
LA BIOLOGÍA COMO CIENCIA EXPERIMENTAL

CONTENIDOS

Conceptos

- El método científico.
 - Componentes inductivo y deductivo del método científico.
 - Trayectoria de la experimentación en la historia de la Biología.
 - Algunos experimentos históricos clave en el desarrollo de la Biología.
 - Stephen Hales: la nutrición de las plantas.
 - Louis Pasteur: no existe la generación espontánea.
 - Johann Mendel: la herencia de los caracteres.
 - Charles Darwin: la evolución por selección natural.
 - Frederick Griffith: el principio transformante.
-

Biología : Ciencia que estudia los seres vivos

La mayor parte de los conocimientos que poseemos no son científicos. Sabemos cosas pero no sus porqués

Información a través de los sentidos, *experiencia personal*

Información transmitida por la comunidad, *experiencia colectiva*

CONOCIMIENTO ORDINARIO

CONOCIMIENTO CIENTÍFICO

El conocimiento científico

- ❖ abarca a los fenómenos y sus causas
- ❖ necesita de una experimentación y un razonamiento muy rigurosos
- ❖ Utiliza :
 - procedimientos inductivos (de lo particular a lo general: de la observación a la hipótesis)
 - procedimientos deductivos (de lo general a lo particular: a partir de una hipótesis predecir un hecho)

Pasos del método científico:

1. Observación repetida de un fenómeno
2. Recopilación de información sobre el mismo
3. Formulación de una hipótesis que pudiera explicar el fenómeno
4. Predicción de un hecho que se produciría si la hipótesis es correcta
5. Diseño experimental para comprobar si la hipótesis es correcta
6. Obtención e interpretación de resultados
7. Conclusiones sobre la validez de la hipótesis

En la Edad Media todo se explica a través de concepciones religiosas.

En el renacimiento el racionalismo científico se desembaraza del componente religioso

La aparición de nuevas tecnologías permiten un progreso en el conocimiento científico

Algunos experimentos históricos clave en el desarrollo de la Biología.

Stephen Hales: la nutrición de las plantas.

Louis Pasteur: no existe la generación espontánea.

Johann Mendel: la herencia de los caracteres.

Charles Darwin: la evolución por selección natural.

Frederick Griffith: el principio transformante.

METODOS DE ESTUDIO DE LA CÉLULA

Poder de resolución: Capacidad para visualizar, como independientes, dos puntos muy próximos

El ojo humano tiene un poder de resolución de $0,23 \text{ mm} = 230 \mu\text{m}$

MICROSCOPIA

Microscopio Óptico:

Poder de resolución máximo de $0.2 \mu\text{m}$. Aumenta 1000 veces el poder de resolución del ojo humano

Se compone de un sistema de lentes convexas: **Lente Ocular y Lente Objetivo**

Se pueden añadir otras **lentes intermedias** o utilizar **lentes de inmersión** que necesitan estar sumergidas en aceite

El poder de resolución depende del:

- tamaño y calidad de las lentes
- Longitud de onda de la luz que incide
- Índice de refracción del medio (entre el objetivo y la preparación: Aire o aceite)

TIPOS DE MICROSCOPIOS OPTICOS

1. Microscopio de campo claro (compuesto). Es el más común. Para aumentar el contraste se suelen teñir las preparaciones
 2. Microscopios de contraste de fases. Se basa en los distintos índices de refracción de los componentes celulares. Imágenes más nítidas de las estructuras internas. Se usa para células vivas
 3. Microscopio de campo oscuro. La luz se dirige desde el condensador a la muestra mediante un ángulo oblicuo, solo la luz refractada por la muestra alcanza el objetivo y esta aparece iluminada sobre un campo oscuro
 4. Microscopio de interferencia de Nomarsky. Consta de un prisma que polariza la luz. Proporciona imágenes casi tridimensionales. Se usa para células vivas
 5. Microscopios de fluorescencia. Normalmente las muestras tienen que ser tratadas con colorantes fluorescentes que se fijan en las zonas objeto de estudio y de difícil observación como el citoesqueleto
 6. Microscopio de fluorescencia confocal. Mediante un sistema de barrido con rayos láser proporciona imágenes tridimensionales de la célula
-

MICROSCOPIO ELECTRÓNICO

Su límite de resolución alcanza 0,2 nm. Aumenta 2 000 000 veces el poder de resolución del ojo humano

Utiliza

- un haz de electrones en un sistema de vacío. Los electrones son emitidos por un cátodo de tungsteno al calentarse eléctricamente.
- A medida que se desplazan hacia el ánodo, los electrones se van acelerando
- Lentes electromagnéticas que condensan los electrones sobre la muestra

TIPOS DE M/E

1. Microscopio electrónico de transmisión (TEM). Las muestras se montan sobre rejillas de cobre que permiten el paso de los electrones. El contraste se consigue mediante metales pesados que absorben los electrones
2. Microscopio electrónico de Barrido (SEM). Las muestras se cubren de una fina capa de metales pesados. Los electrones no atraviesan la preparación sino que se reflejan ofreciendo una imagen tridimensional.

Aunque las aplicaciones más comunes de la microscopía revelan mucha información, una cuestión crítica acerca de estos resultados es saber cuánto tienen de real las imágenes de muestras biológicas que han sido fijadas, teñidas, deshidratadas antes de ser examinadas. Por eso el objetivo de las técnicas es intentar la mínima alteración de las muestras

TECNICAS

TINCION: Se utiliza para aumentar el contraste. Los colorantes básicos tiñen los componentes ácidos y los los colorantes acidos tiñen los componentes básicos. Por ejemplo los acidos nucleicos se tiñen con colorantes básicos como la hematoxilina; y el citoplasma de naturaleza básica se tiñe con colorantes acidos como la eosina.

Tambien hay tecnicas de tinción específicas de los distintos componentes quimicos: el sudan para las grasas , el lugol para el almidon...

Tambien tecnicas de inmunofluorescencia indirecta al utilizar colorantes fluorescentes como el naranja de acridina que tiñe a los acidos nucleicos

CRIOFRACTURA: Se utiliza en microscopía electrónica, consiste en la congelacion de la muestra y posteriormente se fractura con una cuchilla por las zonas que ofrecen menos resistencia. Se sombrea con un metal y se cubre con carbono para obtener una réplica que es la que se observa, ya que la muestra original se elimina por disolución

FRACCIONAMIENTO CELULAR

Consiste en la rotura controlada de tejidos y células para separar los orgánulos o componentes intracelulares

1. Se homogeneiza el tejido(plasmolisis, aplastado, batido, ultrasonidos) para romper las células
2. Se procede a una ultracentrifugación diferencial. Son centrifugaciones sucesivas de los sobrenadantes a distintas velocidades y distintos tiempos. Las particulas de la muestra van sedimentando según su densidad

TECNICAS DE CULTIVO

Células o fragmentos de tejido se colocan en una placa de cultivo con un medio nutritivo

La mayoría de los cultivos celulares solo pueden ser utilizados durante un tiempo porque las células degeneran despues de varias divisiones. Sin embargo en algunos casos se producen celulas que se multiplican indefinidamente y con rapidez (celulas cancerosas) obteniendose lineas celulares muy importantes para estudios. Linea celular HELA)

DIFRACCION DE RAYOS X

Es una tecnica de microscopia electrónica que se utiliza para estudiar en detalle la estructura molecular de los componentes celulares. Mediante un haz de rayos X se puede determinar la posición de los atomos de una molécula en estado cristalino

AUTORRADIOGRAFÍA

Se suministran a las células isótopos radiactivos que solo se incorporan a determinadas moléculas. Como estos isótopos son inestables emiten radiaciones ionizantes que se pueden registrar mediante contadores Geiger o mediante impresiones en una emulsion fotográfica. De esta manera es posible seguir el recorrido de los radioisótopos por los tejidos. Una de la primeras aplicaciones de esta tecnica sirvio para estudiar la fijación del CO₂ por parte de los organismos fotosintéticos

METODOS DE ESTUDIO DE LA CÉLULA

Poder de resolucion:

Capacidad para visualizar, como independientes, dos puntos muy proximos
El ojo humano tiene un poder de resolucion de $0,23 \text{ mm} = 230 \mu\text{m}$

MICROSCOPIA

MICROSCOPIO OPTICO: UTILIZA LUZ

Poder de resolución maximo de $0.2 \mu\text{m}$.

Aumenta 1000 veces el poder de resolucion del ojo humano

COMPONENTES:

- ☞ Fuente de **LUZ**
- ☞ sistema de lentes convexas: Lente **OCULAR** y Lente **OBJETIVO**
- ☞ Se pueden añadir otras lentes intermedias, lentes de inmersión
- ☞ **Platina**
- ☞ Tornillos de aproximación **MACROMÉTRICO Y MICROMÉTRICO**

El poder de resolucion depende del:

- tamaño y calidad de las lentes
 - Longitud de onda de la luz que incide
 - Índice de refracción del medio(entre el objetivo y la preparación: Aire o aceite)
-

TIPOS DE MICROSCOPIOS OPTICOS

1. **Microscopio de campo claro** (compuesto). Es el mas comun. Para aumentar el contraste se suelen teñir las preparaciones
 2. **Microscopios de contraste de fases** Se basa en los distintos indices de refraccion de los componentes celulares. Imágenes mas nitidas de las estructuras internas. Se usa para celulas vivas
 3. **Microscopio de campo oscuro**. La luz se dirige desde el condensador a la muestra mediante un angulo oblicuo, solo la luz refractada por la muestra alcanza el objetivo y esta aparece iluminada sobre un campo oscuro
 4. **Microscopio de interferencia de Nomarsky**. Consta de un prisma que polariza la luz. *Proporciona imágenes casi tridimensionales*. Se usa para celulas vivas
 5. **Microscopios de fluorescencia**. Normalmente las muestras tienen que ser tratadas con colorantes fluorescentes que se fijan en las zonas objeto de estudio y de difícil observacion como el citoesqueleto
 6. **Microscopio de fluorescencia confocal**. Mediante un sistema de barrido con rayos laser *proporciona imágenes tridimensionales de la célula*
-

MICROSCOPIO ELECTRÓNICO

Su limite de resolucion alcanza 0,2 nm. Aumenta 2 000 000 veces el poder de resolucion del ojo humano

Utiliza

- un haz de electrones en un sistema de vacio. Los electrones son emitidos por un catodo de tungsteno al calentarse electricamente.
- A medida que se desplazan hacia el anodo, los electrones se van acelerando
- Lentes electromagnéticas que condensan los electrones sobre la muestra

TIPOS DE M/E

1. **Microscopio electrónico de transmision (TEM)**. Las muestras se montan sobre rejillas de cobre que permiten el paso de los electrones. El contraste se consigue mediante metales pesado que absorben los electrones
2. **Microscopio electrónico de Barrido (SEM)**. Las muestras se cubre de una fina capa de metales pesados. Los electrones no atraviesan la preparacion sino que se reflejan ofreciendo una imagen tridimensional.

¿cuánto tienen de real las imágenes de muestras biológicas que han sido fijadas, teñidas, deshidratadas antes de ser examinadas?

TECNICAS

TINCION:

Se utiliza para aumentar el contraste.

Los colorantes básicos tiñen los componentes ácidos y los los colorantes ácidos tiñen los componentes básicos.

Tinción específica: el sudan para las grasas , el lugol para el almidon...

Técnicas de inmunofluorescencia utiliza colorantes fluorescentes

CRIOFRACTURA:

Se utiliza en microscopía electrónica

Congelacion de la muestra y posteriormente se fractura con una cuchilla por las zonas que ofrecen menos resistencia. Se sombrea con un metal y se cubre con carbono para obtener una réplica que es la que se observa, ya que la muestra original se elimina por disolución

FRACCIONAMIENTO CELULAR

Consiste en la rotura controlada de tejidos y células para separar los orgánulos o componentes intracelulares

Se homogeneiza el tejido(plasmolisis, aplastado, batido, ultrasonidos) para romper las células

Se procede a una ultracentrifugación diferencial. Son centrifugaciones sucesivas de los sobrenadantes a distintas velocidades y distintos tiempos.

Las partículas de la muestra van sedimentando según su densidad

TECNICAS DE CULTIVO

Células o fragmentos de tejido se colocan en una placa de cultivo con un medio nutritivo . Linea celular HELA

DIFRACCION DE RAYOS X

Es una tecnica de microscopia electrónica que se utiliza para estudiar en detalle la estructura molecular de los componentes celulares. Mediante un haz de rayos X se puede determinar la posición de los atomos de una molécula en estado cristalino

AUTORRADIOGRAFÍA

Se suministran a las células isótopos radiactivos que solo se incorporan a determinadas moléculas.

De esta manera es posible seguir el recorrido de los radioisótopos por los tejidos.

Estudio de la fijación del CO₂ en organismos fotosintéticos
