

MICROBIOLOGÍA PECUARIA

PRÁCTICA 2

OBSERVACIÓN DE MUESTRAS EN EL MICROSCOPIO (FROTIS SANGUÍNEO, TEJIDO DE CEBOLLA Y TOMATE)

PROFESOR

M. C. Ruth Lechuga Valles

INTEGRANTES

Stephanie Soraya González Vázquez 288035

Alexandrina Lizeth Payan Cervantes 288005

Katia Vanessa Palomo López 288018

Blanca Daí Saucedá Carbajal 288038

Amisadai Escobar Granados 278546

REALIZACIÓN DE LA PRÁCTICA: 2015-02-26

FECHA DE ENTREGA: 2015-03-12

RESUMEN

En el presente trabajo, se expone la práctica de laboratorio de microbiología pecuaria. La cual consistió en observar por medio de microscopios, diferentes tipos de muestra como la del tomate, la cebolla y células sanguíneas.

Cortando pequeños trozos de cada muestra se colocaron en el porta objetos para así poder ver en el microscopio a diferentes aumentos.

Se observaron los tipos de estructuras que estos tenían y que a simple vista no se ven. Así como también se estudiaron los tipos de tejidos que cada muestra tenía; como por ejemplo la muestra del tomate en la que se podían ver como si fuesen redes.

Gracias a esta práctica pudimos aprender más sobre el cómo están compuestos algunos vegetales y células a una escala nueva para nosotros; al igual que el uso del microscopio, conocer cómo esta compuesto y lo que nos permite ver a diferentes aumentos. Y viendo las cosas de distinta manera ya que tuvimos la oportunidad de analizar lo componentes de estas tres muestras, conociendo su estructura y composición.

INTRODUCCIÓN

Con el fin de familiarizarnos más con el uso del microscopio nuestra práctica fue acerca de cómo enfocar para poder observar de una manera más detallada sus componentes. El estudio de los organismos vivos requiere de aparatos de precisión como lo es el microscopio. Las partes que componen al microscopio son las siguientes:

- **OCULAR:** Lente situada cerca del ojo del observador. Amplía la imagen del objetivo.
- **El TUBO Óptico** se puede acercar o alejar de la preparación mediante un **TORNILLO MACROMÉTRICO** o de grandes movimientos que sirve para realizar un primer enfoque.
- **REVÓLVER:** Contiene los sistemas de lentes objetivos. Permite, al girar, cambiar los objetivos. La esfera se suele llamar **CABEZAL** Y contiene los sistemas de lentes oculares (monoculares o binoculares (2 lentes)).
- **BRAZO:** Es una pieza metálica de forma curvada que puede girar; sostiene por su extremo superior al Tubo Óptico y en el inferior lleva varias piezas importantes.
- **PLATINA:** Lugar donde se deposita la preparación.
- **OBJETIVO:** Lente situada cerca de la preparación. Amplía la imagen de ésta.
- **PINZAS DE SUJECION.-** Parte mecánica que sirve para sujetar la preparación. La mayoría de los microscopios modernos tienen las pinzas adosadas a un carro con dos tornillos, que permiten un avance longitudinal y transversal de la preparación.
- **CONDENSADOR:** Lente que concentra los rayos luminosos sobre la preparación. El condensador de la parte de abajo también se llama **FOCO** y es el que dirige los rayos luminosos hacia el condensador.
- **TORNILLOS DE ENFOQUE:** Macrométrico que aproxima el enfoque y micrométrico que consigue el enfoque correcto.
- **BASE.** Sujeción de todo el microscopio.
- Sobre la **PLATINA** se coloca la preparación que se va a observar con un Orificio central por el que pasa la Luz procedente del Espejo. El **ESPEJO** con una cara plana y otra cóncava, está montado sobre un eje giratorio ubicado en la zona más inferior del brazo por debajo de la Platina.

Nos proporcionaron tres diferentes muestras para trabajar.

El frotis sanguíneo o extendido de sangre consiste en como lo dice su nombre el extendido de una gota de sangre en un portaobjetos con el fin de analizarla de manera detallada en un microscopio. Esto nos ayuda a hacer una identificación específica de enfermedades. En esta muestra se podrán observar glóbulos rojos y glóbulos blancos, en estas muestras para poder obtener resultados óptimos y que podamos observar de manera adecuada nuestro frotis, es necesario que el portaobjetos en el que pongamos la gota de sangre este limpio. Que la gota de sangre que utilicemos no exceda los 3 mm y que no haya estado expuesta a un anticoagulante ya que podría deformarse la morfología celular.

Este examen se realiza como parte de una evaluación médica general y tiene el alcance de ayudar a detectar muchas enfermedades, el doctor también manda hacer este examen cuando el paciente presenta síntomas de cáncer, leucemia de células pilosas o también ayuda como un monitoreo de efectos secundarios de la quimioterapia.

Los componentes principales en todas las células son: Membrana celular, Citoplasma y núcleo. Cada componente presenta características y funciones definidas.

En el caso de la cebolla, con el fin de observar sus compuestos y las características de este tejido y al ser una de las opciones básicas en los niveles iniciales, ya que da al estudiante la oportunidad de observar a detalle los fundamentos de la célula. Se obtiene fácilmente y da una visión clara de su estructura.

La última muestra fue el tejido del tomate, al igual que la cebolla, se obtiene fácilmente, pero la estructura que se puede observar es totalmente diferente, es más compleja. El tejido epidérmico vegetal es el tejido protector vivo es una capa impermeable y gruesa y está formada por una capa de heterogénea de células aplanadas y su función es proteger las células internas, limitar transpiración, secretar algunas sustancias, guardar otras e intercambiar gases con el medio ambiente.

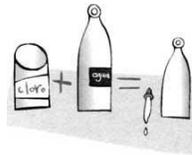
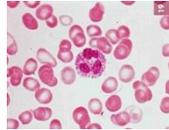
OBJETIVO

La siguiente práctica se realizó con el propósito de tener un mejor manejo del microscopio, así como permitir que las estructuras de la muestra de la sangre humana, tomate y cebolla se revelen con claridad, de modo que las características de interés sean descritas y fáciles de observar a distintas ampliaciones.

MATERIALES Y METODOLOGÍA

MATERIALES

- Microscopio
- Porta objetos
- Cebolla
- Tomate
- Frotis sanguíneo
- Cuchillo
- Tabla para picar
- Cámara
- Aceite de inmersión
- Agua clorada
- Toallitas de papel
- Gel desinfectante
- Jabón líquido
- Papel secante



METODOLOGÍA

Se limpió y descontaminó el área de trabajo con agua clorada y alcohol al 70%.

Colocamos los microscopios sobre las mesas y los conectamos a la luz, se nos dió una pequeña explicación de las partes del microscopio y acerca de cómo funcionaban, y continuamos con la práctica. Se nos proporcionó un portaobjetos con frotis sanguíneo, donde se hicieron observaciones de 10X, 40X y 100X. Se pudieron apreciar las diferencias entre los aumentos, en el frotis sanguíneo se observó la presencia de glóbulos rojos y blancos. Con el aumento éstos no se veían de manera tan clara así que la maestra le agregó una gota de aceite de inmersión.

Mientras se hacían estas observaciones la maestra preparaba la muestra del tomate; para esto, con un cuchillo corto el tomate en una tabla de picar y dejó un poco de la epidermis en un portaobjetos, nosotros nos encargamos de acomodarlo en el microscopio. De igual manera se usaron los aumentos 10X, 40X y 100X.



Fig. 1 Momento en el que se agrega aceite de inmersión a la muestra de tomate.

La siguiente muestra que se preparó fue la de la cebolla, se retiró una pequeña capa de epidermis y se colocó en un portaobjetos, luego lo acomodamos en el microscopio y de nuevo utilizamos el aumento 10X, 40X y 100X. Al finalizar la práctica se limpiaron de manera cuidadosa los lentes de cada microscopio utilizando papel secante (para limpieza de fibra óptica) y se acomodaron en el lugar que se nos indicó. Se desocuparon las mesas en las que se trabajó, se limpió la superficie con agua clorada y se seco con toallas de papel. Para finalizar se roció con una mezcla de agua y alcohol. Nos lavamos las manos y nos pusimos gel antibacterial y salimos del laboratorio de manera ordenada.

RESULTADOS

FROTIS SANGUÍNEO

Se observaron los distintos componentes celulares de la sangre mediante la técnica de frotis celulares, estos son extensiones de sangre sobre portaobjetos que se tiñen con colorantes generales.

Observación en microscopio a 10X, 40X Y 100X:

La figura 2 nos muestra las células sanguíneas. Solo se observan manchas y unas esferas muy pequeñas, pero no se distingue la coloración mencionada anteriormente.



Fig. 2 Células sanguíneas observadas en el microscopio con una lente de 10X.

En la figura 3 tampoco se distingue muy bien cada una de las células sanguíneas que se tratan de observar en esta práctica, pero se aprecia un poco mejor cada una de las células, ya que se empieza a ver un poco mas de manchas en la imagen.

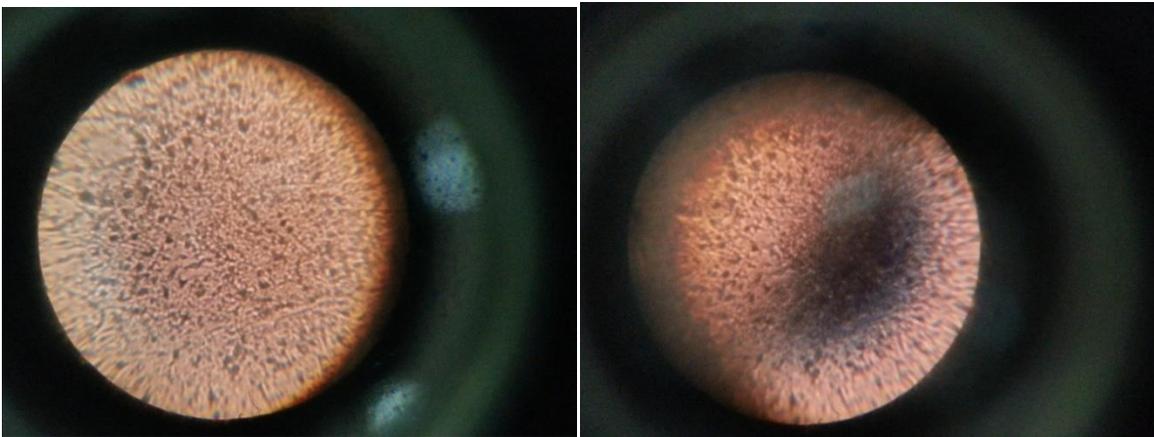


Fig. 3 Células sanguíneas observadas en el microscopio con una lente de 40X.

En la figura 4 se observa mejor lo que es el frotis sanguíneo, la coloración de las células mostrando los distintos núcleos que encontramos en ellas. En la figura 5 se observa lo mismo pero se pueden notar las diferencias entre los núcleos de la figura 4 y los de la 5, en la figura 4 se observan como una forma de S (eosinófilos) y en la figura 5 se notan dos círculos unidos y uno en forma de herradura (monocitos), señalados con un círculo en ambas figuras.

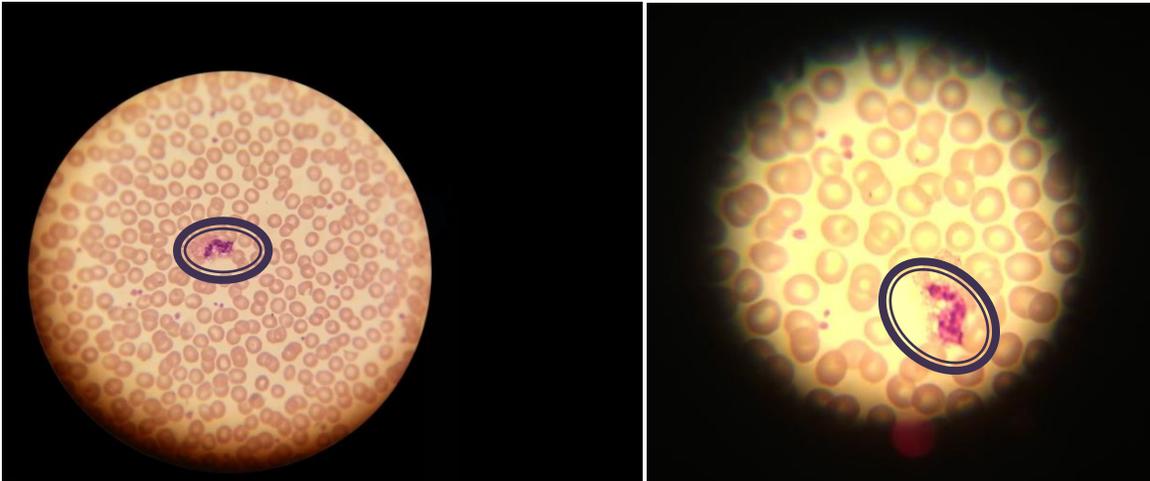


Fig. 4 Células sanguíneas observadas con el microscopio a un aumento de 100X.

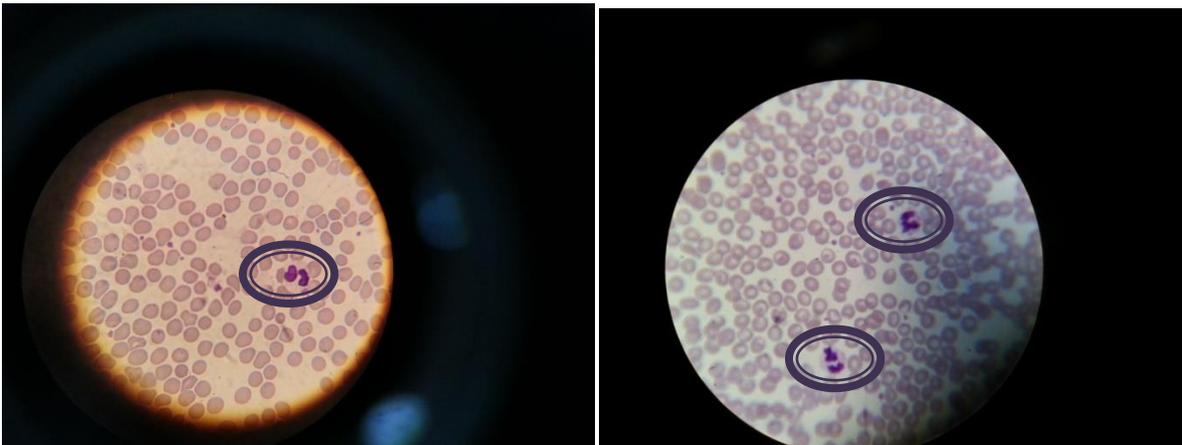


Fig. 5 Distintas células sanguíneas observadas con el microscopio a un aumento de 100X.

TOMATE

Se exploran las células vegetales del tomate. Los resultados obtenidos los podemos apreciar en las siguientes fotos.

En la figura 6 se observa la estructura del tomate aunque no se alcanza a diferenciar mucho, se puede notar la diferencia entre las células sanguíneas (figura 2) y las células vegetales del tomate.

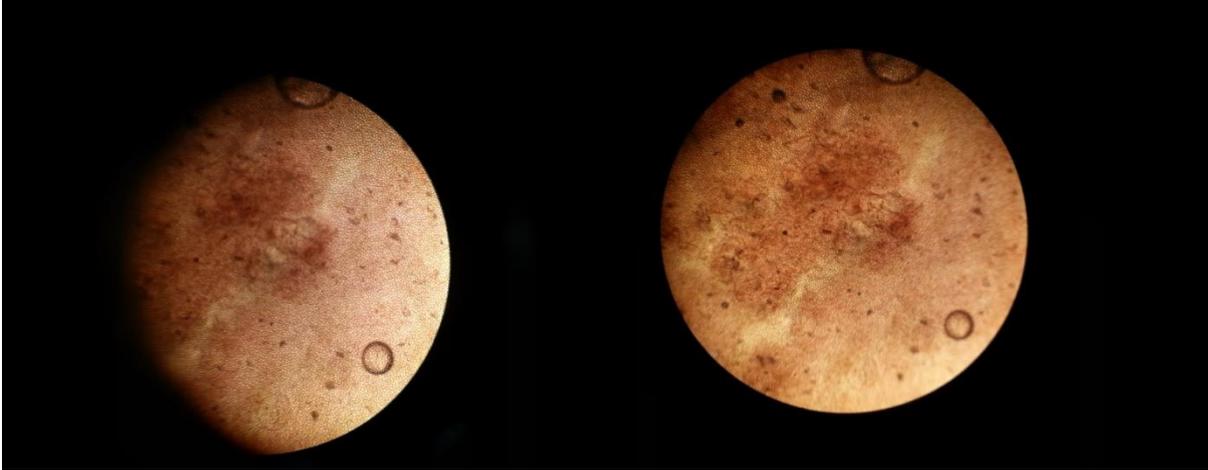


Fig. 6 Muestra de tomate observado con el microscopio con un aumento de 10X.

En la figura 7 se observan con un poco mas de detalle la estructura de la muestra de tomate, se pueden diferenciar las distintas células que lo componen, mostradas como una red.

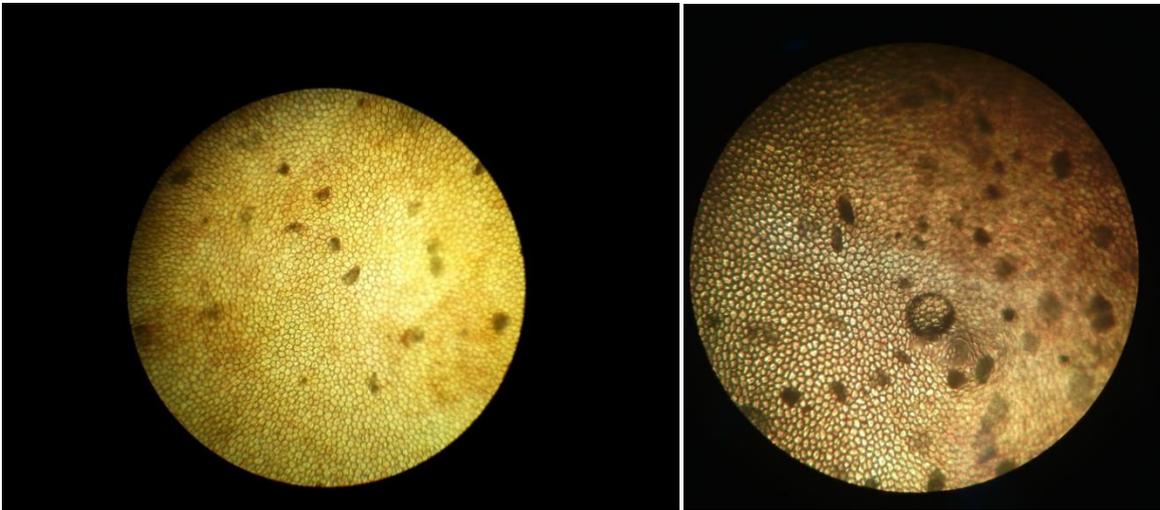


Fig. 7 Muestra de tomate observada a través del microscopio con una lente de 40X.

En la figura 8 podemos observar mejor las células que componen al tomate, se observan los espacios entre cada una de ellas y su pared celular.

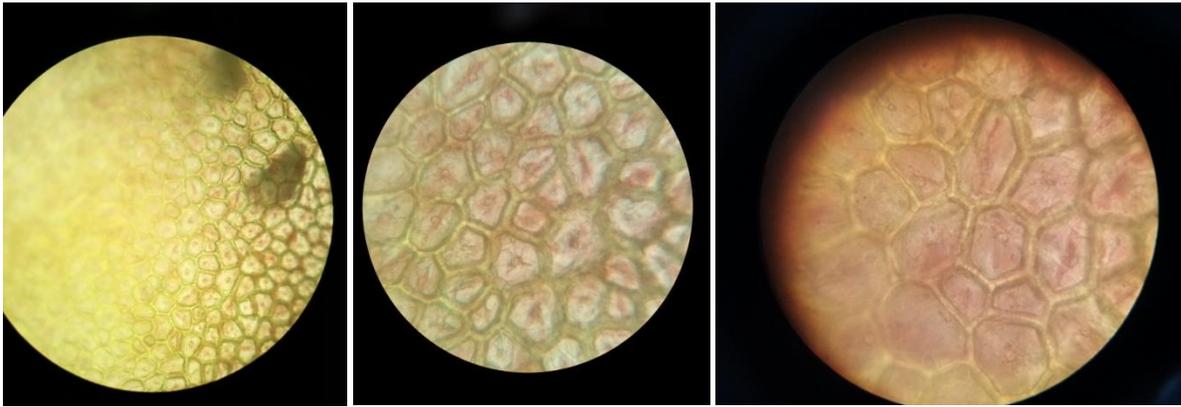


Fig. 8 Muestras de tomate observadas a través de los distintos microscopios utilizados durante la práctica con una lente de 100X.

CEBOLLA

En la figura 9 se observa la estructura de la muestra de cebolla, se distingue una forma más bien alargada en comparación con las células del tomate y las sanguíneas, las cuales son redondas; una estructura ordenada.

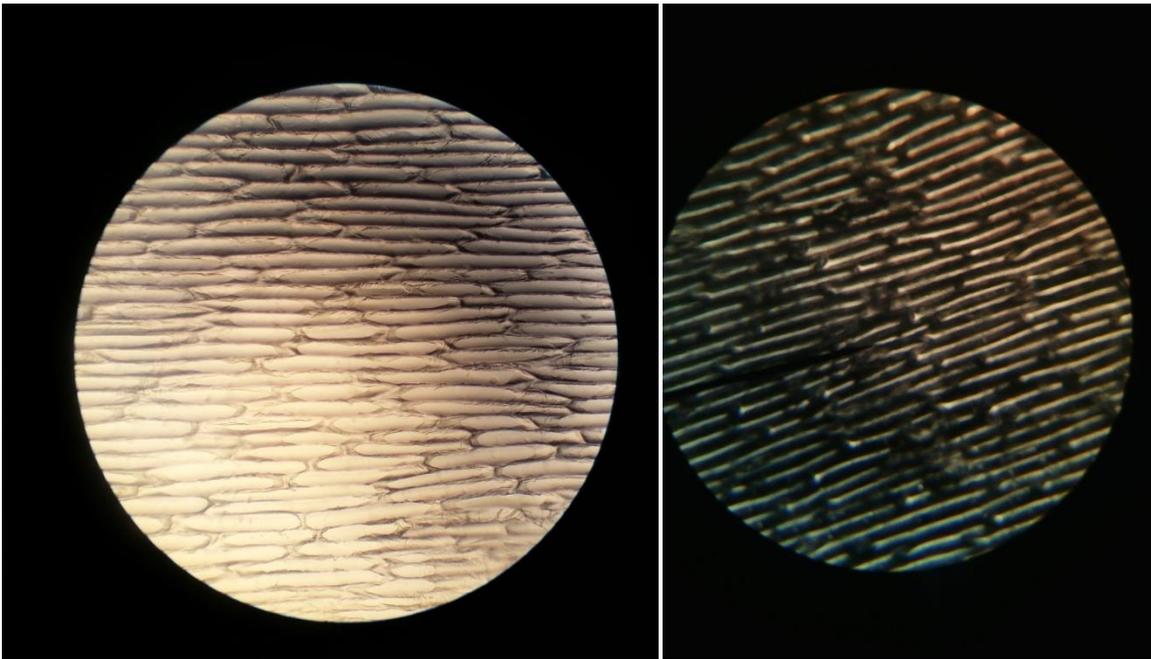


Fig. 9 Muestra de cebolla observada con el microscopio a un aumento de 10X.

En la figura 10 se observa mejor la división entre cada célula y su forma alargada.

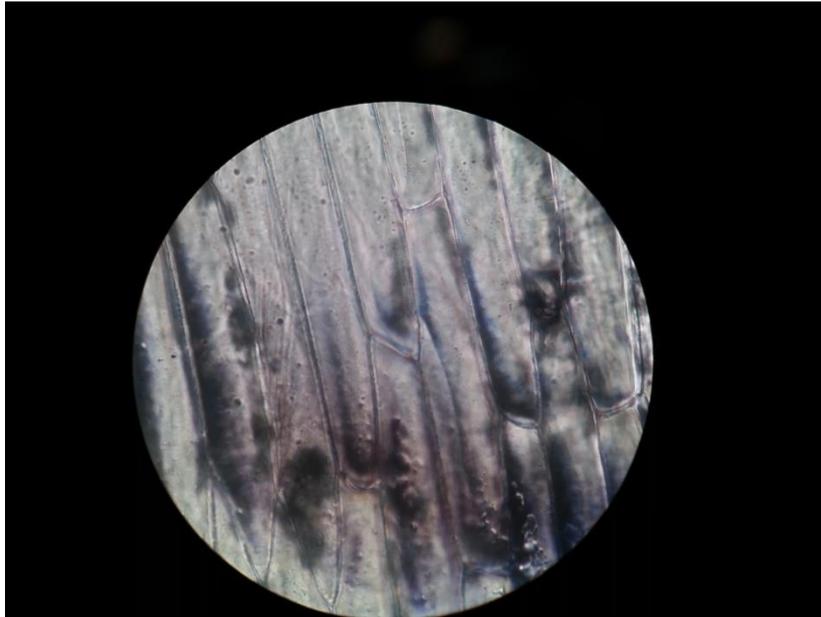


Fig. 10 Muestra de cebolla observada a través del microscopio con una lente de 40X.

En esta última figura (figura 11) se observa con mayor detalle la célula vegetal que compone a la cebolla y se puede distinguir entre células sanguíneas, células vegetales del tomate y células vegetales de la cebolla.

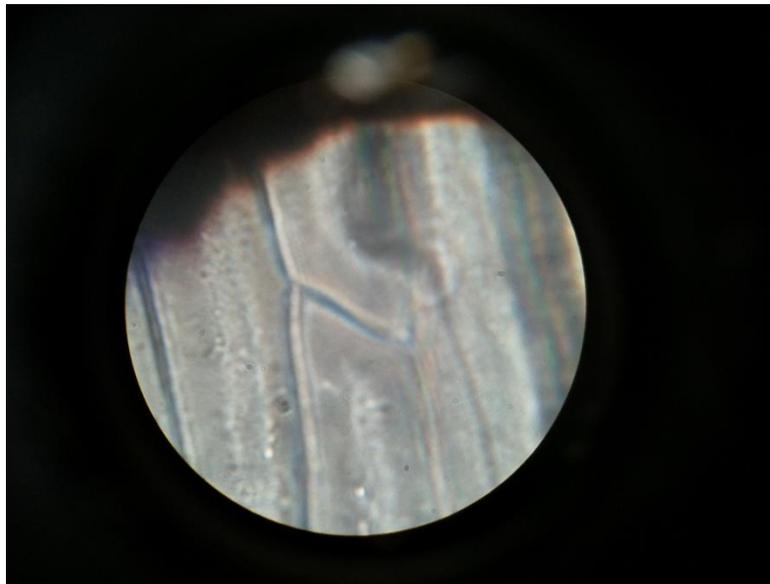


Fig. 11 Muestra de cebolla analizada con el microscopio a un aumento de 100X.

CONCLUSIÓN

Es importante conocer el manejo del microscopio óptico, ya que nos permitirá conocer aspectos importantes y un mayor detalle de cada muestra que podamos observar, el frotis de sangre, tejidos de cebolla y tomate son estructuras complejas a pesar de verse tan simples, ahora se conocen la morfología de la sangre compuesta de leucocitos y eritrocitos, cebolla con sus respectivas divisiones y el tomate con sus tejidos similares a un panal de abejas, conformados por un conjunto de células cada uno distribuido de diferente manera.

BIBLIOGRAFÍA

- ¿QUÉ ES EL ADN?

Autor: Desconocido

Formato: PDF

Fecha de acceso:

Link

- EL ADN - ESTRUCTURA Y FUNCIONES

Autor: Desconocido

Formato: Artículo de Blog científico

Fecha de acceso: 20/Marzo/2015

Link

<https://adnestructurayfunciones.wordpress.com/2008/08/15/adn/>

- CÉLULA VEGETAL

Autor: Dra. Ana María González

Formato: Pagina web

Fecha de acceso: 20/Marzo/2015

Link

http://www.biologia.edu.ar/plantas/cell_vegetal.htm

- ADN

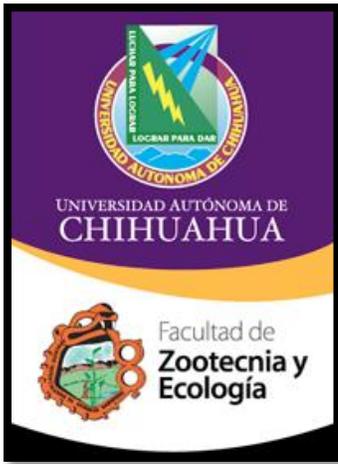
Autor: Desconocido

Formato: Artículo en pagina web Syngenta

Fecha de acceso: 20/Marzo/2015

Link

<http://www.syngenta.com.mx/que-es-adn.aspx>



MICROBIOLOGÍA PECUARIA

PRÁCTICA 3

EXTRACCIÓN DE ADN DE UNA FUENTE VEGETAL

PROFESOR

M. C. Ruth Lechuga Valles

INTEGRANTES

Stephanie Soraya González Vázquez 288035

Alexandrina Lizeth Payan Cervantes 288005

Katia Vanessa Palomo López 288018

Blanca Daí Saucedo Carbajal 288038

REALIZACIÓN DE LA PRÁCTICA: 2015-03-12

FECHA DE ENTREGA: 2015-03-26

RESUMEN

La práctica de laboratorio de microbiología pecuaria consistió en extraer el ADN de una fuente vegetal, en este caso se extrajo del kiwi.

Se cortó en pequeños tozos el kiwi, después se licuó, para que así se pudiera separar y extraer el ADN. Se colocó una pequeña muestra en el porta objetos para poder observar en el microscopio a diferentes aumentos.

Se observó cómo está la estructura del ADN del kiwi y que a simple vista no se pueden ver sin todos los procesos hechos anteriormente. La muestra que estaba en el microscopio se veía como si fueran gránulos, se dificultó el enfocar la muestra ya que no se trataba de una laminilla, sino que nuestra fuente de ADN era un tipo de pulpa.

Gracias a la práctica aprendimos el cómo es la estructura de ADN en una fuente vegetal (kiwi), así también el cómo se puede extraer para poderla apreciar.

INTRODUCCIÓN

Los microorganismos pueden ser observados con ayuda del microscopio, estos son causantes de enfermedades en los humanos. Así que el medio de cultivo es una solución que cuenta con nutrientes, que en concentraciones adecuadas y en condiciones físicas óptimas, permiten el crecimiento de estos microorganismos y que nos facilitan su estudio. Generalmente los medios de cultivo se presentan desecados en forma de polvo fino o granular antes de ser preparados; ya preparados pueden encontrarse en estado sólido, semisólido o líquido.

Su composición varía en función de:

- Grupo microbiano que se pretende estudiar
- Complejidad química
- Estado físico
- Aplicación

En los medios su composición permite el crecimiento de un gran número de especies y determinados microorganismos (medios selectivos). Así mismo los medios de cultivo poseen de una serie de componentes, los indispensables en los que se incluye el agua, nutrientes orgánicos (hidratos de carbono, aminoácidos, vitaminas, etc.) y nutrientes inorgánicos (P, Fe, N, Mg, S, etc.). También están los alternativos que son sustancias isosmotizantes (NaCl), agente solidificante (agar-agar), tampones, indicador de pH, etc.

En los laboratorios se utilizan diferentes tipos de medios de cultivos, se pueden preparar de forma líquida o sólida. Para preparar el medio sólido, se utiliza un medio líquido al que se añade un agente solidificante como el agar.

El agar es una gelatina vegetal, polisacárido obtenido de la pared celular de algunas especies de algas de los géneros gelidium, eucheama y graciliaria, entre otros. Se utiliza desde tiempos antiguos. Disuelto en agua caliente y enfriado se vuelve gelatinoso, su uso principal es como medio de cultivo para el crecimiento de bacterias y hongos en microbiología.

Tipos de agar utilizados:

- **Agar nutritivo:** Medio rico para el cultivo de microorganismos en general, crecen una gran mayoría, excepto algunos muy exigentes.
- **Mac Conkey:** Es un medio selectivo diferencial utilizado para el aislamiento y diferenciación de bacilos gram negativo fermentadores y no fermentadores de lactosa. Se utiliza con frecuencia para el aislamiento de coliformes.
- **Sal manitol:** Este medio es utilizado para el aislamiento y enumeración de microorganismos pertenecientes al género *Staphylococcus*.

OBJETIVO

El principal objetivo de esta práctica es que el estudiante tenga la capacidad de preparar adecuadamente medios de cultivo ya que es uno de los sistemas más importantes para la identificación de microorganismos. A partir de un método específico, sencillo, siguiendo los pasos adecuados de higiene y calculando las medidas para preparar las cantidades exactas de cultivos de agar.

MATERIALES Y METODOLOGÍA

MATERIALES

- Jugo de piña
- Jabón de trastes
- Sal
- Vasos de precipitado
- Alcohol al 96%
- Fuente vegetal (Kiwi)
- Colador
- Agua destilada
- Licuadora
- Cuchillo
- Cuchara
- Tabla para picar
- Cajas de petri
- Palillos
- Agua clorada
- Alcohol al 70%



METODOLOGÍA

Se limpió y descontaminó el área de trabajo con agua clorada y alcohol al 70%.

Primero se retiró la cáscara del kiwi, y se pico con un cuchillo (Fig. 1A), se agregó en un recipiente. En un vaso de precipitado se agregó agua destilada, media cucharada de sal y tres cucharadas de jabón para trastes; esta mezcla se añadió al recipiente con kiwi y se licuó por un minuto a máxima velocidad. Se vertió la mezcla de kiwi en un vaso de precipitado con ayuda de un colador hasta llegar a 150ml, y se agregaron 3 cucharadas de jugo de piña; se mezcló y se agregaron 150ml de alcohol al 96%, éste último se agrega por la orilla del recipiente para no mezclar los demás ingredientes y separar así el ADN de nuestra fuente vegetal (Fig. 1B). Después de esto, se deja reposar la mezcla por un tiempo de 10 minutos.

Fig. A



Fig. B



Fig. 1a) Momento en que se corta el kiwi y b) añadir alcohol al 96% por la orilla del vaso.

Cuando se separó el ADN del kiwi se tomaron muestras con los palillos y se colocaron en las cajas petri, después se procedió a observarlos en el microscopio.

Se limpiaron los materiales utilizados y se desecho el kiwi. Se limpió y descontaminó el área de trabajo con agua clorada y alcohol al 70%.

RESULTADOS

Después de realizar el procedimiento indicado al kiwi, se observó al ADN separarse de lo que restaba de sus células vegetales, al romper las paredes celulares quedaron los organelos libres, al igual que su ADN.

Como se muestra en la siguiente figura (fig. 2) esto es lo que resultó al terminar el procedimiento y esperar 10 min a que se separara la suficiente cantidad de ADN para poder observarlo al microscopio con una lente de 40X y de 100X.

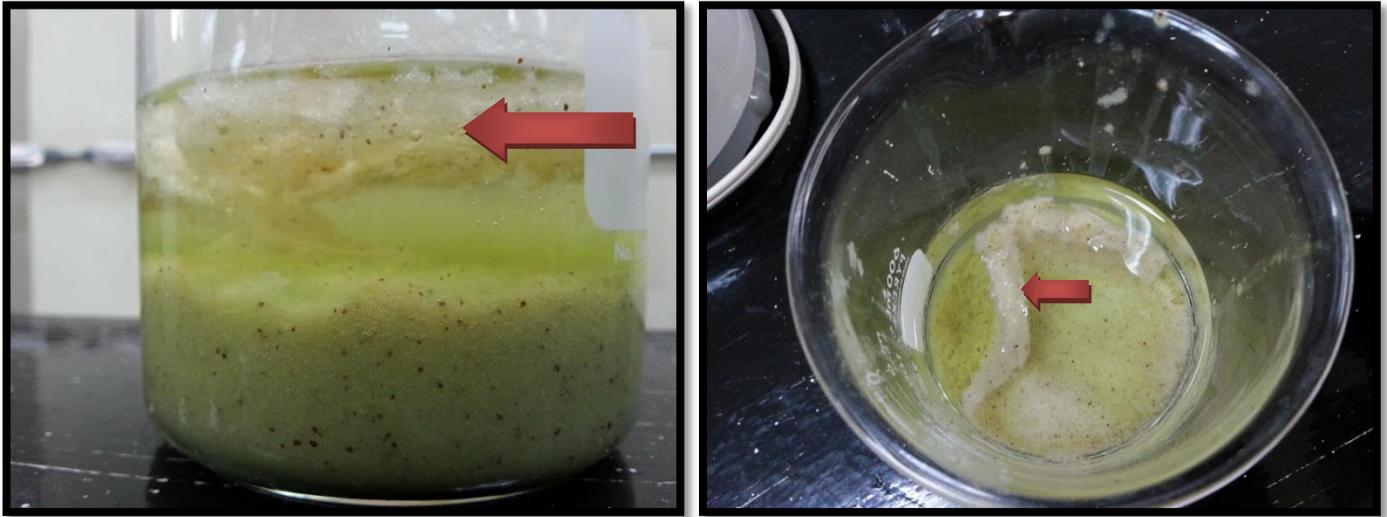


Fig. 2 ADN de la célula vegetal (kiwi) separado después del procedimiento realizado en la práctica.

Las flechas nos indican la parte que se utilizó para observarse en el microscopio, esta parte separada del resto de las células y del alcohol vendría siendo el ADN contenido en la fruta estudiada, en este caso el kiwi.

Al tomarse una muestra (fig. 3) y colocarse en el microscopio (fig. 4) se observó el ADN separado de la célula vegetal.



Fig. 3 Muestra del ADN tomada de las células vegetales.



Fig. 4 Observación de la muestra en el microscopio con los aumentos de 40X y 100X.

Al separar la muestra para su posterior observación en el microscopio, obtuvimos las siguientes imágenes del ADN del kiwi.

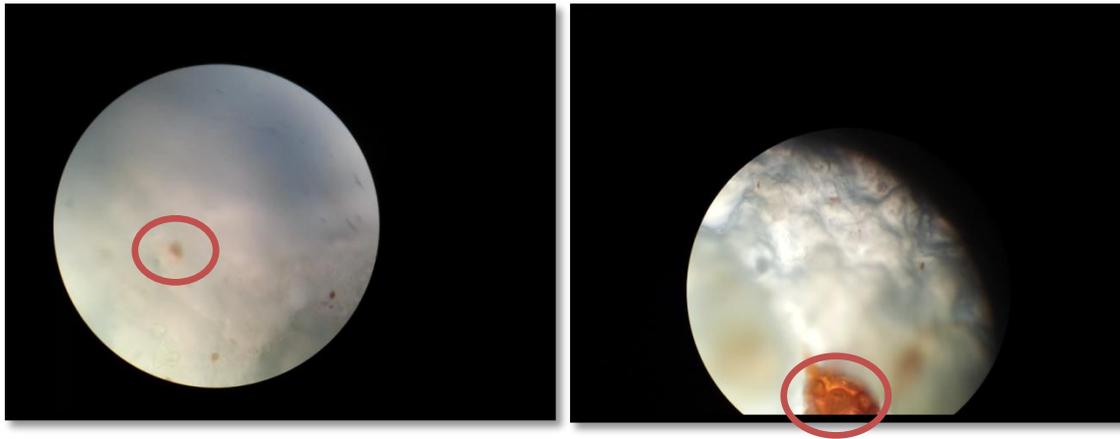


Fig. 5 Vista al microscopio a 40X y a 100X respectivamente.

En la figura 5 se puede apreciar una semilla (señalada con un círculo), esto es porque el kiwi contiene muchas semillas y es difícil separar todo el medio de éstas. No se enfocó muy bien ya que en cuanto se pretendía enfocar una parte la otra se desenfocaba debido a que nuestra muestra no es una laminilla sino que es como una pasta, por esto los relieves que impidieron una buena visión de la muestra de ADN.



Fig. 6 Vista del ADN en el microscopio con un aumento de 100X.

En esta última figura se aprecia mejor la estructura del ADN, que en este caso se observan como gránulos de diferente tamaño; se enfoca mejor la muestra y se obtiene también una mejor visión de lo que es la semilla del kiwi (la parte señalada con una flecha). Lo demás que se observa es el ADN obtenido de nuestra muestra de célula vegetal (kiwi).

CONCLUSIÓN

Podemos decir que cumplimos con el objetivo de la práctica, extraer el ADN de una fuente vegetal. Al seguir los pasos en presencia de una persona capacitada obtuvimos un resultado favorable ya que al final se pudo observar claramente como se separaba el ADN del resto de componentes. Aprendimos como era su estructura al observarlo a través del microscopio.

En general esta práctica me pareció muy interesante, no esperaba observar algo así, ni siquiera sabía que esperar, pero conforme vamos avanzando aprendimos más y que es un procedimiento tan sencillo.

BIBLIOGRAFÍA

- ¿QUÉ ES EL ADN?

UNAM, CCH. Plantel Oriente. Área de Ciencias Experimentales. BIOLOGÍA I, 1ª UNIDAD

Autor: Desconocido

Formato: PDF

Fecha de acceso: 20/Marzo/2015

Link:

<http://siladin.cch->

[oriente.unam.mx/coord_area_cienc_exp/biologia/practicas_pedro_serrato/Bio-I_Lecturas/B-1%20Marco%20Teorico/Marco%20Teor%20B1%20U1/04%20QU%C3%89%20ES%20EL%20ADN.pdf](http://siladin.cch-oriente.unam.mx/coord_area_cienc_exp/biologia/practicas_pedro_serrato/Bio-I_Lecturas/B-1%20Marco%20Teorico/Marco%20Teor%20B1%20U1/04%20QU%C3%89%20ES%20EL%20ADN.pdf)

- EL ADN - ESTRUCTURA Y FUNCIONES

Autor: Desconocido

Formato: Artículo de Blog científico

Fecha de acceso: 20/Marzo/2015

Link:

<https://adnestructurayfunciones.wordpress.com/2008/08/15/adn/>

- CÉLULA VEGETAL

Autor: Dra. Ana María González

Formato: Pagina web

Fecha de acceso: 20/Marzo/2015

Link:

http://www.biologia.edu.ar/plantas/cell_vegetal.htm

- ADN

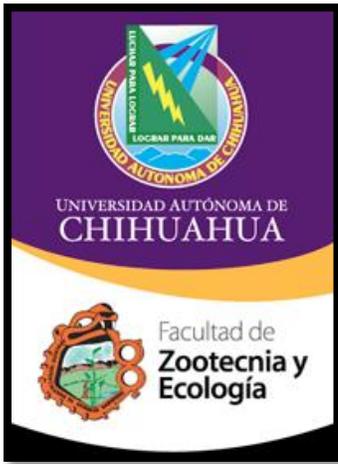
Autor: Desconocido

Formato: Artículo en pagina web Syngenta

Fecha de acceso: 20/Marzo/2015

Link:

<http://www.syngenta.com.mx/que-es-adn.aspx>



MICROBIOLOGÍA PECUARIA

PRÁCTICA 4

PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO GENERAL Y ESPECÍFICO, ASÍ COMO MATERIAL DE VIDRIO, HISOPOS, TORUNDAS, AGUA DESTILADA.

PROFESOR

M. C. Ruth Lechuga Valles

INTEGRANTES

Stephanie Soraya González Vázquez 288035

Alexandrina Lizeth Payan Cervantes 288005

Katia Vanessa Palomo López 288018

Blanca Daí Saucedá Carbajal 288038

REALIZACIÓN DE LA PRÁCTICA: 2015-03-26

FECHA DE ENTREGA: 2015-04-30

RESUMEN

La práctica de laboratorio consistió en la preparación de medios de cultivo en un agar determinado.

La preparación se hizo con agar estándar (polvo ya preparado, el cual se usa para cultivos de bacterias estándar), se pesó y después se le agregó agua destilada para así proceder y colocarla al fuego. Se dejó reposar en cajas de petri hasta que el agar (líquido) pasara a verse como si fuera gelatina (medio sólido), después de eso se le sopló al agar para que se contaminara con bacterias y a una última caja se dejó reposar afuera para que se contaminara con bacterias provenientes del ambiente. Las cajas petri fueron guardadas en la incubadora a 35 ± 2 °C durante un día.

Después el cultivo de agar se observó, se apreció que crecían pequeñas manchas (bacterias y hongos).

Gracias a la práctica elaborada aprendimos a preparar medios de cultivo, así como también la cantidad de bacterias que existen en nuestro ambiente y en nosotros.

INTRODUCCIÓN

Los microorganismos pueden ser observados con ayuda del microscopio, estos son causantes de enfermedades en los humanos. Así que el medio de cultivo es una solución que cuenta con nutrientes, que en concentraciones adecuadas y en condiciones físicas óptimas, permiten el crecimiento de estos microorganismos y que nos facilitan su estudio. Generalmente los medios de cultivo se presentan desecados en forma de polvo fino o granular antes de ser preparados; ya preparados pueden encontrarse en estado sólido, semisólido o líquido.

Su composición varía en función de:

- Grupo microbiano que se pretende estudiar
- Complejidad química
- Estado físico
- Aplicación

En los medios, su composición permite el crecimiento de un gran número de especies y determinados microorganismos (medios selectivos). Así mismo los medios de cultivo poseen de una serie de componentes, los indispensables en los que se incluye el agua, nutrientes orgánicos (hidratos de carbono, aminoácidos, vitaminas, etc.) y nutrientes inorgánicos (P, Fe, N, Mg, S, etc.). También están los alternativos que son sustancias isosmotizantes (NaCl), agente solidificante (agar-agar), tampones, indicador de pH, etc.

En los laboratorios se utilizan diferentes tipos de medios de cultivos, se pueden preparar de forma líquida o sólida. Para preparar el medio sólido, se utiliza un medio líquido al que se añade un agente solidificante como el agar.

El agar es una gelatina vegetal, polisacárido obtenido de la pared celular de algunas especies de algas de los géneros *gelidium*, *euchema* y *graciliaria*, entre otros. Se utiliza desde tiempos antiguos. Disuelto en agua caliente y enfriado se vuelve gelatinoso, su uso principal es como medio de cultivo para el crecimiento de bacterias y hongos en microbiología.

OBJETIVO

Que el estudiante tenga la capacidad de preparar adecuadamente medios de cultivo a partir de un método específico, sencillo, siguiendo los pasos adecuados de higiene y calculando las medidas para preparar las cantidades exactas de cultivos de agar.

MATERIALES Y METODOLOGÍA

MATERIALES

- Matraz de un litro



- Báscula



- Guantes de Asbesto



- Agua purificada 150 ml

- Agar (Sal y Manitol, Estándar y Mac Conkey)



- Cajas petri desechables



- Tapón de gasa



- Mechero



- Trípode



- Charola de pesaje



METODOLOGÍA

Se limpió y descontaminó el área de trabajo con agua clorada al 55% y alcohol al 70%.

Se realizaron cálculos (conversiones) para conocer la cantidad exacta que necesitamos para preparar el agar con 150 ml de agua destilada:

Agar Sal y Manitol

111 gr – 1 lt (1000 ml)

$X=16.65$ gr – 150 ml

Agar Mac Conkey

50 gr – 1000 ml

$X= 7.5$ gr – 150 ml

Agar Métodos Std.

23.5 gr – 1000 ml

$X= 3.52$ gr – 150 ml

Se colocan 4 gr de agar en un recipiente (en este caso de papel), luego se vació en un matraz que contenía 150 ml de agua, se coloca a fuego lento, tapado con el tapón de gasa, hasta que se llegue a clarificar y se debe agitar con el uso de guantes.

Cuando estuvo listo el agar se vació en cajas petri, esto se debe hacer cerca de la mecha (Fig. 1a) y se deben ir colocando alrededor del mechero (Fig. 1b), hasta que el agar este sólido, se le sopló a la caja de petri para infestarla de bacterias provenientes de nosotros y al final se colocaron las cajas de petri en la incubadora a $35^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$.



a)



b)

Fig. 1a) Se muestra el momento donde se vacía agar en una caja petri, cerca del mechero 1b) se muestra la colocación de los agares alrededor del mechero, respectivamente.

Se lavaron los materiales utilizados. Se limpió y descontaminó el área de trabajo con agua clorada y alcohol al 70%.

RESULTADOS

Como resultado obtuvimos una mezcla homogénea del agar estándar, al llevar a cabo la preparación adecuada para su elaboración los agares quedaron en un estado más sólido (tipo gelatina), como se muestra en la figura 2:



Fig. 2 Cajas de petri al final de la práctica, dentro de la incubadora (35 ± 2 °C).

Después de llevar a cabo el resto de la práctica, dejando reposar por un día, se puede observar la formación de colonias de hongos y bacterias encontradas en el ambiente y en nosotros mismos. Por falta de tiempo no se pueden observar muy bien estas colonias, ya que en un día no se formaron muchas bacterias, a continuación se muestran las imágenes 3 y 4.

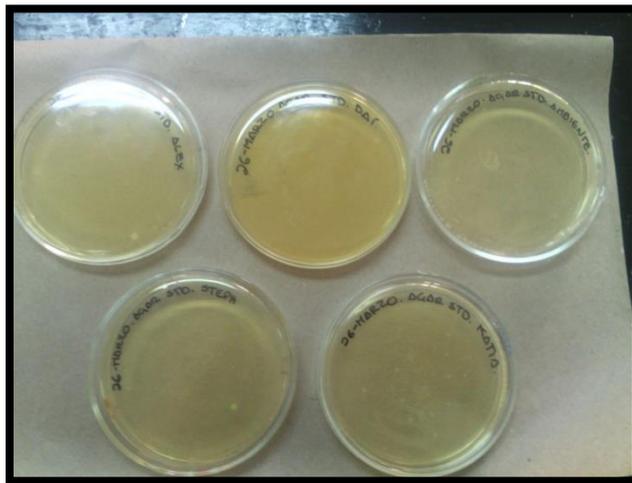
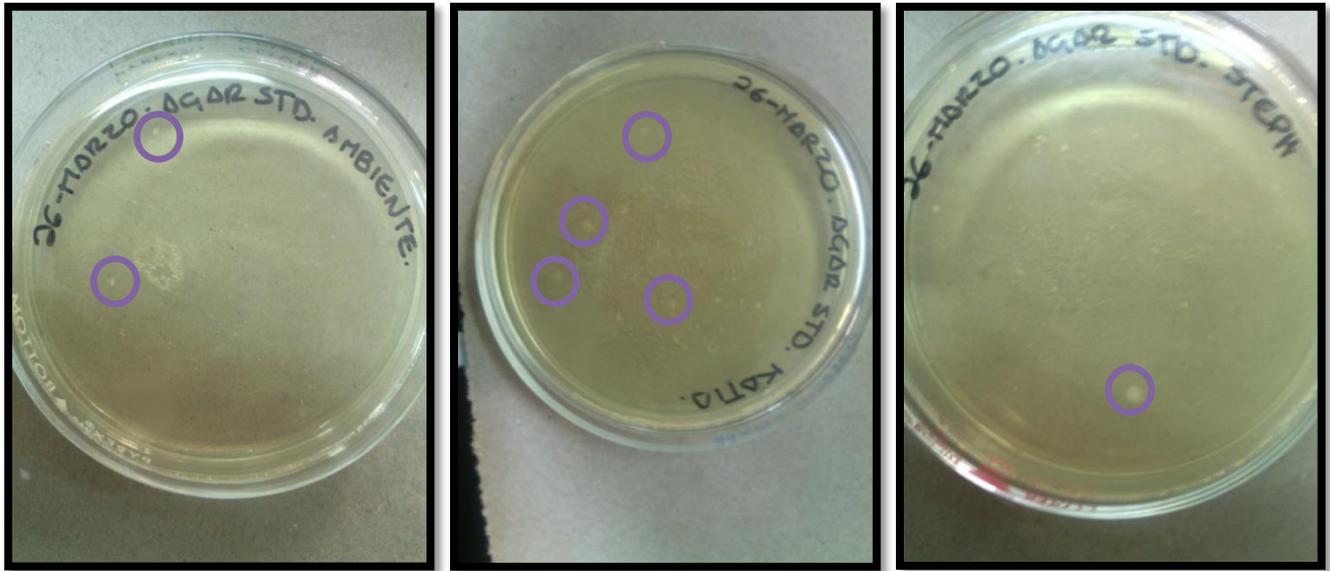


Fig. 3 Agares estándar después de un día.

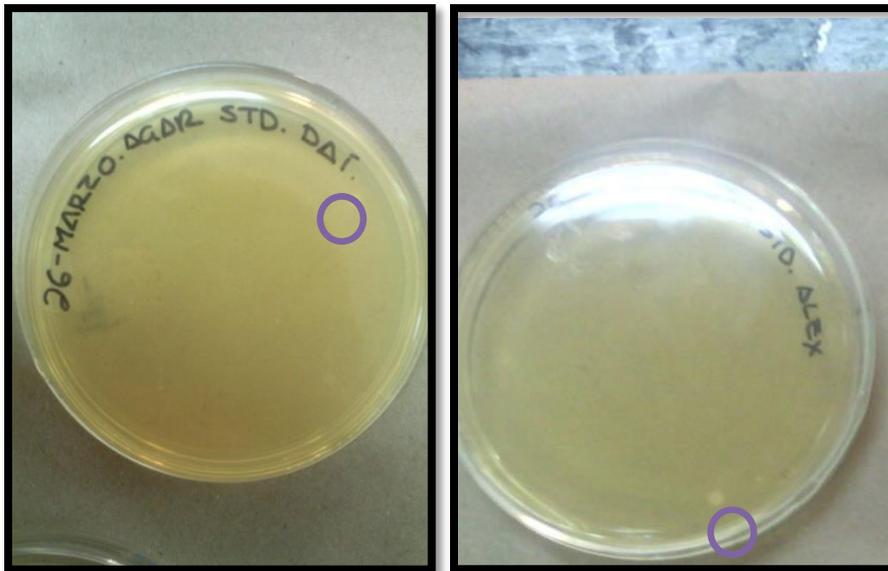


a)

b)

c)

Fig. 4a) Agar estándar libre en ambiente, b) agar estándar preparado por Katia y c) agar estándar preparado por Stephanie.



a)

b)

Fig. 5a) Agar estándar preparado por Daí y b) agar estándar preparado por Alexandrina.

En las figuras 4 y 5 se pueden observar manchas blancas (señaladas con círculos morados), estas manchas se podrían atribuir a hongos encontrados en el ambiente o en nosotros, es el resultado que

obtuvimos tras un día de espera, se podrían haber formado mejor los hongos y bacterias pero debido al corto tiempo esto fue lo que se obtuvo. Aun así se puede apreciar un poco que si se formó algo dentro del agar, ya sean bacterias u hongos.

CONCLUSIÓN

La práctica cumplió con el objetivo que se esperaba, aprender el cómo preparar un medio de cultivo, en este caso el agar estándar. Al seguir los pasos indicados obtuvimos un resultado bueno, ya que al final se observaron las bacterias que habían sido cultivadas en el agar elaborado.

Gracias a esta práctica ahora sabemos lo que hay en nuestro ambiente y que nos es imposible apreciar a simple vista. Además de que fue una práctica en la que aprendimos y a la vez entretenida.

BIBLIOGRAFÍA

- MEDIOS DE CULTIVO EN MICROBIOLOGÍA

Autor: Desconocido

Formato: Pagina web

Fecha de acceso: 24/abril/2015

Link:

<http://www.microinmuno.qb.fcen.uba.ar/SeminarioMedios.htm>

- MEDIOS DE CULTIVO

Autor: Desconocido

Formato: Articulo en pagina web

Fecha de acceso: 24/abril/2015

Link:

http://es.wikibooks.org/wiki/Microbiolog%C3%ADa/Medios_de_cultivo

- MEDIOS DE CULTIVO

Autor: Prof. Antonio Doménech

Formato: Pagina web

Fecha de acceso: 24/abril/2015

Link:

<http://www.uib.cat/depart/dba/microbiologia/seminarios/1%20Medios%20de%20cultivo.pdf>

- MEDIOS DE CULTIVO

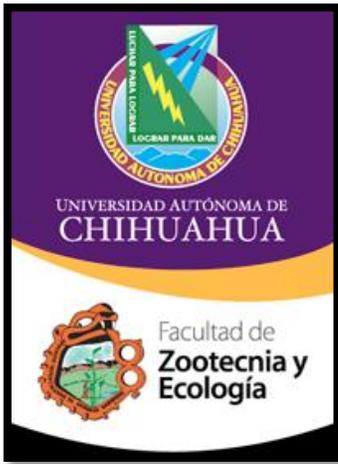
Autor: Desconocido

Formato: PDF

Fecha de acceso: 24/abril/2015

Link:

<http://www.odon.uba.ar/uacad/Pagina%20Microbiologia/micro%202013/guias%20tp/medios%20de%20cultivos.pdf>



MICROBIOLOGÍA PECUARIA

PRÁCTICA 5

TOMA DE MUESTRA Y SIEMBRA DE MICROORGANISMOS PRESENTES EN EL RELOJ, BILLETE, CELULAR, MANOS SUCIAS, PIEL Y SALÓN DE CLASES, ASÍ COMO DE LAS BACTERIAS *E. COLI* Y *S. AUREUS*.

PROFESOR

M. C. Ruth Lechuga Valles

INTEGRANTES

Stephanie Soraya González Vázquez 288035

Alexandrina Lizeth Payan Cervantes 288005

Katia Vanessa Palomo López 288018

Blanca Daí Saucedo Carbajal 288038

REALIZACIÓN DE LA PRÁCTICA: 2015-04-23

FECHA DE ENTREGA: 2015-05-07

RESUMEN

La práctica consistió en tomar varias muestras de microorganismos que se encuentran en un celular, en la nariz y en las bacterias *E. coli* y *S. aureus*. Para después proceder a sembrarlas en agar y esperar a que estas crezcan.

Las muestras de la nariz y del celular fueron tomadas directamente con un hisopo y colocadas en una caja petri con agar. La *E. coli* y *S. aureus* se tomaron de una caja petri en la que ya estaban previamente sembradas las bacterias.

Las cajas petri con las bacterias ya sembradas fueron guardadas en la incubadora a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante una semana.

Después en el sembrado se pudo observar un crecimiento de bacterias y hongos.

INTRODUCCIÓN

El cultivo es un método para la multiplicación de células o microorganismos, esto es empleado como un método fundamental para el estudio de las bacterias. Esto se lleva a cabo al cultivarlas en un medio solido de agar. Los medios de cultivo contienen distintos nutrientes que favorecen al microorganismo.

Para aislar una especie bacteriana a partir de una muestra formada por muchos tipos de bacterias, se siembra en un medio de cultivo sólido donde las células que se multiplican no cambian de localización, tras varios ciclos reproductivos, cada bacteria individual genera una colonia compuesta por millones de células similares a la original.

Las bacterias que utilizamos fueron la *E.coli* es tal vez el organismo procariota mas estudiado por el ser humano, entero bacteria que se encuentra generalmente en intestinos animales, aguas negras, realmente se encuentra en todos lados ya que es un organismos ubicuo. Es una bacteria utilizada frecuentemente en experimentos de genética y biología molecular.

Por otra parte también utilizamos *Staphylococcus aureus* es una bacteria gram positiva que se encuentra ampliamente distribuida por todo el mundo, estimándose que una de cada tres personas se hallan colonizadas, aunque no infectadas por ella.

También se recolectaron muestras de diferentes medios para saber que bacterias se encuentran por ejemplo en manos, nariz, celular y boca.

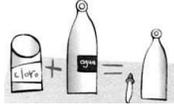
OBJETIVO

El principal objetivo de esta práctica es de que el alumno aprenda técnicas de cultivo y que se dé cuenta de la cantidad de bacterias que se encuentran en el ambiente y a las que estamos expuestos diariamente.

MATERIALES Y METODOLOGÍA

MATERIALES

- Cajas petri con Agar:
 - *Nutritivo
 - *Mac Conkey
 - *Salmanitol
- Agua clorada
- Alcohol al 70%
- Mechero
- Asa microbiológica
- Cotonete



METODOLOGÍA

Se limpió y descontaminó el área de trabajo con agua clorada y alcohol al 70%.

Los agares se encontraban listos en sus cajas petri.

Para iniciar se debe prender el mechero, todos los procedimientos se deben de realizar cercas de este.

Se toma un asa microbiológica, la cual se debe esterilizar poniendo en fuego hasta que este al rojo vivo (Fig.1), luego se debe enfriar colocándola en el agar estéril, se debe pasar por el agar con *E. coli* o *S. aureus* (la que se prefiera realizar primero), y después pasar por el agar estéril realizando movimientos en zigzag para que se puedan esparcir.



Fig. 1 En esta foto se muestra el asa al rojo vivo.

También se realizaron siembras de muestras como fueron: El celular y nariz, se tomo un cotonete y se tomaron las pruebas con estos, se deben pasar por la parte donde se desea tomar la muestra, cuando se obtiene la muestra deseada se debe pasar por el agar nutritivo y luego quemar el algodón con el que se tomo la muestra.

Al finalizar se deben colocar las cajas petri en una incubadora a $35^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$

Se limpio y descontamino el área de trabajo con agua clorada y alcohol al 70%.

RESULTADOS

Lo que se obtuvo de esta práctica fueron los cultivos tomados de diferentes muestras, se nos proporcionaron dos bacterias (*E. coli* y *S. aureus*), las otras muestras fueron tomadas de el celular y la nariz. Las figuras 2a y 2b muestran los agares con sus respectivas bacterias y el momento en que se colocan en la incubadora.



(a)



(b)

Fig. 2a) Agares ya inoculados con las distintas bacterias proporcionadas y 2b) muestras colocadas en la incubadora (35 ± 2 °C).

Al realizar el cultivo en los diferentes agares ya proporcionados y colocarlos en la incubadora obtuvimos las diferentes colonias mostradas en la figura 3.

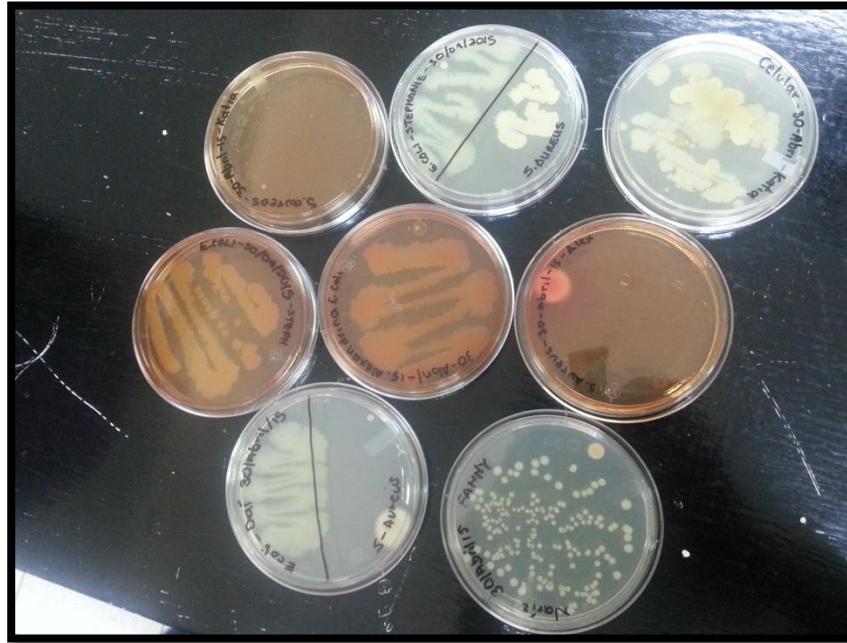


Fig. 3 Agares en los que se observan las diferentes colonias de bacterias, después de unos días.

Las diferentes muestras tomadas del celular y nariz se observan más a detalle en las figuras 4a y 4b. Se pueden observar las diferentes formas en la que crecieron los microorganismos; en la figura 4a se aprecian distintas estructuras y colonias de bacterias, en la figura 4b se distinguen las colonias de las bacterias, en una forma más separada o dividida y al parecer una sola bacteria.



a)



b)

Fig. 4a) Caja de petri con una muestra tomada del celular de uno de los integrantes del equipo y 4b) caja de petri con una muestra obtenida de la nariz de otro integrante del equipo.

La muestra de *S. aureus* no se observó crecimiento, debido a que se nos explicó que el agar con esta bacteria ya tenía mucho tiempo ahí y por lo tanto no fue posible realizar el cultivo en esta práctica. La figura 5 muestra como no se dio el crecimiento de la bacteria.

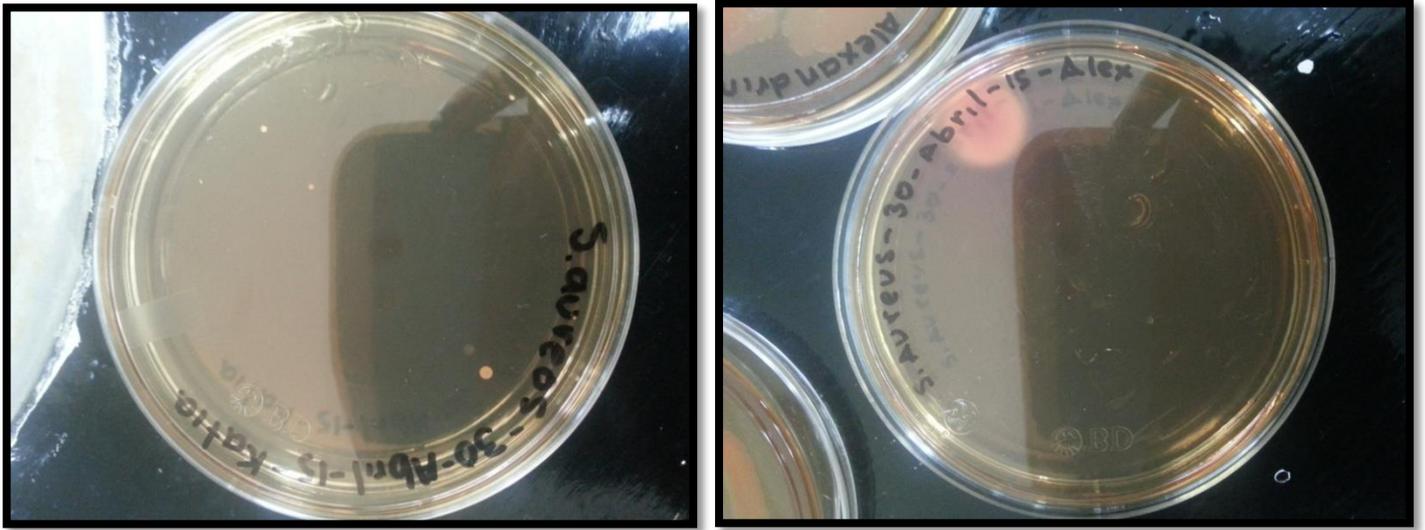


Fig. 5 Caja de petri con *S. aureus*.

También se tomaron muestras de la bacteria *E. coli*, se observan las colonias de una forma como de nube. Estas muestras se cultivaron en el agar y se muestran en la figura 6.

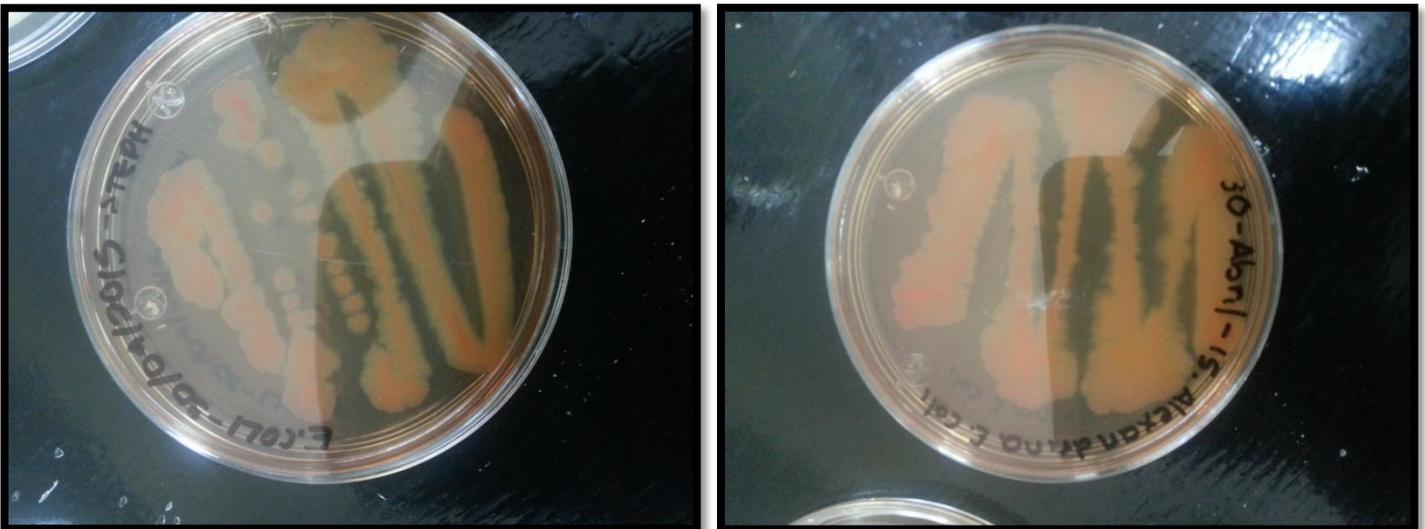


Fig. 6 Agar con la bacteria *E. coli*.

Se cultivaron en agares nutritivos divididos las bacterias *E. coli* y *S. aureus*, mostrándose sólo resultados de las colonias en la *E. coli*, posteriormente a la vista del microscopio se observó que la bacteria *S. aureus* no creció en ninguno de los agares preparados en esta práctica. Esto se realizó

con el objetivo de poder observar el crecimiento de ambas bacterias en un mismo tipo de agar. Al final obtuvimos solo resultados de la *E. coli*, se observa la misma forma de las colonias de bacterias que las mostradas en la figura 6, una forma de nube. A continuación se aprecian las imágenes de cada caja de petri con división (figura 7).

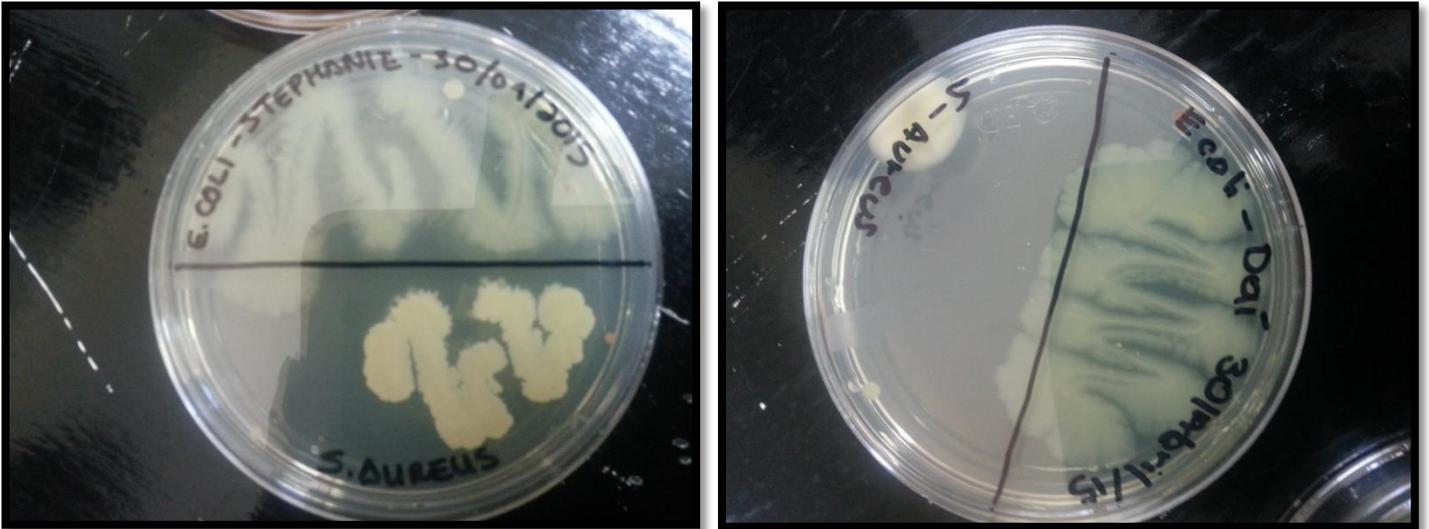


Fig. 7 Cajas de petri divididas para el cultivo de *E. coli* y *S. aureus*.

Al final pudimos observar la estructura de cada una de las colonias de bacterias cultivadas, la *E. coli* y las bacterias del celular y la nariz, y aunque no se pudo realizar el cultivo de la *S. aureus* logramos observar las demás bacterias en los distintos tipos de agares.

CONCLUSIÓN

La práctica realizada cumplió con el objetivo esperado, aprender a sembrar microorganismos en un medio de cultivo. Siguiendo los pasos que se nos indicó pudimos obtener un resultado bueno, ya que se pudo observar un crecimiento de las bacterias y hongos en las cajas petri que anteriormente habían sido sembradas.

Gracias a la práctica elaborada hemos aprendido a sembrar bacterias u hongos en agar, para después proceder a observarlas en un microscopio y apreciar con más detalle los microorganismos que se encuentran en nuestro ambiente.

BIBLIOGRAFÍA

- LOS MEDIOS DE CULTIVO EN MICROBIOLOGÍA

Autor: Desconocido

Formato: página web

Fecha de acceso: 17/mayo/2015

Link: <http://www.microinmuno.qb.fcen.uba.ar/SeminarioMedios.htm>

- E.COLI, LA BACTERIA PELIGROSA

Autor: Desconocido

Formato: página web

Fecha de acceso: 17/Mayo/2015

Link: <http://www.efesalud.com/noticias/e-coli-la-bacteria-peligrosa/>

- STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Autor: Desconocido

Formato: PDF

Fecha de acceso: 17/Mayo/2015

Link: <http://www.bvsops.org.uy/pdf/aureus.pdf>

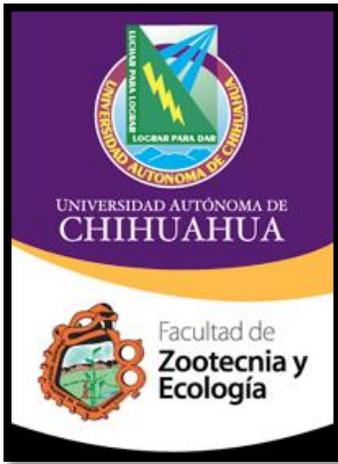
- MEDIO DE CULTIVO, MICROBIOLOGÍA

Autor: Desconocido

Formato: Página web

Fecha de acceso: 17/Mayo/2015

Link: http://www.ecured.cu/index.php/Medio_de_cultivo_%28Microbiolog%C3%ADa%29



MICROBIOLOGÍA PECUARIA

PRÁCTICA 6

PRUEBA DE CATALASA Y TINCIÓN DE GRAM A LAS COLONIAS CRECIDAS EN LOS DIFERENTES AGARES UTILIZADOS. OBSERVACIÓN EN EL MICROSCOPIO.

PROFESOR

M. C. Ruth Lechuga Valles

INTEGRANTES

Stephanie Soraya González Vázquez 288035

Alexandrina Lizeth Payan Cervantes 288005

Katia Vanessa Palomo López 288018

Blanca Daí Saucedá Carbajal 288038

REALIZACIÓN DE LA PRÁCTICA: 2015-05-07

FECHA DE ENTREGA: 2015-05-14

RESUMEN

La práctica consistió en hacer una tinción de Gram y una prueba de catalasa con las muestras tomadas y sembradas en la práctica anterior.

La tinción se hizo tomando una pequeña cantidad de muestra, la cual se colocó en un portaobjetos, después se le agrego la tinción violeta por un minuto, se le retiro el excedente para luego agregarle iodogol por un minuto, de nuevo se retiro el excedente y se le agrego alcetona durante 30 segundos para que se decoloraran algunas bacterias y finalmente se le agrego safranin.

Después las muestras teñidas se observaron en un microscopio para poder identificar el tipo de bacterias con el que se estaba trabajando.

Las bacterias gram positivas (celular, *S. aureus*) se tiñeron de color purpura y las bacterias gram negativas (nariz, *E. coli*) de color rosa.

La prueba de catalasa se realizó poniendo en la muestra una gota de agua oxigenada la cual determinara si la prueba es positiva, en todas las muestras realizadas se obtuvo positivo (*E.coli*, *S. aureus*, nariz, celular).

Gracias a la práctica realizada aprendimos a teñir las muestras e identificar el tipo que eran.

INTRODUCCIÓN

La tinción de Gram es una técnica comúnmente empleada en el diagnóstico microbiológico, fue descubierta por Hans Christian Gram en 1884.

Las bacterias pueden dividirse en dos grupos: gram positivas y gram negativas, esta tinción tiene mucha importancia en la taxonomía bacteriana ya que indica diferencias fundamentales de pared celular de las distintas bacterias. Se utiliza tanto para poder referirse a la morfología celular bacteriana, como para poder realizar una primera aproximación a la diferenciación bacteriana.

La pared celular de las gram positivas posee una gruesa capa de peptidoglucano, además de dos clases de ácidos teicoicos: anclando en la cara interna de la pared celular y unida a la membrana plasmática. Esto hace que las bacterias gram positivas queden color violeta.

Por su parte las bacterias gram negativas su capa de peptidoglucano es delgada, y se encuentra unida a la segunda membrana plasmática exterior por medio de lipoproteínas. Tiene una capa delgada de peptidoglucano unida a una membrana exterior por lipoproteínas. Esto hace que las bacterias gram negativas queden de color rosa.

Por lo tanto ambos tipos de bacterias se tiñen de manera diferente, la clave es el peptidoglucano ya que es el material que confiere su rigidez a la pared celular bacteriana, y las Gram positivas lo poseen en mucha mayor proporción que las Gram negativas.

Identificación bacteriana es el ejercicio práctico en el que se ejercen las pruebas de identificación bacteriana. En la medicina general es común que llegue un paciente con síntomas de alguna infección bacteriana, el determinar un diagnóstico y poder interpretar qué bacteria causó la molestia al paciente es aventurado, pues hay muchas bacterias que causan las mismas enfermedades, por eso es conveniente realizar pruebas de identificación, que son sumamente importantes para un buen diagnóstico de cualquier patología.

Cada género, inclusive especie, tiene diferentes reacciones cuando se les enfrentan diferentes reactivos, esto se hace a partir de un cultivo puro, ya la bacteria aislada, con estas pruebas podremos decir casi con exactitud de que género y qué especies que esta bacteria. A estas pruebas se les ha llamado como primarias, secundarias y complementarias.

- Prueba de catalasa: La catalasa es una enzima que descompone al peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua, esta enzima es similar a la estructura de la hemoglobina. Excluyendo al género

Streptococcus y algunos otros la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas tienen catalasa.

La base de esta prueba es demostrar la presencia de la enzima catalasa, colocando 2 o 3 gotas al cultivo.

El resultado es positivo si en la colonia hay efervescencia. Ejemplos:

- Catalasa (+): *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas sp.*
- Catalasa (-): *Streptococcus spp.*

OBJETIVO

El objetivo de esta práctica es que aprendamos las técnicas básicas de tinción y así poder observar e identificar bacterias gram negativas y positivas. Así como también podremos aprender sobre su morfología.

MATERIALES Y METODOLOGÍA

MATERIALES

- Agua clorada
- Alcohol al 70%
- Agar
 - *Nutritivo
 - *Macconkey
 - *Salmanitol
- Mechero
- Asa microbiológica
- Porta-objetos
- Microscopio
- Aceite de inmersión
- Toallitas de papel (servilletas)
- Colonia de *E. coli*
- Colonia de *S. aureus*
- Cinta adhesiva
- Marcador
- Peróxido de hidrogeno
- Colorante básico Cristal Violeta.
- Lodo lugol
- Safranina
- Alcohol/Acetona



METODOLOGÍA

Se limpió y descontaminó el área de trabajo con agua clorada y alcohol al 70%.

Se deben limpiar los porta-objetos con alcohol y secar posteriormente. Después de haberlos limpiado no se deben tocar. Poner cinta adhesiva en la orilla del porta-objetos, en este poner el nombre de lo que se va a colocar en el porta (ejemplo *S. aureus*) se pone una gota de agua destilada en el porta-objetos.

Los procedimientos que continúan se deben realizar cercas del mechero.

Se toma un asa, la cual se debe esterilizar poniéndola al rojo vivo, luego se enfría en el agar (en algún espacio de la colonia seleccionada) y se toma una muestra la cual se debe esparcir en el porta-objetos con la gota de agua. Al terminar se debe pasar el porta-objetos por el fuego para que se fijen.

Los procedimientos que continúan se deben realizar cercas de una llave de agua abierta (el flujo de agua debe ser pequeño).

Se realizó la “Tinción de Gram” (fig.1):

- Colorante básico Cristal Violeta. Se deja actuar durante un minuto y se lava con agua.
- Liodo lugol. Se deja actuar un minuto y se lava con agua.
- Alcohol/Acetona. Se deja actuar treinta segundos y se lava con agua.
- Safranina. Se deja actuar un minuto y se lava con agua.

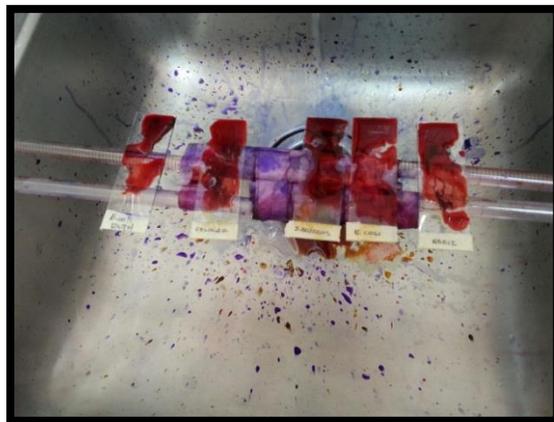


Fig. 1 En esta foto se muestra el momento donde se realiza la “Tinción de Gram”.

Se seco, y se llevaron a observar en un microscopio.

Se realizó la prueba “catalasa”, con cada muestra que se obtuvieron. Se puso en un porta-objetos dos gotas de agua oxigenada y en cada una se colocó una muestra diferente.

Se limpió y descontaminó el área de trabajo con agua clorada y alcohol al 70%.

RESULTADOS

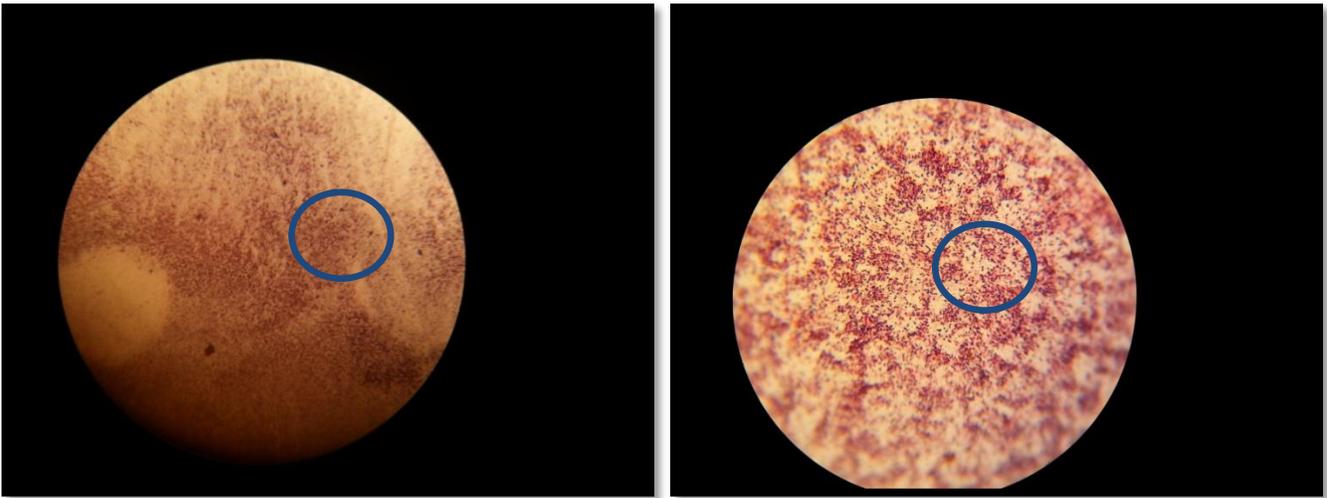
El resultado al llevar a cabo esta práctica fue el de poder observar al microscopio los diferentes microorganismos cultivados en la práctica anterior, estas bacterias fueron sometidas a la técnica de tinción de Gram para poder observarlas en el microscopio y así conocer la forma de cada bacilo o coco presentado en las muestras.

La imagen 2 nos muestra los porta-objetos ya con la tinción de Gram aplicada, listos para montarse en el microscopio y observarlos.



Fig. 2 Porta-objetos con las distintas bacterias cultivadas en la práctica anterior (E. coli, S. aureus, bacterias obtenidas de un celular y nariz), sometidas a tinción de Gram.

Al colocar las muestras en el microscopio, se observó a aumentos de 40 y 100X; en la figura 3a se aprecian las bacterias encontradas en el celular, solo se pueden ver puntos ya que la muestra fue observada a 40X y se aprecian de un color púrpura oscuro. En la figura 3b se obtuvieron imágenes más cercanas (aumento a 100X) y así se pudo apreciar la forma de las bacterias, que en este caso son en forma de bacilo (una forma alargada). En ambas imágenes se encierra a las bacterias en un círculo.

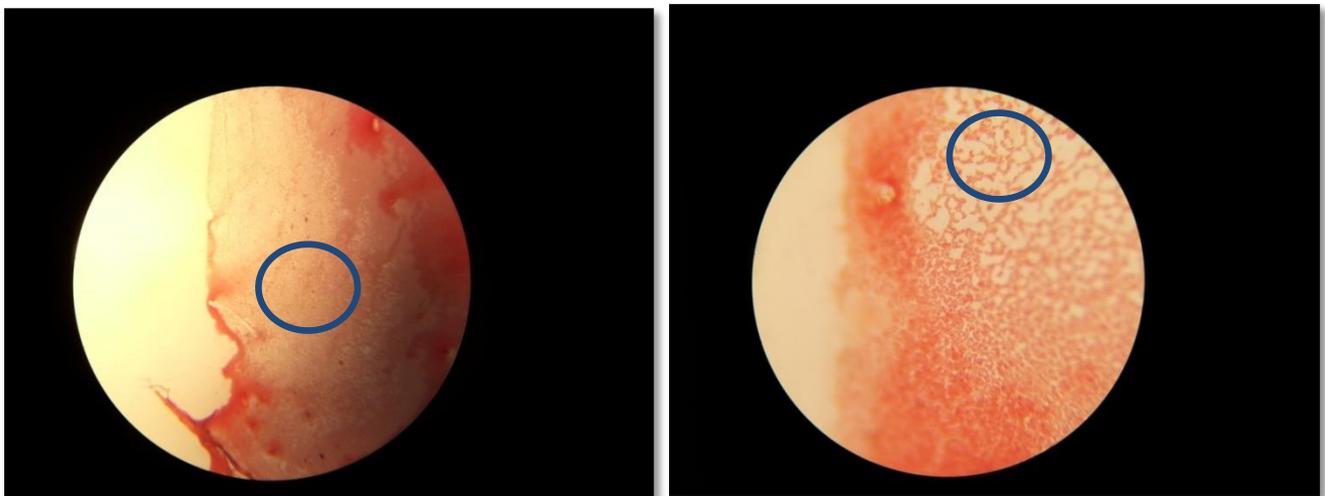


a)

b)

Fig.3a) Muestra (bacterias de celular) observada a 40X y 3b) observada a 100X.

La siguiente muestra observada fueron las bacterias obtenidas de la nariz, estas se observan con una forma de cocos (forma de esferas) con un color como naranja. Se aprecian mejor en la figura 4b, ya que en la figura 4a se observó al microscopio con un aumento de 40X. Se encierra en un círculo a las bacterias para apreciar mejor su forma.

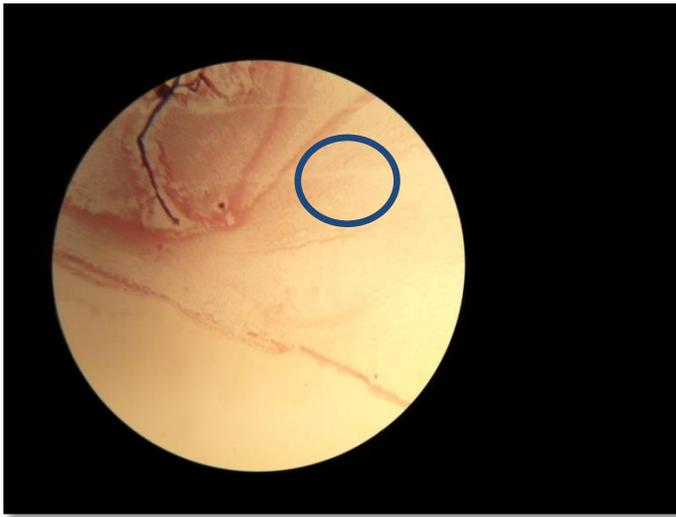


a)

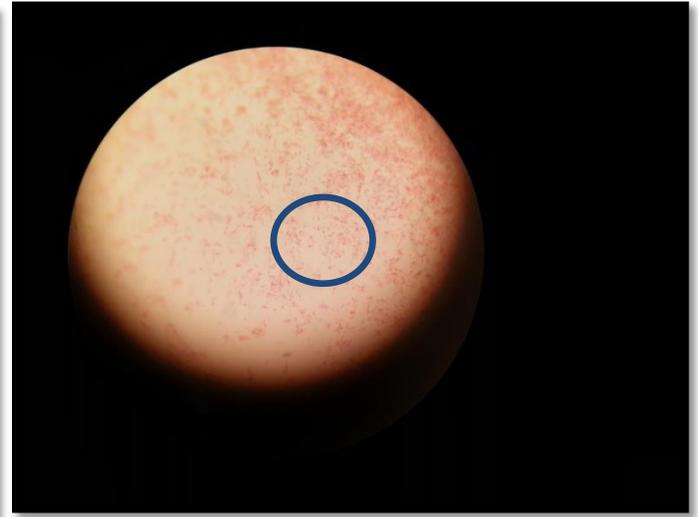
b)

Fig. 4a) Muestra (bacterias de la nariz) observada a 40X y 4b) muestra a 100X.

En la figura siguiente (fig. 5a y 5b) se observó a 40 y 100X en el microscopio la muestra obtenida de la bacteria *E. coli*. Se aprecian las bacterias con forma de bacilos, en un color naranja un poco oscuro y se señalan con un círculo a los microorganismos para su mejor apreciación.



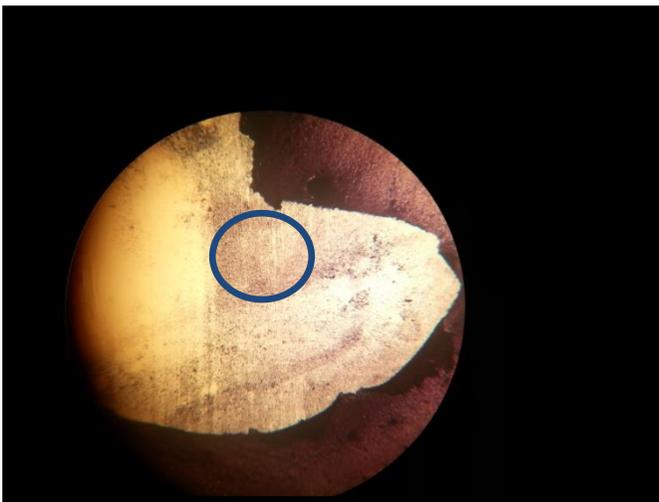
a)



b)

Fig. 5a) *E. coli* observada a 40X y 5b) *E. coli* con un aumento de 100X.

La *S. aureus* se observó a 40 y 100X en el microscopio, la muestra fue cultivada en la práctica anterior pero al observarla al microscopio nos dimos cuenta que no era la bacteria esperada ya que la forma de *S. aureus* debe de ser un coco, al verificar la muestra tomada resultó ser en forma de bacilo, al igual que la bacteria *E. coli*. En la figura 6a y 6b se observa la muestra, encerrando en un círculo a las bacterias. Estas bacterias si se observan, al tomar la fotografía, de un color morado gracias a la tinción de Gram.



a)



b)

Fig. 6a) Muestra observada a 40X y 6b) muestra observada a 100X.

Los resultados obtenidos nos sirvieron para apreciar bien las formas de cada bacteria cultivada anteriormente, como vimos en las imágenes anteriores.

También se obtuvo resultados en la prueba de catalasa, si era positiva significaba que contenía esta enzima y se generaba una reacción de burbujas (liberación de oxígeno). A continuación se muestra la imagen de las distintas bacterias sometidas a esta prueba.

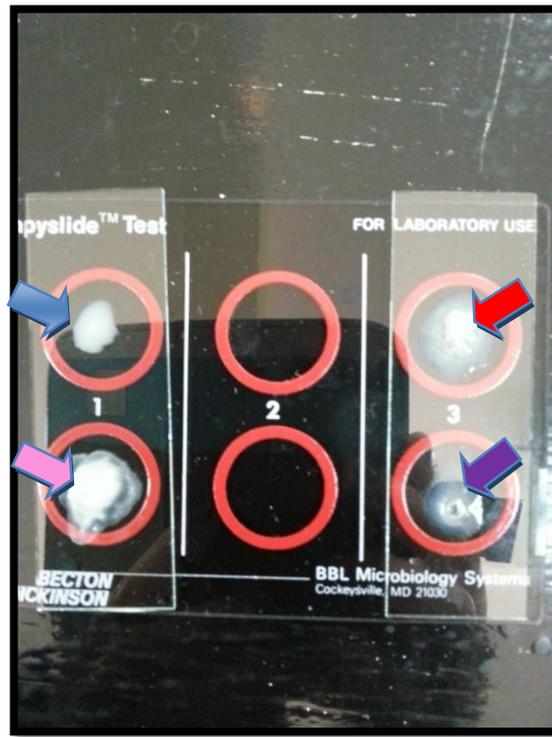


Fig. 7 Prueba de catalasa aplicada a E. coli, S. aureus, bacterias encontradas en el celular y en la nariz.

Los resultados fueron los siguientes:

1. Prueba negativa para catalasa en el celular (flecha azul).
2. Prueba positiva para catalasa en *E. coli* (flecha roja).
3. Prueba positiva para catalasa en *S. aureus* (flecha rosa).
4. Prueba positiva para catalasa en la nariz (flecha morada).

CONCLUSIÓN

La práctica cumplió con lo esperado, ya que las muestras se tiñeron correctamente y se pudo identificar el tipo de bacterias gram negativas (*E.coli*, nariz) y positivas (celular, *S. aureus*) de las que se trataban.

Gracias a la práctica ahora sabemos cómo es la estructura de las bacterias así como del tipo que es. Además de que fue una práctica muy entretenida y en la que aprendimos a teñir e identificar las bacterias gram positivo y negativo.

BIBLIOGRAFÍA

- TINCIÓN DE GRAM

Autor: Desconocido

Formato: Documento en Word

Fecha de acceso: 17/Mayo/2015

Link: <http://www.uv.es/~jjmateo/microb/Gram%28II%29.doc>

- TINCIÓN DE GRAN ¿PARA QUÉ SIRVE?

Autor: Desconocido

Formato: Página web

Fecha de acceso: 17/mayo/2015

Link: <http://www.ugr.es/~pomif/pom-bac/pb-iii/pb-iii-3-gram.htm>

- TINCIÓN DE GRAM (LÍQUIDOS CORPORALES ESTÉRILES URGENTES)

Autor: Desconocido

Formato: Página web

Fecha de acceso: 17/Mayo/2015

Link: <http://www.dep15.san.gva.es/laboratorio/Web/gram.htm>

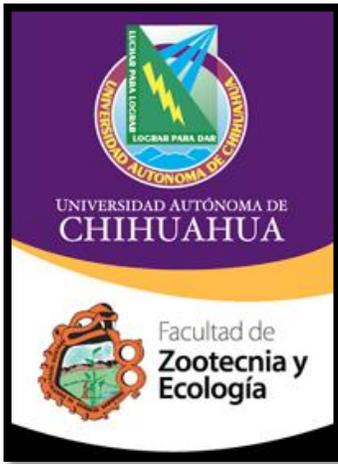
- ¿QUÉ TIPO DE INFORMACIÓN BRINDA LA TINCIÓN DE GRAM?

Autor: Desconocido

Formato: Artículo en blog científico

Fecha de acceso:

Link: http://www.ehowenespanol.com/tipos-informacion-brinda-tincion-gram-info_237895/



MICROBIOLOGÍA PECUARIA

PRÁCTICA 7

TINCIÓN DE HONGOS Y OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO.

PROFESOR

M. C. Ruth Lechuga Valles

INTEGRANTES

Stephanie Soraya González Vázquez 288035

Alexandrina Lizeth Payan Cervantes 288005

Katia Vanessa Palomo López 288018

Blanca Daí Saucedo Carbajal 288038

REALIZACIÓN DE LA PRÁCTICA: 2015-05-14

FECHA DE ENTREGA: 2015-05-21

RESUMEN

La práctica de laboratorio consistió en la tinción de bacterias y hongos para así poder observar lo que existe en nuestro alrededor.

Los hongos que se utilizaron para la práctica fueron extraídos de un agar con bacterias de *E. coli*. La preparación se elaboró por técnica de impronta la cual consiste en tomar una pequeña muestra de hongos con cinta adhesiva y colocarla en un portaobjetos el cual tenía posteriormente una gota de azul de algodón, después se le coloca otra gota de azul de algodón y el cubreobjetos.

Después se observó en el microscopio y se pudo apreciar pequeños circulitos (hongos).

Gracias a la práctica realizada aprendimos a preparar una nueva técnica la cual podremos utilizar y aplicarla para así conocer el tipo de bacteria que existe.

INTRODUCCIÓN

Las tinciones en microbiología son las primeras herramientas que se utilizan en el laboratorio para el diagnóstico de las enfermedades infecciosas. Hay una gran variedad de tinciones, que se han ido desarrollando para la detección de los diferentes agentes infecciosos. Los hongos por ejemplo son organismos heterótrofos, se alimentan de materia orgánica. Son eucariotas presentan un núcleo diferenciado con membrana bien organizada. Presentan una pared celular formada por polisacáridos, polipéptidos y quitina.

Los hongos presentan estas características:

- Son eucariotas.
- Normalmente son multinucleados.
- Se reproducen por medio de esporas.
- Son heterótrofos, sin clorofila y se alimentan por absorción.
- El talo también llamado soma o cuerpo vegetativo puede ser unicelular o típicamente filamentoso, recibe el nombre de micelio.

La tinción de Azul de algodón se emplea para observar hongos.

Es una tinción simple (un sólo colorante) y como tal está basada en la afinidad del colorante por componentes de las células, en este caso por las estructuras fúngicas.

El azul de algodón tiene tres características que lo hacen especial para observar dichas estructuras en los hongos del tipo moho obtenidos en los cultivos por aislamiento.

- El fenol destruye la flora acompañante (algunas veces en los cultivos, juntos a los hongos pueden crecer colonias de bacterias)
- El ácido láctico conserva las estructuras fúngicas al crear, por decirlo de algún modo, una película que las protege provocado por un cambio de gradiente osmótico entre el interior y el exterior de dicha estructura.
- El azul de algodón tiene la capacidad de adherirse a las hifas y conidios de los hongos microscópicos.

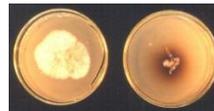
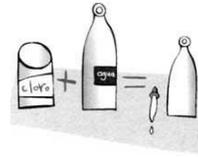
OBJETIVO

Aprender técnicas básicas de tinción de hongos con azul de algodón, observar su morfología.

MATERIALES Y METODOLOGÍA

MATERIALES

- Agua clorada
- Alcohol al 70%
- Porta-objetos
- Azul de algodón con lactotenol
- Mechero
- Cinta adhesiva transparente
- Aza microbiológica
- Aceite de inmersión
- Microscopio
- Guantes (desechables)
- Cubre bocas
- Pinzas quirúrgicas
- Cubre objetos
- Hongo



METODOLOGÍA

El método que se utilizó fue: Impronta

Se limpió y descontaminó el área de trabajo con agua clorada y alcohol al 70%.

Con guantes y cubre bocas; todos los procedimientos se deben realizar cerca del mechero.

Se debe tomar una muestra de un material con hongos. En nuestro caso se llevó pan integral, pero no se pudo proseguir con éste, dado que las migajas no nos dejaban obtener una buena muestra del hongo; así que se continuó con un hongo que creció en un agar. La toma de la muestra se debe hacer con el aza ya esterilizada (Fig. 1), poniéndola al rojo vivo, esperar un momento a que se enfríe y luego colocarle un pedazo de tape, y se procede a tomar la muestra colocándolo encima del hongo deseado.

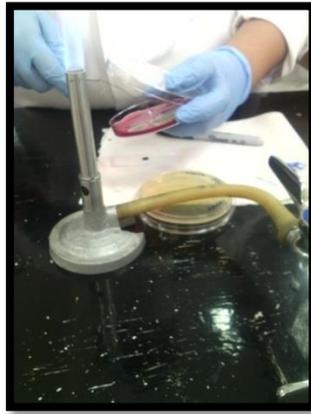


Fig. 1 En la imagen se observa cómo se tomó la muestra.

En un porta-objetos se debe poner una gota de Azul de algodón con lactotanol (Fig. 2), y poner la muestra ahí, después se debe poner otra gota de Azul de algodón con lactotanol y se coloca un cubre objetos.

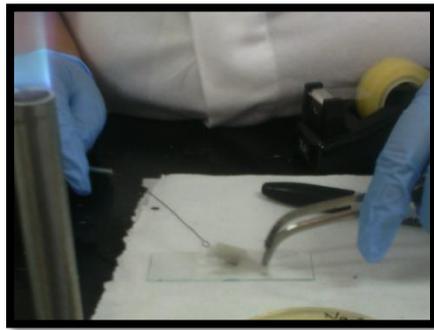


Fig. 2 En esta imagen se aprecia el momento donde se dejó la muestra en el porta-objetos.

Ya se puede mirar en el Microscopio, y para poder observarle a 100x se le coloca una gota de aceite de inmersión.

Se limpió y descontaminó el área de trabajo con agua clorada y alcohol al 70%.

RESULTADOS

El resultado de esta práctica fue el poder apreciar hongos encontrados en distintos alimentos (en este caso fue un hongo obtenido de un agar preparado con anterioridad) para conocer su morfología después de aplicar una técnica para poder observarlos a 10 y 100X en el microscopio.

La figura 3 nos muestra a los hongos observados con un aumento de 10X, se puede apreciar una forma circular en los hongos colocados en el porta-objetos, también se observan levaduras.

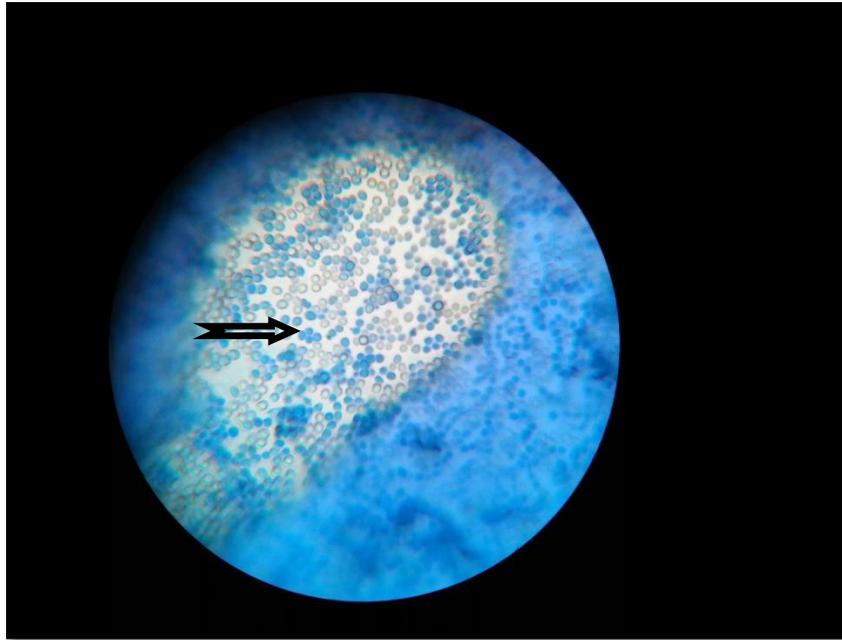


Fig. 3 Muestra observada a 10X en el microscopio (se señala con una flecha a los hongos).

En la figura 4 se observa mejor cada uno de los hongos encontrados en la muestra del agar, se aprecia mejor su forma circular y se ve más separado uno del otro, ya que se observa con un aumento de 100X, mostrada a continuación.

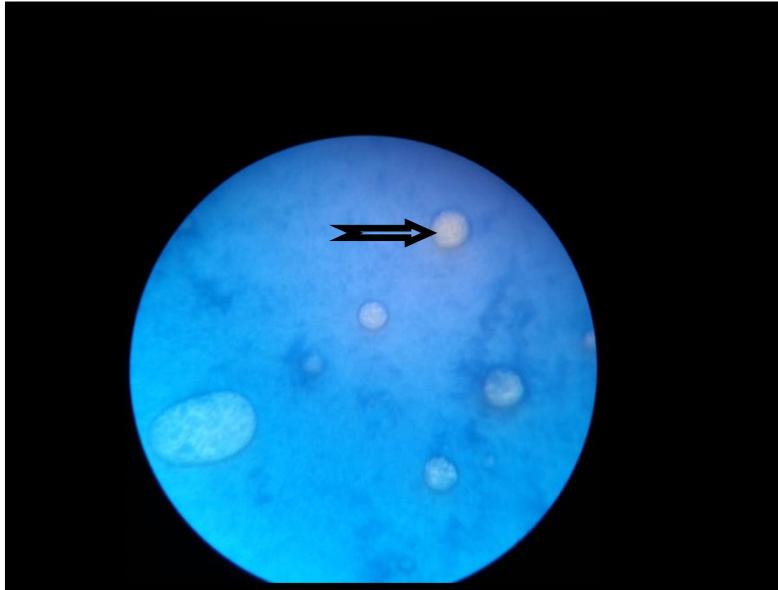


Fig. 4 Muestra de hongos observada a 100X, la flecha indica al hongo.

Los resultados obtenidos en esta práctica nos permitieron ver la morfología de los hongos encontrados en los alimentos y en un futuro poder conocer de qué clase de hongo se trata y de qué toxinas hay que prevenir de cada uno de ellos, ya que los hongos generan toxinas para poder sobrevivir a condiciones distintas a su crecimiento habitual.

CONCLUSIÓN

La práctica cumplió con el objetivo esperado ya que aprendimos a preparar una nueva técnica llamada impronta, la cual nos servirá para identificar bacterias y hongos. Al seguir los pasos indicados pudimos obtener un resultado bueno, ya que en el microscopio se observaron los hongos extraídos de la muestra.

Gracias a la práctica ahora sabemos otro método para extraer muestras de hongos. Además de que pudimos apreciar los hongos con más claridad en un microscopio.

BIBLIOGRAFÍA

- ¿QUÉ SON LOS HONGOS?

Autor: Desconocido

Formato: Artículo en página web

Fecha de acceso: 17/Mayo/2015

Link: <http://www.ual.es/GruposInv/myco-ual/intro.htm>

- TINCIÓN DE HONGOS

Autor: Desconocido

Formato: Presentación en página web

Fecha de acceso: 17/Mayo/2015

Link: <http://es.scribd.com/doc/29029546/tincion-de-hongos#scribd>

- AZUL DE METILENO

Autor: Desconocido

Formato: Página web

Fecha de acceso: 17/Mayo/2015

Link: http://docsetools.com/articulos-para-saber-mas/article_41069.html

- TINCIÓN DE AZUL DE METILENO

Autor: Desconocido

Formato: Presentación en slideshare

Fecha de acceso: 17/Mayo/2015

Link: <http://es.slideshare.net/laurensuri/tincin-azul-d-metileno>