

## SEGUNDA PRÁCTICA DE BIOTECNOLOGÍA:

### ¿CÓMO SON LAS CÉLULAS ANIMALES?

#### INTRODUCCIÓN A LA TÉCNICA HISTOLÓGICA

##### **Obtención de preparaciones de células y tejidos animales con técnicas sencillas**

El estudio morfológico de las células a través del microscopio requiere, generalmente, que las muestras se sometan a un largo proceso que se conoce como técnica histológica. Se inicia con la fijación, cuya finalidad es mantener las estructuras en las condiciones más parecidas posible a las de la vida, y puede hacerse por medio de calor en algunos casos, aunque lo más habitual es el tratamiento con sustancias químicas como el alcohol o los aldehídos. Este procedimiento supone la muerte de las células.

A continuación, las muestras se incluyen en un medio que endurece la muestra con el fin de poder cortarla en secciones de aproximadamente 10 micras para que puedan ser atravesadas por el haz de luz del microscopio. Finalmente, para aumentar el contraste, las muestras se someten a la tinción, es decir a la acción de sustancias llamadas colorantes, de muy variada naturaleza química, que confieren su color a diferentes estructuras celulares.

Sin embargo, en algunas ocasiones es posible obtener preparaciones histológicas con un procesamiento sencillo. Por ejemplo, para el estudio de organismos unicelulares, células sanguíneas, gametos, etc. Estos procedimientos son, además, indispensables cuando el objetivo es el estudio de procesos vitales como el movimiento celular: la emisión de pseudópodos en las amebas, el batido ciliar, el desplazamiento de los espermatozoides, el movimiento de los cromosomas durante la división celular, etc.

## OBJETIVOS

Introducción a los procedimientos experimentales de la técnica histológica.

Obtención y preparación de muestras de diferentes células animales: epiteliales, musculares, gametos, etc.

Observación y estudio de estas células con técnicas de microscopía de campo claro, contraste de fases y fluorescencia.

## MATERIAL

- Portaobjetos y cubreobjetos.
- Cuchilla de bisturí, aguja enmangada, lanceta.
- Agua destilada
- Jamón york, mejillón (*Mytilus edulis*), piel de calamar, etc.
- Lugol, rojo neutro, DAPI (marcador fluorescente), etc.

## MÉTODOS

### Observación de células ciliadas

Los mejillones respiran por branquias cuyos bordes contienen células ciliadas. El movimiento de los cilios permite que el agua circule sobre la superficie de las branquias, de manera que las células pueden intercambiar el oxígeno del agua del mar y, asimismo, liberar el dióxido de carbono. Además, los cilios arrastran las partículas en suspensión presentes en el agua, hacia la cavidad bucal.

El procedimiento a seguir para la observación de las células ciliadas de las branquias del mejillón es muy sencillo:

- a) Abrir un mejillón y cortar una pequeña porción del borde externo de la branquia (unos milímetros).
- b) Extender la muestra sobre un portaobjetos con una gota de solución salina.
- c) Se presiona ligeramente sobre el cubreobjetos.
- d) Observar la muestra a través del microscopio óptico.

### Determinación del sexo del mejillón y observación de gametos

Bajo el pie del mejillón se halla una bolsa, la bolsa de polichinela que contiene las gónadas. En el caso de las hembras es de color rojizo, mientras que en los machos es blanquecina. Para observar las células germinales, procede de la siguiente forma:

- a) Se coloca un pedacito de la bolsa de polichinela sobre un portaobjetos con una gota de solución salina. Sólo con que la bolsa toque el portaobjetos es suficiente para obtener una muestra de espermatozoides u ovocitos.
- b) Para observar los espermatozoides a través del microscopio de fluorescencia, se puede añadir una gota de DAPI, un marcador fluorescente que se une fuertemente a regiones de DNA enriquecidas en Timina y Adenina.
- c) También se pueden observar directamente en el microscopio de campo claro y en el de contraste de fases. En este último el contraste de la muestra es mucho mayor.

### **Observación de células musculares estriadas**

Aunque haya sido sometido a cocción, el jamón york permite observar su composición que está constituido por células musculares estriadas. Para su observación no es necesario teñir, aunque hay que tener la precaución de observarlo con el diafragma cerrado con el fin de aumentar el contraste de la muestra.

Además, es interesante observar el hecho de que muchas veces suele elaborarse con almidón como aditivo. Para comprobarlo, se puede teñir la muestra con lugol, en cuyo caso el almidón se tiñe de color morado

Para observar las fibras musculares,

- a) Pon un pedacito de jamón encima del portaobjetos, con una gota de agua.
- b) Cubre con cubreobjetos y presiona ligeramente.
- c) Observa las fibras.

Si se quiere comprobar la presencia de almidón, se puede teñir la preparación con lugol antes de cubrirla.

### **Observación de piel y células pigmentarias de invertebrados**

El manto de los cefalópodos tiene un elevado número de agrupaciones celulares, los cromatóforos, en cuyo interior existen pigmentos negros o anaranjados. Estos son muy importantes para la vida de estos moluscos que habitan en las praderas (de *Posidonia oceanica*, por ejemplo), de todos los mares templados y cálidos, ya que las bandas coloreadas del manto permiten que estos animales se confundan con el fondo y no sean detectados por los depredadores.

Para la observación de los cromatóforos, el procedimiento a seguir es:

- Se corta un pequeño fragmento de piel dorsal del manto y se coloca extendido en un portaobjetos.
- Se coloca una gota de agua y, a continuación, el cubreobjetos.
- Observa la preparación.

## **CUESTIONES**

1. Dibuja las células ciliadas de las branquias del mejillón e indica la función de los cilios
2. ¿Por qué se tiñe de morado el jamón york?
3. ¿A qué se debe la observación de la estriación en el jamón york?
4. Indica las diferencias que entre los espermatozoides observados en microscopía de campo claro, contraste de fases y fluorescencia.
5. Realiza un dibujo de las células pigmentadas de la piel del calamar.

## **BIBLIOGRAFÍA**

DURFORT, M., *Iniciació a les tècniques histològiques vegetals i animals.*, Ed. Institut d'Estudis Catalans, Barcelona, 2006.