

## DEMOLAB

### Biologia. D'on treu l'energia el musclo?

#### Competències específiques

3. Dissenyar, planejar i desenvolupar projectes de recerca seguint els passos de les metodologies científiques, tenint en compte els recursos disponibles de manera realista i cercant vies de col·laboració, per indagar en aspectes relacionats amb les ciències biològiques, geològiques i mediambientals.

Aquesta competència específica es connecta amb els següents descriptors: CCL5, STEM1, STEM2, STEM3, CD1, CD2, CPSAA3.2, CE3.

#### Pràctica 1. Dissecció d'un musclo (*Mytilus edulis*)

El musclo (*Mytilus edulis*) és mol·lusc marí que fa uns 8 cm de llargada. Té 2 conquilles que són negres per fora i blavoses per dins; les pot obrir i tancar i no les canvia mai. A l'interior hi ha la part tova de l'animal. S'alimenten de plancton, que capturen per filtració. La fecundació és externa. La femella pon entre 5 i 12 milions d'ous a l'aigua que l'envolta. Al cap d'1-2 setmanes neixen les larves que naden lliurement durant uns 20 dies fins que es fixen a les roques i comencen a fabricar les conquilles.

Viu en colònies enganxat a les roques gràcies a unes fibres dures anomenades bissus. Només viu en zones batudes per les onades o amb marea, de poca profunditat. Generalment està fixat a les roques, però pot deixar-se anar i recórrer petites distàncies. L'espècie pròpia del Mediterrani és el musclo de roca (*Mytilus galloprovincialis*), més petit i més ample.

#### Material i Mostra

- 2 Musclos
- Tisores
- Pinces
- Espàtula

- Paper de filtre
- Placa de Petri

## Procediment

### A. Anatomia Externa

- Observau la part anterior, la posterior, la dorsal i la ventral.
- Observau la closca: la seva forma, les línies concèntriques que presenta i que indiquen les etapes de creixement d'aquest bivalve. De vegades pot estar coberta per restes dels tubs d'alguns cucs o altres organismes marins. Destacar també la xarnera o zona de contacte entre les dues valves.
- Observau els filaments que surten per la part ventral, i que els permeten adherir-se fermament al substrat.

### B. Anatomia Interna

2

1. Introduïu un dels musclos en una olla amb aigua calenta (aproximadament a uns 60-70°C) durant uns 3-5 minuts (fins que s'obrin les valves).
2. Obriu el musclo amb un ganivet (bisturí o espátula) introduint-lo suaument darrere dels filaments i desplaçant-lo per la part del darrere fins que us trobeu amb un obstacle (aquest obstacle serà el múscul abductor, que manté les dues valves unides).
3. Seccionau amb unes tisotres els músculs abductors.
4. Dipositau el musclo sobre la planxa de dissecció i observau el mantell, els músculs adductors i l'hepatopàncrees de color verdós:
  - el múscul abductor anterior i el posterior.
  - el mantell (de color ataronjat), que és l'encarregat de formar la closca i que recobreix tot l'animal.
5. Estendre la vorera del mantell i localitzar la boca, els palps labials, les brànquies, el peu, la glàndula del bissus (que segrega els filaments mitjançant els quals es

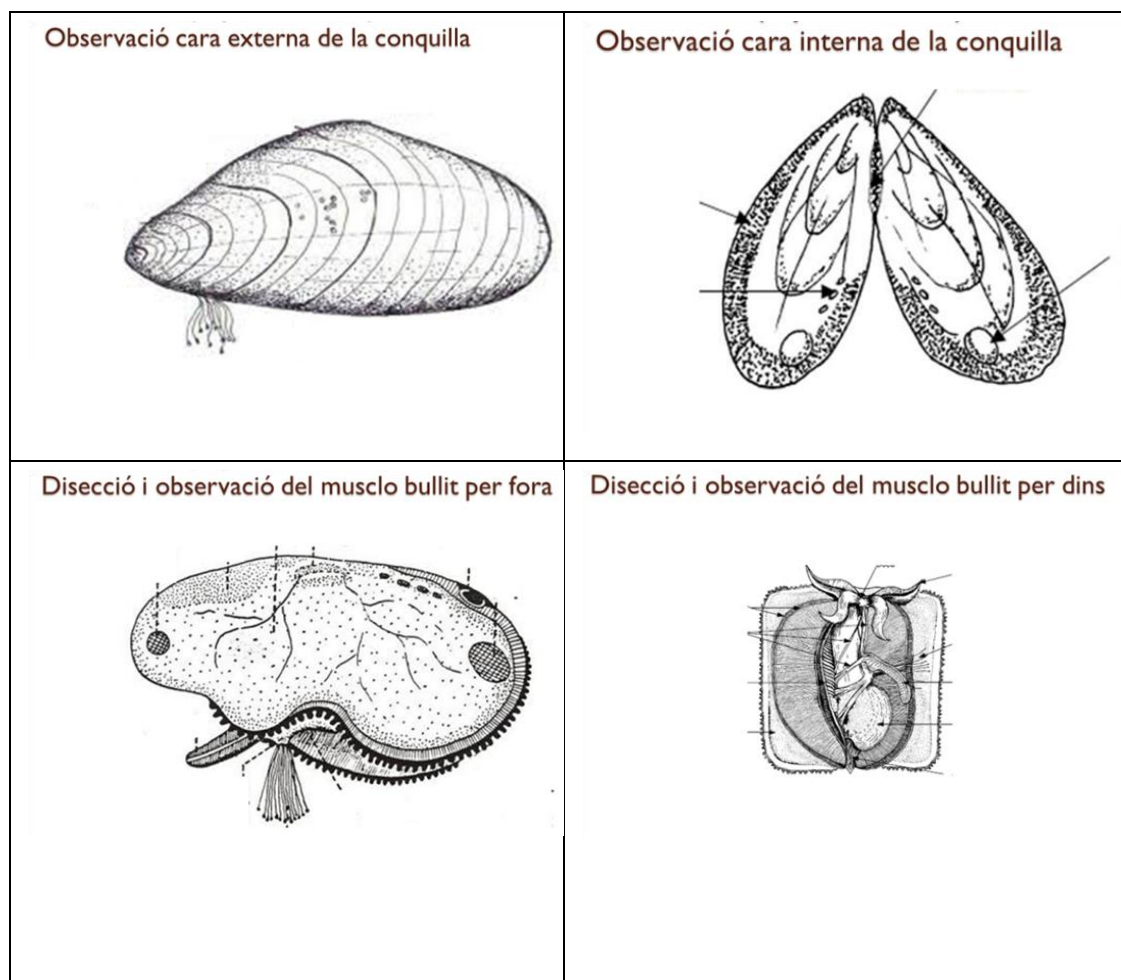
pot adherir als objectes) i el gep de polixinel·la (que conté els òrgans reproductors):

- les brànquies, molt fines, a ambdós costats.
- el peu, una estructura fosca situada en el centre del músclo. Si encara és viu, podeu intentar veure com es contrau en tocar-lo amb algun objecte punxant. El músclo l'usa per desplaçar-se i enterrar-se en el substrat, per exemple. Uns músculs abductors acompanyen aquest peu muscular.
- la boca, en la part anterior, és un petit orifici que continua en un finíssim esòfag. Està envoltada de quatre palps.
- el sac digestiu, que es situa rere el peu muscular. Si poseu una agulla en la boca i seguieu per l'esòfag, arribareu a aquest sac digestiu.
- la glàndula bissus, que produeix els filaments, molt a prop del peu muscular.
- les gònades, que solen ser groguenques en les femelles i ataronjades en els mascles, i estan enganxades als músculs abductors posteriors del peu muscular.

6. Obriu i observeu el músclo viu, en fred. Ràpidament, extreu una mostra del mantell per a l'extracció del glucogen (Pràctica 2).

## Activitats

1. Assenyalau als dibuixos següent, les parts més importants observades durant la dissecció (també podeu fer fotografies):



2. Respon al següent qüestionari:

- Què significa bivalve?
- Com s'anomenen també els mol·luscs que tenen dues valves?
- Com es poden moure? Per què poden formar colònies fàcilment?
- Has distingit si eren mascles o femelles?

**Pràctica 2. Extracció i purificació del glucogen de músculo (*Mytilus edulis*)**

El glucogen és un polisacàrid format per glucoses i presenta una funció de reserva energètica. Després de les menjades, quan hi ha un excés de glúcids, aquests s'emmagatzemen en forma de glucogen als músculs i al fetge. El glucogen es mobilitza per mantenir la glucèmia o nivell de glucosa en sang.

Per purificar el glucogen de la resta dels components cel·lulars, s'aprofiten les propietats característiques de la seva solubilitat en medi àcid i la seva insolubilitat en medi etanòlic.

La major part de les macromolècules naturals dels teixits animals precipiten quan les privam de la capa d'hidratació que les manté en dissolució. Així, en medi etanòlic precipiten la major part de les proteïnes i també el glucogen, la qual cosa ens permet eliminar els lípids, els monosacàrids i els aminoàcids lliures. Per separar el glucogen de les proteïnes aprofitarem la diferent solubilitat que presenten aquests dos compostos en medi àcid: les proteïnes són insolubles, mentre que el glucogen és soluble.

### Procediment

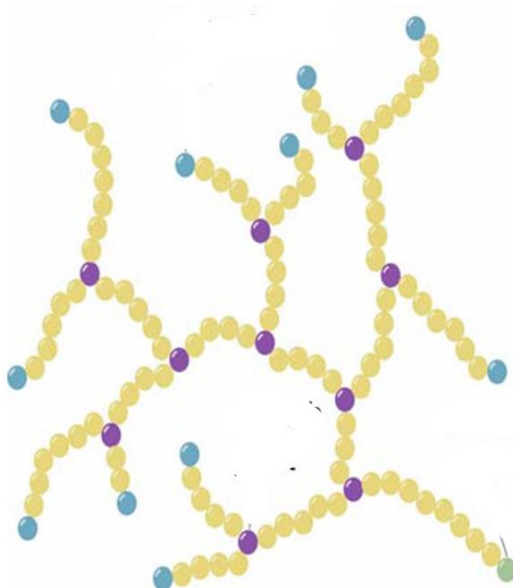
1. Manteniu un tub d'assaig amb 1 mL de KOH al 30% en un bany d'aigua a 100°C.
2. Agafau una mostra de mantell de musclo (evitant agafar les brànquies) d'aproximadament 0,5 cm x 0,5 cm, i introduir-la completament dins un dels tubs d'assaig amb KOH. Els tubs s'han de mantenir dins el bany Maria fins que els teixits es digereixin completament.
3. Una vegada digerit, refredau el tub en un bany d'aigua-gel. A partir d'aquest moment, s'ha de treballar sempre en fred.
4. A continuació, afegir al tub 2 mL d'etanol 96°. Agitau el tub amb ajuda del vòrtex i d'una vareta de vidre, si escau. En aquestes condicions el glucogen precipita, però també ho fan les proteïnes que arrossegueu les sals minerals i altres molècules de baix pes molecular.
5. Seguidament, centrifugau la mostra a 3.000 rpm, a 4°C, durant 10 minuts. El sobrenedant resultant es descarta.
6. Resuspendre el precipitat en 1 mL d'àcid tricloracètic, amb la finalitat de separar el glucogen de les proteïnes. El glucogen és soluble en medi àcid, mentre que les proteïnes no ho són. Agitar el tub amb ajuda del vòrtex i d'una vareta de vidre, si escau.

7. Tornau a centrifugar el tub a 3.000 rpm, a 4°C, durant 10 minuts. Ara, recolliu el sobrenedant amb el glucogen amb ajuda d'una pipeta Pasteur i passau-lo a un nou tub d'assaig. El precipitat amb les proteïnes es descarta.
8. Afegiu al sobrenedant recollit 4 mL d'etanol en fred, per a la precipitació selectiva del glucogen.
9. Tornau a centrifugar, a 3.000 rpm, a 4°C durant 10 minuts. Aleshores rebutjau el sobrenedant i queda el precipitat de glucogen.
10. Afegiu 2 mL d'èter etílic (a la campana de gasos per evitar la inhalació) i agiteu amb l'ajuda del vòrtex.
11. Centrifugau novament, a 3.000 rpm, a 4°C durant 10 minuts. Rebutjau amb molta cura el sobrenedant amb ajuda d'una pipeta Pasteur.
12. Eixugau el precipitat amb un corrent d'aire fred. De manera que obtindrem una pols fina i seca de glucogen.

### Activitats

6

1. Identificau a quina molècula correspon la següent estructura. Raonau la resposta. Marcau els punts de ramificació i el tipus d'enllaç.



2. Investigau el metabolisme del glucogen i feu un esquema.



3. Respon al següent qüestionari

- Què és el glucogen? Quina és la seva funció?
- Per què s'usen musclos vius? Per què es mantenen en fred?
- Quin efecte fan el KOH i el bany d'aigua a 100°C sobre les mostres de teixit?
- Com s'explica que l'etanol 96° faci precipitar el glucogen i les proteïnes?
- Quina finalitat té la utilització de l'àcid tricloracètic?