

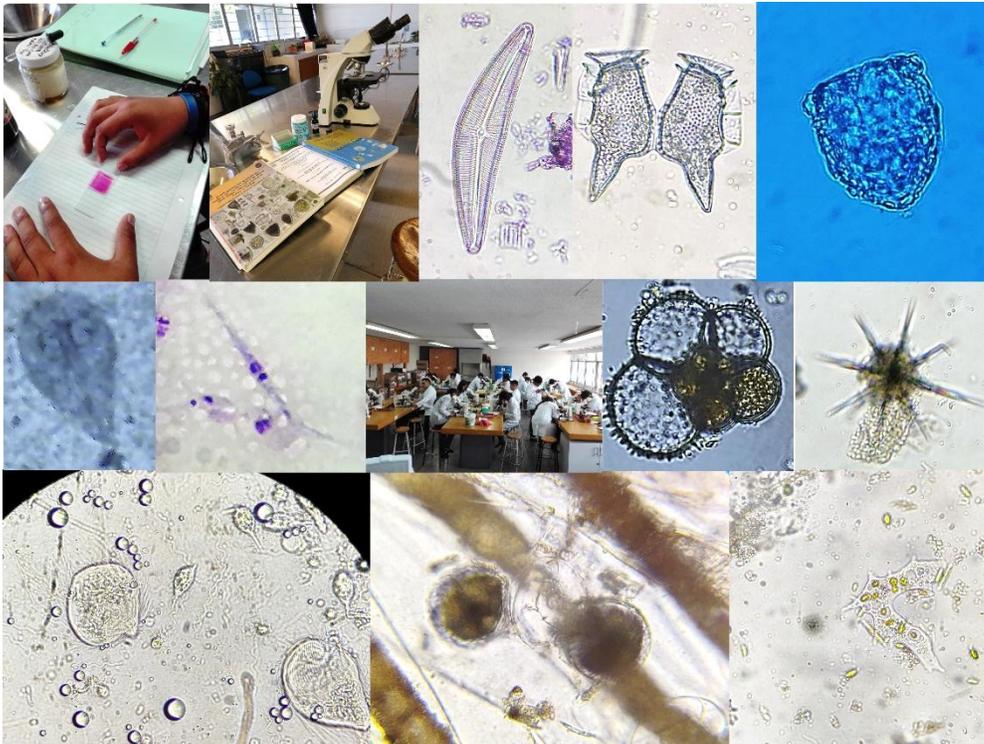


**UNIVERSIDAD MICHOACANA
DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**



FACULTAD DE BIOLOGÍA

**MANUAL DE PRÁCTICAS DE LABORATORIO
BIOLOGÍA DE PROTISTAS**



José Gerardo Alejandro Ceballos-Corona
Sandy Fabiola Andrade-Hernández
Reyna Alvarado-Villanueva
Rubén Hernández-Morales
María de los Ángeles Beltrán-Nambo
Alba María Ortega Gómez
Violeta Rangel Osornio

Morelia, Michoacán, enero 2026

©2026

Se prohíbe la publicación de este manual fuera de la página oficial de la Facultad de Biología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (<http://bios.biologia.umich.mx/>).

CUADRO DE SELLOS Y FIRMAS

| NOMBRE DE PRÁCTICAS | SELLOS Y FIRMAS |
|---------------------|-----------------|
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |

| NOMBRE DE PRÁCTICAS | SELLOS Y FIRMAS |
|---------------------|-----------------|
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |

CONTENIDO

| | |
|--|-------------|
| INTRODUCCIÓN | página 1 |
| PRÁCTICA No 1. CONOCIMIENTOS BÁSICOS DE MICROSCOPIA Y MORFOLOGÍA GENERAL | 3 |
| PRÁCTICA No 2. EL PROCESO DE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA | 48 |
| PRÁCTICA No 3. PROTOZOOS METAMÓNIDOS ASOCIADOS | 72 |
| PRÁCTICA N° 4. EUGLÉNIDOS | 79 |
| PRÁCTICA No 5. SARCOMASTIGÓFOROS (de vida libre dulceacuícolas y marinos y asociados) | 85 |
| PRÁCTICA No 6. CRIPTOMÓNIDOS | 91 |
| PRÁCTICA No 7. COCOLITOFÓRIDOS | 96 |
| PRÁCTICA No 8. RIZARIOS (foraminíferos y radiolarios) | 100 |
| PRÁCTICA No 9. ALVEOLADOS (dinoflagelados, apicomplejos y ciliados) | 106 |
| PRÁCTICA No 10 HETEROCONTOS (opalínidos, crisofíceas, silicoflagelados, rafidofíceas, tribofíceas y diatomeas) | 127 |
| BIBLIOGRAFÍA GENERAL | 155 |

INTRODUCCIÓN

La observación de los microorganismos inicia con la construcción del primer microscopio por Antony van Leeuwenhoek, a quien también se le considera como el padre de la Protozoología que junto con De Jussieu (padre de la ficología), abrieron un campo no imaginado por los científicos de su época.

La controversia de considerar a los microorganismos unicelulares eucarióticos como vegetales o animales duró mucho tiempo. Ya desde el siglo antepasado se consideraron más de cinco reinos para tratar de explicar y sistematizar la enorme biodiversidad del planeta, sin embargo, en la década de los 70 del siglo pasado, Wittaker y Margulis son quienes le dan mayor fuerza a esta propuesta; ubicando en particular a los unicelulares eucarióticos en el Reino Protista, aun cuando este fue concebido por Heckel a finales del siglo XIX.

Actualmente los protistas representan linajes que no están relacionados entre sí, ni con aquellos que originaron a los miembros de los tres reinos pluricelulares. Así, los términos "algas" y "protozoos" han entrado en desuso como grupos naturales en la clasificación moderna; sin embargo, subsisten como grupos artificiales.

En el transcurso del conocimiento biológico las características morfológicas, es decir, la forma y la estructura de las diferentes partes de un organismo, fueron de gran ayuda para organizar el árbol de la vida. Con el paso del tiempo se pudo detectar que estas características eran insuficientes para entender cómo se encuentra organizada la biodiversidad. Las nuevas teorías, como la endosimbiótica seriada y el empleo de nuevas técnicas de biología molecular, han permitido analizar miles de caracteres a través de las secuencias de aminoácidos y nucleótidos de los genomas de organismos tan diversos, lo que ha dado lugar al establecimiento de nuevas ramas a los árboles ahora llamados filogenéticos.

En este sentido el Reino Protista dejó de existir, ya que los diferentes grupos que lo componían tuvieron orígenes diferentes y no compartían un ancestro común. Una de las bases que se consideraron para reconocer como grupo polifilético a los protistas la proporcionó Lynn Margulis, ahora sabemos que existen protistas que adquirieron sus plastos y mitocondrias a partir de diferentes endosimbiosis de tipo seriado.

Woese y Fox en 1977, muestran que el análisis comparativo de secuencias moleculares se ha convertido en un enfoque poderoso para determinar las relaciones evolutivas y es a partir del análisis del ARNr y ARNt de organismos procariontes que proponen los dominios de la vida, Bacteria, Achaea y Eukarya, tiempo después Cavalier-Smith (1998, 2004) reorganiza los grupos protistas a partir de los análisis moleculares, clasificación que ha ido mejorando.

El avance en los inventos y mejoramiento de la microscopía, ha permitido tener una visión más amplia del mundo microscópico, es emocionante colocar una gota de agua de cualquier charco bajo el microscopio y darnos cuenta de la gran cantidad de organismos que conviven en ella.

El presente manual tiene una doble finalidad, primero es una guía para el trabajo de laboratorio con la perspectiva de apoyar el proyecto de investigación que los alumnos se propongan, y en segundo lugar que el alumno cuente con una orientación en forma de notas para estudiar.

PRÁCTICA No. 1. CONOCIMIENTOS BÁSICOS DE MICROSCOPIA Y MORFOLOGÍA GENERAL

1. Introducción a la Microscopía

El microscopio, es una herramienta que permite observar objetos que son demasiado pequeños para ser vistos a simple vista. El tipo más común de microscopio y el primero que se inventó es el microscopio óptico. Se trata de un instrumento que contiene una o varias lentes que permiten obtener una imagen aumentada del objeto y que funciona por refracción.

El invento del microscopio de doble lente o compuesto se atribuye a los holandeses Zacarías y Han Jensen hacia el año de 1608, basándose en el modelo de telescopio inventado por Hans Lippershey en el mismo año. Anton van Leeuwenhoek en 1674 fue el primero en hacer públicas sus observaciones de microorganismos de una gota de agua de la superficie de un lago, posteriormente Robert Hook observó en 1663 las células vivas, a partir de aquí las observaciones al microscopio se volvieron más rutinarias entre los naturalistas, aún y cuando sus aparatos eran demasiado rústicos, estas primeras observaciones permitieron establecer una nueva rama de la óptica, la microscopía.

Durante muchos años los microscopios no tuvieron cambios importantes, fue hasta el siglo XVIII que se efectuaron mejoras en el sistema mecánico, sin embargo, los perfeccionamientos ópticos se realizan hasta el tercer cuarto del mismo siglo por encargo de Carl Zeiss, el más importante se llevó a cabo en la invención de la microscopía de inmersión mediante la utilización de aceite de cedro en lugar de agua, lo que trajo como consecuencia el alcanzar aumentos hasta de 2000. Variantes de los microscopios ópticos o de luz son los de contraste de fases, microscopio de contraste por interferencia diferencial y al microscopio de fluorescencia con una variante de epifluorescencia.

Fue hasta la invención de los microscopios electrónicos que se rebasó el límite de 2000 aumentos, pero su limitante es que no se pueden observar ni microorganismos ni estructuras vivas. Entre 1931 y 1933 Max Knoll y Ernest Ruska inventan el microscopio electrónico de transmisión (TEM o MET), con el cual alcanzan resoluciones de hasta 50 000 aumentos, con una magnificación de hasta 10 000 000. Manfred von Ardenne en 1937 inventa el microscopio electrónico de barrido (SEM o MEB)

La herramienta básica que utilizaremos en el laboratorio de Biología de Protistas es el microscopio compuesto óptico o de luz, sus partes se muestran en la Figura 1.

a: Oculares, **b:** Sistema de ajuste interpupilar (distancia focal), **c:** Cabezal, **d:** Tornillo de ajuste del cabezal, **e:** Brazo, **f:** Revolver, **g:** Objetivos, **h:** Platina, **i:** Perillas coaxiales de movimiento de platina en sentido x-y, **j:** Pinzas sujetadoras de portaobjetos, **k:** Vernier en sentido "x", **l:** Vernier en sentido "y", **m:** Tornillo ajuste macrométrico, **n:** Tornillo ajuste micrométrico, **ñ:** Tornillo de elevación del condensador, **o:** Condensador, **p:** Tornillos de centrado del haz de luz, **q:** palanca de ajuste y diafragma, **r:** Fuente de luz y diafragma, **s:** Botón de encendido y apagado, **t:** Tornillo de ajuste de intensidad lumínica, **u:** Enchufe eléctrico, **v:** Base.

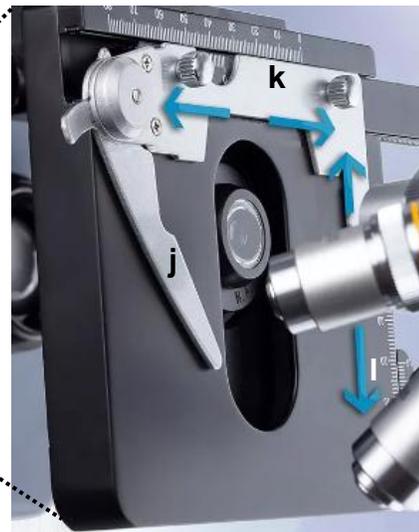
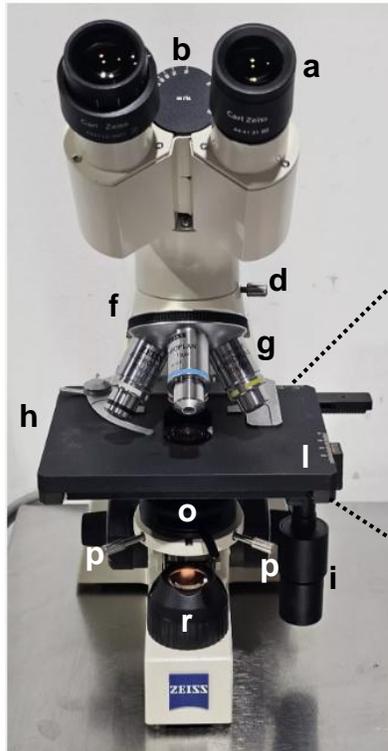
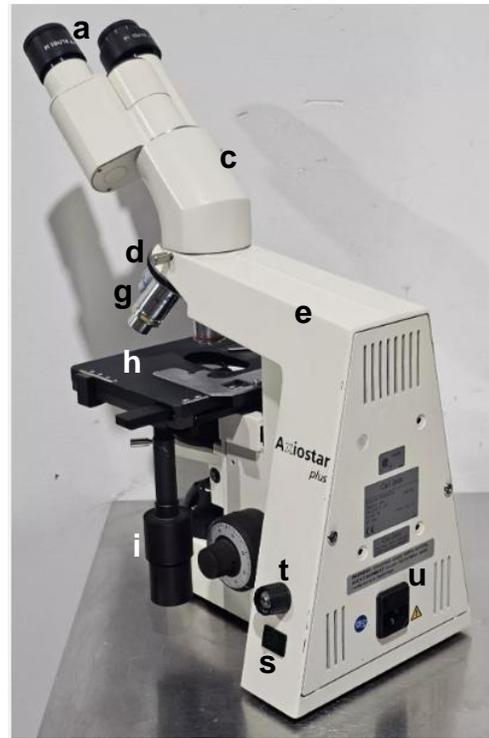
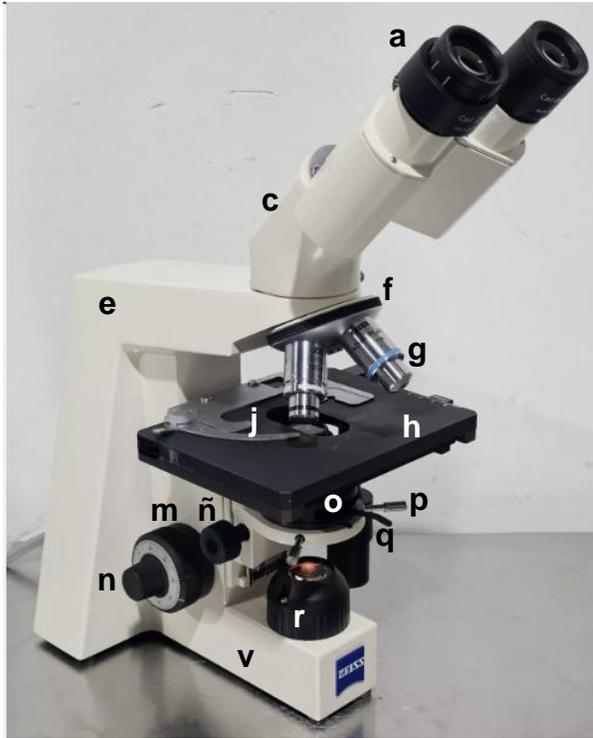


Figura 1. Microscopio compuesto óptico o de luz y sus principales partes.

COMPLETAR LOS SIGUIENTES CUADROS

| SISTEMA ÓPTICO | FUNCIONES |
|---------------------|------------------------------|
| a: Oculares | |
| g: Objetivos | 5X: 10X: 40X: 100X: |

| SISTEMA DE ILUMINACIÓN | FUNCIONES |
|-------------------------------------|-----------|
| o: Condensador | |
| q: Diafragma | |
| r: Fuente de luz y diafragma | |

| SISTEMA MECÁNICO | FUNCIONES |
|--|-----------|
| c: Cabezal | |
| d: Tornillo de ajuste del cabezal | |
| e: Brazo | |
| f: Revolver | |
| h: Platina | |
| i: Perillas coaxiales de movimiento de platina en sentido x-y | |
| j: Pinzas sujetadoras de portaobjetos | |
| k: Vernier en sentido "x" | |
| l: Vernier en sentido "y" | |
| m: Tornillo ajuste macrométrico | |
| n: Tornillo ajuste micrométrico | |
| ñ: Tornillo de elevación del condensador | |
| p: Tornillos de centrado del haz de luz | |
| q: palanca de ajuste y diafragma | |
| s: Botón de encendido y apagado | |

| | |
|---|--|
| t: Tornillo de ajuste de intensidad lumínica | |
| u: Enchufe eléctrico | |
| v: Base | |

2. Las Cianobacterias como endosimbiontes

Por mucho tiempo los humanos nos hemos preguntado ¿cuándo, cómo y cuál fue el origen de la vida en nuestro planeta?, sin duda esto nos ha llevado a grandes discusiones, pero a medida que ha avanzado la ciencia el camino a la respuesta de este cuestionamiento se ha ido solucionando, en ello la biología molecular ha jugado un papel importante y ha reivindicado la teoría de la endosimbiosis seriada o también llamada teoría de la endosimbiosis en serie, SET por sus siglas en inglés o TES en español, de Lynn Margulis.

La TES establece que los eucariotas surgen a partir de la simbiogénesis entre procariotas eubacterias y arqueas; entendiéndose por simbiogénesis, al proceso de endosimbiosis mediante el cual dos organismos llegaron a desarrollar una sociedad perdurable debido a la transferencia genética horizontal (TGH), donde el genoma completo de uno de los simbiotes se integra permanentemente al del otro simbiote ocurriendo una dependencia total, además de estar implícitos procesos integrados de metabolismo entre las procariotas eubacterianas y las arqueas, lo cual llevo primariamente a la formación de las mitocondrias y posteriormente por simbiogénesis entre bacterias parecidas a las actuales cianobacterias y células eucarióticas heterótrofas se formaron los plastos o cloroplastos, endosimbiosis secundarias, terciarias y hasta cuaternarias dieron origen a la gran diversidad de los protistas autótrofos fotosintetizadores y al linaje verde.

¿Y qué son las cianobacterias?, tradicionalmente a estos organismos se les han considerados como microalgas azul-verdes procariotas, sin embargo, con el avance de la biología, básicamente mediante la utilización de tinciones bacterianas, ahora se les define como bacterias Gram negativas que contienen clorofila "a", para llevar a cabo la fotosíntesis oxigénica, por lo cual también son llamadas "oxifotobacterias".

Las cianobacterias pertenecen al dominio Prokaryota, reino Bacteria, phylum Cyanobacteriota y clase Cyanophyceae (Guiry y Guiry 2024) o de acuerdo con WORMS - World Register of Marine Species (2024) al reino Bacteria, phylum Cyanobacteria y clase Cyanophyceae y tomando en cuenta la plataforma GBIF.org (2024) sería reino Bacteria, phylum Cyanobacteria y clase Cyanobacteriia, como podemos ver la clasificación de estos organismos tiene variaciones en alguna de sus categorías taxonómicas, lo importante en realidad es conocer su morfología, a continuación se presentan las características morfológicas y citológicas básicas de las cianobacterias (Fig. 2)

Vaina: también llamada glicocálix o cápsula, la misma esta mayormente compuesta por polisacáridos y polipéptidos, azúcares neutros y ácidos urónicos que incluyen galactosa, glucosa, manosa, ramnosa, 2-O-metil-D-xilosa, ácido glucurónico y ácidos galacturónicos, en algunas otras como en *Nostoc* también se presentan aminoácidos similares a la micosporina que absorben los rayos UV-A/B y otros pigmentos protectores (escitonemina) de color marrón amarillento que también absorben los rayos UV.

Pared celular: es del tipo de las bacterias Gram-negativas, está compuesta de peptidoglicano y es la más externa a la membrana celular, es común que presente poros semejantes a los “microplasmodesmos” que ponen en contacto la membrana celular con la capa externa de lipopolisacáridos.

Membrana celular: compuesta por una membrana plasmática interna y una membrana externa, ambas compuestas por fosfolípidos y hopanoides.

Tilacoides: al carecer de cloroplastos, en su lugar únicamente se presenta tilacoides simples, cuyo conjunto también es llamado cromoplasma, donde se localizan las clorofilas “a”, “b” y “d”, sobre los tilacoides se presentan otras estructuras llamadas ficobilisomas los cuales contienen pigmentos solubles en agua, auxiliares de la fotosíntesis, los mismos se subdividen en azules como la aloficocianina (APC) y la ficocianina (PC) y los rojos o naranjas como la ficoeritrocianina (PEC) o la ficoeritrina (PE). Además, se presentan carotenoides como β -caroteno, mixoxantofila y zeaxantina.

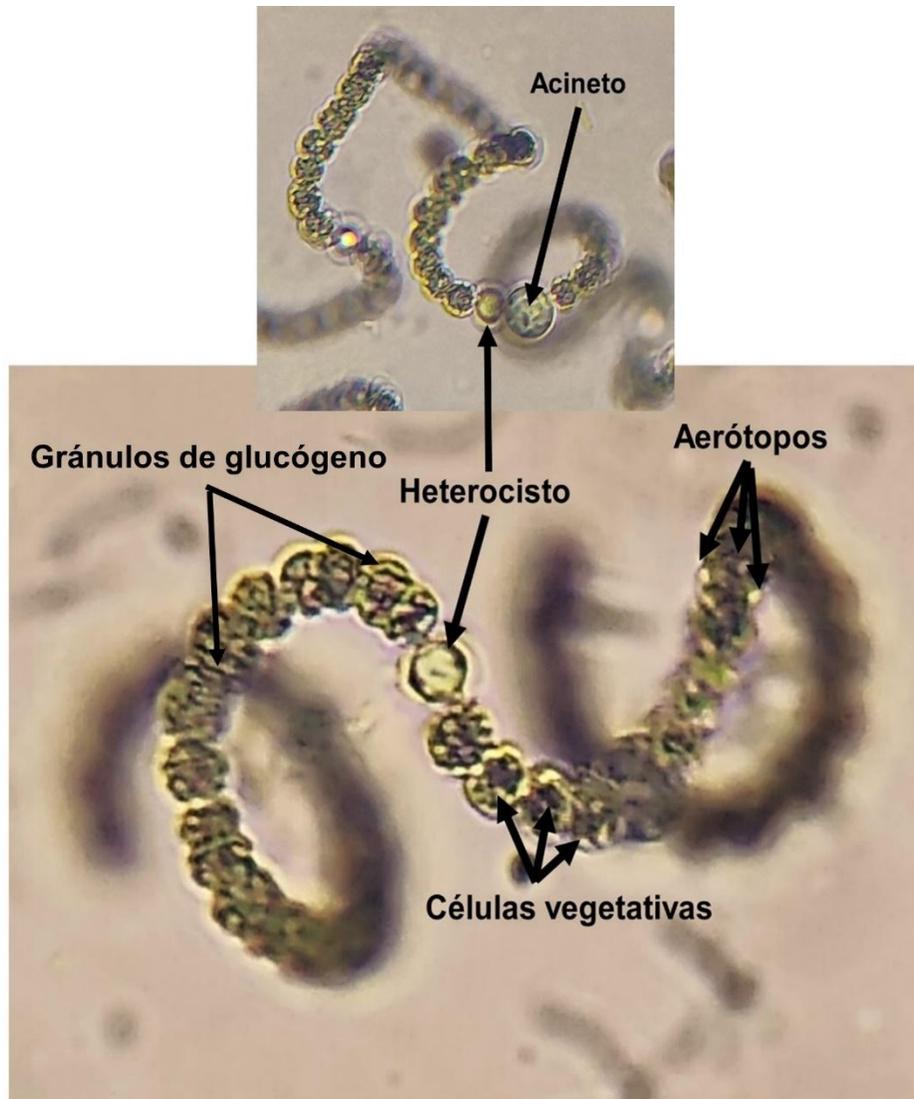
Gránulos de cianoficina: son polímeros de arginina y ácido aspártico, almacenan la cianoficina y el almidón de las cianofíceas.

Gránulos de glucógeno: (poliglucosa) cuerpos ovoides o alargados y en forma de bastoncillo, contienen poliglucosa y en ocasiones polihidroxitirato, generalmente se encuentran entre los tilacoides.

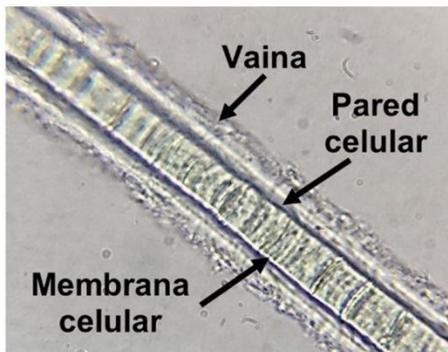
Carboxisomas: corpúsculos encargados de la fijación del CO₂, compuestas en gran parte de ribulosa bifosfato carboxilasa/oxigenasa (RUBISCO)

Protonúcleo: al no presentar núcleo las cianobacterias muestran una zona central también llamada región nucleóide, “nucleoplasma” o centroplasma, se muestra como una zona granulosa y decolorada, contiene fibrillas de ADN en una disposición compleja y plegada, pero cada una es circular.

Vacuolas gasíferas: también llamadas aerótopos, contienen gases y son más comunes en las cianobacterias planctónicas sirviéndoles para la flotación.



Citología de *Dolichospermum* sp.



Citología de *Lyngbya* sp.



Citología de *Chroococcus* sp.

Figura 2. Citología de cianobacterias

La posición de los acinetos y heterocistos se muestran en la Figura 3.

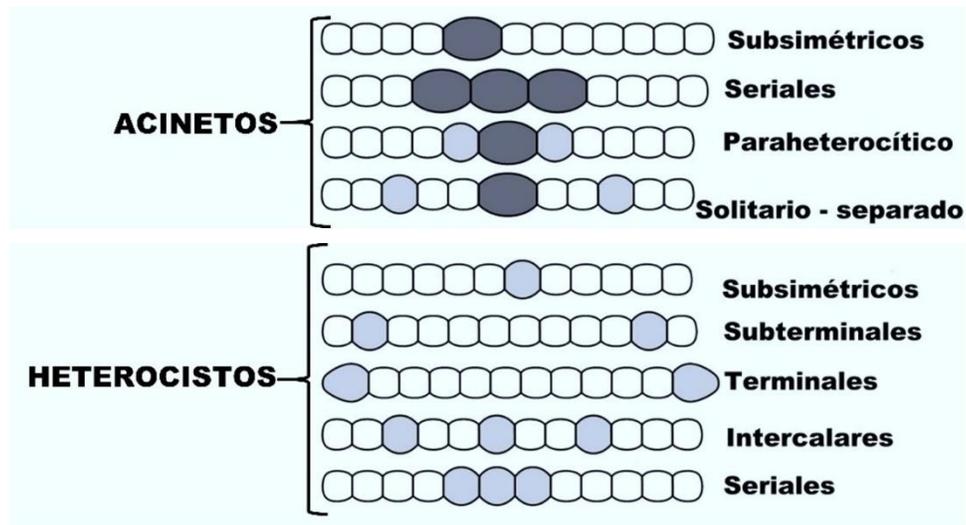


Figura 3. Forma y posición de los acinetos y heterocistos

Los tipos morfológicos en este grupo varían desde las unicelulares hasta las multicelulares, incluyendo algunas filamentosas con falsas ramificaciones (seudoramificadas), en la Figura 4 se muestran estos tipos.

En algunas cianobacterias se presenta el movimiento por deslizamiento, el cual se produce por la presencia de mucilago asociado a la vaina, el rastro que dejan estas cianobacterias es de tipo viscoso, por ejemplo, en las formas filamentosas del grupo de las oscilatorias (*Phormidium* y *Oscillatoria*) o en algunas nostocales (*Anabaena*)

El origen de las cianobacterias se remonta hacia el precámbrico temprano entre 3000 y 3500 millones de años, cuando cambió la atmósfera reductora a la oxidativa, debido esencialmente al surgimiento de las oxifotobacterias quienes aportaron el oxígeno por sus procesos de fotosíntesis, la acumulación de estos organismos dio origen a los estromatolitos que aún podemos ver actualmente en las zonas costeras de varias partes del mundo.

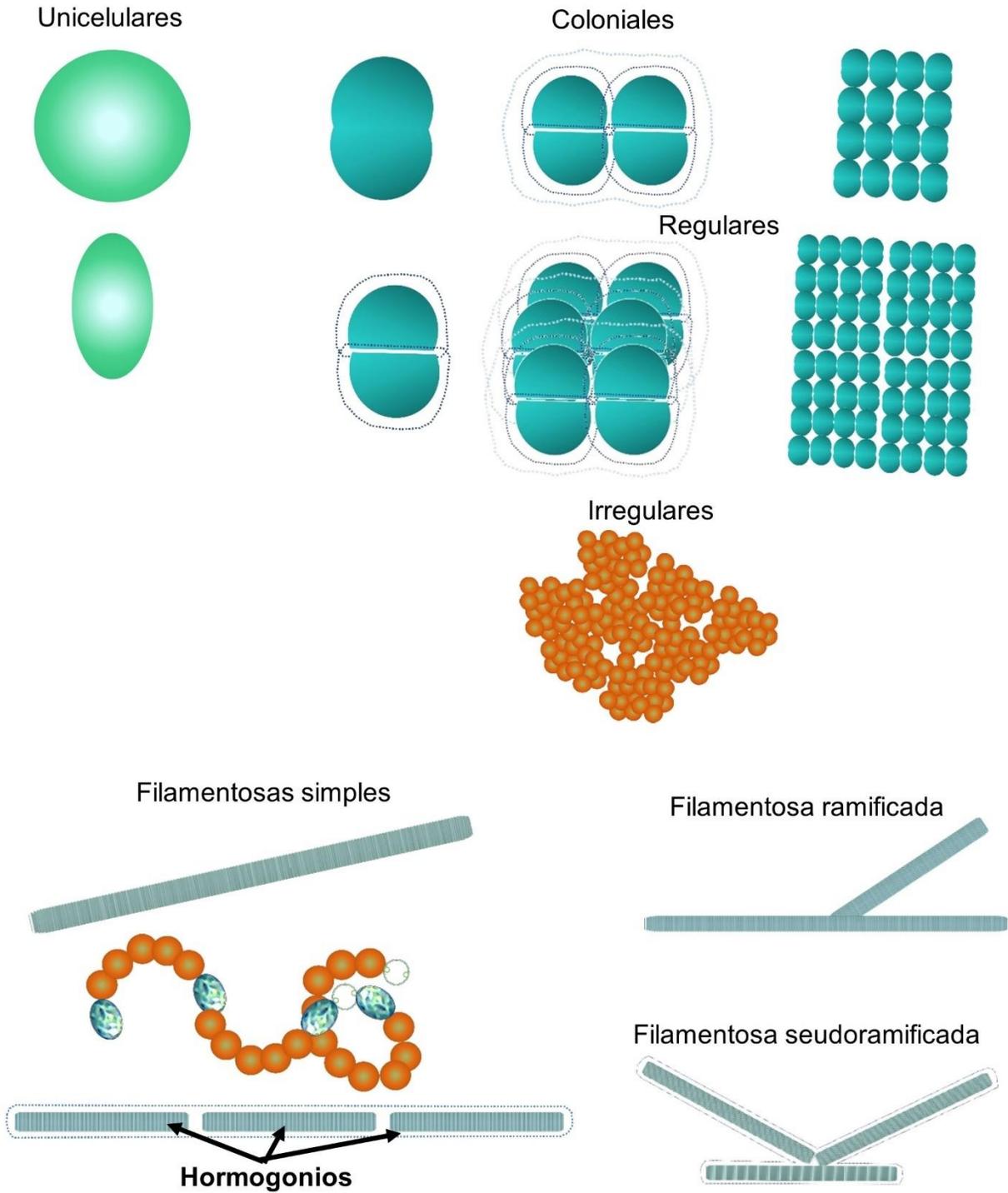


Figura 4. Tipos morfológicos de cianobacterias

| GÉNEROS | ORGANIZACIÓN CELULAR | FORMA DE LAS CÉLULAS | CUBIERTAS CELULARES (TIPOS) | DIFERENCIACIÓN CITOLOGICA (TIPOS) | ORGANELOS DE LOCOMOCIÓN (TIPO) |
|---------------------------|----------------------|----------------------|-----------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
| <i>Oscillatoria</i> sp. | | | | | |
| <i>Dolichospermum</i> sp. | | | | | |

3. Introducción a la Morfología General de los Protistas

El desarrollo de una gran variedad de métodos en microscopía, ha permitido delimitar las características citológicas externas e internas de los organismos microscópicos y macroscópicos que pertenecen a los reinos Chromista y Protozoa, para efectuar comparaciones morfológicas que han trascendido en el estudio taxonómico de este complejo biológico ampliamente diverso. El cual en las últimas dos décadas ha sido nutrido por diversas investigaciones en biología molecular (Corliss 2002, Cavalier 2018)

Entre las particularidades citológicas, destacan los siguientes caracteres: forma del cuerpo, tamaño comúnmente de 2 a 2000 μm hasta algunos metros de longitud, simetría bilateral, radial o amorfa, número de núcleos uninucleados, multinucleados, con macro y micronúcleo, características nucleares como centriolos, fibras cinetodesmales, telómeros, endo y exoesqueletos, orgánulos extrusivos, vacuolas, contráctiles con mionemas o no contráctiles, fagocitos, ornamentación externa, estructuras de adherencia, alveolos corticales, inclusiones citoplasmáticas, retículo endoplasmático, ribosomas, lisosomas, mitocondrias, condriosomas, lamelas, hidrogenosomas, cuerpos de Golgi, dictiosomas, peroxisomas, plastidios, estigmas, tricocistos o eyectosomas, pigmentos, fotosintéticos y accesorios, y sustancias de reserva como carbohidratos, lípidos y proteínas (Corliss 2000)

Aunado a las características anteriormente citadas, destacan dentro de la morfología de los organismos pertenecientes a los reinos Chromista y Protozoa, las estructuras de locomoción y los aparatos de filtración, entre los cuales sobresalen: flagelos solitarios o formando penachos flagelares, isocontos, heterocontos, acrocontos, pleurocontos y opistocontos con o sin mastigonemas, cilios y estructuras ciliares, cirros, membranelas, cuerpos basales y cinetosomas, aparatos orales, citostomas y tentáculos de succión, vacuolas, axostilos, paredes celulares como frústulas, tecas, loricas, testas, conchas y envolturas de diversos materiales, las cuales pueden presentar aberturas, poros, espacios o atrios, incrustaciones de materiales orgánicos e inorgánicos. Recientemente en estudios estratigráficos, se considera como carácter diagnóstico a la forma y constitución de quistes y esporas (Corliss 2000, Wetherbee *et al.* 2012)

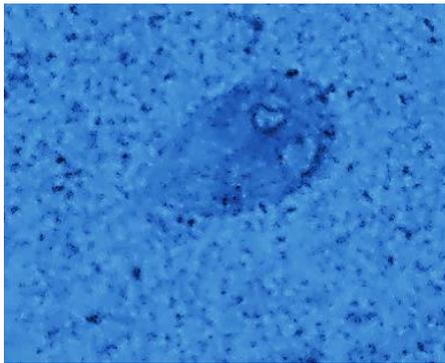
La organización morfológica es una característica distintiva dentro de los gremios taxonómicos de los reinos Chromista y Protozoa, debido a que involucra una complejidad que ha permitido la colonización de diferentes hábitats. Se desarrollan formas unicelulares, protofitas eucariotas, que pueden llegar a formar cadenas, talofitas en consorcio, filamentos, plasmodios, cenobios o colonias gregarias, discoideas, esféricas o arborescentes. Otros protistas son tubulares del tipo sifonado o cenocítico (Corliss 2002)

La distribución mundial de los organismos de Chromista y Protozoa los cataloga como cosmopolitas, con cierto grado de sensibilidad a los cambios de su entorno, con un alto valor en la escala de bioindicadores. Sin embargo, cada especie se ha desarrollado en nichos y microhábitats específicos, colonizando ambientes acuáticos de agua dulce, salobres y salinos (Santos y Aguilar 2014), aerobiotopos y con formas simbiotes, parásitas y mutualistas de invertebrados y vertebrados (Khan *et al.* 2008, Fenchel 2013, Gast *et al.* 2009)

Su adaptación en cada microhábitat, ha generado por medio de la evolución, adaptaciones tróficas que diversificaron el tipo de nutrición, por lo cual los organismos de los reinos Chromista y Protozoa se catalogan como autótrofos estrictos (holofítica), heterótrofos estrictos (holozoica y saprozoica) así como la mixotrofia (Jones 2000; Mitra *et al.* 2014, Raven *et al.* 2014)

2.1. Organización celular

a) Protistas unicelulares: organismos constituidos por una célula, la cual presenta membranas internas y orgánulos característicos de la célula eucariota (Fig. 5 y 6)



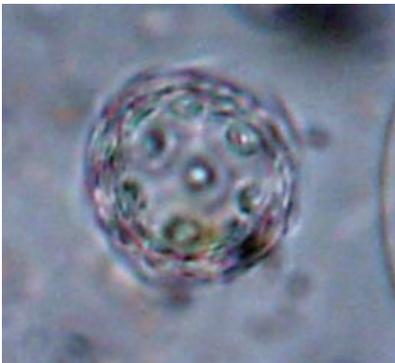
Giardia lamblia
(diplomonadido)



Paramecium sp.
(ciliado)



Euglena sp.
(euglenido)

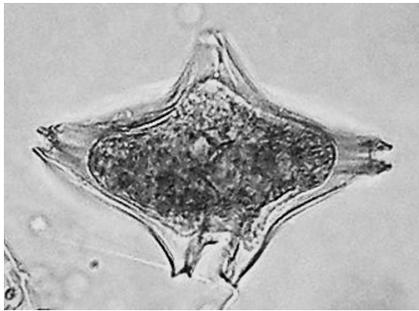


Umbilicosphaera sp.
(cocolitofrido)

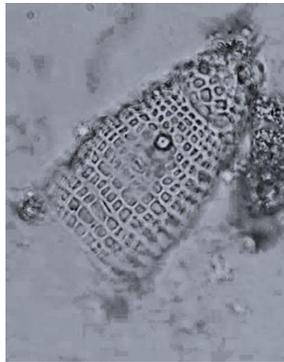


a) *Cocconeis* sp., **b)** *Gomphonema* sp., **c)**
Navicula sp.
(diatomeas)

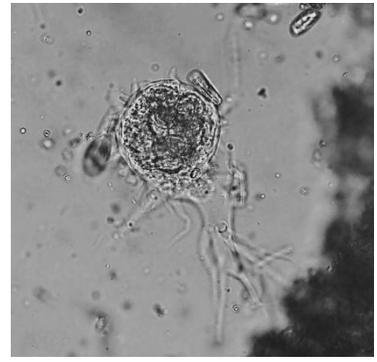
Figura 5. Protofitas eucariotas



Protoperdinium crassipes
(dinoflagelado)



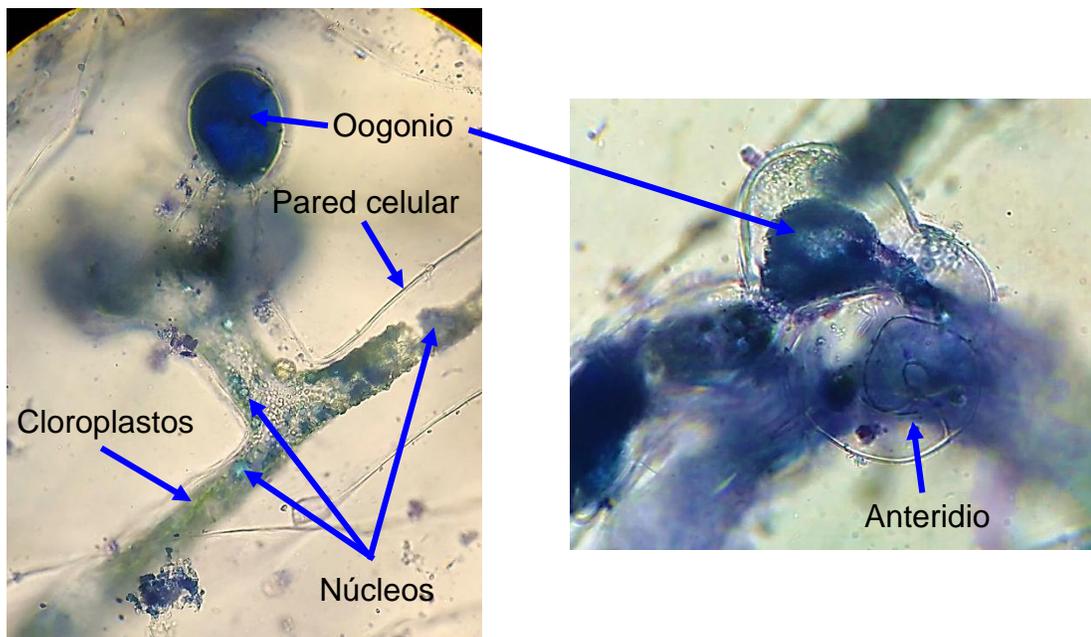
Artostrobus sp.
(radiolario)



Amoeba proteus
(amoebido)

Figura 6. Protofitas eucariotas

b) Protistas cenocíticos: organismos constituidos por una masa protoplasmática multinucleada en forma de tubo o sifón (cenocito), que resulta de diversas divisiones nucleares sin que haya división citoplasmática, las paredes transversales solo se forman para dar lugar a las estructuras reproductoras. Este estadio también es conocido como sifonado cuando no presenta tabiques transversales que separen a células, excepto en la formación de los gametangios oogonio y anteridio, y cenocítico cuando se presentan tabiques transversales entre células multinucleadas (Fig. 7)



Vaucheria sp. (alga verde-amarillento)

Figura 7. Talofita cenocítica sifonada.

c) Talofitas cenobiales: conjuntos celulares para formar una especie de colonia que tendrá un número fijo y constante de células, todas de la misma generación, llamado cenobio, no presentan diferenciación de funciones ni división del trabajo, no pueden sobrevivir de manera independiente (Fig. 8)

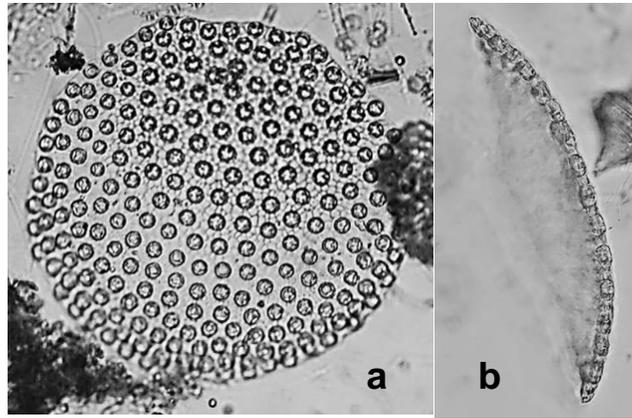
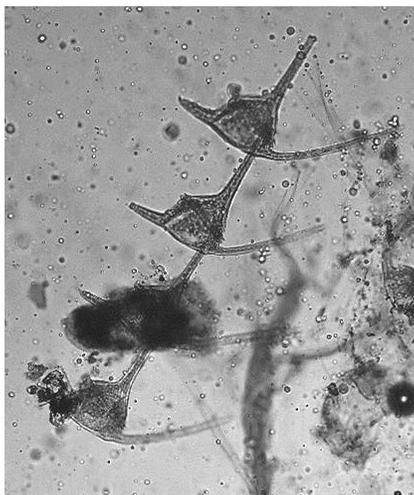


Figura 8. Talofita cenobial, *Coenobiodiscus muriformis* (diatomea radial), cenobio en placa: a) vista de frontal, b) vista lateral.

d) Protistas en consorcios de agregación: conjuntos celulares, los cuales surgen como protofitas eucariotas y se agrupan con el tiempo para dar lugar a una asociación mediante mucilago que puede cubrir todo el conjunto celular o solo en forma de punteaduras o pedúnculos mucilaginosos que unen células, y a diferencia de las colonias no presentan diferenciación de funciones o del trabajo, de tal forma que, si se separan las células, éstas pueden vivir de manera independiente (Figs. 9 y 10)

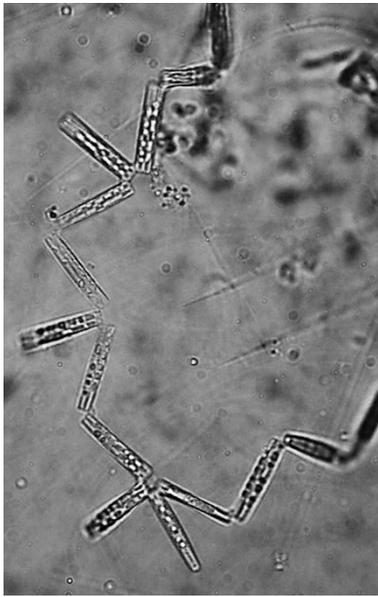


Tripos dens
(dinoflagelado)
consorcio en hilera

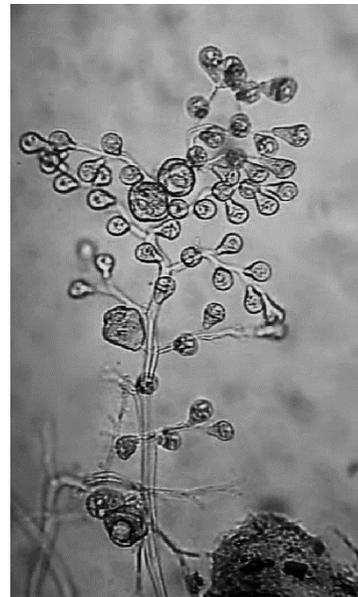


Dinobryon sp.
(crisofícea)
consorcio arborescente

Figura 9. Talofitas por consorcio de agregación



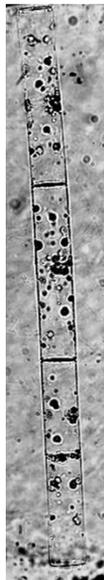
Thalassionema nitzschioides
(diatomea)
consorcio en zig-zag



Zoothamnium sp.
(ciliado)
consorcio arborescente

Figura 10. Talofitas por consorcio de agregación

e) Talofitas filamentosas: organismos constituidos por varias células, producto de la división sucesiva de una célula de manera unidireccional, a partir de la cual se derivan células íntimamente unidas con membranas celulares compartidas, pueden ser simples o ramificados (Fig. 11)



Leptocylindrus danicus
(diatomea)



Tribonema sp.
(xantomónido)

Figura 11. Talofitas filamentosas

2.2. Simetría y forma del cuerpo

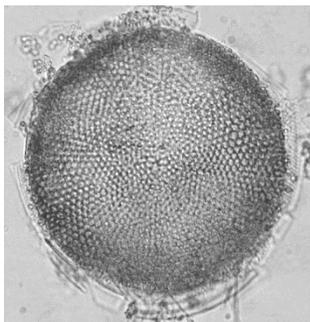
Con respecto a la simetría, en los grupos protistas se presentan tres tipos:

a) La simetría radial definida como aquella en la cual la disposición de las ornamentaciones y ejes es de manera regular alrededor de un punto central, de tal manera que al dividir al organismo en un corte que pase por el centro siempre se obtendrán partes aproximadamente iguales (Fig. 12)

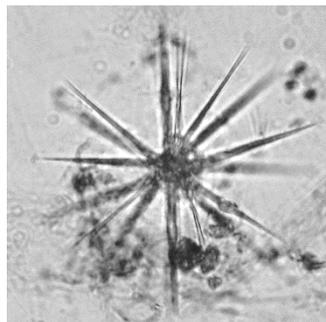
b) La simetría helicoidal, se refiere a la disposición u ordenación de las piezas que conforman principalmente a los foraminíferos multicamerales, aunque también se presenta entre las diatomeas, las cuales se desarrollan en un sentido de rotación semejando una hélice (Fig. 13)

c) La simetría bilateral, es aquella en la cual se obtienen dos partes simétricamente iguales, siempre y cuando se utilice el plano sagital para dividir al organismo, como resultado se tendría una parte derecha y una parte izquierda. si se considera un plano frontal, entonces las mitades serían ventral y dorsal (Fig. 14)

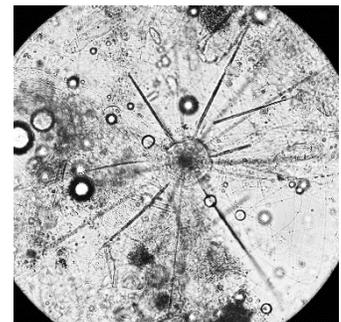
Una cantidad importante de protistas se consideran como amorfos, es decir, sus cuerpos carecen de una simetría clara, no presentan formas definidas (Fig. 15)



Coscinodiscus sp.
(Diatomea)

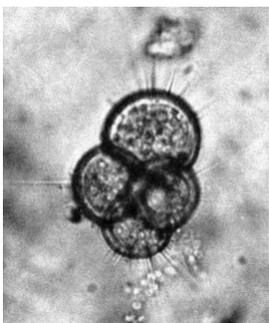


Cladococcus sp.
(Radiolario)

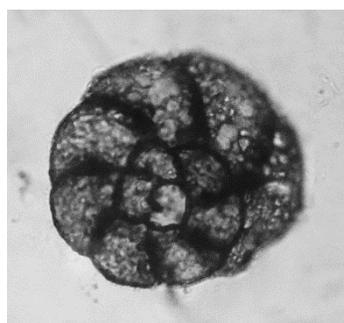


Acanthometron sp.
(Radiolario)

Figura 12. Protistas de simetría radial



Hastigerinella sp.
(foraminífero)

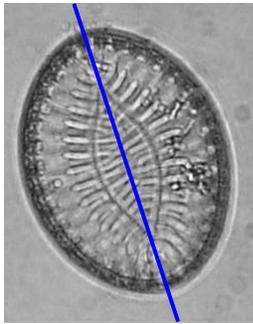


Hoeglundina sp.
(foraminífero)

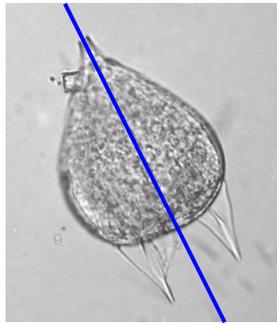


Helicotheca sp.
(Diatomea)

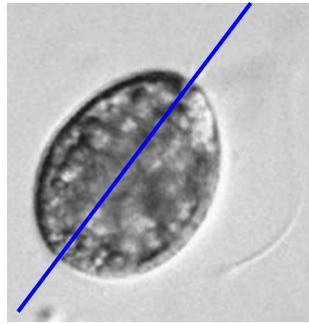
Figura 13. Protistas de simetría helicoidal.



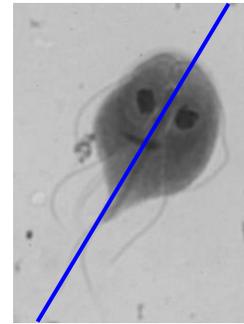
Surirella fastuosa
(diatomea pennal)



Podolampas bipes
(dinoflagelado en
vista ventral)



Lepocynclis sp.
(euglénido en vista
ventral)



Giardia lamblia
(protozoo en vista
ventral)

Figura 14. Protistas de simetría bilateral.

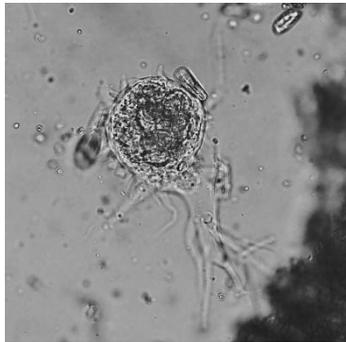


Figura 15. Protista amorfo, *Amoeba proteus* (amoebido)

2.3. Cubiertas Celulares

Las cubiertas celulares, son envolturas de origen protoplasmático que envuelven a las células, cubriendo la membrana citoplasmática, las mismas pueden ser flexibles o rígidas.

2.3.1. Pared Celular

La pared celular es característica de las microalgas es una matriz extracelular que protege a la membrana plasmática, generalmente da rigidez a la célula dándole formas, su constitución es de diversos tipos, pueden ser típicamente de celulosa y pectina, de carbonato de calcio, de sílice, entre otras (Fig. 16)

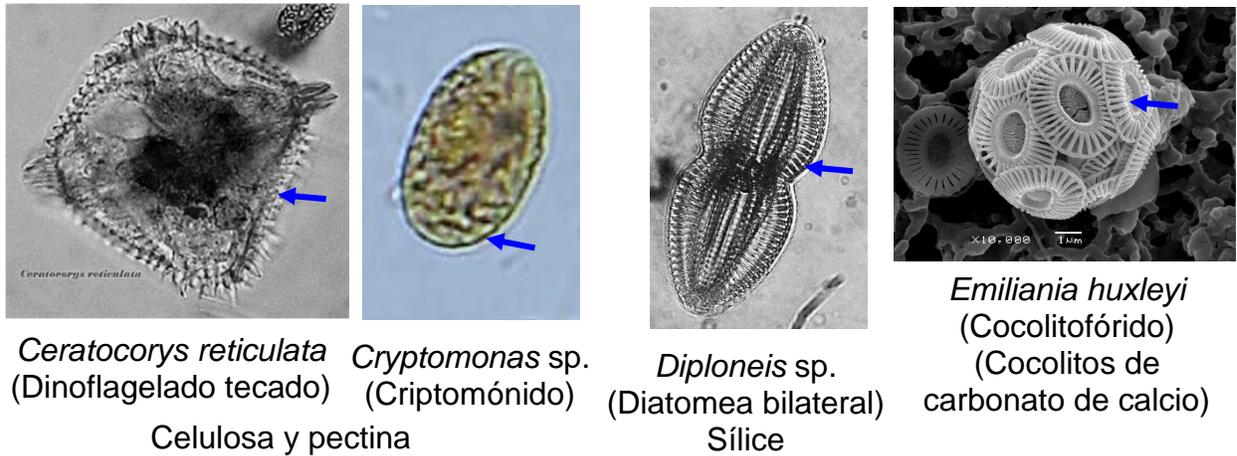


Figura 16. Paredes celulares en protistas

2.3.2. Periplasto

Es una película proteica que cubre la membrana celular de los protistas que no presentan pared celular, puede ser flexible o rígido, además por su constitución mucilaginoso (viscosa) puede permitir que se adhieran partículas de distinto origen, orgánicas e inorgánicas (Fig. 17)



Figura 17. Periplastos en protistas

2.3.3. Lórica

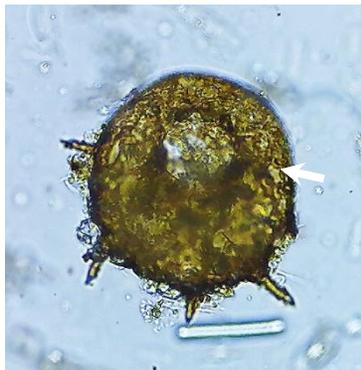
Se considera a la lórica como una variante de los periplastos rígidos o bien una variante de la pared celular, su forma es diversa, ya que las podemos encontrar en forma de urnas esféricas u ovoides o a manera de campanas invertidas (Fig. 18)



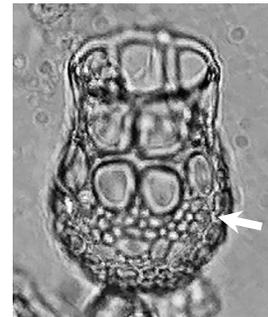
Dinobryon sp.
(alga dorada) celulósica



Strombonas sp.
(euglénido) mucilaginoso y protéica



Centropyxis sp.
(amoebido) lórica proteica mucilaginosa



Dictyocysta sp.
(ciliado) lórica silíceo

Figura 18. Protistas con loricas

2.3.4. Tecas o conchas

Es la cubierta celular característica de los foraminíferos, su composición es a base de carbonato de calcio, puede ser de una sola cámara, unicamerales, o de varias cámaras, multicamerales (Fig. 19)



Ammodiscus sp.
(Teca o concha de un
foraminífero unicameral)



Ammonia sp.
(Teca o concha de un
foraminífero multicameral)

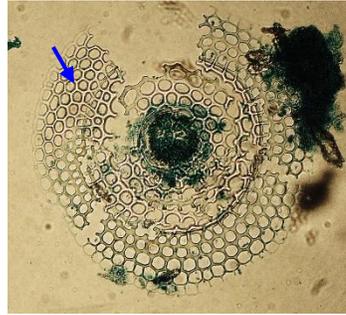
Figura 19. Protistas con teca o concha

2.3.5. Testas y Endoesqueletos

Típicamente estas estructuras no cubren toda la célula, en muchos casos es la membrana celular la que cubre a la testa por eso se les pueden considerar como endoesqueletos, en otros casos como en los cercozoarios la testa si cubre a la membrana celular, su constitución es variada, la mayoría es de tipo silíceo (Fig. 20)



Dictyocha fibula
(Silicoflagelado con varillas)



Corocalyptra sp.
(Radiolario nassularido)



Euglypha sp.
(Cercozoario)

Endoesqueleto (testa interna) de tipo silíceo

Testa externa

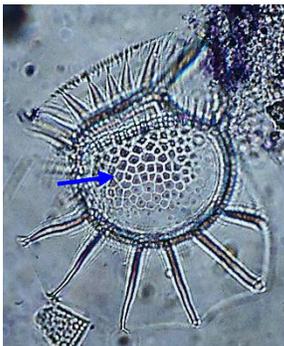
Figura 20. Protistas con testa o endoesqueleto

2.4. Ornamentaciones

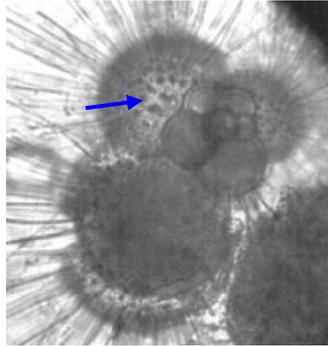
Las ornamentaciones corresponden a extensiones o perforaciones en la cubierta celular.

2.4.1. Perforaciones

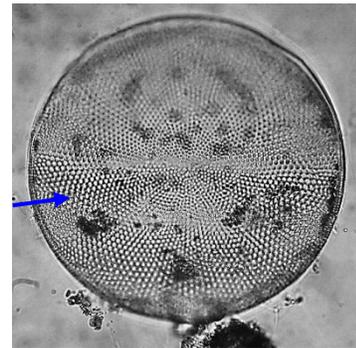
Se manifiestan a manera de poros y/o areolas, éstas últimas pueden formar un cribum el cual está compuesto de poros y poroides (Fig. 21)



Ornithocercus sp.
(Dinoflagelado con poros)



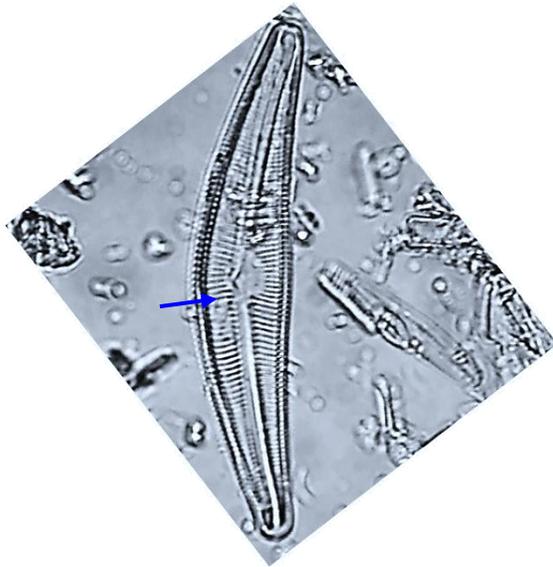
Globigerina sp.
(Foraminífero con poros)



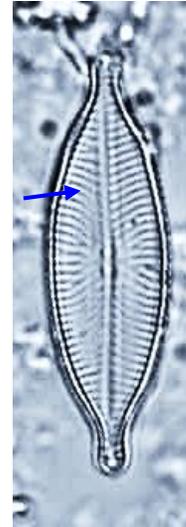
Coscinodiscus sp.
(Diatomea radial con areolas)

Figura 21. Protistas con perforaciones en la cubierta celular

Una variante de las perforaciones son las estrías, las cuales están formadas por areolas alineadas perpendicularmente al eje longitudinal en las diatomeas bilaterales, y pueden formar cribum (Fig. 22)



Cymbella sp.



Navicula sp.

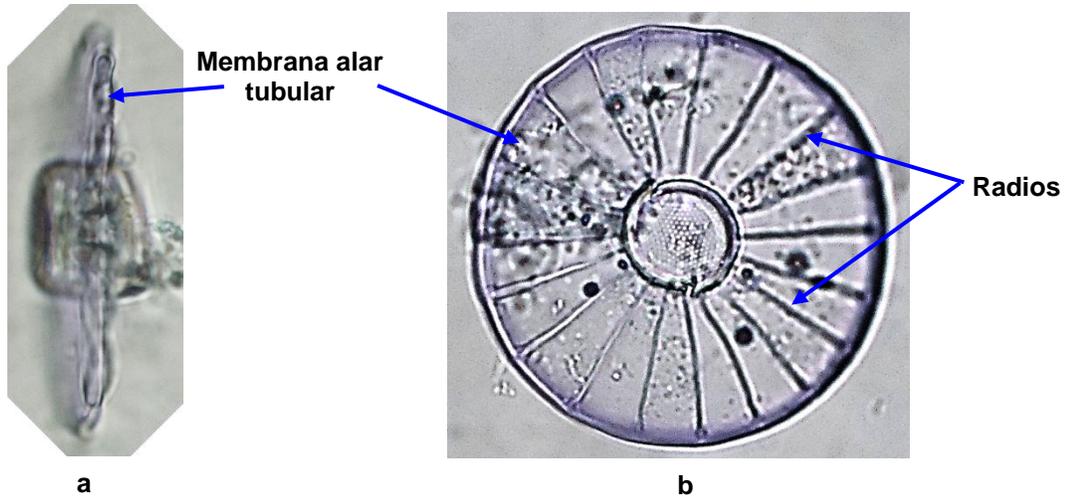
Figura 22. Protistas con perforaciones en forma de estrías.

2.4.2. Extensiones Alares

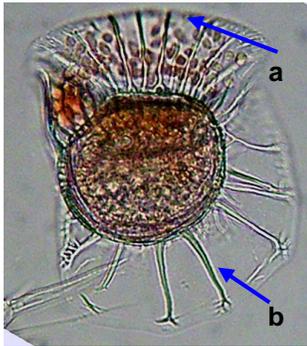
Son prolongaciones de las cubiertas celulares de tipo membranoso, las cuales pueden estar sostenidas por radios o flagelos (Fig. 23)

2.4.3. Costillas, Quillas y Crestas

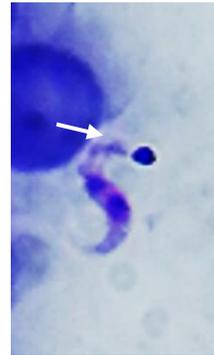
Las costillas o costas, son engrosamientos elevados de la cubierta celular, pueden ser longitudinales o transversales, características de las diatomeas arafiadas (Fig. 24)



Planktoniella sol (diatomea radial)
a) vista lateral, b) vista frontal.



Ornithocercus sp.
(Dinoflagelado (a) membranas alares y (b) radios)



Trypanosoma sp.
(Kinetoplástido con membrana alar con flagelo)

Figura 23. Protistas con extensiones membranas

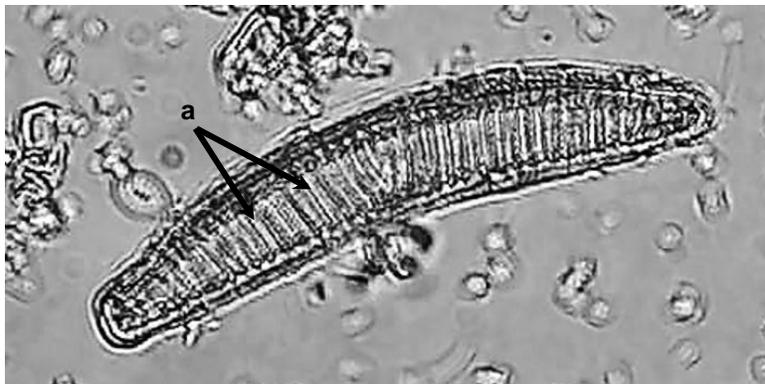


Figura 24. *Eunotia* sp. (Diatomea rafiada)
a) costillas

En tanto que las quillas, son exclusivas de las diatomeas bilaterales que presentan rafe, se presenta como un levantamiento de la pared celular silíceo y sobre ellas puede pasar el rafe (Fig. 25)

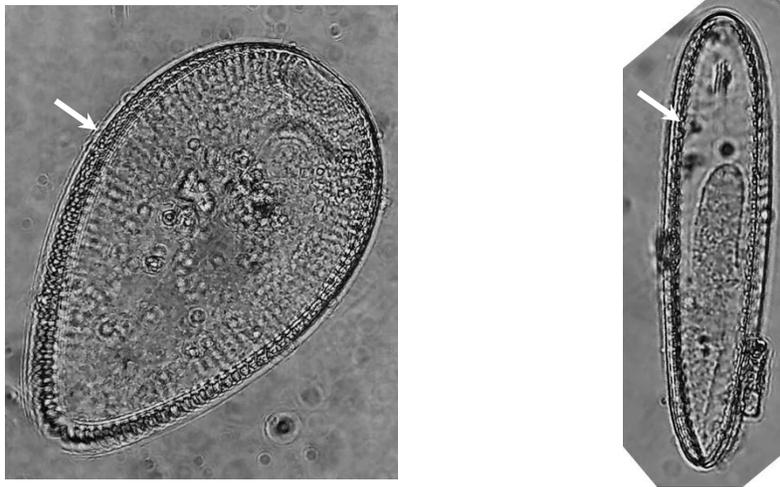


Figura 25. *Surirella* spp. Diatomeas rafiadas con quilla marginal

Las crestas son prolongaciones o elevaciones alares longitudinales, generalmente del periplasto, (Fig. 26)

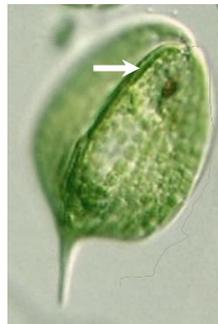
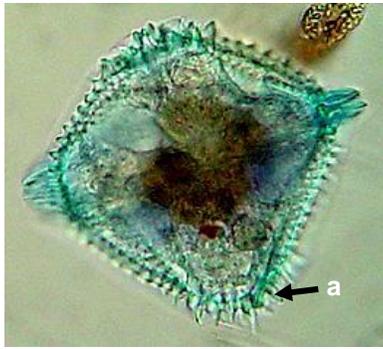


Figura 26. *Phacus* sp. (Euglénido con cresta longitudinal)

2.4.4. Espinas, Espínulas y Cuernos

Las espinas son prolongaciones finas y agudas de la cubierta celular, pueden observarse en toda la parte externa del cuerpo celular o solo en los extremos, una variante de estas estructuras son las espínulas, que reciben este nombre por su tamaño pequeño y pueden estar combinadas con las espinas (Fig. 27)



Ceratocorys reticulata
(Dinoflagelado tecido)



Trachelomonas hispida
(Euglénido loricado)



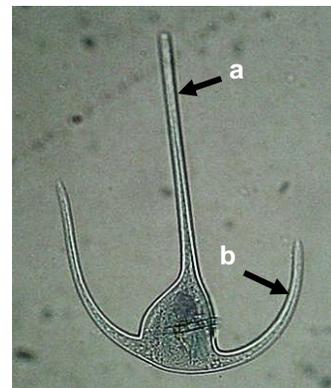
Aulacoseira granulata (diatomea radial)

Figura 27. Protistas con espinas (a) y espínulas (b)

Los cuernos son prolongaciones grandes de las cubiertas celulares, normalmente sus extremos no son agudos y pueden presentarse en las aristas, en el centro o en los ápices y antápices de las células (Fig. 28)



Trieres mobiliensis
Diatomea radial con cuernos en las aristas



Tripos pulchellus
Dinoflagelado con cuerno apical (a)
y cuernos antapicales (b)

Figura 28. Protistas con cuernos

2.5. Estructuras de Movimiento

2.5.1. Flagelos y Cilios

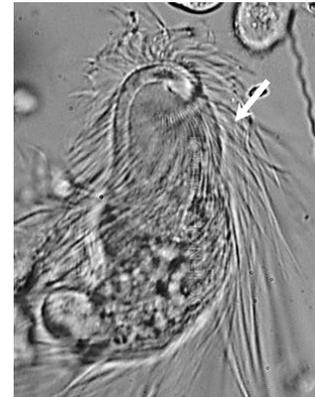
Los flagelos y los cilios presentan la misma ultraestructura, nueve pares de microfibrillas periféricas y un par central. La diferencia entre estos organelos es el tamaño, los flagelos son grandes (Fig. 29) y los cilios son pequeños (Fig. 30)



Akashiwo sanguinea
(Dinoflagelado desnudo)



Euglena sp.
(Euglénido)



Trichonympha sp.
(Hipermastigido)

Figura 29. Protistas flagelados

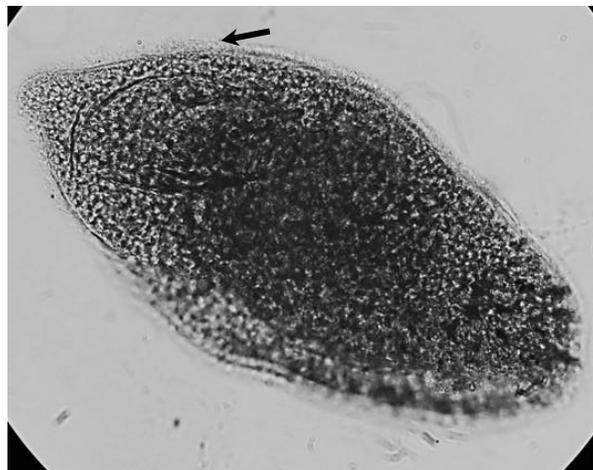


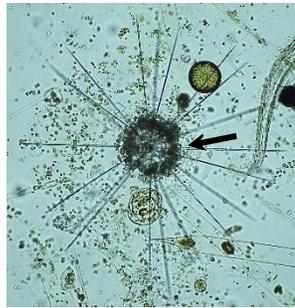
Figura 30. *Paramecium* sp. (Protista ciliado)

2.5.2. Seudópodos

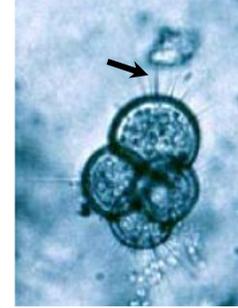
Los seudópodos se consideran como falsos pies, sin embargo, el movimiento es una consecuencia secundaria de su principal función que es la alimentación. Son prolongaciones hialinas a manera de dedos, los hay también muy finos y otros reticulados, están compuestos de ectoplasma principalmente (Fig. 31)



Amoeba proteus
(Amoebido con lobópodos)



Acanthometron sp.
(Radiolario con axópodos)



Hastigerinella sp.
(Foraminífero con axópodos)

Figura 31. Protistas con pseudópodos

2.6. Estructuras de Fijación

2.6.1. Pedúnculos

La mayoría de ellos se consideran como prolongaciones de las cubiertas celulares, si bien otros son productos extracelulares mucilaginosos, pueden ser simples o ramificados y son utilizados para adherirse a sustratos, en algunos casos son retractiles y se pueden llegar a desprender (Fig. 32)



Vorticella oceanica
(Ciliado con pedúnculo simple retráctil)



Cymbella sp.
(Diatomea con pedúnculo mucilaginoso ramificado)

Figura 32. Protistas con pedúnculos de fijación

2.6.2. Ganchos

Son prolongaciones de la cubierta celular a manera de espinas curvas y gruesas (Fig. 33)



Figura 33. *Gregarina* sp.
 (Apicomplejo con ganchos en el epimerito)
<https://bdjola.com/gregarinosis-of-bees/>

2.6.3. Ventosas

Las ventosas son organelos cóncavos, si bien se utilizan para la fijación también tienen función succionadora (Fig. 34)

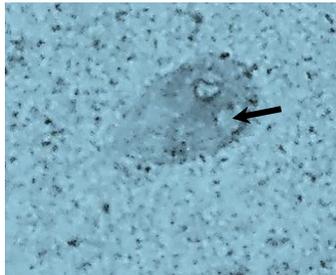


Figura 34. *Giardia intestinalis*
 (Diplomonadido con ventosas)

2.7. Características nucleares

Los núcleos en los protistas pueden tener diversas formas, desde los esféricos, ovoides hasta los moniliformes. El número de los mismos varía de uno, uninucleados, dos binucleados (micronúcleo para la reproducción y macronúcleo para las funciones metabólicas) y los multinucleados (Fig. 35)

2.8. Los Plastos

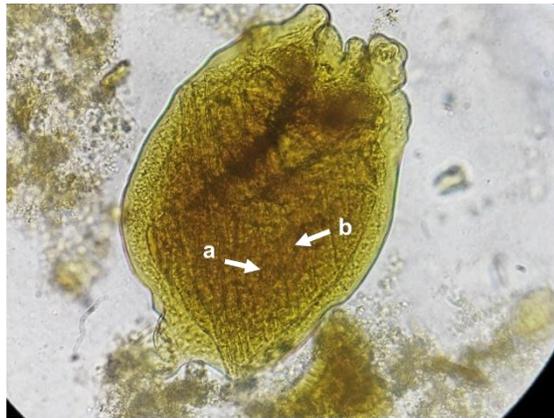
En los protistas los plastos varían en cuanto a su forma, en este sentido vamos a encontrar los esféricos, discoidales o lenticulares, ovalados, en forma de "H", laminares, en forma de cojinete, lobulados o estrellados. Con relación a su posición, aquellos que se encuentran al centro de la célula se les llaman axiales y los que están cubriendo a toda la célula y en contacto directo con la membrana celular se les denominan parietales (Fig. 36)



Gambierdiscus toxicus
(Dinoflagelado tecado
con núcleo moniliforme)



Opalina ranarum
(Ciliado multinucleado)

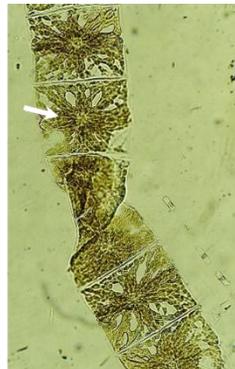


Diplodinium sp.
Ciliado binucleado:
a) Macronúcleo
b) Micronúcleo

Figura 35. Los núcleos en protistas



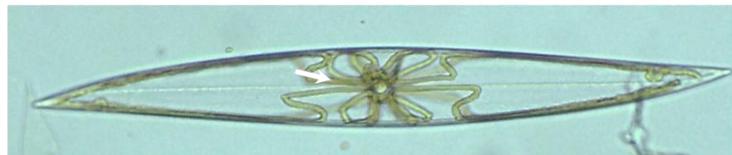
Helicotheca thamensis
(Diatomea radial con plasto
laminar parietal)



Stretotheca subindica
(Diatomea radial con plasto
estrellado)



Dinophysis ovum
(Dinoflagelado tecado
con plastos discoidales
parietales)



Pleurosigma sp.
(Diatomea bilateral con plasto
acintado axial)

Figura 36. Diversidad de plastos en protistas microalgales

2.9. Tipos de Nutrición

Los organismos de Chromista y Protozoa emplean todas las formas de nutrición (Tabla 1) a excepción de la vía quimioautótrofa.

Tabla 1. Tipos de nutrición de Chromista y Protozoa (Jones, 1997)

| | |
|-----------------------|--|
| Autótrofa | Obtienen su energía de forma autótrofa por acción de la fotosíntesis, utilizando pigmentos fotosintéticos y accesorios para la captación de energía lumínica. Con la cual fabrican moléculas orgánicas. |
| Heterótrofa fagótrofa | Denominados holozoicos, ingieren partículas de alimento en vesículas intracelulares llamadas vacuolas alimenticias o fagocitos. |
| Heterótrofa osmótrofa | Denominados saprozoicos, ingieren alimento en forma soluble a partir de la permeabilidad celular. |
| Mixotrofia | Referente a la mezcla de la nutrición autótrofa y la heterótrofa en tres escenarios: a) Mixotrofia obligada: Tanto la energía lumínica como la materia orgánica particulada son necesarias para sostener el crecimiento. b) Fototrofia obligada, pero mixotrofia facultativa: sólo la fotosíntesis es esencial, pero en caso de limitación de energía lumínica la heterotrofia puede servir de apoyo al aparato fotosintético. |

3. Las técnicas de Tinción para la Observación de Estructuras Celulares en Protistas

La mayoría de las células son diminutas para ser detectadas a simple vista, por lo cual se requiere el uso del microscopio para ver la forma y estructura de estas. Sin embargo, no solo el microscopio basta para ello, es necesaria la utilización de otros implementos que nos faciliten poder distinguir a las células y sus estructuras. El uso de sustancias específicas, permiten la observación de las diferentes partes que las constituyen.

Las técnicas de tinción son diversas, pero en general todas buscan el mismo objetivo, lograr que el índice de refracción de las distintas estructuras celulares sea diferente, para que al ser atravesadas por la luz den una imagen no homogénea. Si no se utilizarán colorantes, los rayos de luz pasarían a través de las células sin modificar su trayectoria, o modificándola muy poco, y nos darían una imagen muy homogénea, casi sin ninguna diferencia.

En el estudio citológico de las células vegetales se utilizan diferentes colorantes, los cuales se muestran en la Tabla 2, en la misma se describe la técnica para su aplicación y cuáles son los detalles de las estructuras celulares que permiten observar.

Tabla 2. Colorantes más utilizados en citología

| Colorante | Técnica de aplicación | Estructuras celulares |
|--------------------------|--|--|
| Azul de Cresil o Cresilo | Tinción simple, a la muestra se le agrega directamente una o más gotas del colorante (dependiendo del tamaño de la misma). Si se trata de muestras acuosas de microalgas, únicamente se deberá quitar el exceso mediante papel absorbente si es necesario. | Es usado para incrementar el contraste de la pared celular o bien extensiones de la pared celular como procesos alares o membranosos, papilas, trígonos, lamelas, etc.). |
| Azul de Metileno | Tinción simple, a la muestra se le agrega directamente una o más gotas del colorante (dependiendo del tamaño de la misma). Si se trata de muestras acuosas de microalgas, únicamente se deberá quitar el exceso mediante papel absorbente si es necesario. | Es usado para incrementar el contraste; toda la célula absorberá el colorante y quedará teñida del mismo color. Por tanto, la tinción simple mejora la observación de la célula completa y hará resaltar los organelos más grandes como núcleo y cloroplastos. |
| Carmín Acético | Tinción diferencial, se requiere de colocar la muestra en un portobjetos y agregar el suficiente colorante gota a gota hasta que cubra la misma. El portaobjetos es tomado mediante pinzas de disección y pasado varias veces por una flama hasta que comience a hervir, sin llegar a dejar secar completamente la muestra, ésta se retira de la flama y se le coloca el cubre objetos: Con las mismas pinzas se sujeta el porta y cubreobjetos para hacerles pasar agua, de preferencia destilada, gota a gota hasta que la muestra queda lavada. | Permite distinguir el o los núcleos, incrementando el contraste entre el citoplasma y el núcleo. |

Tabla 2. Colorantes más utilizados en citología (Continuación)

| | | |
|-------------|---|---|
| Lugol | Tinción diferencial, se requiere de colocar la muestra en un portobjetos y agregar el suficiente colorante gota a gota hasta que cubra la misma, únicamente se deberá quitar el exceso mediante papel absorbente si es necesario. | Permite distinguir las estructuras que contengan polisacáridos como el almidón o sus derivados, incrementando el contraste entre el citoplasma y estas estructuras (pirenoides y cloroplastos). |
| Rojo Congo | Tinción simple, se requiere de colocar la muestra en un portobjetos y agregar el suficiente colorante gota a gota hasta que cubra la misma, si se trata de muestras acuosas de microalgas, únicamente se deberá quitar el exceso mediante papel absorbente si es necesario. | Es usado exclusivamente para incrementar el contraste de la pared celular. |
| Rojo Neutro | Tinción simple, se requiere de colocar la muestra en un portobjetos y agregar el suficiente colorante gota a gota hasta que cubra la misma, si se trata de muestras acuosas de microalgas, únicamente se deberá quitar el exceso mediante papel absorbente si es necesario. | Permite incrementar el contraste entre el citoplasma y las vacuolas para su observación. |
| Rojo Sudán | Tinción simple, se requiere de colocar la muestra en un portobjetos y agregar el suficiente colorante gota a gota hasta que cubra la misma, si se trata de muestras acuosas de microalgas, únicamente se deberá quitar el exceso mediante papel absorbente si es necesario. | Sirve para poner de manifiesto la región lipídica de la membrana. |

3.1. Objetivo

Obtener los conocimientos básicos del manejo y limpieza de microscopios, para su correcto uso en la observación de organismos protistas.

3.2. Materiales y Equipo

- | | | |
|-------------------------|--------------------|---------------------------------|
| | Colorantes: | Otros: |
| ➤ Microscopio compuesto | ➤ Lugol | ➤ Papel seda |
| ➤ Porta y cubreobjetos | ➤ Azul de cresil | ➤ Papel higiénico |
| ➤ Goteros | ➤ Azul tripano | ➤ Aceite de inmersión |
| ➤ Pipetas Pasteur | ➤ Azul de metileno | ➤ Solución limpia lentes |
| ➤ Agujas de disección | ➤ Carmín acético | ➤ Material biológico: |
| | ➤ Rojo neutro | muestras de agua dulce y marina |

3.3. Desarrollo

Antes de iniciar la sesión es conveniente que observes el microscopio que se te proporcione, familiarízate con él, toma en cuenta que existen diferentes modelos, pero en general tienen las mismas partes básicas.

Normalmente tu microscopio ya se encuentra calibrado, en la Figura 37 se muestra cuando tu microscopio no está calibrado

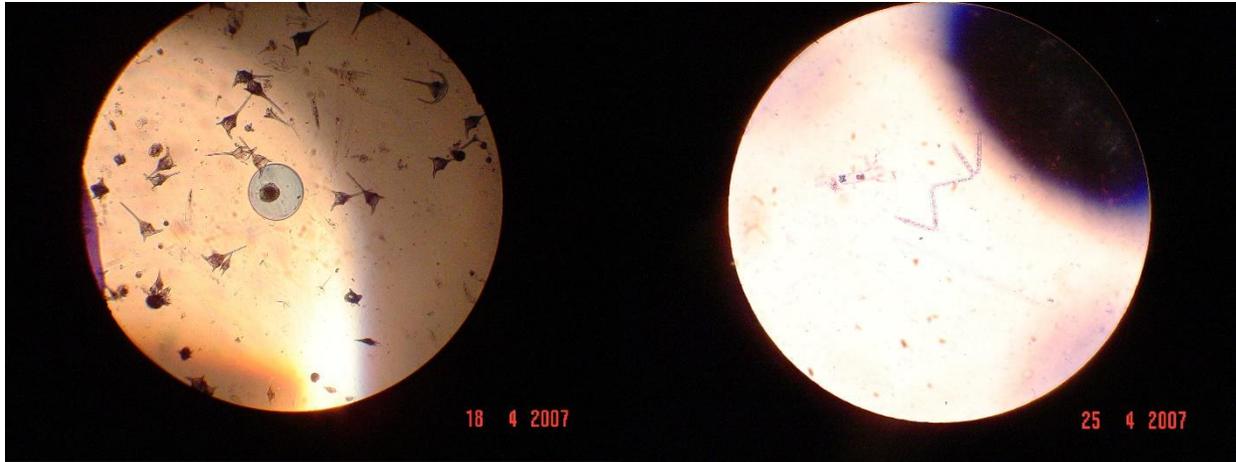


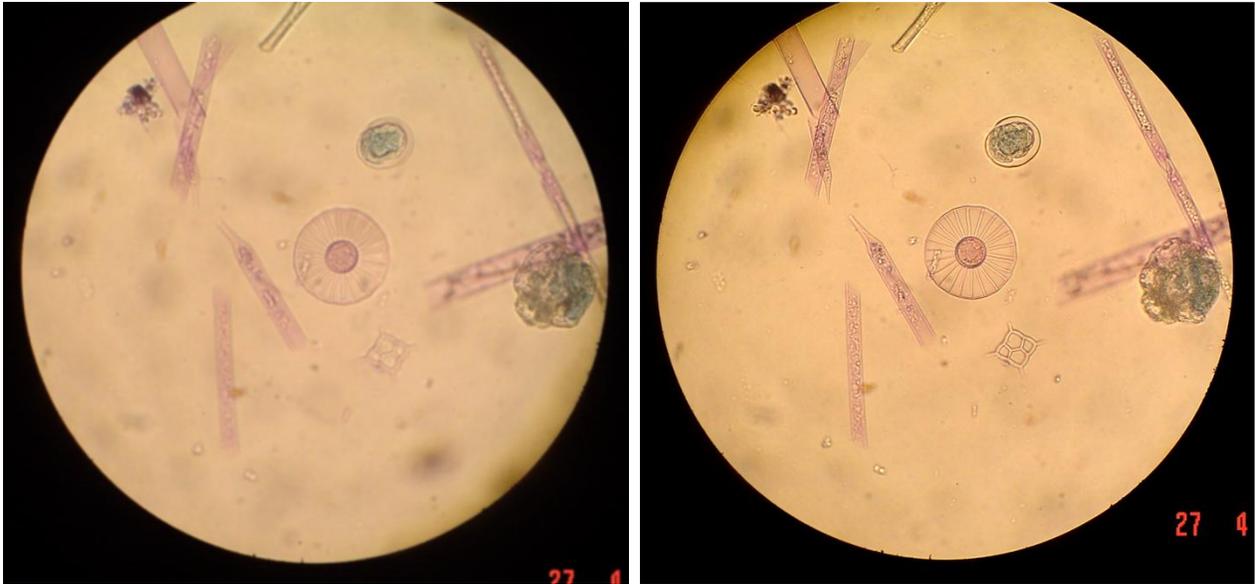
Figura 37. Fotografías que muestran cuando un microscopio está mal calibrado.

4. El proceso de Calibración de la Luz del Microscopio

Para saber si tu microscopio está o no calibrado, es necesario que sigas estos pasos:

a) Conecta el microscopio a la de toma corriente y enciéndelo, cuidado no subas toda la luz o te deslumbraras por un rato.

b) Coloca una gota de agua con organismos en un portaobjetos y ponle el cubreobjetos, ponlo en la platina, asegúrate de que el objetivo de 5X este en la posición para observar, sube la platina hasta el tope mediante el tornillo macrométrico y observa tu muestra. Busca tu enfoque del organismo utilizando el tornillo micrométrico, no todos tenemos la misma definición (Fig. 38)



Mal enfocado

Bien enfocado

Figura 38. Enfoque adecuado de tus muestras.

c) Ya que has logrado enfocar al organismo, con el objetivo de 5X, en caso de no contar con este objetivo déjalo en el de 10X, cierra totalmente ambos diafragmas, sube toda la luz (cuidado hazlo sin observar por el ocular) y trata de buscar un hexágono de luz bien definido y de un solo color en su entorno al centro del campo de observación.

“TIENES EL HEXÁGONO DE LUZ, ENTONCES YA ESTA CALIBRADO TU MICROSCOPIO”

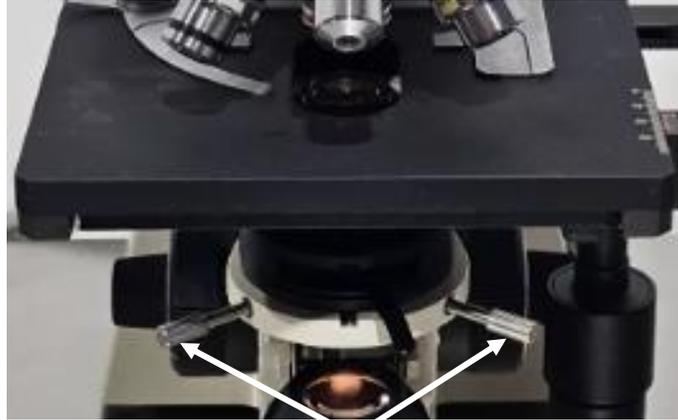
“NO TIENES EL HEXÁGONO DE LUZ O ESTA MUY DIFUSO O HACIA UN LADO”, ENTONCES TU MICROSCOPIO NO ESTA CALIBRADO”

d) Cierra ambos diafragmas (el del condensador y el de la fuente de luz).

e) Observa por los oculares, busca un hexágono de luz perfectamente definido en el interior del campo de observación.

f) Si el hexágono de luz no está definido, utiliza el tornillo de elevación del condensador para subir el mismo hasta precisar perfectamente la figura del hexágono. Checa que ese hexágono de luz se encuentre en el centro del campo.

g) Si el hexágono está desplazado hacia algún lado fuera del centro, utiliza los tornillos de centrado del condensador para desplazarlo lentamente hacia el centro del campo de observación (Fig. 39)



Tornillos de centrado del haz de luz

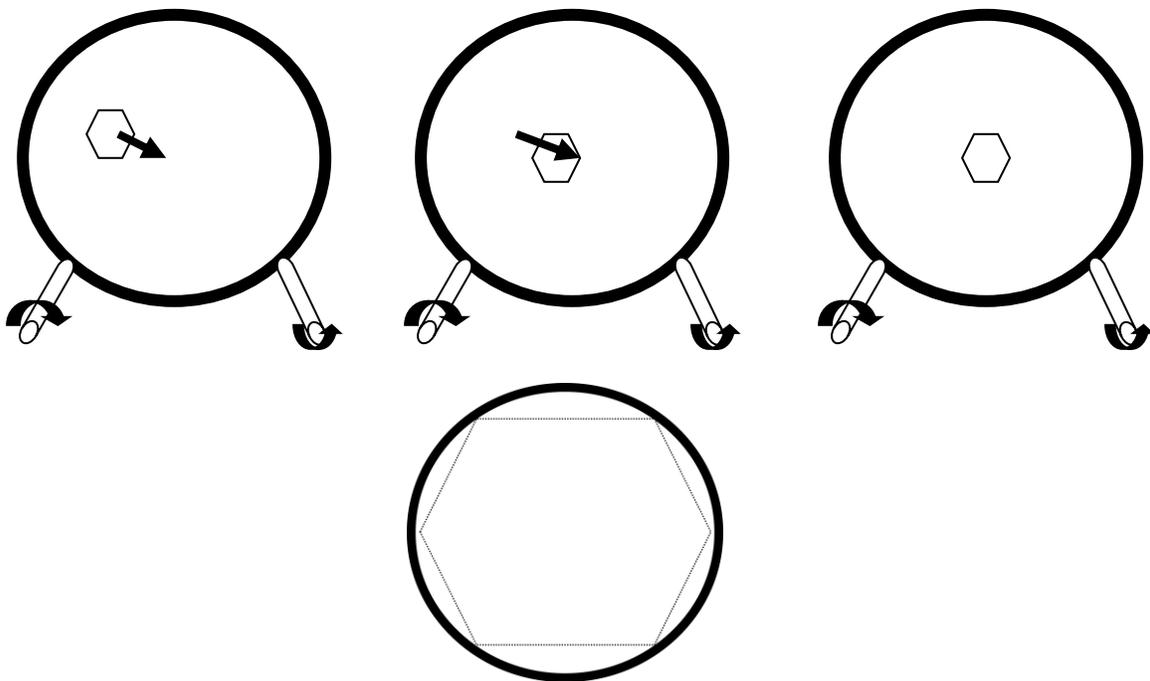


Figura 39. Desplazamiento del hexágono de luz mediante los tornillos del condensador.

h) Una vez ubicado el hexágono de luz en el centro del campo, baja la intensidad de la luz y procede a abrir el diafragma de la fuente de luz, el del condensador mantenlo cerrado.

i) Ahora sí, ya está listo el microscopio para poder utilizarlo, pasa el revólver al objetivo de 10X y busca los organismos en tu muestra.

5. La Observación de los organismos

a) Una vez que has enfocado los organismos con el objetivo de 5X o de 10X, según sea el caso, entonces pasa del objetivo de menor aumento a uno de mayor aumento, si la distancia focal es la correcta, entonces este paso es automático, es decir, si tu mueves

el revólver a cualquiera de los objetivos de mayor aumento no tendrás ningún problema, por precaución hazlo lentamente.

¡OJO! cuando pases del objetivo de 10X al de 40X o de este último al de 100X, si notas que va a chocar con tu portaobjetos entonces baja un poco la platina con el tornillo micrométrico y pasa el objetivo, después enfoca con el tornillo micrométrico y listo a observar.

b) Si deseas hacer observaciones a detalle, ya sea en un organismo muy pequeño o para ubicar algún organelo, entonces tendrás que utilizar el objetivo de inmersión de 100X, pero ¡CUIDADO! este objetivo solamente se puede usar con ayuda de un aceite especial que normalmente es de cedro llamado aceite de inmersión, por eso se le llama objetivo de inmersión.

c) Para colocar la gota de aceite, primero cierra el diafragma del condensador hasta que quede un pequeño rayo de luz, mueve el revólver a que quede entre el objetivo de 40X y el de 100X, en el haz de luz agrega la gota, ahora abre tu diafragma y pasa lentamente al objetivo de inmersión, checa que este no vaya a pegar con el portaobjetos, si es así, entonces baja un poco la platina y enfoca después con el tornillo micrométrico.

d) Una vez finalizada la sesión de observación se baja la platina y mueve el revólver de derecha a izquierda para colocar el objetivo de menor aumento ya sea 5X o 10X, dependiendo del tipo de microscopio que uses. En este momento ya se puede retirar la preparación de la platina.

NOTA

Nunca se debe retirar el portaobjetos estando en el objetivo de inmersión en posición de observación.

Limpia el objetivo de inmersión con cuidado empleando un papel especial para óptica.

Comprobar también que el objetivo 40X está perfectamente limpio.

5.1. Objetivo

Observar y diferenciar las estructuras citológicas y morfológicas de los protistas

5.2. Materiales y Equipo

- | | Colorantes: | Otros: |
|-------------------------|--------------------|---------------------------------|
| ➤ Microscopio compuesto | ➤ Lugol | ➤ Papel seda |
| ➤ Porta y cubreobjetos | ➤ Azul de cresil | ➤ Papel higiénico |
| ➤ Goteros | ➤ Azul tripano | ➤ Aceite de inmersión |
| ➤ Pipetas Pasteur | ➤ Azul de metileno | ➤ Solución limpia lentes |
| ➤ Agujas de disección | ➤ Carmín acético | ➤ Material biológico: |
| | ➤ Rojo neutro | Muestras de agua dulce y marina |

5.3. Desarrollo

5.3.1. Preparaciones Microscópicas

El primer paso para la observación de protistas en el microscopio es la preparación de muestras en portaobjeto y cubreobjetos, sin embargo, si no contamos con un buen material, bien fijado y preservado de nada nos serviría. Una correcta preparación de nuestras muestras nos permitirá obtener datos precisos como es el caso de la morfología, la movilidad y otras características citológicas de importancia taxonómica para una correcta identificación de los protistas analizados.

Un requisito indispensable es el que nuestras muestras deben de prepararse lo más tenue posible, sin exagerar la cantidad de concentrado. Otro aspecto importante es la limpieza del material que vamos a utilizar, para lo cual se requiere que tanto los portaobjetos como los cubreobjetos deberán de mantenerse en una solución de alcohol al 70 %, los mismos, antes de usarse, tendrán que secarse con un paño limpio libre de grasa.

Las preparaciones microscópicas pueden ser frescas, temporales, semipermanentes y permanentes, a continuación, se describe cada una de ellas:

a) Preparaciones frescas, estas solo se usan durante una práctica de corta duración y generalmente se hacen a partir de material vivo y posteriormente se lavan. Mediante un gotero se toma una submuestra concentrada del material biológico a observar, se coloca dos o tres gotas del concentrado en un portaobjetos. Se pone el cubreobjetos de manera oblicua haciendo que la muestra corra por el extremo que está en contacto con el portaobjetos y dejarlo caer de un solo golpe, sin levantar el extremo de contacto para evitar la formación de burbujas (Fig. 40)

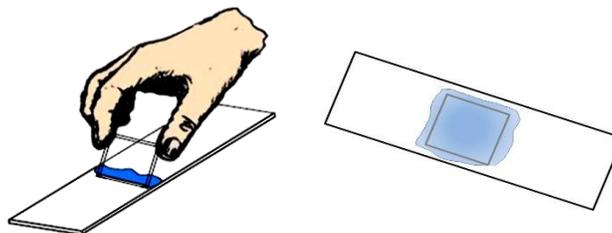


Figura 40. Izquierda, colocación de cubreobjetos sobre la muestra concentrada, derecha forma adecuada de la preparación para su observación en microscopio compuesto óptico.

b) Preparaciones temporales, estas se usan durante una práctica de larga duración incluso pueden ser días y pueden elaborarse a partir de material vivo o fijado y posteriormente se lavan. Para este caso se tienen dos modalidades que se describen a continuación:

- Preparación con glicerina al 10 %, colocar dos gotas de glicerina al 10 % sobre un portaobjetos, agregar dos gotas del concentrado de protistas y colocar el

cubreobjetos sobre la muestra sin formar burbujas. Este tipo de preparaciones son para mediano tiempo, por ejemplo, las tres horas de laboratorio de esta materia.

- Preparación con vaselina o barniz transparente, colocar dos gotas de material concentrado sobre un portaobjetos, colocar el cubreobjetos sobre la muestra sin formar burbujas, sellar los bordes del cubreobjetos ya sea con vaselina o con barniz transparente. Este tipo de preparaciones son para mediano tiempo, por ejemplo, las tres horas de laboratorio de esta materia.

c) Preparaciones semipermanentes, este tipo de preparaciones tienen una duración casi perdurable y pueden elaborarse a partir de material vivo o fijado, el material de portaobjetos y cubreobjetos no se lava después de su uso, ya que generalmente estas laminillas se incorporan a una colección científica, su montaje se describe a continuación:

- Colocar dos gotas de miel con fenol en un portaobjetos.
- Agregar una gota de muestra concentrada sobre la miel con fenol, de ser necesario agregar colorante según sea el caso y homogenizar mediante una aguja de disección sin agitar fuerte.
- Poner el cubreobjetos de manera oblicua haciendo que la muestra corra por el extremo que está en contacto con el portaobjetos y dejarlo caer de un solo golpe, sin levantar el extremo de contacto para evitar la formación de burbujas (Fig. 41)

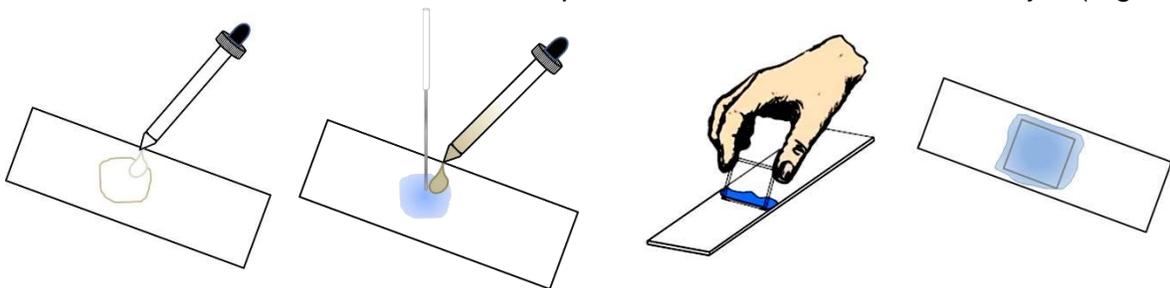


Figura 41. Izquierda gotas de miel con fenol, centro colocación de la gota de muestra concentrada, derecha colocación de cubreobjetos sobre la muestra.

d) Preparaciones permanentes, este tipo de laminillas son perdurables, y son las ideales para una colección científica, para el caso de las frústulas de diatomeas se requiere de una técnica de limpieza previa al montaje ya sea con permanganato de potasio o con peróxido de hidrógeno, una vez limpias las frústulas se montan en Naphrax que presenta un alto índice de refracción, 1.73, medio de montaje que permite destacar estructuras de importancia taxonómica como son las ornamentaciones de las frústulas de las diatomeas. Sin embargo, el medio de montaje más comúnmente utilizado es el bálsamo de Canadá.

Para cualquiera de las preparaciones temporales o semipermanentes se pueden utilizar colorantes dependiendo de las características que uno quiera observar, la técnica para llevar a cabo esta actividad se presenta continuación:

- Colocar dos gotas de miel con fenol en un portaobjetos.
- En un extremo de la gota de miel colocar una pequeña gotita del colorante a utilizar.

- Mediante una aguja de disección arrastrar el colorante hacia la miel y revolver hasta homogenizar el color.
- Agregar una gota de muestra concentrada sobre la miel coloreada y homogenizar mediante una aguja de disección, sin agitar fuerte (Fig. 42)
- Colocar el cubreobjetos sin llegar a formar burbujas.

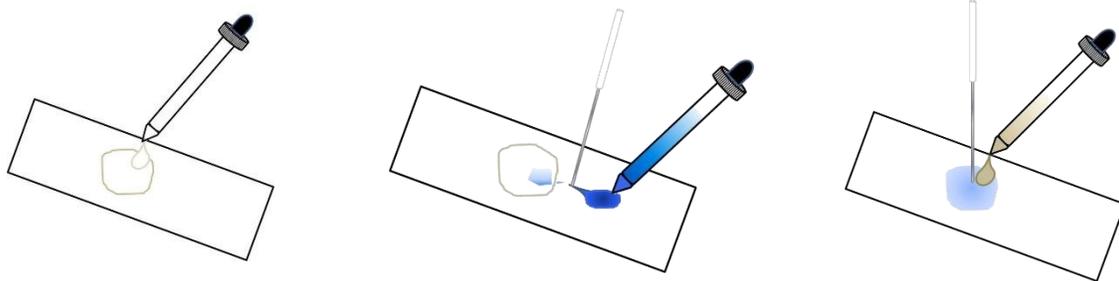


Figura 42. Izquierda gotas de miel con fenol, centro incorporación del colorante y derecha colocación de la gota de muestra concentrada.

Si las laminillas semipermanentes van a ser entregadas al laboratorista para su posible incorporación a una colección científica, entonces cada una de ellas deberá de rotularse en el lado derecho del portaobjetos (Fig. 43), utilizando para ello un marcador de punto fino y de tinta permanente con los siguientes datos:

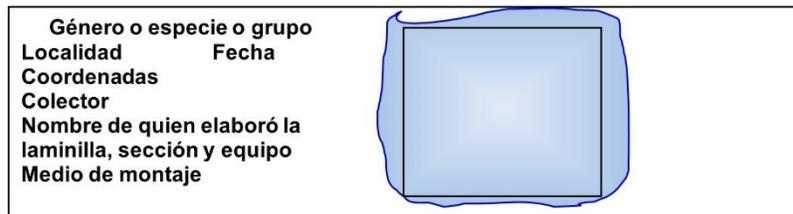


Figura 43. Rotulación de laminilla semipermanente.

Una vez realizada la preparación, el siguiente paso es la observación al microscopio compuesto óptico, para lo cual se deben seguir los pasos que a continuación se describen:

- Revisar que este el objetivo de menor aumento y que la platina este abajo, para poder colocar la laminilla sobre ella, asegurándose que ésta quede bien sujeta mediante las pinzas del portamuestras de la platina (Fig. 44)

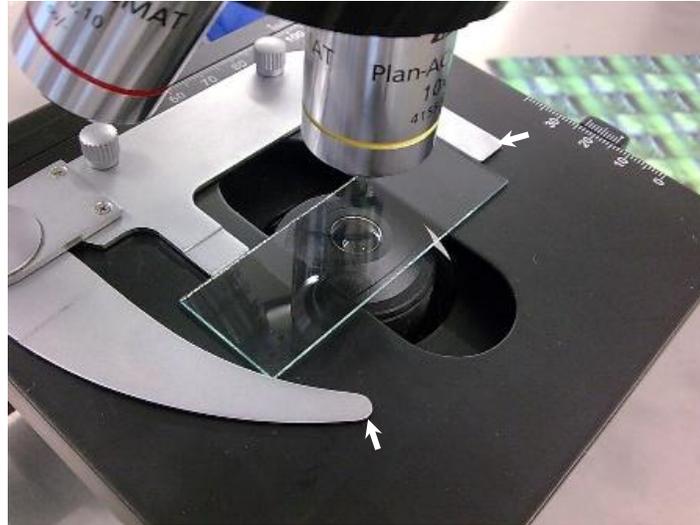


Figura 44. Platina con portaobjetos sujetado por las pinzas.

- Una vez colocada la muestra sobre la platina se procede a enfocar, para lo cual se utilizará el objetivo de menor aumento que tenga el microscopio compuesto óptico, para este proceso se requiere de estar observando por los oculares y subir la platina mediante el tornillo macrométrico hasta lograr la nitidez de nuestra muestra.
- Ya que se tenga la nitidez idónea, podremos usar directamente los otros objetivos, 10x, 20x, 40x, los cuales se pasan directamente sin mover la platina. OJO puede ocurrir que al querer utilizar el objetivo de 40x este choque con nuestra muestra, si es el caso entonces se procede a bajar ligeramente la platina y cambiar al objetivo de 40x, el enfoque entonces se deberá de realizar mediante el tornillo micrométrico.
- Si se requiere la utilización del objetivo de inmersión, 100x, primeramente, debemos de mover levemente hacia la derecha el objetivo de 40x, sin que toque el objetivo de 100x, enseguida procedemos a cerrar los diafragmas tanto del condensador como el de la fuente de luz, hasta dejar pasar un pequeño rayo de luz por la laminilla de muestra, hecho esto colocaremos una pequeñita gota de aceite de inmersión sobre el anillo de luz, sin que el gotero toque el cubreobjetos. El enfoque deberá llevarse a cabo utilizando el tornillo micrométrico, teniendo siempre cuidado de que el objetivo no presione la laminilla de la muestra para evitar romperla.

Existe una técnica específica para la observación de núcleos en organismos multinucleados como es el caso de *Vaucheria* sp., la misma se describe enseguida:

- Agregar a un porta objetos dos gotas de agua y colocar con pinzas una pequeña muestra de filamentos de *Vaucheria* sp., tomar el portaobjetos con pinzas de disección y calentar la muestra en un mechero sin que llegue a evaporarse.
- Adicionar tres gotas de carmín acético a la muestra y extender los filamentos mediante agujas de disección bajo un microscopio estereoscópico.

- Tomar el portaobjetos con las pinzas de disección y exponerlo nuevamente a la flama de una lámpara de alcohol o de un mechero bunsen, pasándolo dentro y fuera de la flama hasta que se caliente la preparación sin que hierva.
- Una vez que el colorante adquirió viscosidad de ser necesario se debe agregar gotas de agua cuida de no dejar que se salgan los filamentos se coloca el cubreobjetos al portaobjetos con la muestra.

Una vez enfocados los organismos se procederá a dibujar y colocar los nombres de las estructuras observadas y tomarles fotografías cuando menos en tres enfoques diferentes con el mismo objetivo, utilizando para ello el tornillo micrométrico de acuerdo con los diferentes caracteres diagnósticos (Fig. 45 autótrofos, Fig. 46 mixótrofo y heterótrofo)

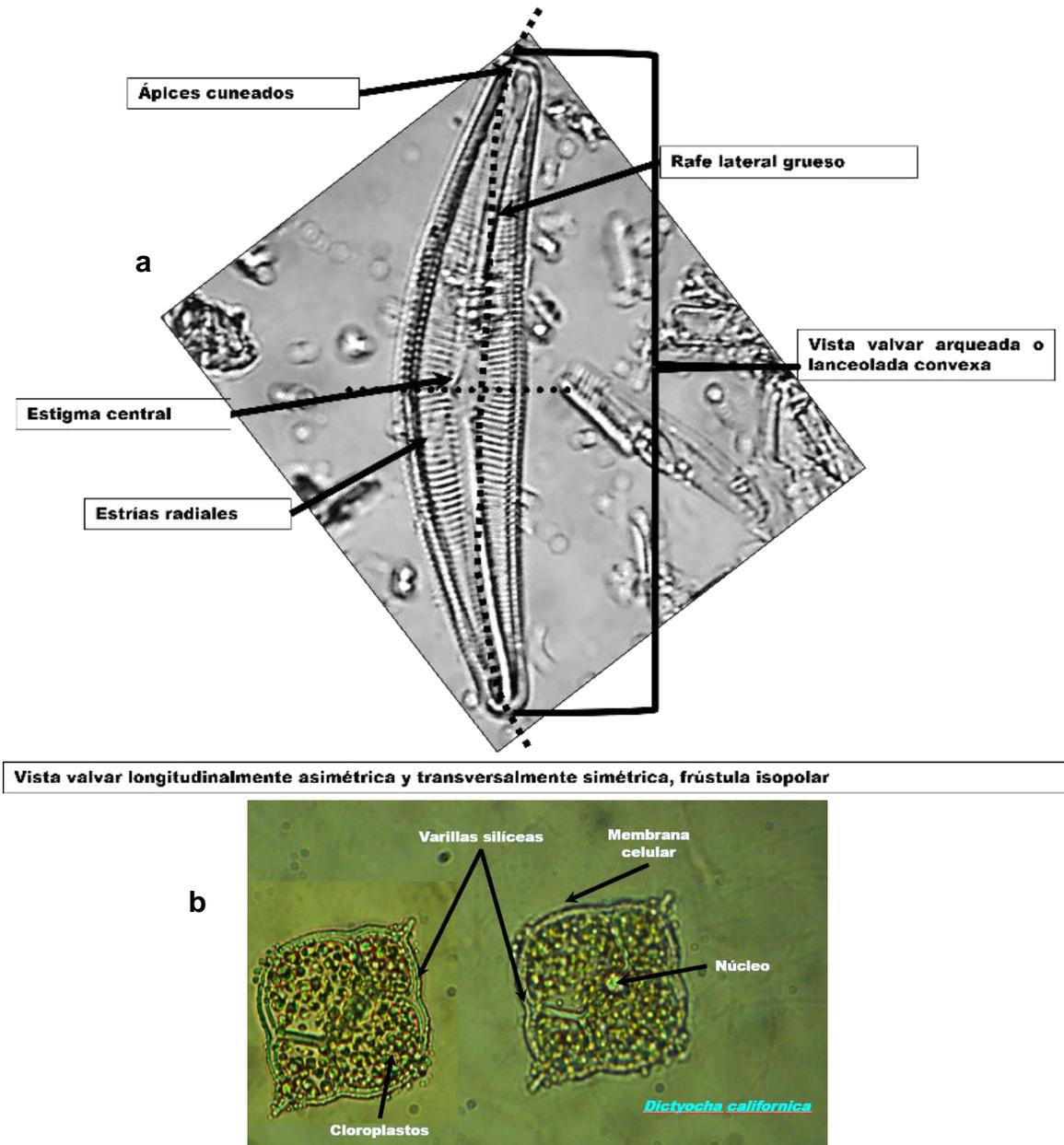


Figura 45. Caracteres diagnósticos de protistas autótrofos, a) *Cymbella* sp. b) *Dictyocha* sp.)

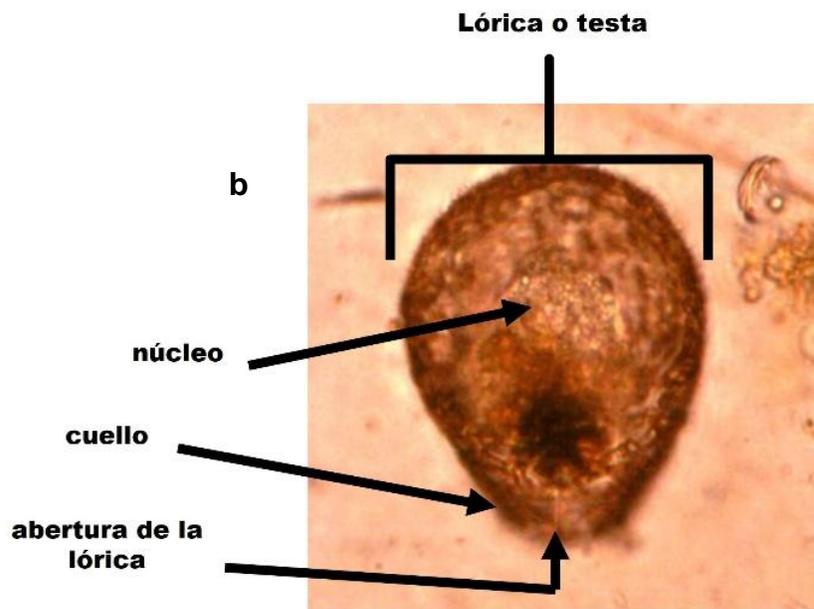
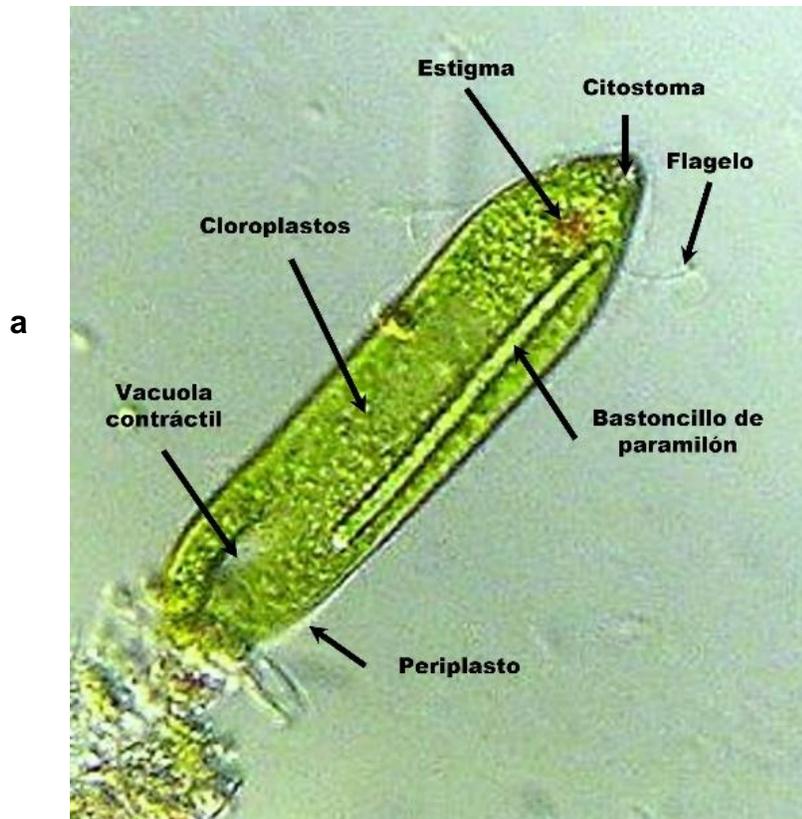


Figura 46. Caracteres diagnósticos de protistas a) mixótrofo *Euglena* sp. y b) heterótrofo *Diffugia oblonga*.

➤ Observación de la cubierta celular.

a) Colocar dos gotas del sedimento de la muestra de agua dulce y agregarle dos gotas de azul de cresil y dos de agua para cubrir la muestra y dejarla reposar aproximadamente dos minutos.

b) Colocar el cubreobjetos y observar:

- Tipo de cubierta externa (periplasto, pared celular y ornamentaciones)

REALIZAR ESQUEMAS Y COLOCAR LOS NOMBRES DE LAS ESTRUCTURAS OBSERVADAS

➤ Observación de gránulos de reserva y cloroplastos

a) Colocar dos gotas del sedimento de la muestra de agua dulce y agregarle dos gotas de lugol y dos gotas de agua para cubrir la muestra y dejarla reposar aproximadamente dos minutos.

b) Colocar el cubreobjetos y observar:

- Gránulos de reserva
- Tipos de cloroplastos por su forma

REALIZAR ESQUEMAS Y COLOCAR LOS NOMBRES DE LAS ESTRUCTURAS OBSERVADAS

➤ Observación del o los núcleos

a) Colocar dos gotas del sedimento de la muestra de agua dulce y agregarle dos gotas de azul de metileno y dos gotas de agua para cubrir la muestra y dejarla reposar aproximadamente dos minutos.

b) Colocar el cubreobjetos y observar:

- Número de núcleos
- Forma de los núcleos

REALIZAR ESQUEMAS Y COLOCAR LOS NOMBRES DE LAS ESTRUCTURAS OBSERVADAS

Nota: si existe un exceso demasiado evidente de colorante elimínalo cuidadosamente con papel higiénico.

c) Ahora coloca en un portaobjetos una muestra de pocos filamentos de de *Vaucheria* sp., y repite la técnica mencionada en la página 42 y observar:

- Forma y número de núcleos
- Presencia o ausencia de tabiques transversales

REALIZAR ESQUEMAS Y COLOCAR LOS NOMBRES DE LAS ESTRUCTURAS OBSERVADAS

Observación de morfología celular

a) Utilice las muestras preparadas para los casos anteriores y observe:

- Tipo de flagelos
- Diversidad Morfológica

REALIZAR ESQUEMAS Y COLOCAR LOS NOMBRES DE LAS ESTRUCTURAS OBSERVADAS

Elaborar un cuadro comparativo de los géneros observados, utiliza los que se te presentan enseguida y crea una clave dicotómica artificial tomando en cuenta los tipos morfológicos observados.

Cuadro comparativo de los géneros observados

| GÉNEROS | ORGANIZACIÓN CELULAR | FORMA DE LAS CÉLULAS | CUBIERTAS CELULARES (TIPOS) | DIFERENCIACIÓN CITOLÓGICA (ORGANELOS) | ORGANELOS DE LOCOMOCIÓN (TIPO) | DIFERENCIACIÓN SUPERFICIAL (ORNAMENTACIONES) |
|------------------------|----------------------|----------------------|-----------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|--|
| <i>Vaucheria</i> sp. | | | | | | |
| <i>Phacus</i> sp. | | | | | | |
| <i>Paramecium</i> sp. | | | | | | |
| <i>Chaetoceros</i> sp. | | | | | | |

PRÁCTICA No. 2. EL PROCESO DE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

1. Introducción

La investigación científica no es exclusiva de nuestro siglo, ya que se remonta a los tiempos de Galileo quién utilizó lo que se llamó por mucho tiempo, "Método Científico", es un procedimiento que utilizan las personas de ciencias para comprobar hipótesis, solucionar problemas, formular teorías, etc.

La investigación, orienta al investigador en su razonamiento y aproximación a la realidad, ordena sus acciones y aporta criterios de rigor científico de supervisión de todo el proceso. El proyecto de investigación debe situar las bases de la investigación a realizar, su valor se establece en la medida en que tiene plena claridad y concreción en las razones para analizar el problema elegido. En suma, el protocolo demuestra que el investigador conoce suficientemente el tema y tiene las ideas claras sobre la estructura del proceso y el camino por el que pretende aportar al conocimiento científico.

2. Objetivo de la práctica

Aprender a elaborar un protocolo de investigación tomando como base a los protistas de vida libre y/o asociados.

3. El protocolo de investigación

3.1. El Método Científico como Herramienta de Investigación

Para realizar tu proyecto deberás emplear el método científico. Esta es la herramienta que usan los biólogos y científicos en general para encontrar las respuestas a sus interrogantes. Antes de empezar tu proyecto, es conveniente repasar los pasos de este método de investigación, que te presentaremos de manera muy simplificada:

- Observar e investigar.
- Plantearse una pregunta o problema.
- Establecer una hipótesis, lo que es una posible respuesta a la pregunta.
- Realizar la investigación necesaria, esto es experimentar, recopilar datos, buscar información.
- Llegar a una conclusión, que compruebe o rechace tu hipótesis.

El método científico es un proceso dinámico, que requiere observar todo el tiempo, buscar información continuamente y planificar experimentos para demostrar tu hipótesis.

Antes de comenzar con el proyecto es conveniente verificar los siguientes pasos, de manera que se pueda tener claridad y organización:

a) ¿Qué quiero investigar, descubrir o comprobar?, Este es el tema.

b) ¿Por qué quiero indagar o experimentar sobre este tema?, justificación e importancia.

c) ¿De qué manera o por qué ocurre o se produce el fenómeno que deseo investigar?, planteamiento del problema, se esboza una pregunta para formularlo, ¿Qué? ¿Por qué?

d) ¿Para qué quiero investigar?, objetivo.

e) ¿Qué explicación o respuesta podría tener el problema planteado?, hipótesis.

f) ¿Qué se ha escrito y cómo se ha enfocado en los libros, las revistas, artículos en Internet o los periódicos sobre este tema?, marco teórico, marco de referencia o antecedentes.

g) ¿Qué debo hacer para lograr realizar este descubrimiento o esta investigación?, metodología o procedimiento.

h) ¿Dónde voy a hacer la investigación?, área o lugar.

9. ¿Cuándo la voy a realizar?, es el cronograma, el período de tiempo.

i) ¿Qué materiales y técnicas se necesitan para realizar este experimento o investigación?, materiales y métodos.

j) ¿Qué descubrimos después de realizar el experimento o la investigación?, resultados (discusión esquemas, gráficos, modelos).

k) ¿Quiénes vamos a realizarla?, el equipo humano.

l) ¿Dónde voy a presentar los resultados?, lugar de exposición.

m) ¿De qué manera voy a presentar la información?, informe escrito, modelo experimental, ponencia oral, cartel, etc.

Para adentrarse en el tema es necesario conocer los estudios, investigaciones y trabajos anteriores.

Conocer lo que se ha hecho con respecto a un tema, ayuda a:

- No investigar sobre algún tema que ya ha sido estudiado muy a fondo.
- Estructurar más formalmente la idea de investigación.

La elección del tema para el proyecto, deberá de estar sustentada en una investigación de tipo bibliográfico y electrónico, para este caso, necesitamos conocer que se ha hecho sobre los protistas microalgales y protozoos en México y en particular en Michoacán.

3.2. Que Tema Escoger para el Proyecto

Aquí te presentamos algunas ideas que te pueden ayudar a seleccionar el tema de tu trabajo. Recuerda que lo más importante es que te interese el tema. Busca algo que despierte tu curiosidad científica, auxíliate de lo que el profesor (a) haya expuesto con respecto al tema a desarrollar.

- Ficoflora
 - ¿Cuántas especies de microalgas existen en la costa?, ¿Cuál grupo de microalgas es dominante en la costa?, ¿Existen diferencias en cuanto especies en toda la costa?
- Estructura y distribución de las microalgas.
 - ¿Las especies de microalgas son diferentes en el medio marino a las localizadas en sistemas dulceacuícolas o salobres adyacentes?
 - ¿Las especies de microalgas son indicadoras de particularidades ecológicas (calidad del agua, perturbaciones, sucesión, indicadores paleoclimáticos, etc.), en un mismo cuerpo de agua?
 - ¿Qué origen climático tienen las microalgas en la costa michoacana o en un cuerpo de agua epicontinental?
- Relaciones de causa y efecto
 - ¿Qué importancia tiene el hábitat en la presencia o ausencia de diferentes microalgas?
 - ¿Cuál expresión morfológica de las microalgas es dominante en los diferentes cuerpos de agua?
 - ¿Influyen las condiciones ambientales en la expresión morfológica de las microalgas y su distribución?
- Protozoología
 - ¿Cuántas especies de protozoos existen en un cuerpo de agua?
 - ¿Cuál grupo de protozoos es dominante en un cuerpo de agua?
- Estructura y distribución de los protozoos
 - ¿Existen diferencias en cuanto especies de protozoos entre un sistema marino y uno dulceacuícola adyacente?
 - ¿Se distribuyen de igual manera todas las especies de protozoos en todos los cuerpos de agua estudiados?
- Relaciones de causa y efecto
 - ¿Las especies de protozoos son indicadoras de particularidades ecológicas (calidad del agua, perturbaciones, sucesión, etc.), en un cuerpo de agua determinado?
 - ¿Qué importancia tiene el hábitat en la presencia o no de diferentes protozoos?
 - ¿Cuál expresión morfológica de los protozoos es dominante en los diferentes cuerpos de agua?
 - ¿Influyen las condiciones ambientales en la expresión morfológica de los protozoos y su distribución?

Los mismos cuestionamientos se pueden aplicar para el caso de los protistas asociados, ya sean parásitos, simbioses, comensales, epífitos o epizóicos, etc.

Añade nuevas ideas o aspectos a otros trabajos investigativos y crea tu propio proyecto. Como vez, el cielo es el límite, hay infinidad de cosas que investigar.

3.3. Formulación de los Antecedentes

Todo hecho anterior a la formulación del problema que sirve para aclarar, juzgar e interpretar el problema planteado, constituye los antecedentes del problema. Establecer los antecedentes, de ninguna manera es hacer un recuento histórico del mismo, o presentar fuentes bibliográficas que se van a utilizar, o los datos recolectados que no sabemos en dónde ubicar, o la descripción de las causas del problema, a no ser que la investigación sea causal.

En los antecedentes se trata de hacer una síntesis conceptual de las investigaciones o trabajos realizados sobre el problema formulado, con el fin de determinar el enfoque metodológico de la misma investigación. El antecedente puede indicar conclusiones existentes en torno al problema planteado. En la presentación de antecedentes se busca aprovechar las teorías existentes sobre el problema con el fin de estructurar el marco metodológico. Debe estar en función del problema y ser un medio seguro para lograr los objetivos del mismo.

Antecedentes que no hayan sido trabajados mediante algún tipo de relación con el problema, son sobrantes. Consultando antecedentes libramos el riesgo de investigar lo que ya está hecho.

Una forma para darle orden a nuestra investigación de la información (bibliográfica, electrónica, iconográfica, etc.) y además de la manera como deberán presentarse los antecedentes, primero se abordarán aquellos trabajos de tipo general, para después irse centrado a los de mayor relación con el tema que se decidió “En otras palabras, redactar utilizando una estructura lógica deductiva”.

“Un dato aislado frecuentemente es infructuoso. Una vez detectado el problema a investigar es necesario revisar los escritos sobre el tema, o sobre otros muy ligados a él, lo cual puede ampliar el panorama o afirmar las dudas respecto a los antecedentes. Después de consultarlos es conveniente hacer un resumen de los datos recolectados a fin de tenerlos al alcance cuando sea necesario. Si no se resume se corre el riesgo de olvidar lo aportado por cada autor; si no se consulta la obra de otros investigadores se corre el riesgo de repetir investigaciones o buscar soluciones ya encontradas.” (Arias Galicia)

Obviamente todo trabajo consultado requiere de un resumen, los resúmenes sirven para facilitar la retención del material que has estudiado, ya que se asimila en síntesis los aspectos esenciales de cada tema. Además, te sirven para preparar tus exámenes, ya que con ellos puedes evaluar tu comprensión de los temas de estudio.

Para realizar un resumen debes haber leído previamente el material y haber comprendido, de manera tal que puedas expresarlo con tus propias palabras o puedas ligar las frases que usa el autor de manera adecuada.

La elaboración de un resumen implica algunos pasos que facilitarán su redacción:

- Elimina el material innecesario o secundario

Esto quiere decir que descartes aquellas frases que te sirvieron para comprender la idea principal de un párrafo, pero que ahora puedes prescindir de ellas y dejar solo la idea principal.

- Elimina el material importante pero redundante.

Este material es el que se repite o abunda en la idea principal

- Encuentra términos generales que incluyan varios objetos similares.

Esto quiere decir que tendrás que encontrar una o varias palabras para utilizarlas en lugar de objetos con características comunes.

- Sustituye una serie de eventos o sucesos por un término más general que los incluya.

Es similar al paso anterior solo que aplicado a acciones o situaciones.

- Identifica la oración tópica.

La oración tópica es aquella en la que se expone el tema central, la idea más importante de la que se trata un párrafo. La puedes encontrar al inicio, al final o en medio de un párrafo. Frecuentemente tendrás que localizar dentro del párrafo datos, hechos o personajes que aparezcan separados, para después ligarlos y así formar oraciones tópicas. Si no encuentras una oración tópica ¡Elabora una! Es importante que captes la esencia del o los párrafos para luego expresarlas con tus propias palabras. Siempre debes conservar la idea original del escrito. Para elaborar un resumen puedes elegir uno o todos los pasos que te sean convenientes.

“Recuerda que: “la práctica hace al maestro”, así que mientras más resúmenes hagas, mejorará tu habilidad para redactarlos y notarás resultados muy pronto en tu aprendizaje”

Para el caso de la elaboración de los resúmenes, en la investigación biológica, es necesario que consideres los siguientes aspectos adicionales a los arriba mencionados:

- Ubica el título del documento a analizar.
- Lee el resumen que pudiera presentarse en los artículos a leer, normalmente las publicaciones científicas exigen a los autores un resumen de su trabajo, sin embargo, este no es el resumen que tú vas a realizar, solamente es una guía para lo que llevaras a cabo posteriormente.
- Sitúa el o los objetivos del trabajo.

- Localiza el área o lugar donde se realizó el trabajo.
- Ubica la metodología que se utilizó para llevar a cabo la investigación, la de campo, laboratorio y de gabinete que utilizaron para procesar los datos obtenidos.
- Analiza a detalle las figuras, gráficos y tablas que contiene el documento y concaténalas con los objetivos y las posibles hipótesis.
- Examina las conclusiones y relaciónalas con los objetivos e hipótesis planteados si es el caso.

Lo anterior nos lleva a considerar el papel que tienen la investigación bibliográfica, incluyendo la electrónica, para nuestro protocolo, esto nos obliga entonces a llevar una serie de citas en los párrafos que empleemos en la redacción de nuestros antecedentes, lo cual nos permite acreditar cuál fue nuestra fuente de información, todas estas se plasmarán en un capítulo llamado “referencias o bibliografía citada”, donde se incluyen todos los elementos del autor (es), u otro tipo de fuente utilizado en la investigación y preparación del trabajo.

La bibliografía consultada, la conforman los trabajos que han servido de apoyo al trabajo realizado y que pueden ser útiles para estudios posteriores o relacionados, y que, además, nos permiten analizar y discutir los resultados que obtengamos para poder establecer las posibles conclusiones.

Se distinguen varios tipos de citas, entre ellas:

- Cita textual: cuando se transcribe un texto literalmente.

a) Si la cita tiene menos de 40 palabras, ésta se coloca entre comillas a continuación del párrafo que se está exponiendo, generalmente nos permite reforzar ideas que surgen del análisis de resultados, es decir, en la discusión de estos.

Ejemplo:

En ambas localidades es notorio el valor de importancia de *Akashiwo sanguinea*, siendo más alto en Boca de La Necesidad. En el primer caso es la biomasa de los individuos de esta especie la que le da el mayor valor a este índice, en tanto que en el segundo es el número de individuos la que proporciona mayor peso al valor de importancia de la especie. De acuerdo a Krebs (1985) “las especies dominantes de una comunidad efectúan un gran control sobre las demás. Éstas se detectan fácilmente por su abundancia numérica o su biomasa”.

“... no existe una sola forma correcta de presentar un trabajo. ... Resulta difícil, al respecto, tratar de formular procedimientos o técnicas que resuelvan esta tarea, pues no se trata de una actividad mecánica sino esencialmente creadora...” (Sabino 1986)

b) Si la cita tiene 40 o más palabras (cita larga), ésta se escribe en una nueva línea, como una nueva división; escriba todo el párrafo con una sangría de cinco puntos desde el margen izquierdo y termínela de igual manera hacia la derecha, siempre y cuando se trate de un párrafo extraído de un texto completo.

Ejemplo:

..... La dominancia se produce cuando una o varias especies controlan las condiciones ambientales que influyen en las especies asociadas. Se dice que una especie es dominante cuando tiene una gran influencia sobre la composición y forma de la comunidad, éstas son de gran éxito ecológico y relativamente abundantes dentro de la comunidad (Krebs 1985)....

- Cita contextual: cuando se resume una parte específica de un documento o del contenido del mismo.

Ejemplo:

Alvarado *et al.* (1996), a partir de muestras de fitoplancton de las playas de “El Salto” y “El Naranjito” del municipio de Aquila, Mich., durante una “Marea Roja”, detectaron que ésta estuvo dominada por *Ceratium tripos* var. *ponticum*, seguida de *Pyrodinium bahamense*, sin embargo, no se pudo definir la toxicidad de la misma debido a la falta de análisis de toxinas en otros organismos filtradores o en peces.

- Cita de cita: cuando se hace referencia a citas mencionadas por otros autores.

Cortés (1994), alude al hecho de que a partir de los años 80s el número de publicaciones sobre las mareas rojas, ha aumentado notablemente. Hace mención de que se creía que no era el número de mareas rojas el que había aumentado sino la cantidad de investigadores sobre el tema, sin embargo, el mismo se responde y analiza lo que ocurre en México. Estima que para los noventas la carencia de información sobre MR era bastante considerable, en tanto que los reportes más antiguos que se tenían eran los de Brongersma-Sanders de 1957, considerándolo como el reporte más antiguo del sureste del Golfo de California; aunque si bien ya en 1878 se reportaba una decoloración amarilla en las aguas del Golfo, y para 1937 Allen menciona la existencia de este fenómeno cerca de la Isla Ángel de la Guardia, donde se observaron hasta 3, 000, 000 céls/l de *Noctiluca scintillans*; en la misma área pero hacia 1939 Gilbert y Allen mencionan que el causante de la marea roja es *Gymnodinium catenatum*.

NOTA

¡CUIDADO NO DEBEMOS DE ABUSAR EL USO DE CITAS DE CITAS!

La cita se puede redactar de tres maneras:

- Con énfasis en el autor: apellido del autor, el año entre paréntesis, el texto analizado.

Ejemplo:

Alvarado y Ceballos (1997), reportan la primera mortalidad masiva de tortuga negra para el Pacífico Mexicano ocurrido en el invierno de 1995 en “Tierra Colorada”, Gro; en el mismo período ocurrieron episodios de marea roja en las costas de los estados de Guerrero (Bahía Petacalco) y Michoacán (Playa Azul). Los mismos mencionan que,

aunque la evidencia es circunstancial, la coincidencia espacio-temporal entre estos dos eventos sugiere a la marea roja provocada por *Pyrodinium bahamense* var. *compressa*, como el agente causante de la mortalidad.

- Con énfasis en el contenido del texto: el texto analizado y, entre paréntesis, el apellido del autor y el año.

Ejemplo:

En mares tropicales y subtropicales es considerable la diversidad de especies de fitoplancton, especialmente de dinoflagelados, entre los que podemos encontrar formas muy vistosas. Esta condición también se refleja en aguas del Pacífico Tropical Mexicano, donde se reporta un número de especies notablemente alto (Hernández-Becerril 1988)

- Con énfasis en la fecha de publicación: es una narración que comienza con el año, luego el apellido del autor y el texto analizado.

Ejemplo:

En 1988, Hernández-Becerril, publica un documento donde menciona un estudio de 16 especies de dinoflagelados marinos procedentes de muestras recolectadas con red en diversos puntos del Pacífico Tropical Mexicano y Golfo de California. Las observaciones son hechas por medio de microscopio fotónico y MEB. Presenta referencias básicas para la identificación: medidas, microfotografías. Discutiéndose su posición y relaciones taxonómicas. De los trece géneros estudiados, dos son monoespecíficos, *Acanthogonyaulax* y *Spiraulax*.

- Con énfasis en la fecha de realización de la investigación: es una narración que comienza con el año, luego el apellido del autor y el texto analizado.

Ejemplo:

En mayo del 2004, se estudia la composición y estructura de los dinoflagelados nocivos en la costa de Michoacán, durante un evento de marea roja. Registrándose 132 especies y 7 variedades, solamente 19 especies y dos variedades se consideran potencialmente nocivas, entre las cuales se encuentran *Alexandrium catenella*, *Amylax triacantha*, *Gonyaulax polygramma*, *Gonyaulax spinifera* y *Lingulodinium poyedrum*. Se encontró que la temperatura dio origen a este florecimiento provocando un aumento de nutrientes, favoreciendo el desenquistamiento de dinoflagelados nocivos en la superficie, los resultados muestran que la comunidad se ordena por una correlación inversa del oxígeno disuelto con las especies provocadoras del agotamiento del mismo, además de la relación inversa entre la abundancia de las especies nocivas con la salinidad y transparencia (Ceballos 2006)

NOTA

Cuando sean tres o más autores, cite al primero y a los subsecuentes como "*et al.*"; en la lista de referencias se mencionan todos los autores.

Ejemplo:

Ortiz *et al.* (1987), estimaron la diversidad y densidad fitoplanctónica de una marea roja ocasionada por *Ceratium furca* en la Bahía de Manzanillo, Colima en junio de 1986, para lo cual establecieron seis estaciones de dos niveles cada una. Los resultados arrojan una biomasa poco elevada (315,142.0 céls/l en la estación cuatro), de ésta el 84.2 % corresponde a *C. furca* y en la estación dos se localizaron 13,985 céls/l de las cuales *C. furca* solamente ocupó el 2.0%, mientras que en la estación seis se localizaron 5, 530, 000.0 céls/l, en ésta, el porcentaje de *C. furca* fue de 95.58%.

Si un mismo autor publica más de un artículo en el mismo año, entonces la cita de cada artículo incluirá a continuación del año de publicación una letra minúscula en orden sucesivo dependiendo del número de artículos publicados.

Ejemplo:

Hernández-Becerril (1995a), durante 5 cruceros realizados en los años de 1984, 1985 y 1986 en distintos meses, analizó la dominancia de los organismos pertenecientes a los géneros de *Rhizosolenia*, *Proboscia*, *Pseudosolenia* presentes en el Golfo de California.

Hernández-Becerril (1995b), en coordinación con CONACYT realizó un crucero denominado "CONACYT I" a bordo del B/O "El PUMA" para determinar la abundancia de fitoplancton en base a la composición de grupos concretos como lo son las diatomeas y los dinoflagelados, encontrando 216 diferentes taxa (especies, formas y variedades), entre las cuales se pueden mencionar algunas especies de diatomeas pertenecientes al género *Rhizosolenia*, como son: *R. alata*, *R. bergonii*, *R. delicatula*, *R. hebetata*, *R. imbricata*, *R. robusta*.

➤ Contextual específica, manuscrito inédito

En el Pacífico Mexicano *Ceratium divaricatum* con su sinónimo de *C. dens* se ha reportado para el Golfo de California y la Bahía de Mazatlán, vinculada a mareas rojas, asociándola con posibles efectos de anoxia y obstrucción de branquias en peces; también se reporta como un componente de un florecimiento en Faro de Bucerías, su presencia en mayo del 2004 fue notoria, tanto en la costa de Michoacán como en Colima y Jalisco, (Hernández *et al.* Inédito).

➤ Comunicaciones personales

Una parte de la muestra (un litro) se fijó con formol a una concentración final de 1 % (Hernández-Becerril¹). Dos litros se trasladaron en hielo para su análisis en vivo, todo el material fue transportado al laboratorio de Biología Acuática "Javier Alvarado Díaz" de la Facultad de Biología de Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

¹Com. Pers. Dr. D.U. Hernández-Becerril, Laboratorio de Fitoplancton Marino, ICMYL, UNAM

➤ Citas para el análisis cartográfico

Ejemplos:

Hacia el sur se presenta una precipitación mínima de 25 a 50 mm coincidiendo con la parte norte, en tanto que la precipitación máxima en la parte sur es de 1000 a 1200 mm y en el norte va de 900 a 1000 mm, mientras que para el centro las precipitaciones mínimas son de 50 a 100 mm y las máximas de 900 mm a 1200 mm (Inegi 1989)

Para llevar a cabo la caracterización de las localidades se utilizaron las cartas 1:250,000: Geológica, Hidrológica y Edafológica (Inegi 1983), y la Topográfica 1:250,000 (Inegi 1997), además de las cartas de caracteres geográficos 1:224,000 Aquila y Lázaro Cárdenas (Correa y Vargas 1979; Inegi 1985)

NOTA

Si diferentes cartas son publicadas el mismo año, la cita de cada una, incluirá a continuación del año de publicación una letra minúscula en orden sucesivo dependiendo del número de cartas publicadas.

Ejemplo:

De acuerdo a Inegi (1983a), la zona de estudio se ubica en la Provincia Fisiográfica Sierra Madre del Sur y a la subprovincia Costa del Sur, el conjunto de sierras que integra esta subprovincia se extienden a lo largo de las costas michoacanas, guerrerenses y oaxaqueñas, desde la desembocadura del Río Coahuayana (límite entre Michoacán y Colima), hasta el puerto de Salina Cruz, Oaxaca.

En la zona costera se pueden encontrar combinaciones de arenisca- conglomerado constituida por una secuencia detrítica de origen continental, formada por una alternancia de limonitas, areniscas, areniscas conglomeráticas y conglomerados depositados en un ambiente fluviolacustre (Inegi 1983b)

Los suelos predominantes fuera de la línea de playa son regosoles eutrícos con una fase física lítica y de textura gruesa, presentándose también litosoles, redzinas y en menor proporción feozen háplico y regosol calcárico con fase textural media. En desembocaduras de ríos y arroyos predominan fluvisoles eutrícos con fase textural gruesa (Inegi 1983c)

➤ Cita de un lugar en la red, pero no un documento específico

Altavista.com es un sitio que facilita el acceso al tema o información que usted necesite en internet (<http://www.altavista.com>)

➤ Cita de un lugar en la red, de un documento específico

Los corales se consideran las comunidades marinas más diversas y complejas un arrecife puede albergar hasta 3.000 especies, y desempeñan un importante papel en el balance

de masas geoquímica de los océanos. Se ha calculado que, anualmente, los arrecifes de coral son responsables de la precipitación de la mitad del calcio arrastrado a los océanos por los ríos y son especialmente importantes en el contexto del cambio climático mundial (Ipieca 1992)

➤ Cita de programas de computadora (Software)

Para la elaboración de la clave dicotómica artificial se construyó una matriz de datos morfológicos a partir de la cual se generó un análisis de agrupamiento cualitativo, mediante el software NTSYSpc v. 2.02c, los datos obtenidos a partir de esta comparación se utilizaron para confrontar mediante la teoría de conjuntos las posibilidades de agrupación para la clave dicotómica.

3.4. Formulación de los Objetivos en la Investigación Científica

Existen diversas concepciones acerca de los objetivos a continuación te presentamos la que consideramos más acorde y de fácil entendimiento de acuerdo a Tamayo y Tamayo: "Cuando se ha seleccionado el tema de investigación y se ha formulado el problema, debe procederse a formular los objetivos de la investigación; que deben estar acordes con los del investigador y los de la investigación."

"El objetivo de la investigación es el enunciado claro y preciso de los propósitos por los cuales se lleva a cabo la investigación. El objetivo del investigador es llegar a tomar decisiones y a desarrollar una teoría que le permita generalizar y resolver en la misma forma problemas semejantes en el futuro. Todo trabajo de investigación es evaluado por el logro de los objetivos de la investigación. Los objetivos deben haber sido previamente formulados y seleccionados al comienzo de la investigación."

La evaluación de la investigación se realiza con base en los objetivos propuestos y puede ser progresiva, esto lleva a clasificar los distintos niveles de resultados que se quieren lograr en la investigación, si ésta es planeada científicamente, debe tener validez en cada una de sus etapas, en razón de los objetivos y el logro de éstos en cada etapa es lo que permite pasar a la siguiente.

Al final de la investigación, los objetivos han de ser identificables con los resultados; es decir, toda la investigación deberá estar respondiendo a los objetivos propuestos. Los objetivos son fundamentales en la investigación, ya que sin ellos es imposible decidir sobre los medios de realización de la misma.

A partir del planteamiento del problema se comienza a dar respuesta al objetivo propuesto. El objetivo de una investigación es lo que se ha de demostrar a partir de un problema o de la hipótesis propuesta, lo cual nos permite formular objetivos generales y específicos.

3.4.1. Objetivo general

Consiste en enunciar lo que se desea conocer, lo que se desea buscar y lo que se pretende realizar en la investigación; es decir, el enunciado claro y preciso de las metas que se persiguen en la investigación a realizar. Para el logro del objetivo general nos apoyamos en la formulación de objetivos específicos. Un objetivo general puede enunciar varios resultados a lograr, lo importante es que su enunciado pueda ser diferenciado dentro del contexto total del enunciado del objetivo general.

3.4.2. Objetivos específicos

Los objetivos generales dan origen a objetivos específicos que son los que identifican las acciones que el investigador va a realizar para ir logrando dichos objetivos. Los objetivos específicos se van realizando en cada una de las etapas de la investigación. Estos objetivos deben ser evaluados en cada paso para conocer los distintos niveles de resultados y se reflejan en la metodología planteada.

La suma de los objetivos específicos es igual al objetivo general y por tanto a los resultados esperados de la investigación. Conviene anotar que los objetivos específicos son los que se investigan y no el objetivo general, ya que éste se logra con los resultados.

El número de objetivos específicos depende de las acciones necesarias a realizar para el logro de un objetivo general, conviene no olvidar que para cada resultado enunciado en el objetivo general hay que establecer una gama de objetivos específicos que me permita su logro.

Para una buena formulación de objetivos conviene redactar todos los posibles enunciados que se tengan en mente, lo cual nos ayuda a pulir el o los objetivos hasta lograr el enunciado que responda a nuestro propósito.

El enunciado de un objetivo consta de un conjunto de palabras, las cuales permiten varias combinaciones y hacen posible el logro de la expresión de un propósito determinado. En la combinación de palabras o símbolos es necesario tener cuidado, pues se puede correr el riesgo de indicar con palabras una cosa diferente a lo que queremos expresar. Por tal razón, el enunciado oracional del objetivo debe responder a lo que el investigador tiene en mente como fin de la investigación.

En la redacción de objetivos se requiere tomar en consideración que hay palabras o símbolos con muchas interpretaciones e igualmente los hay que admiten pocas interpretaciones; por ello, se debe seleccionar la palabra o el verbo que más convenga a su sentido de exactitud respecto a lo que se piensa. Otra característica importante en la declaración de un objetivo es que éste debe identificar el tipo de resultados concretos que se pretende lograr. Además, los objetivos deben señalar acciones relacionadas con las observaciones y descripciones de situaciones que el investigador esté en capacidad de realizar y que no se salgan de sus posibilidades reales.

A continuación, se presenta un ejemplo para la redacción de los objetivos:

Objetivo General

- Llevar a cabo un reconocimiento de microalgas en la playa de “El Zapote de Madero”, Mpio. de Aquila, Michoacán.

Objetivos particulares

- Realizar el listado sistemático de las especies identificadas.
- Elaborar una lista comentada de las especies observadas, que contenga la descripción morfológica, dominancia, variables fisicoquímicas e importancia ecológica y económica.

3.5. Planteamiento del problema

De la observación directa o indirecta de un hecho o fenómeno pueden surgir ideas que llevan al investigador a plantear un problema. Para iniciar una investigación científica es fundamental plantearse un problema, que es el cuestionamiento de una observación, un hecho o un fenómeno. El problema puede formularse personalmente como una pregunta a la cual el investigador tratará de dar respuesta, después de experimentar y comprobar los resultados.

El problema debe ser claro, preciso y debe plantearse en términos en que el proceso que se siga para su posible solución, pueda ser realizable, observable, medible y estar sujeto a comprobaciones repetidas.

3.6. Hipótesis en la investigación científica

Una vez que se ha planteado el problema, el investigador debe formular la hipótesis. Las hipótesis son las posibles soluciones o conjeturas que se formulan acerca del problema planteado, corresponden a comprobaciones del fenómeno investigado, las mismas provienen del análisis de los antecedentes y planteamiento de los objetivos, a continuación, se presenta un ejemplo de su redacción:

"En el fitoplancton de la zona nerítica de las regiones tropicales la mayor diversidad está representada por los dinoflagelados."

"Los arcelínidos están mejor representados en aguas con un alto contenido de materia orgánica en suspensión."

Una vez que tengas clara tu hipótesis debes definir la forma como la vas a demostrar. Tienes que diseñar la manera como se pueda probar la hipótesis.

Escribe en tu manual una descripción paso a paso de lo que harás para investigar. Esto se conoce como plan de investigación o procedimiento experimental.

3.7. La Caracterización del área de estudio

Cuando el proyecto de investigación está enfocado a trabajo de campo, es necesario que se haga una descripción detallada del área de estudio, cuyo principal sustento se encuentra primeramente en el análisis cartográfico, y posteriormente en la literatura especializada para el caso, incluso se puede utilizar como herramienta el programa de imágenes satelitales Google Earth, que se encuentra disponible en la red de manera gratuita.

A continuación, se presenta una propuesta del contenido que deberá de llevar esta unidad dentro del protocolo de investigación, recuerda que es sólo una propuesta y la misma puede ser modificada de acuerdo al tema y objetivos planteados:

5. CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

- 5.1. Localización Geográfica
- 5.2. Fisiografía
- 5.3. Geología
- 5.4. Edafología
- 5.5. Hidrología
 - 5.5.1. Hidrología Superficial
 - 5.5.2. Variables Físicoquímicas
 - 5.5.3. Corrientes
 - 5.5.4. Mareas
 - 5.5.5. Transparencia
 - 5.5.6. Temperatura
 - 5.5.7. Salinidad
 - 5.5.8. Oxígeno Disuelto y Nutrientes
- 5.6. Clima
- 5.7. Vegetación
 - 5.7.1. Fitoplancton Marino
 - 5.7.2. Algas Bénticas
 - 5.7.3. Vegetación Costera
- 5.8. Fauna
 - 5.8.1. Zooplancton
 - 5.8.2. Invertebrados Bentónicos
 - 5.8.3. Vertebrados Marinos
- 5.9. Influencia Humana

3.9. Materiales y métodos

No debe faltar en el proyecto de investigación la unidad de Materiales y Métodos, describiéndose en ella el material y equipo que se pretende utilizar en la investigación. Tanto el equipo como los materiales deben describirse en conexión con la metodología, evitando enumerarlos en una lista y correspondiendo a la solución de cada uno de los objetivos específicos planteados. Si en la investigación se hará uso de varios experimentos que difieran en su metodología, se sugiere que en esta sección se describan los métodos generales y las variaciones propias para cada experimento,

refiriéndolas bajo el subtítulo de Metodología Particular, en relación a los objetivos con los que tiene relación directa.

Para la descripción de los métodos deben aplicarse las siguientes reglas:

- Cuando se trata de un proyecto que tiene relación con investigación en diferentes niveles, la metodología corresponderá a cada uno de ellos, por ejemplo:
 - Trabajo de Campo
 - Trabajo de Laboratorio
 - Trabajo de Gabinete
- Las sustancias tales como fertilizantes, insecticidas, fármacos, reactivos, colorantes, etc., no se citan por su nombre comercial sino por la sustancia química activa, según la nomenclatura internacional. Las concentraciones que se usen se deben expresar como material activo. La maquinaria (tractores, bombas, etc.) se describe cuando sea necesario, pero sin incluir la marca comercial. No así el instrumental de precisión que deberá incluir marca y modelo (microscopios, salinómetros, conductivímetros, etc.)
- Los métodos de conocimiento general, como diseños experimentales y métodos de análisis muy comunes, se mencionarán sin, mayor descripción indicando, si es el caso, una fuente para la información usada. El equipo común que no se considere como de precisión o en el caso de que la utilización de equipo similar con marcas o modelos distintos no impliquen efectos sobre los resultados, no deberá describirse con detalle y sólo se mencionará.
- Si el método es original o muy modificado, se describe tan ampliamente como sea necesario.
- Si el método no es de conocimiento general, pero ya ha sido descrito por otro autor, se menciona y se hará la cita bibliográfica correspondiente.
- Todas las medidas deben darse según el Sistema Métrico Decimal (SMD), acorde al Sistema Internacional de Unidades (ISO 9000, 2006). Si se trata de una cita literal de trabajos, las medidas se dan tal como se encuentran en el trabajo citado, y a continuación, entre paréntesis, la equivalencia en el Sistema Métrico Decimal. Para describir las unidades de medida se utilizarán los símbolos o abreviaturas internacionales.
- Para la escritura de nombres científicos deben respetarse las reglas de nomenclatura establecidas en los códigos internacionales correspondientes.

3.10. La Sección de referencias o bibliografía citada

En ella deberán presentarse solamente aquellas obras a las que se hace referencia en el texto, para su elaboración se deberá de considerar el criterio APA, el que establece en su última edición la regla para colocar ambos apellidos en el caso de nombres no anglosajones.

3.10.1. Dependiendo del número de autores, las referencias serán:

➤ Un autor:

Aladro Lubel, M. A. (2006). Principales Clasificaciones de Los Protozoos. UNAM. Ciudad de México. México ISBN 970-32-3574-3.

➤ Dos autores:

Ceballos Corona, J.G.A. y S.P. Canedo Ybarra. (1995). Análisis del fitoplancton y su productividad en la Bahía de Maruata, Michoacán México. *Biológicas Revista de la Facultad de Biología, Umsnh*, (3), 3-19.

➤ Más de dos autores:

Núñez-Vargas, A., J. A. G. Ceballos-Corona, A. C. Mendoza-González y L. E. Mateo-Cid. (2008). Algas marinas macroscópicas. Colecta, conservación y determinación de las algas marinas más comunes en la costa de Michoacán, guía de campo. Facultad de Biología, UMSMH.

3.10.2. Dependiendo del tipo de publicación:

➤ Artículo proveniente de una revista periódica:

a) Caso en que sólo hay número y no hay volumen:

Alvarado Díaz, J. y G. Ceballos Corona. (1997). Mortalidad de tortuga negra en el Pacífico Mexicano: posible implicación de la marea roja. *Ciencia Nicolaita, Rev. Coord. Invest. Cient. Umsnh*, (15), 77-82.

b) Caso en que hay número y volumen:

Alonso Rodríguez, R., J. L. Ochoa and M. Uribe Aauida. (2005). Grazing of heterotrophic dinoflagellate *Noctiluca scintillans* (Mcartney) Kofoid on *Gymnodinium catenatum* Graham. *Rev. Latinoam. Microbiol.*, 47(1-2), 6-10.

➤ Libro:

Begon, M., Harper, J.L. y Townsen, C.R. (1988). *Ecología Individuos, poblaciones y comunidades*. Barcelona, España: Omega.

Bérard-Therriault, L., Poulin, M. and Bossé, L. (1999). *Guide de'identification du phytoplancton marin de l'estuaire et du golfe du Saint-Laurent incluant également certains protozoaires*, (128). Ottawa, Canada: Presses scientifiques du CNRC.

➤ Capítulo de un libro:

Boltovskoy, A. (1995). Taxonomía y Morfología de los Dinoflagelados: Métodos De Trabajo. En: K. Aveal, M.E. Ferrario, E.C. Oliveira y E. Sar (Eds.), *Manual de Métodos Ficológicos* (pp. 55-82). Concepción, Chile: Universidad de Concepción.

➤ Tesis:

Ceballos Corona, J.G.A. (1988). *Contribución al Conocimiento de la Composición y Distribución del Fitoplancton en la Bahía de Maruata, Michoacán, México*. (Tesis de Licenciatura). Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Mich. México.

➤ Trabajo publicado en memorias de eventos académicos:

Ceballos Corona, J.G.A. (mayo 2002). Los Tintinnidos de la Provincia Nerítica en el Pacífico Tropical de México entre Guerrero y Jalisco, Un Grupo Poco Estudiado. En T. Barreiro G. (Presidencia). XII Raunión Nacional de la Sociedad Mexicana de Planctología y V International Meeting of the Mexican Society of Planktology.

➤ Fuente en Internet:

c) Caso sin autor: Se cita como Anónimo y se sigue con el siguiente formato:

Anónimo. Año. *Título del trabajo o de la página consultada*. Dirección electrónica que permite acceder a la información.

Anonymus. 2000. Environmental Management Branch. *Phytoplankton Monitoring Program. Phytoplankton Monthly Report May*. Technical Report (00-15). Recuperado de [www.cdph.ca.gov/healthinfo/environhealth/water/Documents/Shellfish/MonthlyandQuarterly Reports/2001/0104_06_MR_final.pdf](http://www.cdph.ca.gov/healthinfo/environhealth/water/Documents/Shellfish/MonthlyandQuarterlyReports/2001/0104_06_MR_final.pdf).

Si no se dispone del año en que se creó el documento, debe ponerse s.f. (sin fecha). El año debe corresponder a la fecha en que se hizo el trabajo, no a la que se puso en línea. Si la página es de una institución, ésta deberá aparecer como autor. En todos los casos es importante poner la fecha de acceso al final de la cita.

d) Caso con autoría explícita:

Ejemplos:

Zambrano Anguiano, I. 1983. Tintinnidos del Golfo de Guayaquil. *Acta Oceanográfica del Pacífico*. INOCAR, Ecuador, 2 (2). www.inocar.mil.ec/download.php?uniqid=882&t=&id_exists=1. 27/01/2009.

Molina Astudillo, F.I., H. Quiroz Castelán, J. García Rodríguez y M. Díaz-Vargas. (2005) Distribución vertical del plancton en un estanque rústico de producción piscícola en el municipio de Cuautla, Morelos, México (Vertical distribution of plankton in a rural fishery pond, Cuautla, Morelos, México). *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET* - ISSN 1695-7504 <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> Vol. VI, Nº 4, Abril 2005 – <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040405.html>.

Nota: Si se consulta un artículo en su formato original, deberá citarse como si fuera el original impreso y sólo comentar en el texto que la consulta se hizo en Internet.

3.11. ¿Y la Introducción?

La introducción tiene por objeto explicar la idea general, propósito, importancia y alcance del trabajo desarrollado, con breves antecedentes si son necesarios, sin que se convierta en una revisión de bibliografía. La misma se elabora una vez que se ha finalizado el protocolo de investigación.

3.12. La Estructura del trabajo final

Una vez que se haya terminado con la parte de procesamiento de muestras, se requiere de la presentación de los resultados, para lo cual es necesario que lleves a cabo un análisis de datos procesados y los cuales se tendrán que presentar en forma de un trabajo escrito, la estructura del mismo que se muestra a continuación ha sido tomado del protocolo propuesto por la Facultad de Biología, al igual que anteriormente, ésta es una propuesta que puede modificarse dependiendo del tema y los objetivos:

PARA EL CASO DE MEDIO MARINO

Portada

Contenido

1. INTRODUCCIÓN

2. ANTECEDENTES o MARCO TEÓRICO

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo General

3.2. Objetivos Particulares

4. HIPÓTESIS

5. CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

5.1. Localización Geográfica

5.2. Hidrología Superficial

5.3. Clima

5.4. Regionalización Oceanográfica

5.5. Oceanografía

5.5.1. Batimetría

5.5.2. Corrientes

5.5.3. Mareas

5.5.4. Transparencia

5.5.5. Temperatura

- 5.5.6. Salinidad
- 5.5.7. Oxígeno Disuelto
- 5.5.8. Nutrientes
- 5.6. Fitoplancton Marino
- 5.7. Zooplancton
- 5.8. Influencia Humana
- 6. MATERIALES Y MÉTODOS**
 - 6.1. Actividades de Campo
 - 6.2. Actividades de Laboratorio
 - 6.3. Actividades de Gabinete
- 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**
- 8. CONCLUSIONES**
- 9. REFERENCIAS**

PARA EL CASO DE MEDIO DULCEACUÍCOLA

Portada

Contenido

- 1. INTRODUCCIÓN**
- 2. ANTECEDENTES o MARCO TEÓRICO**
- 3. OBJETIVOS**
 - 3.1. Objetivo General
 - 3.2. Objetivos Particulares
- 4. HIPÓTESIS**
- 5. CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO**
 - 5.1. Localización Geográfica
 - 5.2. Hidrología Superficial
 - 5.3. Clima
 - 5.4. Variables Fisicoquímicas
 - 5.4.1. Batimetría
 - 5.4.2. Transparencia
 - 5.4.5. Temperatura
 - 5.4.6. Oxígeno Disuelto
 - 5.4.7. Nutrientes
 - 5.5. Fitoplancton
 - 5.6. Zooplancton
 - 5.7. Perifiton Vegetal
 - 5.8. Influencia Humana
- 6. MATERIALES Y MÉTODOS**
 - 6.1. Actividades de Campo
 - 6.2. Actividades de Laboratorio
 - 6.3. Actividades de Gabinete
- 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**
- 8. CONCLUSIONES**
- 9. REFERENCIAS**

PARA EL CASO DE PROTISTAS ASOCIADOS
(PROTISTAS SILVESTRES)

Portada

Contenido

1. INTRODUCCIÓN

2. ANTECEDENTES o MARCO TEÓRICO

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo General

3.2. Objetivos Particulares

4. HIPÓTESIS

5. CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

5.1. Localización Geográfica

5.2. Fisiografía

5.3. Geología

5.4. Edafología

5.2. Hidrología Superficial

5.3. Clima

5.4. Vegetación Terrestre o Acuática (según sea el caso)

5.5. Fauna

5.4. Influencia Humana

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Actividades de Campo

6.2. Actividades de Laboratorio

6.3. Actividades de Gabinete

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8. CONCLUSIONES

9. REFERENCIAS

PARA EL CASO DE PROTISTAS ASOCIADOS
(PROTISTAS NO SILVESTRES, POR EJEMPLO, EN CUCARACHAS O EN LIQUIDO
RUMINAL)

Portada

Contenido

1. INTRODUCCIÓN

2. ANTECEDENTES o MARCO TEÓRICO

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo General

3.2. Objetivos Particulares

4. HIPÓTESIS

5. CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

5.1. Localización Geográfica

5.2. Clima

5.3. Fauna

5.4. Influencia Humana

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Actividades de Campo

6.2. Actividades de Laboratorio

6.3. Actividades de Gabinete

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8. CONCLUSIONES

9. REFERENCIAS

La presentación del documento final cambia un poco con respecto a la estructura del protocolo, en el mismo se adicionan las siguientes unidades:

3.13. La portada y la hoja de contenido

El documento deberá llevar una portada (Lam. 1) y una hoja del contenido, ésta última deberá de numerarse de manera continua y con arábigos, se tendrán que respetar las sangrías establecidas, colocándose las páginas donde se encuentra cada Capítulo, tema y subtema.

Lámina 1. Portada del protocolo de investigación.



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO**



FACULTAD DE BIOLOGÍA

Título

POR EJEMPLO: “El plancton de la laguna arrecifal de El Zapote de Madero, Mpio. Aquila, Michoacán”



(La foto deberá de corresponder al tema del proyecto)

MATERIA

BIOLOGÍA DE PROTISTAS

SECCIÓN

EQUIPO

Autores:

(COLOCAR AQUÍ LOS NOMBRES DE LOS INTEGRANTES DEL EQUIPO QUE SI PARTICIPARON EN SU ELABORACIÓN)

ASESORES:

Morelia, Mich., a de 20__

3.14. La sección de resultados y discusión

En esta sección se deberá de describir lo más concretamente posible los resultados obtenidos en la investigación. Se sugiere que en lo posible los datos se sinteticen en tablas, o sean comentados en el texto. Para la discusión de los mismos se deberán interpretar los resultados obtenidos y se comparan con los resultados de otros autores, registrados en los antecedentes, haciendo la referencia bibliográfica debida. También se pueden hacer algunas especulaciones y discutir las limitaciones o perspectivas del trabajo, utilidad y repercusiones de los resultados. Lo cual forma parte de la discusión.

Para la elaboración de los cuadros o gráficas véanse las siguientes reglas.

En un protocolo de investigación se pueden incluir cuadros y figuras, los que deberán de intercalarse en el texto, los mismos deberán estar referenciados en los párrafos correspondientes; para su presentación se deberán tomar en cuenta las siguientes reglas:

- Los cuadros deben enumerarse por orden de aparición en el texto, con números arábigos.
- Las gráficas, fotografías, dibujos, etc., se incluyen bajo la denominación general de “Figuras” y se numeran por orden de aparición en el texto, con números arábigos.
- Los títulos de los cuadros y figuras, al igual que las notas al pie de página, deberán ir a renglón seguido.
- Los cuadros y figuras que aparezcan longitudinalmente en la página, deberán respetar los mismos márgenes ya establecidos para la escritura ordinaria (2.5 cm margen izquierdo y 2.5 cm para los otros tres). La posición de estos cuadros y figuras debe ser en tal forma que la parte superior de ellas dé hacia el lomo y la base hacia el extremo exterior de la página.
- Los cuadros deben ser autoexplicativos. Deben llevar un encabezado explícito sobre datos mostrados en ellas; si es necesario dar algunos datos adicionales, se hará por medio de llamadas en el lugar correspondiente, que se refieran a notas a pie; las llamadas se harán por medio de números arábigos entre paréntesis, y los símbolos (*) y (**) deben usarse exclusivamente para indicar diferencias de significación estadística
- Las figuras deben llevar un pie que explique claramente lo que se desea mostrar en ellas. Las gráficas deben ser fáciles de leer, a escala conveniente, y con señalamientos y símbolos fácilmente diferenciables.
- Los cuadros y las figuras deben insertarse lo más próximo posible al lugar en que se hace la referencia. Cuando ocupen menos de media página, pueden incluirse en el texto, del cual se separarán por un espacio doble al usual. Cuando ocupen más de media página, deben escribirse en páginas aparte, que se intercalarán entre las del texto siguiendo a aquella página en la que se haga referencia al cuadro o figura.

3.15. La sección de conclusiones

Es parte integrante del escrito final, debe presentar de manera ordenada y sintética los hechos que han sido definitivamente probados o rebatidos en la investigación, nos deben dar respuestas a los objetivos e hipótesis planteadas. Debe evitarse todo tipo de discusión.

CONSULTAR EL MANUAL DE PRÁCTICAS DE CAMPO

¡A PARTIR DE AQUÍ LA PARTE MÁS IMPORTANTE TE CORRESPONDE A TI, ES EL INICIO DE UNA NUEVA ETAPA EN EL PROCESO DE TU FORMACIÓN DENTRO DE ESTA FACULTAD!

PRÁCTICA No. 3. PROTOZOOS METAMÓNIDOS ASOCIADOS

1. Introducción

En medicina humana y veterinaria a los metamónidos asociados se les denomina típicamente como “protozoos parásitos”, donde este término se percibe de forma negativa puesto que para los médicos y los veterinarios son importantes únicamente al causar daños a la salud de los humanos y en los animales de granja, lo que se traduce, en cualquier caso, como pérdidas económicas.

No obstante, desde el punto de vista biológico, los metamónidos parásitos son tratados como organismos con un estilo de vida particular que cumplen una función ecológica importante en el medio ambiente, y de haber alguna patología o sintomatología causadas por algún protozoo en un hospedero dado, se entiende como una consecuencia a alguna alteración, antropogénica o de origen natural, al medio donde estos llevan a cabo su ciclo de vida. De tal forma, para entender biológicamente los procesos que desencadenaron dicha patología o sintomatología, se deben considerar los factores medioambientales que alteraron, de cierto modo y en cierta medida, al ambiente.

Lo anterior se entiende por lo siguiente, el parasitismo es uno de los tantos estilos de relaciones vida, entre uno y otro organismo, que existen en la naturaleza; usualmente le llamamos simbiosis (que traducido del griego quiere decir vidas juntas o acompañadas). Sin embargo, no podemos definir de manera tajante a organismos como “parásitos” y “no parásitos”, puesto que dentro del parasitismo hay diferentes niveles o categorías que van desde el parasitismo estricto al facultativo, e incluso, al accidental. Cuestiones que para el biólogo no deben de ser triviales, ya que; el que un organismo, en este caso un protozoo, manifieste alguno de los diferentes niveles del parasitismo o simbiosis, obedece a situaciones de la propia historia natural del organismo en cuestión y a las condiciones medioambientales a las cuales esté expuesto.

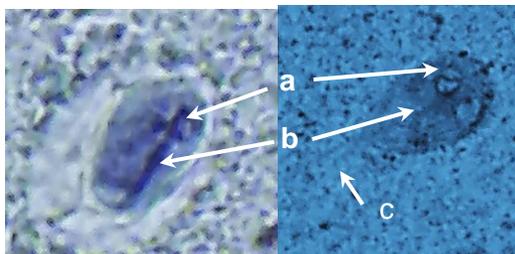
Para el biólogo, un protozoo que vive a expensas del humano, del ganado o de una población de cualquier tipo de animal silvestre posee el mismo valor científico y la misma finalidad de estudio. Además, existen, e incluso es lo común, especies de protozoos que pertenecen al mismo phylum, pero algunas están asociadas al humano, otras al ganado y animales de compañía y otras a animales silvestres, y no necesariamente todos como parásitos sino también como simbiosis; de tal forma, el profesionalista que habrá de tener la visión más cercana sobre la íntegra biodiversidad de protozoos asociados es el biólogo.

Un aspecto muy importante es la clasificación taxonómica de los protozoos asociados parásitos; puesto que estos organismos suelen ser estructuralmente sencillos no ofrecen caracteres morfológicos suficientes para tener una clasificación robusta, para compensar esta carencia se solía tomar en cuenta aspectos ecológicos, e incluso fisiológicos, ofreciendo un sustento taxonómico adecuado, lo cual daba como resultado una clasificación que por mucho tiempo funcionó a pesar de las evidentes incongruencias en ciertos grupos.

Hoy en día, con las herramientas que la biología molecular ofrece se han tomado nuevas opciones para incluir como caracteres taxonómicos elementos ultraestructurales, como por ejemplo las diversas familias de proteínas de membranas. Esto ha traído consecuentemente una revolución en el sistema de clasificación taxonómica en los protozoos, lo cual, lejos de ser algo negativo, abre un nuevo campo de estudio y replantea al mismo tiempo los conceptos que ya se habían definido en la biología de protozoos. Algunos ejemplos típicos de géneros de metamónidos asociados parásitos o simbioses en humanos, ganado, animales de compañía y en fauna silvestre se muestran enseguida:

| Géneros | Modo de vida y tipo de importancia |
|---|--|
| <i>Giardia</i> (Fig. 47) <i>Leishmania</i> (Fig. 48) <i>Trypanosoma</i> (Fig. 49) | Parásitos obligados de importancia médica y veterinaria. |
| <i>Lophomonas</i> (Fig. 50) | Simbioses mutualistas obligados de insectos comedores de madera, importancia ecológica-faunística. En condiciones particulares devienen en parásitos accidentales de importancia médica. |
| <i>Trichonympha</i> (Fig. 51) | Simbioses mutualistas obligados anaerobios de insectos comedores de madera, se encuentran exclusivamente en el intestino posterior inferior de las termitas y cucarachas. |

Ejemplos típicos de común observación:



Quiste

Trofozoito

Figura 47. *Giardia lamblia*

En el quiste, se diferencian zonas adhesivas con dos núcleos (a), el axostilo (b) y primordios flagelares.

Teñido: Hematoxilina y eosina, en frotis fresco de heces fecales, 100X.

B) Trofozoito, se diferencian zonas adhesivas con dos núcleos (a), el axostilo (b) y los flagelos (c).

Teñido: Hematoxilina y eosina, en frotis fresco de heces fecales, 100X.



Figura 48. *Leishmania* sp.

Tripomastigotes sanguíneos, se diferencian el flagelo (a), un núcleo (b) y el cinetoplasto (c) en el extremo opuesto al flagelo.

Teñido con Wright en frotis sanguíneo, 100X

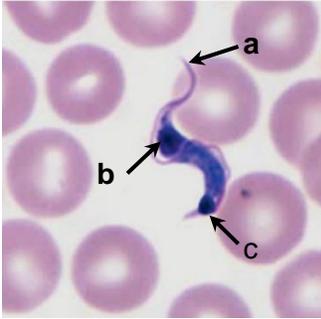
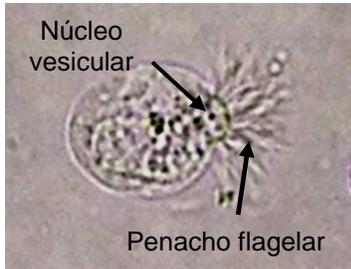
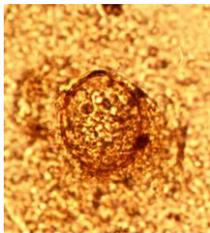


Figura 49. *Trypanosoma* sp.
 Tripomastigote sanguíneo, se diferencian el flagelo (a), membrana ondulante (b), un núcleo cerca del flagelo (c) y el cinetoplasto (d) en el extremo opuesto al flagelo. Teñido con Wright en frotis sanguíneo, 100X



Trofozoito



Quiste tinción con lugol

Figura 50. *Lophomonas* sp.
 Trofozoito, a pesar de su pequeño tamaño, 12 μ m, es muy evidente, debido a su característico penacho de flagelos y evidentes organelos celulares.

Frotis fresco obtenido a partir de artrópodos degradadores de celulosa (cucarachas), 40X.

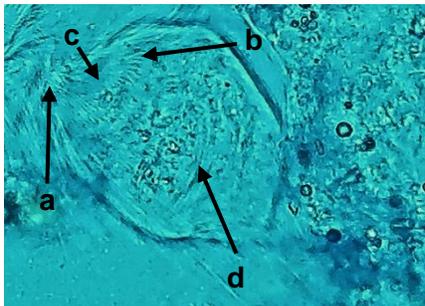


Figura 51. *Trichonympha* sp.
 Trofozoito, a pesar de su pequeño tamaño, 12 μ m, es muy evidente, debido a su característico rostrum (a), abundantes flagelos (b) y evidentes organelos celulares, núcleo (c), vacuola (d)

Frotis fresco obtenido a partir de termitas de la madera, 40X.

2. Objetivos

- Reconocer algunos géneros de metamónidos con base en la morfología observada, que pertenezcan a humanos e invertebrados silvestres.
- Determinar la fase del ciclo de vida en el que el organismo fue observado y su importancia.

3. Materiales y equipo

3.1. Instrumental de laboratorio:

- Material de disección.
- Portaobjetos y cubreobjetos.
- Material de limpieza.
- Microscopio estereoscópico y microscopio óptico o de luz.
- Solución salina.
- Lugol.

3.2. Material biológico

- Laminillas de frotis permanentes proporcionados por el técnico académico.
- Termitas de la madera.

Géneros sugeridos: *Giardia* sp., *Trypanosoma* sp., *Leishmania* sp. y *Trichonympha* sp.

4. Desarrollo de la práctica

4.1. Observación de metamónidos parásitos de humanos (*Giardia* sp., *Trypanosoma* sp. y *Leishmania* sp.)

a) Colocar las laminillas con frotis permanentes en la platina de un microscopio compuesto de luz u óptico y enfocar con el objetivo de 10X, pasar al objetivo de 40X, enseguida colocar el revolver entre este último objetivo y el de 100X, cerrar el diafragma para ubicar un pequeño haz de luz para agregar una pequeña gota de aceite de inmersión, bajar levemente la platina para deslizar el objetivo de 100X, posteriormente con el tornillo micrométrico subir muy lentamente la platina para enfocar la muestra.

b) Procurar buscar tanto los quistes, así como los trofozoítos.

REALIZAR ESQUEMAS DONDE SE IDENTIFIQUEN ESTRUCTURAS DE LOS CARACTERES OBSERVADOS

Tomar fotografías de los géneros o especies observadas

4.2. Observación de metamónidos en cucarachas

a) Realizar el procedimiento de la manera más rápida, de ser necesario adormezca los organismos con cloroformo para poder sacrificarlos. Se introduce al hospedero en un frasco hermético con algodones empapados de cloroformo.

b) Colocar la cucaracha en una caja de Petri y en un microscopio estereoscópico, mediante el bisturí llevar a cabo una incisión de su abdomen agregue una o dos gotas de aguas y esponga sus vísceras.

c) En un microscopio estereoscópico mediante las pinzas de disección de punta fina separe de las vísceras el tracto digestivo y colóquelo en un portaobjetos que contenga tres gotas de agua, agregar una gota de lugol utilizando el bisturí corte a lo largo el tracto digestivo extienda el contenido y coloque un portaobjetos.

d) En un microscopio compuesto de luz u óptico enfocar con el objetivo de 10X, pasar al objetivo de 40X, si es necesario utilizar el objetivo de mayor aumento colocar el revolver entre el objetivo de 40X y el de 100X, cerrar el diafragma para ubicar un pequeño haz de luz para agregar una pequeña gota de aceite de inmersión, bajar levemente la platina para deslizar el objetivo de 100X y enfoque lentamente.

**REALIZAR ESQUEMAS DONDE SE IDENTIFIQUEN ESTRUCTURAS DE LOS
CARACTERES OBSERVADOS**

Tomar fotografías de los géneros o especies observadas

4.3. Observación de metamónidos en termitas de la madera (no de termitero de tierra)

a) Sujetar la cabeza mediante pinzas de disección de punta curva y con un movimiento giratorio desprenderla junto con el tracto digestivo, esta actividad se debe realizar en una caja de Petri colocada en un microscopio estereoscópico, si el ejemplar es muy grande se puede anestesiar previamente, introduciéndolo a un frasco hermético con una torunda con cloroformo.

b) Prepare un portaobjetos con tres gotas de solución salina coloque el tracto digestivo y ábralo para que salga el contenido digestivo, coloque el cubreobjetos y observe en microscopio de luz u óptico enfocando primeramente con 10X y para mayores detalles pase al objetivo de 40X.

**REALIZAR ESQUEMAS DONDE SE IDENTIFIQUEN ESTRUCTURAS DE LOS
CARACTERES OBSERVADOS**

Tomar fotografías de los géneros o especies observadas

LLENAR LOS CUADROS COMPARATIVOS QUE SE MUESTRAN A CONTINUACIÓN

Cuadro comparativo citológico (utilice los mismos géneros en ambos cuadros)

| GÉNEROS | MEMBRANA CELULAR | NÚCLEO | VACUOLAS | VENTOSAS | CINETOPLASTO | AXOSTILO | MEMBRANA ONDULANTE | FLAGELOS | CILIOS |
|---------|------------------|--------|----------|----------|--------------|----------|--------------------|----------|--------|
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |

| GÉNEROS | FORMA DE LA CÉLULA | FORMA DEL NÚCLEO | ESTADIO | HÁBITO DE VIDA | HOSPEDERO |
|---------|--------------------|------------------|---------|----------------|-----------|
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |

5. Cuestionario

En los protozoos, ¿A qué se le llama fase de resistencia?

En los protozoos parásitos ¿cuál o cuáles son las fases infectantes y cuál la fase patógena?

¿Bajo qué circunstancias biológicas/medioambientales un protozoo comensal puede devenir en patógeno?

¿Cuáles son los protozoos asociados de importancia biotecnológica y en qué procesos industriales se pueden usar o son usados?

¿Cuáles son las técnicas de diagnósticos médicos y veterinarios para identificar patologías causadas por protozoarios asociados?

¿Cuáles son los hábitats de los protozoos asociados dentro del hospedero?

PRÁCTICA No. 4. EUGLÉNIDOS

I. Introducción

Este grupo comprende organismos cuya coloración verde, verde-amarillenta o roja está dada por la presencia de pigmentos como: clorofilas “a” y “b”, β -caroteno y xantofilas como la diadinoxantina (anteraxantina) y astaxantina (hematocromo); pueden o no presentar plastos por endosimbiosis secundaria, y cuando los hay pueden contener o no pirenoides, la forma de los plastos puede ser ovoide o discoidal; la sustancia de reserva se encuentra en forma de un derivado del almidón llamado paramilon y lípidos. Son organismos que presentan un núcleo bastante evidente (uninucleados) y pueden presentar o no mancha ocular o estigma, esta última nunca se encuentra asociada a los cloroplastos.

No presentan pared celular periplasto constituido de una serie de anillos asociados a la secreción de mucilagos y a la actividad de metabolía proceso por el cual pueden cambiar de formas alargadas a esféricas y viceversa (Fig. 52), otros presentan periplasto y lóricas, en la que se pueden observar una serie de ornamentaciones a manera de estrías longitudinales o diagonales, espinas o materia orgánica (Fig. 53)

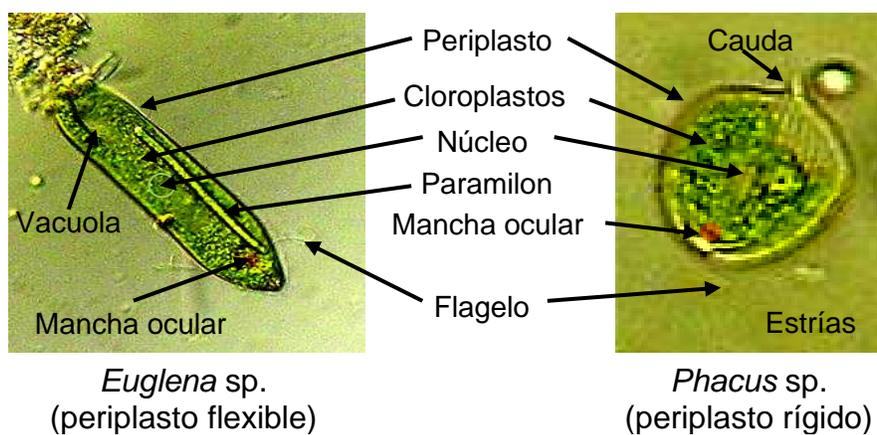


Figura 52. Euglénidos con periplasto.

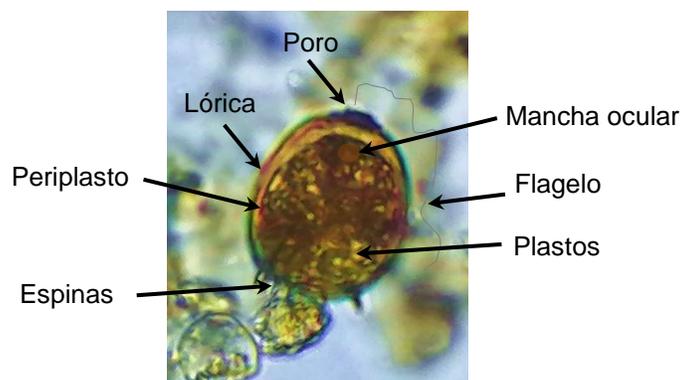
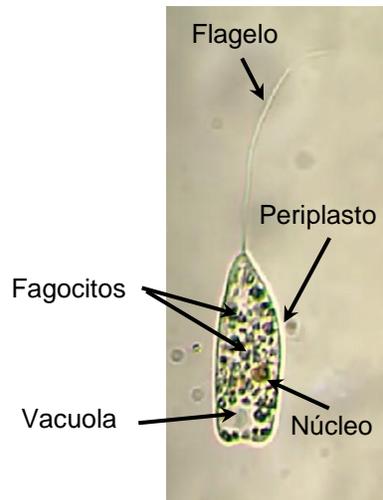


Figura 53. Euglénido con lórica *Trachelomonas* sp.

Otros euglénidos son heterótrofos, carecen de plastos, su periplasto es flexible, el flagelo presenta una curvatura en la parte anterior, no presentan mancha ocular o estigma; se alimentan de bacterias y microalgas (Fig. 54)



Peranema sp.

Figura. 54. Euglénido heterótrofa.

En aquellos organismos con periplasto se presenta en el extremo anterior una invaginación (posible citostoma) y un reservorio. Todos los organismos de esta división pueden presentar de 1-3 flagelos pectinados de posición apical colocados en la base del reservorio.

Los tipos morfológicos en este grupo van desde unicelulares hasta coloniales dendroides con pedúnculos mucilaginosos; en cuanto a la forma de las células varía desde esféricas, ovoides hasta las aciculares (Figs. 55 y 56)



Trachelomonas volvocina
(esférica)



Lepocynclis ovum
(subesférica)



Phacus triqueter
(ovoide)



Euglena spiroides
(oblonga)



Strombomonas gibberosa
(periforme)



Euglena acus
(aciculada)

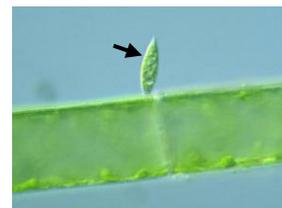
Figura 55. Tipos morfológicos unicelulares de euglénidos.



Colacium cyclopicola
(euglénido colonial asociado epizoico)



Colacium vesiculosum
(euglénido unicelular asociado epizoico)



Colacium mucronatum
(euglénido unicelular asociado epifito)

Figura 56. Tipos morfológicos de euglénidos asociados.

Relacionada con la flexibilidad del periplasto algunos euglénidos pueden cambiar de forma mediante contracciones celulares, a este fenómeno se le llama metabolia.

La reproducción asexual es la más conocida en este grupo y se lleva a cabo por mitosis o división binaria por escisión longitudinal, aún en aquellas especies coloniales, pueden formar quistes cuando las condiciones del medio les son adversas, en tanto que la sexual es poco conocida.

Se conocen aproximadamente 450 especies repartidas en 25 géneros, agrupados en una sola clase Euglenophyceae. La mayor parte viven en aguas dulces, ricas en materia orgánica, cuando son muy abundantes producen floraciones de color verde-brillante, amarillento, parduzco o rojizo, son frecuentes en el suelo y limo húmedo, algunas son de aguas salobres y pocos géneros pueden ser localizados en aguas marinas, otras son endozoicas y no presentan pigmentos, unas más son epifitas, mientras que unas más son epizoicas sobre el cuerpo de rotíferos, nemátodos, turbeláridos, oligoquetos y copépodos.

Algunas especies son consideradas como productores primarios como fuente de alimento para herbívoros del zooplancton, por su tasa de crecimiento tan sensible a la vitamina B12 y cobalamina se emplean como organismos de ensayo bioquímico y de nutrición.

2. Objetivos

- Observar y diferenciar las estructuras celulares y diversidad morfológica de los euglénidos.
- Reconocer y diferenciar los géneros típicos de esta clase.

3. Material biológico

- Muestras de agua colectadas en diferentes sistemas acuáticos.
- Géneros sugeridos: *Euglena* sp., *Phacus* sp. y *Trachelomonas* sp.

4. Desarrollo de la práctica

Algo importante para el estudio e identificación de los euglénidos es poder observarlos en vivo, ya que una característica definitoria es la presencia o ausencia de metabolia y el color que éstos presentan.

a) Colecta mediante una red de cuchara una muestra de agua de un sistema acuático, principalmente que contenga una alta concentración de materia orgánica, vacía el concentrado en un frasco de boca ancha de un litro que contenga agua del medio donde realizaste la colecta y transpórtala al laboratorio para su análisis.

b) Coloca dos o tres gotas del sedimento de tu muestra colectada en un portaobjetos, pon el cubreobjetos, si se requiere agrega una gota más del agua del medio utilizado y observa en microscopio compuesto óptico o de luz, enfocando primeramente con el objetivo de 10X y de ser necesario pasa al de 40X. Observa las siguientes características:

- Forma de las células.
- Presencia o no de metabolia.
- Coloración de las especies.
- Presencia de mancha ocular o estigma.
- Presencia o no de estrías y su disposición, ya sea longitudinal, diagonal o helicoidal.
- Posición del núcleo, tipo y forma de los plastos y pirenoide.

Una vez realizadas las observaciones en vivo, la cubierta de las células se puede resaltar utilizando azul de cresil, en tanto que los gránulos de reserva mediante el lugol, si lo que pretendes es observar el número de núcleos, entonces el azul de metileno es el adecuado. Si lo deseas puedes probar con una coloración mixta.

a) Sin levantar el cubreobjetos de tu muestra, por un extremo coloca una o dos gotas del colorante elegido, deja reposar de uno a dos minutos y observar al microscopio.

- Cubierta celular (periplasto y membrana celular)
- Organelos celulares (núcleos, gránulos de reserva, cloroplastos)
- Utilice las muestras preparadas para el caso anterior y observe:
 - Tipos morfológicos (unicelulares o coloniales)

NOTA: SI EXISTE EXCESO DE COLORANTE QUITARLO CUIDADOSAMENTE CON PAPEL HIGIÉNICO.

REALICE ESQUEMAS Y COLOQUE LOS NOMBRES DE LOS ORGANELOS Y ESTRUCTURAS OBSERVADAS

TOME FOTOGRAFÍAS

(Recuerda que las fotografías te serán útiles para la presentación de tus resultados)

Realice un cuadro comparativo con las diferentes ornamentaciones de los géneros observados.

Cuadro Comparativo de los Géneros Observados

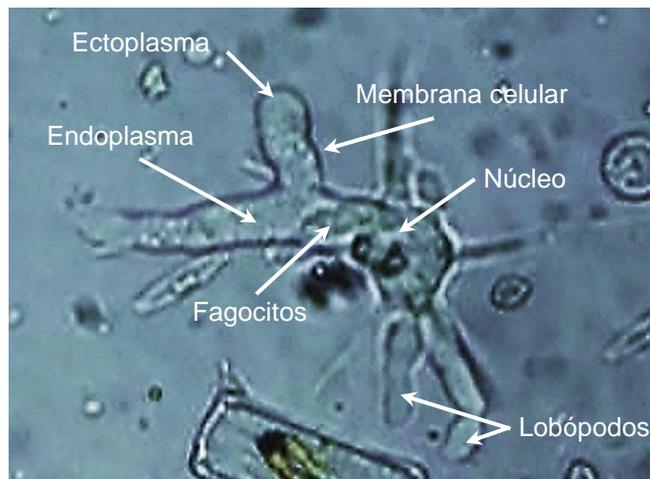
| GENERO | FORMA DE LA CÉLULA | ORNAMENTACIONES | FORMA DE CLOROPLASTOS | TIPO CUBIERTA CELULAR | ORGANIZACIÓN CELULAR |
|--------|--------------------|-----------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |

PRÁCTICA No. 5. SARCOMASTIGÓFOROS (de vida libre dulceacuícolas y marinos y asociados)

1. Introducción

En este grupo se ubican las formas ameboides, cuyo cuerpo celular puede estar protegido o desnudo, además presentan pseudópodos de diferente tipo, lobópodo, filópodos, rizópodos y auxópodos, cuya principal función es la de alimentación.

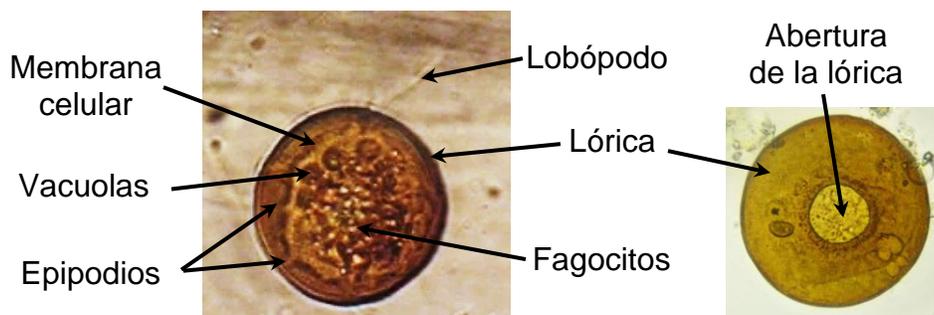
Los sarcodinos desnudos presentan periplasto y membrana celular, poseen un solo núcleo, carecen de etapas flageladas. El grupo más importante son los tubilinos donde se ubican las especies ameboidales de vida libre como *Amoeba proteus* (Fig. 57), su cuerpo va de tubular a cilíndrico ramificado o no, la división nuclear es mitótica. La mayoría de los amoebidos desnudos son cosmopolitas, de vida libre, pueden ser acuáticos y terrestres en suelos húmedos con alto contenido de humus.



Amoeba proteus

Figura 57. Tipo ameboides desnudo de vida libre.

Las especies protegidas presentan diferentes tipos de cubiertas celulares entre las que destacan las lóricas (Fig. 58)



Arcella vulgaris

Figura 58. Sarcodinos loricados de agua dulce.

Un aspecto importante es la clasificación taxonómica de los ameboides asociados parásitos, estos organismos son estructuralmente sencillos no ofrecen caracteres morfológicos suficientes para tener una clasificación robusta, para compensar esta carencia se solía tomar en cuenta aspectos ecológicos, e incluso fisiológicos, ofreciendo un sustento taxonómico adecuado, lo cual daba como resultado una clasificación que por mucho tiempo funcionó a pesar de las evidentes incongruencias en ciertos grupos. Algunas especies endocomensales pueden causar daño al hospedero y suelen ser de importancia médica y veterinaria, un ejemplo de ellos es *Entamoeba coli* (Fig. 59)

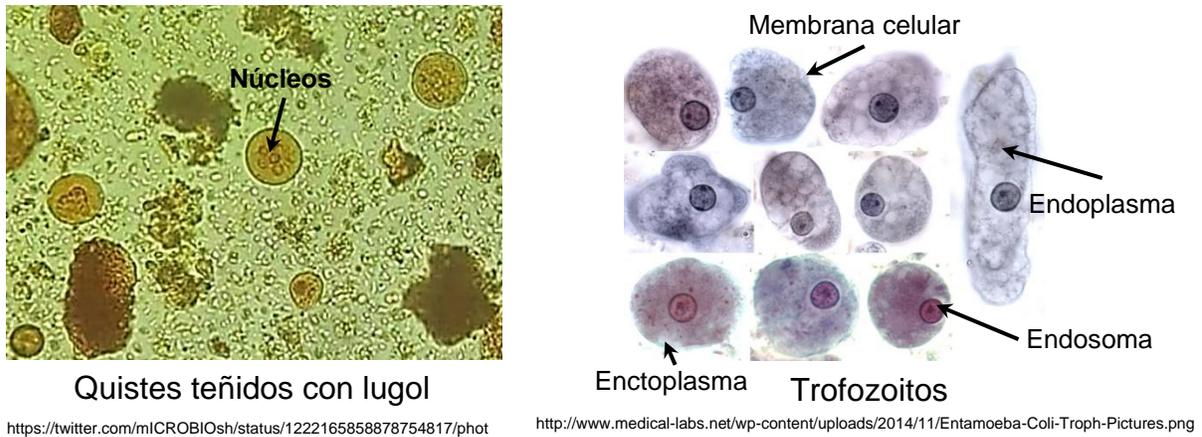


Figura 59. Ejemplares de *Entamoeba coli*.

Otro grupo emparentado con los ameboides son los coanoflagelados, protozoos heterótrofos unicelulares o coloniales con mitocondrias crestadas planas, no discoidales, presentan un collar formado por microvellosidades recubiertas de mucílago proteico, un solo flagelo opistoconto el cual impulsa a la célula; pueden presentar filópodos en la base de la célula.

La célula puede estar protegida por una lórica (la mayoría de las especies dulceacuícolas), o sin lórica (la mayoría marinas). Los tipos morfológicos van desde los solitarios (Fig. 60) y coloniales de vida libre (Fig. 61), o aquellos que presentan pedúnculos mucilaginosos cortos o largos generalmente fijos a microalgas como en las diatomeas radiales.

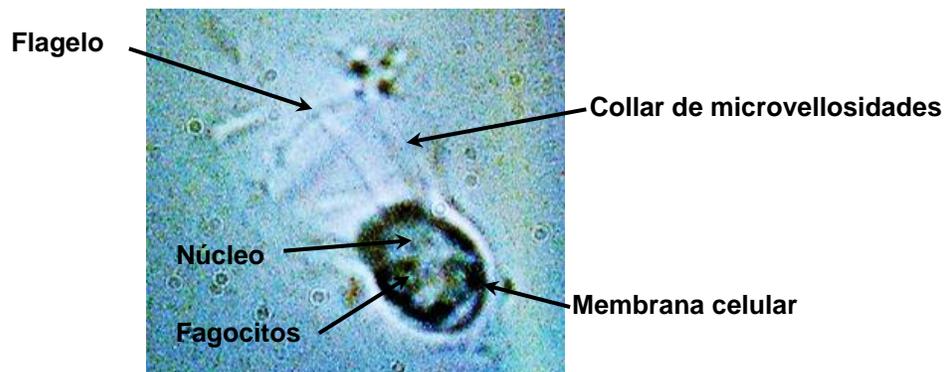


Figura 60. *Codosiga* sp.

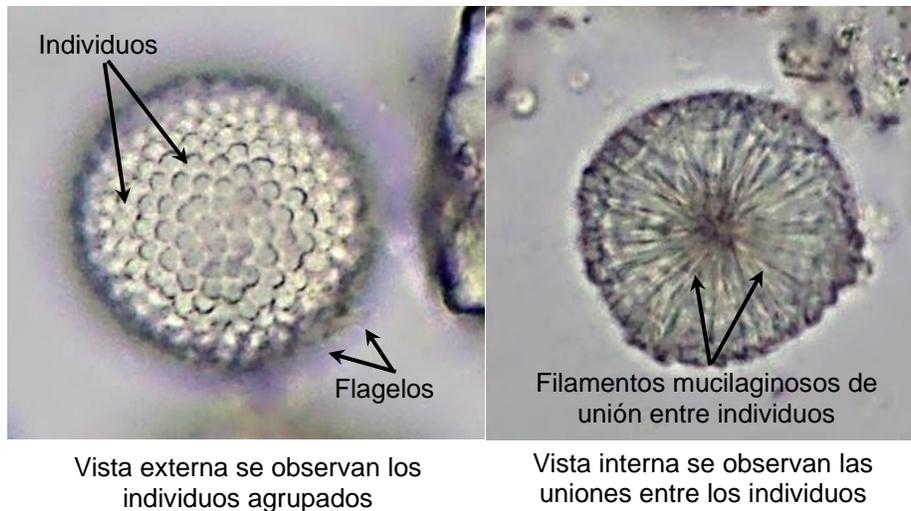


Figura 61. *Sphaeroeca* sp.

Los coanoflagelados tienen una gran importancia filogenética, ya que se consideran los parientes unicelulares más próximos de los animales, se encuentran directamente relacionados con el grupo de los poríferos (esponjas)

2. Objetivos

- Observar y diferenciar las estructuras celulares y diversidad morfológica de los sarcomastigóforos.
- Reconocer y diferenciar los géneros típicos de este grupo.

3. Material biológico

- Muestras de agua colectadas en diferentes sistemas acuáticos.
- Géneros sugeridos: *Amoeba proteus*, *Arcella* sp., *Diffugia* sp. y *Sphaeroeca* sp.

3. Desarrollo de la práctica

Algo importante para el estudio e identificación de los sarcomastigóforos es poder observarlos en vivo, ya que una característica definitoria es el tipo de pseudópodos que presentan y en el caso de los coanoflagelados asociados pueden llegar a desprenderse de su sustrato debido al reactivo fijador.

3.1. Sarcomastigóforos ameboides

Colecta mediante una red de cuchara una muestra de agua de un sistema dulceacuícola, principalmente que contenga una alta concentración de materia orgánica, vacía el concentrado en un frasco de boca ancha de un litro que contenga agua del medio donde realizaste la colecta y transpórtala al laboratorio para su análisis.

3.2. Amebas desnudas de vida libre

a) En un portaobjetos coloca dos o tres gotas del sedimento de tu muestra colectada, pon el cubreobjetos, si se requiere agrega una gota más del agua del medio utilizado y observa en microscopio compuesto óptico o de luz, enfocando primeramente con el objetivo de 10X y de ser necesario pasa al de 40X. Observa las siguientes características:

- Forma de las células de amebas desnudas
- Tipos de pseudópodos

c) Una vez realizadas las observaciones en vivo, la cubierta de las células se puede resaltar utilizando azul de metileno y lugol, con el azul de metileno también se pueden observar el núcleo y las vacuolas contráctiles. Sin levantar el cubreobjetos de tu muestra, en un extremo coloca una o dos gotas del colorante elegido, deja reposar de uno a dos minutos y observar al microscopio compuesto.

- Cubierta celular (periplasto y membrana celular).
- Organelos celulares (núcleos, vacuolas contráctiles, fagocitos, etc.).
- Utilice las muestras preparadas para el caso anterior y observe:

- Tipos morfológicos (unicelulares o coloniales)

3.3. Amebas loricadas de vida libre

a) En un portaobjetos coloca dos o tres gotas del sedimento de tu muestra colectada, pon el cubreobjetos, si se requiere agrega una gota más del agua del medio utilizado y observa en microscopio compuesto óptico o de luz, enfocando primeramente con el objetivo de 10X y de ser necesario pasa al de 40X. Observa las siguientes características:

- Forma de las loricas.
- Tipos de pseudópodos.
- Organelos celulares.

3.4. Coanoflagelados

a) En un portaobjetos pon dos o tres gotas del sedimento de una muestra plancton marino de la localidad de “El Zapote de Madero”, municipio de Aquila, Michoacán, agrega una microgota de azul de metileno, coloca el cubreobjetos, si se requiere agrega una gota más del agua del medio utilizado y observa en microscopio compuesto óptico o de luz, enfocando primeramente con el objetivo de 10X y de ser necesario pasa al de 40X. Observa las siguientes características:

- Forma de las colonias de *Sphaeroeca* sp.
- Forma de las células de la colonia.
- Organelos celulares.

NOTA: SI EXISTE EXCESO DE COLORANTE QUITARLO CUIDADOSAMENTE CON PAPEL HIGIÉNICO.

REALICE ESQUEMAS Y COLOQUE LOS NOMBRES DE LOS ORGANELOS Y ESTRUCTURAS OBSERVADAS

TOME FOTOGRAFÍAS

(Recuerda que las fotografías te serán útiles para la presentación de tus resultados)

Realice un cuadro comparativo con las diferentes ornamentaciones de los géneros observados.

Cuadro Comparativo de los Géneros Observados

| GENERO | FORMA DE LA CÉLULA | ORNAMENTACIONES | ORGANELOS | TIPO CUBIERTA CELULAR | ORGANIZACIÓN CELULAR |
|--------|--------------------|-----------------|-----------|-----------------------|----------------------|
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |

PRÁCTICA No. 6. CRIPTOMÓNIDOS

1. Introducción

Son organismos cuya coloración varía notablemente desde verdeamarillento, pardo, verdeazulados hasta rojo. Las especies pigmentadas poseen uno o dos cloroplastos parietales acintados con o sin pirenoides los que contienen clorofilas "a" y "c₂", α y β -caroteno, además de aloxantina, presentan ficobilinas del tipo de Cr-ficoeritrina (coloraciones rojas) y Cr-ficocianina (coloraciones azules), su nutrición comprende autótrofos y auxótrofos éstos últimos requieren de colabamina (Vitamina B₁₂). La sustancia de reserva puede ser almidón o sustancias amiloides ya sea en los pirenoides o disuelto en el citoplasma.

No presentan pared celular típica, también se les puede observar un periplasto constituido de placas orgánicas hexagonales, solamente detectable en Microscopio Electrónico de Barrido (MEB), estas placas no se encuentran en la cripta; en la parte anterior de las células se presenta un surco simple y poco profundo que recibe el nombre de cripta la que puede o no estar revestida de tricocistos o eyectosomas cuya probable función sea la de evitar la depredación. La forma del cuerpo es asimétrica algo comprimida en sentido dorsoventral. Estos organismos presentan dos flagelos, el más corto es pectinado (mastigonemas en un solo lado), mientras que el más grande es pinnado (mastigonemas en ambos lados), (Fig. 62)

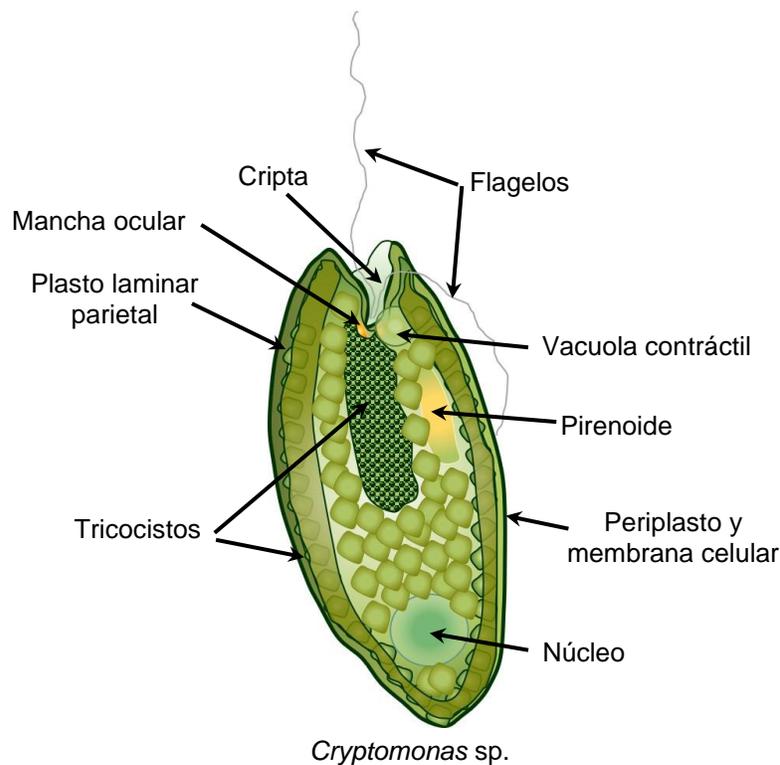


Figura 62. Estructura celular de criptomónidos.

El tipo morfológico característico del grupo corresponde a organismos unicelulares móviles o inmóviles (Fig. 63)

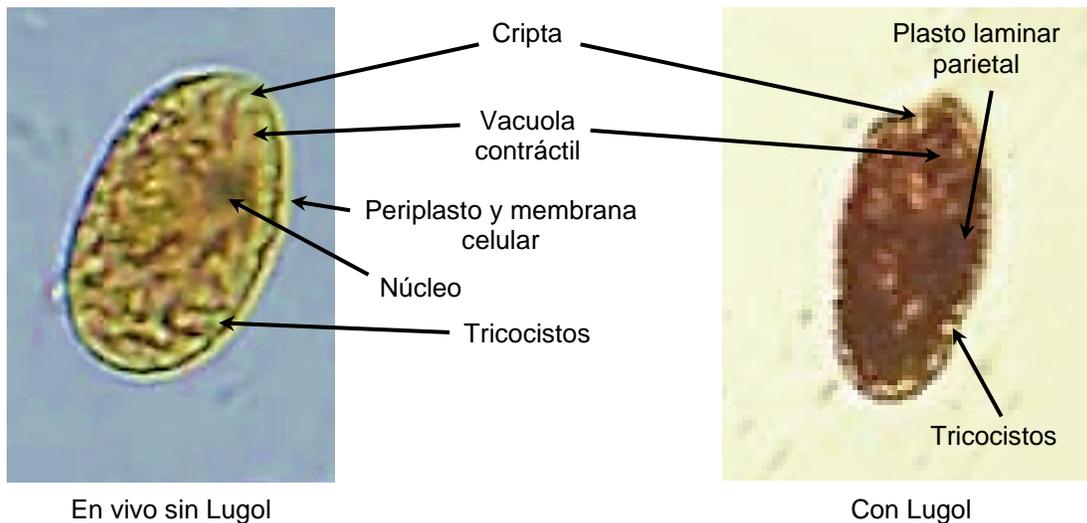


Figura 63. *Cryptomonas* sp. (organismo unicelular móvil)

Su principal forma de reproducción es asexual (vegetativa) por división longitudinal, algunos tienen la capacidad de formar quistes endógenos de pared engrosada, la reproducción sexual se desconoce.

Se localizan en aguas dulces con cierto contenido de materia orgánica, algunos son marinos y otros son simbioses de radiolarios y corales. Llegan a ingerir algunos ciliados como *Myrionecta rubra*.

2. Objetivos

- Observar y diferenciar las estructuras celulares y diversidad morfológica de los criptomónidos.
- Reconocer y diferenciar los géneros típicos de este phylum.

3. Material biológico

- Muestras de agua colectadas en los diferentes sistemas dulceacuícolas.
- Géneros sugeridos: *Cryptomonas* sp.

4. Desarrollo de la práctica

Algo importante para el estudio e identificación de los criptomónidos es poder observarlos en vivo, ya que una característica definitoria es la coloración y la forma de la célula.

a) Colecta mediante una red de cuchara una muestra de agua de un sistema dulceacuícola, principalmente que contenga una alta concentración de materia orgánica, vacía el concentrado en un frasco de boca ancha de un litro que contenga agua del medio donde realizaste la colecta y transpórtala al laboratorio para su análisis.

b) En un portaobjetos coloca dos o tres gotas del sedimento de tu muestra colectada, pon el cubreobjetos, si se requiere, agrega una gota más del agua del medio utilizado y observa en microscopio compuesto óptico o de luz, enfocando primeramente con el objetivo de 10X y de ser necesario pasa al de 40X. Observa las siguientes características:

- Forma de la célula.
- Cubierta celular (periplasto)
- Organelos celulares (núcleo, pirenoides, plastos, flagelos, forma y posición de la cripta y pirenoides)
- Organización celular (unicelular)

c) Si deseas resaltar los plastos y pirenoides a la muestra que preparaste y observaste en vivo, sin levantar el cubreobjetos de tu muestra, en un extremo coloca una o dos gotas de lugol, deja reposar de uno a dos minutos y observar al microscopio compuesto.

NOTA: SI EXISTE EXCESO DE COLORANTE QUITARLO CUIDADOSAMENTE CON PAPEL HIGIÉNICO.

REALICE ESQUEMAS

TOME FOTOGRAFÍAS

(Recuerda que las fotografías te serán útiles para la presentación de tus resultados)

Cuadro comparativo de los géneros observados

| GÉNERO | TIPO DE CUBIERTA EXTERNA | ORGANELOS DE LOCOMOCIÓN | FORMA DE LA CÉLULA | ORGANIZACIÓN CELULAR |
|--------|--------------------------|-------------------------|--------------------|----------------------|
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |

Cuadro comparativo de los géneros observados (continuación)

| GÉNERO | ORNAMENTACIONES | FORMA Y POSICIÓN DE CLOROPLASTOS | OTROS ORGANELOS | FORMA Y NÚMERO DE NÚCLEOS |
|--------|-----------------|----------------------------------|-----------------|---------------------------|
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |

PRÁCTICA No. 7. COCOLITOFÓRIDOS

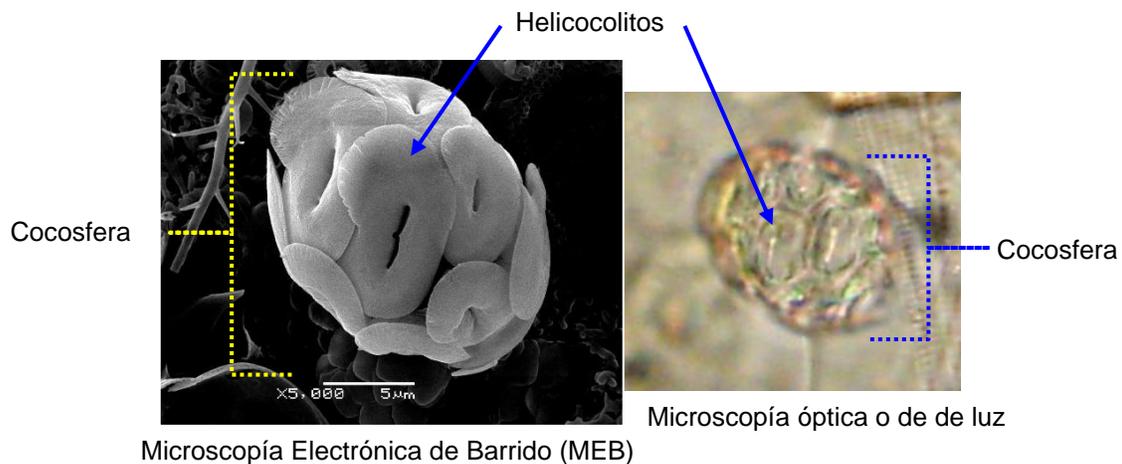
1. Introducción

La mayoría de las especies de las haptofitas son unicelulares, móviles que presentan dos flagelos, los pigmentos fotosintetizadores, en el caso de las formas autótrofas y mixotróficas, son las clorofilas “a”, “c₁” y “c₂”, así como el β -caroteno y xantofilas como diatoxantina, diadinoxantina y fucoxantina. La sustancia de reserva que se ha observado es la crisolaminarina, además de grandes concentraciones de aceites.

Comprende a los organismos que presenta un haptonema, escamas y cocolitos, el haptonema es una estructura semejante a un flagelo, pero difiere por su ultraestructura, ya que se compone de tres membranas concéntricas que rodean a seis microtúbulos, sus funciones pueden ser como órgano de fijación, sirve para alimentarse mediante la fagocitosis con capacidad de enroscarse y extenderse rápidamente.

Las escamas pueden ser de constitución celulósica (orgánicas) y pueden presentarse en el cuerpo celular o solamente en el flagelo.

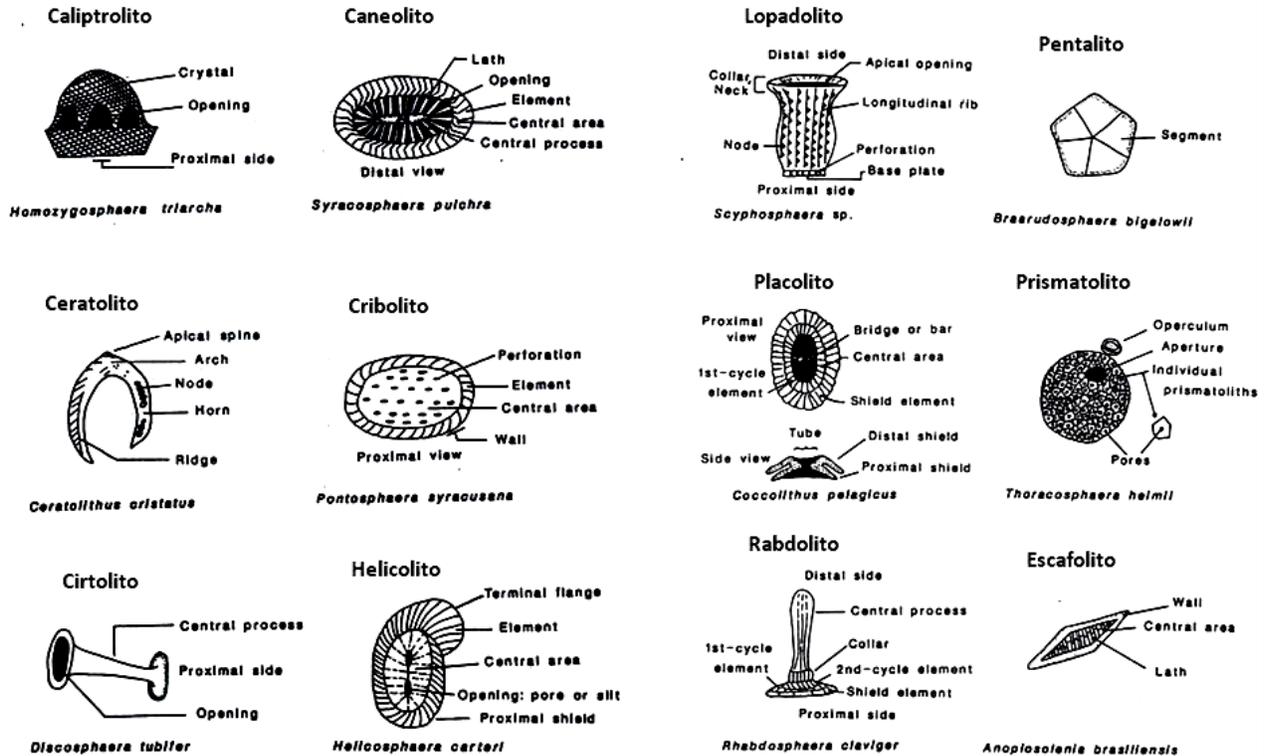
Los cocolitos son estructuras de carbonato de calcio, que varían de forma desde circulares a elipsoidales los cuales se localizan en la superficie de la célula, ésta y sus cocolitos reciben el nombre de cocósfera, la formación tanto de las escamas como los cocolitos está vinculada con el aparato de Golgi, para posteriormente emigrar a la superficie de la célula, su forma y disposición son de importancia taxonómica para definir los géneros y especies (Figs. 64 y 65)



Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

Helicosphaera carteri

Figura 64. Morfología de cocolitofóridos.



Tipos de cocolitos (modificado de: Siesser & Winter 1994)

Figura 65. Morfología de cocolitos.

2. Objetivos

- Observar y diferenciar las estructuras celulares y diversidad morfológica de los cocolitofóridos.
- Reconocer y diferenciar los géneros típicos de phylum.

3. Material biológico

- Fitoplancton marino (*Emiliana* sp. y *Gephyrocapsa* sp.)

4. Desarrollo de la práctica

4.1. Observación de la morfología.

a) Coloque una pequeña parte de la membrana millipore que contenga cocolitofóridos en un portaobjetos y agréguele una gota de aceite de inmersión.

b) Coloque el cubreobjetos y observe al microscopio compuesto, primero con el objetivo de 40x y una vez localizados los organismos, con cuidado observe con el objetivo de 100x:

- Forma de las cocsferas, Forma y tipo de los cocolitos.

REALICE ESQUEMAS Y COLOQUE LOS NOMBRES DE LOS ORGANELOS Y
ESTRUCTURAS OBSERVADAS

TOME FOTOGRAFÍAS

(Recuerda que las fotografías te serán útiles para la presentación de tus resultados)

NOTA: EN CASO DE NO LLEVARSE A CABO LA OBSERVACIÓN UTILICE LAS
FOTOGRAFÍAS QUE SE LE PROPORCIONEN

Realiza un cuadro comparativo de los géneros observados

Cuadro Comparativo de los Géneros Observados

| GENERO | FORMA DE COCOSFERA | TIPO DE COCOLITOS | FORMA DE LOS COCOLITOS |
|---------------|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

A partir de las fotografías proporcionadas realice un cuadro comparativo de los géneros

Cuadro Comparativo de los Géneros de las Fotografías

| GENERO | FORMA DE COCOSFERA | TIPO DE COCOLITOS | FORMA DE LOS COCOLITOS |
|---------------|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

Realice una clave dicotómica a partir del análisis de ambos cuadros utilizando la teoría de conjuntos.

PRÁCTICA No. 8. RIZARIOS (foraminíferos y radiolarios)

1. Introducción

Los rizarios se caracterizan por presentar células ameboideas rodeadas por periplasto y membrana celular, poseen un solo núcleo, mitocondrias, aparato de Golgi y retículo endoplásmico, pueden estar desnudas o cubiertas por conchas constituidas de carbonato de calcio, otros pueden mostrar esqueletos a manera de testas de sílice o de sulfato de estroncio, además presentan pseudópodos finos llamados filopodios y reticulopodios los cuales se encuentran anastomosados semejando raíces, de donde proviene el nombre del grupo, o axópodos sostenidos por mitrotúbulos y dispuestos de forma radial, la principal función es la de alimentación; otra característica del grupo es la presencia de mitocondrias con crestas tubulares. En general los rizarios se consideran mayormente de vida libre marinos o dulceacuícolas, aunque también se incluyen algunas especies parásitas de plantas y animales.

1.1. Foraminíferos

Este grupo se caracteriza por presentar conchas de carbonato de calcio, la mayoría de calcita y unos cuantos de aragonita, los pseudópodos son reticulopodios granulados, la mayoría de las especies son bentónicas marinas, aunque también existen especies planctónicas. Las conchas pueden estar constituidas por una sola cámara unicamerales o por varias conchas multicamerales, éstas últimas separadas por septos, se encuentran perforadas por uno o más orificios interconectados que en conjunto reciben el nombre de foramen de donde proviene el nombre de foraminíferos. Comúnmente las cámaras están dispuestas de manera helicoidal (Fig. 66), aún las unicamerales, *Amodiscus* sp. (Fig. 67) o en doble hilera como en *Bolivia* sp. (Fig. 67)

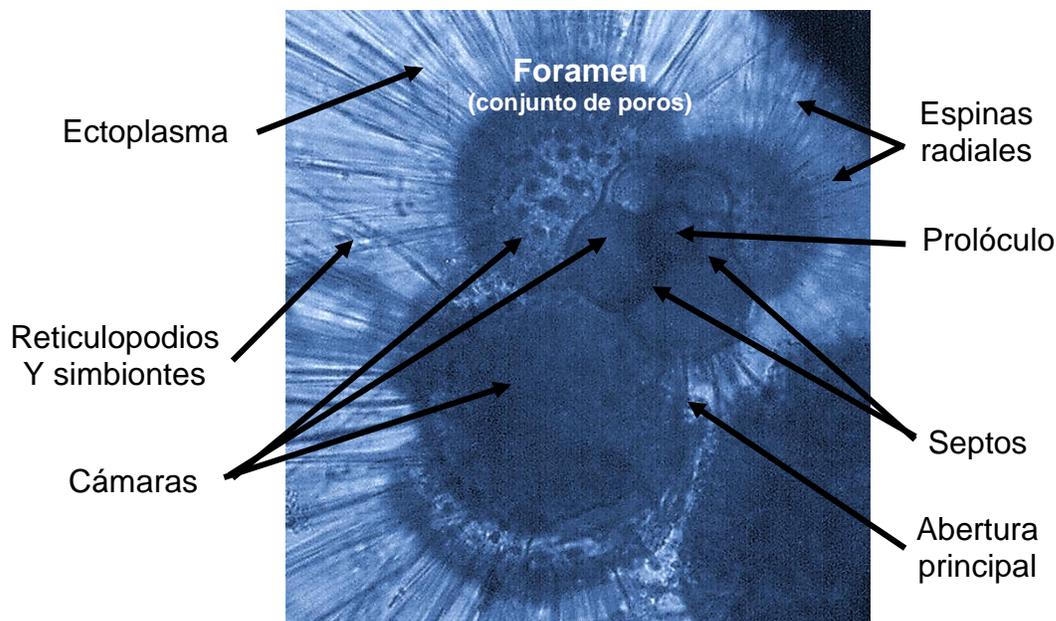


Figura 66. Morfología general de los foraminíferos en vista adoral.

Algunos géneros representativos de este orden son: *Globigerina* sp., *Hastigerinella* spp., *Asterigerina* spp., *Bolivina* spp., *Ammonia* spp., y *Ammodiscus* spp. (Fig. 67)

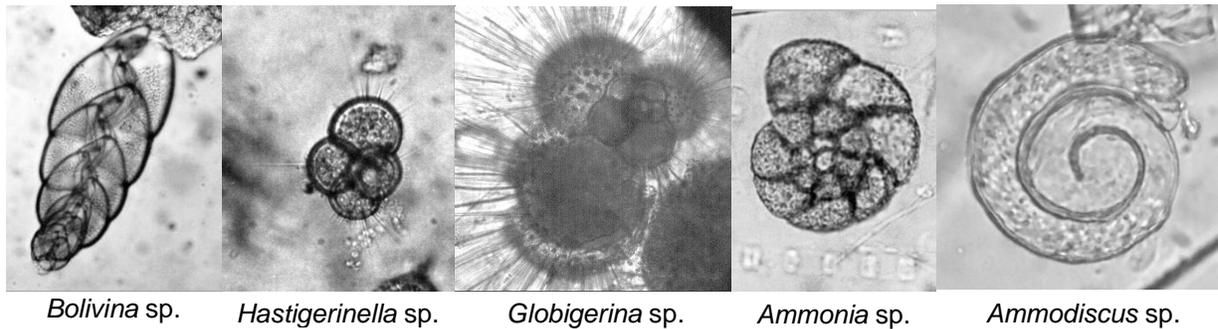


Figura 67. Tipos Morfológicos de Foraminíferos.

1.2. Radiolarios

Los radiolarios se caracterizan por presentar dos partes que se separan por la membrana celular a la interna se le conoce como cápsula central constituida por endoplasma, mientras que la parte externa esta formada por ectoplasma. La cápsula central se encuentra perforada ya sea por un solo orificio central o numerosos orificios pequeños, estableciéndose de esta manera la comunicación entre el plasma de ambas partes. Los pseudópodos se presentan a manera de auxópodos que se originan a partir del ectoplasma y están sostenidos por microtúbulos dispuestos de manera radial.

Por su morfología se clasifican en dos grandes grupos: 1) los policistinos, con elementos esqueléticos de sílice, y 2) los feodarianos, con elementos esqueléticos huecos de una composición de sulfato de estroncio. Los policistinos, son los radiolarios más conocidos, se subdividen en dos grupos principales: los espumeláridos, de esqueleto básicamente esférico, y los naseláridos, de esqueleto básicamente cónico. Unos pocos grupos de los policistinos carecen de un esqueleto por completo. Las características de la membrana capsular central también distinguen estos grupos de radiolarios.

Los espumeláridos poseen formas, desde esféricas hasta elipsoidales y discoidales, estos presentan simetría radial. Es común que los espumeláridos tengan varias conchas concéntricas conectadas por barras radiales, la gran mayoría son unicelulares, sin embargo, unos pocos son coloniales. (Fig. 68)

Los naseláridos se forman a partir de espículas simples a las que se agregan una cubierta enrejada para formar una cámara, luego cámaras adicionales que se expanden axialmente en las formas cónicas típicas del grupo, semejando torres invertidas (Fig. 69)

Algunos ejemplos de géneros de espumeláridos y naseláridos se muestran en las Figuras 70 y 71.

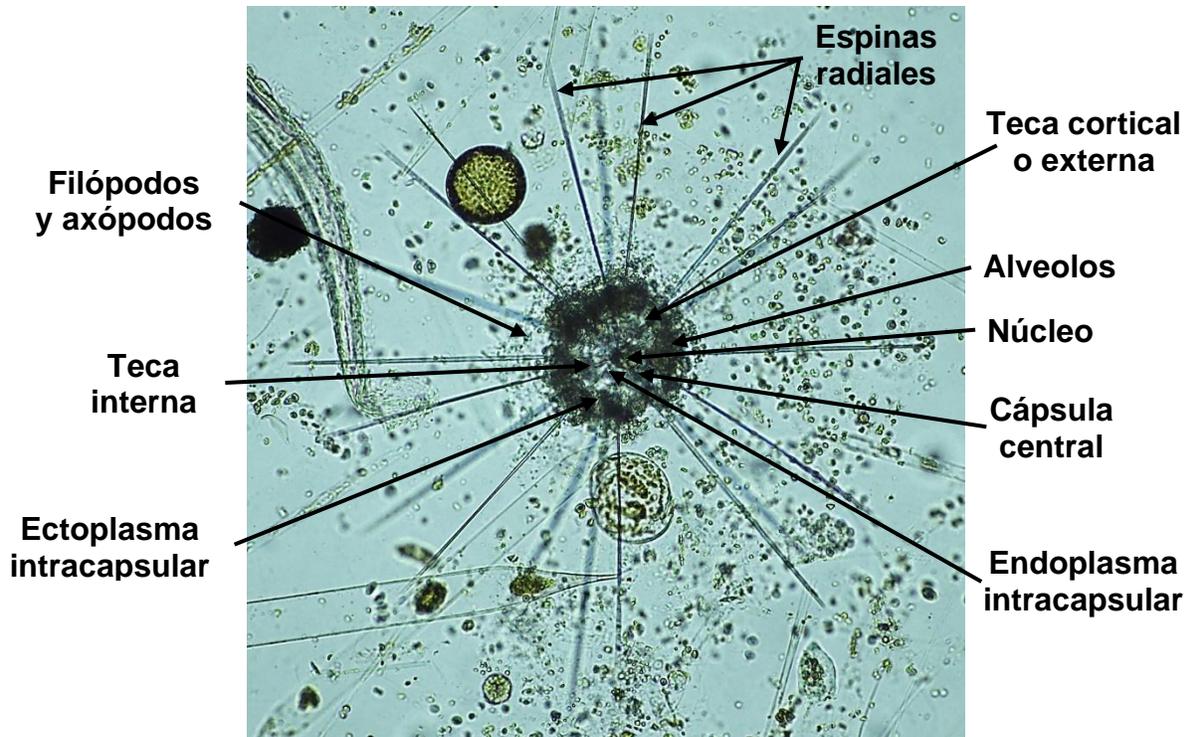


Figura 68. Citología y morfología de un espumelárido.

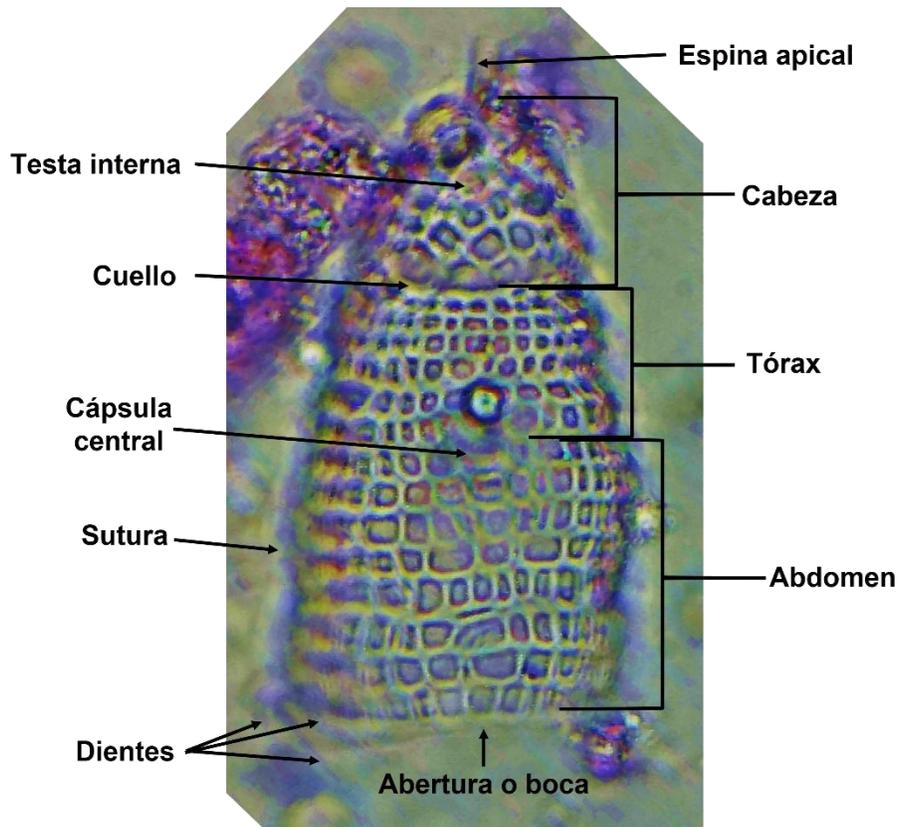
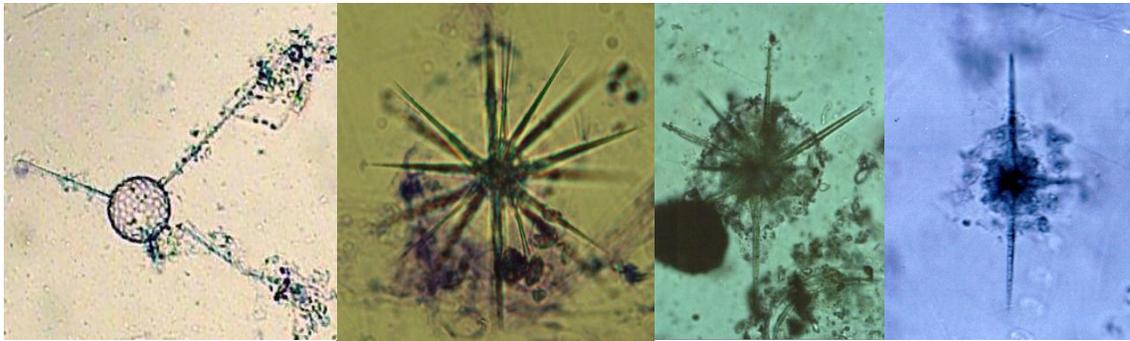


Figura 69. Morfología de un naselárido *Artostrobus* sp.

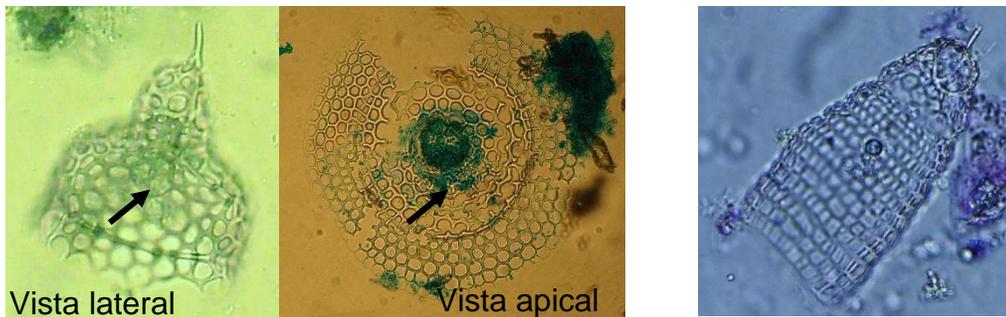


Acanthosphaera sp.

Cladococcus sp.

Actinomma spp.

Figura 70. Radiolarios espumelários.

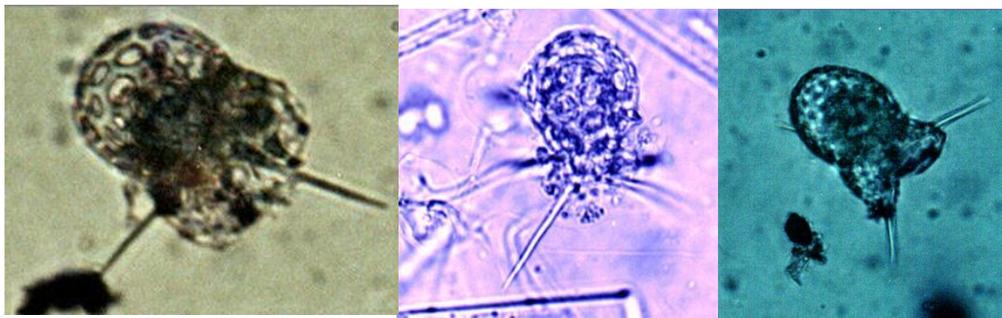


Vista lateral

Vista apical

Microsfemas de *Anthocyrtidium* sp.

Artostrobus sp.



Arachnocoallium spp.

Figura 71. Géneros de radiolarios naseláridos.

2. Objetivos

- Observar y diferenciar las estructuras celulares y diversidad morfológica de los foraminíferos y radiolarios de vida libre.
- Reconocer y diferenciar los géneros típicos de este grupo.

3. Material biológico

- Muestras de agua colectadas en medio marino.
- Organismos sugeridos: géneros de foraminíferos y radiolarios.

4. Desarrollo de la práctica

La cubierta de las células y los organelos se pueden resaltar utilizando Azul de Metileno.

a) Coloca una o dos gotas de sedimento de tu muestra en un portaobjetos, agrega una o dos gotas del colorante elegido, si es necesario puedes agregar una o dos gotas más de agua, deja reposar de uno a dos minutos, coloca el cubreobjetos y observar al microscopio compuesto óptico.

- Tipos morfológicos (unicelulares o coloniales)
- Cubierta celular.
- Organelos celulares (núcleos, vacuolas digestivas y contráctiles, tipos de pseudópodos y ornamentaciones)
- Utilice las muestras preparadas para el caso anterior y observe:

NOTA: SI EXISTE EXCESO DE COLORANTE QUITARLO CUIDADOSAMENTE CON PAPEL HIGIÉNICO.

REALICE ESQUEMAS Y COLOQUE LOS NOMBRES DE LOS ORGANELOS Y ESTRUCTURAS OBSERVADAS

TOME FOTOGRAFÍAS

(Recuerda que las fotografías te serán útiles para la presentación de tus resultados)

Realice un cuadro comparativo con las diferentes ornamentaciones de los géneros observados.

Cuadro Comparativo de los Géneros Observados

| GÉNEROS | TIPO MORFOLÓGICO | TIPO DE CUBIERTA | TIPO DE SEUDÓPODOS | ORNAMENTACIONES |
|----------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------|------------------------|
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |

PRÁCTICA No. 9. ALVEOLADOS (dinoflagelados, apicomplejos y ciliados)

1. Introducción

Los alveolados son un grupo de protistas que comparten la presencia de una capa poco más o menos continúa, compuesta por alvéolos corticales en forma de vesículas aplanadas la cual se encuentra por debajo de la membrana celular, los plastos de los grupos fotosintetizadores tienen diverso origen endosimbiótico desde secundario hasta terciario; otra característica que comparten es la presencia de mitocondrias con crestas tubulares. Considerando las relaciones filogenéticas a partir de análisis de secuencias del rRNA 18S se demostró la monofilia de los Alveolata, de esta manera el grupo basal lo conforman los dinoflagelados, seguido de los apicomplejos y el más evolucionado los ciliados.

1.1. Dinophyceae (Dinoflagelados)

Este grupo comprende especies incoloras y pigmentadas estas últimas se conocen como pardodoradas o pardoverdosas, presentan clorofila "a" y "c₂", β-caroteno, peridinina, dinoxantina y diadinoxantina; los pigmentos generalmente se encuentran encerrados en plastos en las formas pigmentadas, observándose de uno a dos en las formas más primitivas, mientras que en las más evolucionadas son numerosos y discoidales.

El origen de los plastos es complicado se han observado especies con plastos de origen secundario asociados a una endosimbiosis con algas rojas (dinoflagelados de linaje rojo), en tanto que otros se formaron por asociación con algas verdes unicelulares mostrando la presencia de cuatro membranas recubriendo los plastos, lo que da una idea de una endosimbiosis terciaria, bajo este mismo criterio existen especies cuyos plastos se adquirieron por asociación fagocítica derivados de haptofitas, diatomeas y critomónidos.

Este grupo es único entre las eucariotas, debido a que carecen de proteínas histónicas, lo que hace que los cromosomas permanezcan compactos dándole un aspecto de rosario al núcleo (moniliforme) el cual se denomina dinocarión.

La mayoría de los miembros son móviles, presentando dos flagelos, uno pinnado y otro pectinado, por su posición pueden ser apicales o laterales.

La cubierta celular puede estar constituida por una pared o un periplasto y por debajo de la membrana celular se presenta una capa alveolada llamada anfiesma (Fig. 72)

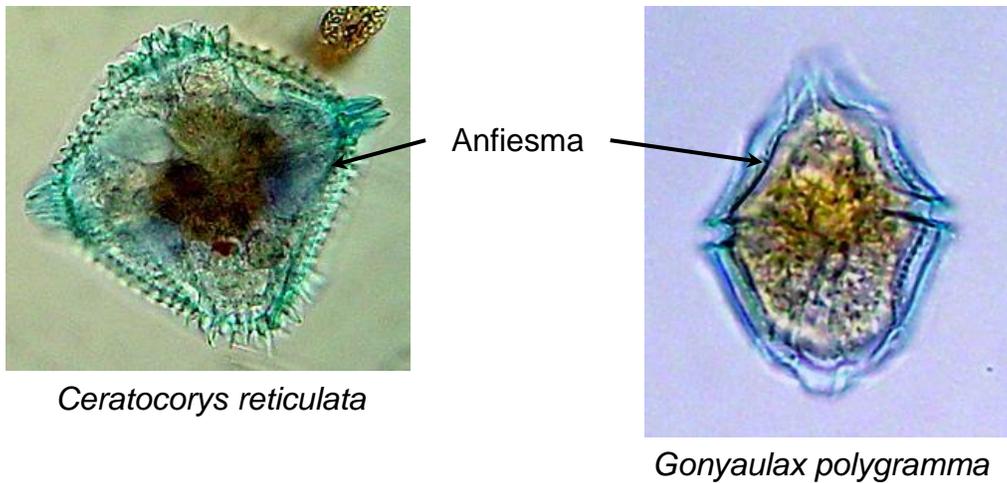


Figura 72. Anfiisma de dinoflagelados tecados, microscopio óptico o de luz.

En general los dinoflagelados se encuentran divididos en dos partes mediante un surco transversal llamado cíngulo, a la parte superior se le denomina epicono y su extremo anterior ápice o parte apical, a la parte inferior se le llama hipocono y su extremo posterior antápice o parte antapical, el hipocono a su vez se divide en dos por un surco longitudinal llamado sulcus (Fig. 73)

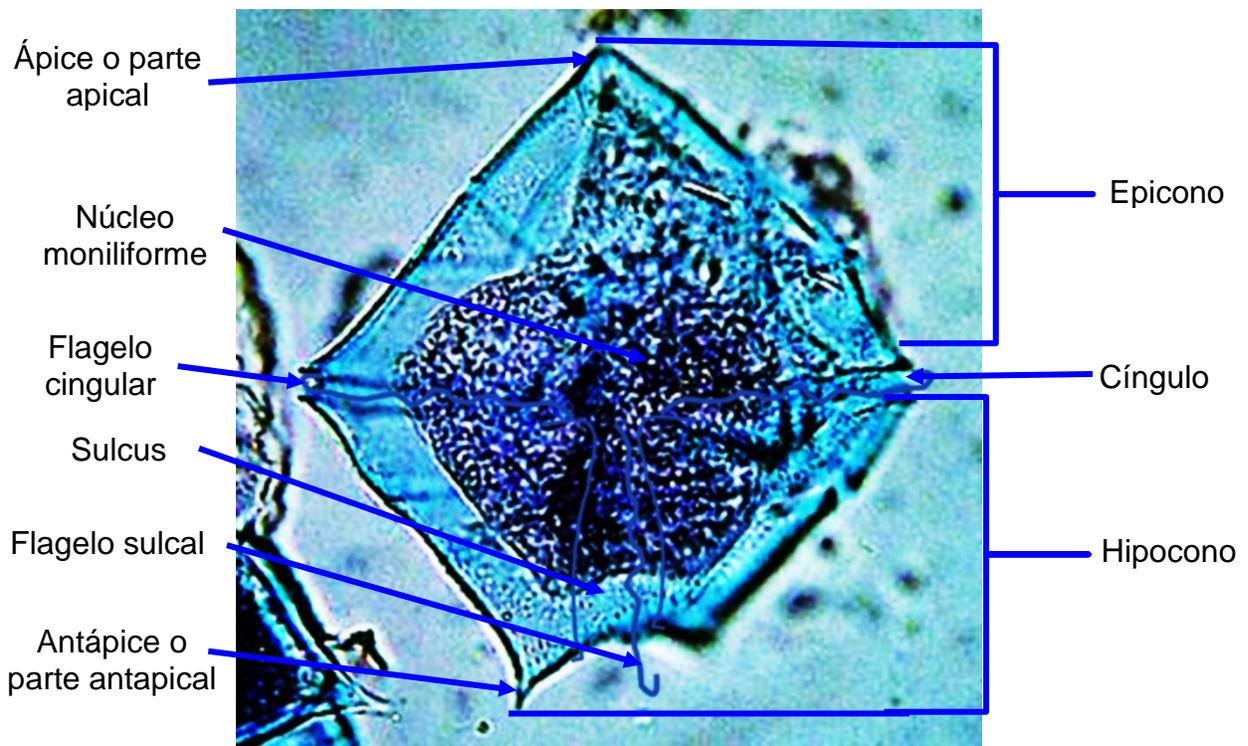


Figura 73. Principales estructuras morfológicas de un dinoflagelado tecado (*Protoperdinium* sp.)

En las formas desnudas se complica un tanto cuanto su identificación, sin embargo, el tipo morfológico que llegan a presentar muchas de ellas facilita este trabajo puesto que son muy características para cada especie; estos son de los organismos donde podemos observar los pliegues del periplasto como parte de su ornamentación (Fig. 74)

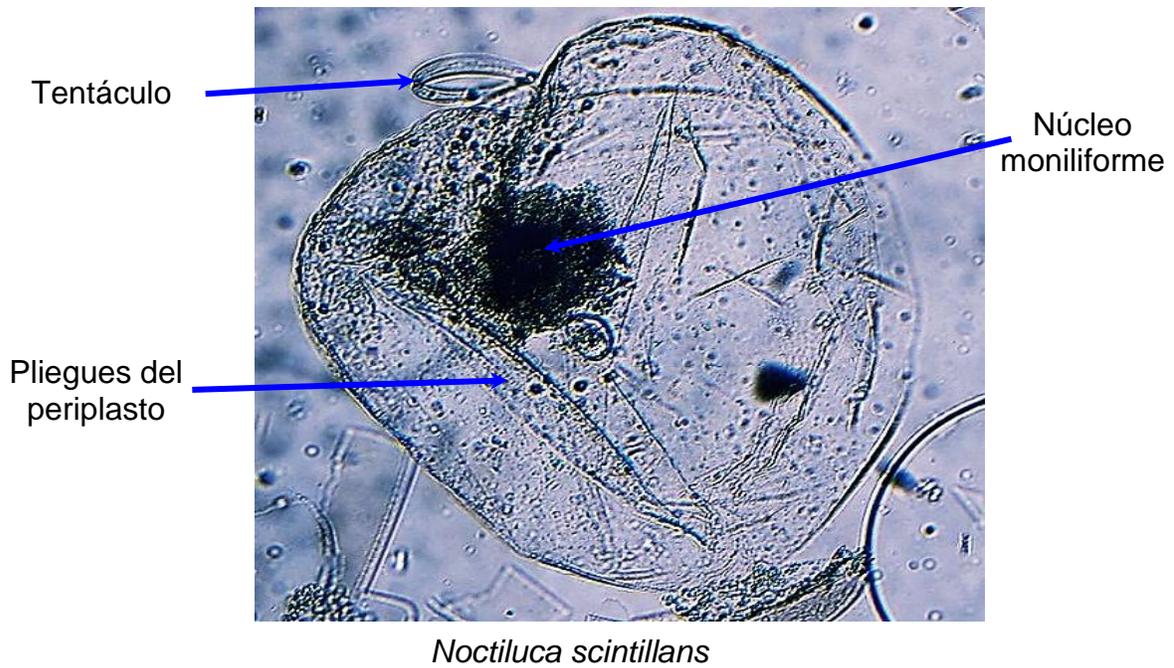
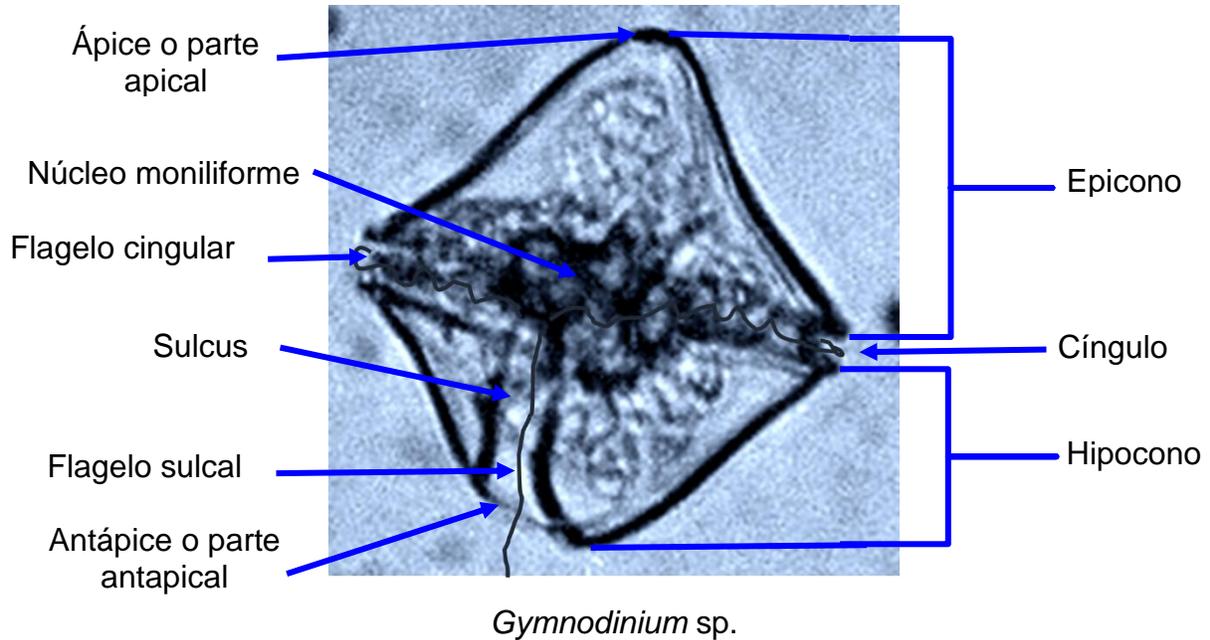


Figura 74. Ornamentaciones del periplasto en dinoflagelados desnudos y núcleo moniliforme.

Algunas de las especies características se presentan a continuación (Fig. 75)

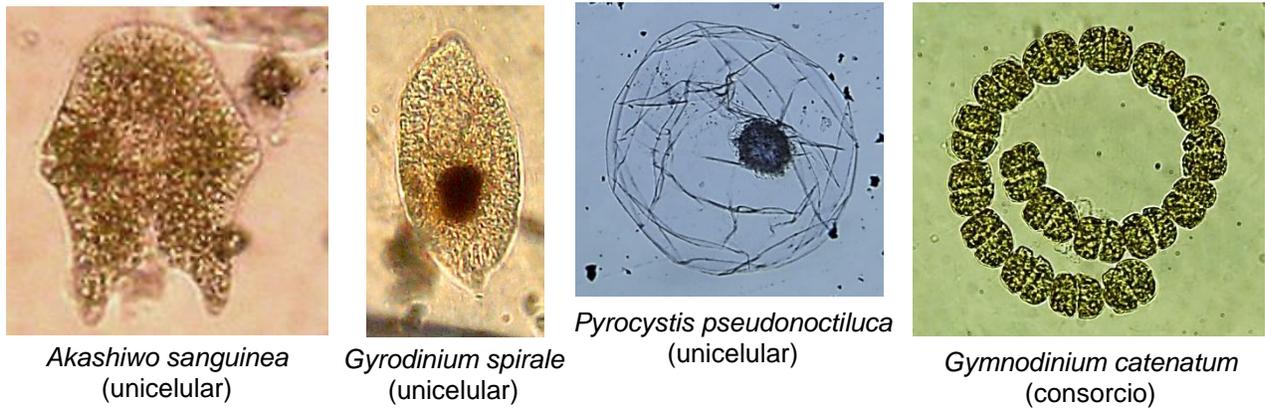


Figura 75. Tipos morfológicos de dinoflagelados desnudos.

En tanto que las formas que presentan valvas, la estructura y disposición de estas nos permite definir el tipo de organismos de que se trata, es característico de este grupo un surco longitudinal que une las valvas y el cual es llamado sutura sagital, los flagelos en estos organismos son de inserción apical por lo cual reciben el nombre de desmocontos (Fig. 76)

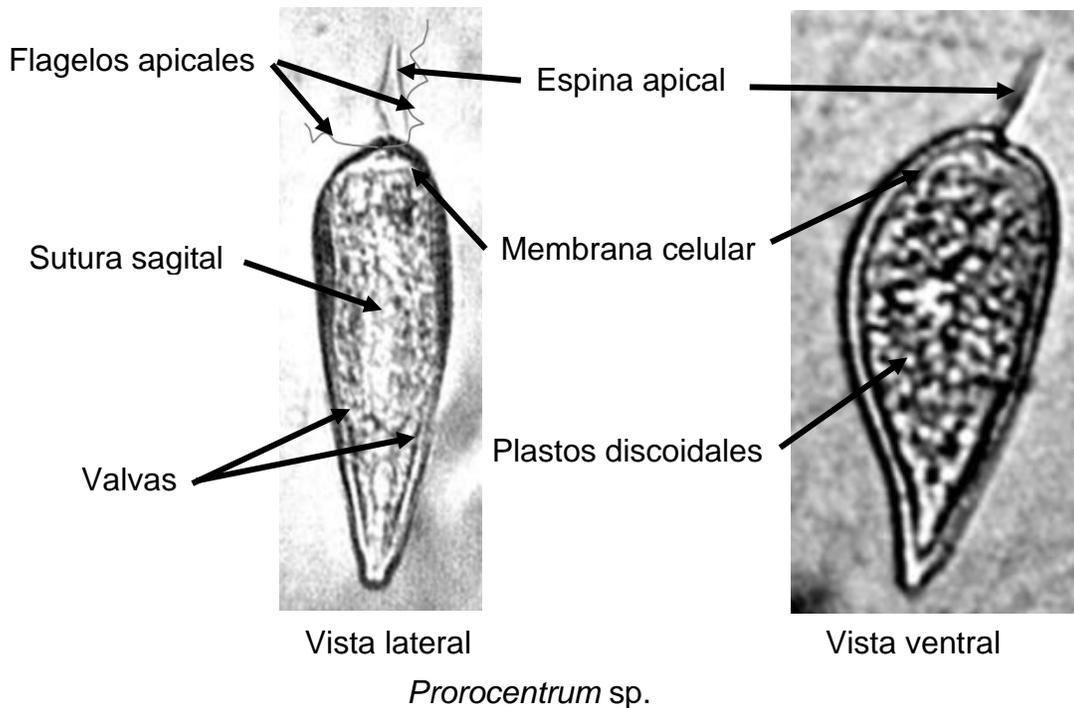


Figura 76. Dinoflagelados valvados.

Las especies con placas también son conocidas como tecadas, sus estructuras son fáciles de detectar, aunque en otras ocasiones se tienen que limpiar previamente a la determinación, estas placas se encuentran dispuestas como se muestra en la Tabla 3, y Figura 77 y 78.

Tabla 3. Tabulación en dinoflagelados

| EPICONO | | |
|---------------------------------|-----------|---|
| NOMBRE | SIMBOLO | LOCALIZACION |
| PLACAS APICALES | ' ó ap | APICE DE LA CELULA |
| PLACAS PRECINGULARES | " ó pr | CONTACTO CON EL CINGULO |
| PLACAS INTERCALARES ANTERIORES | a | ENTRE APICALES Y PRECINGULARES |
| PLACA ROMBICA | 1' ó r | PRESENTE O NO, PUEDE LOCALIZARSE DELANTE DEL SULCUS Y PERTENECE A LAS PLACAS APICALES |
| HIPOCONO | | |
| NOMBRE | SIMBOLO | LOCALIZACION |
| PLACAS ANTAPICALES | '''' ó at | ANTAPICE DE LA CELULA |
| PLACAS POSTCINGULARES | ''' ó pst | EN CONTACTO CON EL CINGULO |
| PLACAS INTERCALARES POSTERIORES | p | ENTRE ANTAPICALES Y POSTCINGULARES |

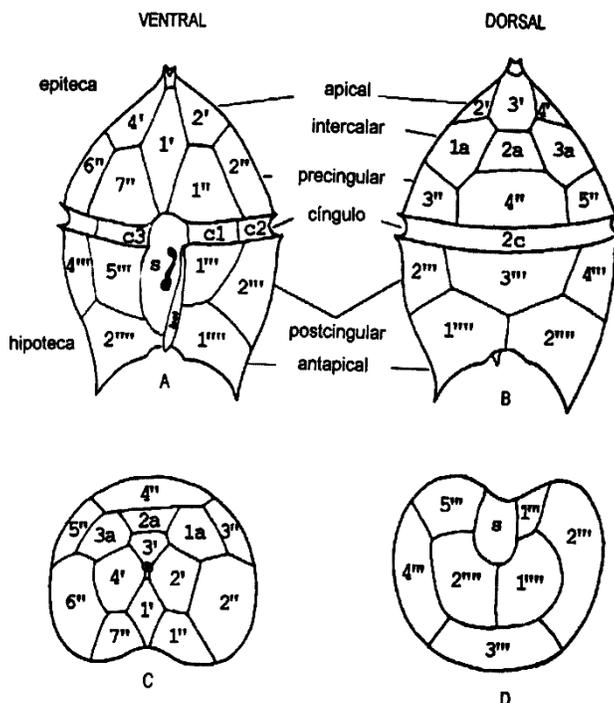


Figura 77. Disposición de las placas en dinoflagelados.

La numeración de las diferentes placas se efectúa a partir del borde izquierdo del surco longitudinal girando hasta terminar en el lado derecho, de esta manera podemos establecer las fórmulas para diferentes géneros (Fig. 78), por ejemplo:

Gonyaulax sp. [3', 0a, 6'', 6c, 6-7s, 6''', 1p, 1''''']
Glenodiniopsis sp. [4', 2-3a, 7'' 5-6c, 0s, 5''', 0p, 2''''']
Protopridinium [4', 3a, 7'', 5c, 5(6)s, 5''', 2''''']
Tripos sp. [4', 0a, 5'', 4-5c, 0s, 5''', 0p, 2''''']

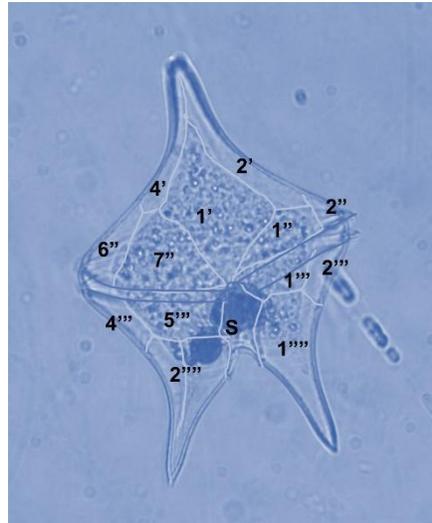


Figura 78. Disposición de las placas en *Protopridinium oceanicum*.

Existe también una gran cantidad de estructuras, presentándose como extensiones cingulares o sulcales a las que se les llama procesos alares o también una serie de bordes alargados denominados costillas que suelen ser extensiones o prolongaciones de la pared celular; la misma pared se puede extender en porciones alargadas llamadas cuernos y espinas (Figs. 79, 80 y 81)

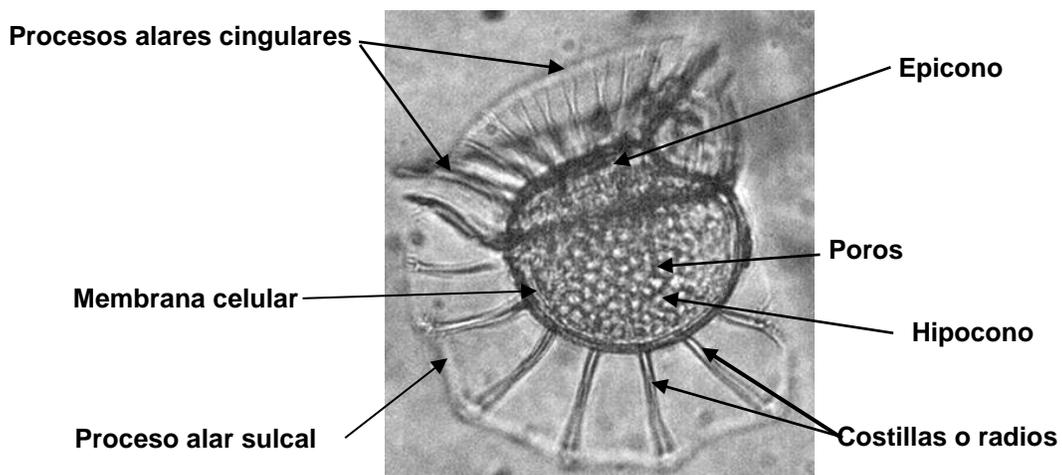


Figura 79. Ornamentaciones en *Ornithocercus steinii*, a: cingulo, b: sulcus.

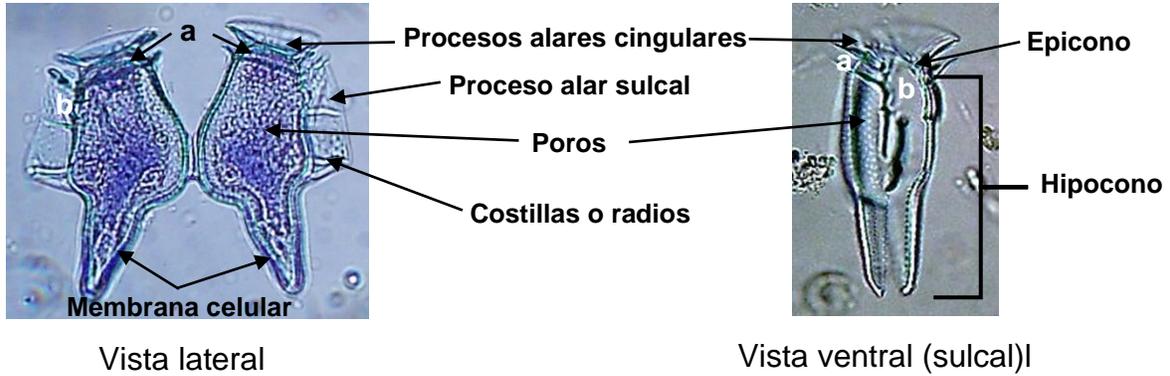


Figura 80. Ornamentaciones en *Dinophysis caudata*, a: cingulo, b: sulcus.

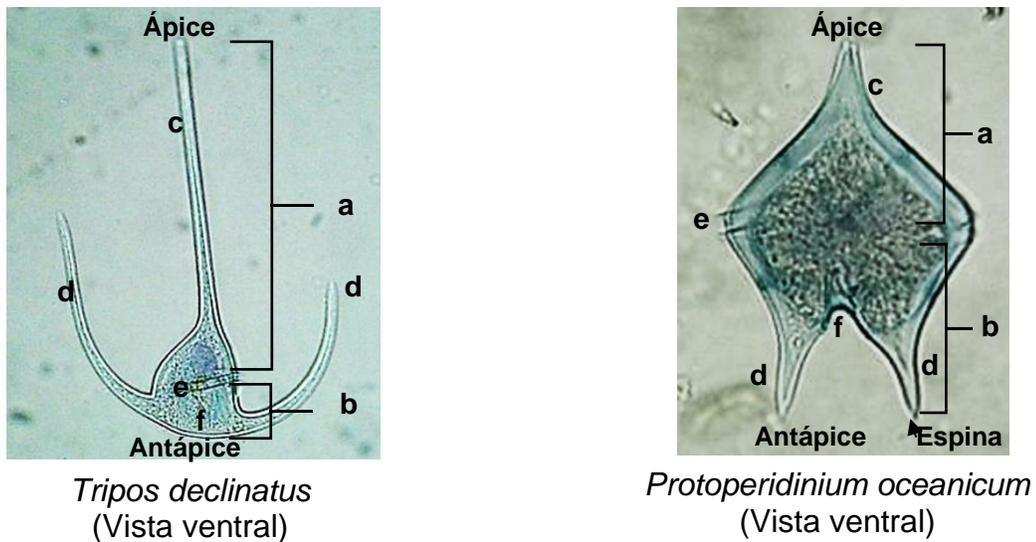


Figura 81. Morfología de dinoflagelados tecados; a: epicono, b: hipocono, c) cuernos apicales, d: cuernos antapicales, e: cingulo, f: sulcus.

La importancia ecológica de este grupo está basada en la presencia de estos en el fitoplancton por lo cual la mayoría de ellos son productores primarios, siendo alimento de peces y otros organismos principalmente de zonas tropicales. La marea roja es producto de grandes florecimientos de géneros como: *Gonyaulax* sp., *Pyrodinium* sp., y *Gymnodinium* sp., entre otros, dichas mareas son causantes de una gran mortandad de peces e invertebrados como los moluscos y cuyo consumo humano puede llegar a producir la muerte.

2. Objetivos

- Observar y diferenciar las estructuras celulares y diversidad morfológica de los dinoflagelados.

3. Material biológico

- Muestras de agua colectadas en los diferentes sistemas acuáticos.
- Géneros sugeridos: *Prorocentrum*, *Dinophysis*, *Protoperidinium*, *Tripos* y *Gymnodinium*.

4. Desarrollo de la práctica

La cubierta de las células se puede resaltar utilizando azul de tripano, en tanto que los gránulos de reserva mediante el lugol, si lo que pretendes es observar el número de núcleos, entonces el azul de metileno es el adecuado. Si lo deseas puedes probar con una coloración mixta.

a) Coloca una o dos gotas de sedimento de la muestra, agrega una o dos gotas del colorante elegido, deja reposar de uno a dos minutos, pon el cubreobjetos, si es necesario agrega más gotas de agua y observar al microscopio compuesto.

- Cubierta celular (periplasto, valvas, placas o tecas)
- Organelos celulares (núcleos, gránulos de reserva, cloroplastos, flagelos)
- Utilice las muestras preparadas para el caso anterior y observe:
 - Tipos morfológicos.

NOTA: SI EXISTE EXCESO DE COLORANTE QUITARLO CUIDADOSAMENTE CON PAPEL HIGIÉNICO.

REALICE ESQUEMAS Y COLOQUE LOS NOMBRES DE LOS ORGANELOS Y ESTRUCTURAS OBSERVADAS

TOME FOTOGRAFÍAS

(Recuerda que las fotografías te serán útiles para la presentación de tus resultados)

Elabore un cuadro con las características observadas en cada género

Cuadro comparativo de los géneros de dinoflagelados

| GENERO | VALVAS | PLACAS | SURCOS | PLACA ROMBOIDAL | EPICONO | HIPOCONO |
|--------|--------|--------|--------|-----------------|---------|----------|
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |

Cuadro comparativo de los géneros de dinoflagelados (utilice el mismo orden que en el cuadro anterior)

| GENERO | CAP | CANT | PAS | PAC | RADIOS (COSTILLAS) | POROS | ESPINAS |
|--|-----|------|-----|-----|--------------------|-------|---------|
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| CAP: cuerno apical; CANT: cuerno antapical; PAS: proceso alar sulcal; PAC: proceso alar cingular | | | | | | | |

1.2. Apicomplexa (apicomplejos)

En este grupo se encuentran protistas todos parásitos, tanto de invertebrados como de vertebrados, incluyendo al humano, sus ciclos de vida son complejos ya que implican tanto a hospederos como a vectores y la esporulación múltiple. Morfológicamente se distinguen por la presencia de un cuerpo apical complejo, de donde deriva su nombre, el cual está constituido por citoesqueleto a manera de ganchos y vesículas, roptrias, dispuestas entorno de un poro apical (Fig. 81)

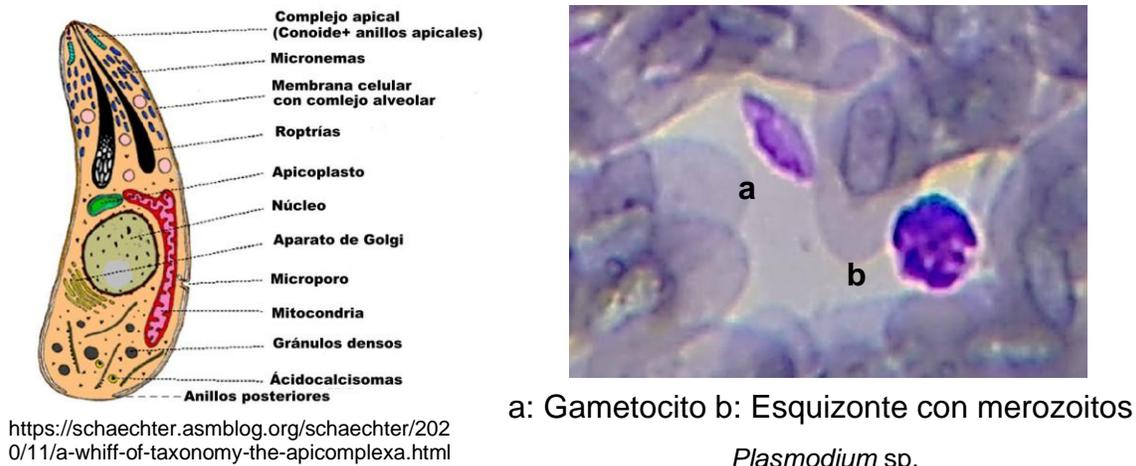


Figura 81. Morfología de una célula típica de un apicomplejo.

Rodríguez-Ezpeleta *et al.* (2012) mencionan que ...”Una característica sorprendente de los apicomplejos es que en un gran número de especies se ha descrito la presencia de un orgánulo complejo rodeado por tres o cuatro membranas: el apicoplasto. El análisis de sus genes ha demostrado que se trata de un plasto relacionado con el que se encuentra en los dinoflagelados, aunque en los apicomplejos ha perdido la actividad fotosintética. Pese a que ha existido cierta controversia en torno a su origen, hoy parece claro que este plasto deriva de una endosimbiosis secundaria con un alga roja, muy probablemente la misma endosimbiosis que también dio lugar a los plastos de dinoflagelados”...

Un grupo interesante de los apicomplejos y que relativamente son fáciles de observar corresponden a las gregarinas las cuales son parásitos monoxenos o estenoxenos en invertebrados como las cucarachas. La morfología del trofozoíto es de importancia taxonómica para la identificación de las especies, típicamente en esta fase se pueden ubicar el epimerito (organelo apical de adhesión), el protomerito (parte anterior en la célula) y el deutomerito (parte posterior de la célula); otras gregarinas carecen de la región del epimerito (Fig. 82)

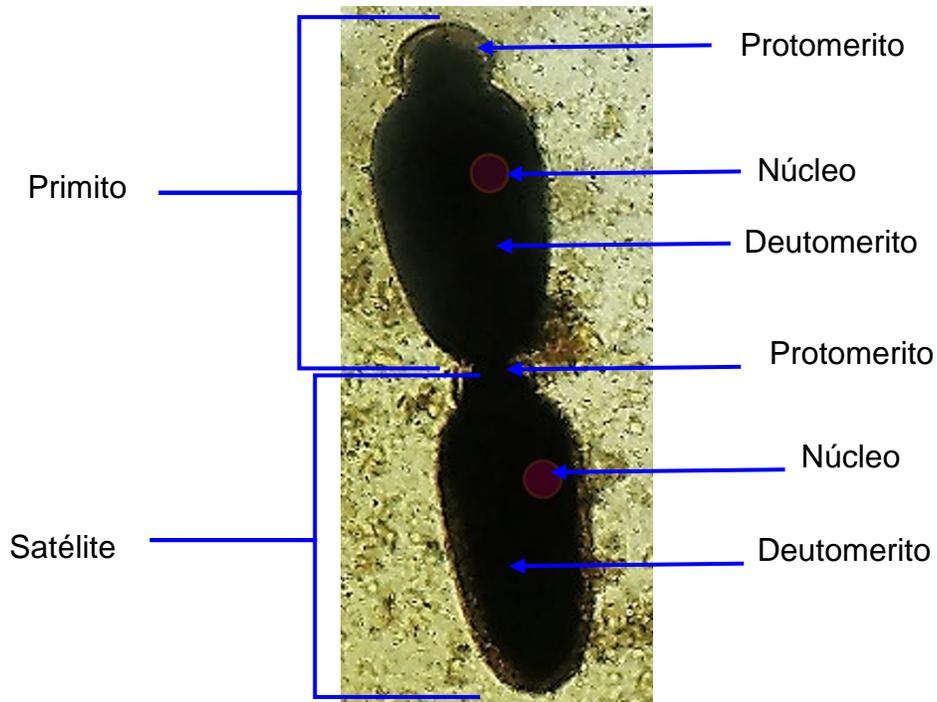


Figura 82. Morfología de un gregarínido (*Gregarina blattarum*) de cucaracha.

1.2.2. Objetivos

- Reconocer algunos géneros de apicomplejos con base en la morfología y determinar la fase del ciclo de vida en el que el organismo fue observado.

1.2.3. Materiales y equipo

1.2.3.1. Instrumental de laboratorio

- Material de disección y portaobjetos y cubreobjetos.
- Microscopio estereoscópico y microscopio óptico o de luz.
- Solución salina y lugol.

1.2.3.2. Material biológico

- Cucarachas grandes.
- Laminillas de frotis permanentes proporcionados por el técnico académico.

Géneros sugeridos: *Gregarina* sp y *Plasmodium* sp.

1.2.4. Desarrollo de la práctica

1.2.4.1. Observación de apicomplejos de cucarachas

a) Realizar el procedimiento de la manera más rápida, de ser necesario adormezca los organismos con cloroformo para poder sacrificarlos. Se introduce al hospedero en un frasco hermético con algodones empapados de cloroformo.

b) Colocar la cucaracha en una caja de Petri y en un microscopio estereoscópico, mediante el bisturí llevar a cabo una incisión de su abdomen agregue una o dos gotas de aguas y exponga sus vísceras.

c) En un microscopio estereoscópico mediante las pinzas de disección de punta fina separe de las vísceras el tracto digestivo y colóquelo en un portaobjetos que contenga tres gotas de agua, agregar una gota de lugol utilizando el bisturí corte a lo largo el tracto digestivo extienda el contenido y coloque un portaobjetos.

d) En un microscopio compuesto de luz u óptico enfocar con el objetivo de 10X, pasar al objetivo de 40X, si es necesario utilizar el objetivo de mayor aumento colocar el revolver entre el objetivo de 40X y el de 100X, cerrar el diafragma para ubicar un pequeño haz de luz para agregar una pequeña gota de aceite de inmersión, bajar levemente la platina para deslizar el objetivo de 100X y enfoque lentamente.

REALIZAR ESQUEMAS DONDE SE IDENTIFIQUEN ESTRUCTURAS DE LOS CARACTERES OBSERVADOS

Tomar fotografías de los géneros o especies observadas

(Recuerda que las fotografías te serán útiles para la presentación de tus resultados)

1.2.4.2. Observación de *Plasmodium* sp.

a) Colocar las laminillas con frotis permanentes en la platina de un microscopio compuesto de luz u óptico y enfocar con el objetivo de 10X, pasar al objetivo de 40X, enseguida colocar el revolver entre este último objetivo y el de 100X, cerrar el diafragma para ubicar un pequeño haz de luz para agregar una pequeña gota de aceite de inmersión, bajar con el tornillo micrométrico levemente la platina para deslizar el objetivo de 100X, posteriormente con el tornillo micrométrico subir muy lentamente la platina para enfocar la muestra.

b) Procurar buscar tanto los gametocitos, así como los esquizontes con merozoitos.

REALIZAR ESQUEMAS DONDE SE IDENTIFIQUEN ESTRUCTURAS DE LOS CARACTERES OBSERVADOS

Tomar fotografías de los géneros o especies observadas

(Recuerda que las fotografías te serán útiles para la presentación de tus resultados)

| GÉNEROS | TIPO MORFOLÓGICO | ESTRUCTURA CELULAR | FASE DEL CICLO DE VIDA | ORNAMENTACIONES |
|----------------|-------------------------|---------------------------|-------------------------------|------------------------|
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |

1.3. Ciliophora (ciliados de vida libre y asociados)

La principal característica de este grupo es la presencia de cilios o conjunto de estos, que pueden ser más complejos (cirros, membranelas, etc.); si bien algunas especies en la fase adulta pierden los cilios, en algunas etapas de su ciclo la van a presentar, o bien puede existir una infraciliatura. Además, se les observa uno o más núcleos; algunos pueden contar con una boca bien definida llamada citostoma, que se comunica con una estructura tubular, la citofaringe, quien abre al interior de la célula. Algunas de sus características morfológicas y citológicas se pueden observar en la Figura 83.

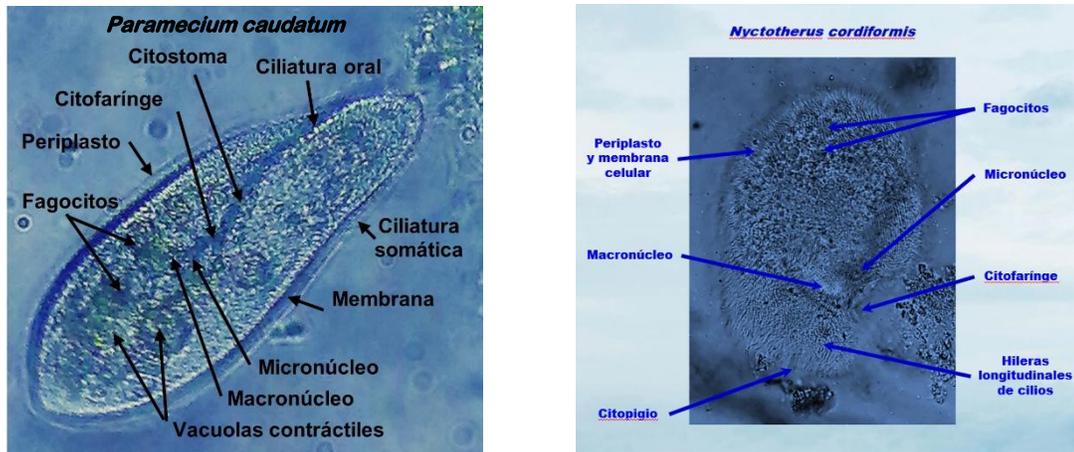


Figura 83. Morfología y citología de ciliados (tinción con Azul de metileno)

Presentan infraciliatura, la cual se observa solamente en Microscopía Electrónica de Trasmisión (MET), en la misma están intercalados cilios con alveolos y por debajo de la franja de alveolos se interconectan toda la ciliatura como si fuera un cableado subterráneo (Fig. 84)

Los hipotricos como *Urostyla*, *Stylonychia* y *Euplotes*, tienen modificados los cilios del cuerpo (superficie dorsal y ventral), en la parte ventral se presentan cilios que se han transformado en conos llamados cirros, los cilios de cada cirro baten juntos, considerándose que la coordinación es resultado de los impulsos aglutinados entre los cilios estrechamente asociados y permiten el movimiento sobre materia orgánica (Fig. 85)

Otra variante de los cilios son las membranelas, las cuales derivan de dos o tres filas cortas de cilios que se adhieren para formar una lámina a manera de abanico más o menos triangular, se encuentran en la zona adoral y también reciben el nombre de multimembranas, son muy evidentes y bien desarrolladas por ejemplo en los tintínnidos, las cuales frecuentemente se extienden más allá del cuerpo en uno de los lados (Fig. 86)

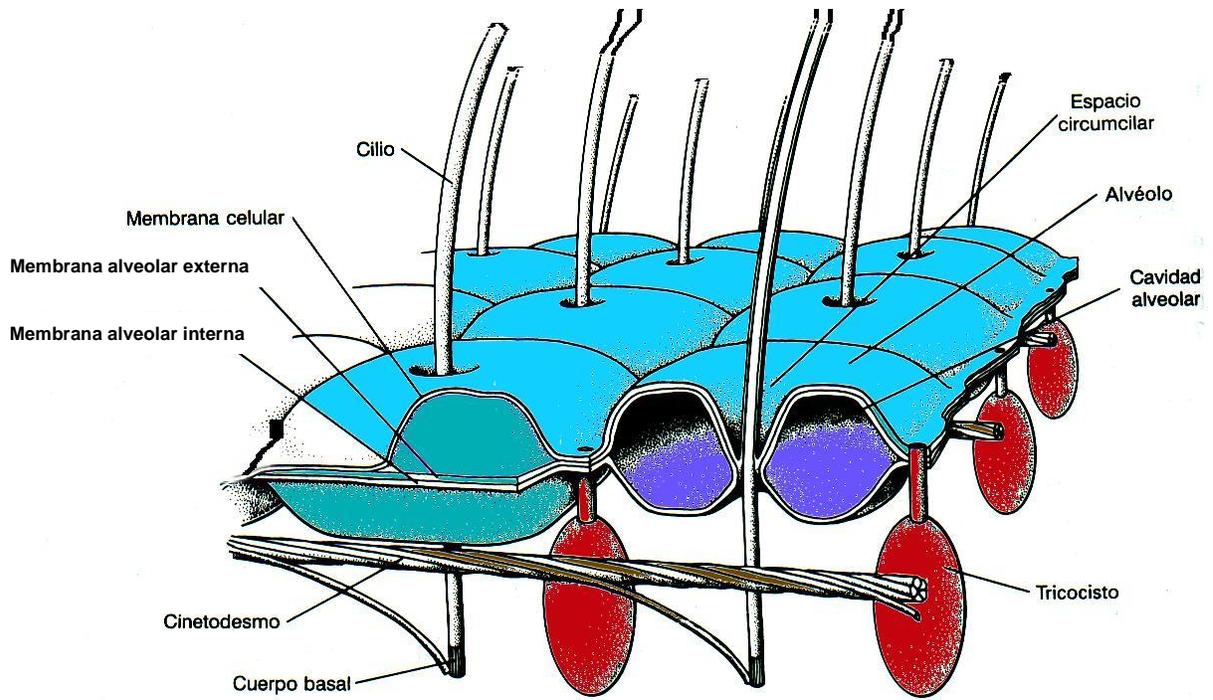
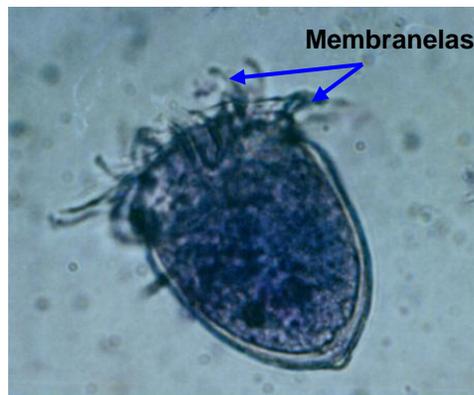


Figura 84. Sistema infraciliar.



Euplotes sp.

Figura 85. Ciliado con cirros ventrales.



Metacylis pontica

Figura 86. Ciliado con membranelas adorales.

Las formas principalmente sésiles, generalmente presentan un organelo constituido por mucilago proteico, llamado pedúnculo, el cual puede ser simple o ramificado y casi siempre retráctil, y su ciliatura corporal se encuentra reducida a la parte oral (Fig. 87)



Figura 87. Ciliados con pedúnculos.

Los ciliados son considerados como los protistas de mayor complejidad, morfológica, estructural y fisiológica. La reproducción más común es de tipo asexual por fisión binaria, gemación, y fisión múltiple, en tanto que la sexual se da por conjugación y autogamia, no presentan una verdadera singamia. Las especies de vida libre se localizan en aguas dulces, salobres y marinas, también se pueden encontrar asociados a raíces y musgos con alto contenido de humedad.

En tanto que las formas asociadas se pueden encontrar tanto en invertebrados como vertebrados, ejemplo de ellos son los ciliados en el rumen del ganado vacuno, caprino e incluso en mamíferos herbívoros silvestres.

Esta comunidad es la segunda más grande del rumen de mamíferos herbívoros, su número de células varía entre 10^5 y 10^8 individuos/ml de contenido ruminal, y constituyen a más de 24 géneros y 257 especies. Éstos representan aproximadamente entre el 40 % y 50 % de la biomasa microbiana y su densidad y diversidad está influenciada por diferentes factores del hospedero rumiante como son la genética, la edad y la dieta

Los protozoos ruminales son anaerobios estrictos y pertenecen a varios grupos que comúnmente se dividen en dos: holotricos (orden Vestibuliferida) y entodiniomorfos (orden Entodiniomorphida). Los holotricos tienen la superficie del cuerpo cubierta de cilios y su forma es ovalada o redondeada; son móviles y utilizan carbohidratos no estructurales. Los entodiniomorfos presentan una morfología más compleja y sus requerimientos nutritivos son más específicos.

Este orden incluye ciliados holotricos y presentan citostoma y un vestíbulo, depresión cubierta por una cinetia (hileras longitudinales densamente ciliadas), presentan ciliatura somática o corporal a manera de líneas, bandas y/o penachos y pueden o no presentar una cavidad oral profunda, algunos ejemplos de este orden son: *Isotricha* (Fig. 88), *Dasytricha* (Fig. 89) y *Oligoisotricha*.

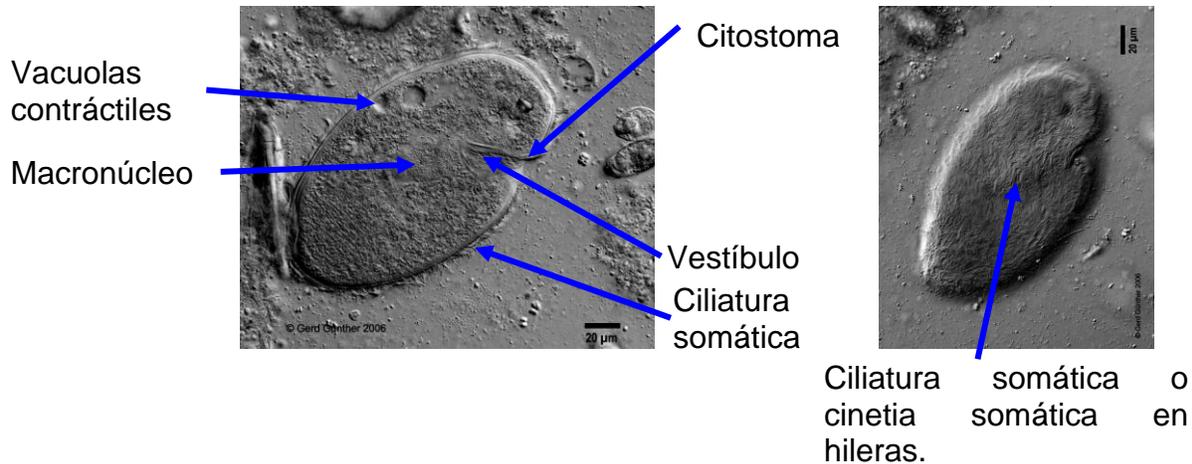


Figura 88. *Isotricha* sp. Células ovoides con ciliatura somática en hileras longitudinales llamadas cinetias. Presentan un citostoma excavado y un vestíbulo cubierto por membranelas pequeñas a manera también de cinetias. Ejemplares en vivo vistos en microscopía confocal.

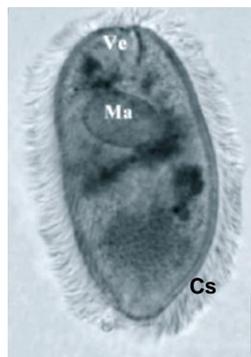


Figura 89. *Dasytricha* sp. Células ovoides más angostas hacia la parte posterior. Presenta cinetia somática (Cs) de 12 a 36 hileras transversales diagonales descendiendo de derecha a izquierda, grandes. El macronúcleo (Ma) es de oval a elíptico situado en la mitad anterior del cuerpo celular. Citostoma ligeramente subapical, vestíbulo (Ve) excavado, abierto al exterior a manera de cono y al interior cilíndrico cubierto por membranelas pequeñas a manera también de cinetias. Ejemplar tenido con azul de metileno muy diluido, microscopio óptico.

Otro grupo de ciliados ruminales se caracterizan por tener una, dos o tres zonas ciliares (cinetias); la mayoría presentan placas esqueléticas que son de importancia taxonómica para definir los géneros y las especies; se les puede observar ciliatura somática en forma de bandas, pueden presentar penacho ciliar; el citostoma no es evidente apenas se observa como una pequeña hendidura generalmente en la base de un surco oral con hileras de cinetias bien diferenciadas a manera de pequeñas membranelas semejando ciliatura densa, además muestran una gruesa capa de microfilamentos entre el ecto y endoplasma. Algunos de los géneros más comunes son: *Entodinium*, *Diplodinium*, *Epidinium*, *Ophryoscolex* (Figs. 90, 91, 92)

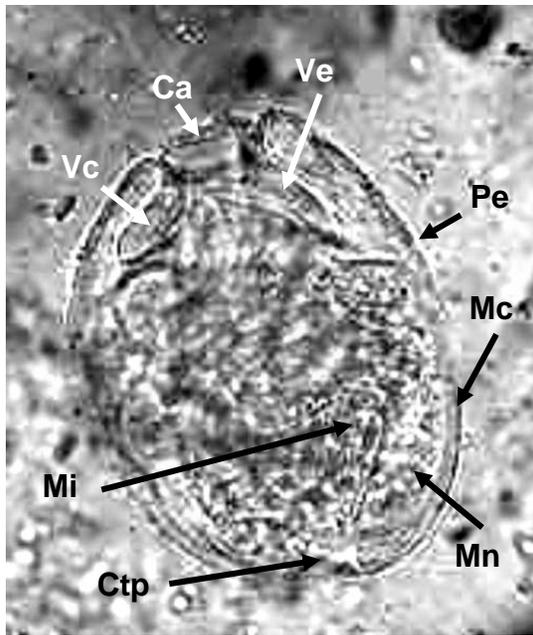


Figura 90. *Entodinium* spp.

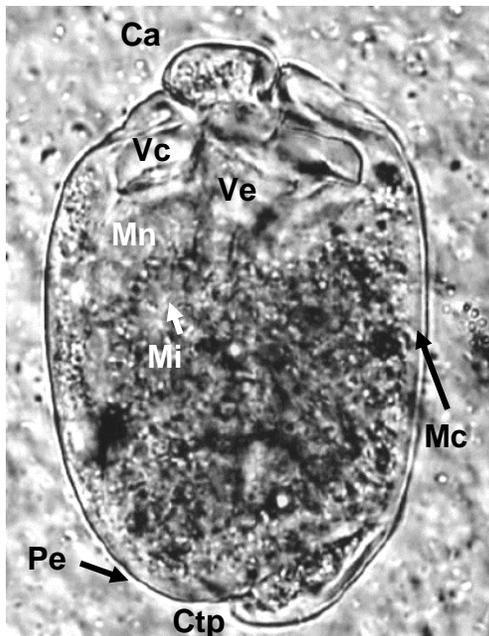


Figura 91. *Metadinium* sp.

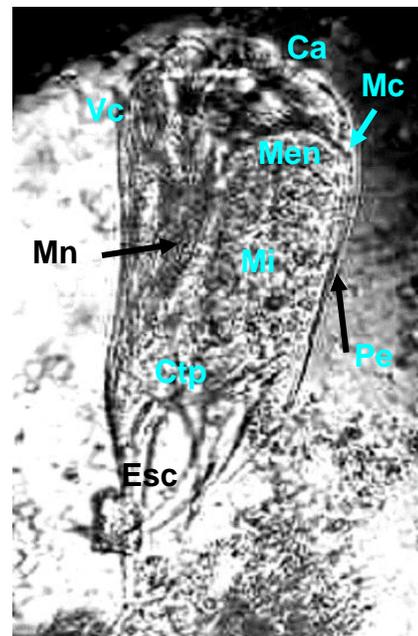


Figura 92. *Epidinium* sp.

Ca: citostoma con ciliatura adoral, **Ve:** vestíbulo cónico, **Vc:** vacuola contráctil, **Mn:** macronúcleo, **Mi:** micronúcleo, **Pe:** periplasto, **Mc:** membrana celular, **Ctp:** citoprocto, **Esc:** espinas o lóbulos caudales.

1.3.1. Objetivos

- Observar y diferenciar las estructuras celulares y diversidad morfológica de los ciliados de vida libre y asociados.

- Reconocer y diferenciar los géneros típicos de este grupo.

1.3.2. Material biológico

- Muestras de agua colectadas en los diferentes sistemas acuáticos.
Muestra de líquido ruminal.
- Géneros sugeridos de vida libre: *Paramecium*, *Euplotes* y un género de Tintinnidos.
Géneros sugeridos asociados: *Epidinium*, *Diplodinium*, *Entodinium*.

1.3.3. Desarrollo de la práctica

La cubierta de las células se puede resaltar utilizando azul de metileno, en tanto que los núcleos, con el rojo neutro o Congo. Si lo deseas puedes probar con una coloración mixta.

a) Coloca una o dos gotas de sedimento de tu muestra, realiza una observación previa en vivo y posteriormente agrega una o dos gotas de azul de metileno, deja reposar de uno a dos minutos, pon el cubreobjetos y observar al microscopio compuesto óptico.

b) Del líquido ruminal coloca una o dos gotas de la muestra en un portaobjetos, agrega una o dos gotas de solución salina, pon el cubreobjetos y observa al microscopio compuesto óptico, primeramente, realiza una observación en vivo y posteriormente agrega por un extremo del cubreobjetos una o dos gotas de lugol.

De la observación en el microscopio determina:

- Cubierta celular (membrana)
- Organelos celulares (núcleos, vacuolas digestivas y contráctiles, tipos de cilios y ornamentaciones)
- Utilice las muestras preparadas para el caso anterior y observe:
 - Tipos morfológicos (unicelulares o coloniales)

NOTA: SI EXISTE EXCESO DE COLORANTE QUITARLO CUIDADOSAMENTE CON PAPEL HIGIÉNICO.

REALICE ESQUEMAS Y COLOQUE LOS NOMBRES DE LOS ORGANELOS Y ESTRUCTURAS OBSERVADAS

TOME FOTOGRAFÍAS

(Recuerda que las fotografías te serán útiles para la presentación de tus resultados)

Realice un cuadro comparativo con las diferentes inclusiones citoplasmáticas y ornamentaciones de los géneros observados.

PRÁCTICA No. 10. HETEROCONTOS (opalínidos, crisofíceas, silicoflagelados, rafidofíceas, tribofíceas y diatomeas)

1. Introducción

La principal característica de los heterocontos son sus flagelos, los cuales son completamente desiguales en tamaño y forma, en algún momento de sus ciclos de vida, el más corto es de tipo látigo (liso) y se dirige hacia la parte posterior, mientras que el más largo es pinnado y se orienta a la parte anterior, su posición puede ser apical o subapical.

1.1. Opalineas (opalínidos)

Son protistas multinucleados, en algunas especies pueden ser centenares, los cuales se tiñen fácilmente con azul de metileno, las células pueden ser ovaladas u ovoides hasta lanceoladas (alargada), están cubiertos de flagelos cortos unidos por una cinetia y dispuestos en hileras longitudinales o diagonales, no presentan citostoma, y son osmótrofos (Fig. 93)

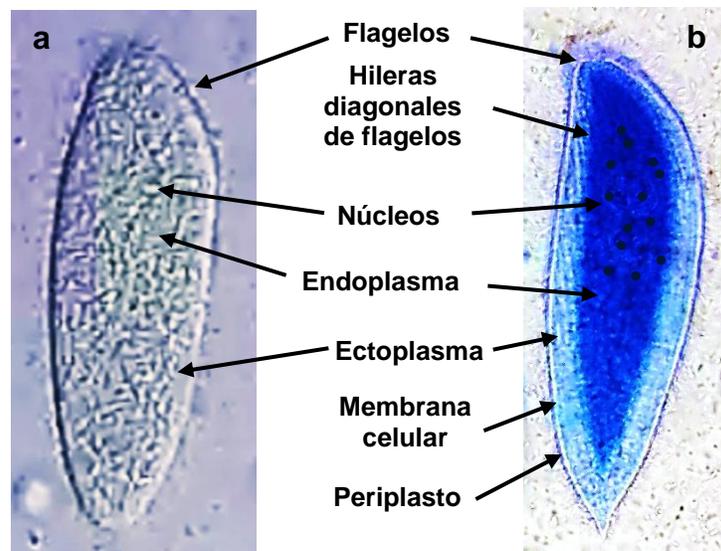


Figura 93. Trofozoito multinucleado, a) *Protoopalina* sp. ejemplar vivo, b) *Opalina* sp. ejemplar con tinción de azul de metileno)

Actualmente se reconocen unas 400 especies de opalinas en cinco géneros. Los más conocidos son *Cepedea*, *Opalina* y *Protoopalina*.

Presentan un ciclo de vida complejo que incluye la formación de anisogametos. Su reproducción es asexual por fisión binaria longitudinal o transversal, algunos organismos sufren plasmotomía, misma que se refiere a la división de los protozoos multinucleados en dos o más individuos de la misma condición nuclear, siendo la división citoplasmática independiente de la nuclear.

Todos los representantes de este grupo son endocomensales del intestino grueso de anfibios anuros (ranas y sapos), sin embargo, se han observado especies parásitas en peces, *Protoopalina symphysodonis* en peces de agua dulce y *P. pomacantha* en peces angel marinos. Su nutrición es saprozoica.

1.1.1. Objetivos

- Conocer la morfología y las principales estructuras celulares de algunos opalínidos.

1.1.2. Materiales y equipo

- Microscopio compuesto
- Microscopio estereoscópico
- Porta y Cubreobjetos
- Cajas de petri
- Goteros
- Pinzas de disección
- Agujas de disección
- Navaja o bisturí
- Cloroformo y Algodón
- Lugol y solución salina
- Guantes
- Papel seda

1.1.3. Material biológico

- Ranas vivas, de preferencia del género *Hyla*.
- Géneros de opalínidos sugeridos: *Opalina* y *Protoopalina*.

1.1.4. Desarrollo de la práctica

¡¡¡NO SE PERMITE FILMAR LAS DISECCIONES DE LOS ORGANISMOS!!!

- Colocar la rana dentro de un frasco de vidrio y agregar un algodón impregnado de cloroformo, esperar hasta que el animal este perfectamente dormido.
- Colocar el ejemplar en una charola de disección y realizar un corte longitudinal medio ventral para dejar expuestos los órganos internos.
- Localizar los intestinos y cortar todo hasta la cloaca, coloca el tracto digestivo en una caja de Petri y bajo el microscopio estereoscópico realiza una disección a lo largo del intestino, coloca el contenido del tubo digestivo en un portaobjetos y agregar una o dos gotas de solución salina e inmediatamente se coloca el cubreobjetos para observar al microscopio.
- Primeramente, realiza una observación en vivo y posteriormente agrega por un extremo del cubreobjetos una o dos gotas de lugol.

De la observación en el microscopio compuesto óptico determina:

- Cubierta celular (membrana).
- Organelos celulares (núcleos, vacuolas digestivas y contráctiles, tipos de cilios y ornamentaciones).

NOTA: SI EXISTE EXCESO DE COLORANTE QUITARLO CUIDADOSAMENTE CON PAPEL HIGIÉNICO.

REALICE ESQUEMAS Y COLOQUE LOS NOMBRES DE LOS ORGANELOS Y ESTRUCTURAS OBSERVADAS

TOME FOTOGRAFÍAS

(Recuerda que las fotografías te serán útiles para la presentación de tus resultados)

Realice un cuadro comparativo con las diferentes inclusiones citoplasmáticas y ornamentaciones de los géneros observados.

6. CUESTIONARIO

¿Cuál es la importancia ecológica de los géneros observados?

¿Cuáles son las funciones de los organelos celulares observados en los géneros?

Investigue y describa las técnicas para el posible cultivo de estos protistas.

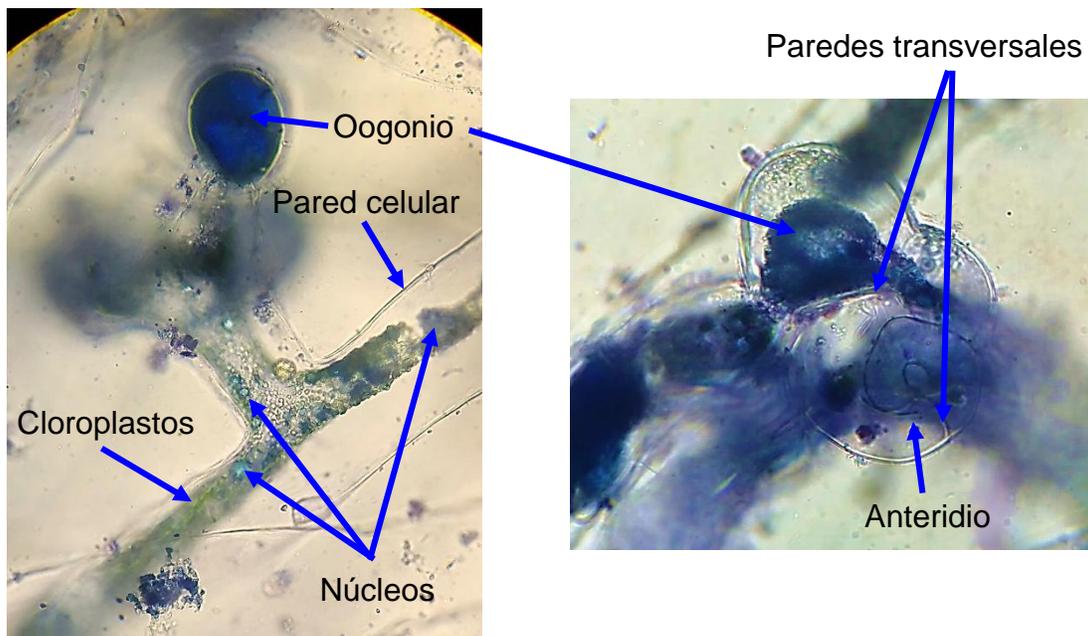
¿Qué relaciones o diferencias existen entre los opalínidos y los ciliados binucleados?

¿Qué papel juegan los ciliados en el rumen?

1.2. Xanthophyceae (Tribofíceas)

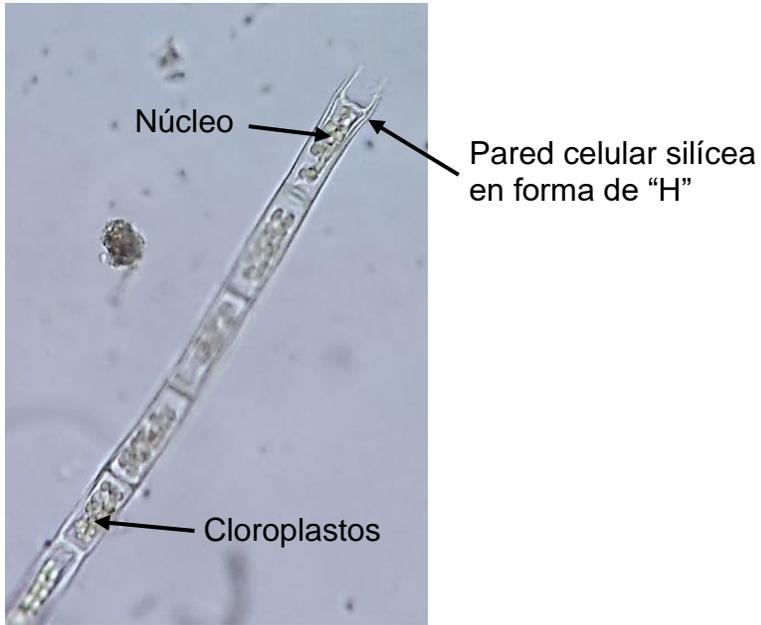
Estas algas poseen uno o varios plastos en forma de disco ubicados en la periferia de la célula, el retículo endoplásmico presenta continuidad desde su envoltura hasta los cloroplastos, son de color amarilloverdoso, cuyos pigmentos son clorofilas "a" y "c", β -caroteno, xantófilas como: diatoxantina, didinoxantina y vaucheraxantina, los pirenoides pueden estar o no asociados con el almacenamiento del almidón, el cual se produce fuera del cloroplasto, las sustancias de reserva pueden ser polisacáridos de bajo peso molecular, ácidos grasos y esteroides y probablemente en algunos casos este presente la crisolaminarina.

La pared celular está compuesta por celulosa, sustancias pécticas y en otras de sílice, es el caso de las especies donde la pared está formada por dos partes iguales o desiguales que al unirse en su parte posterior forman una "H". La mayoría poseen un solo núcleo cuando jóvenes, pero cuando maduran pueden ser multinucleadas de tipo sifonado, cuyas formas pueden ser esféricas (*Botrydium* sp.), o tubulares (*Vaucheria* sp.), (Fig. 94), otras son uninucleadas en forma de filamentos (*Tribonema* sp.), (Fig. 95)



Vaucheria sp. (alga verde-amarillenta)

Figura 94. Talofita cenocítica sifonada.



Tribonema sp. (alga verde-amarillenta)

Figura 95. Talofita filamentosa uninucleada.

Son raras las tribofíceas que son móviles, generalmente esto ocurre en la fase vegetativa, y puede llevarse a cabo el desplazamiento mediante flagelos o contracciones ameboidales, algunas utilizan ambos tipos y al igual que las zoosporas y gametos presentan dos flagelos desiguales, el más corto es de tipo látigo (liso) y se dirige hacia la parte posterior, mientras que el más largo es pinnado y se orienta a la parte anterior, existen algunas excepciones como las células móviles de *Vaucheria* sp., ya que sus zoosporas son multiflageladas.

La reproducción generalmente es asexual por esporas, las zoosporas y aplanosporas se pueden producir una vez en la célula o el protoplasto se puede dividir para originar varias esporas. Las zoosporas la mayoría de las veces son simétricas bilateralmente con dos cloroplastos dispuestos dorsoventralmente, algunas forman acinetos o quistes internos. La reproducción sexual no es frecuente, aunque si en el género *Vaucheria*, en cuyos filamentos sifonados se pueden observar los anteridios y oogonios, siendo la única fase en la que se forman paredes transversales para darles origen (Fig. 94), en las formas dulceacuícolas la meiosis ocurre durante la germinación del cigoto (meiosis cigótica) siendo entonces un ciclo haplontico.

Son organismos principalmente dulceacuícolas, poco conocidos ya que son microscópicos, *Tribonema* sp. se puede localizar en aguas frías de hasta 10 °C en la primavera, en tanto que el género *Vaucheria* crece en áreas fangosas en las orillas de lagos y zona mesolitoral; estos organismos son considerados colonizadores extensivos en aguas salobres y ensenadas, muchos de ellos viven en charcas ácidas, alpinas y subalpinas, además de pantanos donde conviven con el musgo *Sphagnum* sp.

1.2.1. Objetivos

- Observar y diferenciar las estructuras celulares y diversidad morfológica de las tribofíceas.
- Reconocer y diferenciar los géneros típicos de este phylum.

1.2.2. Material biológico

- Muestras de agua colectadas en los diferentes sistemas acuáticos.
- Géneros sugeridos: *Vaucheria* y *Tribonema*

1.2.3. Desarrollo de la práctica

La cubierta de las células se puede resaltar utilizando azul de cresil, en tanto que los gránulos de reserva y cloroplastos mediante el lugol, si lo que pretendes es observar el número de núcleos, entonces el carmín acético es el adecuado. Si lo deseas puedes probar con una coloración mixta, solamente considera por separado la técnica para la observación de núcleos, puesto que ésta requiere de calentamiento.

a) Coloca una o dos gotas de concentrado de tu muestra, agrega una o dos gotas del colorante elegido, deja reposar de uno a dos minutos, coloca el cubreobjetos y observar al microscopio compuesto óptico.

- Cubierta celular (pared celular)
- Organelos celulares (núcleos, gránulos de reserva, cloroplastos)
- Utilice las muestras preparadas para el caso anterior y observe:
 - Tipos morfológicos (sifonados y cenocíticos)

NOTA: SI EXISTE EXCESO DE COLORANTE QUITARLO CUIDADOSAMENTE CON PAPEL HIGIÉNICO

REALICE ESQUEMAS Y COLOQUE LOS NOMBRES DE LOS ORGANELOS Y ESTRUCTURAS OBSERVADAS

TOME FOTOGRAFÍAS

(Recuerda que las fotografías te serán útiles para la presentación de tus resultados)

Elabore un cuadro con las características observadas en cada género

| GENERO | TIPO DE CUBIERTA CELULAR | ORGANIZACIÓN CELULAR Y FORMA DE LAS CÉLULAS | POSICIÓN Y FORMA DE LOS CLOROPLASTOS | NÚMERO DE NÚCLEOS | ESTRUCTURAS REPRODUCTORAS |
|--------|--------------------------|---|--------------------------------------|-------------------|---------------------------|
| | | | | | |
| | | | | | |

1.3. Chrysophyceae (algas doradas)

Los pigmentos fotosintetizadores característicos de este grupo están representados por las clorofilas "a", "c₁" y "c₂", β-caroteno, xantofilas como fucoxantina y violaxantina, que en conjunto les dan coloraciones doradas. La sustancia de reserva corresponde a la crisolaminarina y gotitas de aceite. Presentan dos flagelos heterocontos, uno liso en forma de látigo y otro pinnado (con mastigonemas), asociado al flagelo liso se encuentra una mancha ocular.

Las especies de este grupo se caracterizan por formar estatostoras o estomatocistos (características de formas bentónicas dulceacuícolas), son esporas de resistencia con pared constituida por dos mitades desiguales que se empalman, un tapón pequeño (puede o no estar silicificado) y una urna más grande fuertemente silicificada y con un poro.

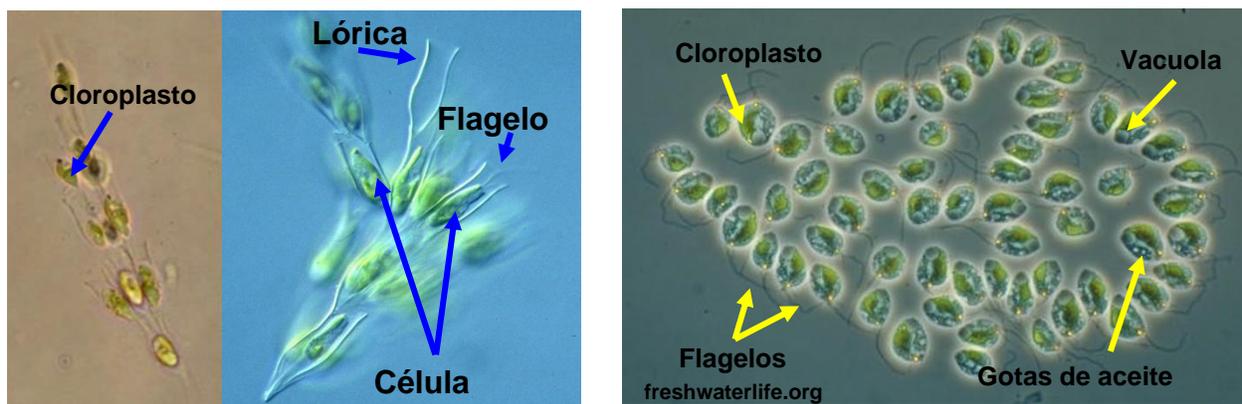
Las especies en su fase vegetativa pueden presentar un recubrimiento celular a manera de periplasto mejor representado en las formas unicelulares (*Chromulina* sp., *Ochromonas* sp.) o bien como lóricas características de las formas coloniales como el caso del género *Dinobryon* sp. (Figs. 96 y 97)



Chromulina sp.

Ochromonas spp.

Figura 96. Formas unicelulares de crisofíceas con periplasto.



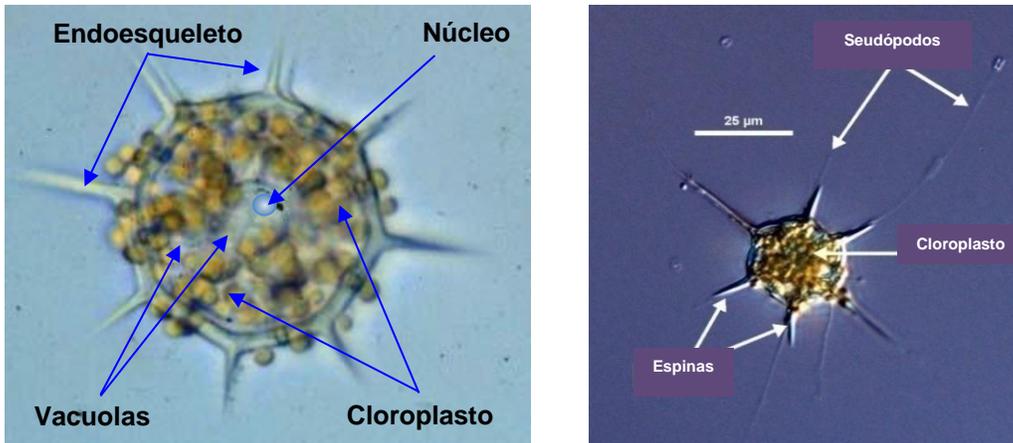
Dinobryon spp. colonia arborecente

Uroglena spp. colonia amorfa

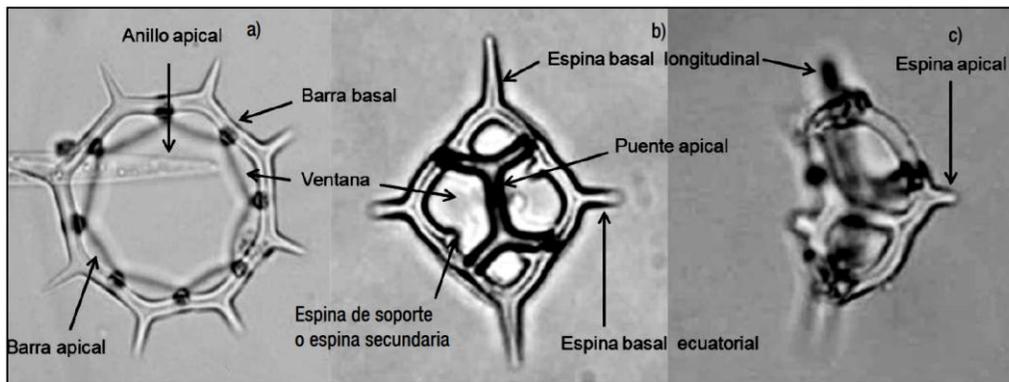
Figura 97. Tipos morfológicos coloniales de Crisofíceas.

1.4. Dictyochophyceae (silicoflagelados)

Presentan varios plastos discoidales, contienen clorofilas “a”, “c₁” y “c₂”, β-caroteno, además de pigmentos accesorios como fucoxantina y diadinoxantina. La sustancia de reserva es crisolaminarina, pueden presentar gotas de aceites. Los flagelos son heterocontos apicales, uno pinnado y largo, el otro expresado como un cuerpo basal, llegan a formarseudópodos, no tienen mancha ocular. Con respecto a su tipo de nutrición las podemos encontrar como fotoautótrofas. La pared celular es silíceo en forma de endoesqueleto a manera de varillas (Fig. 98)



Phytopedia-The Phytoplankton Encyclopaedia



Estructuras morfológicas con valor taxonómico en los silicoflagelados
(Tomado de: Maciel-Baltazar 2015)

Figura 98. Estructura morfológica en silicoflagelados (*Dictyocha* spp.)

1.5. Raphideophyceae (rafideofíceas)

Presentan varios plastos discoidales, contienen clorofilas “a”, “c₁” y “c₂”, β-caroteno, además de pigmentos accesorios como fucoxantina, violaxantina y diadinoxantina, adicionalmente las especies dulceacuícolas presentan heroxantina y vaucheriaxantina. La sustancia de reserva es crisolaminarina, pueden presentar gotas de aceites. Los flagelos son heterocontos apicales, uno pinnado y largo, el otro pequeño liso y en ocasiones solo

se expresa como un cuerpo basal, llegan a formar pseudópodos, no tienen mancha ocular. Con respecto a su tipo de nutrición las podemos encontrar como fotoautótrofas. Presentan tricocistos; existen especies unicelulares y en algunos casos cuando las condiciones ambientales no les favorecen, sobre todo en las especies dulceacuícolas, llegan a formar estados palmeloides encerradas en una matriz mucilaginosa proteica (Fig. 99)

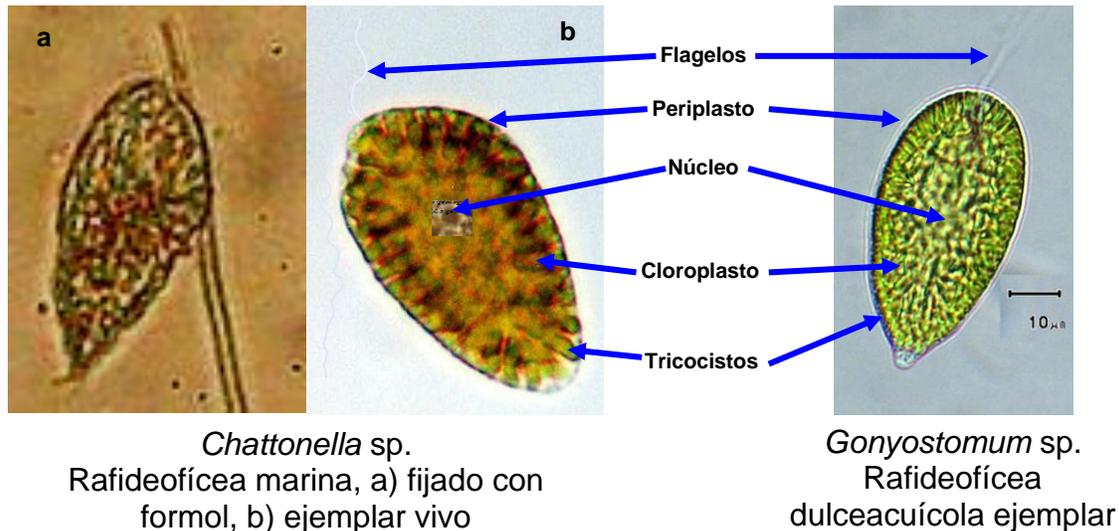


Figura 99. Morfología y citología de rafideofíceas unicelulares.

Especies como *Dinobryon* sp., y *Dictyocha* sp., son indicadores biológicos de aguas dulceacuícolas y marinas frías respectivamente. Por su distribución las vamos a localizar tanto en aguas dulces como marinas, en tanto que varias especies de las rafidofíceas son formadoras de mareas rojas tóxicas.

2. Objetivos

- Observar y diferenciar las estructuras celulares y diversidad morfológica de las algas crisofíceas, silicoflagelados y rafideofíceas.

- Reconocer y diferenciar los géneros típicos de estas clases.

3. Material biológico

- Muestras de agua colectadas en los diferentes sistemas acuáticos.
- Géneros sugeridos: *Dinobryon*, *Dictyocha* y *Chattonella*.

4. Desarrollo de la práctica

4.1. Citología y Morfología

La cubierta de las células se puede resaltar utilizando azul de cresil, en tanto que los gránulos de reserva mediante el lugol, si lo que pretendes es observar el número de

núcleos, entonces el azul de metileno es el adecuado. Si lo deseas puedes probar con una coloración mixta.

a) Coloca una o dos gotas de sedimento de la muestra, agrega una o dos gotas del colorante elegido, deja reposar de uno a dos minutos, pon el cubreobjetos y observar al microscopio compuesto óptico.

- Cubierta celular (periplasto o esqueleto silíceo)
- Organelos celulares (núcleos, gránulos de reserva, cloroplastos, flagelos)
- Utilice las muestras preparadas para el caso anterior y observe:
 - Tipos morfológicos (unicelulares o coloniales)

NOTA: SI EXISTE EXCESO DE COLORANTE QUITARLO CUIDADOSAMENTE CON PAPEL HIGIÉNICO.

REALICE ESQUEMAS Y COLOQUE LOS NOMBRES DE LOS ORGANELOS Y ESTRUCTURAS OBSERVADAS

TOME FOTOGRAFÍAS

(Recuerda que las fotografías te serán útiles para la presentación de tus resultados)

Elabore un cuadro con las características observadas en cada género

| GÉNERO | TIPO DE CUBIERTA CELULAR | ORGANIZACIÓN CELULAR Y FORMA DE LAS CÉLULAS | POSICIÓN Y FORMA DE LOS PLASTOS | NÚMERO DE NÚCLEOS | OTROS ORGANELOS |
|--------|--------------------------|---|---------------------------------|-------------------|-----------------|
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |

1.6. Diatomeas radiales (Bacillariophyta)

En este grupo los cloroplastos son discoidales, los pigmentos fotosintetizadores están representados por las clorofilas "a" "c₁" y "c₂", β-caroteno, fucoxantina, además de heteroxantina, diatoxantina y diadinoxantina, en tanto que su reserva alimenticia corresponde a la crisolaminarina, aceites, esteroides y colesterol; presentan un sólo núcleo (Fig. 100)

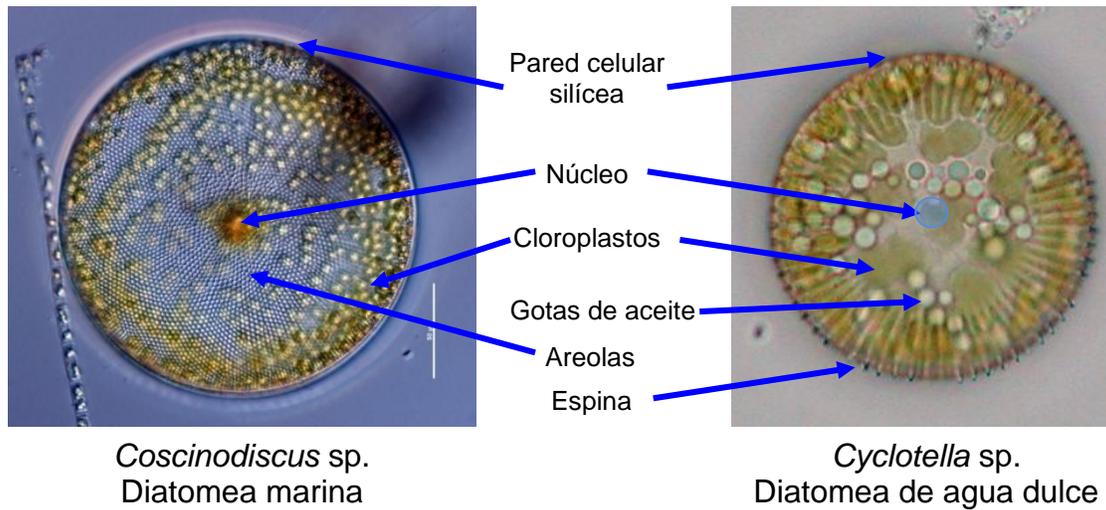


Figura 100. Estructura citológica de diatomeas radiales.

La pared celular es tipo silíceica arreglada en forma de una caja de petri, mostrando dos valvas a las que se les llama frústulas, presentan dos vistas una valvar y otra conectiva o cingular, en esta última se puede observar la conexión de ambas valvas cubierta por un cinturón llamado cíngulo y que divide al organismo en dos partes la epivalva que corresponde a la más grande y en la cual se inserta la hipovalva (Fig. 101)

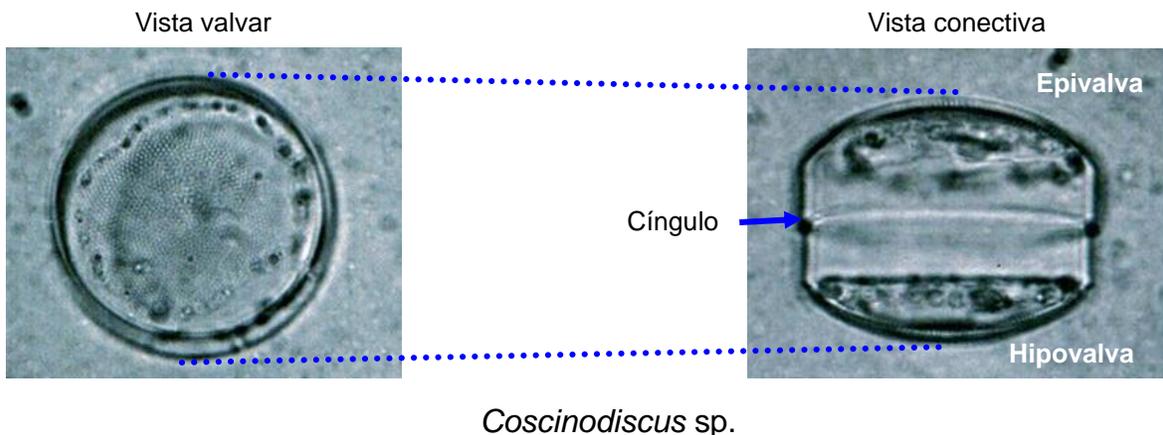


Figura 101. Estructura valvar de una diatomea radial.

En este grupo se encuentran especies cuya ornamentación es de simetría radial, en la mayoría de las mismas la vista valvar es circular, sin embargo, las podemos encontrar triangulares, oblongas, ovoides y cuadrangulares entre otras. La vista conectiva generalmente es de tipo rectangular (Fig. 102)

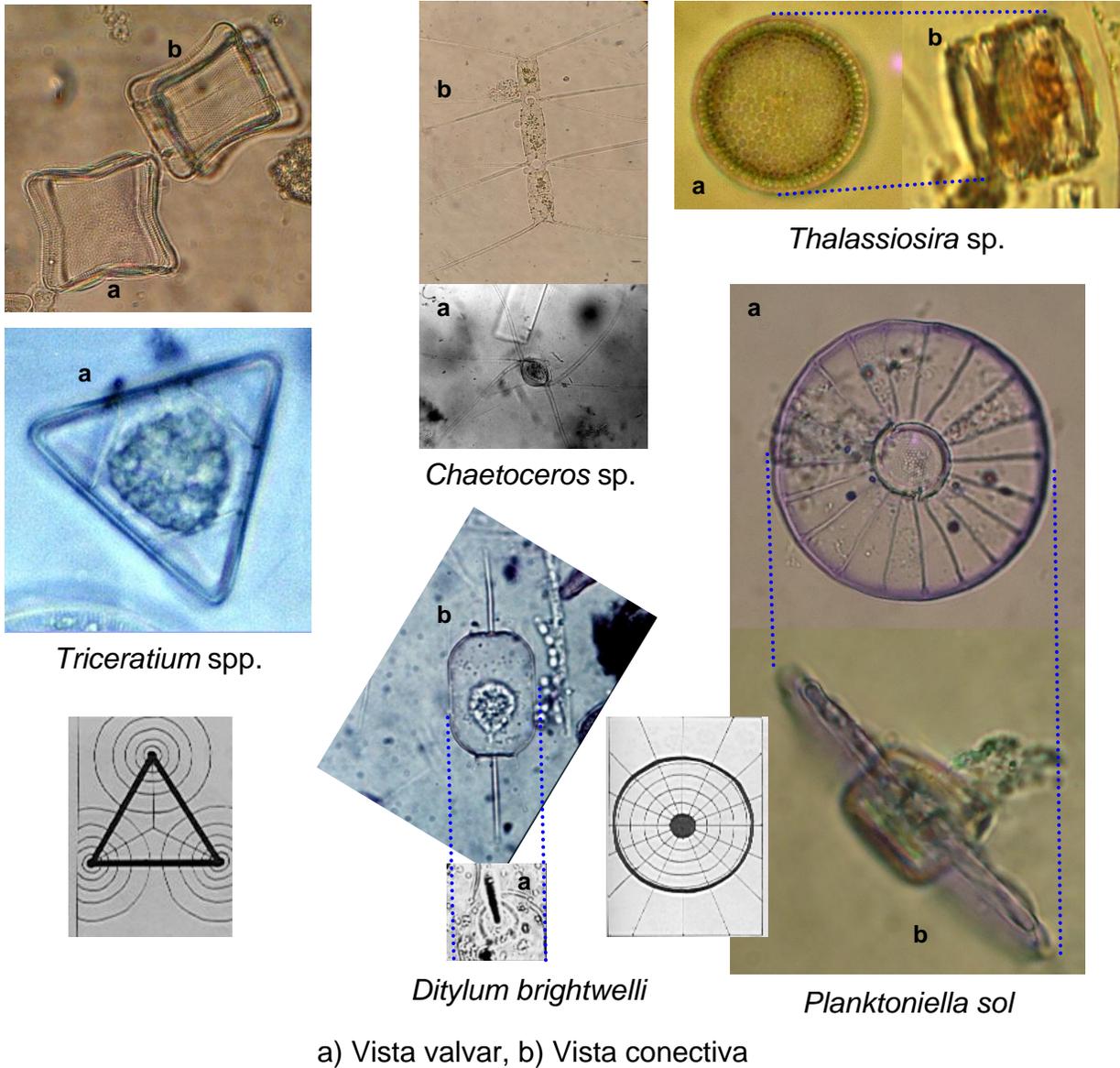


Figura 102. Formas en diatomeas radiales.

Las ornamentaciones están representadas por ocelos y por una serie de perforaciones comúnmente hexagonales denominadas areolas en cuyo interior se pueden ubicar poros y poroides que constituyen el cribum. La forma como se disponen las areolas, areolación, es de importancia taxonómica (Fig. 103)

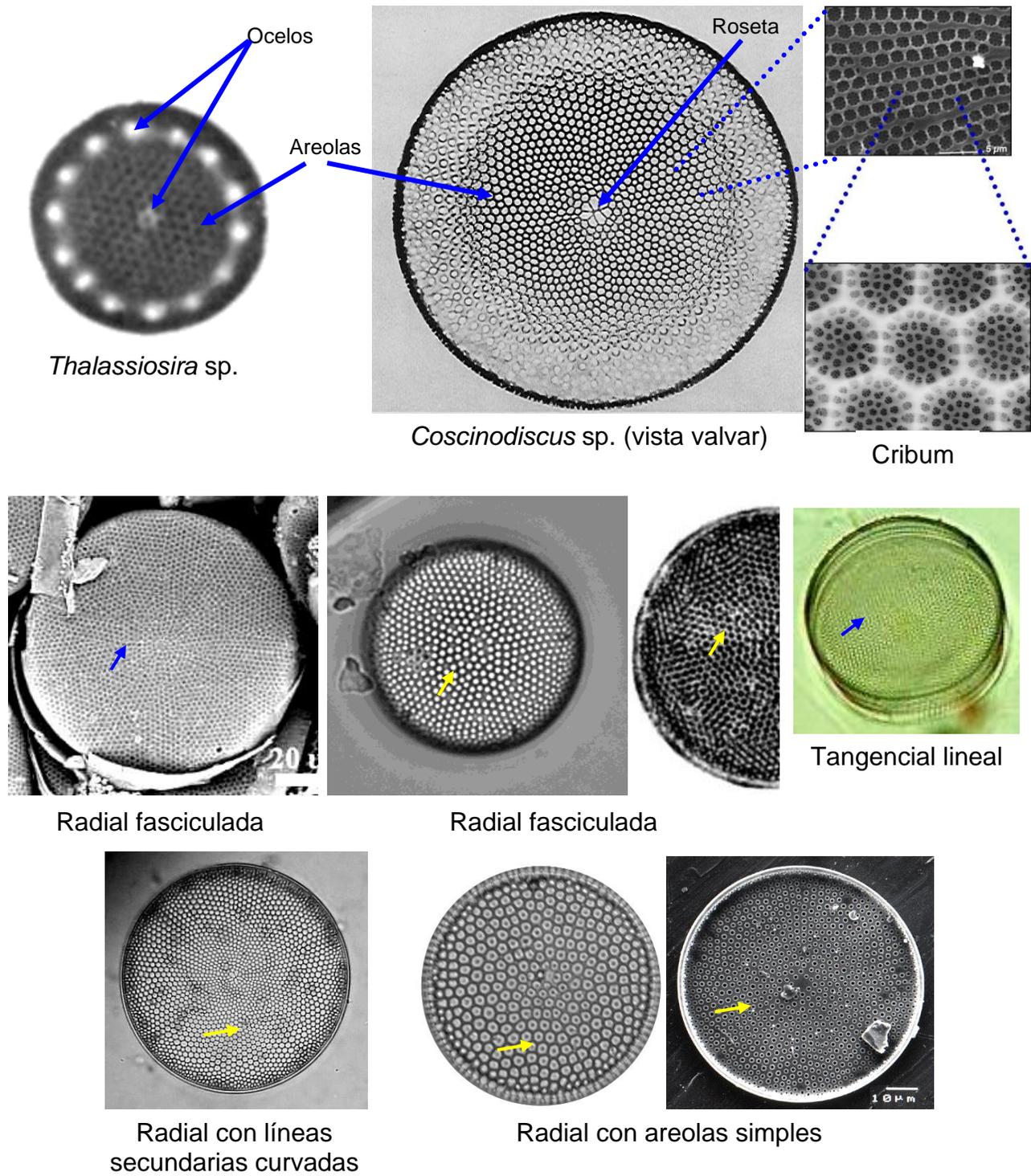


Figura 103. Diatomeas radiales con ocelos, areolas y cribrum.

Presentan también una serie de espinas y/o espínulas, además de prolongaciones alares, tubulares gelatinosas llamadas sedas y cuernos con extremos generalmente redondeados (Fig. 104)

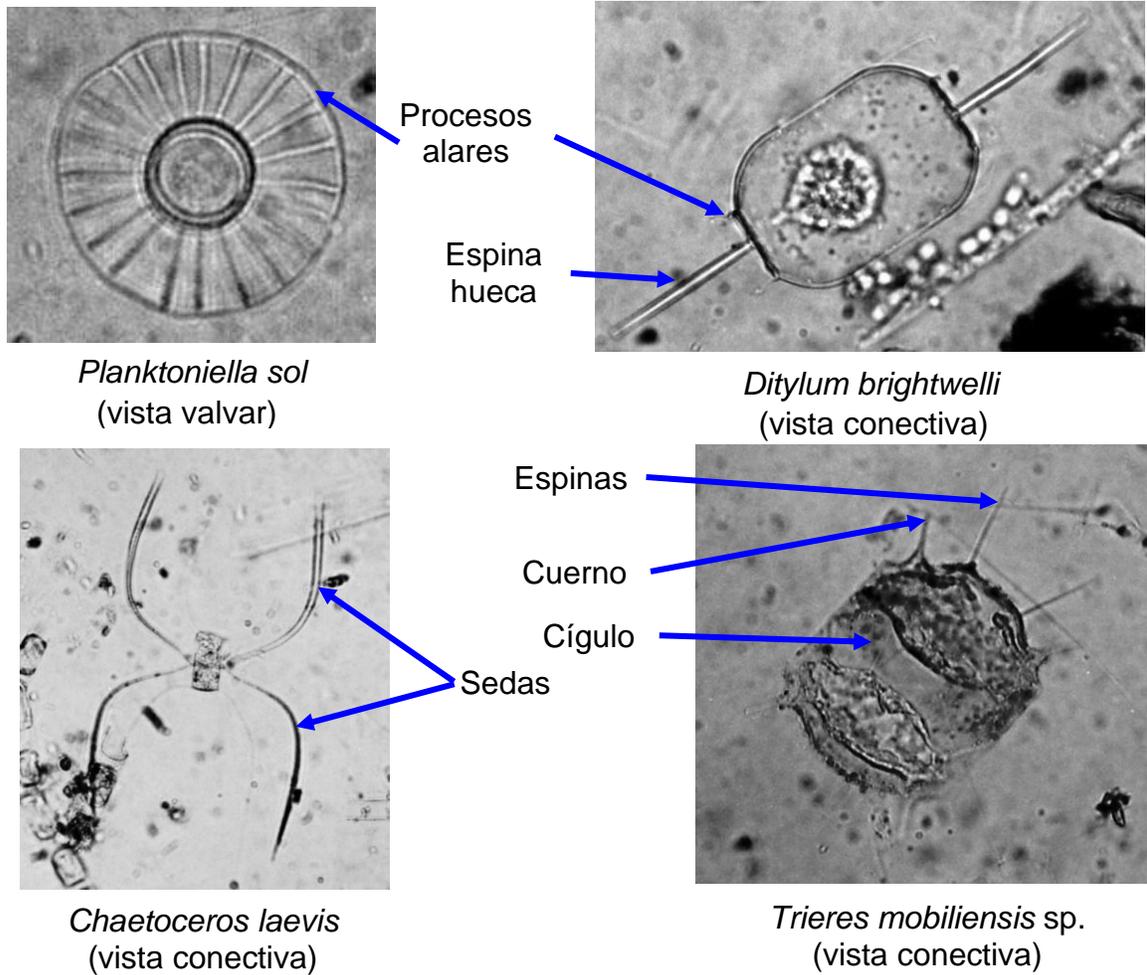
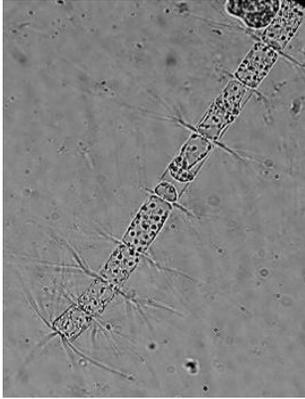
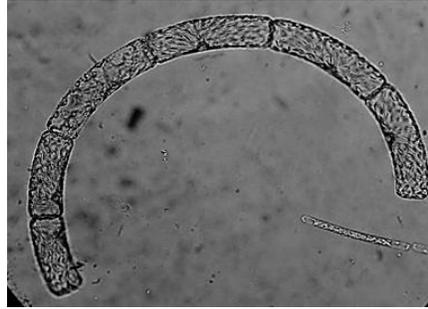


Figura 104. Principales ornamentaciones de las diatomeas radiales.

Algunas de las diatomeas radiales presentan una organización celular a manera de filamentos rectos, curvados o espiralados y consorcios discoidales o en forma filamentosos, espiralada, escaleriforme o en zigzag (Fig. 105)



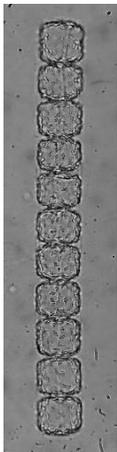
Bacteriastrum hyalinum
Filamento simple recto



Rhizosolenia stolterfothii
Filamento simple curvo



Helicotheca thamensis
Filamento espiralado



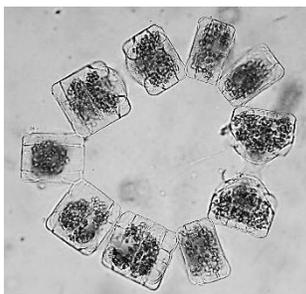
Detonula pumila
consorcio filamentososo



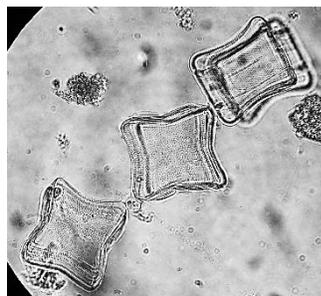
Thalassiosira blanda
consorcio espiralado



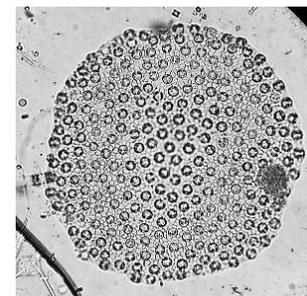
Climacodium biconcavum
consorcio escaleriforme



Biddulphia alternans
consorcio en zigzag



Triceratium sp.
consorcio en zigzag



Coenobiodiscus muriformis
consorcio discoide

Figura 105. Organización celular en diatomeas radiales.

1.6.1. Objetivos

- Observar y diferenciar las estructuras celulares y diversidad morfológica de las diatomeas centrales.
- Reconocer y diferenciar los géneros típicos de estos grupos.

1.6.2. Material biológico

Muestras de agua colectadas en los diferentes sistemas acuáticos.

Géneros sugeridos: *Coscinodiscus*, *Chaetoceros*, *Rhizosolenia*

1.6.3. Desarrollo de la práctica

1.6.3.1. Citología y morfología

La cubierta de las células se puede resaltar utilizando Azul de Cresil, en tanto que los gránulos de reserva mediante el Lugol, si lo que pretendes es observar el número de núcleos, entonces el azul de metileno es el adecuado. Si lo deseas puedes probar con una coloración mixta.

a) Coloca una o dos gotas de sedimento de la muestra, agrega una o dos gotas del colorante elegido, deja reposar de uno a dos minutos, pon el cubreobjetos y observar al microscopio compuesto óptico.

- Cubierta celular (periplasto o esqueleto silíceo)
- Organelos celulares (núcleos, gránulos de reserva, cloroplastos)

Utilice las muestras preparadas para el caso anterior y observe:

- Tipos morfológicos (unicelulares o coloniales)

NOTA: SI EXISTE EXCESO DE COLORANTE QUITARLO CUIDADOSAMENTE CON PAPEL HIGIÉNICO.

REALICE ESQUEMAS Y COLOQUE LOS NOMBRES DE LOS ORGANELOS Y ESTRUCTURAS OBSERVADAS

TOME FOTOGRAFÍAS

(Recuerda que las fotografías te serán útiles para la presentación de tus resultados)

Elabore un cuadro con las características observadas en cada género

Cuadro comparativo con las diferentes ornamentaciones de los géneros observados.

| GENERO | ORGANIZACIÓN CELULAR | VISTA VALVAR | VISTA CONECTIVA | ROSETA | SEDAS | ESPINAS |
|--------|----------------------|--------------|-----------------|--------|-------|---------|
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |

Cuadro comparativo (continuación)

| GENERO | MEMBRANA ALAR | AREOLAS | OCELOS | RADIO | BANDAS INTERCALARES | CUERNOS |
|--------|---------------|---------|--------|-------|---------------------|---------|
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |

1.7. Diatomeas bilaterales (Bacillariophyta)

Este grupo está compuesto por especies cuya ornamentación se dirige a una línea longitudinal (simetría bilateral), en la mayoría de las especies la vista valvar es alargada en forma romboidal, sin embargo, las hay oblongas, ovoides, con forma de bat, sigmoides y curvadas entre otras. La vista conectiva generalmente es de tipo rectangular (Figs. 106 y 107)

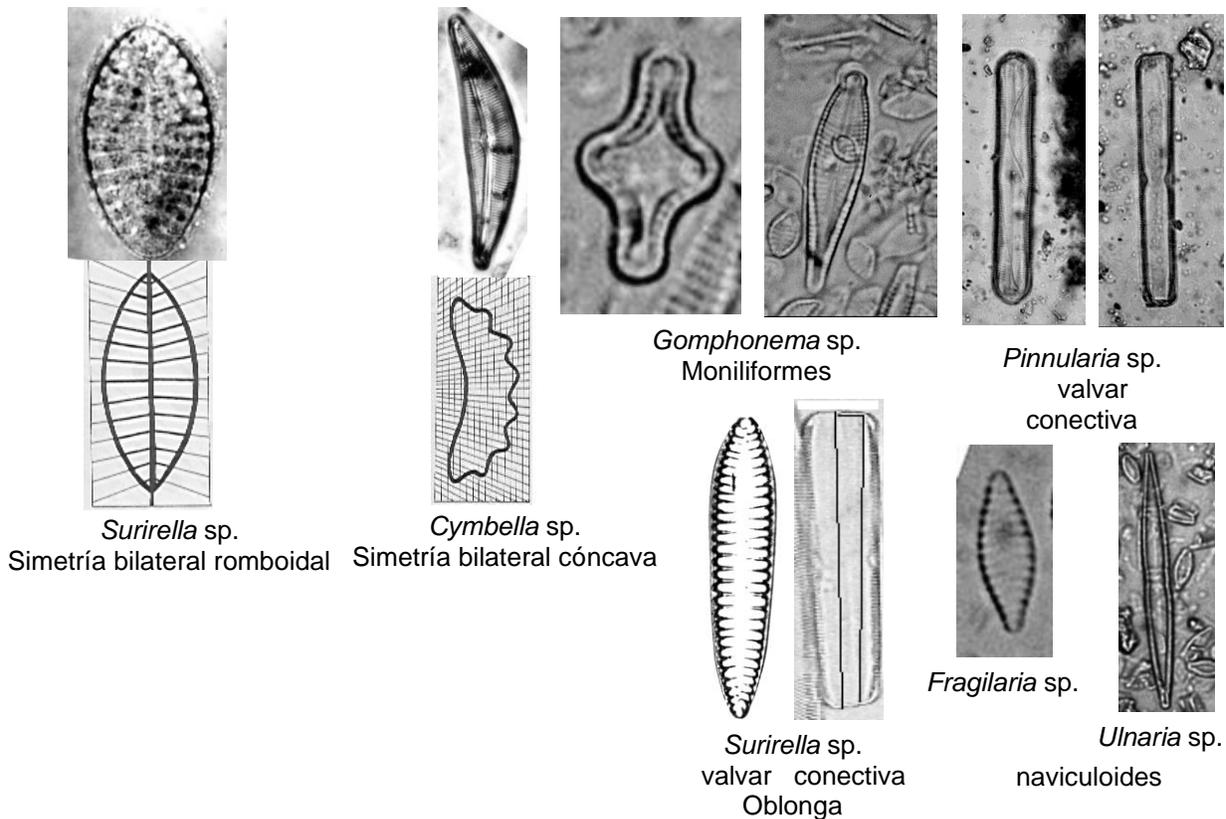


Figura 106. Simetría y formas penales o bilaterales.

Una característica de importancia taxonómica para este grupo lo representa la simetría, es decir, se requiere de saber si las valvas son simétricas o no tanto longitudinalmente como transversalmente y en ambas vistas (valvar y cingular o conectiva) para lo cual trazamos una línea imaginaria longitudinal o transversal según sea el caso (Fig. 108)

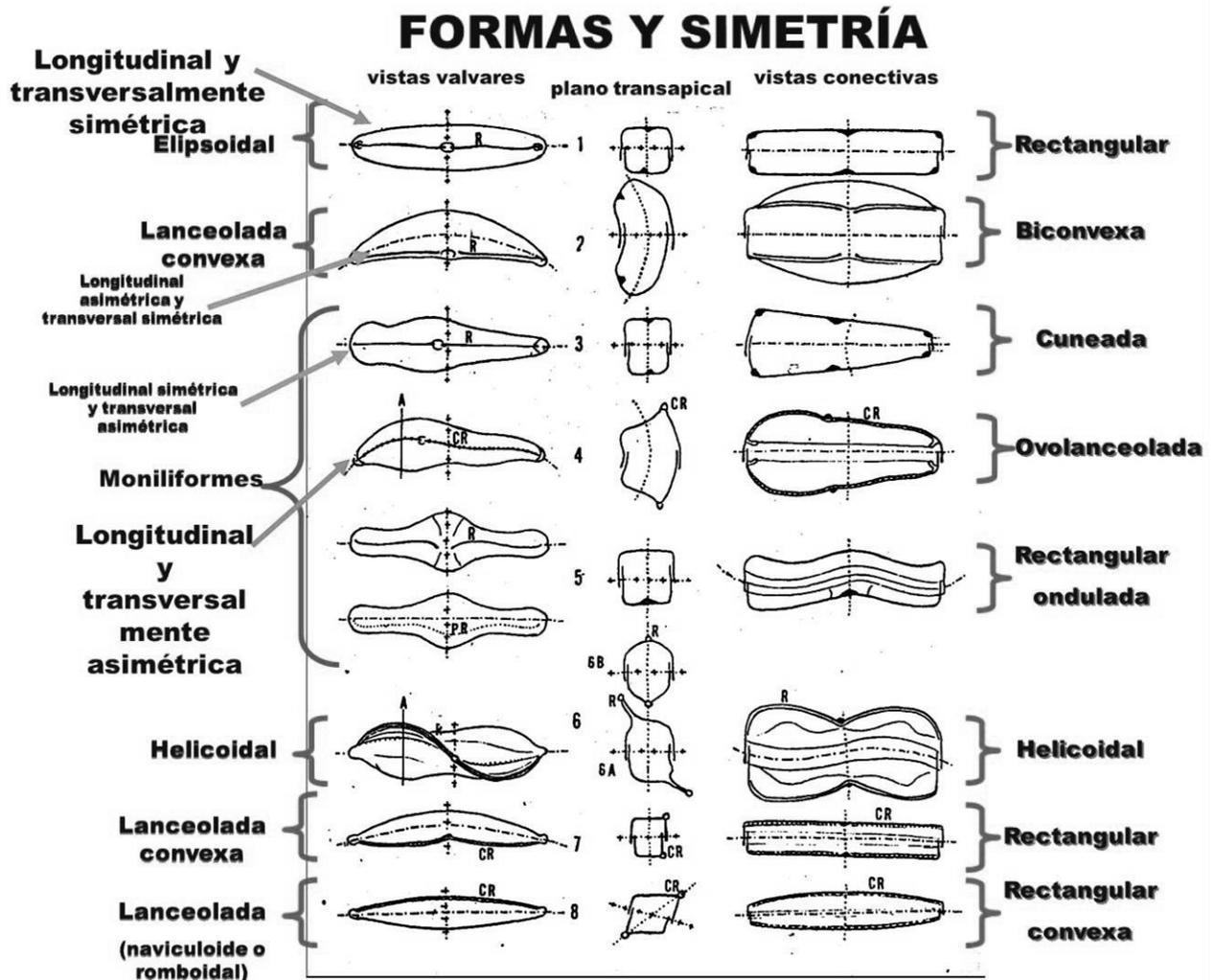


Figura 107. Formas y simetría de las frústulas de diatomeas pennales o bilaterales (Modificado de Bourrely 1966)

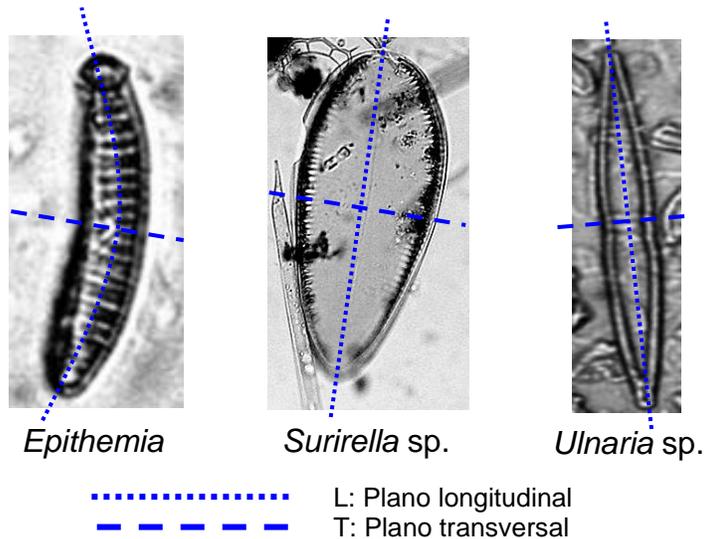


Figura 108. Simetría en diatomeas bilaterales.

Las ornamentaciones están representadas por una serie de perforaciones denominadas costillas si son muy gruesas o estrías si son delgadas, pueden presentarse una serie de bandas de diferente constitución a lo que se le llama bandas intercalares (Fig. 109)

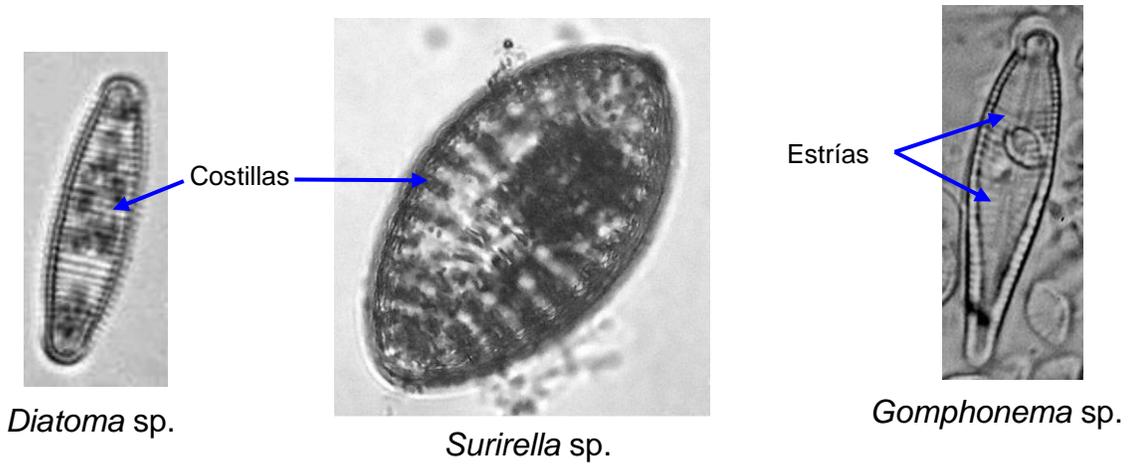


Figura 109. Ornamentaciones en diatomeas bilaterales.

Morfológicamente podemos encontrar organismos unicelulares o multicelulares conformando colonias en zig-zag, radiales o filamentosas como empalizadas (Fig. 110)

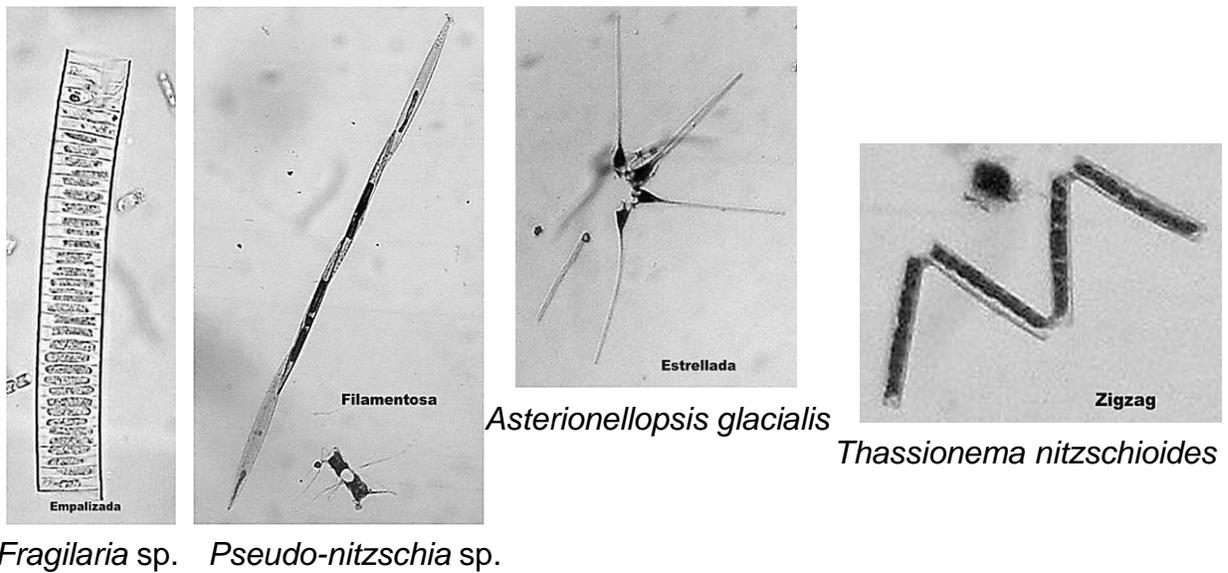


Figura 110. Organización celular (tipos morfológicos) en diatomeas pennales o bilaterales.

En el grupo de las diatomeas pennales o bilaterales puede llegar a presentarse movimiento, presentándose géneros que se desplazan mediante el rafe (Fig. 111)

El grupo se encuentra mejor representado en el medio dulceacuícola y salobre, aunque también se encuentran en aguas marinas, la mayoría son fotosintetizadoras, las formas más grandes se ubican en zonas frías y templadas y las más pequeñas en las zonas subtropical y tropical, también se localizan como organismos bentónicos y perifitónicos adheridos a otras algas.

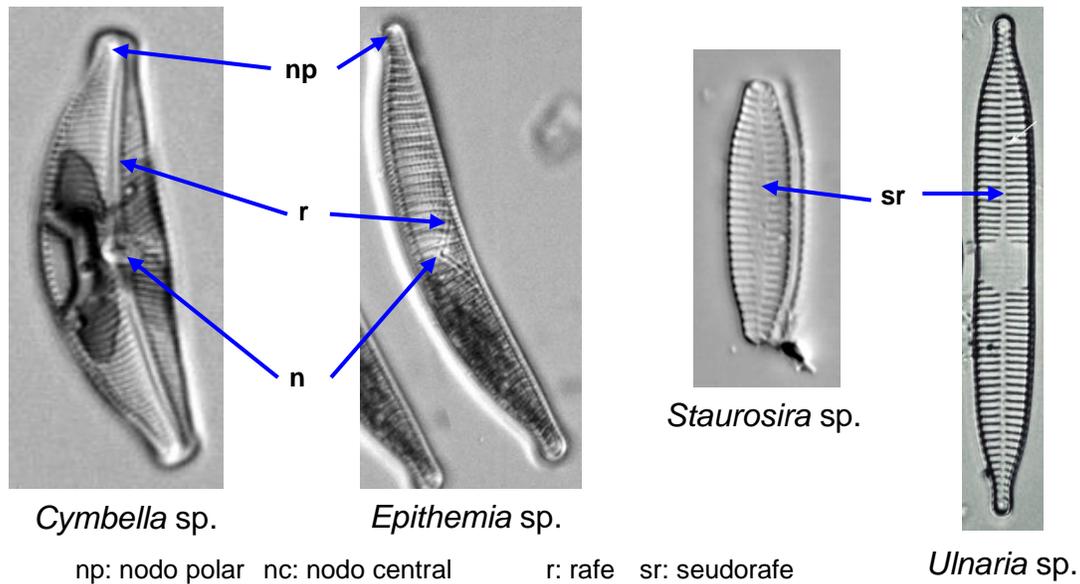


Figura 111. Rafe y seudorafe.

1.7.1. OBJETIVOS

- Observar y diferenciar las estructuras celulares y diversidad morfológica de las diatomeas pennales.
- Reconocer y diferenciar los géneros típicos de estos grupos.

1.7.2. Material biológico

- Muestras de agua colectadas en los diferentes sistemas acuáticos.
- Géneros sugeridos: *Cymbella*, *Gomphonema*, *Surirella* y *Navicula*.

1.7.3. Desarrollo de la práctica

1.8. Citología y Morfología

La cubierta de las células se puede resaltar utilizando Azul de Cresil, en tanto que los gránulos de reserva mediante el Lugol, si lo que pretendes es observar el número de núcleos, entonces el Azul de Metileno es el adecuado. Si lo deseas puedes probar con una coloración mixta.

a) Coloca una o dos gotas de concentrado de tu muestra, agrega una o dos gotas del colorante elegido, deja reposar de uno a dos minutos, coloca el cubreobjetos y observar al microscopio.

- Cubierta celular (periplasto o esqueleto silíceo)
- Organelos celulares (núcleos, gránulos de reserva, cloroplastos).

Utilice las muestras preparadas para el caso anterior y observe:

- Tipos morfológicos (unicelulares o coloniales)

NOTA: SI EXISTE EXCESO DE COLORANTE QUITARLO CUIDADOSAMENTE CON PAPEL HIGIÉNICO.

REALICE ESQUEMAS Y COLOQUE LOS NOMBRES DE LOS ORGANELOS Y ESTRUCTURAS OBSERVADAS

TOME FOTOGRAFÍAS

(Recuerda que las fotografías te serán útiles para la presentación de tus resultados)

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Ayala-Castañares, A. y Segura, L. R. (1981). Foraminíferos recientes de la Laguna de Tamiahua, Ver., México. *An. Inst. Cienc. Del Mar y Limnología*, 8(1), 1-314.
- Ceballos C. J. G. A. (1998). *Contribución al Conocimiento de la Composición y Distribución del Fitoplancton de la Bahía de Maruata, Michoacán. México*. Tesis de Licenciatura. Escuela de Biología, UMSNH, México.
- Ceballos C., J. G. A. (2005). Los Tintinnidos de la provincia nerítica de la costa del estado de Michoacán. En: Estudio de Estado. Villaseñor G., L. (Ed.). *La biodiversidad en Michoacán* (pp. 60-61). Morelia, Michoacán, México. Talleres de Morevallado Editores.
- Ceballos C., J. G. A. (2006). *Análisis de dinoflagelados potencialmente nocivos en el fitoplancton de la zona nerítica de la costa michoacana (enero-mayo 2004)*. Tesis de maestría, Facultad de Biología, UMSNH. México.
- Chávez V., Zariñana, L., Novelo, E. y Tavera, R. (2005). Variación morfológica de algunas especies de *Ophiocytium Nägeli* (Xantophyceae) de cuerpos de agua temporales del Estado de México. *Hidrobiológica*, 15(3), 311-320.
- Esqueda-Lara, K. y D. U. Hernández-Becerril. (2010). Dinoflagelados microplanctónicos marinos del Pacífico central de México (Isla Isabel, Nayarit y costas de Jalisco y Colima. UNAM. ISBN 978-607-02-1330-4.
- Hernández-Becerril, D. U., Alonso-Rodríguez, R., Álvarez-Góngora, C., Barón-Campis, S. A., Ceballos-Corona, G., Herrera-Silveira, J., Meave Del Castillo, M. E., Juárez-Ruíz, N., Merino-Virgilio, F., Morales-Blake, A., Ochoa, J. L., Orellana-Cepeda, E., Ramírez-Camarena, C. and Rodríguez-Salvador, R. (2007). Toxic and harmful marine phytoplankton and microalgae (HABs) in Mexican Coasts. *Journal of Environmental Science and Health Part A* 42, 1349–1363.
- Hernández-Becerril, D. U. and Bravo-Sierra, E. (2001). Planktonic Silicoflagellates (Dictyochophyceae) from the Mexican Pacific Ocean. *Botanica Marina*, 44, 417-423.
- Hernández-Becerril, D. U., Barón-Campis, S. A., Ceballos-Corona, J. G. A., Alonso-Rodríguez, R., Rincones-Reyes, K. M., Becerra-Reynoso, R. T. y Arce-Rocha, G. (2021). Catálogo de fitoplancton del Pacífico central mexicano, Cruceros "MareaR" (2009-2019). B/O "El Puma" Universidad Nacional Autónoma de México.
- Hernández-Becerril, D. U., Esqueda-Lara, K. y Torres-Martínez, R. (2016). Cocolitofóridos del Pacífico Mexicano y del Golfo de México. Universidad Nacional Autónoma de México, Centro de Cambio Global y la Sustentabilidad en el Sureste, A.C. y M.A. Porrúa.

- Hernández Rosas, A., Meave del Castillo, M. E., Zamudio-Resendiz, M. E. y Castillo-Rivera, M. (2007). Morfometría y distribución de especies del género *Ornithocercus* (Dinophysiales: Dinophyta) del Pacífico Mexicano. *Hidrobiológica*, 17(3), 257-272.
- Fernandes, L. F. (2004). Tintininos (Ciliophora, Tintinnina) de águas subtropicais na região Sueste-Sul do Brasil. I. Famílias Codonellidae, Codonellopsidae, Coxliellidae, Cytarocylidae, Epiplocylidae, Petalotrichidae, Ptychocylidae, Tintinnididae e Undellidae. *Revista Brasileira de Zoologia*, 21(3), 551–576.
- Kudo, R. R. (1969). *Protozoología*. México: Compañía. Editorial Continental, S.A. DE C.V.
- Licea-Durán, S. (1974). Sistemática y distribución de diatomeas de la Laguna de Agiabampo, Son./Sin. *An. Centro Cienc. del Mar y Limnol.* 1(1), 99-156.
- Licea, S., Moreno, J. L., Santoyo, H. y Figueroa, G. (1995). *Dinoflageladas del Golfo de California*. México: Promarco.
- Martínez P., J. A. y Elias G., M. (1985). *Introducción a la Protozoología*. México: Ed. Trillas.
- Madrazo-Garibay, M. y López-Ochoterena, E. (1985). Protozoarios ciliados de México. XXVI. Análisis morfológico y taxonómico de treinta y cinco especies de la laguna de Términos Campeche. *An. Inst. Cienc. Del Mar y Limnología*, 12(1), 199-212.
- Moreno, J. L., Licea S. y Santoyo, H. (1996). *Diatomeas del Golfo de California*. México: Promarco.
- Ortega, M. M. (1984). *Catálogo de Algas Continentales Recientes de México*. México: UNAM.
- Ortega, M. M., Godínez, J. L., Garduño S., G. y Oliva M., M. G. (1995). *Ficología de México. Algas Continentales*. México, AGT Editor, S.A.
- Ricard, M. (1987). *Atlas Du Phytoplancton Marin Vol. II*. Paris, Francia: Du Centre National de la Recherche Scientifique.
- Rotkiewicz, P. Copyright © 2003-2007. droplet Microscopy of the Protozoa. http://www.pirx.com/droplet/list_img
- Sournia, A. (1986). *Atlas Du Phytoplancton Marin Vol. I. Introduction, Cyanophycees, Dictyochophycées, Dinophycées et Raphidophycées*. Paris, Francia: Du Centre National de la Recherche Scientifique.
- Yamaji, I. (1977). *Illustrations of the marine plankton of Japan*. Japan: Hiokusha Publishing.co.ltd.