

LABORATORIO: VISUALIZACION DE LA OSMOSIS

Por: L.D. Escobar y A. Urdn (1)

INTRODUCCION

Una vez estudiados los fenómenos de difusión en sus distintas modalidades (difusión espontánea y difusión a través de membranas, en forma particular, la osmosis y la diálisis) es muy útil tratar de *visualizar* algunos de estos fenómenos en la célula viva y así analizar el comportamiento de ésta, como entidad dinámica que es, en la regulación de dichos procesos. Es particularmente notable la participación de algunas estructuras celulares en la mencionada regulación.

Se podrían citar, entre otras, la membrana plasmática, el citoplasma como un todo, la pared celular y los cloroplastos en el caso de células que poseen estas dos últimas estructuras.

OBJETIVOS

1. Comprobar personalmente como se comporta la célula durante la regulación de la *permeabilidad celular en general*.
2. Analizar, en forma particular, dicho comportamiento con relación a la *Osmosis*.
3. Proyectar dichos análisis a otras situaciones simuladas o reales.

MATERIALES Y EQUIPO

Para equipos de 4 estudiantes

Microscopios compuestos (uno por cada estudiante).
Porta y cubreobjetos (seis de cada uno por estudiante).

Ramas de Elodea en su medio natural.

Muestras de sangre humana, en fresco.

Tubos de ensayo pequeños (tres por grupo de cuatro estudiantes).

Soluciones de cloruro de sodio (NaCl) al 0,9 y 1,8o/o, 100 ml de cada una.

Solución de cloruro de calcio (CaCl₂) al 5o/o, 100 ml.

Agua destilada, 100 ml.

Material para la limpieza de microscopios, porta y cubreobjetos. (Gasa ligeramente humedecida en agua jabonosa bien diluida).

Papel absorbente (papel, toalla, de filtro, etc.).

PROCEDIMIENTO

Esta práctica puede resultar mucho más eficiente si se divide el grupo en equipos de trabajo, por ejemplo, de cuatro estudiantes, numerados de 1 a 4 y organizados así: Los estudiantes Nos. 1 y 2 trabajarán con las células en su medio natural y/o en los *medios isotónicos* artificiales preparados al respecto, los No. 3 trabajarán con los *medios hipotónicos* y los No. 4 con los *medios hipertónicos*. El trabajo puede ser simultáneo, lo que permitirá a cada equipo tener a su disposición cuatro montajes y en consecuencia cada estudiante podrá, a su vez, *comparar el comportamiento de la célula en las tres clases de medios*.

Las observaciones microscópicas generales deben hacerse utilizando, en su orden, los objetivos de menor (10X) y mayor (40X) aumento. La visualización de los fenómenos propuestos y sus esquemas se harán con objetivo de 40X.

(1) Profesores, Departamento de Biología, Universidad de Antioquia, Medellín Colombia. S.A.

VISUALIZACION MICROSCOPICA DE LA OSMOSIS EN CELULAS VEGETALES

(Células de Elodea, Fig. 1).

METODOLOGIA DE TRABAJO

1. Para cada estudiante

1.1. Estudiantes Nos. 1 y 2. Colocar una hoja de Elodea en un portaobjetos; agregar agua del medio en el que se encuentra la planta; cubrir con una laminilla y llevar las placas al microscopio para su observación.

1.2. Estudiante No.3. Colocar una hoja de Elodea en un portaobjetos, secar la placa y la hojita con papel absorbente; agregar *agua destilada*, cubrir con una laminilla y llevar la placa al microscopio para su observación.

1.3. Estudiante No.4. Colocar una hoja de Elodea en un portaobjetos; secar la placa y la hoja con papel absorbente; agregar unas dos gotas de *solución de cloruro de calcio al 50/o*; cubrir con una laminilla y llevar la placa al microscopio para su observación.

2. Para cada equipo.

2.1. Observar detenidamente los montajes hechos por los estudiantes No. 1 y 2. Hacer esquemas de lo observado prestando especial atención a la distribución de los cloroplastos en estas células y, de paso, tratar de observar el fenómeno de ciclosis (movimiento protoplásmico) visible, en este caso, gracias a la presencia de los cloroplastos.

Atención: Procurar tener en mente estos modelos para que se puedan comparar con los de los otros montajes.

2.2. Observar los montajes de los estudiantes No.3 y 4; *hacer esquemas de lo observado y compararlos con los anteriores.* Si se observan diferencias discutir las entre sí, tratando de explicarlas de acuerdo con los fenómenos de difusión. Si por el contrario, no se alcanza a apreciar ninguna, observar de nuevo cuidadosamente los tres montajes, procurando identificar las diferencias entre éstos.

PREGUNTAS DE APLICACION

En qué clase de medio se encuentra la Elodea en la naturaleza?

Cómo se podría comprobar esta hipótesis? Se observan esos resultados en los montajes de los estudiantes 1 y 2?

Qué clase de medio será el agua destilada con relación a la concentración osmótica de las células de Elodea?

Actualidades Biológicas, Vol.10, No.35



Figura 1.
Fotomicrografía de células de Elodea, aumento 43X. (Foto: Néstor López, Depto. de Biología, Universidad de Antioquia, Colombia).

De acuerdo con su respuesta, qué se esperaría que ocurriera al colocar la hoja de Elodea en agua destilada? Ocurrió realmente lo esperado? . Qué "pruebas" (por ejemplo, localización de los cloroplastos, grado de ciclosis u otras) se tienen para justificar dicha respuesta, en este caso?

Qué nombre se da al fenómeno observado?

Qué se dice de la célula que lo experimenta?

Examínense de nuevo los siguientes planteamientos:

Qué clase de medio será el cloruro de calcio al 50/o con relación a la concentración osmótica de las células de Elodea? *(de acuerdo con lo observado en el montaje del estudiante No.4).*

Con base en lo anterior, qué resultados se esperarían? Se observan realmente dichos resultados?

Qué "pruebas" se tienen, esta vez, en favor de esta hipótesis?

Qué nombre general recibe el fenómeno observado? Qué se dice de la célula que experimenta dicho fenómeno?

VISUALIZACION MICROSCOPICA DE LA OSMOSIS EN CELULAS ANIMALES

(Glóbulos rojos humanos o Eritrocitos, Fig. 2).

OBSE RVACIONES

Los porta y cubreobjetos a utilizar en esta práctica deben estar completamente limpios y secos.

METODOLOGIA DE TRABAJO

1. Para cada estudiante:

Deposite una gota de sangre humana fresca en el extremo de un portaobjetos (figura 3a). Coloque un segundo portaobjetos en posición oblicua con relación al primero, prácticamente en su borde, formando un ángulo de 45° y sin que toque la gota (figura 3b). Conservando dicho ángulo desplace, en forma continua y uniforme, el segundo portaobjetos hacia el otro extremo del primero (figura 3c). Observe al microscopio empleando preferencialmente dicho extremo, en donde se encuentran más separados los glóbulos rojos. Esquematice la forma general de estas células y compare su esquema con la fotomicrografía que aparece en la figura 2.

1.1. Estudiantes Nos. 1 y 2. Agregar dos gotas de solución de cloruro de sodio al 0.9o/o. Observar cuidadosamente si se presenta algún fenómeno visible al microscopio. Esquematizar lo observado prestando especial atención a la forma general de los glóbulos en este medio.

1.2. Estudiante No. 3. Repetir el procedimiento del 1.1 pero utilizando como medio de montaje agua destilada.

1.3. Estudiante No.4. Repetir el procedimiento del 1.1. pero utilizando como medio de montaje solución de cloruro de sodio al 1.8o/o.

2. Para cada equipo.

2.1. Observar cuidadosamente los montajes de los estudiantes No. 1 y 2; hacer esquemas de los glóbulos rojos y en especial, *procurar tener estos modelos*



Figura 2.
Fotomicrografía de glóbulos rojos humanos coloreados con wright, aumento 43X. (Foto Néstor López, Depto. de Biología, Universidad de Antioquia, Colombia).

en mente para su comparación posterior al estudiar los otros montajes.

2.2. Estudiar el montaje del estudiante No.3. Tener mucho cuidado con la interpretación de los resultados. Por ejemplo, comparar las cantidades relativas de glóbulos rojos observados en los tres campos. Qué conclusión se sacaría con relación al montaje No.3? Cómo se interpretaría lo observado?

De acuerdo con lo anterior, analizar lo siguiente: Ocurrió lo mismo en el caso de las células de Elodea en agua destilada? Cómo se explicaría este hecho?

Qué estructura (s) celular (es) estaría (n) favoreciendo a estas últimas de sufrir las mismas consecuencias observadas en el caso de los glóbulos rojos?

2.3. Analizar el montaje del estudiante No.4; hacer esquemas de lo observado e interpretarlos al igual que en los casos anteriores, por comparación, con los montajes patrones (Nos. 1 y 2). De acuerdo con los resultados, analizar lo siguiente:

Qué clase de medio parece ser la solución salina al 1,8o/o con relación a la concentración osmótica del glóbulo rojo?

Qué se esperaba, entonces, que ocurriera al colocar dichas células en este medio? Ocurrió realmente lo esperado? Qué "pruebas" se podrían aducir en favor de estas hipótesis?

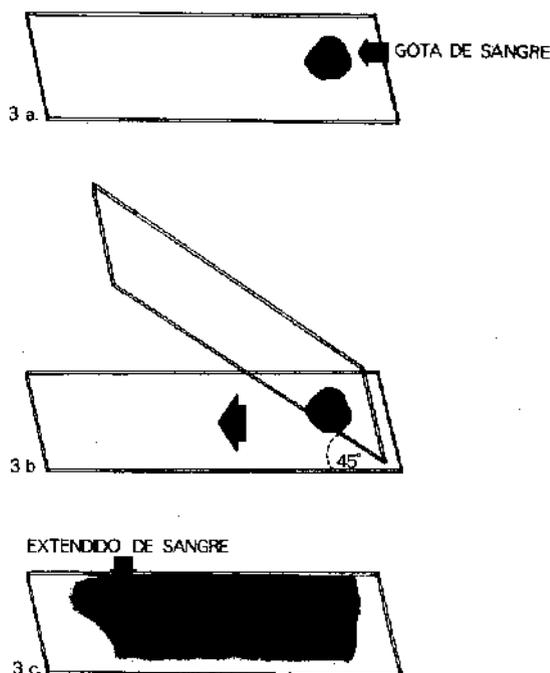


Figura 3.
Manera de efectuar el extendido de sangre sobre un portaobjetos. Siga los pasos a,b y c.

VISUALIZACION MACROSCOPICA DE LA OSMOSIS EN GLOBULOS ROJOS

Observación

Esta práctica puede ser realizada por los mismos equipos anteriores: Tomar tres tubos de ensayo pequeños y enumerarlos como 1, 2 y 3. Adicionar a cada uno 0,5 ml. de sangre humana fresca. Agregar 1,5 ml. de solución salina al 0,9o/o al tubo No.1; agua destilada al tubo No.2 y solución salina al 1,8o/o al tubo No.3

Para visualizar los fenómenos colocar los tubos contra un fondo blanco iluminado con una fuente de luz. Anotar los resultados y analizarlos comparativamente con los obtenidos microscópicamente.

DISCUSION: EJERCICIOS Y PROBLEMAS

1. De acuerdo con la práctica anterior, se podría establecer alguna diferencia fundamental en el comportamiento de las células de Elodea y los glóbulos rojos con relación a la ósmosis?
2. De acuerdo con los fenómenos de difusión y/o con la práctica anterior, examinar las consecuencias que se derivarían de inyectar en el torrente circulatorio de una persona:

- a. Agua destilada.
 - b. Solución salina al 5o/o
3. Normalmente al consumir helados o gaseosas se siente más sed que la que se tenía antes. Explicar esta aparente contradicción (osmóticamente hablando).
 4. Si se necesitara preparar *suero fisiológico* para un paciente que ha perdido sangre en un accidente, en qué concentración se prepararía éste? Explicar.
 5. De acuerdo con la práctica anterior, se podría afirmar que un medio isotónico para las células de Elodea debería poseer una concentración osmótica *menor, igual o mayor* del 5o/o? Explicar.
 6. Sugerir un experimento para demostrar que la concentración osmótica de una célula dada (por ejemplo, células de Elodea) es del 2o/o.
 7. Sugerir otro experimento que permita encontrar la concentración osmótica de una célula cualquiera.
 8. De acuerdo con la práctica anterior y/o con los conocimientos teóricos al respecto, analizar qué clase de medio es el agua destilada con relación a cualquier célula.

BIBLIOGRAFIA

- Biological Science Curriculum Study. 1963 *Yellow Versión An inquiry into life, Student laboratory guide*, Harcourt, Brace & World, Inc. 200 p.
- Escobar, L. D. Laboratorio: Los fenómenos de difusión. *Actualidades Biológicas*, Vol. 1, No.2, Oct/Dic. 1972. pág. 42-46.
- Kimball, J. W. 1970. *Biology: A laboratory introduction*. Addison-Wesley Publishing company, inc. Reading, Massachusetts. Palo Alto. Don Mills, Ontario 158 p.

