



Código: 4.1 IZ 05 PRACTICAS DE LABORATORIO	Página 1 DE 19
Fecha de Emisión: 21 DE ENERO DE 2016	Fecha de Revisión: 29 DE ENERO DE 2016
	Nº de Revisión: 1
Elaboró: RESPONSABLE DE LA CATEGORIA	
Aprobó: MAESTROS DE LA MATERIA	

PRÁCTICAS DE LABORATORIO

NOTA: LAS EVITENCIAS SE ENCUENTRA EN SECRETARIA ACADEMICA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA
FACULTAD DE ZOOTECNIA Y ECOLOGÍA

MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA

PRÁCTICA 3

**SIEMBRA DE BACTERIAS EN LOS MEDIOS SELECTIVOS Y GENERALES,
ASÍ COMO TINCIÓN DE GRAM**

FECHA DE ELABORACIÓN: 31 DE OCTUBRE DEL 2014

FECHA DE ENTREGA: 14 DE NOVIEMBRE DEL 2014

M.C. RUTH LECHUGA VALLES

MARÍA FERNANDA GONZÁLEZ RUÍZ 281519
EDGAR ALAN LOYA GARCÍA 281509
JOSÉ ALFREDO ONTIVEROS GONZÁLEZ 286298
MARIO ALFONSO BALDERRAMA PINEDA 281506

RESÚMEN

En la práctica llevada a cabo el viernes pasado, como el nombre lo dice, sembramos bacterias en los medios selectivos y generales (agar MacConkey, agar de Sal y Manitol y Estándar) que realizamos en la práctica anterior, donde se pretendía hacer crecer las bacterias "E. coli", "S. aureus" y las bacterias que contuvieran algún objeto, que en nuestro caso fue un billete.

La práctica se realizó con mucho cuidado y todo cerca del mechero para no permitir que entraran bacterias u otras sustancias que nos pudieran afectar nuestro cultivo, para esto necesitamos la ayuda de una asa con la cual tomábamos las muestras de las bacterias y las sembrábamos en nuestros diferentes cultivos, también hicimos la tinción de gram con las bacterias anteriormente mencionadas, para ello necesitamos la ayuda de la asa, los colorantes, portaobjetos, hisopos, agua destilada, entre otras cosas.

El resultado que obtuvimos fue el crecimiento de las bacterias E. coli, S. aureus y las que contenía el billete, el aprendizaje de la práctica fue como aprender a teñir, los pasos que se deben de seguir, y como se observan en el microscopio las bacterias teñidas, al verlas en el microscopio se formaron cocos y bacilos.

INTRODUCCIÓN

Sembrar es colocar una muestra de inóculo, en un medio de cultivo para obtener el crecimiento de los microorganismos. Para ello se extiende la muestra sobre caja de Petri, que contiene un gel (Agar) al que se han añadido las sustancias que necesitan los microorganismos para crecer. A esto lo llamamos medio de cultivo. A veces se añaden otras clases de sustancias; por ejemplo, para impedir el crecimiento de otras bacterias que podrían contaminar el cultivo. La siembra se puede hacer en otros tipos de medios de cultivo, como tubos de vidrio con gel, frascos con líquidos nutritivos para los microorganismos.

A continuación se procede a la "incubación" del medio ya sembrado. En cada caso se hace en condiciones particulares de presión de oxígeno, temperatura, agitación, duración, etc. Muchas de las bacterias patógenas crecen bien a temperaturas cercanas a los 37°C habituales de nuestro organismo.

Si el cultivo bacteriano tiene éxito, crecerán "colonias" de bacterias en el medio de cultivo. Estas colonias tienen características de color, forma, tamaño etc. propias de cada bacteria y esto nos ayuda a identificarlas. También se puede someter a las bacterias de las colonias a pruebas bioquímicas o de otro tipo para lograr su identificación. Algunas bacterias son muy difíciles de cultivar, otras tardan mucho tiempo en crecer y algunas, finalmente, no se han conseguido cultivar.

OBJETIVO

Con la práctica llevada a cabo se pretende hacer crecer las bacterias *E. coli*, *S. aureus* y las que contuviera el billete, en nuestros medios de cultivo selectivos y generales (agar MacConkey, agar Sal y Manitol y Estandar) así como aprender a hacer la tinción de gram.

MATERIALES Y METODOLOGÍA

- Agua Destilada
- Hisopos
- Pipetas de Vuelvo
- Portaobjetos
- Bacterias "*E. coli*" y "*S. aureus*"
- Asa
- Mechero
- Bilete
- Cajas de Petri con los medios de cultivos preparados (MacConkey, Sal y Mantol y Estándar)

Primera mente tuvimos que pasar nuestra asa por el mechero para esterilizarla y poder usarla, después enfriamos el asa en el cultivo y tomamos una muestra de las bacterias y las sembramos en nuestros cultivos en forma de zig zag al terminar de sembrar pasamos nuevamente el asa por el fuego para esterilizarla.



Imagen 1. Esterilizando el asa.



Imagen 2. Enfriando el asa en el agar para poder tomar la muestra de las bacterias.



Imagen 3. Tomando la muestra de las bacterias.

Tomando una muestra de la bacteria *E. coli*.



Imagen 4. Sembrando la bacteria en forma de zigzag.

Después cerca del mechero y sin alejarnos de él, usamos el hisopo y lo humedecemos en agua destilada, para frotar el billete y recolectar las bacterias que contubiera, luego tomamos el portaobjetos y con la pipeta de vulvo colocamos una gota de agua destilada, con el hisopo pasamos las bacterias que contenía el billete al portaobjetos, lo mismo se hizo con las bacterias *E. coli* y *S. aureus* y se mezcló la gota de agua destilada con la bacteria.



Imagen 5. Vertiendo el agua destilada cerca del mechero.



Imagen 6. Frotando el billete para recolectar las bacterias.



Imagen 7. Aplicando la gota de agua destilada en el portaobjetos.



Imagen 8. Tomando la muestra de la bacteria.

Posteriormente se pasaron los portaobjetos por el fuego para que se secaran las muestras, más tarde se les aplicó los diferentes colorantes (Cristal Violeta, Iodo Lugol, Alcohol y Safranina), primero empelamos el cristal violeta el cual se aplicó por un minuto, después colocamos el Iodo Lugol por un minuto, posteriormente usamos el alcohol que se dejó actuar por 30 segundos y finalmente se empleó la

safranina dejándola actuar por 1 minuto; después de haber aplicado los colorantes, se pasan los portaobjetos por el agua para retirar los colorantes, cuando terminamos secamos los portaobjetos solo por la parte de abajo y la parte de arriba dejamos que se seque sola.



Imagen 9. Colorantes que se emplean para realizar la Tinción de gram.



Imagen 10. Dejando el cristal violeta por 5 minutos en los portaobjetos.



Imagen 11. El ácido Lugol actuando por 3 minutos en los portaobjetos.



Imagen 12. Portaobjetos con el alcohol.



Imagen 13. Dejando la safranina por 1 minuto en los portaobjetos.



Imagen 14. Secando los portaobjetos por la parte de atrás.

RESULTADOS

Por último nos dirigimos al microscopio para observar los resultados y ver que encontrábamos, como resultado logramos ver con un aumento de 100x en la bacteria *S. aureus* los cocos que se formaron (imagen 16) y en la bacteria *E. coli* con objetivo a 100x observamos cómo se forman bacilos.

El crecimiento de las bacterias *E. coli* y *S. aureus* en nuestros agares (MacConkey, Sal y Manitol y Estandar) solo tuvieron éxito en el agar de Sal y Manitol y MacConkey.



Imagen 15. Bacteria *S. aureus* con objetivo a 10x.



Imagen 16. Bacteria *S. aureus* con objetivo a 40x.



Imagen 17. Bacteria *S. aureus* con un aumento de 100x, los cuales tienen forma de cocos.

En la bacteria *E. coli* solo pudimos observar en el microscopio con los objetivos a 10x y 100x.



Imagen 19. Bacteria *E. coli* con objetivo a 10x.



Imagen 20. Bacteria *E. coli* con un aumento de 100x, donde observamos que se forman bacilos.

En las fotografías se observa que hubo éxito en el crecimiento de las bacterias, sin embargo en la bacteria *E. coli* no logramos hacerla crecer en nuestro medio de cultivo, probablemente porque no se aplicó suficiente muestra de la bacteria.



Imagen 20. Crecimiento de las bacterias *E. coli* y *S. aureus* en el agar Estándar.



Imagen 21. Crecimiento de la bacteria *S. aureus* en el agar Sal y Maritón.

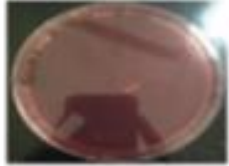


Imagen 22. No hubo crecimiento de la bacteria *E. coli*.

En las imágenes se muestra el crecimiento de las bacterias que contenían tanto el celular como el billete.

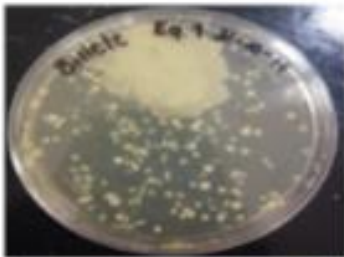


Imagen 23. Crecimiento de las bacterias que contenía el billete.

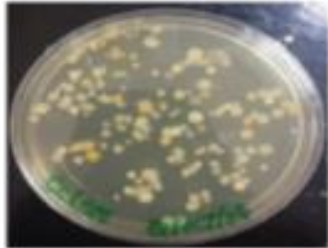


Imagen 24. Crecimiento de las bacterias que contenía el celular.

CONCLUSIÓN

Con la práctica llevada a cabo, aprendimos a diferenciar entre las bacterias Gram negativas y Gram positivas, ya que a la hora de la tinción de Gram cada una de ellas tomaba un color diferente, también aprendimos como se hace la tinción de Gram, así como los pasos que debemos de seguir y los cuidados que debemos de tener para que no haya alguna falla al momento de realizar este tipo de prácticas, también nos quedó más claro todo lo visto en clase de las bacterias.

BIBLIOGRAFÍA

- Tincion de gram, Mariana Juárez, Noviembre 2014
<http://es.slideshare.net/74ars0/practica-2-tincion-de-gram>
- Apuntes del Cuaderno
- Hojas proporcionadas por la Maestra,



MICROBIOLOGÍA PECUARIA

Practica 3

Extracción de ADN de una fuente vegetal (FRESA)

Equipo 2:

Luis Carlos Fernández Holguín 281350

Vanessa Prieto Holguín 286317

Amisadai Escobar Granados 278546

Fecha Entrega: 26-marzo-2015

Fecha de la Practica: 12-marzo-2015

RESUMEN

El día 12 de marzo realizamos la práctica de extracción de ADN de una fuente vegetal, en este caso lo realizamos con fresas; con la ayuda del microscopio pudimos observar con el lente 4x y 10x y comparar las diferentes ilustraciones, también tratamos de observar la muestra en el lente 40x pero no fue posible debido a su alta concentración de ADN. Con esta práctica se aprendió a realizar los procedimientos necesarios para extraer el ADN y observar dependiendo del lente la imagen captada. Primero se cortaron las fresas en trozos pequeños (para facilitar la extracción), se viertió en la licuadora, adicionando agua, sal y jabón mezclando todo con la ayuda de la licuadora. Después se agrega alcohol y jugo de piña, se deja reposar 10 minutos y por último colocamos el ADN en una caja Petri de vidrio con la ayuda de 2 palillos. El ADN extraído, se colocó en el microscopio para observarlo, obteniendo imágenes muy precisas, aunque no hayamos podido observarla a un lente más de cerca como el 100x. Aprendimos la manera de obtener el ADN de las fresas, observar y enfocar el microscopio, para obtener las imágenes que presentaremos a continuación. Cada práctica de laboratorio enriquece más nuestro aprendizaje; saber cómo utilizar las herramientas de trabajo de la manera correcta para así obtener los resultados correspondientes.

INTRODUCCIÓN

La molécula de ADN es un polímero de cadenas de nucleótidos. Existen diversos procedimientos para extraer ADN de las células. Estos varían en la cantidad y pureza del ADN que se obtiene al finalizar el procedimiento, pero la base de todos ellos es muy similar. La extracción de ADN requiere una serie de etapas básicas las cuales nos ayudarán a obtener el producto que se desea obtener (el ADN de la fresa). En primer lugar tienen que romperse la pared celular y la membrana plasmática, para poder acceder al núcleo de la célula por medio de la aplicación de los distintos químicos como el alcohol 96%, el jugo de piña y el agua destilada que se le agregaron para obtener la separación del ADN, de lo demás debe romperse también la membrana nuclear para dejar libre el ADN. Por último hay que cuidar que la enzima nucleasa degrade el ADN y para aislarlo hay que hacer que se separe en alcohol. La mezcla de detergente y sal es capaz de romper la pared celular y las membranas plasmática y nuclear. El alcohol se utiliza para hacer que ascienda el ADN que es soluble en agua pero, cuando se encuentra en alcohol se desenrolla y sube en la interfase entre el alcohol y el agua.

La extracción del ADN sirve para conocer como es su estructura de la pared celular y la membrana plasmática en este caso el de las fresas, y las células de la fresa están compuestas.

Las fresas se cortaron en pedazos para que su demolición sea más fácil, luego se agregó el agua a las fresas en la licuadora al igual que el jabón y se licuó todo. Después se agregó jugo de piña que ayuda a la precipitación de las proteínas.

OBJETIVO

Extraer el ADN de una fuente vegetal (fresas) por un método casero y observar su estructura en el microscopio.

MATERIAL Y METODOLOGIA

Coladores	Fresas (400gr)	Cuchillo	Agua destilada
Jugo de piña	Jabón para trastes	Sal	Vasos de precipitado
Alcohol 96°	Batidora	Caja Petri de vidrio	Microscopio

1. El equipo que conformamos nosotros nos tocó llevar al laboratorio 250 gramos de fresa.
2. Después se cortaron las fresas en trozos pequeños con la ayuda del cuchillo de laboratorio. (Figura 1)
3. Una vez cortados los trozos se colocaron en el vaso de la licuadora. (Figura 2)
4. Enseguida se les agregaron otros ingredientes:
 - 1½ cucharada de sal.
 - 80ml de agua. (Figura 3)
 - 2 cucharadas de jabón líquido. (Figura 4)
5. A continuación licuamos durante un minuto.
6. Después colocamos en un vaso precipitado 150-200ml de lo licuado. (Figura 5)
7. Luego le agregamos 3 cucharadas de jugo de piña el cual ayuda a precipitar las proteínas. (Figura 6)
8. También agregamos alcohol de 96° este nos ayudó a precipitar el ADN. La porción de alcohol que se utilizó fue de 150ml. (un volumen de la muestra).
9. Dejamos reposar durante 10 minutos. (Figura 7)
10. Después, en una caja Petri colocamos con la ayuda de unos palillos el ADN extraído. (Figura 9)
11. Por último el ADN extraído fue visto en el microscopio en diferentes aumentos de 4x, 10x y en 40x no se pudo distinguir debido a la alta concentración de ADN.



Figura 1. Se cortaron las fresas en trozos



Figura 2. Depositamos las fresas en la licuadora



Figura 3. Agregamos 80 ml de agua

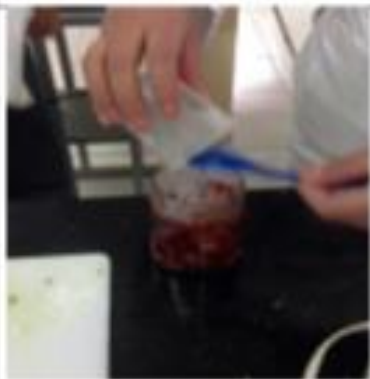


Figura 4. También agregamos 2 cucharadas de jabón



Figura 5. Se licua todo por 1 min



Figura 6. Agregamos a la mezcla 3 cucharadas de piña



Figura 7. Dejamos reposar durante 10 min



Figura 8. Empezamos a observar cómo se empieza separa el ADN



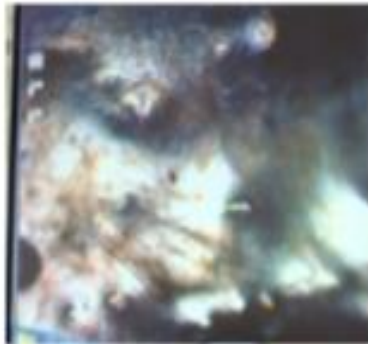
Figura 9. Pasamos solamente el ADN a una caja Petri



Figura 10. Observamos en el microscopio el ADN extraído

RESULTADOS

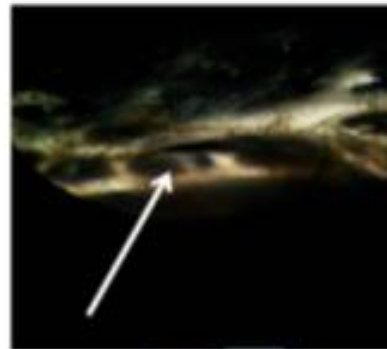
A continuación se muestra una serie de imágenes donde se ilustra la metodología que se siguió para llegar a los resultados, los cuales fueron que la práctica realizada de la extracción de ADN en una fuente vegetal en este caso la fresa, realizamos la práctica con el debido cuidado para la obtención deseada. A continuación mostraremos la secuencia en la que trabajamos para dar a conocer la secuencia en la que trabajamos.



4x

Imagen 4x. Esta imagen la obtuvimos desde el proyector tomada directamente del pizarrón, por lo que en realidad la imagen no es muy clara solo se observa la estructura pero el acercamiento no es muy favorable. La pared de la célula de la fresa es muy confusa por la imagen tomada de un enfoque lejano.

Imagen 10x podemos observar la pared celular, su estructura, no se aprecia muy bien por la alta concentración de material obtenido de la muestra.



10x

CONCLUSIÓN

Gracias a esta práctica pudimos observar partículas de ADN de una fresa, aunque no se pudo apreciar claramente por la gran concentración de partículas separadas. Para obtener el resultado esperado se llevó un proceso de separación con distintos químicos que nos ayudó a separar el ADN de la fresa. Todos los procedimientos realizados para la extracción fueron muy interesantes y simples que no imagine que fuera tan sencillo realizarlo, nos impresionó mucho la manera tan rápida en la que se empezó a separar el ADN del alcohol cuando empezó a subir y ADN y su concentración fue demasiado ya que utilizamos muchas fresas para la práctica, también eso afectó en el momento de verlo en el microscopio pudimos ver obtenido mejores imágenes.

BIBLIOGRAFIA

Biología y Geología 4º ESO - Página 67 consultada el 25 de marzo del 2015

https://books.google.com/books?id=H0Xb_ljZIEC&pg=PA67&dq=extraccion+de+adn+de+una+fresa&hl=es-419&sa=X&ei=GzyTVZSY3MlyJoA5C-&ig=Aq&ved=0CBsQ6AE-0AA#v=onepage&q=extraccion%20de%20adn%20de%20una%20fresa&f=false

Consulta el 25 de marzo del 2015 (experimento de separación de ADN)

<http://es.scribd.com/doc/58372670/Extraccion-de-Adn-Fresas#scribd>