un porta objeto de vidrio, con una gota de agua y cubriendo con un cubreobjeto.

El estudio detallado de las células se ha favorecido con el mejoramiento de los microscopios y el desarrollo de métodos y técnicas para preparación y observación de las células.

Los avances en la microscopia han mejorado el poder de resolución de estos instrumentos, se han desarrollado también las técnicas básicas de preparación del material para su estudio con el microscopio, fijando las células o tejidos con agentes que estabilizan la estructura, p. ej. alcohol, ácido acético, formol, tetróxido de osmio, permanganato de potasio, entre otros. Igualmente se han encontrado mejores agentes deshidratantes como el alcohol etílico, butanol, acetona, etc. con el propósito de permitir que el material biológico en estudio pueda ser

incluido en sustancias duras que actúan como soporte para ser posteriormente cortados, con un micrótopo con hoja de acero o con hoja de diamante, si se requieren cortes ultra finos, para microscopia electrónica.

El uso de colorantes, permite una mejor observación de las células así como de sus organelos, produciendo contraste entre núcleo o citoplasma, o entre mitocondrias y otros elementos del citoplasma.

MATERIAL Y EQUIPO

- Microscopio óptico
- Agujas de disección
- Porta y cubreobjetos

MATERIAL BIOLÓGICO

- Elodea
- Pétalos de flor
- Un trozo de pollo cocido
- Cultivo de protozoarios, (Tres semanas antes de la práctica poner en un frasco 500ml de agua de la llave, hojas de rábano, lechuga, espinacas y brócoli, y dejar a la intemperie por 72 horas y el resto del tiempo sin contacto directo con la luz del sol).

REACTIVOS

- Azul de metileno
- Solución de grenetina al 1%

PROCEDIMIENTO

Células vegetales

Separa una hoja de una rama de Elodea y colócala en un portaobjeto con una gota de agua.

Coloca el cubreobjeto y observa en el microscopio a seco débil, seco fuerte e inmersión.

Dibuja las estructuras que distingas y descríbelas.

Coloca un pétalo en una caja de petri con agua de la llave, realiza cortes transversales lo más finos que te sea posible, coloca uno de ellos en un portaobjeto, coloca el cubreobjetos y has el squash, observa en el microscopio a seco débil, seco fuerte e inmersión.

Dibuja las estructuras que distingas y descríbelas.

Células animales

Corta un trozo muy delgado de carne de pollo hervido y colócalo en un portaobjeto con una gota de agua.

Con la ayuda de dos agujas de disección separa en hilos lo más finos posibles. Coloca el cubreobjetos y observa en el microscopio a seco débil, seco fuerte e inmersión.

Remueve el cubreobjetos, agrega una gota de solución de azul de metileno. Espera 7 minutos coloca el cubre y vuelve a observar.

En un portaobjetos coloca una gota de la solución de grenetina, encima de ella una gota del cultivo de protozoarios, has tus observaciones a seco débil y fuerte. No utilices el objetivo de inmersión sin colocar cubreobjetos.

REPORTE DE RESULTADOS

Dibuja las estructuras que distingas.

Describe las características de las células que forman los músculos: forma, aspecto y, si es posible, cantidad de núcleos.

CUESTIONARIO

1. Elabora un cuadro con tres columnas:
1ª columna. Escribe la lista de todos los componentes que se encuentran tanto en las células vegetales como en las animales.
2ª columna. Célula vegetal: indica con un sí o un no la existencia en ella de cada uno de los componentes de la célula.
3ª columna. Célula animal: procede de igual modo. Compara los resultados obtenidos y saca una conclusión.
2. Explica como está constituida la pared celular.
3. Menciona al menos dos funciones de la pared celular.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alberts Bruce. 2006. Introducción a la biología celular. Ediciones Omega España.
2. Buchanan, B., Russell, L. and Gruissem W. 2002. Biochemistry and molecular biology of plants. Hoboken: John Wiley & Sons. USA.
3. Davey, J., Lord, M. 2003. Essential cell biology: A practical approach. Oxford University Press.USA.
4. Davis, B.J. 2000. Cell structure and function. Science. Fence Creek Pub. USA.
5. Jones, S., 2000. El origen de las especies. Update Random House. USA.
6. Paniagua Gómez-Álvarez, Ricardo. 2007. Citología e histología vegetal y animal, 2 vols. 4ª ed. Editorial McGraw-Hill. España.

PRÁCTICA No. 2 MITOSIS EN CÉLULAS VEGETALES

INTRODUCCION

Es la división celular por la cual se forman dos células genéticamente idénticas a la original. Las “copias” surgen por la replicación y división de los cromosomas o material genético, de modo que cada una de las células “hijas” recibe una dotación similar de cromosomas. La mitosis es característica de las células eucarióticas y asegura que se conserve la información genética de la especie y del individuo. Permite la multiplicación celular, necesaria para el desarrollo, crecimiento y regeneración del organismo.

El término mitosis se refiere, generalmente, a la secuencia gradual de cambios que ocurren en el núcleo, antes de la división celular. El proceso mitótico es difícil de ver en las células vivas, debido a que los componentes del núcleo son transparentes.

La capacidad de autorreproducirse probablemente sea la característica fundamental de las células. Todas las células se reproducen mediante su división en dos, cada célula “materna” dando lugar a dos células hijas al final de cada ciclo de división celular. Estas células hijas, a su vez pueden crecer y dividirse, dando lugar a una población celular a partir del crecimiento y la división de una única célula “materna” y de su progenie.

El ciclo de la división de la mayoría de las células consiste en cuatro procesos coordinados: crecimiento celular, replicación del ADN, distribución de los cromosomas duplicados a las células hijas y división celular.

El ciclo celular se divide en dos etapas fundamentales: mitosis e interfase. La mitosis (división del núcleo) es la etapa más llamativa del ciclo, que corresponde a la separación de los cromosomas hijos y termina, generalmente, en la división celular (citocinesis).

Durante la interfase los cromosomas se descondensan y se distribuyen por el núcleo, por lo que el núcleo presenta un aspecto uniforme. Sin embargo, a nivel molecular, en la interfase es cuando ocurren el crecimiento celular y la replicación del ADN de manera sucesiva, lo que deja a la célula preparada para la división. Así, la duración de la síntesis del ADN divide el ciclo de las células eucariota en cuatro fases diferenciadas (Figura 1)

La fase M del ciclo corresponde a la mitosis, a la que suele seguir la citocinesis. A esta fase le sigue la fase G1, que corresponde al intervalo entre la mitosis y el comienzo de la replicación del ADN. Durante G1 la célula es metabólicamente activa y está creciendo, pero no se replica su ADN. En la fase S (síntesis) se replica el ADN. Tras finalizar la síntesis del ADN se lleva a cabo la fase G2, caracterizada por el crecimiento de la célula y en la que se sintetizan proteínas necesarias para la fase M (mitosis).

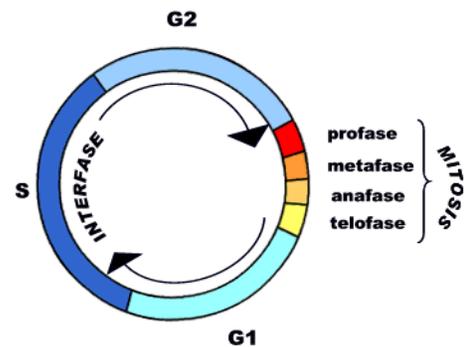
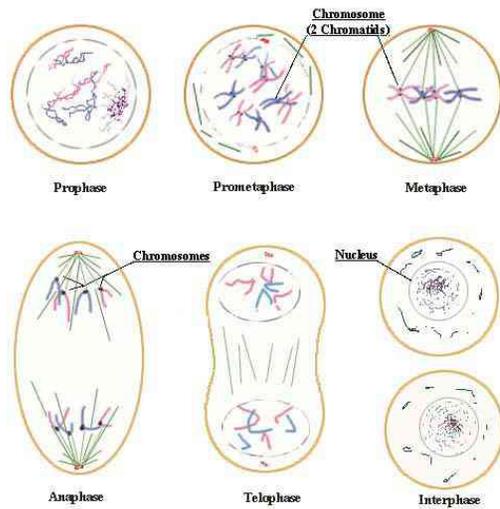


Fig. 1 Fases del Ciclo celular

<http://cibm.ucol.mx/villa/materias/RVV/biologi%20/apuntes/2a%20parcial/m>

Fig. 2 Mitosis



<http://project.bio.iastate.edu/imagebank/mitosis.jpg>

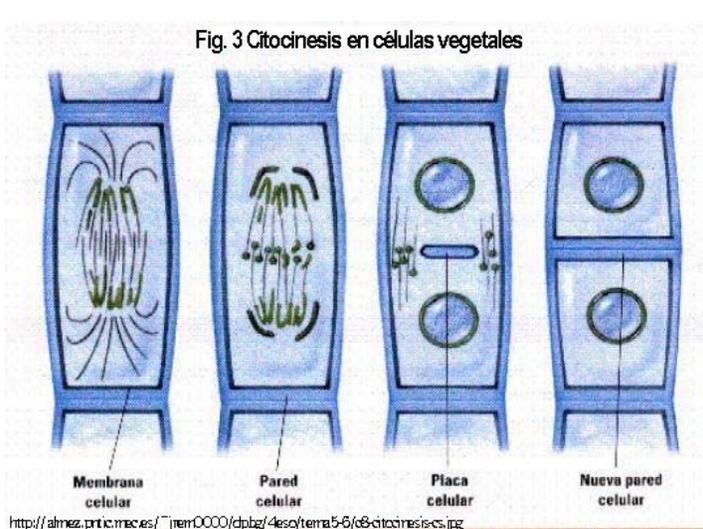
Tradicionalmente, la mitosis se divide en cuatro etapas, profase, metafase, anafase y telofase que, en el caso de la célula animal, se ilustran en la (Figura 2).

El comienzo de la profase queda determinado por la aparición de los cromosomas condensados, cada uno de los cuales está constituido por dos cromátidas hermanas (las moléculas de ADN hijas que se produjeron en la fase S). Estas se mantienen unidas a través del centrómero, que es una secuencia de ADN a las que se unen proteínas dando lugar al cinetocoro -el lugar de anclaje de los microtúbulos del huso. Los centrosomas se separan y migran a lados opuestos del núcleo. Ahí actúan como los dos polos del huso mitótico, que comienza a formarse durante la profase tardía. Los cromosomas se mueven hacia delante y hacia atrás

hasta que se alinean en la placa metafísica en la mitad del huso. Llegando a este punto la célula ha alcanzado la metafase.

La mayoría de las células permanecen en metafase poco tiempo antes de continuar la anafase. La transición de metafase a anafase se produce por la rotura de la unión entre las cromátidas hermanas, las cuales se separan y migran a polos opuestos del huso. La mitosis finaliza con la telofase, durante la cual los núcleos se regeneran y los cromosomas se descondensan. La citocinesis normalmente comienza durante la anafase tardía y se completa al final de la telofase, dando lugar a dos células hijas en interfase.

El mecanismo de la citocinesis es diferente en las células de las plantas superiores, ya que éstas están rodeadas por una pared celular rígida. En vez de ser estranguladas y divididas en dos por el anillo contráctil, estas células se dividen mediante la formación de una nueva pared celular y de una nueva membrana plasmática dentro de la célula (Figura 3). En la telofase temprana, vesículas del aparato de Golgi que portan precursores de la pared celular se unen a los microtúbulos del huso y se acumulan en el lugar de la placa metafásica.



<http://almex.pric.mec.es/~jtem0000/dplgl4eso/tema5-6/e6/citocinesis-es.jpg>

Entonces estas vesículas se fusionan formando una estructura grande, en forma de disco y envuelta por membrana, acumulándose su contenido de polisacáridos y dando lugar a la matriz de la nueva pared celular (denominada placa celular) La placa celular se extiende hacia fuera, perpendicular al huso, hasta que alcanza a la membrana plasmática. Entonces la membrana que rodea a la placa celular se funde con la membrana parental, dividiéndose la célula en dos.

FUNDAMENTO

El método de “aplastado” (Squash) y la tinción con colorantes básicos permiten obtener preparaciones citológicas adecuadas para estudios citogenéticos. Los ápices radicales de cebolla, haba y fríjol representan un tejido somático en crecimiento activo, útil en la observación de las diversas fases de la mitosis.

OBJETIVO

El alumno describirá los cambios celulares que ocurren durante el proceso de la mitosis, mediante la observación microscópica de células de ápices radiculares.

MATERIALES Y EQUIPO

- Vidrios de reloj
- Pinzas de disección
- Portaobjetos
- Bisturí
- Agujas de disección
- Papel de seda
- Papel filtro
- Microscopio óptico
- Pinzas de disección
- Cubreobjetos
- Cajas petri
- Pipetas de 5 ml
- Varilla de vidrio
- Lápiz con goma

MATERIAL BIOLÓGICO

- Raíces de cebolla, haba, y fríjol fijadas en alcohol al 70 %.

REACTIVOS

- Alcohol etílico al 70%.
- Solución Etanol-HCl, (mezcla 1:1 v/v alcohol al 96% y HCl concentrado).
- Líquido de Carnoy con cloroformo.- se mezclan 10 ml de ácido acético glacial, 30 ml de cloroformo y 60 ml de etanol absoluto.
- Solución de colorante de Aceto-orceina
- Solución de colorante de Aceto-carmín
- Ácido acético al 45%

PROCEDIMIENTO

- 1.- Fijar las raicillas en alcohol al 70% aproximadamente entre 12 y 24 horas.
- 2.- Seleccionar las raicillas y con la ayuda de las pinzas de disección transferir a un vidrio de reloj que contenga la solución etanol-HCl.
- 3.- Dejar actuar la solución durante 5 minutos. Este tratamiento destruye el cemento que mantiene unidas a las células.
- 4.- Transferir las raíces a otro vidrio de reloj que contenga líquido de Carnoy (tener precaución es venenoso y flamable).
- 5.- Dejar actuar el líquido de Carnoy durante 3 minutos. Con este tratamiento se endurece el material, lo que reduce cualquier daño a las células en los siguientes pasos.
- 6.- Colocar una raicilla en el centro de un portaobjetos limpio, con un bisturí cortar la punta de la misma que son los últimos 2 mm y desechar el resto del material.
- 7.- Añadir inmediatamente 1 ó 2 gotas de colorante de Aceto-orceina o Aceto carmín, macerar el tejido con la ayuda de la punta de una varilla de vidrio.
- 8.- Dejar actuar el colorante durante 5 minutos y no dejar que la preparación se seque, si esto ocurre añadir otra gota de colorante.
- 9.- Colocar un cubreobjeto limpio sobre el material y con la goma de un lápiz presionar ligeramente en forma vertical.
- 10.- Colocar la preparación con el cubreobjetos hacia abajo en medio de papel filtro doblado por la mitad. Presionar firmemente con la yema del dedo pulgar.
- 11.- Si se presentan burbujas de aire en la preparación, elimínelas poniendo al borde del cubreobjetos una gota de colorante.
- 12.- Observar al microscopio las preparaciones a 10X, 40X y 100X. Localizar células separadas y bien teñidas que muestren sus cromosomas, a continuación identificar las etapas de la mitosis.
- 13.- Guardar, si se requiere, las preparaciones temporales en una caja petri con papel filtro impregnado de ácido acético al 45% y bajo refrigeración. Así almacenadas las preparaciones pueden durar en buen estado de 4 a 5 días.

REPORTE DE RESULTADOS

Haga los esquemas e indique los nombres de las diversas estructuras celulares de las fases observadas de la mitosis.

Investigue el número cromosómico de la cebolla, haba, fríjol, lenteja y alpiste.

CUESTIONARIO

1. Esquematice la mitosis vegetal y animal. Indique las diferencias más significativas.
2. Por qué razón se utiliza tejido meristemático y realice un dibujo de este indicando sus estructuras celulares.
3. Proponga cinco ejemplos de material biológico para la realización de la práctica de mitosis y justifique su respuesta.
4. Explique la importancia biológica de la mitosis.
5. Qué relación existe entre el cáncer y la mitosis explíquelo.

BIBLIOGRAFIA

1. Alberts B., A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts y P. Walter. 2004. Biología Molecular de la Célula. 3ª. ed. Ed. Omega. España.
2. Geoffrey M. Cooper, 2006. La Célula. Ed. Marbán. España.
3. Jiménez L. F. y Merchant H; 2003. Biología Celular y Molecular. Ed. Prentice Hall. México.
4. Smith y Word. 1997. Biología Celular. Ed. Addison -Wesley Iberoamericana. USA.

PRÁCTICA No. 3

OBSERVACIÓN DE MEIOSIS EN MACHOS DE *Stenomacra marginella*

OBJETIVO

Observar las diferentes etapas de la meiosis en preparaciones de gónadas de machos de la chinche *Stenomacra marginella*.

INTRODUCCIÓN

Stenomacra marginella es un insecto perteneciente al orden Hemíptera, conocido comúnmente como chinche. Habita comúnmente en el follaje de diversos árboles y arbustos, siendo más abundante en las estaciones de primavera-verano. Las ninfas se caracterizan por presentar una coloración negra con una mancha en forma de rombo en la parte superior de su cuerpo y algunas manchas rojizas en el abdomen. Esta coloración previene que las aves se alimenten de ellos.

Los adultos presentan una coloración café-parda, y están presentes desde finales del invierno hasta mediados del verano, produciendo una generación por año. Se comienza a reproducir en el mes de mayo, terminando hasta el mes de julio, colocando grupos de 30-50 huevecillos con forma de barril y de color rojizo o anaranjado.

Las ninfas se presentan en grupos, por lo general entre los meses de junio y julio y en ocasiones son protegidos por los adultos. Las ninfas terminan de madurar a finales del invierno y conforme lo hacen se reúnen en grupos cada vez mas numerosos que pueden ser de varios cientos de individuos.

En estos insectos se presenta un dimorfismo sexual positivo hacia la hembra la que llega a medir alrededor de 12mm en comparación con el macho que es un tercio más pequeño. El macho se distingue fácilmente ya que presenta un genital retráctil de coloración blanca en el extremo del abdomen, que al presionar el abdomen se logra observar. (Ver imagen 1). Presenta un mecanismo de determinación del sexo XX/XO y su maduración es previa a la época de lluvias. Los cromosomas de sus células sexuales son fácilmente observables por su tamaño y por su mecanismo de determinación sexual es posible contar 12/11 bivalentes en las células meióticas de los machos.

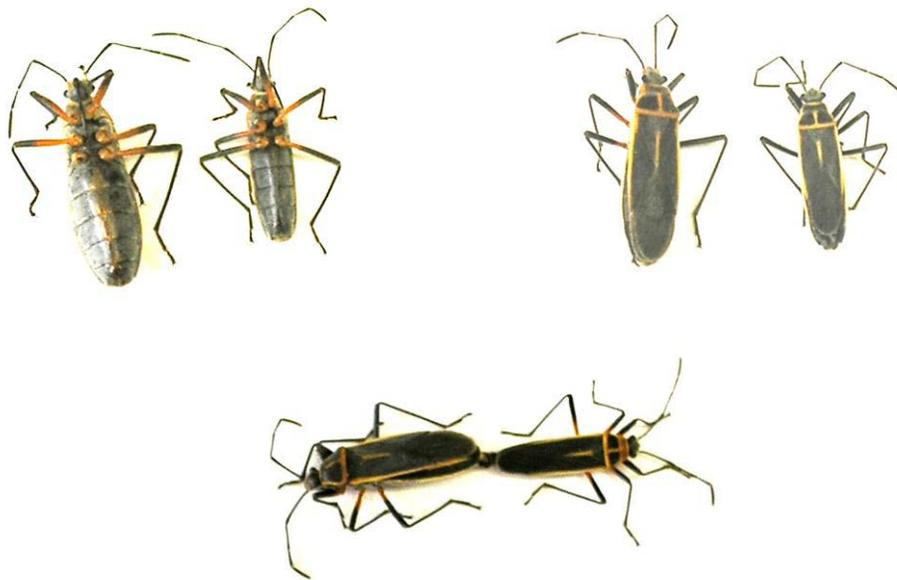


Imagen 1. Vista externa de la chinche *Stenomacra marginella*. Arriba a la izquierda vista de los segmentos abdominales de la hembra y el macho; arriba a la derecha, vista dorsal y abajo en el centro, chinches en apareamiento, donde el macho se encuentra del lado derecho.

MATERIALES Y EQUIPOS

- Microscopio de disección
- Microscopio de campo claro
- Cajas Petri
- Gotero
- Pinzas de disección
- Agujas de disección
- Navaja
- Portaobjetos
- Cubreobjetos

MATERIAL BIOLÓGICO

- Machos maduros de *Stenomacra marginella*

REACTIVOS

- Acetorceína al 2%
- Solución de cloruro de sodio al 0.7%
- Solución de etanol al 70%

PROCEDIMIENTO

1. Sacrificar a los organismos por exceso de éter en una caja Petri.
2. Fijar a los organismos en etanol al 70% por 10 minutos
3. Retirar el tórax y la cabeza de la chinche y colocar el abdomen con una gota de solución salina en un portaobjetos. (Ver imagen 2)



Imagen 2. Separación del tórax y el abdomen de *Stenomacra marginella*

4. Sostener por el extremo anterior el abdomen y jalar sujetando firmemente la placa genital para provocar la salida de los testículos (ver imagen 3), los cuales se distinguen como dos sacos de color beige y aspecto cremoso.

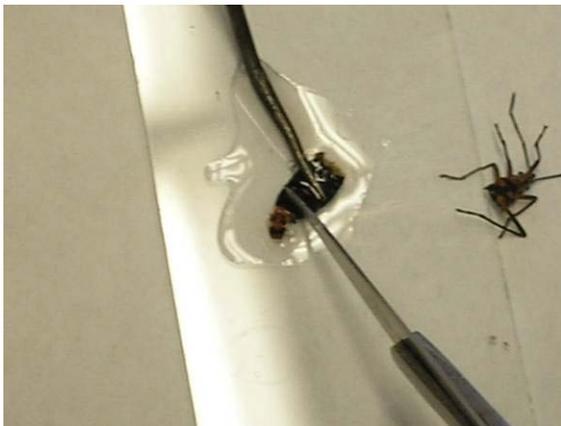


Imagen 3. Separación del órgano reproductor retráctil.

5. Orientar ambos testículos en el mismo sentido y separar por porciones del extremo distal al proximal (Ver imagen 4). La meiosis en estos insectos, permite observar etapas sucesivas de formación de los espermatozoides a lo largo de la extensión de los testículos.



Imagen 4. Observación de testículos de *Stenomacra marginella*. Las flechas indican la posición de los testículos.

6. Transferir las porciones de testículos a otro portaobjetos con una gota de solución salina y macerar ligeramente con una varilla de vidrio.
7. Agregar una gota de acetorceína y dejar teñir de 4 a 5 minutos cuidando de que no se seque el material.
8. Colocar el cubreobjetos sobre la preparación y colocar la laminilla en medio de un trozo de papel filtro presionando firmemente con el dedo pulgar evitando el movimiento lateral.
9. Observar la laminilla al microscopio para identificar las diferentes fases de la meiosis. (Ver imagen 5 y 6).

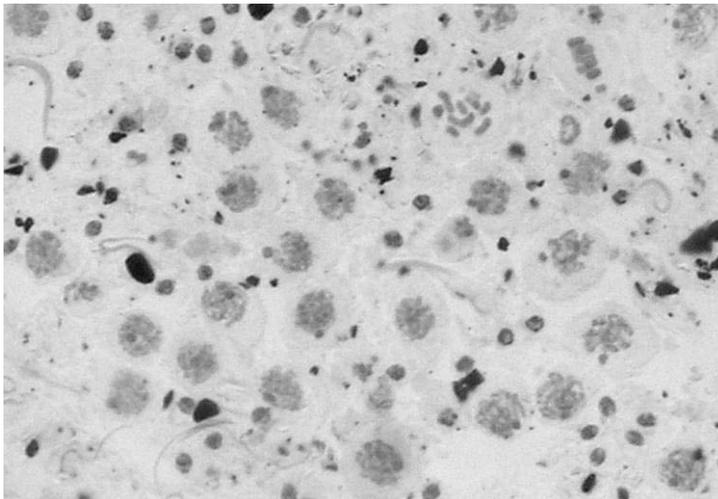


Imagen 5. Observación de células meióticas de *Stenomacra marginella*.

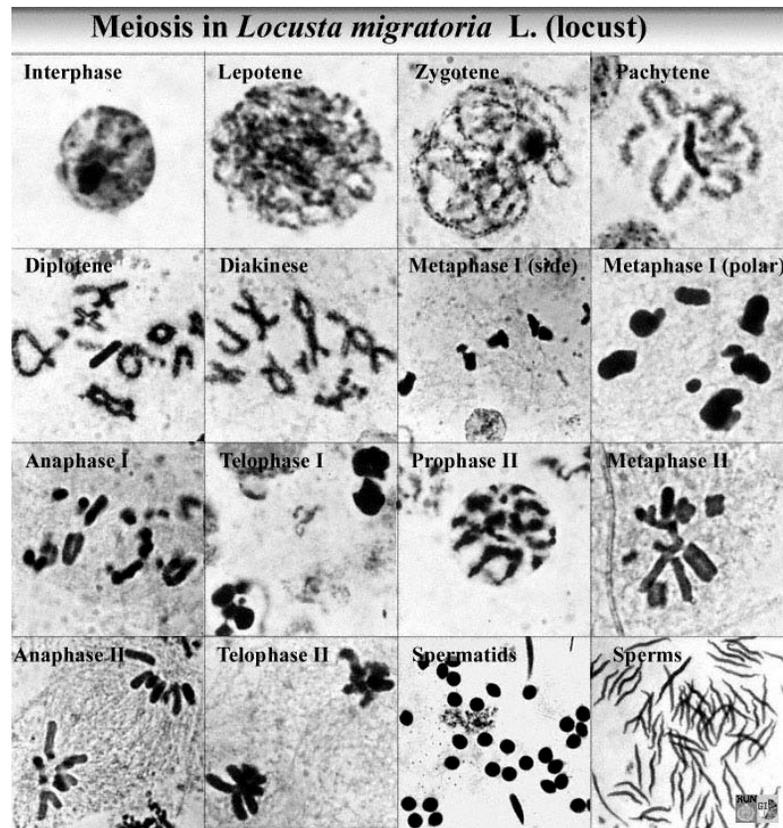


Imagen 6. Observación de las etapas meióticas en células de *Locusta migratoria*.

REPORTE DE RESULTADOS

Elaborar un reporte de no más de tres cuartillas donde se incluya Título, introducción, planteamiento del problema, hipótesis, objetivos, metodología, resultados, discusión de resultados, conclusiones y bibliografía.

Elaborar un anteproyecto de trabajo de investigación sobre meiosis, en los términos que lo solicita su asesor.

CUESTIONARIO

1. ¿Cuál es la importancia biológica de la meiosis?
2. Describir los eventos característicos de cada fase y subfases de la meiosis.

BIBLIOGRAFÍA

1. Charlotte Avers. 1991. Biología Celular. Ed. Interamericana. México.
2. Curtis H. Sue B. 2001. Biología. 6ª ed. Ed. Panamericana. México
3. Darnell J. et al. 1993. Biología celular y molecular. 2ª ed. Ed. Omega. Barcelona.
4. Cecilia Cuatianquiz y Carlos Cordero. 2006. Experimental manipulation of male behavior during copulation in *Stenomacra marginella* (Heteroptera: Largidae): Effect on copula duration, female remating and oviposition. Behavioral Processes. 73:222–227.

PRÁCTICA No. 4

CUANTIFICACIÓN DE GLUCOSA EN PLASMA HUMANO.

INTRODUCCIÓN

Los carbohidratos son las biomoléculas más abundantes en la naturaleza. Existen tres clases principales de carbohidratos: monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos. Los monosacáridos son los azúcares más simples, consisten en una sola unidad de polihidroxialdehído o polihidroxicetona. El monosacárido más abundante es el azúcar de seis átomos de carbono, D-glucosa. Los oligosacáridos consisten de cadenas cortas de unidades de monosacáridos unidos por enlaces glucosídicos, los más abundante son los disacáridos. Los polisacáridos consisten de cadenas largas de centenares o millares de monosacáridos.

La estructura básica de los monosacáridos es una cadena de carbonos no ramificada en la que los átomos de carbono están unidos por enlaces simples. Uno de los átomos de carbono está unido a un átomo de oxígeno por un doble enlace, formando un grupo carbonilo y este puede ser una aldosa o una cetosa. Los monosacáridos de más de cinco átomos de carbono pueden encontrarse en disolución acuosa en su forma cíclica. Los anillos de cinco átomos de carbono se denominan furanosas y los de seis piranosas.

Los carbohidratos cumplen funciones energéticas, forman parte del material genético y pueden estar unidos a proteínas como glucoproteínas y a lípidos como glucolípidos.

OBJETIVO

Determinar la cantidad de glucosa presente en una muestra de plasma humano, mediante el método del fenol-ácido sulfúrico.

FUNDAMENTO

La glucosa libre en solución ácida fuerte forma un furfural, aldehído aromático. Este producto se une a compuestos como el fenol para dar como producto un compuesto cromóforo con un máximo de absorbancia a 490 nm.

MATERIAL Y EQUIPO

- 1 Matraz Erlenmeyer 250 ml
- 1 Matraz Erlenmeyer 100 ml
- 12 Tubos de ensaye 125X16 mm
- 1 Vacutainer
- 1 Centrífuga clínica
- 1 Espectrofotómetro
- 1 Pipeta 1 ml
- 1 Pipeta 5 ml

MATERIAL BIOLÓGICO

- Muestra sanguínea 10 ml

REACTIVOS

- Fenol 10 ml
- Ácido sulfúrico 100 ml
- Glucosa 10 mg

PROCEDIMIENTO

Soluciones de trabajo

Solución patrón: Pesar 10 mg de glucosa y solubilizar en 100 ml de agua destilada.

Solución de fenol: Colocar 2.5 ml de fenol en un matraz Erlenmeyer de 100 ml y llevar hasta un volumen de 50 ml con agua destilada (Fenol al 5% v/v).

Curva Patrón

Curva: Preparar una serie de 8 tubos y agregar 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 y 0.8 ml de la solución patrón. Agregar agua destilada a cada tubo hasta completar 1 ml de volumen total.

Solución blanco: Agregar 1 ml de agua destilada.

Preparación de la muestra

Solución muestra: Extraer 10 ml de sangre periférica con un Vacutainer que contenga heparina. Centrifugar a 2000 revoluciones por minuto (rpm) por 5 min. Extraer el plasma (sobrenadante) y se desecha el paquete celular. Colocar en una serie de tres tubos 0.1, 0.2 y 0.4 ml de plasma y completar el volumen a 1 ml con agua destilada.

Desarrollo de color

A la serie de tubos de la curva patrón, al blanco y a las muestras se les agrega 1 ml de fenol al 5%. Agitar vigorosamente. A cada tubo añadir 5 ml de ácido sulfúrico concentrado en intervalos de un minuto, con el propósito de dar el mismo tiempo para el desarrollo de color. Agitar ligeramente y dejar reposar durante 30 min. Véase tabla.

Lectura de absorbancia

Ajustar la absorbancia del espectrofotómetro a cero utilizando el reactivo blanco en una longitud de onda de 490 nm. Leer la absorbancia de la curva patrón y de las muestras a intervalos de 1 min.

CUANTIFICACIÓN DE GLUCOSA

| Tubo | -----Curva patrón----- | | | | | | | | | ----Muestras---- | | |
|-------------------------------------|------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------------------|-----|-----|
| | Blanco | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 1 | 2 | 3 |
| Glucosa (ml) | - | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.4 | 0.5 | 0.6 | 0.7 | 0.8 | - | - | - |
| Plasma (ml) | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0.1 | 0.2 | 0.4 |
| Agua (ml) | 1 | 0.9 | 0.8 | 0.7 | 0.6 | 0.5 | 0.4 | 0.3 | 0.2 | 0.9 | 0.8 | 0.6 |
| Fenol (ml) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| H ₂ SO ₄ (ml) | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |

MANEJO DE RESULTADOS

De acuerdo a la construcción de la curva patrón y la obtención de la ecuación de linearización de la curva, realizar una intrapolación o extrapolación, según sea el caso, de los valores de absorbancia obtenidos de las muestras de plasma. Los gráficos deben contener la ecuación de la recta de linearización así como el coeficiente de correlación.

REPORTE DE RESULTADOS

Elaborar un reporte de no más de tres cuartillas donde se incluya Título, introducción, planteamiento del problema, hipótesis, objetivos, metodología, resultados, discusión de resultados, conclusiones y bibliografía.

Elaborar un anteproyecto de investigación sobre cuantificación de carbohidratos.

CUESTIONARIO

1. ¿Cuáles son las funciones biológicas de la glucosa?
2. ¿Qué función cumple el blanco en la medición de absorbancia?

BIBLIOGRAFÍA

1. Alberts, B., D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Raberts y J. D. Watson. 1994. Biología molecular de la célula. Garland Publishing inc. New York. pp. 1294.
2. Carey, F. 1999. Química orgánica. 3ª ed. Ed Mc Graw-Hill. España. pp 1131.
3. Farías, G. 1999. Química clínica. 10ª ed. Ed. El Manual Moderno. México DF. pp 830.

PRÁCTICA No. 5

CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS POR EL MÉTODO DE BRADFORD

INTRODUCCIÓN

Las proteínas son polímeros de unidades conocidas como aminoácidos. Son macromoléculas de elevado peso molecular, formadas por cadenas lineales donde los aminoácidos están unidos por enlaces peptídicos, tales enlaces se presentan entre un grupo amino del carbono alfa de un aminoácido y el grupo carboxilo del carbono alfa de otro aminoácido. Los aminoácidos están formados por un carbono asimétrico al cual están unidos de manera covalente un grupo amino, un grupo carboxilo, un hidrógeno y el grupo R, el cual es una cadena lateral de longitud variable cuyas propiedades químicas son variables. De acuerdo al grupo R los aminoácidos pueden ser clasificados como: básicos, ácidos, polares y no polares.

Existen veinte L-aminoácidos, los cuales unidos de manera lineal representan la estructura primaria de un oligopéptido, polipéptido o proteína. La conformación espacial de esta secuencia lineal, ya sea como alfa-hélice, beta-lámina plegada o ambas, se denomina estructura secundaria. El ordenamiento tridimensional de toda la secuencia lineal, junto con las conformaciones secundarias dan forma al arreglo de la estructura terciaria. Los plegamientos se ven favorecidos por interacciones de afinidad entre las regiones polares por un lado y de las no polares por otro, la estructura es estabilizada por enlaces covalentes. La unión de proteínas, de cadenas polipeptídicas, a través de interacciones mediadas por grupos prostéticos, uniones de afinidad y puentes disulfuro, define la estructura cuaternaria.

Según la estructura terciaria y cuaternaria pueden clasificarse en proteínas fibrosas y globulares. Las proteínas fibrosas presentan cadenas lineales de polipéptidos, mientras que en las globulares, la cadena polipeptídica se pliega de tal manera que forma una estructura compacta y de forma esférica.

Las proteínas desempeñan varias funciones: estructurales, transporte, catalíticas, comunicación intracelular y extracelular, contracción y movimiento, transporte, coagulación sanguínea, protección inmunológica, reserva energética, entre otras.

OBJETIVO

El alumno cuantificará la cantidad de proteína total de una muestra de plasma humano.

FUNDAMENTO

El método involucra la unión del colorante azul brillante de Coomassie G-250 a las proteínas. El colorante presenta tres estados de carga eléctrica, con diferente espectro de absorción de la luz. Cuando este colorante es disuelto en una solución ácida, el colorante se encuentra libre (sin unirse a una proteína), en forma de catión y es de color rojizo, con una máxima absorción a 465 nm. Sin embargo, cuando es disuelto en una solución neutra, el colorante se encuentra en un estado neutro y libre, expresando una coloración verde. Cuando el azul de Coomassie se

encuentra unido a una proteína, cambia a un estado aniónico, desarrollando un color azul, con una máxima absorción a 595 nm. La unión es un proceso rápido (aproximadamente 2 minutos) y el complejo colorante-proteína se mantiene estable hasta una hora después de producido. La reacción de Bradford no produce interferencia con compuestos no proteicos, por lo que la absorbancia de 595 nm es directamente relacionada con la concentración de proteína.

MATERIAL Y EQUIPO

- 3 Pipeta 1 ml
- 9 Tubos de ensayo de vidrio 125x16
- 1 Vacutainer 10 ml
- 1 Centrífuga

REACTIVOS

- NaCl 0.8 mg
- Albúmina 1 mg
- Reactivo de Bradford 2 ml

MATERIAL BIOLÓGICO

- Muestra sanguínea 10 ml

PROCEDIMIENTO

Preparación de soluciones de trabajo.

Solución salina: Pesar 0.8 mg de cloruro de sodio y disolverlos en 100 ml de agua destilada.

Solución patrón: Pesar 1 mg de proteína (albúmina) y solubilizar en 1 ml de solución salina (1µg/µl).

Curva patrón: Preparar una serie de cinco tubos a los cuales se les agrega 1 ml de solución salina. En otro tubo de ensayo, colocar 0.2 ml de la solución patrón y agregarle 1.8 ml de solución salina cuya concentración final de proteína es de 100 µg/ml. De esta solución, extraer 1 ml y colocarlo en el tubo # 1 de la serie de cinco tubos anteriormente preparados. Agitar ligeramente. Extraer 1 ml del tubo # 1 y colocarlo en el tubo # 2. Agitar ligeramente.

Repetir este procedimiento hasta el tubo # 5, el cual quedará con un volumen de 2 ml, por lo que debe extraerse 1 ml el cual se desecha (A este procedimiento se le llama dilución seriada). Al final todos los tubos deberán tener un volumen de 1 ml.

Solución blanco: En un tubo de ensayo colocar 0.8 ml de solución salina y agregar 0.2 ml de reactivo de Bradford.

Preparación de la muestra

Extraer 10 ml de sangre periférica con un Vacutainer que contenga heparina. Centrifugar a 2000 revoluciones por minuto (rpm) por 5 min. Extraer el plasma (sobrenadante) y se desecha el paquete celular. Colocar 0.1ml de plasma, en un tubo de ensayo y diluirlo con solución salina hasta un ml. De esta dilución (1:10) tomar 0.1 y 0.2 ml y colocar por separado en dos tubos de ensayo y completar a un volumen final de 1 ml.

Desarrollo de color

A las preparaciones de la curva patrón y a las muestras se les extraen 0.2 ml y se sustituyen por 0.2 ml del reactivo de Bradford, dejando reposar cinco minutos.

Lectura de absorbancia

Ajustar la absorbancia del espectrofotómetro a cero utilizando la solución blanco, a una longitud de onda de 595 nm. Leer la absorbancia de la curva patrón y de la muestra.

CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNA

| Paso | | Blanco | Curva patrón | | | | | | Muestras | |
|------|---------------------------|-------------|-----------------------------|------|------|------|------|------|----------------|----|
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | 2 |
| I | Albúmina (ml) | | 1 | - | - | - | - | - | - | - |
| | Sol. Salina (ml) | 5 | 4 | *2.5 | *2.5 | *2.5 | *2.5 | *2.5 | 4.5 | 4 |
| | Plasma (ml) | | | | | | | | #0.5 | #1 |
| II | | | *Dilución seriada de 2.5 ml | | | | | | #Dilución 1:10 | |
| III | Sol. Salina (ml) | | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | | |
| IV | | Extraer 1ml | | | | | | | | |
| V | Reactivo de Bradford (ml) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |

MANEJO DE RESULTADOS

Las lecturas de absorbancia obtenidas para la curva patrón se correlacionan en una gráfica, concentración vs. absorbancia. Las lecturas de las soluciones muestra son intrapoladas y reportadas en mg/ml. Los gráficos deberán presentar ecuación de regresión y coeficiente de correlación.

REPORTE DE RESULTADOS

Elaborar un reporte de no más de tres cuartillas donde se incluya Título, introducción, planteamiento del problema, hipótesis, objetivos, metodología, resultados, discusión de resultados, conclusiones y bibliografía.

Elaborar un anteproyecto de investigación sobre cuantificación de proteínas.

CUESTIONARIO

1. Detalle la clasificación de las proteínas.
2. Detalle la composición proteica en sangre.
3. Explique la reacción de Bradford.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alberts B., A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts y P. Walter. 2004. Biología Molecular de la Célula. 3ª. ed. Ed. Omega. España.
2. Bio Rad laboratories Inc. Life Science group. Protein assays. Colorimetric protein assays. Tech note bulletin 1069.
3. Bradford M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem. 72:248-254.

PRÁCTICA No. 6

EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE COLESTEROL EN PLASMA HUMANO

INTRODUCCIÓN

Los lípidos son biomoléculas orgánicas que presentan funciones importantes en el almacenamiento de energía, señalización celular, comunicación hormonal, así como el mantenimiento de la estructura celular. Los lípidos son el componente principal de la membrana celular.

Los lípidos simples saponificables, son ácidos grasos que contienen cadenas hidrocarbonadas hidrofóbicas así como una región polar, los cuales se encuentran en estructuras celulares en la forma de triacilgliceroles. Dentro de los lípidos no saponificables se encuentra el colesterol, del cual derivan las hormonas esteroideas. El colesterol forma parte de la arquitectura de la membrana celular.

El colesterol es transportado en sangre por proteínas transportadoras, denominadas lipoproteínas de baja y alta densidad, LDL y HDL respectivamente.

Altos niveles de colesterol se asocian a riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, en especial aquel unido a las LDL. El colesterol unido a HDL, puesto que representa aquella fracción de colesterol que se transporta al hígado para su metabolización y excreción por vía biliar, no se asocia con riesgo de enfermedad.

El perfil lipídico lo constituye la cuantificación analítica de una serie de lípidos que son transportados en la sangre por los diferentes tipos de lipoproteínas plasmáticas. La determinación de estos parámetros es un procedimiento analítico básico para el diagnóstico y seguimiento de enfermedades metabólicas, primarias o secundarias. Entre estos parámetros analíticos que se pueden determinar están: el colesterol total, el colesterol transportado por las LDL y el colesterol transportado por las HDL.

OBJETIVO

Extraer y cuantificar colesterol total de una muestra de plasma humano.

FUNDAMENTO

La cuantificación de colesterol en plasma puede llevarse a cabo utilizando un método colorimétrico con la aplicación de la reacción de Liebermann y Burchard, la cual proporciona una metodología sencilla, rápida y reproducible. La reacción se lleva a cabo en un medio ácido en el cual el colesterol experimenta una oxidación. La etapa inicial de la reacción consiste en la protonación del grupo OH con la consiguiente pérdida de agua, obteniéndose el ión carbonio^{3,5}-colestadieno. La oxidación por el ión sulfato produce el ácido colestadieno-3,5-sulfónico, compuesto cromóforo con un máximo de absorbancia de 620 nm.

MATERIAL Y EQUIPO

- Guantes de látex
- 1 Jeringa 10 ml
- 1 Matraz Erlenmeyer 500 ml
- 9 Tubos de ensayo de vidrio 125x16
- 1 Pipeta 1 ml
- 1 Pipeta 2 ml
- 1 Pipeta 5 ml
- 2 Frascos ámbar 500 ml
- 2 Frascos ámbar 100 ml

MATERIAL BIOLÓGICO

- Muestra sanguínea 10 ml

REACTIVOS

- Ácido acético glacial 250 ml
- Anhídrido acético 5 ml
- Ácido sulfúrico concentrado 100 ml
- Colesterol 200 mg/100 ml
- Heparina

PROCEDIMIENTO

Preparación de soluciones de trabajo.

Solución ácida: Preparar una mezcla de H_2SO_4 y ácido acético 1:1 (v/v). Se agrega lentamente 100 ml de ácido acético glacial y posteriormente, con agitación ligera, se añaden 100 ml de H_2SO_4 en un matraz Erlenmeyer. La mezcla debe ser enfriada en baño de agua fría, hasta llegar a temperatura ambiente.

Solución de deshidratación: mezclar 10 ml de la solución ácida (ácido sulfúrico- ácido acético, 1:1 v/v) con 10 ml de ácido acético glacial.

Curva Patrón

Solución patrón: Disolver 200 mg de colesterol en 100 ml de ácido acético glacial. Colocar 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 y 0.5 ml de la solución de colesterol en una serie de tubos. Agregar ácido acético glacial hasta un volumen final de 0.8ml por tubo. Posteriormente agregar 0.2 ml de agua destilada y mezclar ligeramente.

Solución blanco: en un tubo de ensayo colocar 0.8 ml de ácido acético glacial y 0.2 ml de agua destilada.

Preparación de la muestra

Solución muestra: Extraer 10 ml de sangre periférica con un Vacutainer que contenga heparina. Centrifugar a 2000 revoluciones por minuto (rpm) por 5 min. Extraer el plasma (sobrenadante) y se desecha el paquete celular. Colocar 0.2 ml de plasma en dos tubos de ensaye y agregar 0.8 ml de ácido acético glacial a cada muestra, mezclar ligeramente y dejar reposar por 2 min. Adicionar 4 ml de anhídrido acético lentamente, con el propósito de precipitar las proteínas contenidas. Centrifugar a 2000 rpm por 5 min. Recuperar todo el sobrenadante y colocarlo en otro tubo de ensaye. Una muestra es considerada como blanco del plasma y se guarda para calibración del espectrofotómetro.

Desarrollo de color

A la segunda solución muestra, a los tubos de la curva patrón y al reactivo blanco, agregar 0.1 ml del reactivo de deshidratación. La temperatura de la mezcla deberá aumentar dentro de los 2 min. inmediatos a la adición del reactivo de deshidratación, si esto no sucede, agregar 0.1 ml. Dejar reposar dos min. La temperatura de la muestra se ajusta a 25° C en baño de agua por una hora. Agregar 1 ml de solución ácida al reactivo blanco, agitar vigorosamente y colocar nuevamente en baño de agua. Repetir este procedimiento a la curva patrón y muestra de plasma, a intervalos de 1 min. (con el propósito de que todos los tubos tengan el mismo tiempo en el desarrollo de color) y dejar reposar 20 min. a 25° C.

Lectura de absorbancia

Ajustar la absorbancia del espectrofotómetro a cero utilizando el reactivo blanco en una longitud de onda de 620 nm. Leer la absorbancia de la curva patrón y de la muestra a intervalos de 1 min. Finalmente leer la absorbancia del blanco del plasma. Leer la absorbancia a 620 nm.

CUANTIFICACIÓN DE COLESTEROL

| Tubo | Curva patrón | | | | | | Muestras | | |
|-----------------------------|--------------|-----|-----|-----|-----|-----|----------|-----|-----|
| | Blanco | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 |
| Colesterol (ml) | | 0.3 | 0.6 | 0.9 | 1.2 | 1.5 | - | - | - |
| Ácido acético (ml) | 2.4 | 2.1 | 1.8 | 1.5 | 1.2 | 0.9 | 0.9 | 0.8 | 0.6 |
| Agua (ml) | 0.6 | 0.6 | 0.6 | 0.6 | 0.6 | 0.6 | - | - | - |
| Plasma (ml) | - | - | - | - | - | - | 0.1 | 0.2 | 0.4 |
| Anhídrido acético (ml) | - | - | - | - | - | - | 4 | 4 | 4 |
| Sol. deshidratación (ml) | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| Sol. ácida (ml) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |

Manejo de resultados

De acuerdo a la construcción de la curva patrón y la obtención de la ecuación de linearización de la curva, realizar una intrapolación o extrapolación, según sea el caso, de los valores de absorbancia obtenidos de las muestras de plasma. Los gráficos deberán incluir la ecuación de la curva de regresión lineal así como el coeficiente de correlación.

REPORTE DE RESULTADOS

Elaborar un reporte de no más de tres cuartillas donde se incluya Título, introducción, planteamiento del problema, hipótesis, objetivos, metodología, resultados, discusión de resultados, conclusiones y bibliografía.

Elaborar un anteproyecto de trabajo de investigación sobre cuantificación de lípidos.

CUESTIONARIO

- 1.- Detalle la clasificación de los lípidos.
- 2.- ¿Cuál es la importancia biológica del colesterol?

BIBLIOGRAFÍA

1. Alberts B., A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts y P. Walter. 2004. Biología Molecular de la Célula. 3^a. ed. Ed. Omega. España.
2. Carr J., J. y Dreker J., I. 1956. Simplified Rapid Technic for the Extraction and Determination of Serum Cholesterol without Saponification. Clinical chemistry, 2(5): 353-368.

Unidad 2

Embriología Animal

INTRODUCCIÓN

Las funciones fundamentales de la materia viva son el metabolismo y la reproducción; donde el metabolismo permite la sobrevivencia de un organismo vivo como individuo y la reproducción permite la sobrevivencia de los seres vivos como especie, lo cual trae aparejado el proceso de evolución y adaptación.

Para cumplir la función de reproducción la naturaleza ha desarrollado dos procesos que son la reproducción vegetativa y la reproducción gamética; para cumplir la segunda la naturaleza a lo largo del tiempo ha desarrollado los sistemas reproductores, generadores de los gametos masculinos y femeninos que al unirse durante la fecundación inician el desarrollo embrionario. La embriología es la rama de las ciencias biológicas que ya no es solo descriptiva sino que ha ampliado sus metas y actualmente se ha transformado en una materia que analiza los mecanismos genéticos y moleculares que dan como resultado el desarrollo del embrión.

En esta unidad con las prácticas implementadas pretendemos abarcar algunos aspectos sobresalientes de la embriología iniciando con una práctica que nos adentra en los mecanismos de formación y maduración de los gametos, para continuar con la descripción de como éstos tienen la capacidad de sobrevivir en un medio generalmente hostil en base a sus características morfológicas y funcionales, para cumplir su primordial función que es la unión en el proceso de fecundación, dando inicio a los primeros estadios de desarrollo embrionario, caracterizados por sus exuberantes procesos de diferenciación celular y que son analizados en la tercera práctica de esta unidad denominada desarrollo embrionario; en la cuarta práctica pretendemos que el alumno analice la estructura de los sistemas reproductores en el contexto fisiológico de los ciclos sexuales y de ésta manera haga una integración entre la estructura y la función de los sistemas reproductores.

Por y con lo anteriormente expuesto queremos despertar en el alumno su interés y su capacidad de maravillarse ante un proceso tan complejo y a la vez tan perfectamente organizado que es capaz de generar un nuevo ser vivo que perpetuara la vida del individuo como especie a lo largo del tiempo.

Y a través de los proyectos de investigación implementados queremos que el alumno retome los conocimientos adquiridos previamente para proponer un modelo experimental que permita aplicar la filosofía del nuevo plan de estudios en la que deseamos que el alumno no sea pasivo en el proceso de enseñanza aprendizaje sino que sea participativo, crítico y propositivo; para que de ésta manera adquiera el rigor científico necesario para afrontar los retos que presenta un mundo cada día más competitivo. En la medida en que logremos inculcar en el alumno dichas cualidades lograremos formar cada vez mejores profesionistas, adaptados a un mercado de trabajo cada día más exigente.

CRITERIOS DE EVALUACIÓN UNIDAD DE EMBRIOLOGÍA

Cada una de las unidades tendrá una mecánica de evaluación independiente que al finalizar el curso se plasmará en calificaciones específicas por unidad, que deberán ser aprobatorias para poder exentar de primera y segunda vuelta dicho laboratorio.

REGLAS GENERALES

La asistencia al laboratorio es obligatoria y el alumno deberá de tener por lo menos un 80% de asistencias para poder tener derecho a la calificación de la unidad correspondiente.

La puntualidad es importante y se dará una tolerancia máxima de 15 min para poder llegar al laboratorio y tener derecho a la asistencia correspondiente

El alumno tiene estrictamente prohibido ingerir alimento y bebidas en el laboratorio.

El alumno tiene la obligación de usar bata durante su permanencia en el laboratorio; no podrá trabajar sin ella.

Durante una sesión de laboratorio el alumno solo podrá abandonarlo bajo consentimiento del profesor de laboratorio correspondiente

En el caso específico de la unidad embriología se dará una introducción previa a cada práctica donde se tocarán los contenidos más importantes de teoría y de fundamentación metodológica para iniciar la metodología correspondiente.

Para el trabajo en el laboratorio los alumnos formaran equipos.

Se entregará un informe por práctica junto con su respectivo cuestionario; se entregarán manuscritos con letra legible y en un fólder al finalizar cada práctica, para ser revisados por el profesor.

Los reportes y cuestionarios de prácticas serán elaborados por todo el equipo. Los alumnos integrantes cada equipo firmarán de conformidad todos los reportes; no se recibirán dichos reportes si no llevan las firmas correspondientes.

Los reportes por cada práctica tendrán los siguientes rubros:

- a). Título.
- b). Introducción.
- c). Objetivos.
- d). Metodología fundamentada
- e). Material y equipo.
- f). Resultados.
- g). Análisis de resultados.
- h). Conclusiones
- i). Bibliografía.
- j). Cuestionario (al final de cada reporte)

MECANISMO DE EVALUACIÓN

La evaluación de la unidad de Embriología está dada por dos parámetros que son:

Promedio de calificaciones por práctica, (4 en total) que a su vez contemplará los siguientes rubros: a). Asistencia y puntualidad, b). Comportamiento y desempeño del alumno en el

laboratorio, c). Entrega de trabajos de laboratorio (cuestionarios, reportes de práctica etc.). Tendrá un valor de “40%” de la calificación de la unidad.

No tendrá derecho a la calificación por práctica correspondiente el alumno que haya faltado injustificadamente a las sesiones programadas para cada práctica

Promedio de calificaciones de exámenes, uno por cada una de las prácticas de la unidad (4 en total) abarcando teoría y fundamentación metodológica; Tendrá un valor de “60%” de la calificación de la unidad.

No tendrá derecho al examen correspondiente el alumno que haya faltado injustificadamente a las sesiones programadas para cada práctica

Ambos promedios, deberán de ser aprobatorios para obtener la calificación de exención. En caso contrario el alumno presentará esta unidad en la primera vuelta mediante un examen global teórico de todas las prácticas, la calificación mínima aprobatoria será de “6”, que se promediara con la calificación por práctica obtenida previamente y con los mismos porcentajes; en caso de reprobación ésta primera vuelta tendrá que presentar en segunda vuelta un examen global teórico práctico que será la calificación definitiva de la unidad.

PRACTICA No. 7

GAMETOGENESIS

INTRODUCCIÓN

Estructura general de los sistemas reproductores:

Una de las principales características de los seres vivos y en particular de los animales es la perpetuación de la especie, función que está a cargo de los sistemas reproductores los cuales independientemente del grupo taxonómico al que pertenezcan dichos animales todos comparten una estructura general común ^(Fig. 1 y 2 anexos) que a continuación se describirá.

Gónadas

Ovarios ^(fig. 3 anexos): Son órganos pares situados generalmente en la región posterior del abdomen a los lados de la línea media; sus funciones más importantes son: Producción de hormonas sexuales (estradiol, progesterona) y producción de los gametos (ovogénesis).

Su estructura general se puede dividir en tres áreas bien delimitadas que son: a) hilio ovárico sitio por donde entran y/o salen vasos sanguíneos y nervios, b) Médula ovárica formada por estroma ovárico (tejido conectivo en sus diferentes variedades) vasos sanguíneos de mediano y pequeño calibre c) Corteza ovárica formada por tejido conectivo, capilares y folículos ováricos, estos son estructuras encargadas de contener y madurar a los gametos femeninos.

Testículos ^(fig. 4 anexos): Son órganos pares situados en la región posterior de la cavidad abdominal a los lados de la línea media en la mayoría de los animales exceptuado a los mamíferos en los que se encuentran situados en una estructura denominada bolsa escrotal; sus funciones más importantes son: Producción de hormonas sexuales (Testosterona entre otras) y producción de los gametos (espermatogénesis).

Su estructura general se divide en dos compartimientos que son: a) Tejido intersticial que esta constituido por tejido conectivo vasos sanguíneos (principalmente capilares) y células intersticiales o de Leydig productoras de Testosterona, b) túbulos seminíferos en donde se encuentran las células de Sertoli (productoras de Inhibina, activina y factor estimulante de las células intersticiales), y las células de la línea espermatogénica.

Gonoducto

Son una serie de conductos que llevan a los gametos desde su sitio de producción en las gónadas hasta el sitio de fecundación que puede ser dentro o fuera del sistema reproductor; las estructuras más comunes para el sistema reproductor femenino son tubas uterinas, útero y vagina; mientras que para el sistema reproductor masculino son epidídimo, conductos deferentes, conductos eyaculadores e incluso uretra.

El orificio de salida del gonoducto puede ser exclusivo para el sistema reproductor y se denomina Gonoporo, puede ser compartido con el sistema urinario llamándose Poro urogenital además puede ser compartido con el sistema urinario y el sistema digestivo denominándose Cloaca.

Estructuras accesorias dependiendo del sistema reproductor las más importantes serán: vesículas seminales, próstata proveen nutrientes y el medio líquido donde se desplazan los espermatozoides; glándulas vitelinas y glándulas calcáreas las cuales proveen nutrientes y cubiertas de protección para el cigoto.

OVOGÉNESIS

El proceso de maduración de los gametos femeninos está totalmente relacionado la maduración de los Folículos ováricos por lo que iremos describiendo e interrelacionando ambos procesos.

La ovogénesis se lleva a cabo en la corteza ovárica y específicamente dentro del Folículo ovárico, este proceso se inicia desde la etapa embrionaria aproximadamente a la sexta y séptima semana de desarrollo embrionario en humanos con la formación del Folículo primordial ^(fig. 5 anexos) que se encuentra constituido por una sola capa de células foliculares planas rodeando a una ovogonia. A partir de ésta estructura y de éste momento inicia la foliculogénesis y la ovogénesis las cuales se llevan a cabo en dos fases: la primera es denominada fase de maduración lenta que abarca hasta la pubertad. Durante dicho periodo el folículo madura hasta originar al Folículo primario ^(Fig. 6 anexos) caracterizado por estar formado por una sola capa de células foliculares poliédricas rodeando a un ovocito primario con aproximadamente 45 a 50 μm de diámetro; de lo anterior se deduce que la ovogonia maduró hasta la etapa de paquiteno en profase de la primera división meiótica.

La segunda fase de maduración folicular y ovular se denomina etapa de maduración rápida y coincide con los ciclos estrales o el ciclo menstrual humano. Durante dichos ciclos los folículos sufren una serie de cambios estructurales y funcionales que culminan en la ovulación y la posterior formación del Cuerpo lúteo. Para su estudio pueden ser clasificados de la siguiente manera: a) Folículo secundario, b) folículo terciario y c) Folículo Maduro; que a continuación describiremos.

El folículo primario comienza a aumentar de volumen por la acumulación de nutrientes del ovocito primario y por el aumento en el número de capas de células foliculares dando como consecuencia la formación del folículo secundario o antral ^(Fig. 7 anexos) que se define como un folículo formado por un ovocito primario rodeado por dos o más capas de células foliculares sin antro folicular.

El folículo secundario continúa su maduración hasta transformarse en un folículo terciario o antral ^(Fig. 8 anexos) que se caracteriza por el aumento de tamaño y por su mayor complejidad misma que a continuación se describe. Esta constituido del interior hacia el exterior fuera por un ovocito primario, rodeado de una estructura translúcida denominada zona pellucida formada por carbohidratos de alto peso molecular siendo el más importante el ácido hialurónico además de proteínas marcadoras ovulares (ZP 1, ZP2, ZP 3). En el exterior de la zona pellucida se encuentra la corona radiada formada por células foliculares modificadas en su estructura pasando de ser poliédricas a alargadas y dispuestas radialmente al ovocito. El folículo aumenta de tamaño de manera importante por la aparición paulatina de otra estructura denominada Antro folicular que a su vez contiene líquido folicular, por fuera de éste las células foliculares que siguen proliferando se organizan para formar una nueva estructura denominada Capa granulosa (por su aspecto al microscopio a poco aumento), entre ésta estructura y la corona radiada se encuentra el Cumulus Oophorus. En el exterior de la capa granulosa se localiza la teca interna altamente vascularizada que en conjunto con la capa granulosa son las responsables de la producción de Estrógenos mediante el mecanismo de la doble célula doble hormona ^(Cuadro 1) finalmente el folículo está delimitado del resto de las estructuras ováricas por la teca externa de tipo membranoso.

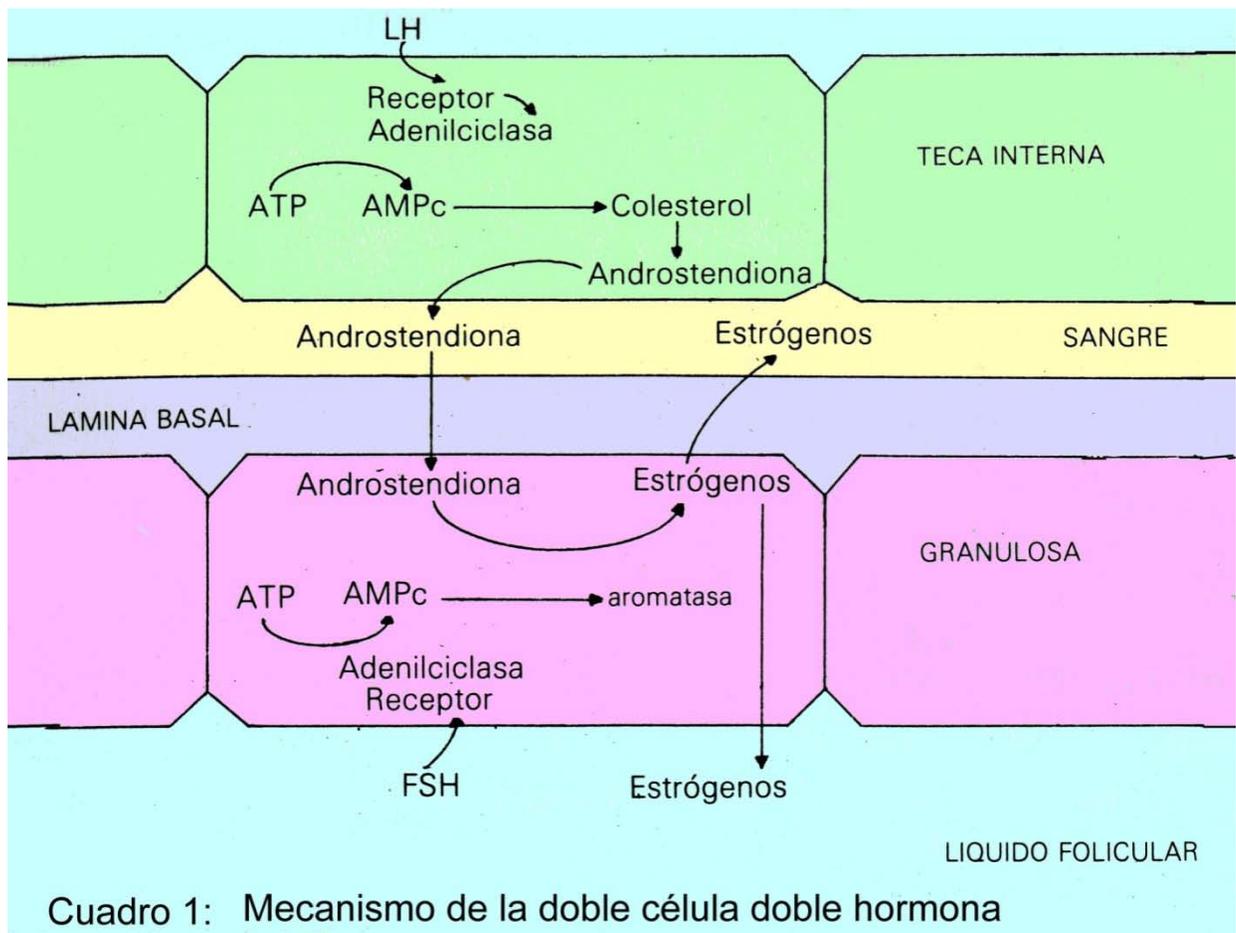
La etapa final de maduración folicular es el folículo maduro o de Von Graff ^(Fig. 9 anexos) que básicamente conserva las mismas estructuras que el terciario diferenciándose en su posición en

el ovario que es más periférica e incluso hace protusión en su superficie, el Cumulus Oophorus es pediculado y es de mayor tamaño; hasta aquí termina la maduración folicular.

El siguiente evento en el proceso de foliculogénesis y ovogénesis es la Ovulación (Fig. 10 anexos) que está determinada por incremento en la concentración de Hormona luteinizante, que se define como la ruptura del folículo maduro y la expulsión del ovocito. En dicho evento también el ovocito primario aumenta su velocidad de maduración y se transforma en ovocito secundario (en primates se detiene en metafase II) y solamente si hay fecundación se termina de madurar dicho folículo.

El resto del folículo se queda en el ovario y se transforma en Cuerpo lúteo (Fig. 11 anexos) productor de progesterona.

Folículos atrésicos son folículos que en cada ciclo inician su maduración pero no la terminan, si bien no llegan a la ovulación y no generan ovocitos tienen una función biológica muy importante que es la de contribuir en la producción de estrógenos.



ESPERMATOGÉNESIS

A diferencia de la ovogénesis la espermatogénesis (Fig. 12 anexos) inicia en la pubertad, se lleva a cabo dentro de los túbulos seminíferos (Fig. 13 anexos) a partir de las Espermatogonias (Fig. 14 y 16 anexos) de tipo "A" (Gonias A) que son las más periféricas dentro del túbulo seminífero y se reproducen por mitosis dando origen a un 50% de Gonias A y a un 50% de Espermatogonias

de tipo “B” (Gonias B) asegurando así la celularidad tubular de Gonias A y por tanto de Gonias B con lo cual se asegura el proceso espermatogénico.

Las Gonias B a su vez continúan el proceso espermatogénico reproduciéndose por mitosis generando a dos Espermatocitos primarios^(Fig. 15 anexos) (Cito 1rio) que llevan a cabo la primera división meiótica y termina cuando los Citos 1rios se transforman en Espermatocitos secundarios^(Fig. 16 anexos) (Cito 2rio) y después de una corta etapa de interfase caracterizada por carecer de fase “S”; lleva a cabo la segunda división meiótica que culmina cuando se transforma en una Espermatida^(Fig. 16 anexos)

La espermatida inicia un proceso de maduración denominado Espermiogénesis^(Fig. 17 anexos) que consiste en la transformación de una célula de forma y dimensiones más o menos comunes a una especializada con una forma y dimensión muy características correspondientes al Espermatozoide^(Fig. 18 anexos) Las estructuras directamente involucradas en dicho evento son: a) el Aparato de Golgi que da origen a el sistema acrosómico formado por la caperuza (que es un sistema membranoso) y el acrosoma, que junto con b) el núcleo (que ha perdido mucho volumen) forman la cabeza, c) El centriolo que se divide en un centriolo proximal formando el cuello y en uno distal que comienza a migrar distalmente y conforme va migrando va formando el flagelo espermático y d) las mitocondrias que se reorganizan pierden volumen y forman la pieza intermedia del espermatozoide.

Generalidades:

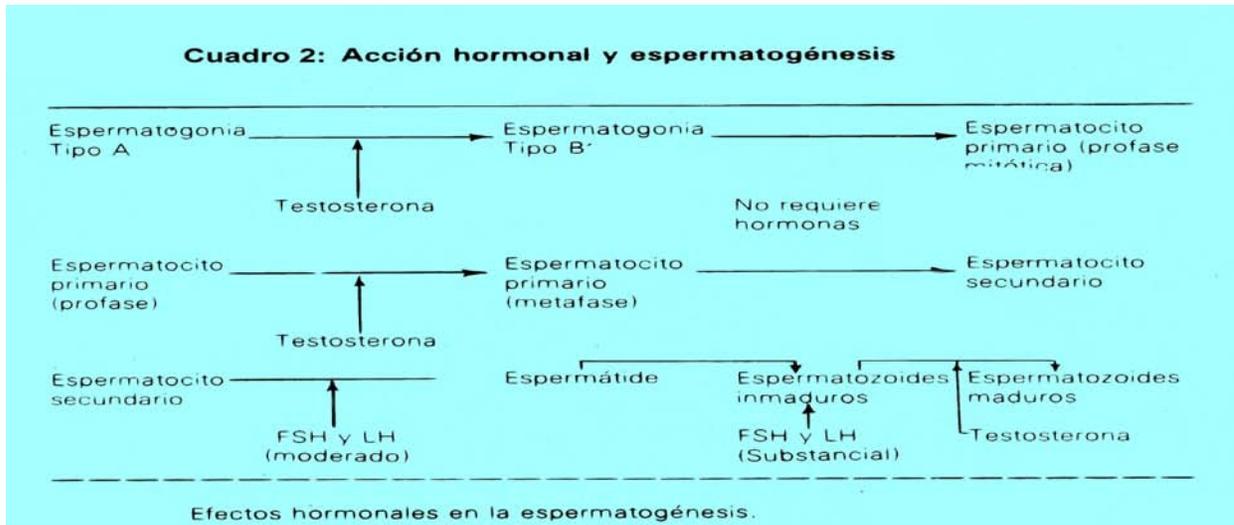
El proceso espermatogénico está regulado por hormonas hipofisarias denominadas en conjunto gonadotropinas, estas son: hormona estimulante de la espermatogénesis (ESH por sus siglas en ingles) o FSH masculina y la hormona estimulante de las células intersticiales (ICSH) o LH masculina, también por la Testosterona que es una hormona testicular. Todas en conjunto intervienen en diferentes pasos críticos^(cuadro 2)

La espermatogénesis es un proceso en general muy prolongado, en humanos dura alrededor de 74 días y en rata aproximadamente 25, días siendo muy variable en las diferentes especies de animales.

La espermatogénesis se lleva a cabo a temperatura corporal excepto en mamíferos que la realizan a una temperatura menor a la misma

La espermatogénesis se lleva a cabo en los testículos y específicamente en los túbulos seminíferos, donde se alcanza la madurez estructural del espermatozoide para que en el epidídimo se adquiera la madurez funcional (movilidad).

El tamaño y la forma de los espermatozoides maduros es muy variable^(Fig. 19 anexos) dependiendo de la especie animal.



FUNDAMENTO

La observación de cortes histológicos de testículo y Ovario permitirá la identificación de las características estructurales de dichos órganos y de las fases de maduración de los gametos masculinos y femeninos.

OBJETIVOS

El alumno identificará en laminillas histológicas de ovario la estructura general de dicho órgano, las diferentes etapas de maduración en el proceso de foliculogénesis y ovogénesis así como la estructura del cuerpo lúteo.

El alumno identificará en laminillas histológicas de testículo la estructura del tejido Intersticial del testículo, especialmente las células de Leydig y en los túbulos seminíferos a las células de Sertoli y a las diferentes etapas de maduración de las células de la línea espermatogénica.

El alumno analizará la importancia biológica de la gametogénesis.

MATERIAL EQUIPO Y REACTIVOS

- Microscopio compuesto
- Papel seda
- Aceite de inmersión

MATERIAL BIOLÓGICO

- Laminillas de cortes histológicos de testículo teñidos con técnica de hematoxilina-eosina.
- Laminillas de cortes histológicos de ovario teñidos con técnica de hematoxilina-eosina.

PROCEDIMIENTO

Realizar la observación de las laminillas histológicas de ovario y testículo teñidas con técnicas de hematoxilina eosina, identificando las estructuras y las etapas de la gametogénesis en ambos órganos.

REPORTE DE RESULTADOS

El alumno elaborará los esquemas correspondientes a cada órgano observado indicando las estructuras identificadas

CUESTIONARIO

1. Especifique los términos vida y viabilidad del óvulo y los espermatozoides en humano.
2. Esquematice y especifique la regulación hormonal del eje hipotálamo hipófisis gónada.
3. Esquematice la estructura del sistema reproductor masculino y femenino en humano.
4. Especifique cuales son las funciones de las diferentes estructuras de un folículo terciario.
5. Describa cuales son las funciones del sistema acrosómico.
6. Investigue y describa las funciones de cada una de las hormonas producidas por las células de Sertoli.
7. Elabore una tabla comparativa entre Ovogénesis y Espermatogénesis

BIBLIOGRAFÍA

1. Allan F. D. (1973) Lo esencial de la embriología humana. 1ra. Ed. El Manual Moderno S. A. México.
2. Audersik T. Audersik G. (2002). Biología la vida en la tierra. 4ta. Ed. Prentice Hall. México.
3. Austin, C. R. James. R. V. Short. (1982). Células germinales y fertilización. 1^{ra} ed. vol. 1. La Prensa Médica Mexicana. México
4. Balinsky, B. I. (1983). Introducción a la embriología. 5ta Ed. Omega. España.
5. Brady J. R. (1980) Desarrollo embriológico, curso programado de anatomía y fisiología. Limusa. México.
6. Bruce Alberts, Dennis Bray, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts y James D. Watson. (2002). Biología molecular de la célula. 3rd. Omega. Barcelona España.
7. Copenhaver W., Nelly D., y Word R. (1985) Tratado de histología 17a. Ed. Interamericana. México.
8. Dollander, A. Fenart, R. (1990). Elementos de embriología, embriología general. 1^{ra} ed. Limusa. México.
9. Estrada F. E. Uribe A. M del C. (2002). Atlas de histología de vertebrados. 1ra. Ed. UNAM. México.
10. Fawcett D. W. (1989). Tratado de histología 11a Ed. Interamericana. México.
11. García, M. L.; Ocaña, C. M. M.; Cuellar, G. A. (1984). Sistema Urogenital. 1^{ra} ed. Editorial UNAM. México.
12. Hildebrand, Milton. (1991). Anatomía y embriología de los vertebrados. 1^{ra} ed. Editorial Limusa. México.

13. Houillon, C. (1977). Embriología. 4ta Ed. Editorial Omega España.
14. Lesson T. Lesson R. (1982). Atlas de histología. 1ra. ed. Interamericana. México.
15. Ruíz M. Fernanda. (1988). Fundamentos de embriología y fisiología de la reproducción. 1ra Ed.. Editorial UNAM. México
16. Weichert, C. K.; Presch, C. (1981). Elementos de anatomía de los cordados. 2da ed. Mc. Graw Hill. México.
17. Wischnitzer, S., (1980). Atlas y guía de laboratorio de embriología de vertebrados. Ed. Omega. España.

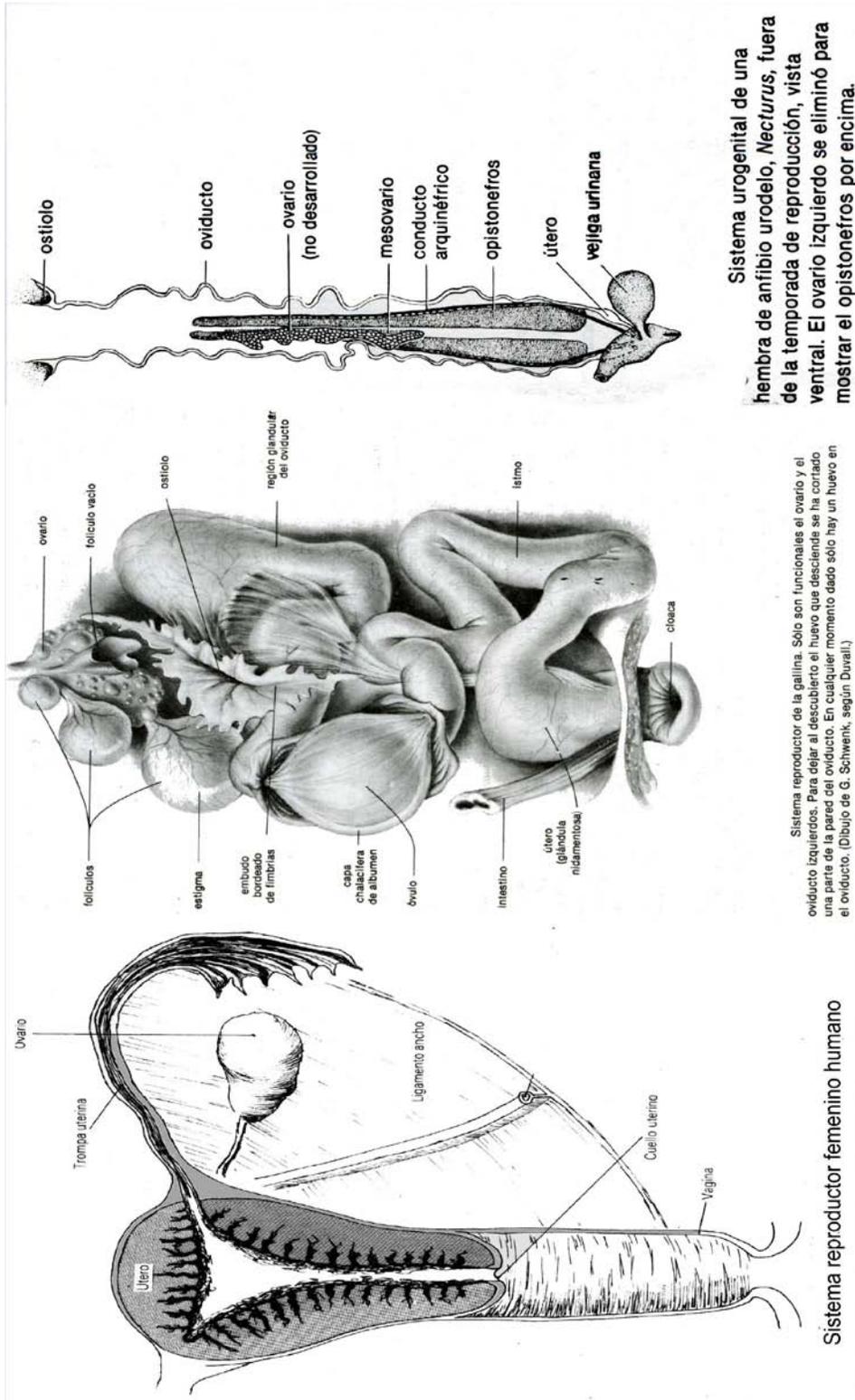
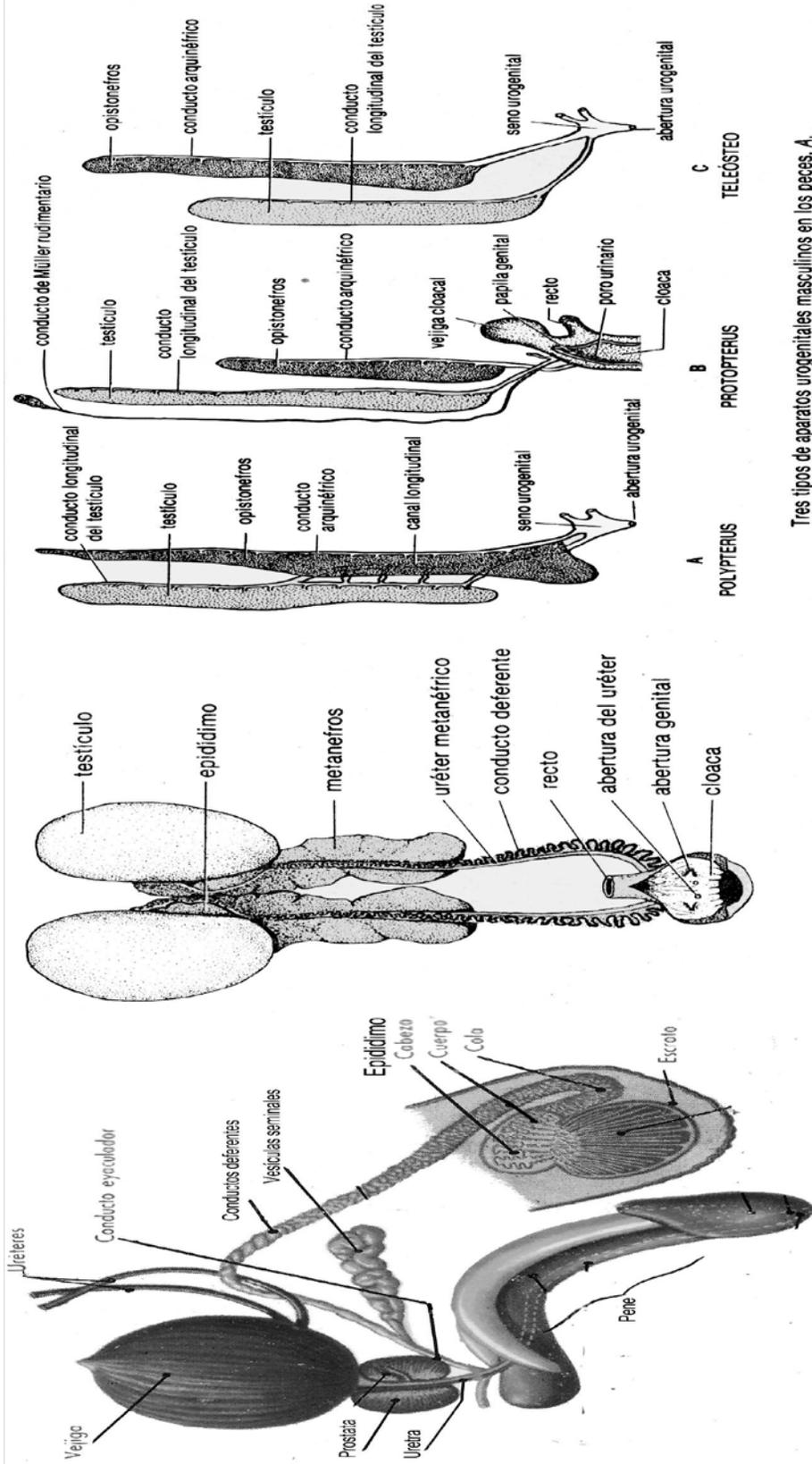


Fig 1 Comparación de sistemas reproductores femeninos

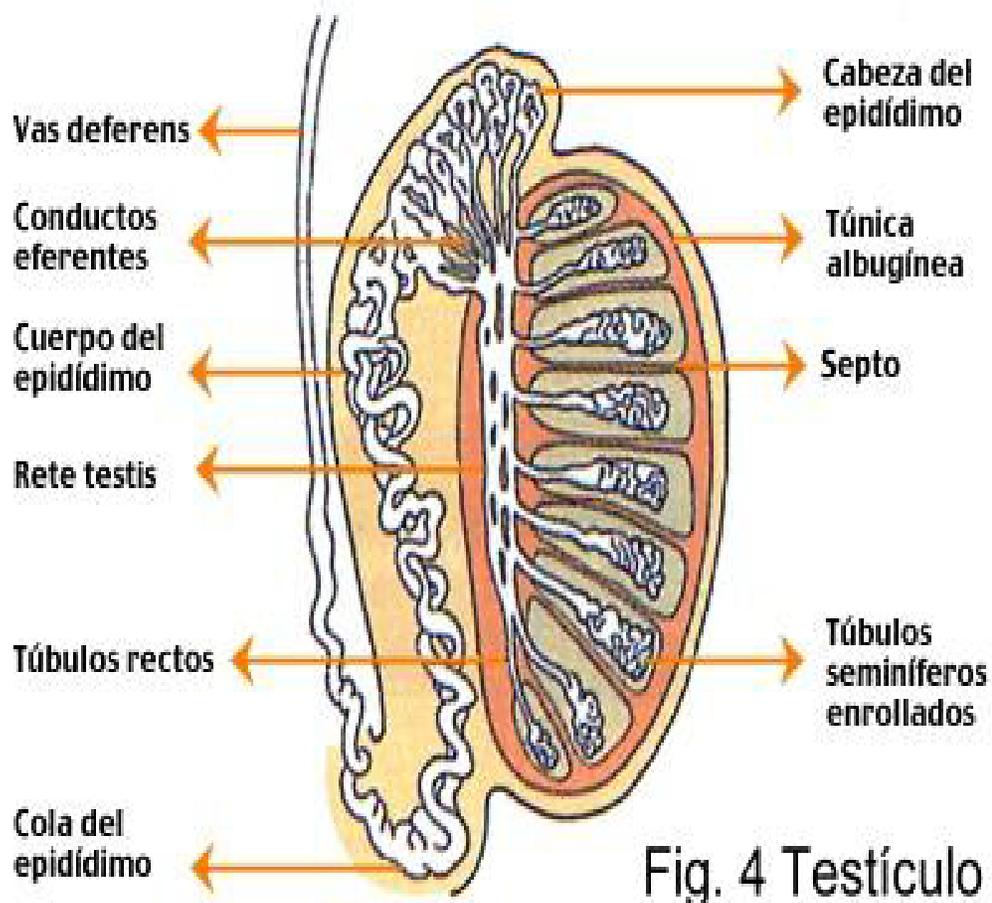
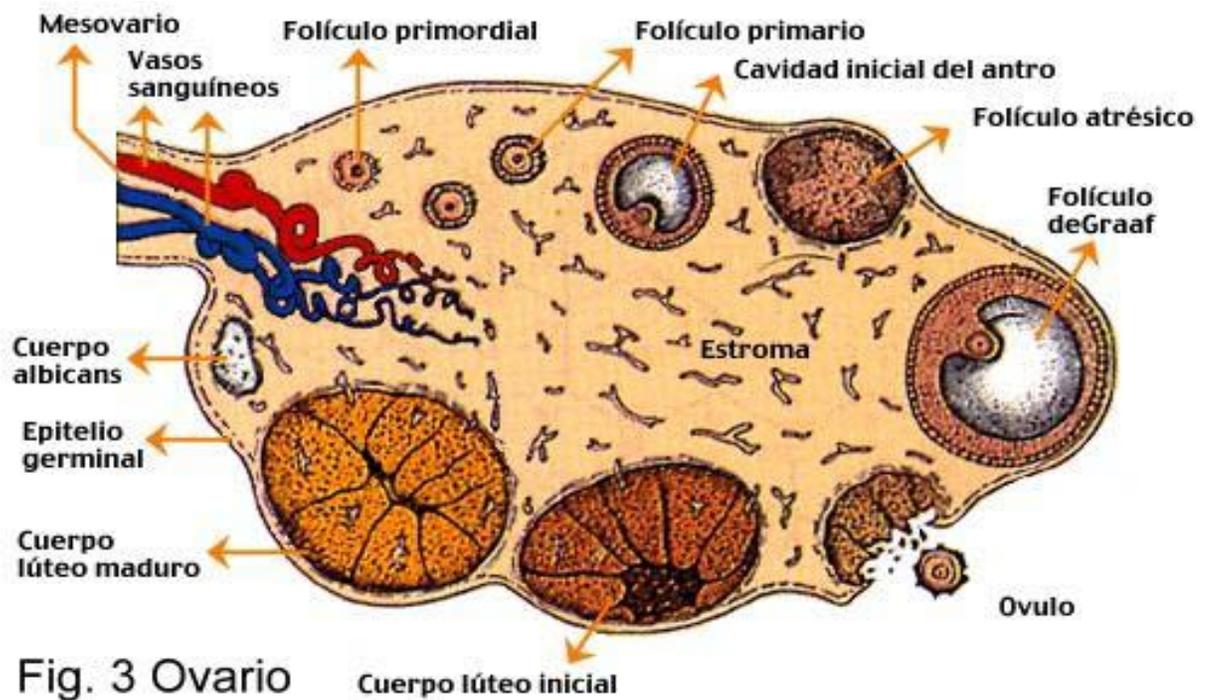


Tres tipos de aparatos urogenitales masculinos en los peces, A, Protopterus; B, Protopterus; C, teleosteo (Modificado a partir de Goodrich.)

Sistema urogenital del gallo.

Sistema reproductor masculino humano

Fig. 2 Comparación entre sistemas reproductores masculinos



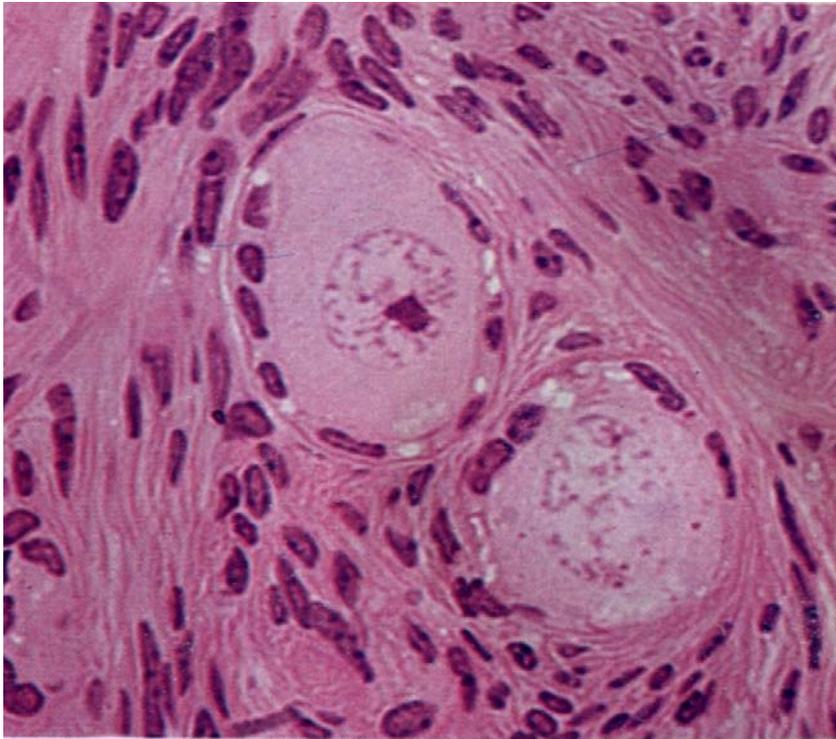


Fig. 5 Folículos primordiales



Fig. 6: Folículos primarios

G= Folículo en crecimiento
P = Folículo primario

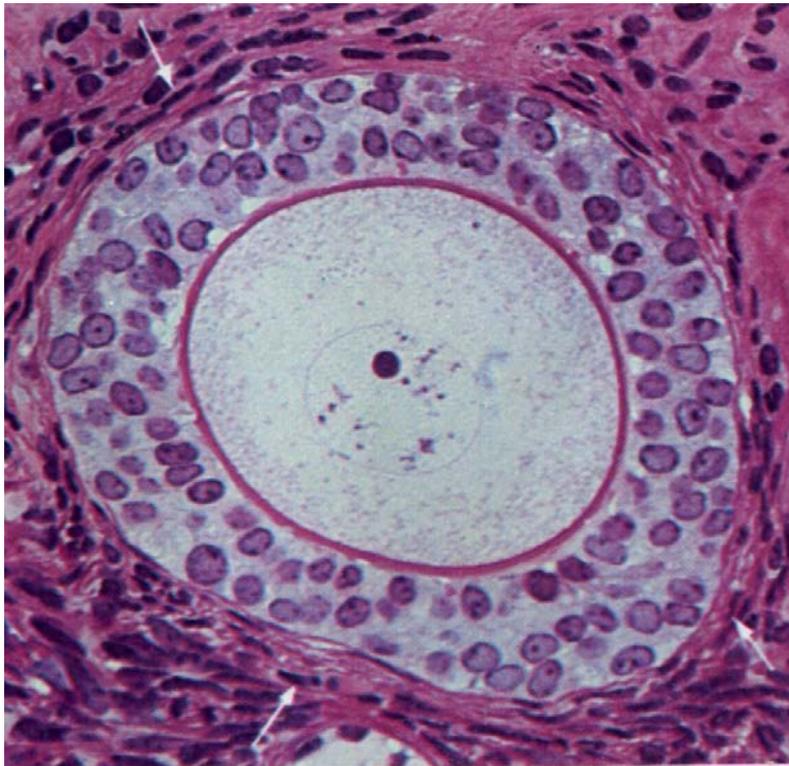


Fig . 7: Folículo secundario Flecha = Teca



Fig. 8: Folículo terciario
 Flechas = Tecas
 MG = Capa Granulosa
 A = Antro Folicular

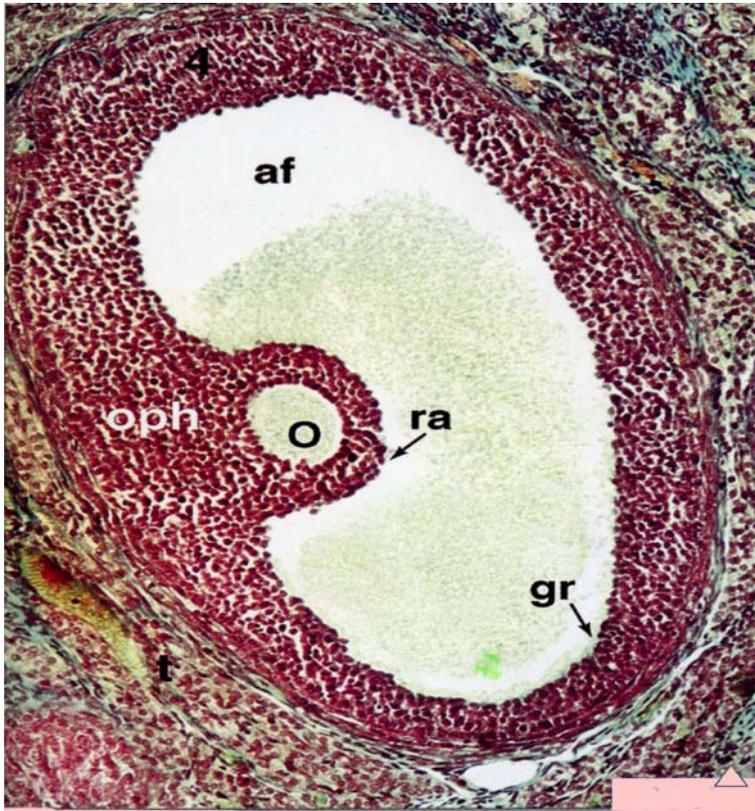


Fig. 9: Folículo maduro

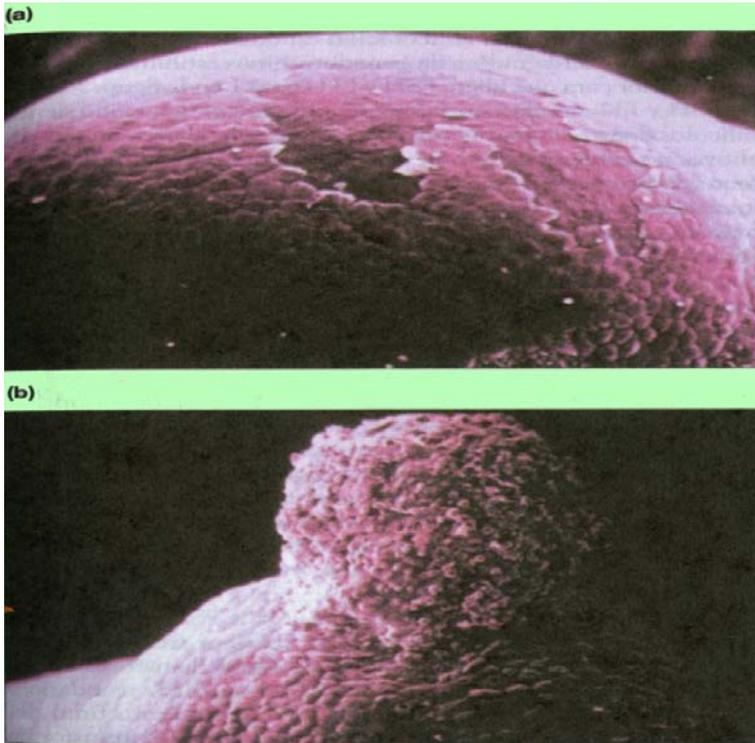


Fig. 10 La Ovulación

Fig. 11: Cuerpo amarillo Flechas = Tabiques de tejido conectivo

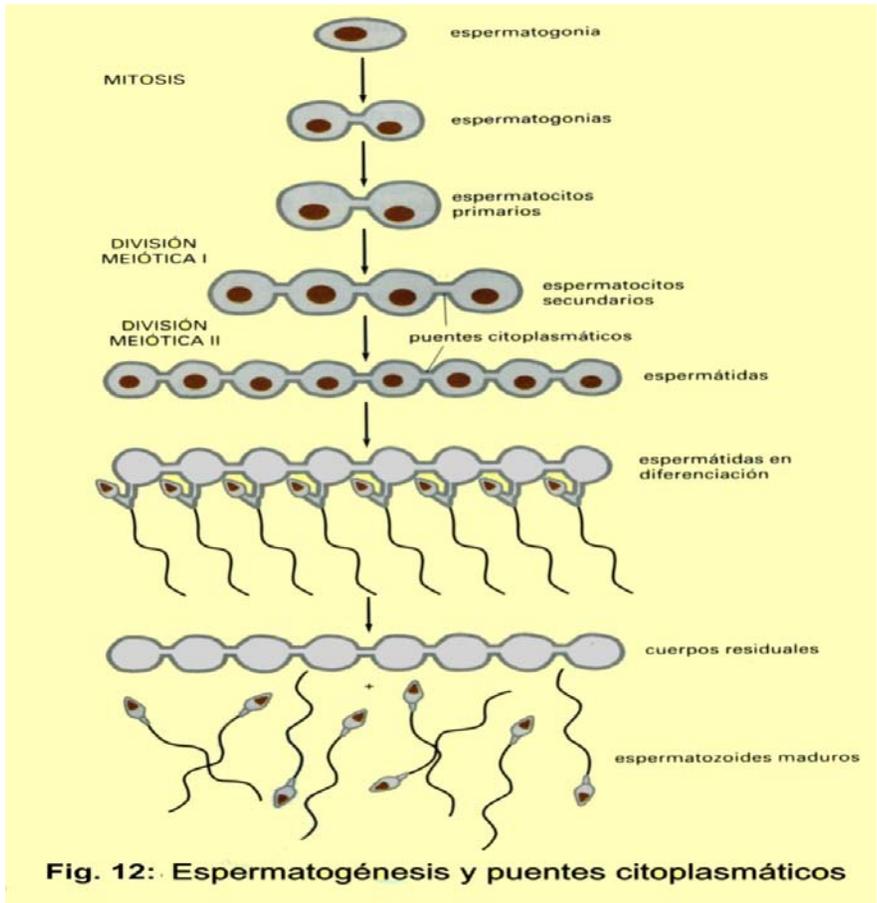
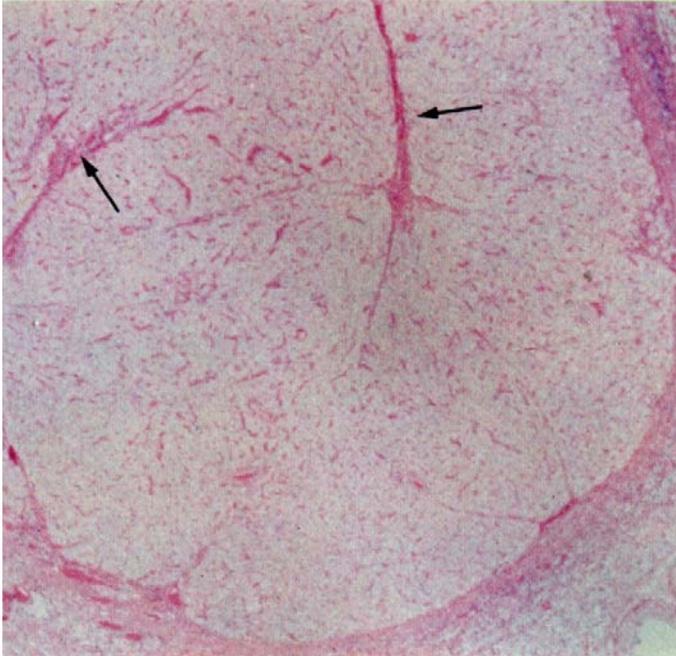
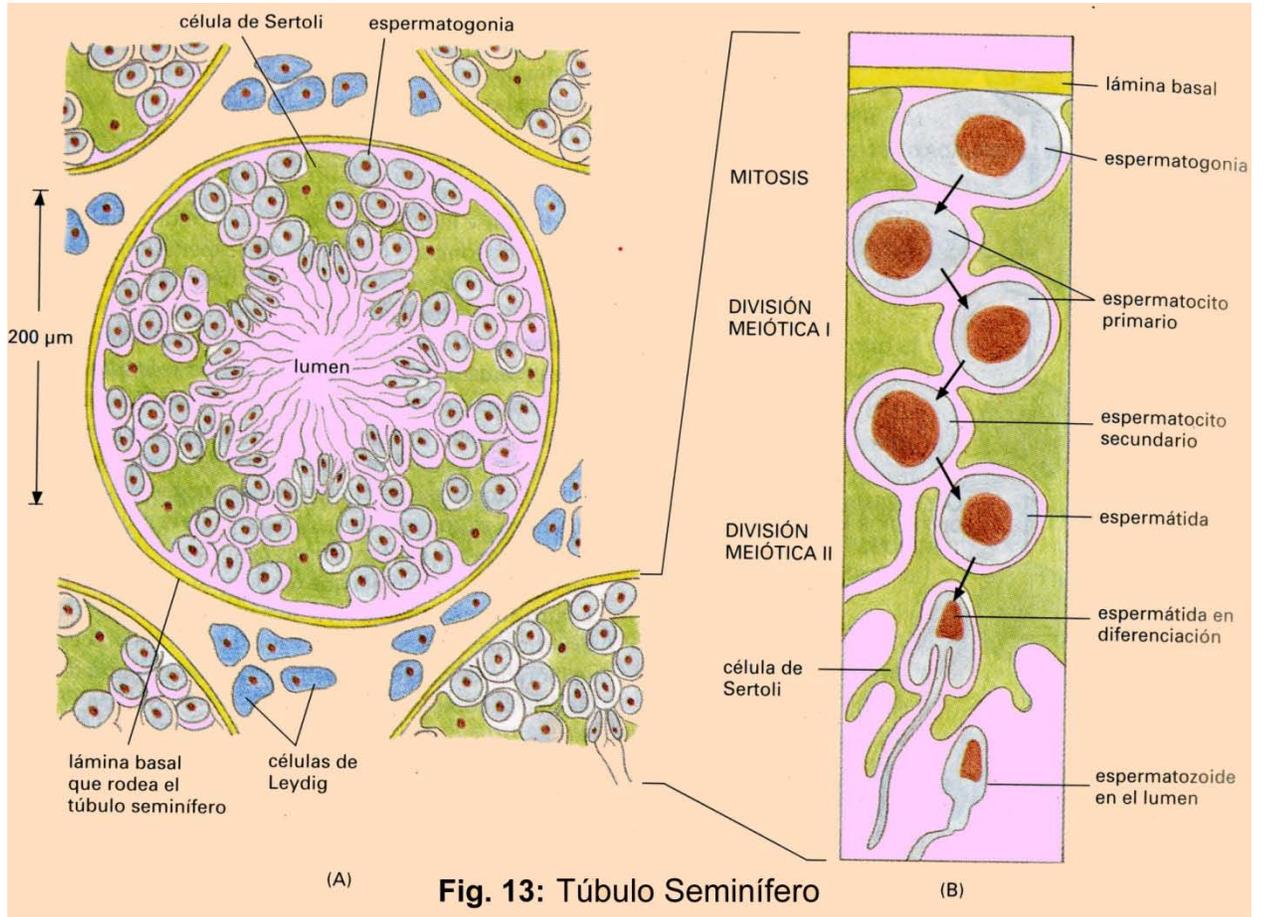


Fig. 12: Espermatogénesis y puentes citoplasmáticos



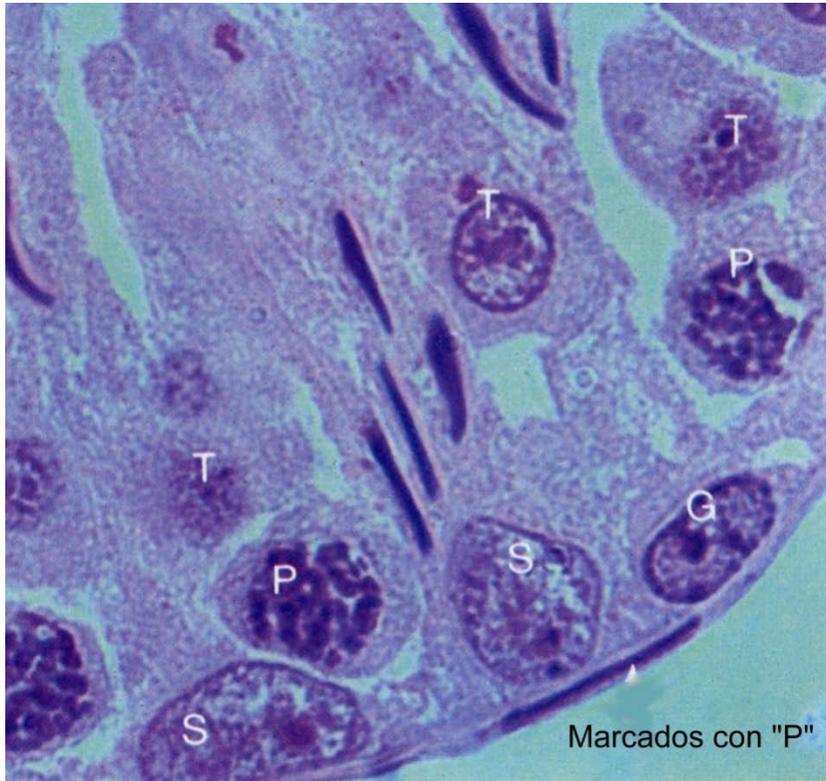


Fig:15:Túbulo seminífero gran aumento

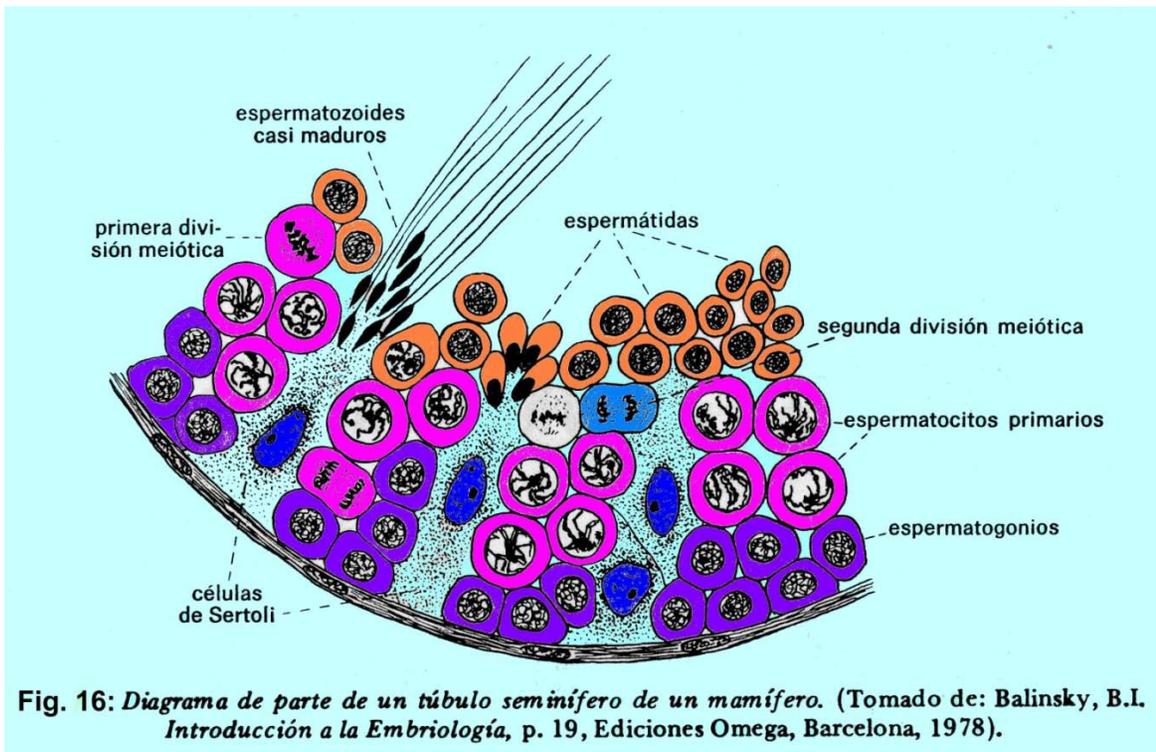


Fig. 16: Diagrama de parte de un túbulo seminífero de un mamífero. (Tomado de: Balinsky, B.I. *Introducción a la Embriología*, p. 19, Ediciones Omega, Barcelona, 1978).

Fig. 17: ESPERMIOGÉNESIS

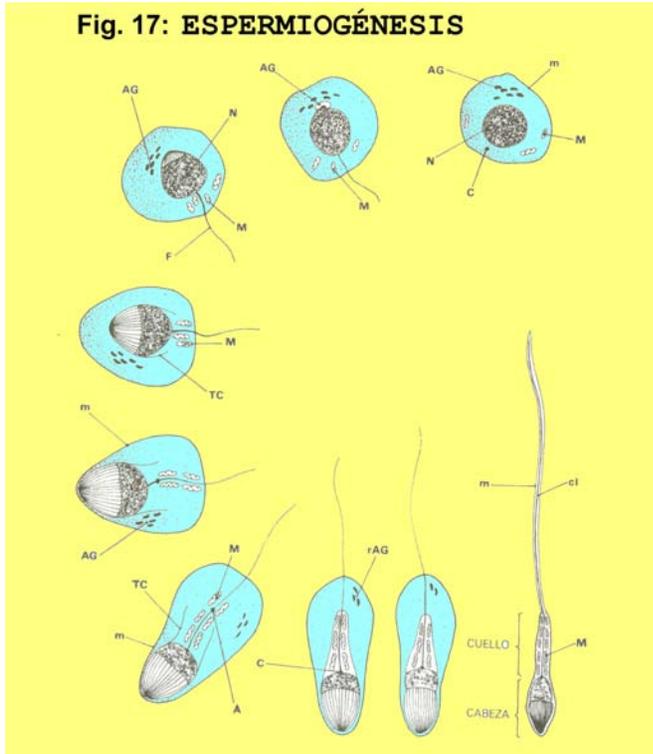


Fig. 18 Espermatzoide maduro

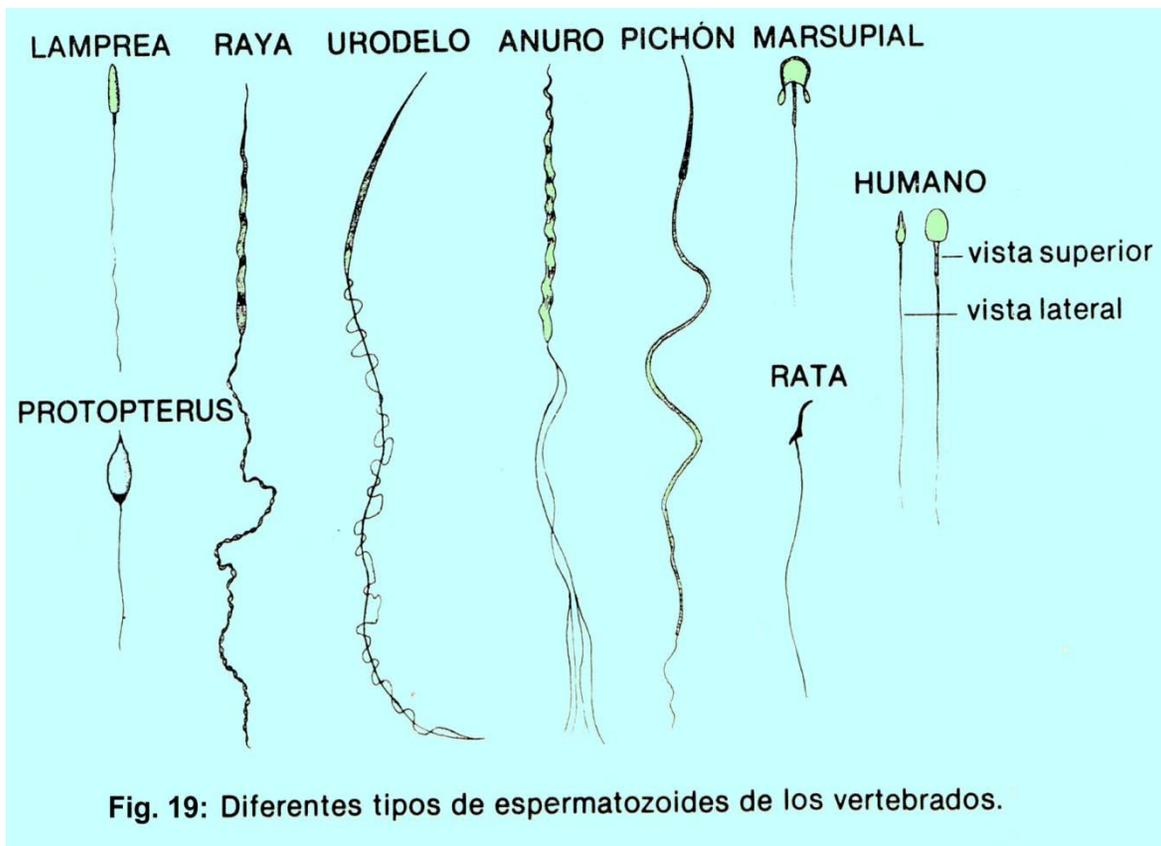
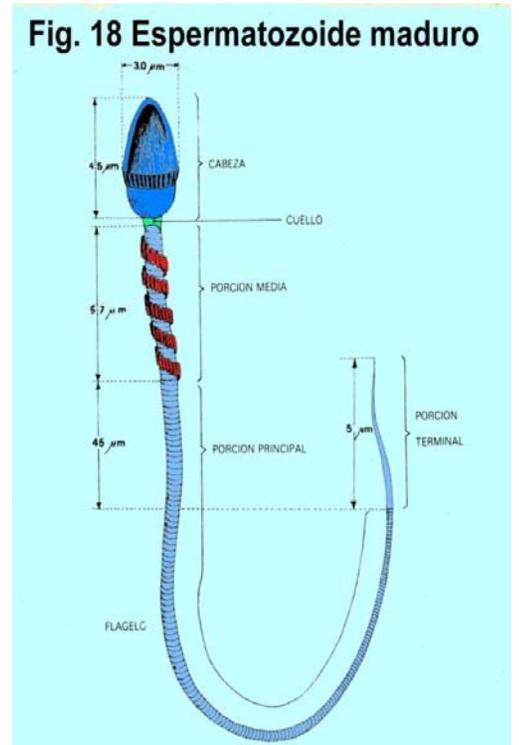


Fig. 19: Diferentes tipos de espermatozoides de los vertebrados.



Túbulo seminífero poco aumento no referido en texto



Túbulo seminífero poco aumento no referido en texto

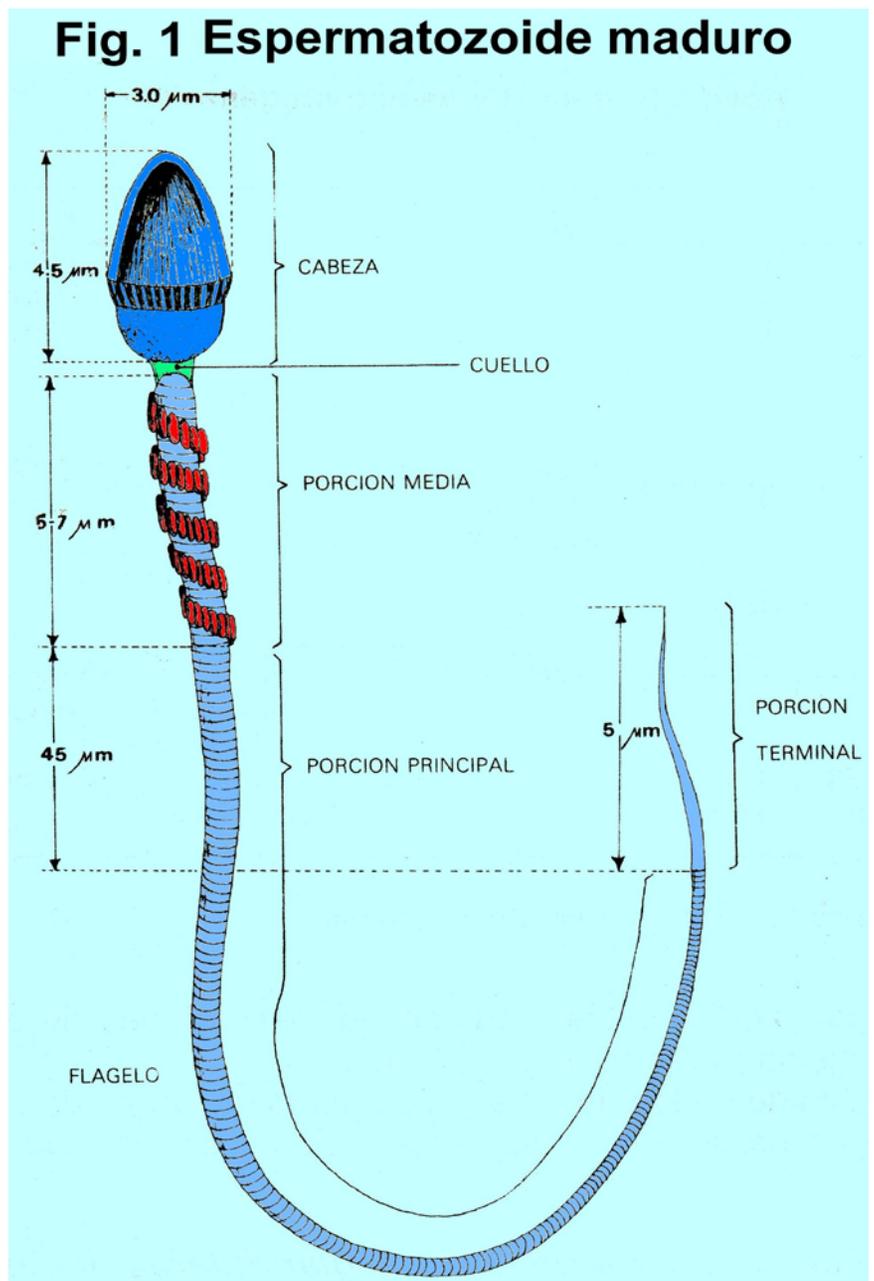
PRACTICA NO. 8 VIABILIDAD DE GAMETOS

INTRODUCCIÓN

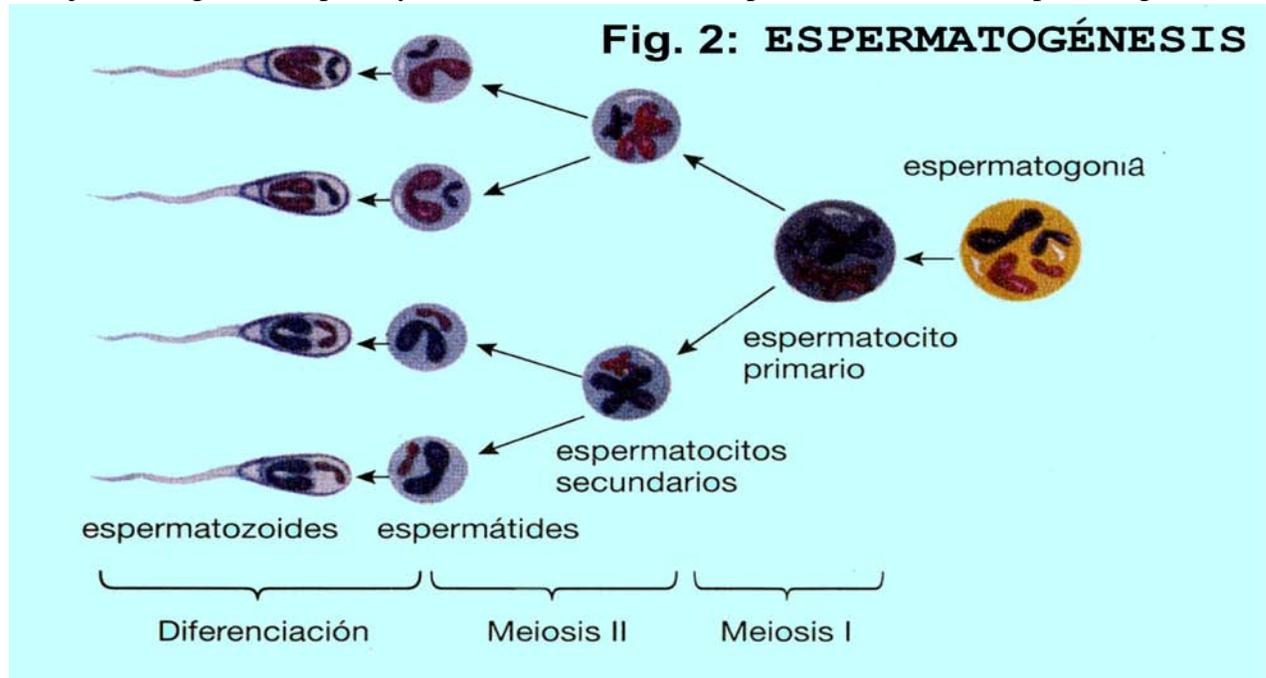
El semen es un fluido biológico que está constituido por espermatozoides y por una fase líquida denominada líquido seminal. El análisis de las características fisicoquímicas del líquido seminal, y de las características numéricas, estructurales y funcionales, de los espermatozoides se realiza mediante una metodología de laboratorio denominada espermatobioscopia que desarrollaremos en esta práctica.

Los espermatozoides se encuentran en valores de aproximadamente 5% del total del semen (espermatocrito), son células altamente especializadas cuya estructura (Fig. 1) se encuentra constituida por: a) *Cabeza* compuesta por el sistema acrosómico (caperuza y casquete) y núcleo, b) *Cuello* formado por el centriolo proximal, c) *Cuerpo o pieza* intermedia donde se encuentran organizadas las mitocondrias y d) *Cola o flagelo* que le confiere movilidad; en humano mide entre 50 a 60 μm de longitud pero el diámetro máximo en la cabeza es de aproximadamente 3 μm .

Los espermatozoides se producen en los testículos los cuales son glándulas mixtas, pares situadas generalmente en la región dorsal del abdomen en la mayoría de los vertebrados e incluso en muchos invertebrados salvo en mamíferos, en los cuales se encuentran en la bolsa escrotal ya que en éstos animales la temperatura de espermatogénesis es menor, p. ej. en



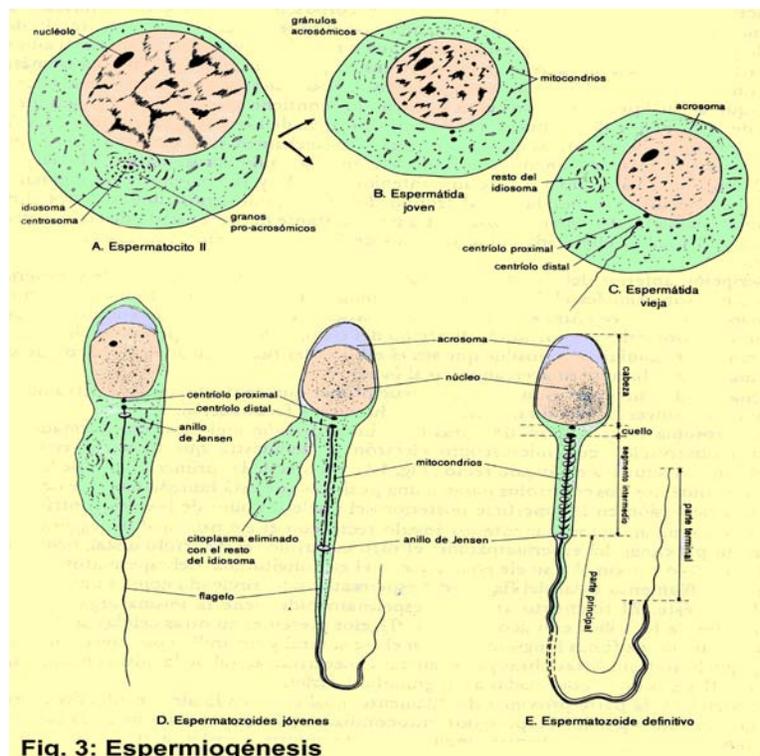
humano es de 35⁰C. Los espermatozoides se producen específicamente en los túbulos seminíferos mediante el proceso de espermatogénesis (Fig. 2), que inicia en la pubertad bajo el influjo de las gonadotropinas y de la testosterona con la proliferación de las espermatogonias



de tipo "A" que por mitosis formarán un 50% de espermatogonias "A" y 50 % de espermatogonias "B" las cuales se dividen por mitosis para formar dos espermátocitos primarios (primera división mitótica) que a su vez después de una breve interfase forman a los espermátocitos secundarios (segunda división mitótica), para dar origen a las espermátides que por un proceso de maduración llamado Espermiogénesis (Fig. 3) formarán finalmente al espermatozoide maduro estructuralmente.

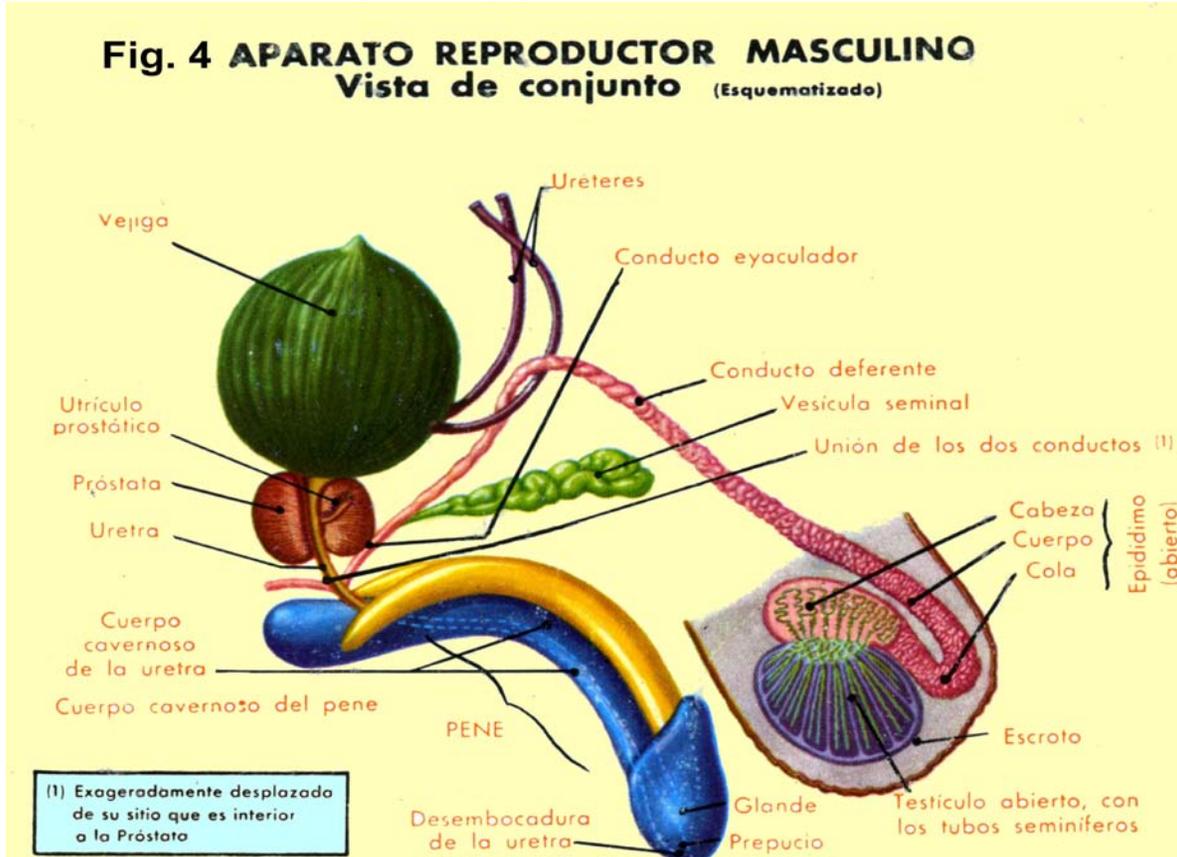
El líquido seminal es producido por diferentes estructuras del sistema reproductor masculino (Fig. 4) entre las que se encuentran a) El epidídimo y las glándulas de Cowper, b) Las vesículas seminales y c) La próstata.

El epidídimo (Fig. 4) contribuye con un escaso volumen a la producción de líquido seminal básicamente su función es la de almacenar a los espermatozoides (más o menos 21 días) y madurarlos funcionalmente para que adquieran movilidad bajo influjo de la testosterona, aunque en todo el trayecto de las vías espermáticas no desarrollan movilidad activa por el pH ácido



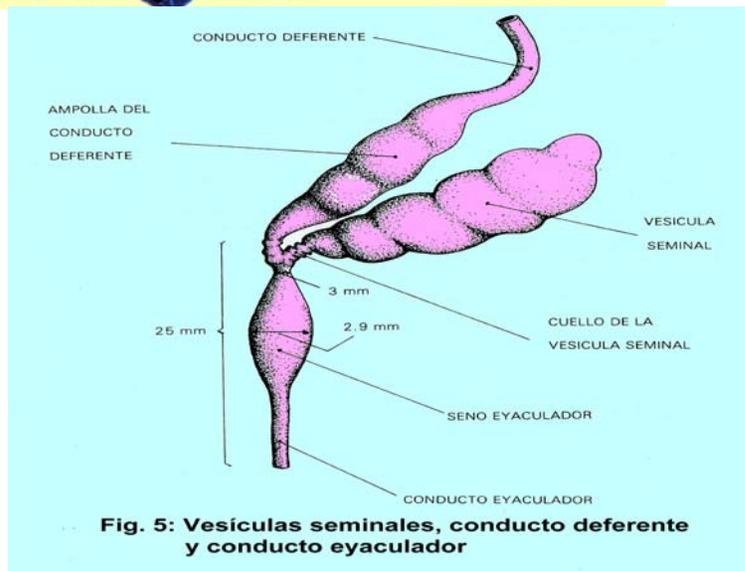
(6.5%) y por bajas concentraciones de oxígeno.

Las glándulas de Cowper o bulbo uretrales o de Littre son 2 pequeñas glándulas situadas a los lados de la porción final de la uretra membranosa, con forma de pequeñas hojas redondeadas (semejantes a lentejas), producen un líquido mucoso transparente rico en glucoproteínas, ácido glucorónico, ácido siálico, galactosa y galactosamina entre otras sustancias; su función es



lubricar al conducto uretral durante el acto sexual.

Las vesículas seminales (Fig. 5): Son glándulas músculo membranosas pares que en humano miden de 5 a 7 cm de longitud, de 1.5 a 3 cm de ancho y de 5 a 10 cm³ de capacidad variable de acuerdo a la actividad sexual y la edad, su conducto de desembocadura se une al conducto deferente para formar el conducto eyaculador que se introduce en la próstata.



Las vesículas seminales producen una secreción constante amarilla viscosa con un pH cercano a 7 conteniendo una gran cantidad de sustancias (Cuadro 1) con diferentes funciones y constituyen

aproximadamente el 20% del total del líquido seminal.

La próstata (Fig. 6) es la glándula accesoria del sistema reproductor masculino más importante por su tamaño y secreción; es impar, en humano está situada en la cavidad pélvica, tiene forma de una castaña y sus dimensiones son: 3 cm de longitud, 4 cm de ancho y 2 cm de grosor, con un peso de 20 a 25 g.

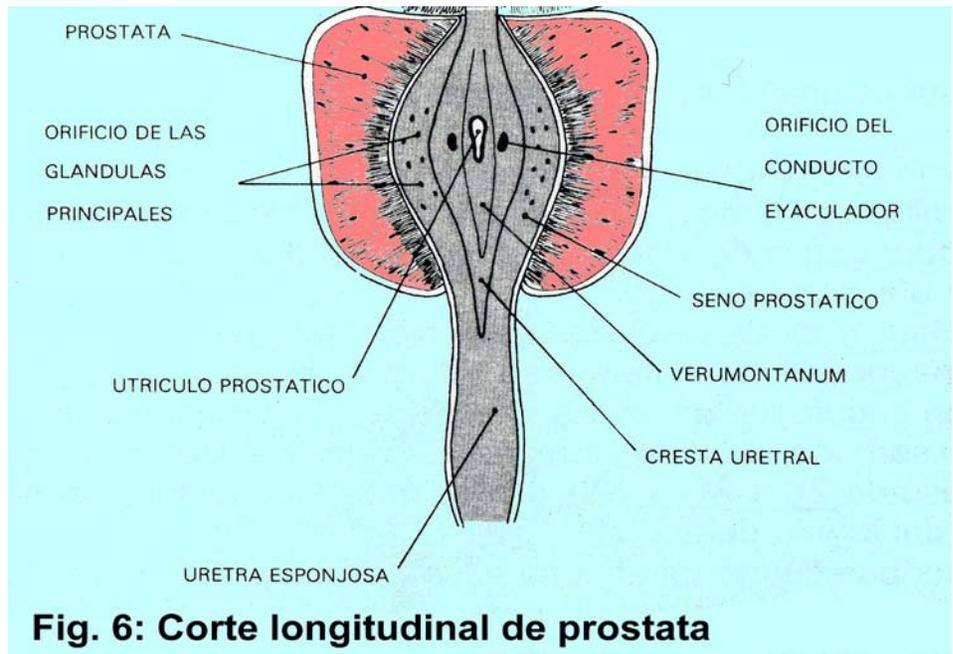


Fig. 6: Corte longitudinal de prostata

La próstata tiene dos tipos de secreción una que inicia durante la pubertad, con un volumen de 0.5 a 2 ml por día, conocida como secreción de reposo que se elimina de manera imperceptible durante la micción; la otra se produce por un estímulo parasimpático durante la eyaculación en valores de 3 a 5 ml, siendo un líquido con un pH aproximado a 7.5, es opalescente, viscoso y contiene fosfatasa ácida así como otras sustancias (Cuadro 1). La próstata produce del 80% al 85% de agua del líquido seminal, contribuyendo a formar el medio de transporte de los espermatozoides.

Cuadro 1 Componentes de las glándulas sexuales accesorias

Próstata

Espermina, ácido cítrico, colesterol, fosfolípidos, fibrinolisin, fibrinogenasas, cinc, fosfatasa ácida, cloro, calcio. Todos estos compuestos constituyen un 20% del volumen del semen.

Vesículas seminales

Fructosa, fosforilcolina, ergotionina, ácido ascórbico, flavinas, prostaglandinas, potasio, sodio, nitrógeno. A estos corresponde un 60% del volumen total eyaculado.

OBJETIVOS

Analizar la viabilidad y la vitalidad de los espermatozoides en una muestra de semen procesada mediante la espermatobioscopia.

Identificar las características físicas del semen.

Observar las características morfológicas, estructurales y funcionales de los espermatozoides.

Interpretar los resultados de la espermatobioscopia y emitir una opinión diagnóstica de fertilidad o infertilidad del donante.

FUNDAMENTO

La viabilidad y la vida de los gametos están determinadas por los factores estructurales y funcionales de las células germinativas y por la composición del medio que las contiene. Un método fácil, económico y demostrativo para determinar dichos factores en los gametos masculinos (espermatozoides) es la espermatobioscopia.

La espermatobioscopia es un método diagnóstico en el estudio de la pareja estéril en humanos, además es utilizado actualmente como una prueba de control de calidad de las muestras que entran y salen de los bancos de semen para la inseminación artificial, es también ampliamente utilizado en algunos animales de interés económico como los sementales (reses y cerdos entre otros), ya que es un método de evaluación de la calidad de su semen directamente relacionada con su utilidad económica.

MATERIAL Y EQUIPO

- Microscopio compuesto
- Estufa
- Placa de calentamiento
- Papel seda
- Termómetro
- Cámara de Newbauer
- Tubo de centrífuga cónico graduado
- Vasos de precipitado de 10 ml y 250 ml
- Papel pH
- Portaobjetos
- Cubreobjetos 22 mm * 40 mm
- Pipetas Pasteur con bulbo
- Pipeta de Thoma para glóbulos blancos
- Guantes de látex
- Charola de plástico para inactivación del semen

REACTIVOS

- Aceite de inmersión
- Petrolato (vaseline)
- Solución de bicarbonato de sodio al 5% (diluyente)
- Colorante de Giemsa
- Colorante Azul de Tripan

- Hipoclorito de sodio (blanqueador)

MATERIAL BIOLÓGICO

- Semen

PROCEDIMIENTO

Examen físico del semen

Obtención de la muestra. Después de un periodo de abstinencia sexual se obtiene el semen¹ por masturbación recogiendo la muestra en un frasco de vidrio (vaso de precipitado de 20 ml) limpio, seco y de preferencia estéril que deberá mantenerse muy cercano a la temperatura corporal durante su transporte. Mantener la muestra en baño maría a 37°C durante toda la metodología

Evaluación de la licuefacción del semen. En el momento de la eyaculación y minutos después el semen tiene una alta viscosidad, para evaluarla se introduce un palillo al semen y se retira lentamente, la muestra escurrirá en forma de hilo y luego de 30 min. se procede de la misma manera para que el semen escurra por goteo, lo cual indicará que se ha licuado por efecto de las fibrinolisinias presentes en el plasma, así como de aminopeptidasas y pepsina.

Evaluación de volumen. Se coloca todo el eyaculado en un tubo de ensaye cónico de vidrio graduado y se registra el volumen.

Evaluación de pH. Se mide con papel pH y se anotan los valores encontrados.

Evaluación de color. Observe y anote el color.

Evaluación del olor. Determine el aroma y anote el resultado.

Examen microscópico

Movilidad espermática. Limpia y desengrasan perfectamente los portaobjetos y cubreobjetos a utilizar, colocarlos en la estufa para mantenerlos a 37°C, trazar un círculo de vaselina en el portaobjetos en medio del cual se coloca una gota de semen y se cubre con el cubreobjetos. Evaluar la movilidad de los espermatozoides observando varios campos con el objetivo de 40x. Los espermatozoides tendrán espermodrómia cuando se caractericen por tener una gran movilidad progresiva, es normal encontrar en el semen humano un 80% de espermatozoides móviles con una velocidad de aproximadamente 3 mm por min. Los espermatozoides que no cumplan éste último parámetro tendrán astenospermia y serán incapaces de fecundar.

Morfología espermática. Hacer el frotis tomando una muestra de semen con un palillo procediendo a extenderla en el centro de un portaobjetos, deje secar la laminilla y fíjela con metanol durante 5 min. concluido el tiempo de fijación se deja secar y se tiñe con Giemsa diluido 1 a 10 en agua por 15 min. Observar al microscopio a 10x, 40x y 100x, en éste último se cuentan 100 espermatozoides y se identifica las formas normales contra las anormales (Fig. 7 anexos). Elabore una lista indicando el porcentaje de formas normales y anormales. En una muestra normal es común hallar hasta un 30% de espermatozoides alterados estructuralmente, el grado de aumento de formas anormales es directamente proporcional a las posibilidades de esterilidad.

¹ Hay dos tipos de espermatobioscopia: a). indirecta o de Sims Hunter donde previo coito de la pareja estéril se obtiene la muestra por aspiración de semen del cuello uterino y b). la directa obtenida por masturbación que es el método que utilizaremos.

Después de que el semen se ha licuado se aspira en una pipeta de Thoma para glóbulos blancos hasta la marca de 0.5 y se llena con líquido de dilución (bicarbonato de sodio al 5%) hasta la marca de 11, se agita la muestra con la pipeta horizontal hasta su completa homogenización; deseche las 3 primeras gotas y después aplique la muestra por duplicado en una cámara de Neubauer ^(Fig. 8 anexos) deje reposar 3 min para proceder al conteo en un microscopio compuesto en dos cuadrículas grandes (para leucocitos). La cantidad obtenida se multiplica por 100,000 y el resultado es el número de espermatozoides por ml. En una muestra normal de humano se encuentran 100 millones de espermatozoides por ml, un eyaculado normal es de 3.5 a 5 ml, por lo tanto en cada eyaculado habrá de 350 a 500 millones de espermatozoides. Cuando se encuentran disminuidos dichos valores en un 30% o más aumentarán las posibilidades de esterilidad.

Evaluación de vitalidad de los espermatozoides de la muestra. Tomar una muestra de semen ya licuado y teñir con azul de tripan (colorante supra vital), observar al microscopio a 10x, 40x y 100x verificando si el colorante tiñe o no tiñe a los espermatozoides. Los espermatozoides muertos o deteriorados fijan el colorante mientras que los vivos no.

Una vez terminada la práctica se procederá a inactivar al semen sumergiendo el material que haya estado en contacto con dicho fluido biológico en hipoclorito de sodio (blanqueador) por espacio de 30 min.

NOTA: La tabla con los valores de referencia de la espermatobioscopia se encuentra en los anexos.

REPORTE DE RESULTADOS

Elaborará una tabla semejante a la presentada en valores de referencia donde anotara sus resultados y de acuerdo a los mismos emitirá su diagnóstico con respecto a la muestra y al donante. Interprete si la muestra es normal o no y si el donante es fértil o no fértil.

CUESTIONARIO

1. Escriba cuales estructuras celulares están involucradas en el proceso espermiogénico.
2. Describa en detalle los mecanismos celulares que se llevan a cabo durante el proceso espermiogénico.
3. Defina los términos esterilidad e infertilidad.
4. Especifique las diferencias entre viabilidad y vida espermática y ovular indicando para cada caso sus valores normales.
5. ¿Qué significa el término reproducción asistida y cómo lo relaciona con la metodología?

BIBLIOGRAFÍA

1. Balinsky B. Fabian B. C. (1998). Introducción a la Embriología. 5ta. Ed. Omega España
2. Bruce Alberts, Dennis Bray, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts y James D.
3. Gilbert Ángel M., Mauricio Ángel R. (1996). Interpretación clínica del laboratorio. 5ta. Ed. Editorial médica internacional. Bogotá Colombia.
4. Lynch M. J., Stanley S. R., Meter D. S., Martin J. H. (1972). Métodos de laboratorio. 2da. Ed. Nueva editorial interamericana. México.

5. Ruiz M. Fernanda. (1988). Fundamentos de embriología y fisiología de la reproducción. 1ra Ed. Editorial UNAM México
6. Scout Gilbert. (2002). Developmental Biology Sinauer Ed. USA
7. Tierney L. M., Stephen J. Mc P., Maxine A. P. (2001). Diagnóstico clínico y tratamiento 2001 36ª Ed. El manual moderno. México.
8. Tood, Sandford, Davidsohn. (1984). Diagnóstico y tratamiento clínicos por el laboratorio. 7a. Ed. Salvat editors Barcelona España.
9. Tietz L. M., Finley P. R. (1985). Guia clínica del laboratorio. 1ra. Ed. Editorial médica panamericana. Argentina.
10. Watson. (2002). Biología molecular de la célula. 3rd. Omega. Barcelona España.

ANEXOS

Fig 7: Anomalías estructurales de los espermatozoides

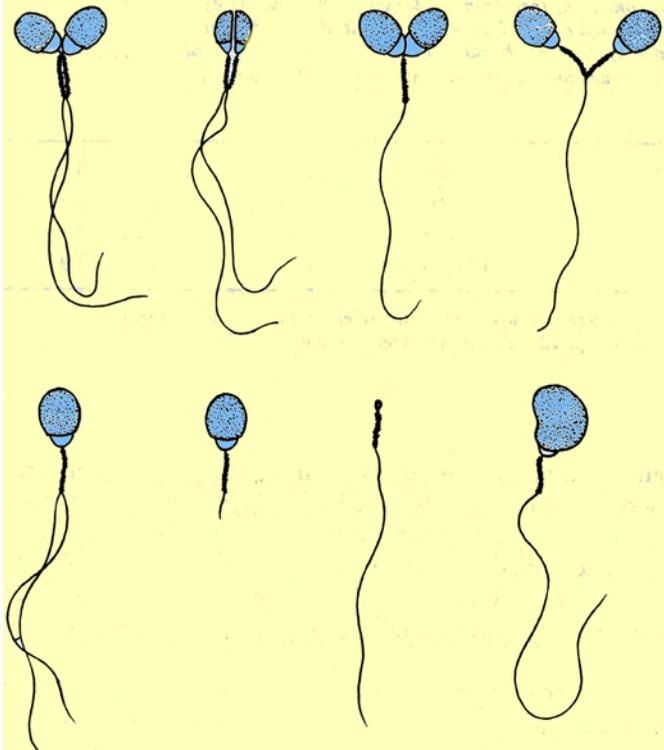
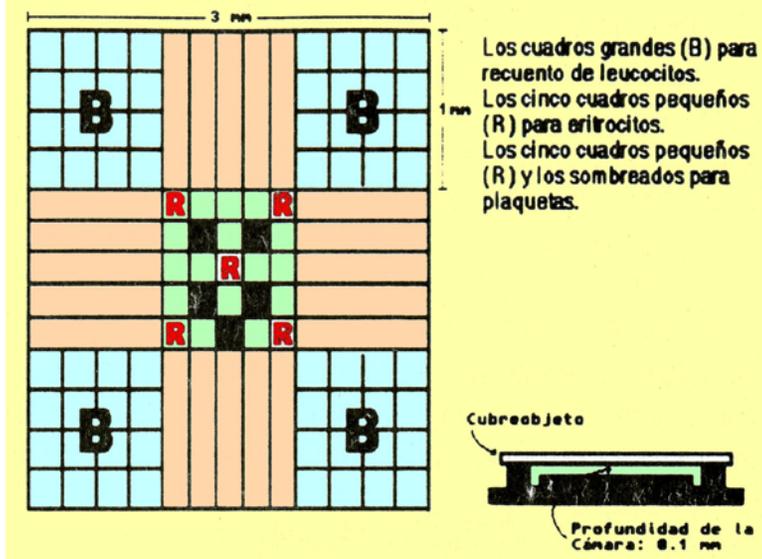


Fig. 8: Cámara de Neubauer



| Valores de referencia para la espermatobioscopia o espermiograma | |
|--|--------------------------|
| Licuación del semen al inicio | Viscoso escurre en hilo |
| Licuación del semen a los 30 min | Líquido escurre en gotas |
| Volumen | 3.5 ml a 5 ml |
| pH | 7.5 a 8.0 |
| Color | Blanco opalescente |
| Olor | Ocre sui generis |
| Espermatocrito | 5% a 7% |
| Movilidad | alta mínimo 80% móviles |
| Morfología formas normales | Mínimo 70% |
| Morfología formas anormales | No más de 30% |
| Vitalidad a las 6 hs. | 90% |
| Vitalidad a las 12 hs | 50% |
| Vitalidad a las 24 hs | 10% |
| Recuento promedio | 100 millones por ml |
| Recuento mínimo | 50 a 60 millones por ml |

PRÁCTICA No. 9 EMBRIOGÉNESIS

INTRODUCCIÓN

Según Aristóteles, el primer embriólogo conocido de la historia, la ciencia comienza con la admiración o el asombro: “Es debido a la admiración que el hombre empezó a filosofar, y la admiración sigue siendo el origen del conocimiento”. (Aristóteles, *Metafísica*, alrededor de 350 a.C.). El desarrollo de un animal a partir de una célula huevo ha sido origen de asombro a lo largo de la historia. El simple procedimiento de abrir un huevo de pollo durante cada día sucesivo de sus tres semanas de incubación proporciona una experiencia extraordinaria que permite observar cómo a partir de una delgada banda de células se llega a formar esta ave en su totalidad. Aristóteles llevó a cabo este procedimiento y prestó cuidadosa atención a la formación de los principales órganos. Cualquiera puede asombrarse de este extraordinario fenómeno, pero los biólogos pretenden descubrir como se producen exactamente el desarrollo. Los organismos multicelulares no surgen completamente formados. En su lugar, se originan por un proceso relativamente lento de cambios progresivos que nosotros denominamos *desarrollo*. En casi todos los casos, el desarrollo de un organismo multicelular comienza a partir de una célula denominada *cigoto* (célula huevo), que se divide por mitosis para dar origen a todas las células del cuerpo. Tradicionalmente, el estudio del desarrollo animal ha sido denominado *embriología*, comprendiendo la fase de un organismo entre la fecundación y el nacimiento. Pero el desarrollo no se detiene con el nacimiento, o aún en la madurez. La mayoría de los organismos nunca detiene su desarrollo. Cada día reemplazamos más de un gramo de células de la piel, y nuestra médula ósea mantiene el desarrollo de los glóbulos rojos sanguíneos nuevos durante cada minuto de nuestras vidas. Además, algunos animales pueden regenerar partes cortadas y muchas especies experimentan la metamorfosis. Por esta razón, desde los últimos años se acostumbra a hablar de la *biología del desarrollo* como la disciplina que estudia el desarrollo embrionario y otros procesos del desarrollo.

El desarrollo lleva a cabo dos objetivos fundamentales: genera diversidad celular y orden en cada generación, asegurando de este modo la continuidad de la vida desde una generación a la siguiente.

DESARROLLO TEMPRANO EN LAS AVES

Desde que Aristóteles fuera el primero en seguir su desarrollo de tres semanas, el pollo doméstico (*Gallus sp.*) ha sido un organismo favorito para los estudios embriológicos. Este es



Figura 1. Observación de tres estadios del desarrollo vistos desde el polo animal.

accesible todo el año y se cría con facilidad. Además a temperatura, humedad y ventilación adecuada, se puede

predecir con precisión el estadio de desarrollo. Por lo tanto, puede obtenerse gran número de embriones en el mismo estadio. El embrión de pollo puede ser manipulado quirúrgicamente y debido a que la formación de los órganos del pollo es llevada a cabo por genes y movimientos celulares semejantes a los de la formación de los órganos de los mamíferos, el embrión de pollo ha servido con frecuencia como un sustituto económico (y moralmente más aceptable) para embriones humanos.

La fecundación del gameto femenino del pollo se produce en el oviducto (trompa de Falopio), antes que la albúmina y la cáscara sean secretadas sobre éste. El huevo (cigoto) es *telolecito* (como el del pez) con un pequeño disco del citoplasma situado encima de un gran vitelo. Como en el cigoto del pez, los cigotos vitelínicos de las aves experimentan una segmentación *meroblástica discoidal*. La segmentación se produce solamente en el *blastodisco*, un pequeño disco del citoplasma de 2 a 3 mm de diámetro en el polo animal del cigoto. El primer surco de segmentación aparece centralmente en el blastodisco y otros surcos de segmentación siguen para crear un blastodermo de una sola capa. (Figura 1) Como en el embrión del pez, estas segmentaciones no se extienden al citoplasma vitelínico, de tal modo que las células de segmentación temprana son continuas una con la otra y con el vitelo en sus bases. Por esta razón, la segmentación ecuatorial y vertical divide al blastodermo en un tejido de 5 a 6 capas celulares de espesor. Las células llegan a estar unidas por uniones estrechas. Entre el blastodermo y el vitelo hay un espacio denominado la *cavidad subgerminal*.

Este espacio es creado cuando las células del blastodermo absorben agua desde la albúmina y secretan el fluido entre ellas y el vitelo. En este estadio, las células profundas en el centro del blastodermo son eliminadas y mueren, dejando detrás a una *área pellucida* de una célula de espesor. Esta parte del blastodermo forma la mayor parte del embrión verdadero. El anillo periférico de células del blastodermo que no ha eliminado sus células profundas constituye el área opaca. Entre el área pellucida y el *área opaca* está una delgada capa de células denominada la zona marginal. Algunas las células de la zona marginal llegan a ser muy importantes en la determinación del destino celular durante el desarrollo temprano del pollo (Figura 2).

Para el momento en que la gallina ha puesto un huevo, el blastodermo contiene cerca de 20,000 células. En este momento, la mayoría de las células del área pellucida se mantienen en la superficie, y forman el *epiblasto*, mientras que otras células del área pellucida se han separado de la lámina y migran individualmente hacia la cavidad subgerminal para formar el *hipoblasto primario*, un archipiélago de grupos aislados que contienen

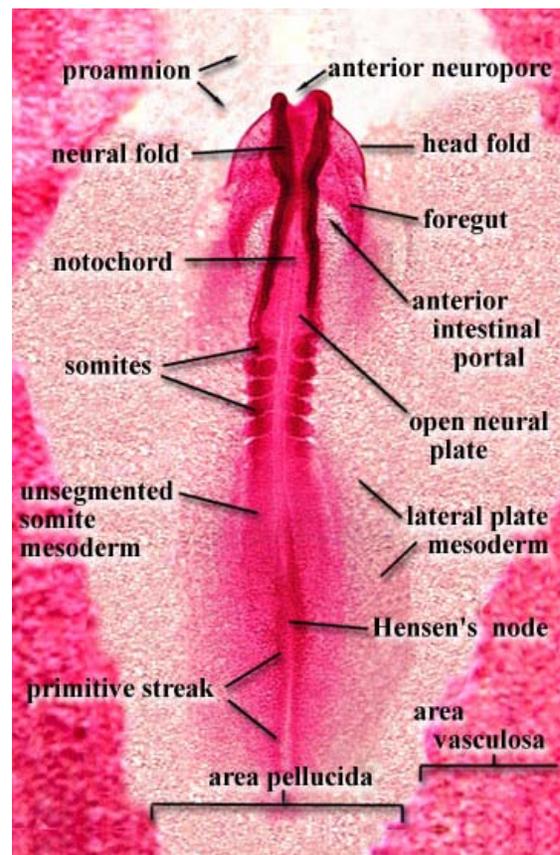


Figura 2. Segmentación temprana del embrión.

5 a 20 células cada uno. Las dos capas de blastodermo resultante (epiblasto e hipoblasto) están unidas en la *zona marginal* del área opaca y el espacio entre las dos capas forma el *blastocoele*. El embrión del ave proviene completamente del epiblasto. El hipoblasto no contribuye con ninguna célula al embrión en desarrollo. En su lugar, las células del hipoblasto forman porciones de las membranas externas, especialmente del saco vitelino y del pedículo que une la masa vitelina al tubo digestivo endodérmico. Las tres capas germinales del embrión propiamente dicho son formadas a partir de las células del epiblasto. Los mapas del destino del epiblasto se muestran en la figura 3.

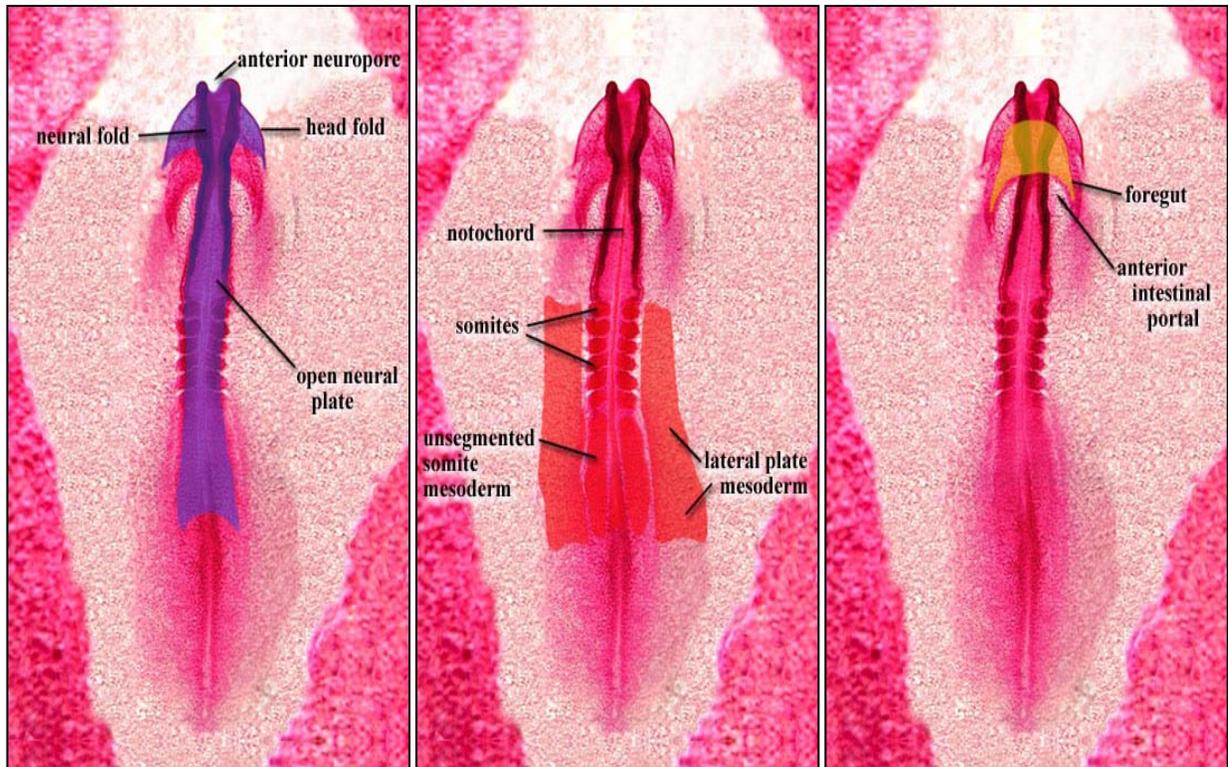


Figura 3. Gastrulación del pollo de 24 a 48 horas

FUNDAMENTO

Los embriones de pollo son un modelo en el laboratorio útil en el estudio de las diferentes etapas del desarrollo embrionario, ya que existe información que nos permite conocer e identificar las estructuras anatómicas y determinar la edad del embrión.

OBJETIVO

El alumno aplicará las técnicas, de obtención, tinción y preservación de embriones de pollo en diferentes etapas del desarrollo embrionario y por medio de la observación identificará las principales estructuras y órganos que se presentan en cada una de ellas.

MATERIAL Y EQUIPO

- Tijeras de punta fina
- Pinzas de punta fina
- Cucharilla perforada
- Cristalizadores
- Parrilla de calentamiento
- Termómetro
- Cajas de Petri
- Goteros
- Matraces Erlenmeyer de 125 ml
- Vasos de precipitados de 250
- Pizetas
- Pincel
- Navajas
- Portaobjetos y cubreobjetos
- Estereoscopios

MATERIAL BIOLÓGICO

- 10 Huevos de gallina fecundados. Estos se pueden conseguir en granjas especializadas en producción de aves.

REACTIVOS

- Solución fijadora de Bouin (Picroformol). El cual contiene 75 ml de solución saturada de Ácido Pícrico, 25ml de Formol comercial y 5 ml de Ácido acético glacial.
- Suero fisiológico.
- Bálsamo de Canadá.
- Alcohol etílico absoluto
- Alcoholes al 30, 50, 70, 75, 80, 85, y 90 %.
- Carmalumbre de P. Mayer.- disolver en caliente 10 gramos de alumbre potásico en 200 ml de agua destilada y adicionar un gramo de ácido carmínico. Enfriar la solución y filtrar; por último añadir 0.2 gramos de ácido salicílico o 1 ml de formol.
- Alcohol acidulado.- se mezclan partes iguales de alcohol al 70 % y HCl al 1 %.
- Xileno.

METODO

1. INCUBACION

La incubación de los huevos fecundados debe hacerse en el laboratorio a una temperatura

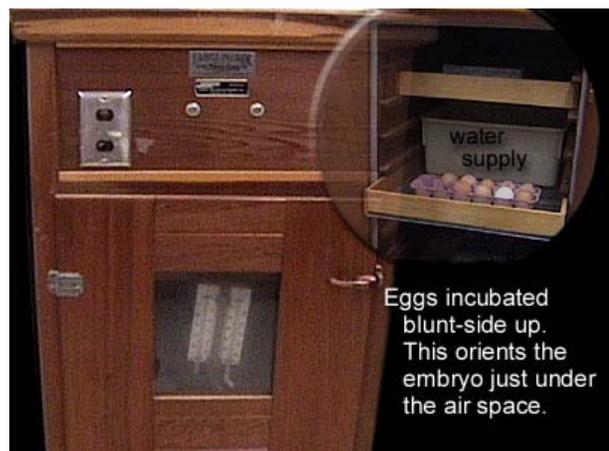


Figura 4. Huevos en ncubación.

entre los 36.5 y 39.5 °C dentro de un medio con humedad y ventilado (Figura 4). Para lograr la humedad introducir a la incubadora un recipiente con agua. Debido a que se van a utilizar huevos con un desarrollo temprano no es indispensable la ventilación. Colocar los huevos en posición horizontal y girarlos cada 24 horas siempre en el mismo sentido, esto con la finalidad de evitar que el embrión se pegue al cascarón y que las chalazas se enrollen correctamente.

2. OBTENCION

Para poder obtener los embriones, es necesario tener ya preparado el siguiente material y sus respectivos reactivos:

500 ml de suero fisiológico a 37 C en un cristalizador.

Un cristalizador para recibir al embrión (yema).

Una cuchara perforada, para pasar el embrión del huevo al suero fisiológico.

Tijeras de corte fino para cortar alrededor del embrión y poderlo transferir.

Pinzas.

Colocar el huevo horizontalmente y con las pinzas golpear el huevo suavemente sobre la cámara de aire hasta perforarlo (Fig.5). Introducir las tijeras y empezar a cortar el cascarón hasta formar una ventana en la parte superior del cascaron. Identificar al embrión, este se encuentra al centro del huevo y presenta un color rojo (el tamaño del embrión es variable dependiendo del tiempo de incubación). Ahora con mucho cuidado cortar la membrana vitelina (la que cubre a la yema) con las tijeras, alrededor del embrión. Ahora con la cuchara sacar al embrión y transferirlo a una caja de petri con suero fisiológico con la finalidad de lavarlo y mantenerlo vivo el mayor tiempo posible. Realizar los lavados necesarios hasta que quede libre de vitelo el embrión. Observar al estereoscopio e identificar las distintas estructuras y órganos del embrión. Identificar las estructuras y órganos y la edad del embrión por el número de somitas (Figura 6).

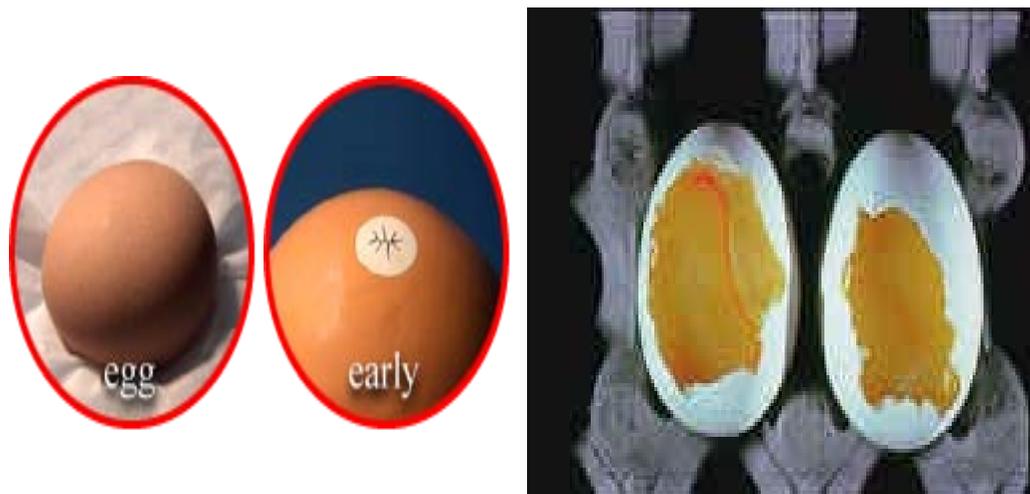


Figura 5. Rompimiento y proceso de obtención de embriones.



Figura 6. Embriones de pollo en diferentes estadios del desarrollo.

3. FIJACION DEL EMBRION

El fijador que se utilizará será el Bouin, que contiene formol, ácido pícrico y acético. De la caja de petri, donde se encuentra el embrión extraer el suero fisiológico, de tal manera que quede solo el embrión, ahora cubrir el embrión totalmente con el fijador (Bouin) utilizando un gotero, tener cuidado de que el embrión quede suspendido en el fijador. Dejar actuar el fijador durante 12 horas.

Lavar los embriones con agua para quitar el exceso de fijador, introduciéndolos en un vaso de precipitados con agua y una gasa esto con la intención de que no se salgan los embriones el vaso de precipitados, hasta que los embriones queden de color crema.

4. TINCION DEL EMBRION

Pasar los embriones a una caja de petri con carmalumbre diluido 1:5 (V/V con agua destilada) y dejar actuar al colorante, este paso es crucial por lo que se deben revisar constantemente los embriones hasta que tengan un color rosa de manera uniforme (utilizar la cámara translúcida). El tiempo de tinción varía entre 30 minutos y una hora aproximadamente, según el tamaño de los embriones y la dilución del colorante.

5. DESHIDRATACION DE LOS EMBRIONES

Deshidratar los embriones realizando tres cambios de alcohol al 50, 70 y 80 % de 10 minutos cada uno de los cambios. Agregar alcohol acidulado con la finalidad de eliminar el exceso de colorante. Deshidratar nuevamente los embriones, para esto se realizaran los siguientes cambios:

| No de Cambio | Solución | Tiempo |
|--------------|------------------|------------|
| 1 | alcohol al 70% | 10 minutos |
| 1 | alcohol al 75% | 10 “ |
| 1 | alcohol al 80% | 10 “ |
| 1 | alcohol al 85% | 10 “ |
| 1 | alcohol al 90% | 10 “ |
| 2 | alcohol absoluto | 10 “ |
| 2 | Xileno | 10 “ |

Ahora colocar al embrión sobre el portaobjetos y con la ayuda del estereoscopio y el bisturí recortar alrededor de la vena marginal procurando que quede parejo y en forma de ovalo.

6. MOTAJE DE LOS EMBRIONES

Pasar los embriones a xileno y sobre un portaobjetos limpio colocar una o dos gotas de bálsamo, sobre las gotas y con ayuda de las pinzas montar el embrión cuidando que la vista sea ventral (la cabeza del embrión a la derecha del cuerpo y para los embriones que no han rotado la cabeza, con el corazón hacia arriba).

Agregar nuevamente bálsamo sobre el embrión de tal manera que quede cubierto completamente, ahora colocar el cubreobjetos de manera que no queden burbujas de aire. Si es necesario agregar más bálsamo alrededor del embrión. Pasar las preparaciones a una estufa con la finalidad de que sequen completamente (Figura 7).



Figura 7. Montaje de embriones en diferentes etapas de desarrollo.

REPORTE DE RESULTADOS

Entregar 5 preparaciones de los embriones de pollo, indicando la edad aproximada de cada uno de ellos.

Entregar los 5 esquemas de los embriones de pollo indicando los nombres de los órganos y estructuras observadas.

Investigar las principales etapas de desarrollo que ocurren en las primeras 48 horas.

CUESTIONARIO

1. ¿Qué tipo de segmentación experimentan las aves, reptiles y peces. Explique en que consiste esta segmentación?.
2. ¿Que es y qué función tiene la línea primitiva?.
3. Investigue como se lleva a cabo la formación del sistema nervioso.
4. Proponga cinco organismos para trabajar en el laboratorio de embriología y diga las ventajas de estos.
5. Defina los siguientes términos: fecundación, cigoto, desarrollo, somita, chalazas, vitelo, blastodisco, blastocele, línea primitiva, telolecito, albumina.
6. Esquematice el huevo de una ave y de un mamífero y realice un cuadro comparativo de ambos indicando las ventajas y desventajas.

BIBLIOGRAFIA

1. Austin, C. R. y Short, R. V. 1992. Células germinales y fertilización. 4ª ed. Ed. La Prensa Medica Mexicana. México.
2. Austin, C. R., Short, R. V. 1992. Desarrollo embrionario y Fetal. 4ª. ed. Ed. La Prensa Medica Mexicana. México.
3. Gilbert, F. Scout 2006. Biología del desarrollo 7ª.ed. Ed. Medica Panamericana. México.
4. Houillon, C. 1977. Embriología 4ª. ed. Ed. Omega. España.
5. Lewis, Wolpert. 1998. Principles of development 1ª. ed. Ed. Oxford University Press. England.
6. Wischnitzer, S., 1980. Atlas y Guía de laboratorio de embriología de vertebrados. 1ª ed. Ed. Omega. España.

PRÁCTICA No. 10

TERATOGENESIS

INTRODUCCIÓN

AGENTES TERATOGENICOS

Existen diferentes agentes Teratogénicos en distintos organismos. Dentro de la clase más grande de estos están las drogas y químicos. Sin embargo los virus, las radiaciones, la hipertermia y las alteraciones metabólicas en la madre también pueden actuar como agentes Teratogénicos. Algunos químicos, que naturalmente se encuentran en el ambiente, pueden causar efectos congénitos. Incluso se han encontrado agentes Teratogénicos en las Montañas Rocallosas. Aquí se desarrolla el repollo de la mofeta (*Veratrum californicum*), del que a veces se alimenta la oveja. Si una oveja preñada come esta planta, sus fetos tienden a desarrollar graves alteraciones neurológicas, incluyendo ciclópea, la fusión de los dos ojos en el centro de la cara.

La quinina y el alcohol, otras dos sustancias derivadas de las plantas, también pueden causar interrupciones del desarrollo. La quinina ingerida por una madre embarazada puede causar sordera y el alcohol puede provocar retardo físico y mental en el niño. No se ha probado que la nicotina y la cafeína causen anomalías congénitas, pero las mujeres que son fumadoras importantes (20 cigarrillos por día o más) tienen probabilidades de tener niños que son más pequeños que los nacidos de mujeres que no fuman. Fumar también disminuye significativamente el número, la calidad y la motilidad de los espermatozoides en el semen de los hombres que fuman al menos cuatro cigarrillos al día.

Además, cada año ingresan al uso general en nuestra sociedad industrial cientos de nuevos componentes artificiales. Los componentes de los pesticidas y el mercurio orgánico han causado anomalías neurológicas y del comportamiento en los niños cuyas madres han ingerido estos compuestos durante el embarazo. Además, las drogas que son utilizadas para controlar enfermedades en adultos pueden tener efectos perjudiciales sobre los fetos. Por ejemplo, el ácido valproico, es una droga anti convulsionante, utilizada para controlar la epilepsia. Se sabe que es teratogénico en seres humanos debido a que puede causar defectos espinales importantes y menores.

El desarrollo tecnológico, el crecimiento demográfico, la industrialización y el uso de nuevos métodos de agricultura tecnificada son factores que contribuyen a que entren al ambiente, de manera continua, cantidades crecientes de un gran número de sustancias químicas, sintéticas y naturales, cuyas interacciones y efectos adversos, tanto sobre el ambiente mismo como sobre los seres vivos, provocan efectos teratogénicos o diversos tipos de mutaciones las cuales provocan malformaciones en los organismos vivos. Las consecuencias de las mutaciones en las células somáticas siempre ocurren en el individuo, es decir no se transmiten a la siguiente generación. Por lo que las mutaciones somáticas pueden estar relacionadas con enfermedades y con el cáncer proceso denominado *Carcinogénesis*. Si una mutación ocurre a nivel de las células germinales ésta se fija y transmitirá a la siguiente generación proceso denominado mutagénesis; el efecto de una mutación a nivel germinal puede estar relacionado con la esterilidad en el individuo. Por otro lado, durante el desarrollo embrionario pueden ocurrir mutaciones en el embrión en gestación proceso denominado *Teratogénesis*.

Las consecuencias de las mutaciones a nivel fenotípico pueden ser severas cuando la alteración produce cambios morfológicos notables, que pueden ser deletéreos cuando reducen la viabilidad o letales cuando causan la muerte del individuo.

Mutágenos químicos. Son compuestos químicos capaces de inducir mutaciones en el DNA. Cuatro son los tipos fundamentales de mutágenos químicos que pueden alterar el apareamiento de bases sustituyendo a las purinas o a las pirimidinas durante la replicación del DNA y por ende producir mutaciones puntuales.

Mutágenos físicos. Las radiaciones de longitud de onda corta, como los rayos X, los rayos cósmicos y las partículas y radiaciones que emiten los elementos radioactivos como los rayos gama, y las partículas alfa y beta, o de longitud larga como la radiación ultravioleta (UV) puede inducir mutaciones en el DNA . La energía de las radiaciones es inversamente proporcional a la longitud de onda.

CICLO ESTRAL

El ciclo estral de los animales es una estrategia para asegurar que la hembra sea montada cerca del momento de la ovulación, este se caracteriza por una serie de cambios fisiológicos y del comportamiento que permiten que la hembra sea receptiva para el macho y que se lleve a cabo la cópula, sin embargo, todos esos cambios se llevan a cabo por el efecto de las hormonas gonadales e hipofisarias sobre los diferentes órganos reproductivos. Los ciclos reproductivos se relacionan a varias etapas fisiológicas: pubertad, madurez sexual y ciclo estral.

Conforme se aproxima la pubertad, la secreción de hormonas esteroides es esencial para el desarrollo de las características sexuales secundarias. Así mismo, la producción de hormonas gonadales regula el patrón cíclico de secreción de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), factor que estimula la liberación de gonadotropinas hipofisarias (hormona folículo estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH), características

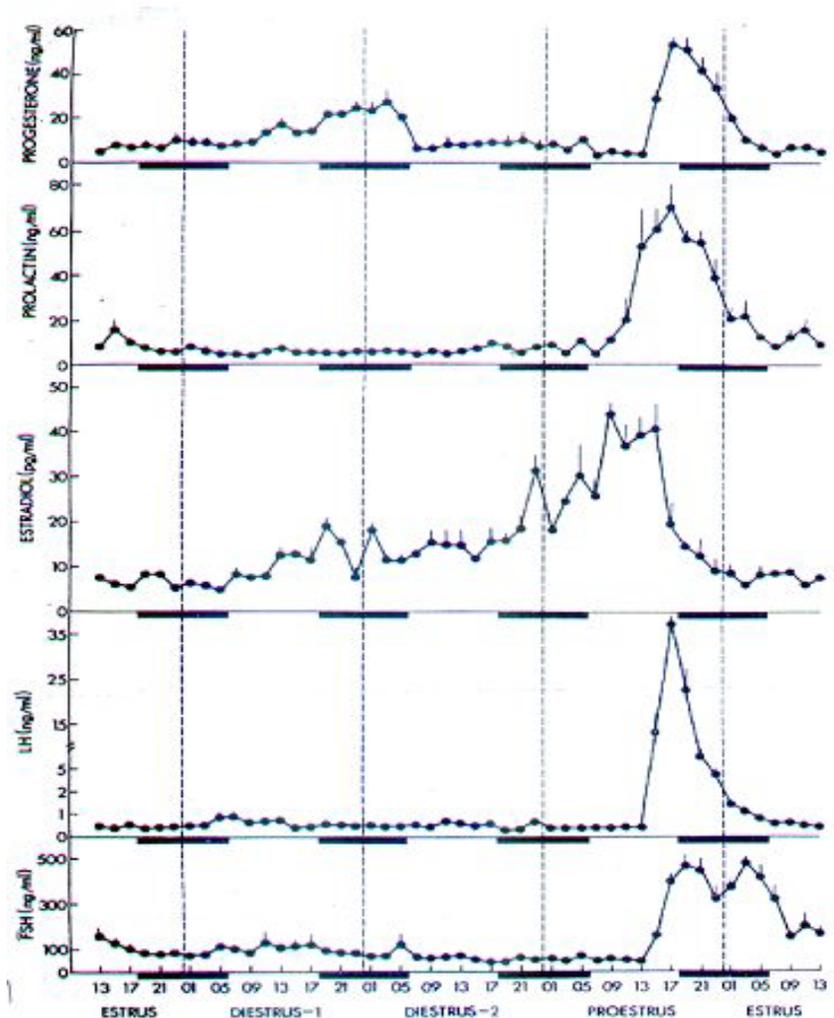


Figura 1. Niveles hormonales en el ciclo estral.

de las características sexuales secundarias. Así mismo, la producción de hormonas gonadales regula el patrón cíclico de secreción de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), factor que estimula la liberación de gonadotropinas hipofisarias (hormona folículo estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH), características

de las hembras, las cuales son responsables de otros fenómenos cíclicos, como maduración de folículos ováricos, ovulación y desarrollo del cuerpo lúteo (Figura 1).

Conviene considerar en primer lugar lo que ocurre en ratas y ratones, que han estado sometidos a un análisis intenso y han constituido un material de investigación abundante. La hembra madura y sin aparearse muestra ciclos estrales continuos de entre cuatro y seis días, interrumpiéndose solamente en caso de preñez; se dice, por tanto, que es poliestral durante todo el año. El estro se define como el período de receptividad sexual, durante el cual ocurre la ovulación en la mayoría de las especies y se inicia la formación del cuerpo lúteo. Sus características especiales varían entre especies, en términos generales puede incluir arqueo de la espalda o levantamiento de los cuartos posteriores (lordosis), bramidos, micción frecuente, inmovilidad, conducta homosexual de las hembras que montan o permiten que las monten, hiperactividad y movimiento de las orejas.

El ciclo estral se puede dividir en cuatro fases.

El proestro (que dura 18 horas) es básicamente un periodo de preparación, durante el cual crecen los folículos que están madurando y aumenta la salida de estrógeno. El influjo de esta hormona hace que la pared del útero se hidrate y el líquido distienda su cavidad, mientras que las células epiteliales vaginales se multiplican, formando una capa gruesa cuyas células más externas se desprenden; de este modo, el frotis vaginal característico de esta etapa contiene células nucleadas, sin leucocitos.

El estro (que dura 28 horas) es el periodo de receptividad sexual o celo, debido a que la secreción de estrógeno alcanza un clímax durante esta fase. Al aumentar la salida de esta hormona, parece ser que inhibe la liberación de FSH y estimula la de LH; ésta provoca entonces la ovulación y disminuye la secreción de estrógeno. Como consecuencia de estas interacciones, los óvulos penetran en los oviductos en el momento más apropiado para que la fecundación sea probable. Durante el estro, el lumen uterino permanece distendido, pero tiene lugar una degeneración parcial de su epitelio, mientras que la creciente cornificación del epitelio vaginal hace que el frotis vaginal esté formado por células cornificadas y no nucleadas. El metaestro (con una duración de 8 horas) se caracteriza por una invasión intensa de leucocitos en el epitelio vaginal; predominan los mismos en el frotis vaginal, aunque también aparecen algunas células cornificadas y algunas nucleadas.

El diestro (que dura unas 53 horas) es una etapa que se caracteriza por la aparición de células epiteliales nucleadas junto con leucocitos en los frotis vaginales, y por la formación de cuerpos lúteos. Estos, sin embargo, carecen prácticamente de función en la rata y el ratón, y comienzan a degenerar a los tres días de la ovulación, lo cual hace que el ciclo estral de estos animales tenga una duración corta.

ANATOMIA DEL APARATO REPRODUCTOR

Características reproductivas de la hembra:

Las hembras de esta especie son poliéstricas continuas, anatómicamente tienen similitudes con el aparato reproductor del ratón, el infundíbulo está envuelto por una bolsa formada por el mesosalpinx, este es llamado el saco ovárico.

Con respecto al útero, tienen el útero bicornio con la peculiaridad que poseen 2 cuellos uterinos, uno para cada cuerno, comunicados entre sí por una sola vagina.

Las glándulas mamarias son 12, distribuidas de 6 en el tórax y 6 en el abdomen, son 6 pares de pezones.

Las hembras nacen con el canal vaginal cerrado, este recién se abre a los 72 días de vida con un rango de 34-109 días, esta variación está influida por factores nutricionales, genéticos y ambientales.

El primer estro se da a los 40-75 días pero recién se cubre a los 90 días ya que el cruce temprano produce partos mas espaciados, distocias en el parto, neonatos de menor peso y tamaño, estas condiciones se dan también cuando el cruce es tardío, la edad de mayor fertilidad es de 100-300 días y el ultimo celo se da a los 12-18 meses.

Uno de los signos de la maduración sexual de la hembra es el pico de LH que se libera de manera pulsátil cada 30-60 minutos lo que estimula la secreción de 17-beta estradiol que por retroalimentación positiva provoca el pico pre-ovulatorio de LH y determina el desarrollo final del ovario.

La apertura vaginal, la ovulación y el consecuente ciclo estral están correlacionados, un cambio en la intensidad lumínica, una situación estresante pueden actuar sobre la glándula pineal y las adrenales pueden alterar el orden establecido retardando o acelerando uno de los eventos.

Características reproductivas del macho:

Una de las diferencias resaltantes entre los ratones y las ratas es que las ratas pueden vivir entre machos sin que estos se peleen, algo que en ratones es imposible.

El descenso testicular se da de 15-50 días , la madurez sexual del macho ocurre a los 40-60 días con un peso fluctuante entre 100-140 gramos, es importante tener en cuenta que la madurez sexual del macho implica también una mejora en calidad y viabilidad de los espermatozoides.

El comportamiento precopulatorio es característico, hay mordisqueo de la cabeza y cuerpo de la hembra por parte del macho, o bien este realizara un examen de la región ano genital de la hembra, el tiempo de eyaculación va de 10-20 segundos, los espermatozoides tienen forma alargada y con la cabeza en forma de gancho.

OBJETIVOS

El alumno aprenderá a reconocer las fases del ciclo estral de la rata.

El alumno realizara la disección del aparato reproductor femenino y masculino e identificará sus estructuras, posteriormente los fijara en formol.

El alumno realizara tinción de laminillas de las diferentes fases del ciclo estral.

El alumno entregara un protocolo de investigación sobre Teratogénesis.

MATERIAL Y EQUIPO

- Jaulas
- Goteros con punta de forma alargada
- Portas y cubre objetos
- Tabla de disección
- Estuche de disección
- Estereoscopio

- Microscopio
- Balanza granataria
- Algodón
- Gasas

MATERIL BIOLÓGICO

- Ratas machos y hembras

REACTIVOS

- Solución salina.- preparar una solución 0.85% de Cloruro de Sodio
- Etanol al 96 %
- Colorante Giemsa.- dilución 1:20 (V/V)
- Éter
- Acetona
- Solución aclarante
- Agua destilada.

PROCEDIMIENTO

I. FROTIS VAGINAL

1. Comprobar el sexo del animal e identificar las hembras, se sugiere marcar las hembras.
2. Colocar tarjetas de identificación en las jaulas correspondientes indicando, grupo, equipo, tratamiento etc.
3. Realizar el lavado vaginal de la siguiente forma:
Tomar la cola de la hembra sujetándola con el dedo índice y el pulgar colocando al animal sobre una superficie plana, el animal tratará de escapar, por lo que se recomienda sujetarla firmemente.
Colocar con la mano libre un trozo de tela grueso, encima de la cabeza y el lomo, dejando libre la grupa del animal e inmediatamente sujetarlo de forma que su cuerpo, con la cabeza en dirección de la muñeca de la mano, quede en el hueco de la palma apesándolo firmemente entre la base del dedo pulgar y los dedos meñique y anular.
Estando así asegurado el animal, hacer una ligera tracción de la cola, hasta que se quede expuesto el orificio vaginal: con la mano que ha quedado libre, tomar con el gotero solución salina únicamente en la punta de éste.
Introducir en la vagina la punta del gotero aproximadamente unos 5 mm., presionar el bulbo y sin que salga la punta del gotero lavar la vagina, finalmente recuperar el líquido y retirar el gotero.
Colocar a la hembra en la jaula; y depositar una gota en un portaobjetos.
Repetir la operación todos los días con cada uno de los animales.
4. Observar el frotis en fresco en el microscopio, (realizar la tinción) para determinar la fase del ciclo estral en la que se encuentra el animal, observar detenidamente las características morfológicas de las células y su población celular.

5. Corroborar la fase del ciclo celular realizando la fijación y tinción del frotis de la siguiente manera:

Secar el frotis en la estufa.

Cubrir el frotis con etanol al 96% y dejar evaporar este para iniciar la tinción.

Cubrir el frotis con colorante de Giemsa diluido 1:20; dejar actuar el colorante durante 20 minutos.

Lavar la preparación a chorro de agua, procurando que el agua toque un extremo de la porta objetos y resbale arrastrando el exceso del colorante.

Dejar secar la preparación y observar al microscopio.

6.- Seguir por lo menos un ciclo estral completo

II. DISECCIÓN DE APARATOS REPRODUCTORES

Sacrificar al animal colocándolo en una cámara de vidrio saturada con éter.

Verificar que el animal este muerto.

Colocarlo en la tabla de disección y sujetarlo correctamente.

Realizar un corte longitudinal a lo largo del abdomen desde la base del tórax hasta el sistema urogenital. (el corte es primero de la piel y después se corta el músculo).

Remover los intestinos y el resto de los órganos hasta localizar el útero el cual es bicornio (forma de cuernos).

Localizar e identificar los ovarios, los cuales se encuentran en el extremo del útero, tienen forma circular y son de color rojo.

Hacer la disección de todo el aparato reproductor femenino, con mucho cuidado, pesarlo y fijarlo.

En el caso de la rata macho realizar los mismos pasos hasta el número 3, cortar con las tijeras alrededor de los testículos de tal manera que los testículos se observen completamente.

Continuar con la disección del resto del aparato reproductor masculino, identificar todas sus estructuras, pesarlo y fijarlo.

REPORTE DE RESULTADOS

Esquematice todas las fases del ciclo estral observadas en la ratas

Explique cuáles son los momentos en que el embrión es más susceptible a los agentes teratogénicos (Días, número de horas).

Investigue cinco organismos en los cuales se podrían inducir malformaciones en el laboratorio y justifique su propuesta.

Porque es importante el estudio de los teratógenos en la investigación biomédica.

Investigue y diga cuales son diez los principales agentes Teratogénicos que afectan a la población humana.

Entregar el material biológico fijado y etiquetado correctamente.

CUESTIONARIO

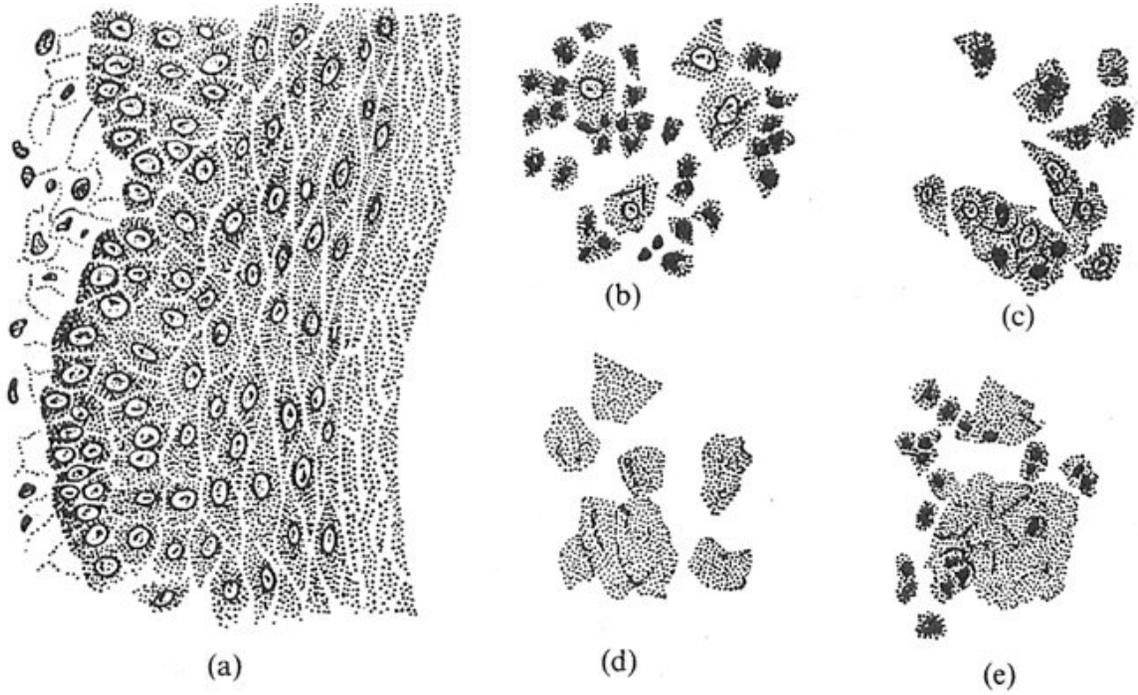
1. Defina los siguientes términos:
 - a. Mutágeno
 - b. Agente teratogénico
 - c. Ciclo estral

- d. Hormona
 - e. Estro
 - f. Lordosis
 - g. Cancerígeno
2. Esquematice el aparato reproductor masculino y femenino de la rata.
 3. Esquematice y explique las fases del ciclo estral de la rata.
 4. Proponga un proyecto de investigación de Teratogénesis para realizarse en el laboratorio.
 5. ¿Por qué es importante la investigación de la Biología del Desarrollo?, justifique su respuesta.

BIBLIOGRAFIA

1. Austin, C. R. y Short, R. V. 1996. Desarrollo embrionario y fetal. 4ª. ed. Ed. La Prensa Medica Mexicana. México.
2. Austin, C. R. y Short, R. V. 1996. Hormonas en la reproducción. 4ª. ed. Ed. La Prensa Medica Mexicana. México.
3. Barrington, E. J. W. 1987. Introducción a la endocrinología general y comparada, Ed. H Blue Ediciones, España.
4. Gilbert, F. Scout. 2006. Biología del Desarrollo 7ª. ed. Ed. Medica Panamericana. México.
5. Jaramillo, J. Teresa *et al*, 1997. Reproducción y manejo de fauna silvestre, Ed. UAM Iztapalapa. México.

ANEXO



Ciclo estral en la rata. a) pared vaginal durante el estro. b) frotis vaginal en el diestro. c) células epiteliales en proestro. d) frotis durante el estro. e) células en metaestro.

Unidad 3

Plantas sin Semilla

INTRODUCCIÓN

Las plantas sin semilla no vasculares (briofitas) y vasculares (helechos y plantas afines), aparecen en el registro fósil hace aproximadamente entre 400 a 345 m.a., durante el Devónico Superior de la Era Paleozoica. Neuberg (1958) describió el primer fósil del gametofito de una hepática talosa. La primera estructura vegetativa fósil que probablemente corresponda a una planta vascular, se le asignó el nombre de *Aladnophyton*, descubierta en estratos de una formación rusa, perteneciente al Cámbrico Medio. Aunque algunos autores como Scagel *et al.* (1977), Margulis y Schwartz (1998) y Raven *et al.* (1999), consideran que el origen de ambos grupos de plantas podría ser más antiguo (550 m.a.), debido a que las esporas fósiles de ambos grupos, son muy similares.

Estos grupos de plantas junto con las gimnospermas y angiospermas, conforman el reino Plantae. Son organismos multicelulares, con alternancia de generaciones, forman embriones durante su desarrollo; esta última característica la comparten con el reino Animalia. Generalmente son fotosintéticos, presentan clorofilas “a” y “b”, autotróficos y conjuntamente con las cianobacterias y las algas son los principales proveedores de oxígeno al planeta.

Las briofitas, helechos y plantas afines, están adaptadas a vivir en el medio terrestre, aunque dependen del agua líquida en alguna fase de su ciclo biológico, como una reminiscencia de sus ancestros marinos. La mayoría de los botánicos coinciden en que las plantas terrestres se originaron a partir de las algas verdes (clorofitas), debido a que comparten características similares como presencia de células gaméticas masculinas con dos ó más undulipodios, aunque esta característica ya no se presenta en plantas con semilla; pared celular constituida de celulosa, plasmodesmata, almidón como sustancia de reserva que se almacena dentro del cloroplasto y presencia de clorofilas “a” y “b”.

En las plantas vasculares y no vasculares, se encuentran grupos de células estructural y funcionalmente diferentes, estas células forman tejidos que pueden ser simples o complejos, ambos presentes en raíces, tallos y hojas (Esau, 1982). Para reconocer los distintos tejidos de las plantas, se realiza una microtecnica convencional (Gaviño *et al.*, 1999), la cual permite distinguir a las células por su disposición, composición y función.

El estudio de la morfología y anatomía de estos organismos se ubica en el tercer semestre de la carrera, y está apoyado por la asignatura teórica Plantas sin Semilla y la tercera unidad del Laboratorio de Investigación Formativa III, que tiene por objetivo reconocer, analizar y establecer las diferencias morfológicas y anatómicas de las plantas sin semilla. Cada práctica esta planteada en términos generales con la intención que el alumno, investigue y complemente el procedimiento de las mismas, y éstas no constituyan una simple receta que le impida desarrollar su iniciativa y creatividad científicas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Delgadillo C. y M. A. Cárdenas. 1990. Manual de briofitas. Cuadernos 8. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
2. Esau, K. 1982. Anatomía de las plantas con semillas. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires.
3. Gaviño, G., C. Juárez L. y H. H. Figueroa T. 1999. Técnicas biológicas selectas de laboratorio y campo. 2^a ed. Limusa. México, D.F.

4. Margulis, L. y K. V. Schwartz. 1998. Five kingdoms, an illustrated guide to the phyla of life on earth. 3^a ed. W. H. Freeman. New York.
5. Neuberg, M. F. 1958. Permian true mosses of Angaraland. *Journal of Paleontological Society of India* **3**: 22-29.
6. Raven, P. H., R. F. Evert y S. E. Eichorn. 1999. Biology of Plants. 6^a ed. W. H. Freeman and Company Worth Publishers. New York.
7. Scagel, R. F., R. J. Bandoni, G. E. Rouse, W. B. Schofield, J. R. Stein y T. M. Taylor. 1977. El reino vegetal, los reinos de plantas y sus relaciones evolutivas. Omega. Barcelona.

Criterios de evaluación de la unidad

La unidad de plantas sin semillas representa el 25% de la calificación total del Laboratorio de Investigación Formativa III e incluye los siguientes rubros:

| | |
|--|-----|
| a) Asistencia y trabajo de laboratorio | 40% |
| b) Informes escritos de las prácticas | 15% |
| c) Informe escrito de la salida al campo | 15% |
| d) Examen | 30% |

El cuestionario contenido en cada una de las prácticas deberá entregarse al inicio de cada sesión. El uso de bata, manual de prácticas del LIF III, material biológico, bibliográfico y bitácora son obligatorios.

Cada informe de práctica deberá incluir en su primera página una carátula con el nombre, logotipo de la institución y dependencia; nombre de la práctica, integrantes del equipo y fecha de entrega. Incluirá introducción, la cual no deberá ser idéntica a la presentada en este manual; objetivos, material y métodos, resultados (que incluya esquemas, figuras, cuadros, entre otros), discusión, conclusiones y bibliografía citada.

Los informes deberán entregarse en hojas tamaño carta escritos en computadora con letra arial de 12 puntos e interlineado de 1.5, con un margen en los cuatro lados de 2.5 cm. La entrega se realizará una semana después de concluida la práctica.

Cada profesor junto con los alumnos correspondientes, deberán diseñar un experimento afín a la unidad, cuyos criterios de evolución serán propuestos por el profesor. Dicho proyecto corresponde al 25% de la calificación total del laboratorio.

PRÁCTICA 11

TÉCNICAS DE HERBORIZACIÓN Y DETERMINACIÓN TAXONÓMICA DE BRIOFITAS, HELECHOS Y PLANTAS AFINES

INTRODUCCIÓN

Para que un organismo vegetal forme parte de una colección científica tiene que pasar por un proceso de herborización, el cual implica: recolecta, prensado o fijación, secado, determinación taxonómica, montaje, etiquetado, encamisado e intercalado (Fig. 1, anexo II). La recolecta consiste en reunir una serie de muestras botánicas y cada grupo de vegetales se procesa de manera particular. En el caso de las briofitas, plantas terrestres no vasculares, cuya fase conspicua es la gametofítica y su medio de dispersión es la espora, se recolectan por medio de una espátula, cuchillo, navaja, o se puede retirar con la mano del sustrato y colocar en bolsas de papel de estraza con sus datos respectivos, para transportarlas al laboratorio o herbario. Las bolsas conjuntamente con los ejemplares se colocan en la secadora para recibir un secado ligero a una temperatura poco superior a la ambiental; si se someten a temperaturas mayores sus estructuras se fragmentan. No se recomienda su prensado, debido a que sus talos delicados se deforman. Es conveniente retirar sólo un fragmento del gametofito que incluya el esporofito, esto permitirá la regeneración del mismo (Delgadillo y Cárdenas, 1990).

Los helechos y plantas afines también presentan como medio de dispersión la espora. A diferencia de las briofitas tienen tejidos especializados en la conducción (xilema y floema). Los helechos recolectados se prensan con papel periódico (35x47 cm). Deben de incluir rizomas, hojas fértiles y estériles. Al momento de su recolecta es necesario anotar en la libreta de campo si el espécimen es epífito, terrestre (epipétrico que crece sobre roca, sobre suelo) o acuático. También se recomienda anotar el color de: rizoma, estípites, raquis, soros o sinangios. En el caso de las plantas afines éstas deben incluir partes vegetativas y reproductivas (Arreguín-Sánchez *et al.*, 2004).

OBJETIVO GENERAL

Herborizar y determinar taxonómicamente briofitas, helechos y plantas afines.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Aplicar en campo y laboratorio las técnicas de herborización para briofitas, helechos y plantas afines.

Reconocer las características morfológicas de las estructuras vegetativas y reproductivas de los diferentes grupos de plantas.

Manejar claves dicotómicas para su determinación taxonómica.

MATERIAL Y EQUIPO

- Lupa de joyero 10X
- Navaja, espátula o cuchillo
- Garrocha para recolecta
- Bolsas de papel de 1 kg.

- Marcadores indelebles, bolígrafo y lápiz
- Libreta de campo
- Solución fijadora FAA
- Solución GAA
- Contenedor
- Papel periódico
- Prensa botánica (45x30 cm) (Fig. 2, anexo II)
- Cartón corrugado
- Tijeras de podar a una mano con doble filo
- 5 Frascos de vidrio, boca ancha, tapa plástico, 500 ml
- Etiquetas de papel albanene de 5x5 cm
- Agujas de disección
- Cajas petri
- Pinzas de disección de 15 cm
- GPS
- Microscopio estereoscópico
- Secadora
- Microscopio compuesto

PROCEDIMIENTO

En la zona elegida se recolectaran especímenes de plantas no vasculares, helechos y plantas afines, para ello se registrarán en la libreta de campo los datos que deben acompañar a toda recolecta, entre éstos: fecha, localidad, tipo de vegetación, géneros asociados y las coordenadas se registrarán por medio de un GPS. Parte del material biológico recolectado se herborizará en lo posible por quintuplicado, otra parte se fijará en FAA para estudios anatómicos (Anexo I). Es importante que todo el material recolectado sea numerado junto con los datos de recolecta correspondientes.

En el laboratorio se observará el material recolectado y se reconocerán las estructuras morfológicas de cada grupo y en un cuadro comparativo establecer sus diferencias. Con el uso de claves dicotómicas determinar el material, en lo posible hasta especie (Anexo III). Finalmente, aplicar las técnicas de montaje, etiquetado y encamisado de ejemplares para su incorporación a la colección del herbario.

CUESTIONARIO

1. ¿Qué es una colección científica y cuál es su importancia?
2. ¿Cuál es la función del fijador (FAA)?
3. ¿Por qué es importante recolectar helechos con hojas fértiles y estériles?
4. Investigue por qué la fase dominante en las briofitas es la gametofítica.
5. ¿Cuál es la diferencia entre un sinangio y un soro?

BIBLIOGRAFÍA

1. Arreguín-Sánchez, Ma. de L., R. Fernández N. y D. L. Quiroz G. 2004. Pteridoflora del Valle de México. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. México, D. F.
2. Delgadillo C. y M. A. Cárdenas. 1990. Manual de briofitas. Cuaderno 8. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
3. Mickel, J. T. y J. M. Beitel. 1988. Pteridophyte Flora of Oaxaca, Mexico. *Memoirs of the New York Botanical Garden* **46**: 1-568.

PRÁCTICA 12

MORFOLOGÍA Y ANATOMÍA DE BRIOFITAS

INTRODUCCIÓN

Las briofitas son plantas no vasculares, carecen de tejidos especializados en la conducción (agua y sales minerales, productos elaborados durante el proceso fotosintético). Los musgos son los únicos que tienen células muertas especializadas en la conducción de agua y sales minerales, éstas conforman el hadroma cuyas células individuales reciben el nombre de hidroides; las cuales son alargadas, con paredes delgadas y muy permeables al agua. Por otro lado, el leptoma son las células que transportan los productos de la fotosíntesis y cada célula constituye un leptoide, éstas son alargadas, vivas y parecidas a los elementos de tubo criboso de las plantas con semilla (Raven *et al.*, 1999). Las briofitas son plantas homósporas, su medio de dispersión es la espora, la cual germina para originar un gametofito multicelular haploide, en el cual se desarrollan los gametangios. El femenino se conoce como arquegonio y el masculino anteridio. La fase conspicua y dominante de su ciclo biológico es la gametofítica (n), la esporofítica (2n) está reducida. Esta última, generalmente para su alimentación depende del gametofito (Gradstein *et al.*, 2001; Mauseth, 2003). Como todas las plantas desarrollan embriones y presentan alternancia de generaciones. Las estructuras internas y externas de las briofitas se pueden apreciar en el anexo II de este manual (Figs. 3-9).

OBJETIVO GENERAL

Reconocer las características morfológicas y anatómicas de plantas no vasculares.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Registrar las principales diferencias morfológicas de las clases Anthocerotopsida, Marchantiopsida y Briopsida.
- Distinguir las principales diferencias anatómicas de las clases Anthocerotopsida, Marchantiopsida y Briopsida.
- Reconocer las fases gametofíticas y esporofíticas de las tres clases.
- Observar y registrar las diferencias entre anteridios y arquegonios de las tres clases (ubicación y forma).

MATERIAL Y EQUIPO

- Agujas de disección
- Cajas de Petri
- Navaja de un solo filo
- Pinzas de disección
- Claves de briofitas
- Muestras biológicas de briofitas
- Solución fijadora FAA
- Solución GAA
- Portaobjetos

- Cubreobjetos
- Verde rápido
- Safranina
- Resina sintética
- Xilol
- Etanol 50, 70, 90% y absoluto
- Alcohol butílico
- Aceite de clavo
- Cajas coplin
- Parafina con punto de fusión de 52 °C
- Adhesivo de Haupt
- Formalina
- Lupa de joyero 10X
- Microscopio estereoscópico
- Estufa
- Micrótopo
- Microscopio óptico
- Plancha de estiramiento

PROCEDIMIENTO

Con un microscopio estereoscópico observar el material biológico correspondiente a los tres grupos, reconocer las diferencias morfológicas entre ellos, considerar forma, tamaño, textura del gametofito y esporofito. Para obtener las características anatómicas se aplicarán las técnicas histoquímicas convencionales que consisten en la deshidratación de tejidos, inclusión en parafina, obtención de cortes en diferentes planos y sentidos, tinción y observación en el microscopio compuesto (Anexo I).

Elaborar un cuadro comparativo de las características morfológicas y anatómicas observadas en los diferentes grupos.

CUESTIONARIO

1. ¿Cuál es el posible origen de la fase esporofítica en las plantas?
2. ¿Por qué la fase gametofítica es la dominante en el ciclo biológico de las briofitas? Explique.
3. Analice y discuta las hipótesis del origen filogenético de las briofitas
4. Esquematice y explique el ciclo biológico de las briofitas. Enuncie las principales diferencias entre las clases.
5. Las plantas y los animales desarrollan embriones durante su ciclo biológico. Señale las principales diferencias entre el desarrollo embrionario de ambos grupos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gradstein, S. R., S. P. Churchill y N. Salazar-Allen. 2001. Guide to the Briophytes of Tropical America. Memoirs of The New York Botanical Garden. New York.
2. Mauseth, J. D. 2003. Botany an Introduction to Plant Biology. 3^a ed. Jones and Bartlett Publishers. Austin.
3. Raven, P. H., R. F. Evert y S. E. Eichorn. 1999. Biology of Plants. 6^a ed. W. H. Freeman and Company Worth Publishers. New York.

PRÁCTICA 13

MORFOLOGÍA Y ANATOMÍA DE HELECHOS Y PLANTAS AFINES

INTRODUCCIÓN

Los helechos pertenecen a la división Pteridophyta o Pterophyta. Las plantas afines a Psilotophyta (psilotos), Equisetophyta (colas de caballo) y Lycopodiophyta (licopodios y selaginelas). La mayoría de estas divisiones presentan una raíz primaria que se origina del embrión. En las plantas adultas la raíz primaria desaparece y se desarrollan raíces adventicias que se originan endógenamente, a partir del periciclo de los rizomas. Generalmente son monarcas o diarcas (Gifford y Foster, 1987). En este grupo de plantas, excepto en Psilotophyta el tallo es un estolón o un rizoma. El cilindro central o estele en función del grupo puede ser una protostele, sifonostele (ectofloica o anfifloica) y dictiostele. El cilindro central esta conformado por el floema, xilema, periciclo y medula. La ausencia de hojas es característica de las psilotofitas, las micrófilas están presentes en equisetofitas y licopodiofitas, mientras que, las megafilas son propias de los helechos, en este último grupo reciben el nombre de frondas. Cada fronda está conformada por estípites, raquis y lámina. Esta última puede ser simple o dividida y presentar una vernación circinada (Judd *et al.*, 1999; Raven *et al.*, 1999; Mauseth, 2003).

Todas las plantas afines y algunos helechos desarrollan eusporangios, los cuales se pueden observar a simple vista, se agrupan en racimos, espigas o forman sinangios, contienen más de 64 esporas, tienen un mecanismo de dehiscencia irregular y la pared del esporangio esta conformada por más de una capa de células. La mayoría de los helechos son leptosporangiados, sus esporangios se agrupan en soros con o sin indusio. Son pequeños contienen hasta 64 esporas, dehiscencia regular y la pared del esporangio es uniestratificada. Los helechos y las plantas afines pueden ser homospóricas o heterospóricas (Judd *et al.*, 1999; Mauseth, 2003). Las características morfológicas y anatómicas de los helechos y plantas afines se pueden observar en el anexo II de este manual (Fig. 10-19).

OBJETIVO GENERAL

Identificar y establecer las diferencias morfológicas y anatómicas entre las divisiones Psilotophyta, Equisetophyta, Lycopodiophyta y Pteridophyta.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Reconocer e identificar la morfología de raíz, tallo y hoja de helechos y plantas afines.

Realizar cortes histológicos de raíz, tallo y hoja de helechos y plantas afines.

Observar y diferenciar las características anatómicas de raíz, tallo y hoja de helechos y plantas afines.

Observar y diferenciar los órganos reproductores de helechos y plantas afines.

MATERIAL Y EQUIPO

- Porta objetos
- Cubreobjetos

- Cajas coplin
- Agujas de disección
- Pinzas de disección
- Muestras biológicas
- Claves de helechos y plantas afines
- Frascos de vidrio
- Lápiz de carburo con punta de diamante
- Termómetro
- Fijador FAA
- Conservador GAA
- Formalina
- Adhesivo de Haupt
- Safranina
- Verde rápido
- Parafina punto fusión 52 °C
- Resina sintética
- Alcohol etílico 50, 70, 96 % y absoluto
- Xilol
- Microscopio estereoscópico
- Estufa
- Micrótomo
- Microscopio óptico
- Plancha de estiramiento

PROCEDIMIENTO

Con un microscopio estereoscópico observar el material biológico correspondiente a Psilotophyta, Equisetophyta, Lycopodiophyta y Pteridophyta. Reconocer las diferencias morfológicas entre ellos, considerar: presencia, forma, tamaño y localización de raíces, tallos, hojas y esporangios.

Para observar las características anatómicas se aplicarán las técnicas histoquímicas convencionales que consisten en: deshidratación de tejidos, inclusión en parafina, obtención de cortes en diferentes planos y sentidos, tinción y observación en el microscopio compuesto (Anexo I).

Elaborar un cuadro comparativo de las características morfológicas y anatómicas observadas en los diferentes grupos.

CUESTIONARIO

1. Defina y explique las diferencias entre protosteles (haplostele, actinosteles y plectosteles), sifonosteles, dictiosteles, eusteles y atactosteles; e indique en que grupos de plantas se presentan.
2. ¿Cuáles son las características morfológicas y anatómicas que comparten los helechos y plantas afines para constituir un grupo monofilético?

3. ¿Qué ventajas evolutivas presentan las plantas con leptoesporangios con respecto a las que tienen eusporangios?
4. ¿Cuál es la diferencia entre plantas homospóricas y heterospóricas?
5. Enuncie y analice las teorías que explican el origen filogenético de las hojas microfilas y megafilas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gifford, E. M. y A. S. Foster. 1987. Morphology and evolution of vascular plants. W. H. Freeman and Co. New York.
2. Judd, W. S., C. S. Campbell, E. A. Kellogg y P. F. Stevens. 1999. Plants systematics. Sinauer Associates Inc. Massachussetts.
3. Mauseth, J. D. 2003. Botany an Introduction to Plant Biology. 3^a ed. Jones and Bartlett Publishers. Austin.
4. Raven, P. H., R. F. Evert y S. E. Eichorn. 1999. Biology of Plants. 6^a ed. W. H. Freeman and Company Worth Publishers. New York.

PRÁCTICA 14

ORGANOGRAFÍA DE RAÍZ, TALLO Y HOJA

INTRODUCCIÓN

La organografía vegetal estudia las estructuras en las plantas vasculares, tales como raíz, tallo y hoja. La raíz generalmente está presente en las plantas vasculares. Sus funciones primarias son la absorción de agua y sales minerales, así como el anclaje; secundariamente puede funcionar como un órgano de almacenamiento de agua y productos elaborados durante la fotosíntesis. Por su origen, las raíces se clasifican en primarias y secundarias. Las primeras se originan de la radícula del embrión, las segundas se forman a partir de tejido diferenciado y entre ellas, se encuentran las raíces adventicias (Figs. 20, 21, anexo II). En relación con su forma se dividen en típicas, axonomorfas o pivotantes; fibrosas y tuberosas.

En corte transversal una raíz está conformada de epidermis y corteza, cuya capa más interna de células es la endodermis, ésta presenta una banda de Caspary. Enseguida se encuentra el cilindro central o estele, conformado por periciclo, floema y xilema. El xilema frecuentemente forma un cuerpo central sólido con proyecciones radiales en corte transversal que se extienden hacia el periciclo y el floema se alterna con xilema. Si el xilema no se diferencia en el centro de la raíz, entonces se desarrolla una médula (Raven, 1999) (Figs. 22, 23, anexo II).

El tallo es el órgano típico de las plantas vasculares. Pueden ser epigeos e hipogeos. Los primeros se desarrollan por arriba de la superficie del suelo, como los culmos, estípites y estolones. Los segundos crecen por debajo del suelo, por ejemplo: bulbos, cormos y rizomas (Figs. 24-29, anexo II). En corte transversal y en tallos herbáceos se observa una cutícula, epidermis, corteza (habitualmente sin endodermis) y cilindro central, este último generalmente carece de periciclo. En las gimnospermas y dicotiledóneas el xilema y el floema se disponen colateralmente alrededor de una médula para conformar una eustele. En las monocotiledóneas los haces también son colaterales y se disponen dispersos en todo el tallo y constituyen un atactostele (Bell, 1993; Mauseth, 2003) (Fig. 30-33, anexo II).

Las hojas son los principales órganos fotosintéticos de las plantas, aunque algunas carecen de ellas y este fenómeno se lleva a cabo en los tallos. Estas estructuras se pueden clasificar de acuerdo con: origen filogenético (microfilas, megafilas), complejidad (simples, compuestas), inserción en el tallo (pecioladas, sésiles), función que realizan (cotiledones, catafilos, nomofilos, hipsofilos, brácteas o espadas y antofilos). Las hojas presentan generalmente un pecíolo y una lámina; esta última tiene una base, margen y ápice, con una gran variedad de formas y texturas (Fig. 34-39, anexo II). En corte transversal se observa una cutícula, epidermis generalmente uniestratificada con estomas, tricomas, glándulas y papilas; posteriormente se encuentra el mesófilo conformado por parénquima que puede estar diferenciado en empalizada y esponjoso; finalmente se encuentran los haces vasculares colaterales, habitualmente el floema hacia el envés y el xilema hacia el haz (Bell, 1993; Raven, 1999) (Figs. 40, 41, anexo II).

OBJETIVO GENERAL

Reconocer las características morfológicas y anatómicas de raíces, tallos y hojas de angiospermas y gimnospermas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Registrar las principales diferencias morfológicas de raíces, tallos y hojas de gimnospermas y angiospermas.

Registrar las principales diferencias anatómicas de raíces, tallos y hojas de gimnospermas y angiospermas.

MATERIAL Y EQUIPO

- Agujas de disección
- Cajas de Petri
- Navaja de un solo filo
- Pinzas de disección
- Muestras biológicas de raíces, tallos y hojas
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Verde rápido
- Safranina
- Resina sintética
- Xilol
- Etanol 50, 70, 90% y absoluto
- Alcohol butílico
- Aceite de clavo
- Cajas coplin
- Parafina con punto de fusión de 52 °C
- Adhesivo de Haupt
- Formalina
- Microscopio estereoscópico
- Estufa
- Micrótopo
- Microscopio óptico
- Plancha de estiramiento

PROCEDIMIENTO

Observe las diferencias morfológicas de las raíces, tallos y hojas solicitadas. Esquematice y señale cada una de sus partes. En un cuadro comparativo establezca sus variaciones en forma, tamaño, color, textura, presencia y tipo de tricomas, glándulas, diente y papilas según corresponda. Para observar las características anatómicas se aplicarán las técnicas histoquímicas convencionales que consisten en: deshidratación de tejidos, inclusión en parafina, obtención de cortes en diferentes planos y sentidos, tinción y observación en el microscopio compuesto (Anexo I). Elaborar un cuadro comparativo de las características anatómicas observadas en los diferentes órganos.

CUESTIONARIO

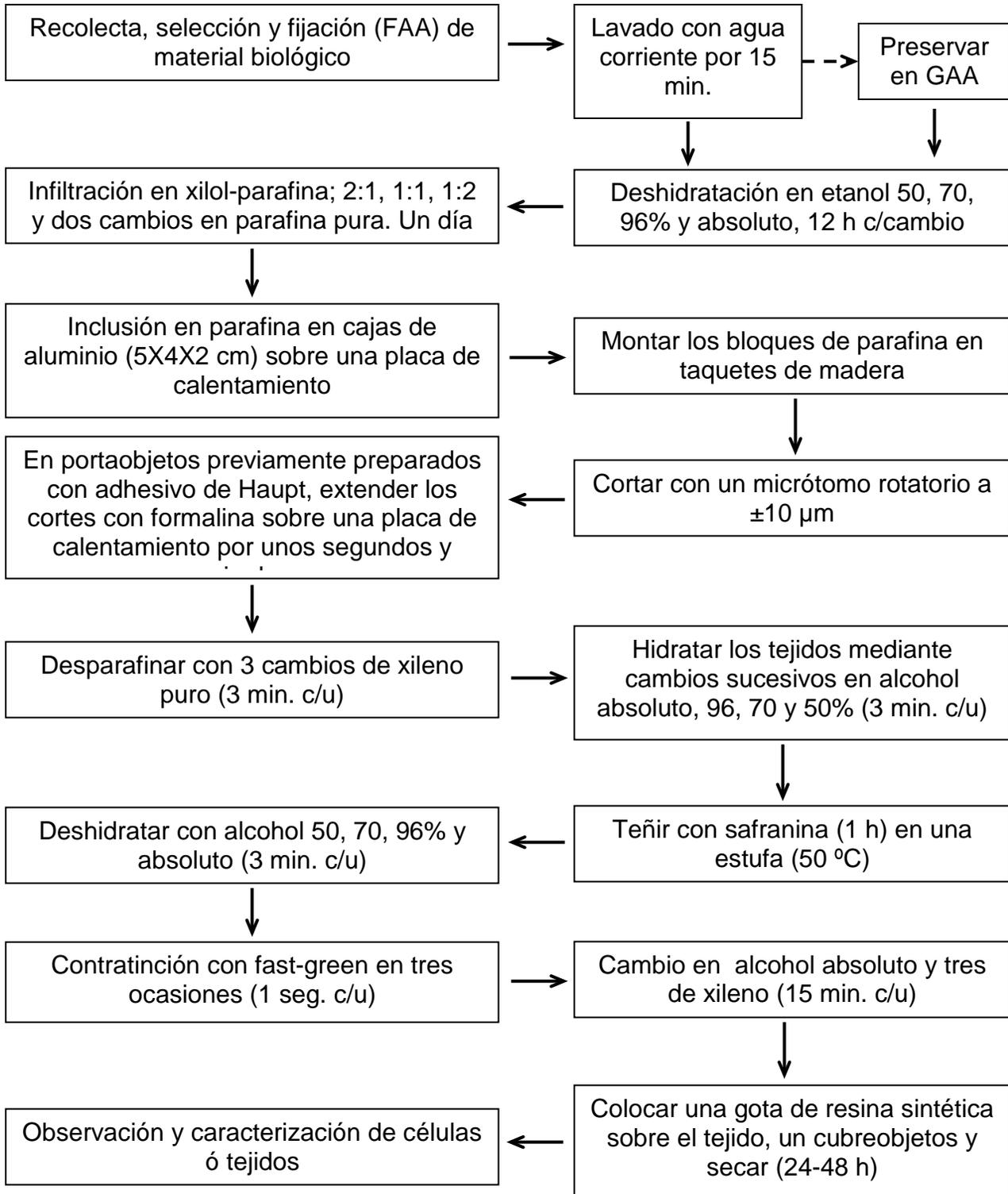
1. En el nivel anatómico, indique las principales diferencias morfológicas y anatómicas entre raíces y tallos.
2. ¿Cuál es la estructura y composición celular del xilema y floema en gimnospermas y angiospermas? Establezca las diferencias.
3. ¿Cuál es la función de bulbos, cormos, rizomas y estolones?
4. ¿Cuáles son las diferencias morfológicas de hojas simples y compuestas?
5. Indique el origen ontogenético y filogenético de raíces, tallos y hojas

BIBLIOGRAFÍA

1. Bell, A. D. 1993. Plant form: An illustrated guide to flowering plant morphology. Oxford University Press. New York.
2. Mauseth, J. D. 2003. Botany an Introduction to Plant Biology. 3^a ed. Jones and Bartlett Publishers. Austin.
3. Raven, P. H., R. F. Evert y S. E. Eichorn. 1999. Biology of Plants. 6^a ed. W. H. Freeman and Company Worth Publishers. New York.

ANEXO I

MICROTECNIA



PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Fijador FAA (formol, ácido acético, alcohol etílico y agua)

Para 100 ml, mezclar:

10 ml formol

50 ml alcohol etílico 96%

5 ml ácido acético glacial

35 ml agua (Johansen, 1940).

Conservador GAA (glicerina, agua y alcohol etílico)

Para 100 ml, mezclar:

30 ml glicerina

25 ml agua

45 ml alcohol etílico 96% (Gaviño, 1999).

Adhesivo de Haupt

Disolver 1g de grenetina en 100ml de agua tibia (35 °C).

Una vez que se haya disuelto la grenetina, agregar 2.9 g de cristales de fenol ó 0.5 g de benzoato de sodio. Agitar y filtrar. Conservar en un frasco ámbar (Johansen, 1940; Curtis, 1986).

Formalina o formol

Para 100 ml, mezclar:

Formol 10 ml

Agua destilada 90 ml (Johansen, 1940, Curtis, 1986).

Safranina

Para 100 ml de colorante:

0.05 g safranina

2.00 g cloruro de sodio

100 ml de agua destilada

Disolver en agua destilada, agitar durante 5 minutos, colocar en estufa a 60°C por 24 h, finalmente filtrar. Almacenar en frasco ámbar bien tapado (Johansen, 1940, Curtis, 1986).

Colorante fast-green

Fast-green 0.5 g

Etanol absoluto 33.3 ml

Metilcellosolve 33.3 ml

Aceite de clavo 33.3 ml

Disolver el fast-green en etanol absoluto (solución A), mezclar el aceite de clavo con metilcellosolve (solución B). Finalmente incorporar ambas soluciones. Mantener en frasco ámbar (Gaviño, 1999).

BIBLIOGRAFÍA

Curtis, P. J. 1986. Microtecnia vegetal. Trillas. México, D.F.

Gaviño, G., C. Juárez L. y H. H. Figueroa T. 1999. Técnicas biológicas selectas de laboratorio y campo. 2^a ed. Limusa. México, D.F.

Johansen, D. A. 1940. Plant Microtechnique. McGraw-Hill. Book Company. New York.

ANEXO II

LÁMINAS



Fig. 1. Estudiantes prensando ejemplares en campo.



Fig. 2. Prensa botánica usada en campo (45X30 cm).



Fig. 3. Gametofito y esporofito de *Anthoceros* sp.

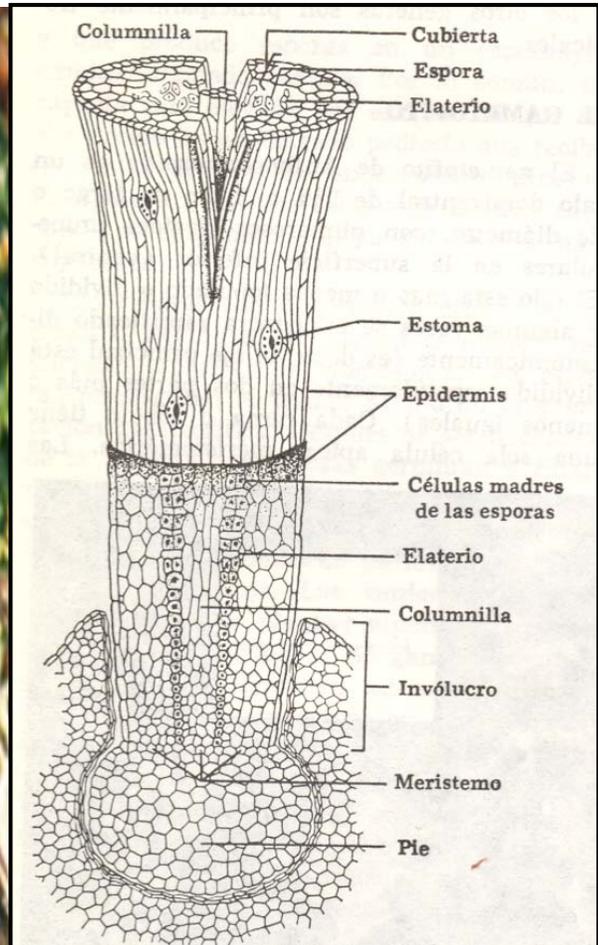


Fig. 4. Corte longitudinal de *Anthoceros* sp. Con sus diferentes estructuras (tomada de Cronquist, 1971).



Fig. 5. Gametofito de hepática talosa (*Marchantia* sp.)

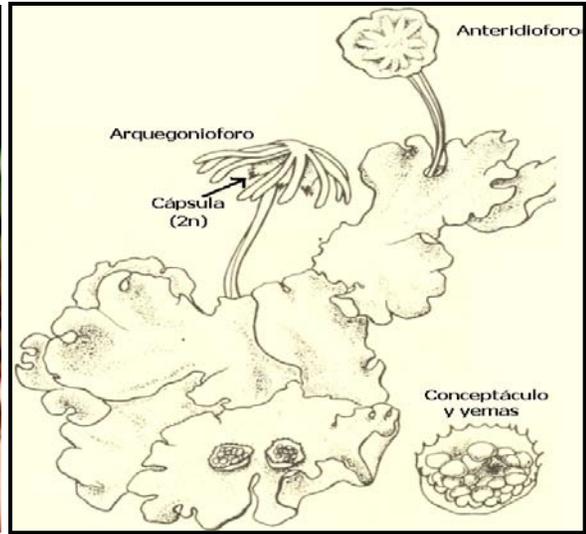


Fig. 6. Hepática talosa con diferentes estructuras (*Marchantia* sp.) (tomada de Delgadillo y Cárdenas, 1990).

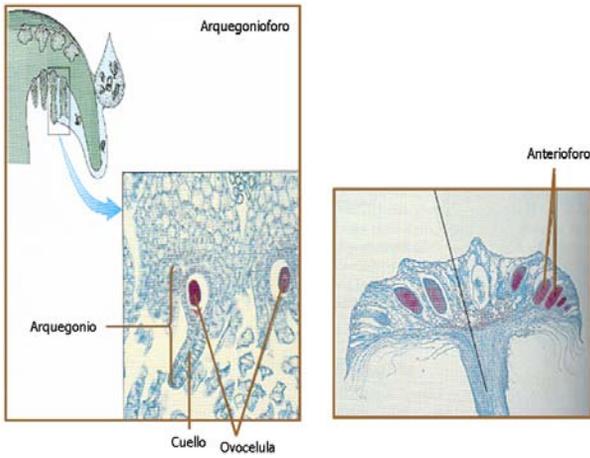


Fig. 7. Arquegonioforo y anteridio de *Marchantia* sp.



Fig. 8. Gametofito y esporofito de musgo (*Polytrichum* sp.)

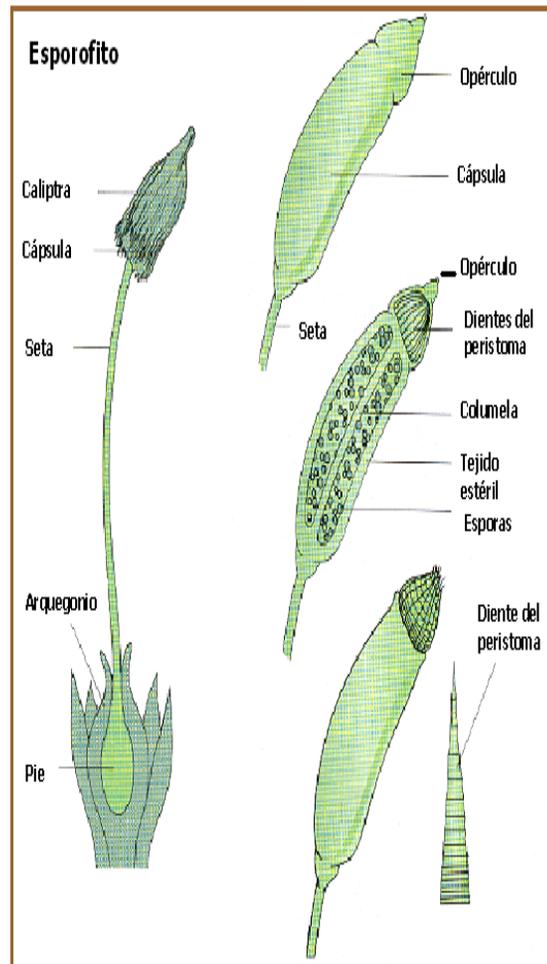


Fig. 9. Esporofito de musgo con diferentes estructuras (modificado de Mauseth, 2003).



Fig. 10. Esporofito y esporangios de *Psilotum nudum* (L.) Pal.

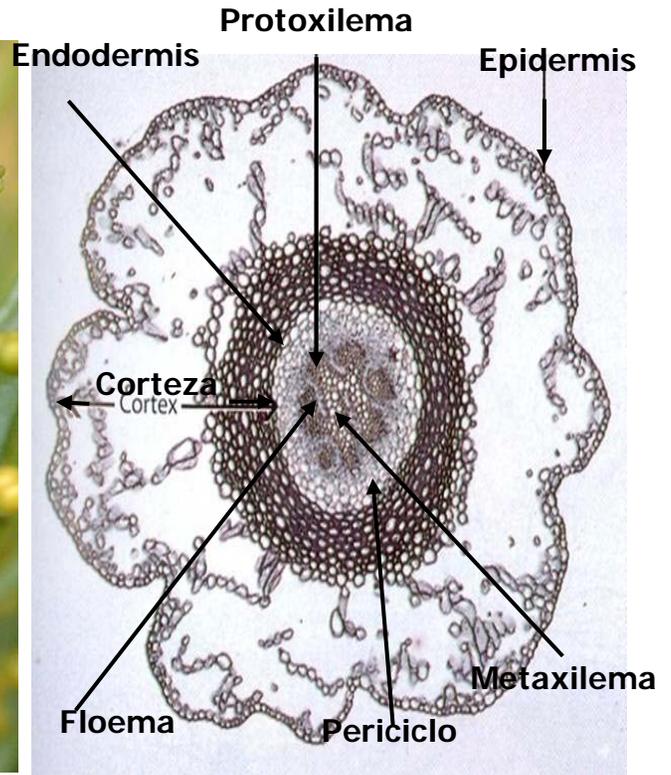


Fig. 11. Corte transversal. Tallo de *Psilotum nudum* (L.) Pal. En el centro se observa el cilindro central o protosteles (tomado de Raven *et al.*, 1999).

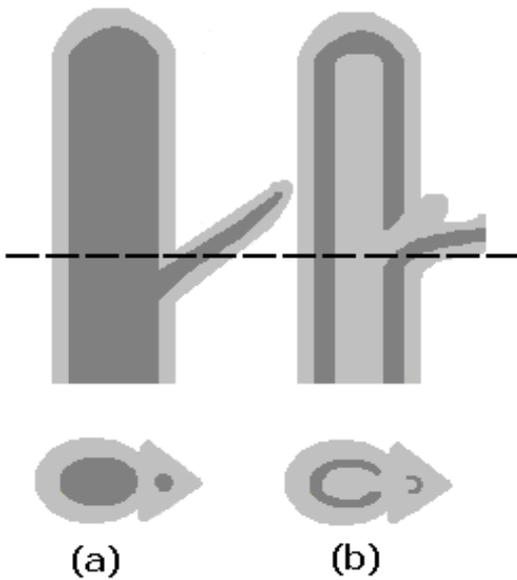


Fig. 12. Cortes transversales de tallo que muestran: traza foliar de hoja microfila (a), laguna y traza foliar de hoja megafila (b) (modificado de Raven *et al.*, 1999).

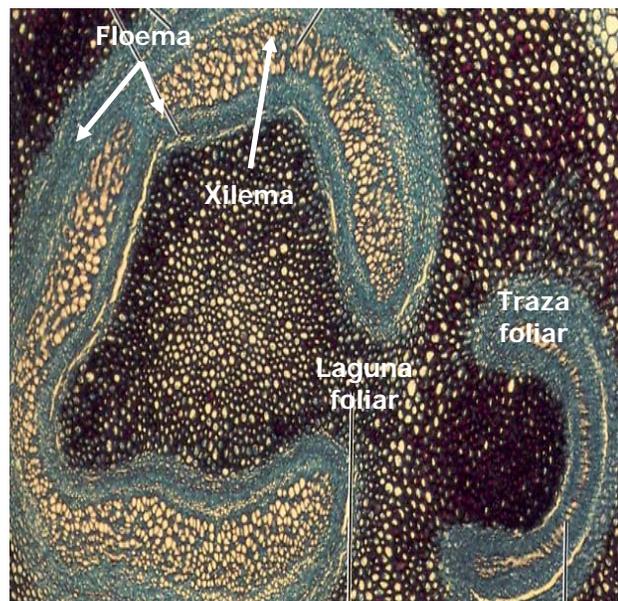


Fig. 13. Corte transversal de tallo y base de hoja megafila de *Adiantum* sp (tomado de Mauseth, 2003).



Fig. 14. *Phlebodium aerolatum* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) J. Sm. Lámina pinnatífida, soros en dos líneas.

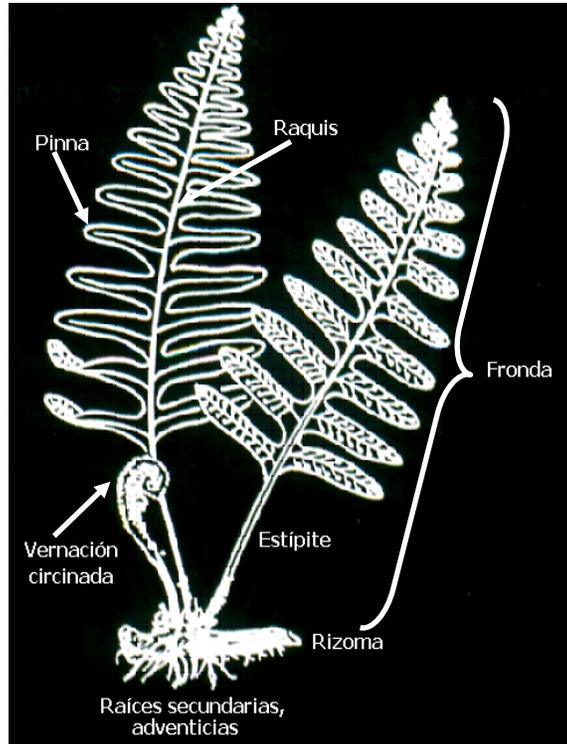


Fig. 15. Esporofito de helecho con diferentes estructuras.



Fig. 16. Esporofito de *Selaginella* sp.



Fig. 17. Estrobilos de *Lycopodium clavatum* L.

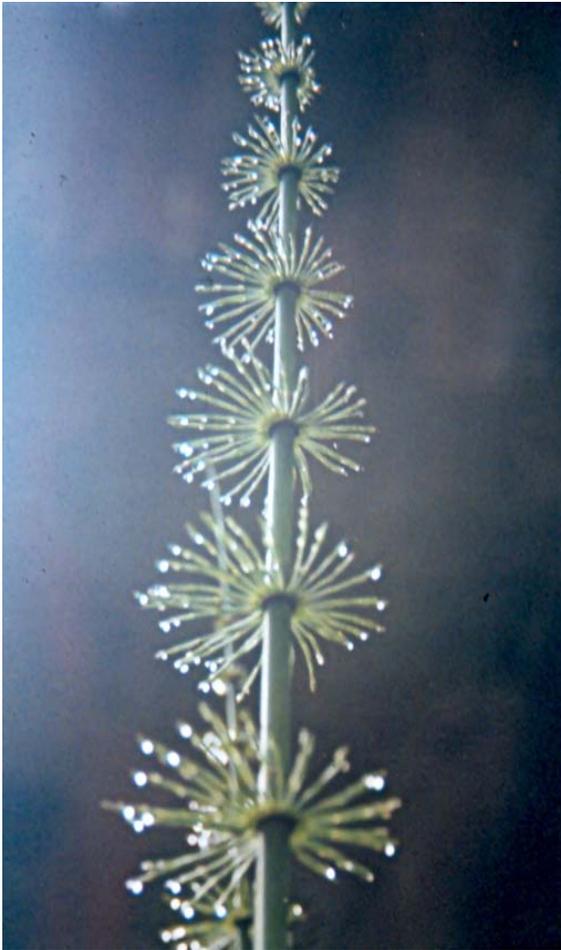


Fig. 18. Ramificación verticilada de *Equisetum* sp.



Fig. 19. Tallo y estrobilo de *Equisetum* sp.



Fig. 20. Raíz tuberosa primaria de *Beta vulgaris* L.



Fig. 21. Raíz fibrosa, adventicia de *Cyperus* sp.

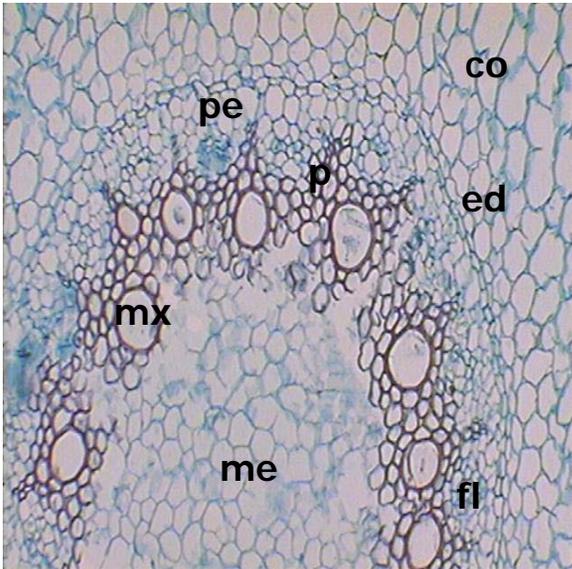


Fig. 22. Corte transversal de raíz *Manfreda guttata* (Jacobi & Bouché) Rose., co=corteza, ed=endodermis (la endodermis forma parte de la corteza), pe=periciclo, fl=floema, px=protoxilema, mx=metaxilema, me=medula.

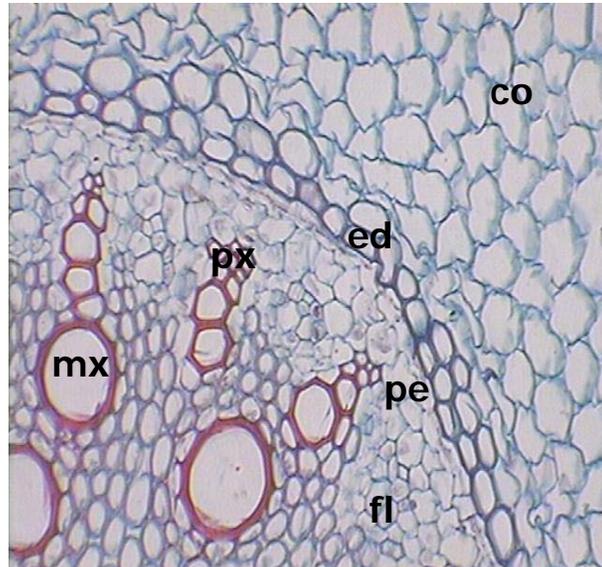


Fig. 23. Corte transversal de raíz de *Manfreda scabra* (Ortega) McVaugh, co=corteza, ed=endodermis (la endodermis forma parte de la corteza), pe=periciclo, fl=floema, px=protoxilema, mx=metaxilema.



Fig. 24. Estolón de *Monstera* sp.



Fig. 25. Rizoma de *Sansevieria trifasciata* Prain.



Fig. 26. Culmo de *Bambusa* sp.



Fig. 27. Estípite de *Sabal mexicana* Mart.



Fig. 28. Raíces fibrosas y bulbo de *Hymenocallis* sp.



Fig. 29. Raíces contráctiles y cormo de *Polianthes longiflora* Rose.

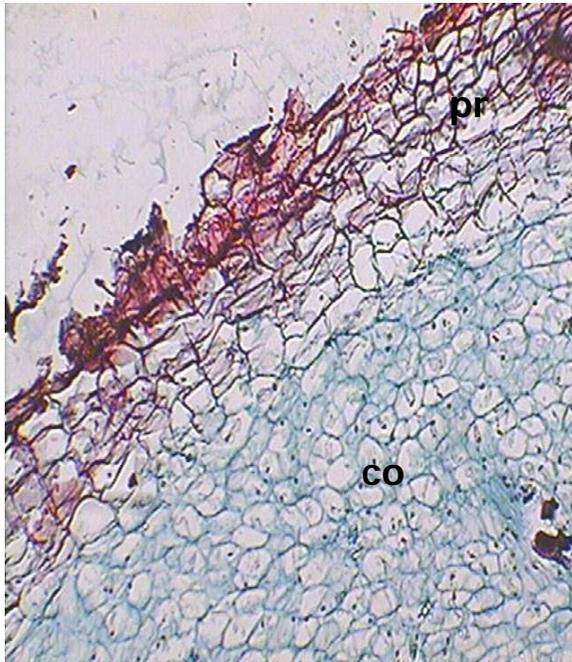


Fig. 30. Corte transversal del cormo de *Manfreda potosina* (B. L. Rob. Greenm) Rose.,
pe=peridermis, co=corteza

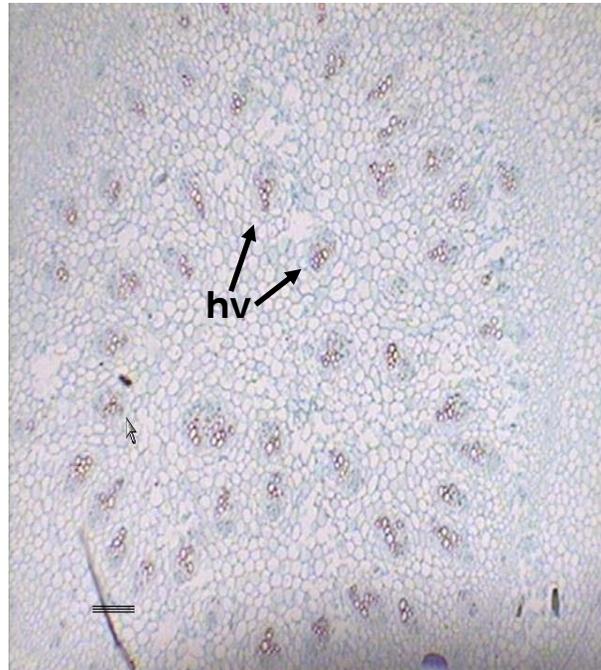


Fig. 31. Atactostele de *Manfreda* sp., haces vasculares dispersos en todo el tallo.

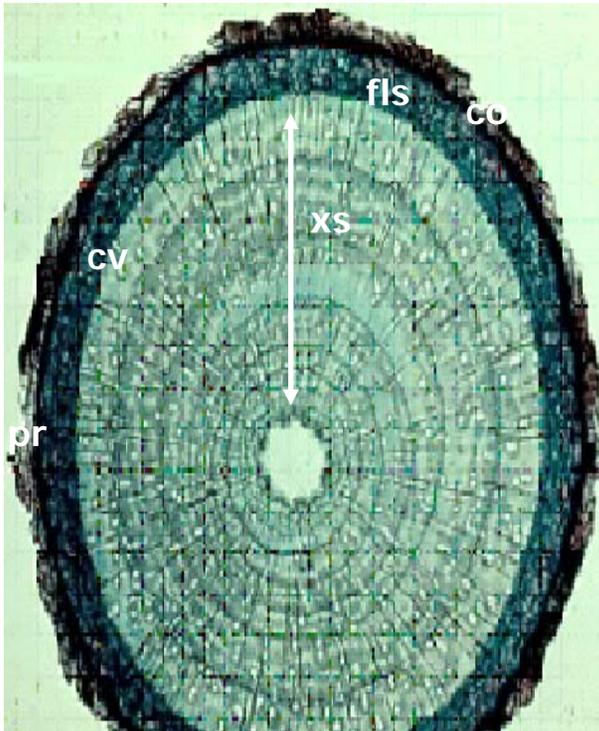


Fig. 32. Corte transversal de tallo de *Pinus* sp.,
pr=peridermis, co=corteza, fls=floema secundario,
cv=cambium vascular, xs=xilema secundario.

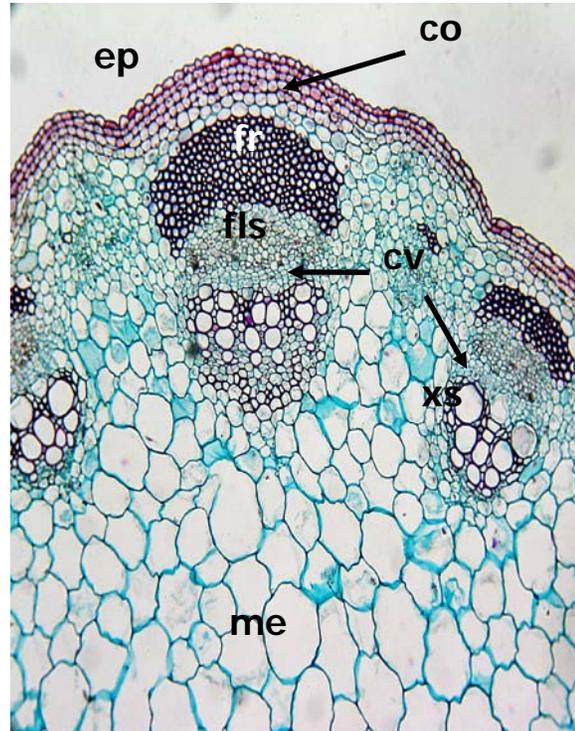


Fig. 33. Eustele de *Helianthus annuus* L.,
ep=epidermis, co=corteza, fr=fibras,
fls=floema secundario, cv=cambium vascular,
xs=xilema secundario, me=medula.



Fig. 34. Hoja simple acorazonada de *Xanthosoma robustum* Schott, con sus diferentes partes.

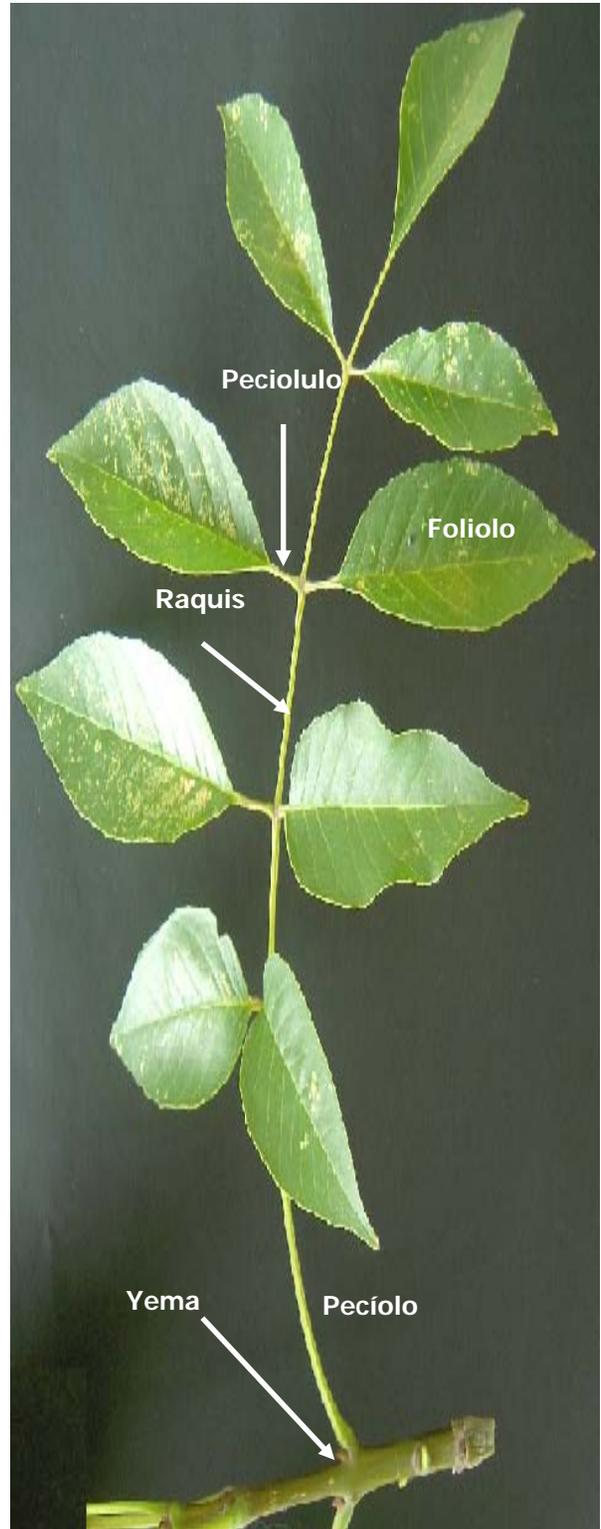


Fig. 35. Hoja compuesta imparipinnada de *Fraxinus uhdei* (Wenzig) Lingelsh., con sus diferentes partes.

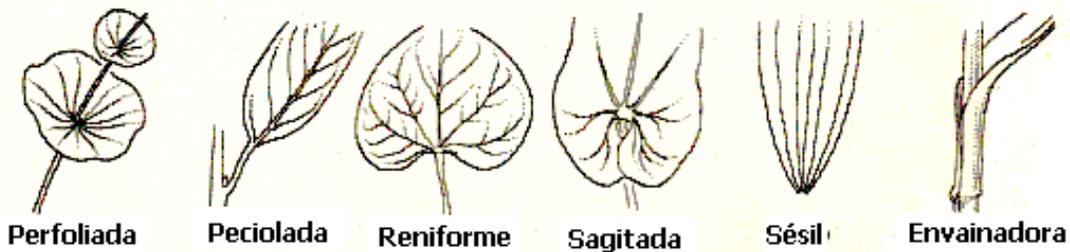
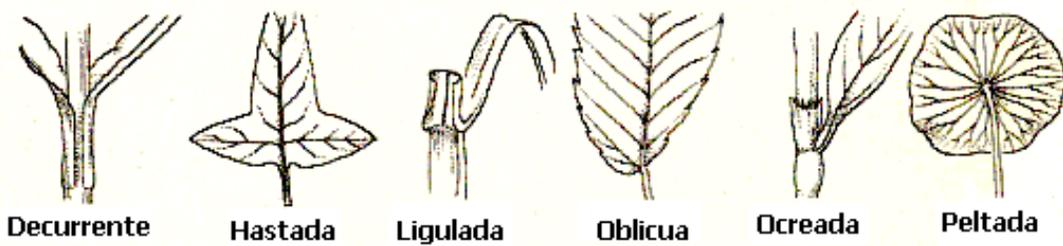
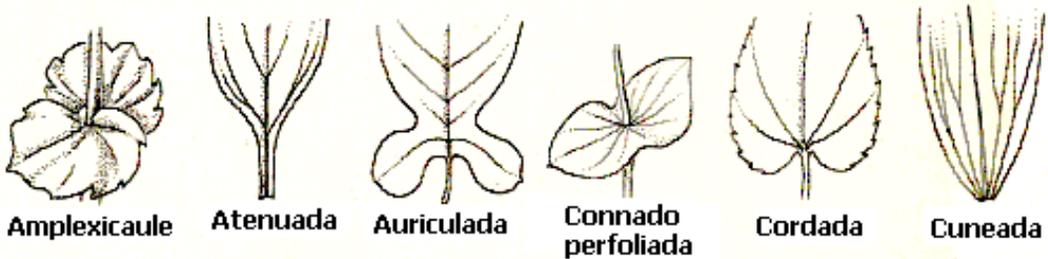
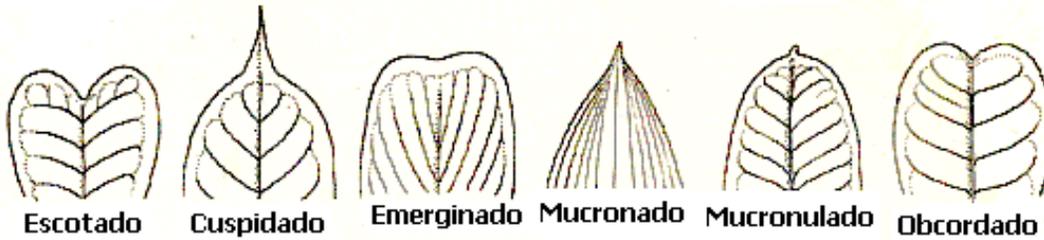
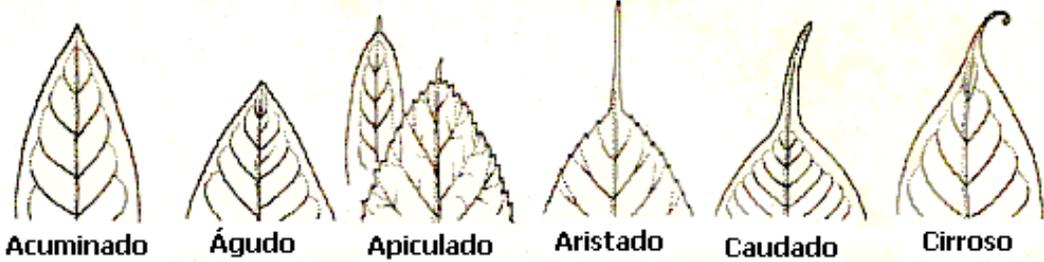


Fig. 36. Formas de ápices, bases e inserción de la hoja en el tallo (tomado de Radford *et al.*, 1974).

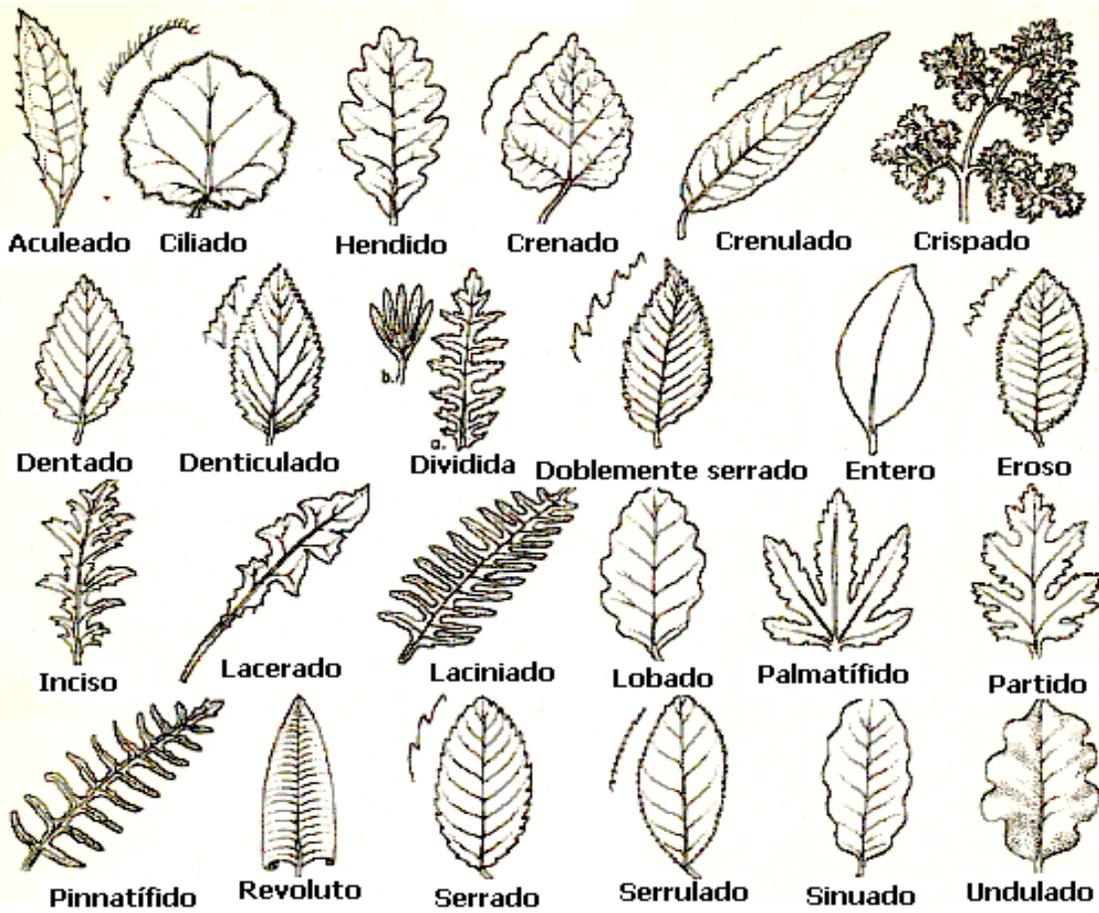


Fig. 37. Formas de márgenes (tomado de Radford *et al.*, 1974).

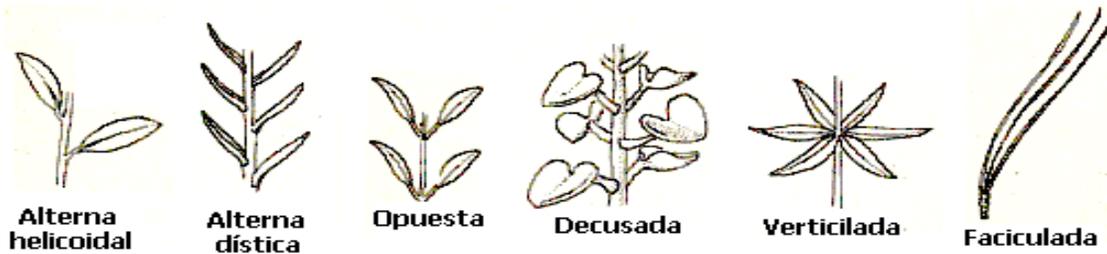


Fig. 38. Filotaxia o arreglo de las hojas en el tallo (modificado de Radford *et al.*, 1974).

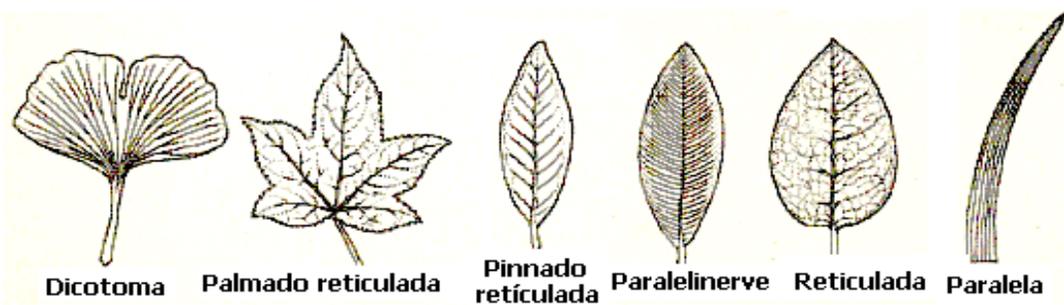


Fig. 39. Tipos de venación (tomado de Radford *et al.*, 1974).

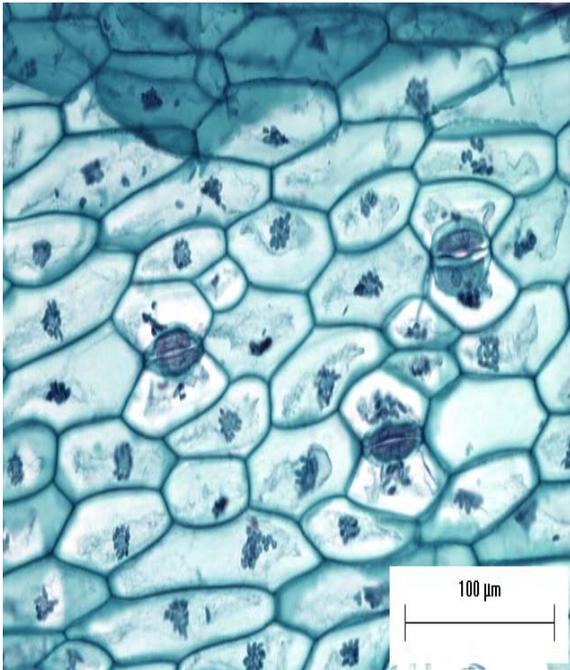


Fig. 40. Corte paradormal de hoja con células epidérmicas, estomas con células acompañantes y oclusivas de *Manfreda galvaniae* A. Castañeda, S. Franco & García-Mend.

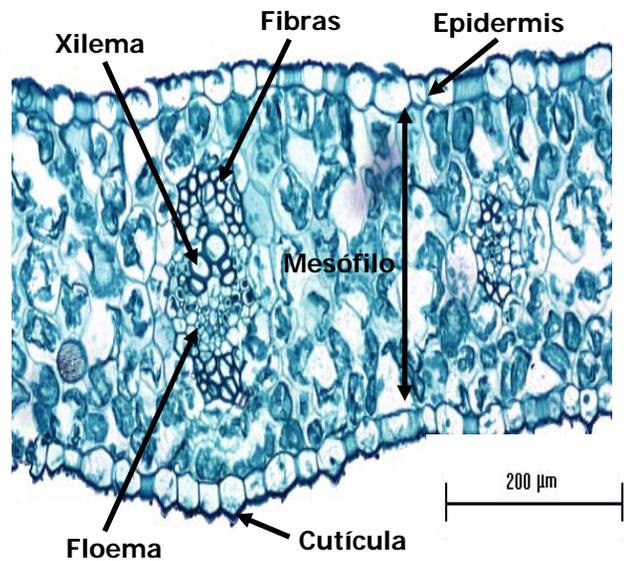


Fig. 41. Corte transversal de hoja con diferentes tejidos de *Manfreda galvaniae* A. Castañeda, S. Franco & García-Mend.

Las figuras 1-3, 5, 7, 11, 13, 15, 16, 19-24, 27, 28, 31 y 32; son fotografías de Eloy Solano Camacho. 17, 18, 25 y 26 pertenecen a Ana Rut de la Cruz Mateos. 35 y 36 corresponden a Jorge Reyes Rivera. Diseño y formato de Sonia Rojas Chávez.

BIBLIOGRAFÍA DE LÁMINAS

- Cronquist, A. 1971. Introducción a la botánica. C. E. C. S. A. México, D.F.
- Delgadillo C. y M. A. Cárdenas. 1990. Manual de briofitas. Cuadernos 8. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
- Mauseth, J. D. 2003. Botany an Introduction to Plant Biology. 3^a ed. Jones and Bartlett Publishers. Austin.
- Radford, A. E., W. C. Dickinson., J. R. Massey y C. R. Bell. 1974. Vascular plant systematics. Harper & Row, Publishers, Inc. New York.
- Raven, P. H., R. F. Evert y S. E. Eichorn. 1999. Biology of Plants. 6^a ed. W. H. Freeman and Company Worth Publishers. New York.

ANEXO III

CLAVES TAXONÓMICAS PARA LA DETERMINACIÓN DE PLANTAS SIN SEMILLAS

Géneros de Antocerotes y Hepáticas

1. Plantas taloides.
 2. Células del gametofito con un cloroplasto grande; cápsula cilíndrica.....*Anthoceros*
 2. Células del gametofito con numerosos cloroplastos pequeños; cápsula esférica u ovoide.
 3. Superficie dorsal del gametofito sin áreas poligonales ni poros.....*Dumortiera*
 3. Superficie dorsal del gametofito con áreas poligonales y poros.
 4. Conceptáculos presentes en plantas maduras.
 5. Conceptáculos en forma de copa.....*Marchantia*
 5. Conceptáculos en forma de media luna.....*Lunularia*
 4. Conceptáculos ausentes en plantas maduras.
 6. Cámaras aéreas del gametofito en una hilera; receptáculos femeninos apicales, no elevados.....*Targionia*
 6. Cámaras aéreas del gametofito en varias hileras; receptáculos femeninos elevados.....*Asterella*
1. Plantas foliosas.
 7. Anfigastrios similares en tamaño y forma a los filidios dorsales.....*Herbeta*
 7. Anfigastrios más pequeños que los filidios dorsales o ausentes.
 8. Filidios dorsales con la inserción anterior dirigida hacia el lado ventral del caulidio; anfigastrios generalmente presentes.....*Plagiochila*
 8. Filidios dorsales con la inserción anterior dirigida hacia el lado dorsal del caulidio; anfigastrios generalmente presentes.
 9. Base de los filidios con una vita clara.....*Bryopteris*
 9. Base de los filidios sin vita.....*Porella*

Géneros de Musgos

1. Musgos acrocárpicos, es decir, con caulidios generalmente erectos, órganos sexuales y esporofitos en la punta del caulidio o en sus ramificaciones.
2. Filidios dísticos a lo largo del caulidio.....*Fissidens*
2. Filidios, en tres o más hileras.
 3. Filidios en tres hileras evidentes, las laterales grandes y ovadas, las dorsales más pequeñas y estrechas.....*Epipterygium*
 3. Filidios en más de tres hileras evidentes.
 4. Filidios vegetativos dimorfos.
 5. Caliptra persistente sobre la cápsula, con aberturas longitudinales; borde intramarginal (teniola) generalmente presente.....*Calymperes*
 5. Caliptra decidua, cuculada; teniolas generalmente ausentes.....*Syrrophodon*
 4. Filidios vegetativos no dimorfos.
 6. Células superiores del filidio con papilas.
 7. Células del filidio con papilas apicales; base de los caulidios densamente tomentosa.
 8. Base del filidio envainante, lisa, sin células alares diferenciadas.....*Bartramia*
 8. Base del filidio no diferenciada, plegada con células alares diferenciada.....*Breutelia*
 7. Células del filidio con papilas sobre el lumen; base del caulidio no densamente tomentosa.
 9. Margen del filidio entero.
 10. Filidios sin costa, cápsula sin peristoma, dehiscencia por cuatro líneas longitudinales.....*Andreaea*
 10. Filidios con costa, cápsula con peristoma.
 11. Células del filidio con 4-5 papilas grandes de forma circular o de media luna. Células basales rectangulares que forman un grupo hialino a cada lado de la costa.....*Tortula*
 11. Células del filidio con 1-2 papilas pequeñas circulares o en forma de media luna. Células basales cuadradas o casi así con cloroplastos.....*Orthotrichum*
 9. Margen del filidio serrulado o fuertemente dentado.
 12. Margen del filidio recurvado, ápice fuertemente dentado; células papilosas en ambos lados.....*Leptodontium*
 12. Margen del filidio plano, ápice serrulado, subtubuloso; células dorsales papilosas.....*Leucoloma*
 6. Células superiores del filidio sin papilas.
 13. Costa con lamelas.
 14. Cápsula prismática, lámina del filidio doblada hacia arriba y hacia adentro.....*Polytrichum*
 14. Cápsula más o menos cilíndrica, lámina del filidio aplanada o cóncava.
 15. Filidios con células muy alargadas en el borde.....*Atrichum*
 15. Filidios sin células alargadas en el borde.....*Pogonatum*
 13. Costa sin lamelas.
 16. Costa ancha que ocupa un tercio de la base del filidio.
 17. Lámina reducida a la base de la costa.....*Octoblepharum*
 17. Lámina bien desarrollada.

- 18. Plantas blanquecinas, filidios compuestos principalmente por células hialinas.....*Leucobryum*
- 18. Plantas verdes, filidios compuestos principalmente por células con cloroplastos.....*Campylopus*
- 16. Costa estrecha que ocupa menos de un tercio de la base del filidio.
 - 19. Filidios con un pelo hialino apical.....*Grimmia*
 - 19. Filidios sin pelo apical.
 - 20. Margen del filidio con 2-3 hileras de células muy alargadas.
 - 21. Gametofito con caulidios rastreros alargados, filidios muy espaciados y ramificaciones erectas con filidios aglomerados.....*Plagiomnium*
 - 21. Gametofito solo con caulidios erectos.....*Bryum*
 - 20. Margen del filidio sin células diferenciadas.
 - 22. Células basales del filidio de pared gruesa, sinuosa o perforada.
 - 23. Filidios más o menos lingulados, mucronados, en seco torcidos en espiral alrededor del caulidio.....*Schlotheimia*
 - 23. Filidios lanceolados, no mucronados, en seco crispados.....*Ptychomitrium*
 - 22. Células basales del filidio de pared delgada, no perforada.
 - 24. Filidios crispados al secarse, con base auriculada, 2-4 esporofitos por periquecio.....*Symblepharis*
 - 24. Filidios no crispados al secarse, plantas con un solo esporofito por periquecio.
 - 25. Filidios curvados hacia un lado o erectos al secarse, con una punta larga y rígida; cápsula cilíndrica, erecta.....*Atractylocarpus*
 - 25. Filidios curvados hacia un lado o erectos al secarse, con una punta larga y rígida; cápsula cilíndrica, erecta.....*Funaria*
- 1. Musgos pleurocárpicos, con caulidios postrados, los órganos sexuales femeninos y los esporofitos aparecen lateralmente sobre caulidios o sus ramificaciones
 - 26. Caulidios dendroides, como pequeños árboles o ramificados en un plano como la hoja de un helecho.
 - 27. Filidios con un borde de células muy alargadas.....*Hypopterygium*
 - 27. Filidios no bordeados.
 - 28. Caulidios postrados, regularmente pinnados.
 - 29. Filidios torcidos hacia un lado, con el ápice curvo; células lisas.....*Hypnum*
 - 29. Filidios erectos, con el ápice recto; células con papilas.....*Thuidium*
 - 28. Caulidios erectos, ramificaciones concentradas hacia la punta del caulidio.
 - 30. Filidios sin costa o con costa corta y doble.....*Renauldia*
 - 30. Filidios con costa simple, bien desarrollada.
 - 31. Filidios plegados longitudinalmente, cápsula inmersa.....*Pterobryon*
 - 31. Filidios lisos, cápsula exserta.
 - 32. Margen del filidio serrulado o entero, filidios de las ramificaciones rodeando todo el caulidio, yemas frecuentemente sobre los caulidios.....*Pirella*
 - 32. Margen del filidio serrado o dentado, filidios de las ramificaciones frecuentemente en un solo plano, yemas ausentes.....*Porotrichum*
 - 26. Caulidios no dendroides ni frondosos.
 - 33. Caulidios colgantes, muy alargados, generalmente epifitos.

34. Filidios en un solo plano.
35. Filidios asimétricos, ondulados.....*Neckera*
35. Filidios simétricos, lisos.....*Phyllogonium*
34. Filidios dispuestos alrededor del caulidio.
36. Filidios dispuestos en hileras espiraladas.....*Orthostichidium*
36. Filidios dispuestos en hileras no espiraladas.
37. Filidios frecuentemente cóncavos.
38. Parte distal de la lámina del filidio doblada hacia arriba y adentro, células lisas, las alares claramente diferenciadas.....*Squamidium*
38. Parte distal de la lámina del filidio erecta, células con 1-2 papilas en cada lado, las células alares escasamente diferenciadas.....*Meteorium*
37. Filidios más o menos aplanados.
39. Filidios anchos, cordiformes en la base, células pluripapilosas.....*Papillaria*
39. Filidios estrechos, con base decurrente, células lisas.....*Dendropogonella*
33. Caulidios erectos o postrados, cortos, plantas de diversos sustratos.
40. Filidios en un solo plano aparente.....*Homalia*
40. Filidios en varias hileras alrededor del caulidio.
41. Células de los filidios lisos.
42. Filidios con un borde diferenciado.
43. Borde engrosado, formado por dos capas de células.....*Pyrrhobryum*
43. Borde formado por células alargadas.
44. Filidios con dos costas.....*Lepidopilum*
44. Filidios con una costa.....*Daltonia*
42. Filidios sin borde diferenciado.
45. Filidios vegetativos dimorfos.....*Racopilum*
45. Filidios vegetativos no dimorfos.
46. Costa sinuosa en el tercio superior del filidio.....*Herpetineuron*
46. Costa recta, doble o ausente.
47. Células dístales de la lámina del filidio muy alargadas.....*Entodon*
47. Células dístales de la lámina del filidio ovales, cortas.....*Cryphaea*
41. Células del filidio con papilas.
48. Filidios con costa.
49. Pared de las células del filidio muy engrosada, sinuosa.....*Prionodon*
49. Pared de las células del filidio no sinuosa.
50. Filidios dirigidos hacia un lado, ondulados, células con papilas dorsales en los extremos apicales.....*Rhytidium*
50. Filidios rectos, no ondulados, células con numerosas papilas en series longitudinales.....*Trachypus*
48. Filidios sin costa.
51. Esporofito con seta larga, no cubierto por el periquecio.....*Braunia*
51. Esporofito con seta muy corta, cubierto por el periquecio.
52. Filidios vegetativos con una punta hialina, los del periquecio con filamentos marginales.....*Hedwigia*
52. Filidios vegetativos sin una punta hialina, los del periquecio con el margen entero.....*Cryphaea*

Clave Hepáticas, Antocerotes y Musgos tomado y modificado de Delgadillo y Cárdenas (1990).

Delgadillo C. y M. A. Cárdenas. 1990. Manual de briofitas. Cuadernos 8. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.

- 18. Lámina pinnada-pinnatífida o más dividida, o si pinnada, entonces con esporas equinadas, base del pecíolo con dos haces vasculares.....Thelypteridaceae
- 18. Lámina entera, pinnatífida a pinnada, con 1 a 3 ó más haces vasculares en la base del pecíolo.....Polypodiaceae
- 16. Esporas triletes.
 - 19. Hojas subdimorfas, esporangios con anillo oblicuo, rizoma glabro a piloso.....Plagiogyraceae
 - 19. Hojas uniformes, dimorfas o subdimorfas, esporangio con anillo vertical, rizoma con escamas.
 - 20. Plantas epífitas a menudo colgantes, soros sin protección, lámina pinnatífida a pinnada, pilosa o con cerdas esparcidas en el envés de la lámina, esporas verdes.....Grammitidaceae
 - 20. Plantas terrestres o rupícolas, soros con o sin protección del margen reflejo, a veces con un indusio interno, lámina pinnatífida o más dividida, esporas nunca verdes.
 - 21. Soros con o sin protección del margen reflejo, lámina pinnada a más dividida, glabra, con indumento blanco, escamoso y/o piloso, en caso de ser pilosa, cubriendo densamente el envés de la lámina, o si los tricomas no cubren densamente el envés, entonces la lámina bipinnada o más dividida.....Pteridaceae
 - 21. Soros con el margen reflejo y un indusio interno.....Dennstaedtiaceae

Clave de familias de Pteridophytas, tomada y modificada de Arreguín-Sánchez *et al.* (2004).

Arreguín-Sánchez, Ma. de L., R. Fernández N. y D. L. Quiroz G. 2004. Pteridoflora del Valle de México. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. México, D. F.

Géneros de Helechos y plantas afines

1. Plantas sin hojas o raíces; tallos ramificados dicotómicamente; esporangios triloculares.....*Psilotum*
1. Plantas con hojas; esporangios uniloculares.
 2. Hojas con una sola vena sin ramificar (afines a helechos).
 3. Hojas en verticilos de 10-15, formando vainas en los nodos; tallos huecos, estriados*Equisetum*
 3. Hojas arregladas espiralmente o rara vez en verticilos de 4; tallos sólidos, no estriados.
 4. Hojas de 12-30 cm de longitud, semejantes a pastos; acuáticas.....*Isoëtes*
 4. Hojas de menos de 3 cm de longitud, diferentes a pastos.
 5. Estróbilos con 4 angulados; hojas oblongas a ovadas; heterospóricas.....*Selaginella*
 5. Estróbilos redondeados en sección transversal o esporangios en las axilas de hojas sin modificar; hojas con el ápice puntiagudo, usualmente lineares; homospóricas.....*Lycopodium*
 2. Hojas complejas (frondas), venas ramificadas (helechos).
 6. Plantas acuáticas.
 7. Frondas de menos de 2 cm de longitud; plantas flotantes en agua o sobre lodo.
 8. Frondas de 1-2 cm de longitud, tricomas en el haz.....*Salvinia*
 8. Frondas de 1-2 mm de longitud, glabras.....*Azolla*
 7. Frondas de más de 5 cm de longitud; plantas enraizadas en el lodo (flotando libremente solo en *Ceratopteris*).
 9. Frondas con 4 pinnas en el ápice del estípote, semejante a un trébol; heterospóricas, esporangios parecidos a nueces, en la base del estípote.....*Marsilea*
 9. Frondas con muchas pinnas, diferentes a un trébol; homospóricas, con esporangios en el envés.
 10. Plantas generalmente de menos de 0.5 m de alto, 2-3 pinnadas, membranáceas; frondas dimórficas; soros marginales.....*Ceratopteris*
 10. Plantas de 2-5 m de alto, 1-vez pinnadas, coriáceas; frondas monomórficas; soros que cubren todo el envés de la fronda.....*Acrostichum*
 6. Plantas terrestres, epipétricas o epífitas.
 11. Esporangios que nacen en espigas erectas o panículas desde cerca de la base de la fronda.
 12. Porciones fértiles 2 en panículas erectas; plantas no carnosas; rizoma en la superficie del suelo; raíces endurecidas.....*Anemia*
 12. Porción fértil erecta 1, (raramente 6-8 en epífitas); planta carnosa; tallo subterráneo (raramente en epífitas); raíces carnosas.
 13. Fronda simple (en epífitas ramificada dicotómicamente); la porción fértil es una espiga (6-8 espigas en epífitas).....*Ophioglossum*
 13. Fronda compuesta, la porción fértil paniculada.....*Botrychium*
 11. Esporangios en el envés de la fronda o al menos no en espigas erectas o panículas desde la base de esta, algunas veces se desarrollan en frondas modificadas o partes de esta.
 14. Frondas trepadoras, raquis enredándose en otras plantas.....*Lygodium*
 14. Frondas no trepadoras.
 15. Fronda ramificándose dicotómicamente, plantas por arriba de 15 cm de alto; terrestres.
 16. Fronda de menos de 0.5 m de alto, en forma de abanico; carecen de brotes o crecimiento continuo en las axilas de las ramificaciones; esporangios desarrollándose en apéndices semejantes a una bandera con puntas ramificadas; raras; presentes en bosques de tierras bajas.....*Schizaea*
 16. Fronda de 0.7 a 4 m de alto, con brotes o crecimiento continuo en las axilas de las ramificaciones; frondas terminales ramificadas pectinadas; esporangios desarrollándose en soros redondos en el envés de la fronda; comunes; frecuentemente en hábitats soleados.
 17. Venas ramificadas una vez entre la costa y el margen; escamosas en el envés, al menos en las venas principales; rizoma escamoso; soros generalmente con 4-6 esporangios.....*Gleichenia*
 17. Venas ramificadas 2-3 veces entre la costa y el margen; glabra en el envés, a menudo glauca; rizoma piloso; soros generalmente con más de 6 esporangios.....*Dicranopteris*
 15. Frondas sin ramificarse dicotómicamente (o si se ramifican, entonces epífitas y de menos de 5 cm de alto).
 18. Frondas carnosas con estípulas conspicuas en su base; esporangios de soros fusionados para formar un sinangio.
 19. Láminas 1-vez pinnadas; frondas dimórficas, sinangios lineares, embebidos en la lámina; rizoma obviamente rastroso; estípulas semejantes a escamas.....*Danaea*
 19. Láminas de 2-4 veces pinnadas; frondas monomórficas; sinangios, en el envés, oblongos, semejantes a una almeja abierta; rizomas con gran cantidad de estípulas carnosas.....*Marattia*
 18. Frondas membranáceas a coriáceas pero no conspicuamente carnosas; sin estípulas; esporangios sin fusionarse para formar un sinangio.
 20. Frondas fértiles y estériles diferentes, completa o parcialmente dimórficas.
 21. Lámina fértil, simple o bilobada.
 22. Lámina estéril uniestratificada (helechos membranáceos), ápice usualmente extendido y radicante; soros en copas marginales.....*Trichomanes*

22. Lámina estéril de más de una célula de grueso; ápice no radicante; soros en todo el envés de la lámina.
23. Lámina estéril simple.....*Elaphoglossum*
23. Lámina estéril ramificada dicotómicamente, finamente dividida.....*Peltapteris*
21. Lámina fértil compuesta.
24. Lámina estéril 1-vez pinnada o pinnatisecta.
25. Lámina estéril, pectinada o pinatífida.
26. Plantas terrestres de elevaciones altas; lámina de textura delgada.....*Plagiogyria*
26. Plantas terrestres o trepadoras, de elevaciones medias; lámina coriácea....*Blechnum*
25. Lámina enteramente pinnada.
27. Venas reticuladas.
28. Fronda fértil 1-vez pinnada.....*Bolbitis*
28. Fronda fértil 2-3 veces pinnada.....*Onocleopsis*
27. Venas libres.
29. Plantas hemiepífitas, con rizoma trepador; lámina delgada; fronda fértil pinnada.....*Lomariopsis*
29. Plantas terrestres; lámina coriácea; fronda fértil bipinnada.....*Olfersia*
24. Lámina estéril más de 1-vez pinnada.
30. Rizoma y lámina cubiertos con tricomas.....*Osmunda*
30. Rizoma y base del estípote cubiertos con escamas.
31. Plantas hemiepífitas; frondas fértiles sin tejido laminar.....*Polybotrya*
31. Plantas terrestres; frondas fértiles con algo de tejido laminar.
32. Soros marginales, protegidos por el margen recurvado; tercio terminal de la fronda fértil; lámina glabra.....*Llavea*
32. Soros redondeados en el envés de la lámina, margen no recurvado; fronda fértil por completo; lámina con tricomas aciculares.....*Thelypteris*
20. Frondas monomórficas.
33. Soros marginales a submarginales en la fronda.
34. Soros marginales, en copas submarginales, tubos o depresiones submarginales que revisten el margen, margen de la fronda no recurvado.
35. Lámina muy delgada (una célula de grueso); receptáculo elongado, frecuentemente protegido más allá de la copa soral o tubo; involucreo bivalvado o tubular.
36. Involucreo terminal; receptáculo usualmente sobresaliendo más allá del involucreo.....*Trichomanes*
36. Involucreo bivalvado; receptáculo no sobresaliente.....*Hymenophyllum*
35. Lámina generalmente de más de una célula de grueso; receptáculo poco elongado; involucreo bivalvado, parecido a una copa o depresión.
37. Estípote grueso, piloso; frondas grandes, coriáceas; indusio coriáceo.
38. Estípote erguido y largo de 1-2 m de alto.....*Dicksonia*
38. Estípote grueso, rizoma rastrero o caudice erecto, apenas emergiendo por arriba del suelo.
39. Estípote erecto, parecidos a troncos pero muy cortos; lámina de 4-5 pinnada; costa y costulas profundamente surcada hacia el envés, surco flanqueado por prominentes costillas decurrentes sobre el eje del siguiente arreglo.....*Culcita*
39. Estípote rastrero; lámina más o menos tripinnada; costa y costulas en realce o sólo ligeramente estriadas, costillas (si tiene) no decurrentes sobre el eje del siguiente arreglo.....*Cibotium*
37. Estípote delgado, rastrero o si erecto, las frondas cortas y coriáceas; indusios delgados, no coriáceos.
40. Frondas pequeñas, menos de 25 cm de largo; plantas epífitas.....*Loxoscaphe*
40. Frondas grandes, de 30-200 (-500) cm de longitud; plantas terrestres.
41. Soros continuos a lo largo del margen, mucho más largos (a lo largo del margen) que anchos.....*Lindsaea*
41. Soros interrumpidos, cortos, menos de dos veces el largo (a lo largo del margen) que el ancho.
42. Soros escasos en la parte posterior del margen; rizoma escamoso.....*Saccoloma*
42. Soros en el margen.
43. Frondas trepadoras, finamente divididas, 4-5 veces pinnadas, segmentos lineares, menos de 1 mm de ancho; rizoma escamoso.....*Odontosoria*

43. Frondas arqueadas, no trepadoras, 2-3 veces pinnadas, segmentos no lineares, de más de 5 mm de ancho; rizomas pilosos.....*Dennstaedtia*
34. Soros no en receptáculos marginales falsos, pero raramente protegidos por el margen recurvado de la lámina o soros abiertos sin protección ya sea de un verdadero o falso indusio.
44. Rizoma usualmente largo, rastrero, piloso; frondas grandes, usualmente de 1 m o más de largo; ramificaciones, si presentes, aparecen desde la base del estípite.
45. Venas reticuladas.....*Histiopteris*
45. Venas libres.
46. Rizoma corto, rastrero, suculento; lámina membranácea; estípite y lámina pilosos.....*Lonchitis*
46. Rizoma largo, rastrero, semejante a una cuerda, firme; lámina delgada a coriácea.
47. Soros continuos; falso indusio o éste cubriendo ligeramente al soro; rizoma muy profundo; esporas triletas; ejes inermes.....*Pteridium*
47. Soros discontinuos; sin indusio; rizoma en el nivel del suelo; esporas bilaterales; ejes frecuentemente espinosos.....*Hypolepis*
44. Rizoma corto, rastrero a erecto; frondas de pequeñas a grandes; ramificaciones cuando presentes, surgen del estípite.
48. Lámina entera a profundamente lobulada.
49. Lámina profundamente palmatilobada.....*Doryopteris*
49. Lámina no lobulada.
50. Plantas terrestres; lámina con venas reticuladas y venillas incluidas; de 60-120 cm de largo.....*Dictyoxiphium*
50. Plantas epífitas o epipétricas; lámina con venas reticuladas sin venillas incluidas; frondas principalmente de 10-40 cm de largo.
51. Lámina linear, 1-4 mm de ancho, con una sola hilera de areolas entre la costa y el margen.....*Vittaria*
51. Lámina linear elíptica, 9-12 mm de ancho, con 2-4 hileras de areolas entre la costa y el margen.....*Ananthacorus*
48. Lámina pinnada a varias veces pinnada.
52. Esporangios protegidos por un indusio.....*Adiantum*
52. Esporangios protegidos por el margen recurvado de la lámina, falso indusio.
53. Aristas usualmente en la parte superior del raquis donde las pinnas se separan; principalmente helechos grandes, frondas, de más de 80 cm de largo; esporas con anillo ecuatorial.....*Pteris*
53. Aristas ausentes; frondas de menos de 60 cm de largo; esporas sin anillo ecuatorial.
54. Estípite y raquis con densas escamas anchas; pinnas parecidas a un collar de cuentas; plantas que habitan grandes altitudes; esporas bilaterales; estípite con varios haces vasculares.....*Plecosorus*
54. Estípites y raquis con escamas angostas o sin escamas; pinnas raramente parecidos a un collar de cuentas (unas pocas especies de *Cheilanthes*); plantas que habitan elevaciones bajas o altas; esporas tetraédricas; estípite con 1-2 haces vasculares.
55. Surco adaxial del estípite y raquis densamente clavado-hirsuto; un falso margen proyectado más allá del falso indusio.....*Mildella*
55. Surco adaxial del estípite y raquis no densamente clavado-hirsuto; sin falso margen.
56. Estípite de color paja a pardo claro, o si atropurpúreo (casi negro), entonces glabro y las pinnas ternadas o simplemente pinnadas con hasta 5 pares de segmentos; ejes sin escamas.....*Pellaea*
56. Estípite atropurpúreo o castaño, o si blanco, entonces glandular-viscoso; pinnas no ternadas, raramente sólo pinnadas; ejes frecuentemente con escamas.
57. Lámina glabra; ejes atropurpúreos; soros discretos, cortos, no continuos; lámina membranácea a coriácea.....*Adiantopsis*
57. Lámina escamosa, pilosa o glabra; ejes atropurpúreos a castaños (o blancos); soros continuos, o si discontinuos, lámina de firme a coriácea.
58. Lámina pinnada a cuadripinnada; segmentos parecidos a un collar de cuentas a lineares; venas inconspicuas o conspicuas, raramente prominentes; indusio continuo a interrumpido, ancho o

- angosto, más o menos planos, membranáceos.....*Cheilanthes*
58. Lámina por arriba de la pinna basal de pinnada-pinatífida a bipinnada; segmentos deltoides o ampliamente lanceolados a oblongo-lanceolados; venas prominentes; indusios continuos, anchos, convexos, coriáceos.....*Cheiloplecton*
33. Soros en el envés de la lámina, a lo largo de las venas, venas medias, o esparcidos en el envés.
59. Soros extendidos que cubren todo el envés.
60. Lámina sin dividir.....*Elaphoglossum*
60. Lámina dividida.
61. Frondas grandes (2 m o más de largo), coriáceas; rizoma corto, robusto; plantas de pantanos.....*Acrostichum*
61. Frondas generalmente de menos de 1 m de largo; rizoma largo, rastrero, delgado.
62. Plantas hemiepifíticas; venas libres.....*Lomariopsis*
62. Plantas terrestres; venas reticuladas.....*Bolbitis*
59. Soros discontinuos o a lo largo de las venas, pero no extendidos en todo el envés.
63. Soros elongados a lo largo de las venas y sin indusio.
64. Lámina simple, no lobulada o pequeña y ramificada (en *Hecistopteris*); epífitas o raramente epipétricas; usualmente con escamas clatradas.
65. Soros en surcos largos extendiéndose a través de la fronda.
66. Soros en dos hileras (una a cada lado de la costa).
67. Lámina de 1-4 mm de ancho; 1 hilera de areolas entre la costa y el margen; generalmente epífitas.....*Vittaria*
67. Lámina de 9-12 mm de ancho; 2-4 hileras de areolas entre la costa y el margen; generalmente epipétricas.....*Ananthacorus*
66. Soros en 1 ó 4 (o 6) hileras.
68. Soros en una línea dentro de un surco sobre la vena media.....*Cochlidium*
68. Soros en 4 (-6) hileras.....*Antrophyum*
65. Soros no extendidos por completo a lo largo de la fronda, elongados hacia la costa o en un ángulo con la misma o siguiendo el patrón de venación.
69. Lámina pequeña, menos de 4 cm de largo, ramificada.....*Hecistopteris*
69. Lámina grande, nunca ramificada.
70. Escamas del rizoma no clatradas; lámina con escamas diminutas.....*Pleopeltis*
70. Escamas del rizoma clatradas; lámina glabra.
71. Costa extendiéndose hasta el ápice de la lámina*Loxogramme*
71. Costa sin extenderse hasta el ápice de la lámina*Antrophyum*
64. Lámina de profundamente lobada a tripinnada.
72. Rizoma con tricomas.
73. Lámina linear, 1-vez pinnada, más o menos permanentemente circinada en el ápice.....*Jamesonia*
73. Lámina anchamente elíptica a deltoide, 3-4 pinnada, no permanentemente circinada en el ápice.....*Eriosorus*
72. Rizoma con escamas.
74. Lámina simple, palmatilobada.
75. Venas en reticuladas; esporangios que corren por las venas en la mayor parte de su longitud.....*Hemionitis*
75. Venas libres o reticuladas; esporangios limitados de un tercio a dos tercios en la porción terminal de las venas.....*Bommeria*
74. Lámina compuesta.
76. Soros cerca del margen.....*Cheilanthes*
76. Soros en la parte media o lo largo de las venas.
77. Lámina farinosa en la parte inferior.
78. Frondas de 1-2 m de alto; pinnas ternadas.....*Trismeria*
78. Frondas de menos de 1 m de alto; frondas pinnadas.....*Pityrogramma*
77. Fronda no farinosa en la parte inferior.
79. Fronda bi a tripinnada; frondas de 2-20 cm de largo.....*Anogramma*
79. Fronda pinnada a pinnada-pinnatífida; frondas de 30-100 cm de largo.

80. Fronda 1-vez pinnada, glabra; soros de 5-14 mm de longitud; venas reticuladas.....*Hemionitis*
80. Fronda pinnada-pinnatífida, con tricomas aciculares; soros de 1-4 mm de longitud; venas libres o reticuladas....*Thelypteris*
63. Soros redondeados a reniformes o elongados a lo largo de las venas, generalmente con indusio, o si no, entonces con soros redondeados.
81. Soros costales, elongados.
82. Soros continuo a lo largo de la costa; frondas hasta de 1 m de largo....*Blechnum*
82. Soros discontinuos a lo largo de la costa, semejante a una cadena; frondas de 1.5-2.5 m de largo.....*Woodwardia*
81. Soros no costales, naciendo entre la vena media y el margen.
83. Soros elongados.
84. Soros en una línea paralela a la vena formando un gancho en su porción distal, ocasionalmente espalda con espalda en ambos lados de la vena.
85. Venas inconspicuas; soros distribuidos a lo largo de un lado de la vena, rodeando la porción distal de la misma*Didymochlaena*
85. Venas conspicuas; soros a veces dobles, pero entonces sin rodear la porción distal de la vena.
86. Frondas muy largas (2-3 m de largo), 1-vez pinnadas; venas libres cerca de la vena media y reticuladas cerca del margen; soros largos.....*Hemidictyum*
86. Frondas de menos de 1 m de largo, de 1-3 pinnadas; venas libres o reticuladas, pero no las dos condiciones en la misma pinna.
87. Soros en su distribución formando al final de la vena.....*Athyrium*
87. Soros, en su distribución en dos líneas paralelas a la vena, espalda con espalda.....*Diplazium*
84. Soros en una o dos líneas, si dos líneas, entonces cara a cara más que espalda con espalda.
88. Fronda simple a tripinnada; un solo soro.
89. Fronda pinnada-pinnatífida; plantas terrestres; frondas con tricomas aciculares.....*Thelypteris*
89. Fronda simple a tripinnada; plantas epifitas o epipétricas, raramente terrestres; principalmente glabras, nunca con tricomas aciculares.
90. Venas libres; lámina simple a tripinnada.....*Asplenium*
90. Venas en reticuladas; lámina simple.....*Holodictyum*
88. Fronda simple; la mayoría de los soros dobles cara a cara en venas contiguas.
91. Fronda linear-lanceolada, de 7-24 cm de longitud, 4-8 veces más larga que ancha; estípites verdes.....*Phyllitis*
91. Fronda flabelada, de 2-6 cm de longitud, más ancha que larga; estípites purpúreo.....*Schaffneria*
83. Soros redondos (a ligeramente oblongos).
92. Helechos arborescentes, usualmente con frondas grandes; indusio en forma de copa o disco o sin él; tronco corto a varios metros de alto.
93. Frondas pinnadas-pinnatífidas; venas poco reticuladas (especialmente uniéndose en ondulaciones entre los lóbulos de las pinnas); tronco de 0-0.5 m de alto.....*Cnemidaria*
93. Frondas bipinnadas-pinnatífidas a tripinnadas-pinnatífidas; venas libres, tronco de 1-20 m de alto.....*Cyathea*
92. Plantas no arborescentes.
94. Frondas largas, de 2-4 m de largo; rizomas con densos tricomas.....*Lophosoria*
94. Frondas generalmente de menos de 2 m de largo; con o sin indusio; rizoma con escamas.
95. Frondas simples; claramente articuladas sobre filopodios; hábito trepador o arbustivo; soros con indusio.....*Oleandra*
95. Frondas simples a finamente divididas; si están articuladas, entonces se desprenden fácilmente del rizoma, sin filopodios.
96. Frondas simples a 1-vez pinnada, sin indusio.
97. Frondas con largos tricomas, o glabras; esporas triletas, verdes.
98. Escamas del rizoma pardas a negras (clatradas), doradas, o sin ellas; frondas usualmente con tricomas rígidos, pardo-rojizos;

- soros discretos, en una sola hilera a cada lado de la costa; paráfisis ramificados.....*Grammitis*
98. Escamas del rizoma pardas; frondas glabras; soros confluentes en un cenosoro costal o discreto cercano a la costa, sin paráfisis.....*Cochlidium*
97. Frondas con escamas, al menos en la base, o glabras; esporas bilaterales, doradas.
99. Lámina simple.
100. Soros en una hilera en cada lado de la costa.
101. Soros redondos, con paráfisis filamentosos, a veces ramificados; frondas monomórficas o dimórficas.....*Microgramma*
101. Soros ovales a elongados, peltados, paráfisis escamosos (tempranamente deciduos); frondas monomórficas a subdimórficas.....*Pleopeltis*
100. Soros en 2 o más hileras en cada lado de la costa.
102. Soros en 2 hileras entre las venas laterales principales; soros redondos, sin paráfisis; esporangios glabros.....*Campyloneurum*
102. Soros en una hilera entre las venas laterales principales; soros de oblongos a redondos, paráfisis (esporangios abortados) presentes; esporangios con tricomas multicelulares.....*Niphidium*
99. Lámina pinnatífida, pinnada o más dividida.
103. Venas libres.
104. Escamas del rizoma peltadas, clatradas o no; estípite acanalado, color paja raramente oscuro; frondas pectinadas a lobuladas.....*Polypodium*
104. Escamas del rizoma basalmente unidas, nunca clatradas; estípite terete, negro a pardo-rojizo; frondas pectinadas.....*Pectuma*
103. Venas reticuladas.
105. Soros con paráfisis peltados, parecidos a escamas (con frecuencia tempranamente deciduos).....*Pleopeltis*
105. Soros con paráfisis de ramificados a filamentosos, o sin ellos.
106. Soros en las uniones de dos venas; areolas costales sin venas incluidas, algunas areolas adicionales sin venas incluidas, otras sólo con una vena incluida, y otras más con dos venas incluidas; soros sin paráfisis; esporangios glabros.....*Phlebodium*
106. Soros terminales sobre venas libres, areolas con una vena incluida; soros con paráfisis o sin ellos; esporangios glabros o setosos.
107. Fronda regularmente pinnatífida a pectinada, glabra o escamosa.....*Polypodium*
107. Fronda irregularmente pinnatífida, densamente escamosa.....*xPleopodium*
96. Frondas de 1-4 veces pinnada, principalmente con indusio (las especies más de una vez pinnadas sin indusio).
108. Indusio unido en su base, con forma de capucha o copa.
109. Indusio en forma de capucha.....*Cystopteris*
109. Indusio en forma de copa o con 4 lóbulos planos debajo del soro.....*Woodsia*
108. Indusio unido lateralmente (reniforme), peltado o sin indusio.
110. Venas reticuladas.
111. Estípite con dos haces vasculares; fronda con tricomas aciculares.....*Thelypteris*

- 111. Estípite con más de dos haces vasculares; sin tricomas aciculares.
 - 112. Venas ocasionalmente anastomosadas; frondas coriáceas.....*Phanerophlebia*
 - 112. Venas abundante y finamente anastomosadas; frondas delgadas, no coriáceas.....*Tectaria*
- 110. Venas libres.
 - 113. Indusio peltado.
 - 114. Lámina de 2-3 pinnada.....*Polystichum*
 - 114. Lámina 1-vez pinnada.
 - 115. Base de la pinna equilateral, redondeada a cuneada.....*Phanerophlebia*
 - 115. Base de la pinna fuertemente inequilateral, hacia la mitad fuertemente cordada y se imbrica con el raquis.....*Cyclopeltis*
 - 113. Indusio reniforme o sin él.
 - 116. Estípite con dos ramas; tricomas aciculares en la fronda.....*Thelypteris*
 - 116. Estípite con más de 2 ramas; sin tricomas aciculares.
 - 117. Fronda 1-vez pinnada.
 - 118. Pinnas delgadas, oblongo a estrechamente deltadas, usualmente auriculadas, a veces con puntos blanquecinos; soros con indusio; plantas a veces estoloníferas.....*Nephrolepis*
 - 118. Pinnas coriáceas, ovadas a linear-lanceoladas, no todas auriculadas, sin puntos blanquecinos; soros sin indusio; plantas sin estolones.....*Phanerophlebia*
 - 117. Frondas más de 1-vez pinnada.
 - 119. Fronda catádroma.
 - 120. Raquis con yemas cerca del ápice.....*Lastreopsis*
 - 120. Raquis sin yemas.....*Ctenitis*
 - 119. Fronda anádroma.
 - 121. Sin indusio.
 - 122. Fronda pinnada a pinnatífida; venas adyacentes que casi se tocan.....*Stigmatopteris*
 - 122. Fronda bipinnada a tripinnada; venas adyacentes nunca aproximándose una a otra.....*Polystichum*
- 121. Indusio presente; venas sin aproximarse una a la otra.
 - 123. Fronda 3-4 veces pinnada; segmentos mucronados, verde oscuros.....*Arachniodes*
 - 123. Fronda bipinnada a tripinnada; segmentos verde a verde-amarillento, con puntas agudas a acuminadas pero no mucronadas.....*Dryopteris*

Clave de géneros para Pteridofitas, traducida de Mickel y Beitel (1988).

Mickel, J. T. y J. M. Beitel. 1988. Pteridophyte flora of Oaxaca, Mexico. Vol. 46. Memoirs of the New York Botanical Garden. New York.

Unidad 4

Proyecto de investigación

En esta unidad se realizará un proyecto de docencia-investigación, con los siguientes lineamientos:

El proyecto lo realizará el equipo de alumnos que ha venido trabajando desde inicio del semestre.

Los profesores se reparten de forma equitativa los equipos existentes en el grupo.

El proyecto debe involucrar al menos dos de las unidades del laboratorio.

Una de esas dos unidades debe ser la del profesor que les asesora.

El tema será propuesto por los alumnos integrantes del equipo.

El proyecto debe incluir una parte experimental viable en el laboratorio.

La calificación obtenida en esta unidad representa el 25% de la calificación del laboratorio, para promediarse todas y cada una de las calificaciones por unidad deben ser aprobatorias.