



FACULTAD DE BIOLOGÍA

MANUAL DE PRÁCTICAS BIOLOGÍA DE PROTISTAS (Laboratorio y Campo)



M.C. José Gerardo Alejandro Ceballos Corona

M.C. María del Rosario Ortega Murillo

M.C. Reyna Alvarado Villanueva

M.C. Alejandra Sánchez Trejo

M.C. Rubén Hernández Morales

Biól. Sandy Fabiola Andrade Hernández

Morelia, Michoacán, febrero 2022

CONTENIDO

	página
INTRODUCCIÓN	1
PRÁCTICA No 1. CONOCIMIENTOS BÁSICOS DE MICROSCOPIA Y MORFOLOGÍA GENERAL	2
PRÁCTICA No 2. EL PROCESO DE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA	35
PRÁCTICA No 3. CRYPTOPHYTA (Criptomónidos)	57
PRÁCTICA No 4. DYNOPHYCEAE (Dinoflagelados)	62
PRÁCTICA No 5. XANTHOPHYCEAE (tribofíceas)	69
PRÁCTICA No 6. CHRYSOPHYCEAE (Algas doradas), DICTYOCOPHYCEAE (Silicoflagelados) Y RAPHIIDOPHYCEAE (Rafideofíceas)	72
PRÁCTICA No 7 BACILLARIOPHYTA (Diatomeas radiales)	77
PRÁCTICA No 8. BACILLARIOPHYTA (Diatomeas bilaterales)	85
PRÁCTICA No 9. HAPTOPHYTA (Cocolitofóridos)	92
PRÁCTICA No 10. EUGLENOPHYCEAE (Euglénidos)	97
PRÁCTICA No 11. PROTOZOOS SARCODINOS (de vida libre dulceacuícolas y marinos)	103
PRÁCTICA No 12. PROTOZOOS CILIADOS (de vida libre dulceacuícolas y marinos)	110
PRÁCTICA No 13. PROTOZOOS ASOCIADOS PARÁSITOS	115
PRÁCTICA No 14. ORGANISMOS ASOCIADO NO PARÁSITOS	127
BIBLIOGRAFÍA GENERAL	136
ANEXO 1. COLECTA, FIJACIÓN Y PRESERVACIÓN DE PROTISTAS DULCEACUÍCOLAS	138
ANEXO 1. COLECTA, FIJACIÓN Y PRESERVACIÓN DE PROTISTAS MARINOS	149
ANEXO 2. ENLACES VÍDEOS	165

©2022

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/>).

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 quiénes 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 endosimbótica 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, de esta forma tenemos protistas que adquirieron sus plastos y mitocondrias a partir de diferentes endosimbiosis de tipo seriado, aunado a ello Cavalier-Smith 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 campo y 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 microscopio se inventó, hacia 1610, por Galileo, según los italianos, o por Jansen, en opinión de los holandeses. La palabra microscopio fue utilizada por primera vez por los componentes de la "Accademia dei Lincei" una sociedad científica a la que pertenecía Galileo y que publicaron un trabajo sobre la observación microscópica del aspecto de una abeja.

Las primeras publicaciones importantes en el campo de la microscopia aparecen en 1660 y 1665 cuando Malpighi prueba la teoría de Harvey sobre la circulación sanguínea al observar al microscopio los capilares sanguíneos y Hooke publica su obra Micrographia. A mediados del siglo XVII un comerciante holandés, Leenwenhoek, utilizando microscopios simples de fabricación propia describió por primera vez protozoos, bacterias, espermatozoides y glóbulos rojos

Durante el siglo XVIII el microscopio sufrió diversos adelantos mecánicos que aumentaron su estabilidad y su facilidad de uso, aunque no se desarrollaron mejoras ópticas. Las mejoras más importantes de la óptica surgieron en 1877 cuando Abbe publica su teoría del microscopio y por encargo de Carl Zeiss mejora la microscopía de inmersión sustituyendo el agua por aceite de cedro lo que permite obtener aumentos de 2000. A principios de los años 30 se había alcanzado el límite teórico para los microscopios ópticos no consiguiendo estos, aumentos superiores a 500X o 1000X.

El microscopio electrónico de transmisión (TEM), fue el primero en su tipo desarrollado, este utiliza un haz de electrones en lugar de luz para enfocar la muestra, consiguiendo aumentos de 100.000 X. Fue desarrollado por Max Knoll y Ernest Ruska en Alemania en 1931. Posteriormente, en 1942 se desarrolla el microscopio electrónico de barrido (SEM).

El microscopio óptico está constituido de las siguientes partes (Fig. 1)

1.1. Sistema Óptico

CABEZAL: la cual es metálica y contiene prismas internos, tubos portaoculares, escala de Vernier. Su función es captar el haz luminoso que lleva la información de la imagen hacia los oculares, se encuentra en la parte superior del brazo.

OCULARES: estas lentes permiten aumentar el tamaño de la imagen primaria. Se componen por un mínimo de dos lentes separados entre sí, una está localizada cerca de la imagen primaria y se llama lente colectora o de campo y la segunda se encuentra por encima de la anterior y es la que transmite la imagen al ojo, llamada lente ocular.

OBJETIVOS: producen la imagen primaria y es responsable de la claridad de la misma, de los detalles estructurales, etc., que no pueden ser mejorados por los demás elementos ópticos del microscopio.

CONDENSADOR: Su finalidad es la de conducir los rayos procedentes de la fuente luminosa hacia la preparación en la parte enfocada por el objetivo, de modo que el campo visual presente una iluminación uniforme. El condensador tiene además una segunda finalidad que es proporcionar al objetivo un cono de luz de tamaño y naturaleza adecuada para la obtención de resultados ópticos.

DIAFRAGMA: Controla la apertura numérica y regula la cantidad de luz que entra en el condensador.

1.2. Sistema de Iluminación

FOCO: Es la fuente de luz, la cual se dirige hacia un condensador y se regula mediante un diafragma.

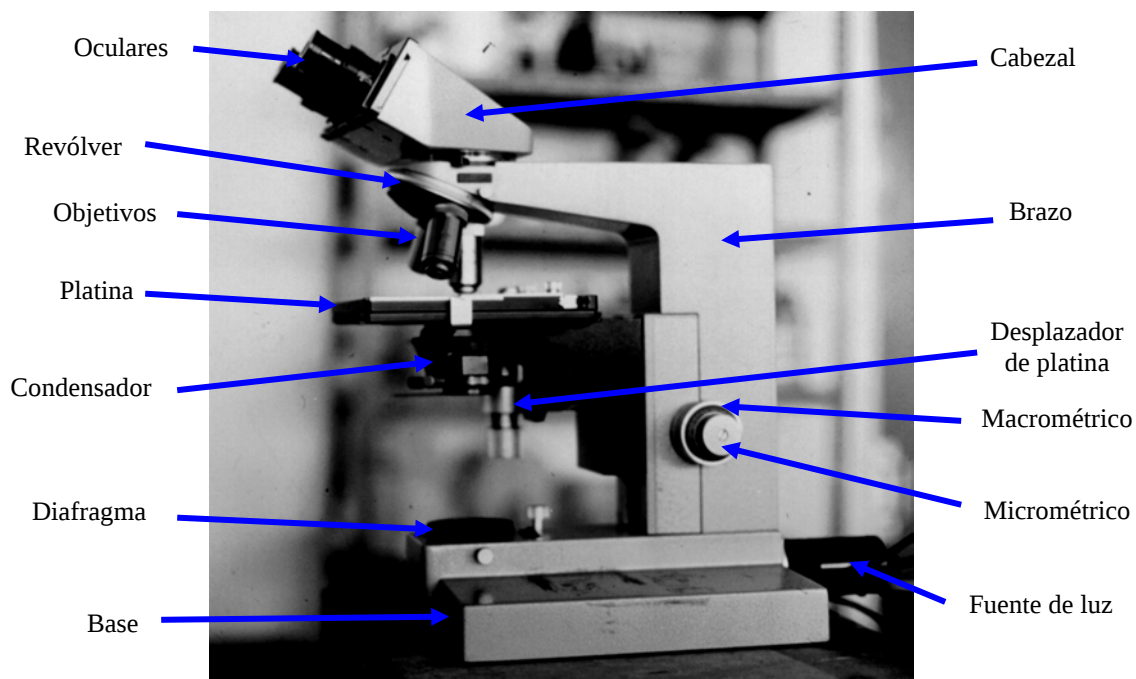


Figura 1. Componentes del microscopio compuesto

1.3. Sistema Mecánico

SOPORTE: Es el sostén de todas las partes del microscopio.

PLATINA: es una pieza metálica colocada en la parte superior del condensador, es la que sostiene al carro de aluminio o portaobjetos. Tiene un orificio en el centro por el cual pasa los rayos luminosos, sirve de soporte al portaobjetos. Su función es el desplazamiento por medio del macrométrico de ascender o descender para buscar la distancia focal.

CARRO DE ALUMINIO: Es una pieza metálica con desplazamiento horizontal y vertical compuesta con escala de Vernier, graduada en los ejes "X" y "Y", pinza tensora del portaobjetos, por medio del desplazamiento se localiza el objeto a identificar, utilizando las coordenadas de los ejes.

REVÓLVER: Es una pieza metálica giratoria estriada, con orificios estándar para la colocación de los lentes objetivo. Su función es el giro hacia la izquierda o derecha de los objetivos de menor a mayor aumento.

CONTROLES DE ENFOQUE: tienen un finísimo mecanismo coaxial para los movimientos macrométrico y micrométrico, consta de dos partes:

- **TORNILLOS MACROMÉTRICOS**, accionan el movimiento macro (desplazamiento de ascenso y descenso) rápido.
- **TORNILLOS MICROMÉTRICOS**, accionan el movimiento micro (le dan nitidez a la imagen observada), dan precisión a la imagen.

2. 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 2009).

Entre las características 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 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 kinetosomas, 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 atrios, o 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).

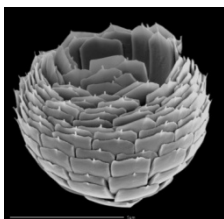
La organización morfológica es una característica distintiva dentro de los gremios taxonómicos de los reinos Chromista y Protozoa, debido a que involucra una complejidad que ha permitido la colonización de diferentes hábitats. Se desarrollan formas unicelulares, protofitas eucariotas, que pueden llegar 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).

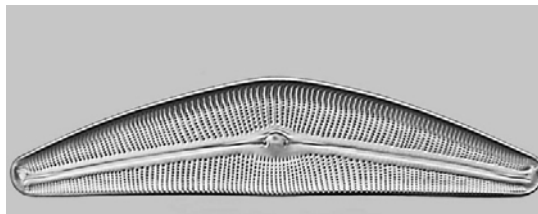
Su adaptación en cada microhábitat, ha generado por medio de la evolución, adaptaciones tróficas que diversificaron el tipo de nutrición, por lo cual los organismos de los reinos Chromista y Protozoa se catalogan como autótrofos estrictos (holofítica), heterótrofos estrictos (holozoica y saprozoica)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

2.1. Organización celular

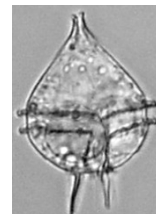
a) Protofitas eucariotas: organismos constituidos por una célula, la cual presenta membranas internas y orgánulos característicos de la célula eucariota (Fig. 2).



Florisphaera profunda
(Prymnesiophyceae)



Cymbella aspera
(Bacillariophyta)



Protoperidinium pyriforme
(Dinophyceae)

Figura 2. Protofitas eucariotas

b) Talofitas cenocíticas: 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 sus células, y cenocítico cuando se presentan tabiques transversales entre células multinucleadas (Fig. 3).



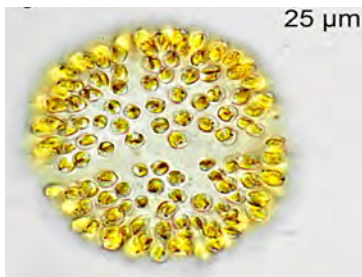
Vaucheria sessilis
sifonada
(Xantophyceae)



Tribonema minus
cenocítica
(Xantophyceae)

Figura 3. Talofitas sifonadas y cenocíticas.

c) Talofitas coloniales: organismos constituidos por varias células, inmersas en una envoltura mucilaginosa. Su característica primordial está asociada a que las células son de generaciones diferentes (Fig. 4).



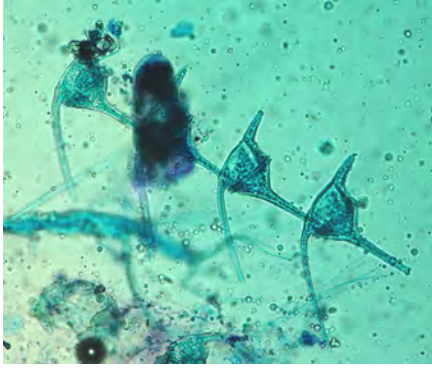
Uroglena volvox
(Chrysophyceae)



Dinobryon sertularia
(Chrysophyceae)

Figura 4. Talofitas coloniales (esféricas, derecha y arborescentes, izquierda)

d) Talofitas por consorcios: organismos constituidos por varias células, las cuales surgen como protofitas eucariotas y se agrupan con el tiempo para dar lugar a un consorcio (Fig. 5).



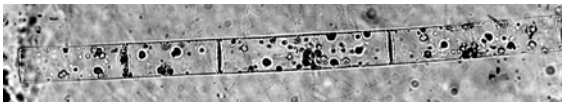
Triplos dens
(Dinophyceae)



Gomphonema parvulum
(Bacillariophyta)

Figura 5. Talofitas por consorcio

e) Talofitas filamentosas: organismos constituidos por varias células, producto de la división sucesiva de una célula a partir de la cual se derivan células íntimamente unidas con membranas celulares compartidas, pueden ser simples o ramificados (Fig. 6).



Leptocylindrus danicus
(Bacillariophyta)



Skeletonema costatum
(Bacillariophyta)



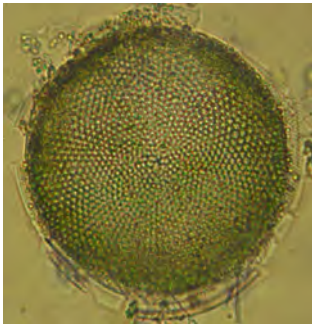
Tribonema sp.
(Xantophyceae)

Figura 6. Talofitas filamentosas

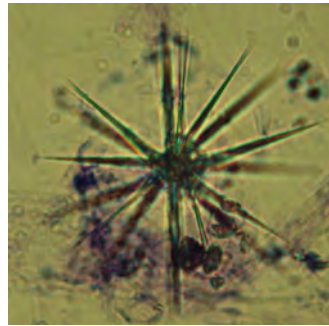
2.2. Simetría y forma del cuerpo

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

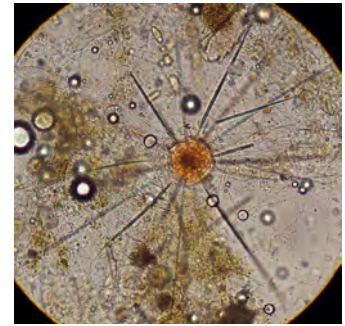
a) La simetría radial definida como aquella en la cual la disposición de las ornamentaciones y ejes es de manera regular alrededor de un punto central, de tal manera que al dividir al organismo en un corte que pase por el centro siempre se obtendrán partes aproximadamente iguales (Fig. 7).



Coscinodiscus sp.
(Diatomea)



Cladococcus sp.
(Radiolario)



Actinosphaerium sp.
(Heliozoario)

Figura 7. Protistas de simetría radial

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. 8).



Globigerina sp.
(foraminífero)



Hoeglundina sp.
(foraminífero)



Helicotheca sp.
(foraminífero)

Figura 8. Simetría helicoidal en protistas.

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. 9).

d) Una cantidad importante de protistas se consideran como amorfos, es decir, sus cuerpos carecen de una simetría clara, no presentan formas definidas (Fig. 10).

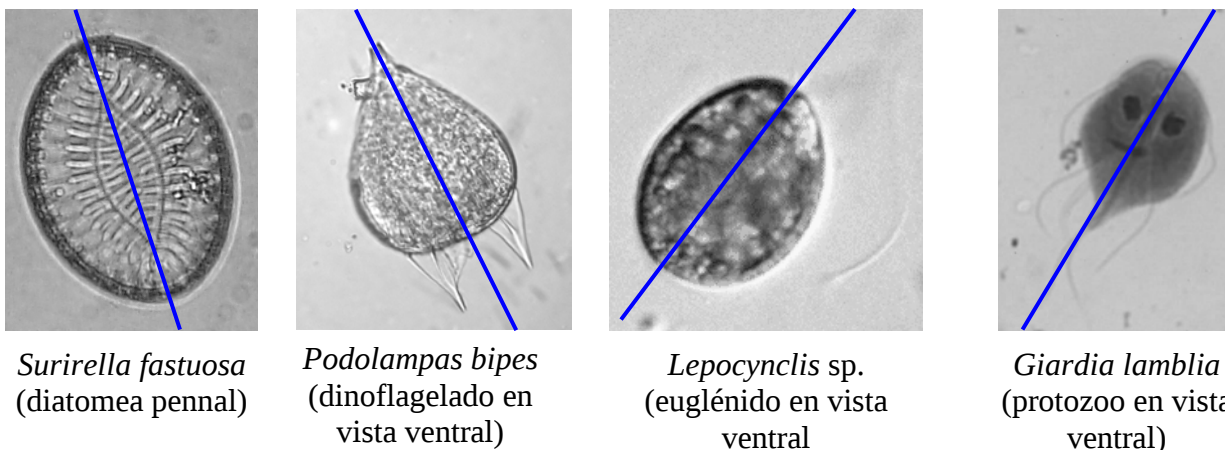


Figura 9. Simetría bilateral en protistas.

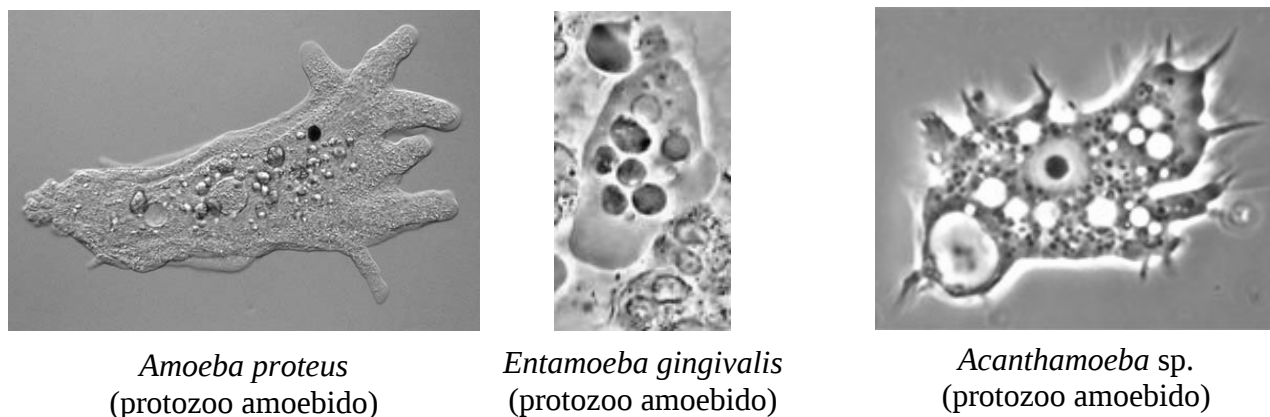


Figura 10. Protistas amorfos

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. 11).



Ceratocorys reticulata
(Dinoflagelado tecado)

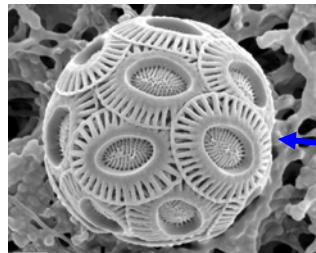


Vaucheria sp.
(Xantofíceas)



Surirella sp.
(Diatomea bilateral)
Protista con pared celular de sílice

Protistas con pared celular de celulosa y pectina



Emiliana huxleyi
(Cocolitofórido)

Protista con pared celular de carbonato de calcio

Figura 11. 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 mucilaginosa (viscosa) puede permitir que se adhieran partículas de distinto origen, orgánicas e inorgánicas (Fig. 12).



Euglena sp.
Periplasto flexible
rígido



Phacus sp.
Periplasto



Trypanosoma sp. *Plasmodium* sp.
Periplastos flexibles en protozoos

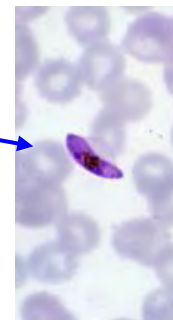


Figura 12. Periplastos en protistas

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. 13).

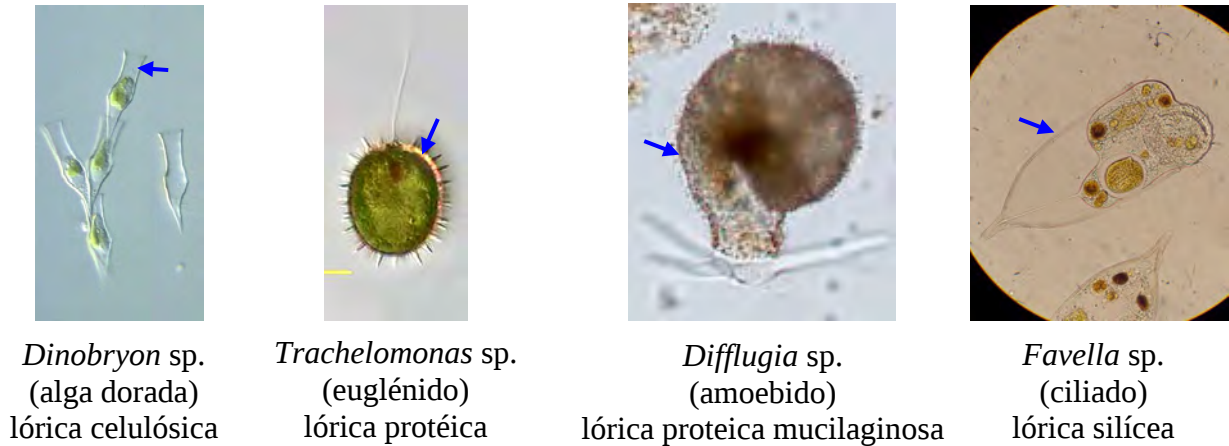


Figura 13. Protistas con loricas

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. 14).

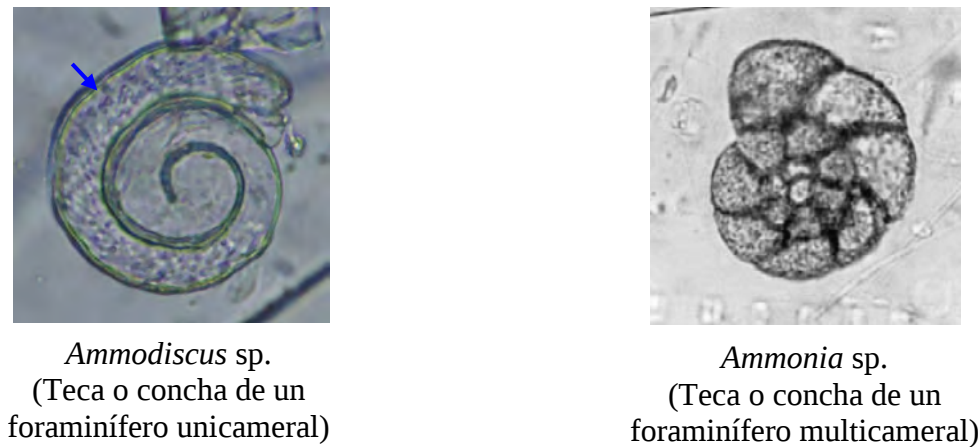


Figura 14. Protistas con teca o concha

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. 15).



Dictyocha fibula
(Silicoflagelado con varillas)



Corocalyptra sp.
(Radiolario nassularido)



Euglyohia sp.
(Cercozoario)

Protistas con endoesqueleto (testa interna) de tipo silíceo

Testa externa

Figura 15. Protistas con testa o endoesqueleto

2.4. Ornamentaciones

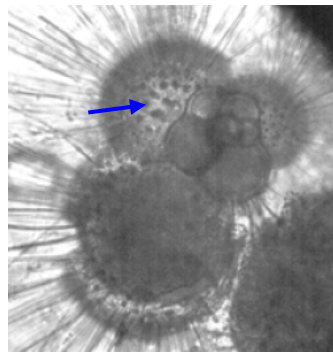
Las ornamentaciones corresponden a extensiones o perforaciones en la cubierta celular.

2.4.1. Perforaciones

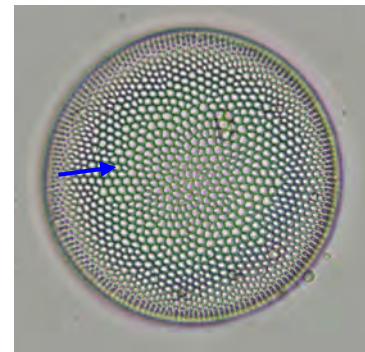
Se manifiestan a manera de poros y/o areolas, éstas últimas pueden formar un cribrum el cual está compuesto de poros y poroides (Fig. 16).



Ornithocercus sp.
(Dinoflagelado con



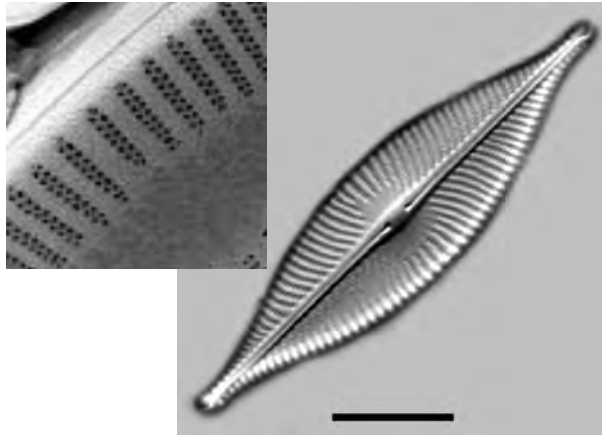
Globigerina sp.
(Foraminífero con poros)



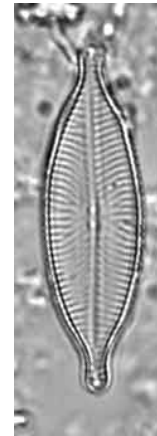
Coscinodiscus sp.
(Diatomea radial con areolas y cribrum)

Figura 16. 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 cribrum (Fig. 17).



Navicula sp.
(Diatomea bilateral con areolas formando estrías,
microscopio electrónico de barrido MEB)

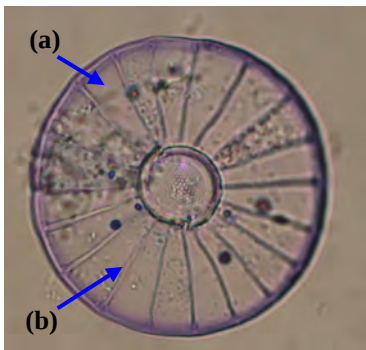


Navicula sp.
(diatomea bilateral con estrías.
microscopio óptico)

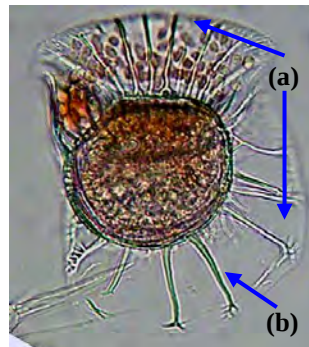
Figura 17. Protistas con perforaciones en forma de estrías.

2.4.2. Extensiones Alares

Son prolongaciones de las cubiertas celulares de tipo membranoso, las cuales pueden estar sostenidas por radios o flagelos (Fig. 18).



Planktoniella sol
(Diatomea radial con
membrana alar (a) y radios (b))



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



Trypanosoma sp.
(Kinetoplástido con
membrana alar con flagelo)

Figura 18. Protistas con extensiones membranosas

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. 19).

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. 20).

Las crestas son prolongaciones o elevaciones alares longitudinales, generalmente del periplasto, (Fig. 21).



Figura 19. *Diatoma* sp.
(Diatomea arafiada con
costillas transversales)

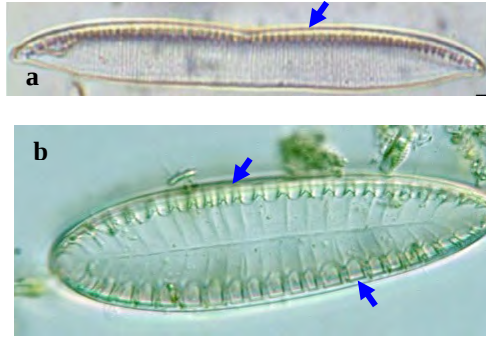


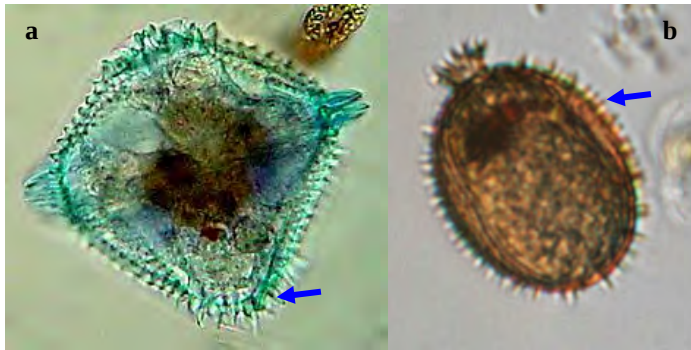
Figura 20. Diatomeas pennaes
rafiadas con quilla marginal
a) *Nitzschia* sp.; b) *Surirella* sp.



Figura 21. *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. 22).



a) *Ceratocorys reticulata* b) *Trachelomonas hispida*
(Dinoflagelado con espinas) (Euglénido con espinas)



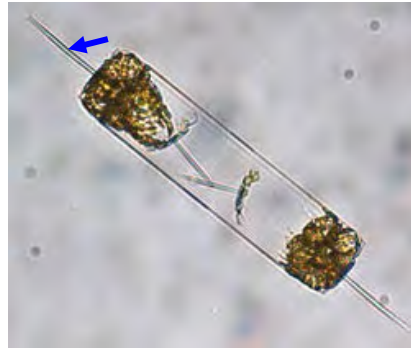
Aulacoseira granulata
Diatomea radial con
espinas (a) y espínulas (b)

Figura 22. Protistas con espinas y espínulas

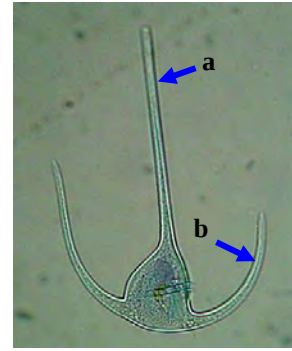
Los cuernos son prolongaciones grandes de las cubiertas celulares, normalmente sus extremos no son agudos y pueden presentarse en las aristas, en el centro o en los ápices y antápices de las células (Fig. 23).



Trieres mobiliensis
(Diatomea radial con cuernos en las aristas)



Ditylum brightwelli
(Diatomea radial con cuernos al centro de los extremos)



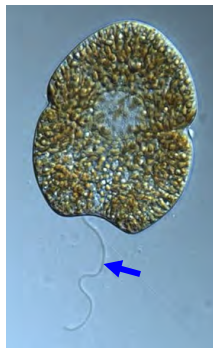
Tripos pulchellus
Dinoflagelado con cuerno apical (a) y cuernos antapicales (b)

Figura 23. Protistas con cuernos

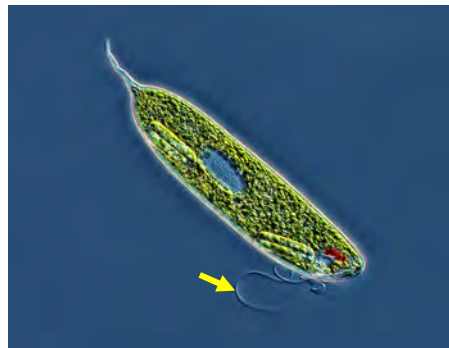
2.5. Estructuras de Movimiento

2.5.1. Flagelos y Cilios

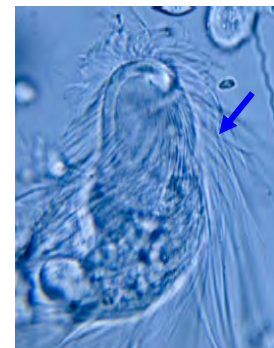
Los flagelos y los cilios presentan la misma ultraestructura, nueve pares de microfibrillas periféricas y un par central. La diferencia entre estos organelos es el tamaño, los flagelos son grandes (Fig. 24) y los cilios son pequeños (Fig. 25).



Akashiwo sanguinea
(Dinoflagelado desnudo)



Euglena sp.
(Euglénido)



Trichonympha sp.
(Hpermastigido)

Figura 24. Protistas flagelados



Figura 25. *Paramecium* sp.
(Protista ciliado)

2.5.2. Seudópodos

Los pseudópodos 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. 26).



Amoeba proteus
(Amoebido con
lobópodos)



Diffugia oblonga
(Arcelinido con
lobópodos)



Hastigerinella sp.
(Foraminífero con
axópodos)

Figura 26. 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. 27).



Zootherium sp.
(Ciliado con pedúnculo
ramificado)



Vorticella sp.
(Ciliado con pedúnculo
simple retractil)



Cymbella sp.
(Diatomea con
pedúnculo mucilaginoso)

Figura 27. Protistas con pedúnculos de fijación

2.6.2. Ganchos

Son prolongaciones de la cubierta celular a manera de espinas curvas y gruesas (Fig. 28).



Figura 28. *Gregarina* sp.
(Apicomplejo con ganchos en el epimerito)

2.6.3. Ventosas

Las ventosas son organelos cóncavos, si bien se utilizan para la fijación también tienen función succionadora (Fig. 29).

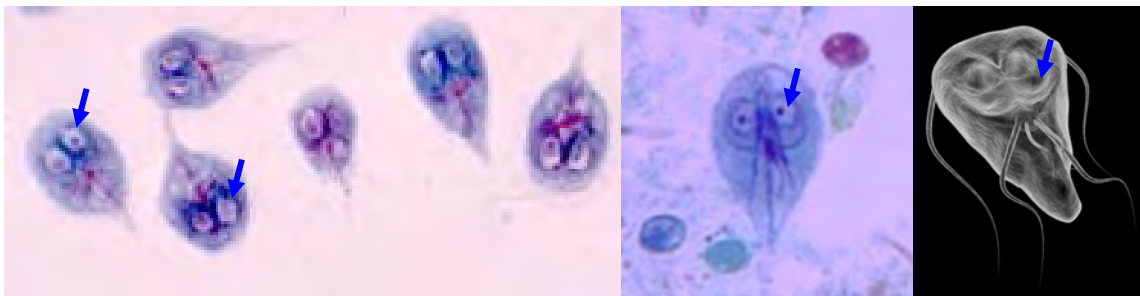
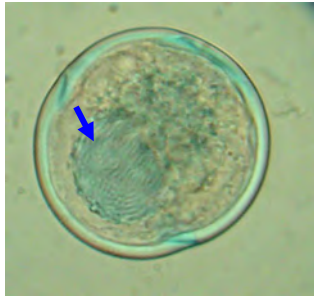


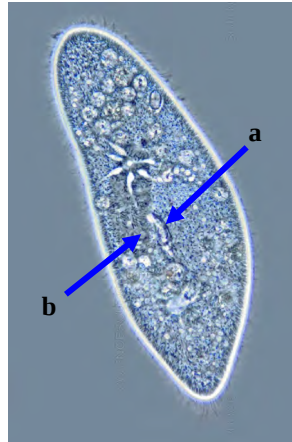
Figura 29. *Giardia intestinalis*
(Diplomonadido con ventosas)

2.7. Características nucleares

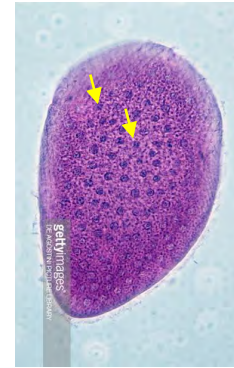
Los núcleos en los protistas pueden tener diversas formas, desde los esféricos, ovoides hasta los moniliformes. El número de los mismos varía de uno, uninucleados, dos binucleados (micronúcleo para la reproducción y macronúcleo para las funciones metabólicas) y los multinucleados (Fig. 30).



Gambierdiscus toxicus
(Dinoflagelado tecado con
núcleo moniliforme)



Paramecium sp.
Ciliado binucleado, a) Macronúcleo
y b) Micronúcleo



Opalina ranarum
(Ciliado multinucleado)

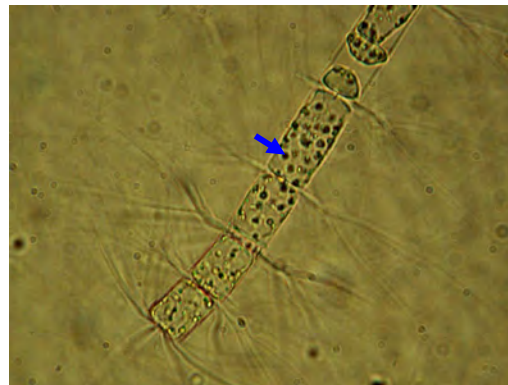
Figura 30. Los núcleos en protistas

2.8. Los plastidios o Plastos

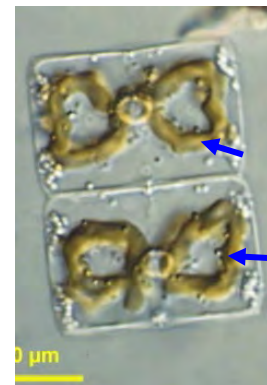
En los protistas los plastos varían en cuanto a su forma, en este sentido vamos a encontrar los esféricos, discoidales o lenticulares, ovalados, en forma de "H", laminares, en forma de cojinete, lobulados o estrellados. Con relación a su posición, aquellos que se encuentran al centro de la célula se 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. 31).



Cryptomonas ovata
(Criptomonido con
cloroplasto laminar parietal)



Bacteriastrum hyalinum
(Diatomea radial con cloroplastos
discoidales parietales)



Meuniera membranacea
(Diatomea bilateral con
cloroplasto acintado axial)

Figura 31. Diversidad de cloroplastos 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, trógonos, 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 cubreobjetos: 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 correcta aplicación 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: Muestras de agua dulce y marina
	➤ Rojo neutro	

3.3. Desarrollo

Antes de iniciar tu 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 32 se muestra cuando tu microscopio no está calibrado

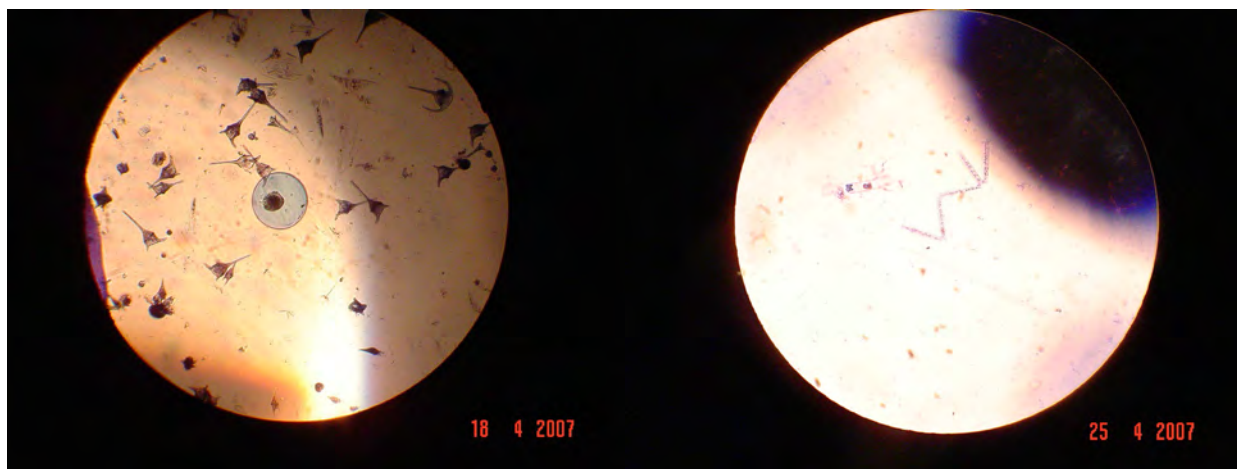
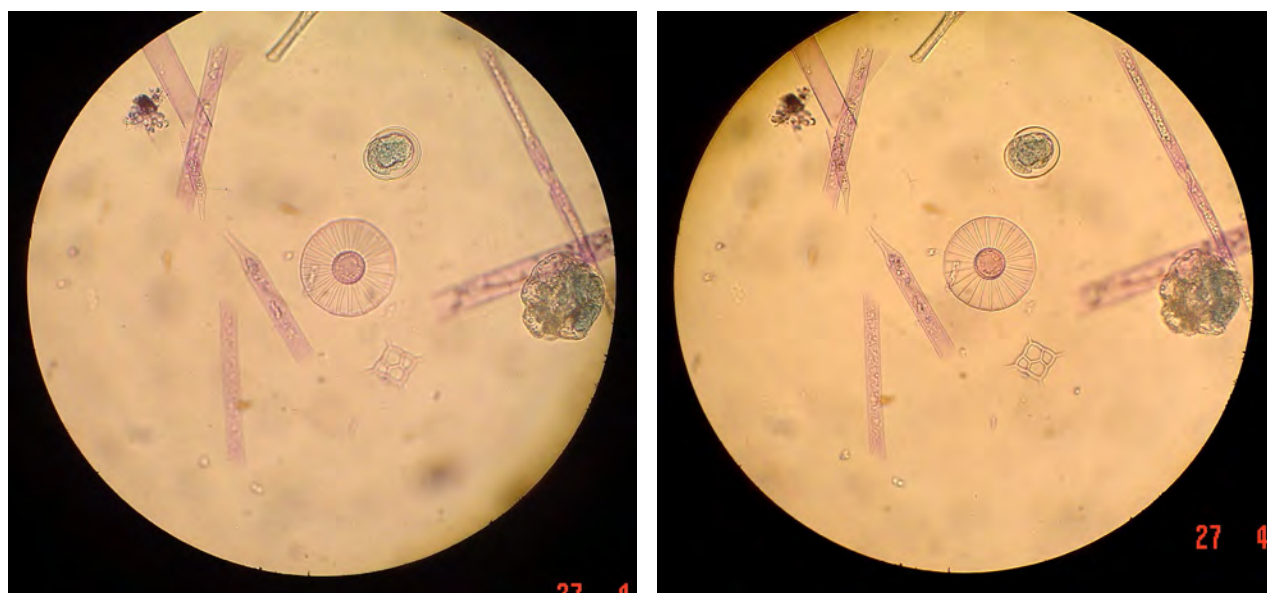


Figura 32. Fotografías que muestran cuando un microscopio está mal calibrado

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:

- Conecta el microscopio a la de toma corriente y enciéndelo, cuidado no subas toda la luz o te deslumbraras por un rato.
- Coloca una gota de agua con organismos en un portaobjetos y ponle el cubreobjetos, ponlo en la platina, asegúrate de que el objetivo de 10x 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. 33).



Mal enfocado

Bien enfocado

Figura 33. Enfoque adecuado de tus muestras

c) Ya que has logrado enfocar al organismo, ahora pasa el revólver al objetivo de 5x, en caso de no contar con este objetivo déjalo en el de 10x. Cierra totalmente ambos diafragmas, sube toda la luz 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) Colocar una o dos gotas de muestra en un portaobjetos y ponle su cubreobjetos (puedes usar la misma muestra del paso anterior).

e) Enfoca con el objetivo de 5x cualquier partícula orgánica o inorgánica.

f) Sube a su tope máximo la luz (**CAUIDADO HAZLO SIN OBSERVAR POR EL OCULAR**).

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

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

i) 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.

j) Si el hexágono está desplazado hacia algún lado fuera del centro, utiliza los tornillos del condensador para desplazarlo lentamente hacia el centro del campo de observación (Fig. 34).

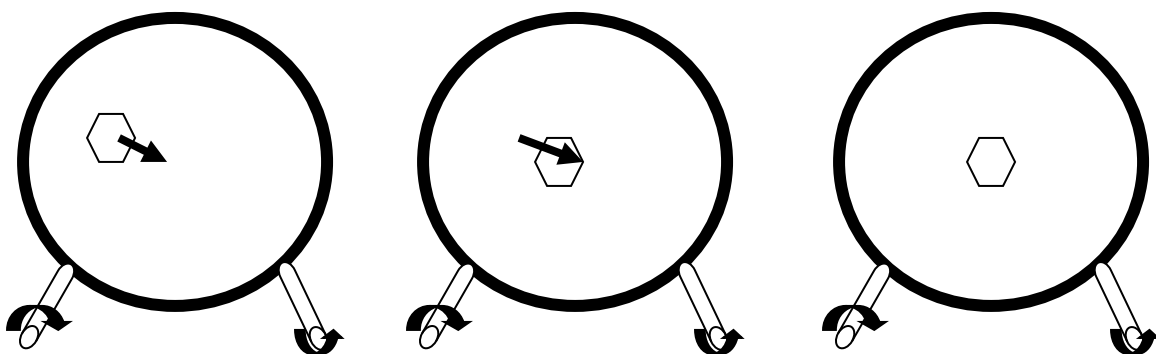


Figura 34. Desplazamiento del hexágono de luz mediante los tornillos del condensador

k) 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.

l) 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 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 de la platina 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 tu 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 delgado 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. Colocar 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. 35).

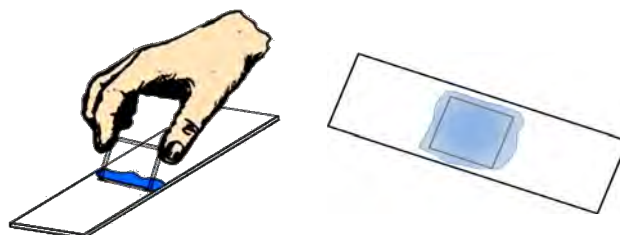


Figura 35. Izquierda, colocación de cubreobjetos sobre la muestra concentrada, derecha forma adecuada de la preparación para su observación en microscopio compuesto óptico.

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 ésta 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 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. 36).

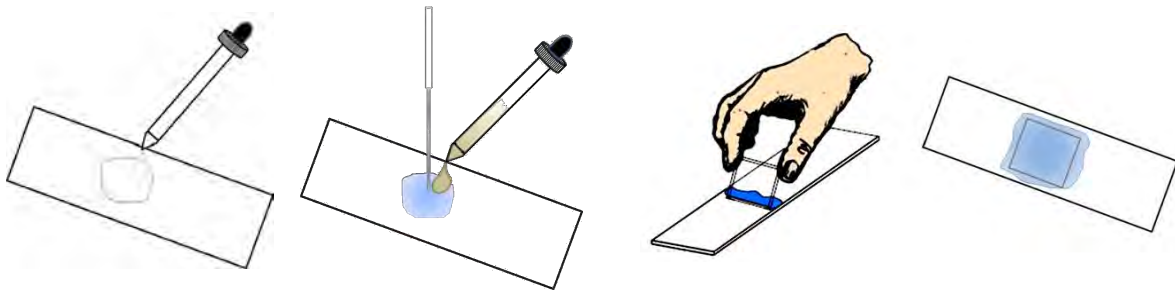


Figura 36. Izquierda gotas de miel con fenol, centro colocación de la gota de muestra concentrada, derecha colocación de cubreobjetos sobre la muestra.

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. 37).
- Colocar el cubreobjetos sin llegar a formar burbujas.

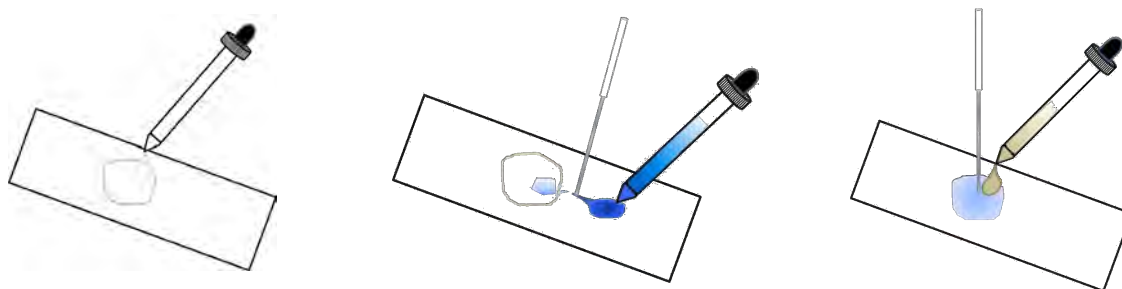


Figura 37. Izquierda gotas de miel con fenol, centro incorporación del colorante y derecha colocación de la gota de muestra concentrada.

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. 38), utilizando para ello un marcador de punto fino y de tinta permanente con los siguientes datos:

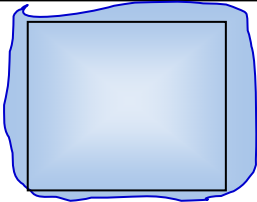
	Género o especie o grupo
	Localidad Fecha
	Coordenadas
	Colector
	Nombre de quien elaboró la laminilla, sección y equipo
	Medio de montaje
	Tipo de colorante si se uso

Figura 38. Rotulación de laminilla semipermanente

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

- Checar que la platina este abajo, para poder colocar la laminilla sobre ella, asegurándose que ésta quede bien sujeta mediante el portamuestras de la platina (Fig. 39).

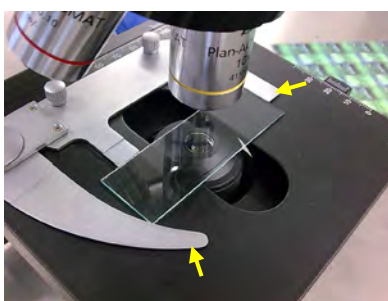


Figura 39. Platina con laminilla sujeta por el portamuestras

- 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, 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* spp., la misma se describe enseguida (Fig. 40):

- Agregar a un porta objetos dos gotas de agua y colocar con pinzas una pequeña muestra de filamentos de *Vaucheria* sp.
- 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 a la flama de una lámpara de alcohol o de un mechero bunsen, pasándolo dentro y fuera de la flama hasta lograr que se evapore el colorante sin que la preparación hierva.
- Una vez que el colorante adquirió viscosidad se le agrega el cubreobjetos al portaobjetos con la muestra y tomando ambos con unas pinzas de disección se debe enjuagar gota a gota para remover el exceso de colorante CUIDA DE NO DEJAR QUE SE ESCAPEN LOS FILAMENTOS.
- Levantar el cubreobjetos con mucho cuidado y adicionar dos gotas de miel con fenol, homogenizar el medio de montaje suavemente con una aguja, cuidando que los filamentos permanezcan dispersos.
- Colocar el cubreobjetos de forma oblicua hasta que se disemine el medio de montaje y dejar caer de un solo golpe sin que se formen burbujas.

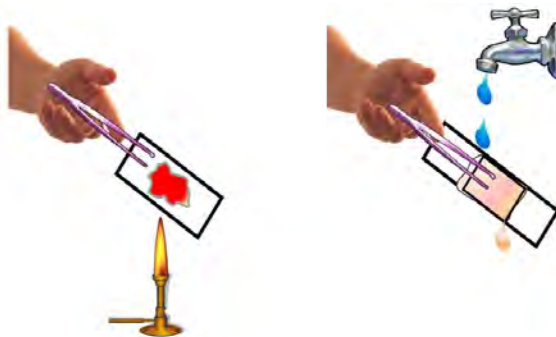


Figura 40. Tinción de *Vaucheria* sp. con carmín acético

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 a los diferentes caracteres diagnósticos (Figs. 41 y 42).

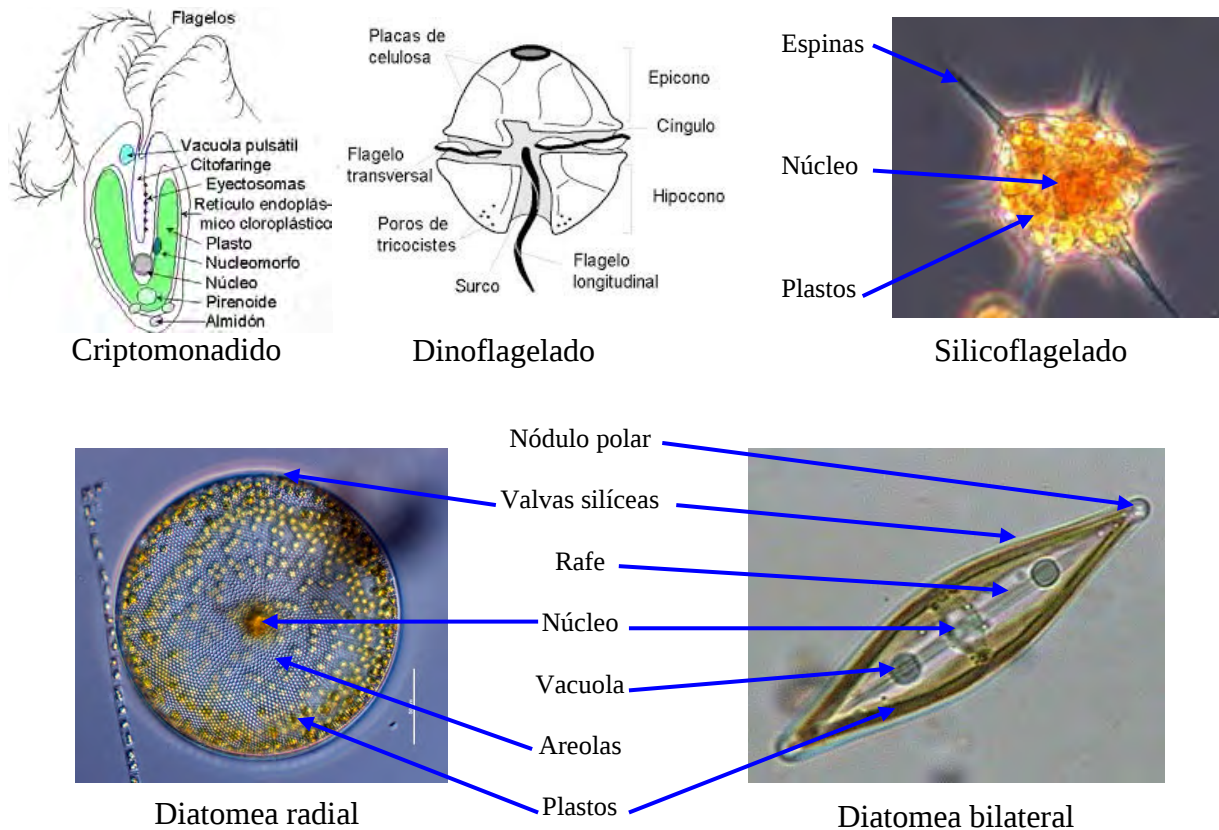
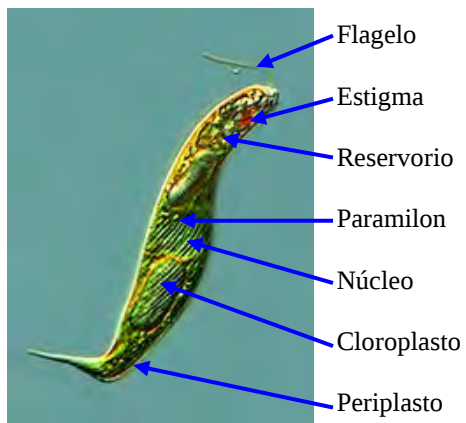
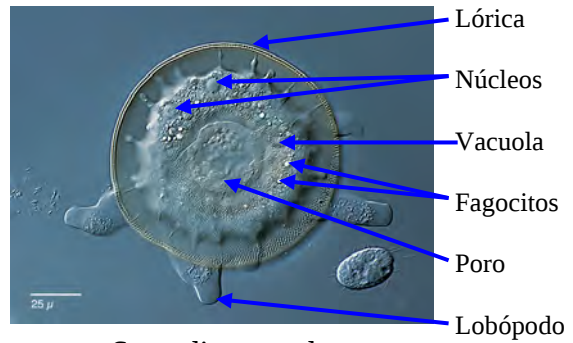


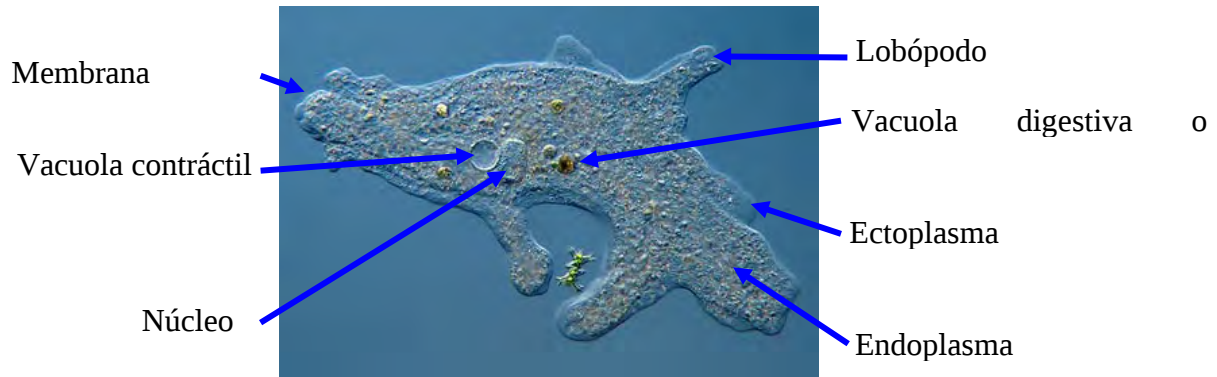
Figura 41. Caracteres diagnósticos de Chromista



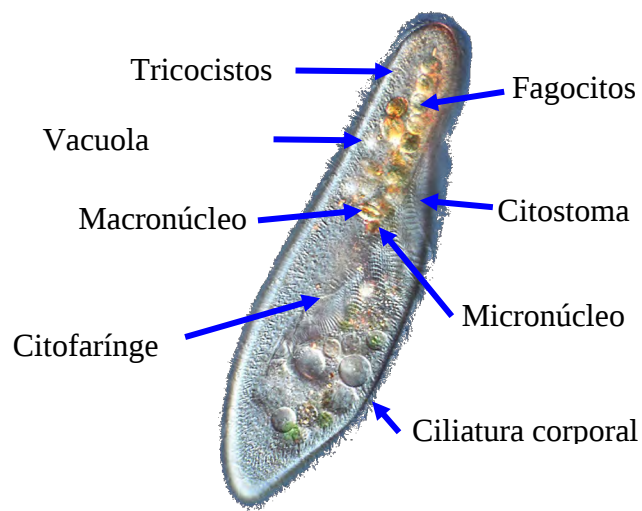
Euglenofíceea



Sarcodino tecado



Sarcodino desnudo



Ciliado

Figura 42. Caracteres diagnósticos de Protozoa

➤ Observación de la cubierta celular.

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

b) Colocar el cubreobjetos en forma diagonal 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 una o dos gotas de la muestra de agua dulce y agregarle las gotas de lugol necesarias para cubrir la muestra y dejarla reposar aproximadamente dos minutos.

b) Colocar el cubreobjetos en forma diagonal 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 una o dos gotas de la muestra de agua dulce y agregarle las gotas de azul de metileno necesarias para cubrir la muestra y dejarla reposar aproximadamente dos minutos.

b) Colocar el cubreobjetos en forma diagonal 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 utiliza una muestra de *Vaucheria* sp.

Repite los pasos a) y b), pero en lugar de azul de metileno utiliza carmín acético.

d) Mediante las agujas de disección separar los filamentos, con las pinzas de disección, sujetar el portaobjetos y pasarlo por una flama de mechero, calentando lentamente hasta que la muestra se ponga densa como si fuera atole.

e) Colocar el cubreobjetos diagonalmente y sujetarlo con las mismas pinzas, procede a eliminar el excedente de colorante mediante goteo del grifo, esquinando tu muestra, **OJO DEBE SER A GOTEO O TU MUESTRA DESAPARECERA.**

f) Secar el portaobjetos de tu muestra por la parte de abajo y el cubreobjetos mediante una esquina de papel higiénico y observa:

- 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 elaborar una clave dicotómica artificial tomando en cuenta los tipos morfológicos observados.

Elaborar una clave dicotómica artificial a partir de los géneros observados y utilizando los cuadros comparativos diagnósticos.

CONSULTAR ANEXO 2

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	ESTRUCTURAS ALIMENTARIAS	ORGANELOS)	NÚMERO DE NÚCLEOS

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

Que el alumno aprenda 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.

No vayas a pensar que es un capricho de tus profesores (as) que aprendas el método científico. Los científicos lo usan hoy en día más que nunca. La razón es que los grandes proyectos investigativos se hacen en instituciones y universidades en forma multidisciplinaria, involucrando una gran cantidad de científicos de diferentes países y de diferentes especialidades. Para que todos puedan colaborar juntos con eficiencia necesitan un método sistemático.

Antes de comenzar con tu proyecto es conveniente verificar los siguientes pasos, de manera que puedas tener claridad y estés organizado.

- 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?, problema, se plantea 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 se necesitan para realizar este experimento o investigación?, materiales.
- j) ¿Qué descubrimos después de realizar el experimento o la investigación?, resultados (discusión esquemas, gráficos, modelos).
- k) ¿Qué fuentes consulté para informarme sobre el tema? Libros, Revistas y otros, bibliografía.
- l) ¿Quiénes vamos a realizarla?, el equipo humano.
- ll) ¿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 la ficoflora.
 - ¿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 tiene la ficoflora 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 filogenética de las microalgas es dominante en los diferentes cuerpos de agua?
 - ¿Influyen las condiciones ambientales en la expresión morfológica de las microalgas?
- 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?

Añade nuevas ideas o aspectos a otros trabajos investigativos y crea tu propio proyecto. Como vez, el cielo es el límite, hay infinitud 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, puede ser a partir de “la ley del embudo” (Fig. 43), en este sentido 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”.



Figura 43. “Ley del embudo” para presentar el orden de los antecedentes

“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 resumen 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 referencias se plasmarán en un capítulo llamado “literatura citada 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-Becerril⁽¹⁾). 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.

(1) Com. 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.

➤ 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.

➤ 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 del fitoplancton de la playa de “El Zapote de Madero”.
- Elaborar una lista comentada de las especies de microalgas del fitoplancton de la playa “El Zapote de Madero”, que contenga la descripción morfológica y variables fisicoquímicas.
- Determinar la estructura de la comunidad microalgal en la playa “El Zapote de Madero”, considerando su abundancia, frecuencia, dominancia y valor de importancia.
- Definir la diversidad microalgal de la playa “El Zapote de Madero”

3.5. Planteamiento de Problemas

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 un experimento en el que puedas probar tu 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 Fisicoquímicas
 - 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 Literatura Citada o Referencias Bibliográficas

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 (https://www.javerianacali.edu.co/sites/ujc/files/manual_de_normas_apa.pdf).

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

➤ Un autor:

Carreón A. Y. (2002). Estructura y función de la simbiosis micorrízica arbuscular. *Ciencia Nicolaita, Rev. Coord. Invest. Cient. Umsnh*, (31), 65-74.

➤ Dos autores:

Ceballos C., J.G.A. y Canedo, Y. S.P. (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:

Lyons, J., Navarro-Pérez, S., Cochran, P. A., Santana, E. y Guzmán-Arroyo, M. (1995). Index of Biotic Integrity Based on Fish Assemblages or the Conservation of Streams and Rivers in West-Central Mexico. *Conservation Biology*, 3(9), 569-584.

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 D., J. y Ceballos C., G. (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 R., R., Ochoa, J. L. and Uribe A., M. (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 Townsend, 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 C., 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 C., 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/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 A., 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.; Quiroz-Castelán, H., García-Rodríguez, J. y Díaz-Vargas, M. (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, N° 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:

Portada

Contenido

1. Introducción

2. Antecedentes

3. Objetivos

3.1. Objetivo General

3.2. Objetivos Particulares

4. Hipótesis

5. Caracterización del área de estudio

5.1. Localización Geográfica

5.2. Geología

5.3. Hidrología Superficial

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. Clima
- 5.7. Vegetación
 - 5.7.1. Fitoplancton Marino
 - 5.7.2. Algas Bentónicas
 - 5.7.3. Vegetación Costera
- 5.8. Fauna Acuática
 - 5.8.1. Zooplancton
 - 5.8.2. Macroinvertebrados Bentónicos
 - 5.8.3. Vertebrados Marinos
- 5.9. Influencia Humana
- 6. Materiales y Métodos
 - 6.1. Métodos de campo
 - 6.2. Métodos de Laboratorio
 - 6.3. Métodos de Gabinete
- 7. Resultados y Discusión
- 8. Conclusiones
- 9. Literatura Citada

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

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 MICHOCANA 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

Autores:

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

ASESORES:

Morelia, Mich., a de 20__

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, LOS ANTECEDENTES, haciendo la referencia bibliográfica debida. En esta sección 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 las tablas o gráficas véanse las reglas correspondientes más adelante.

LAS TABLAS Y FIGURAS DEBERÁN DE INTERCALARSE EN EL TEXTO DE LOS RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Reglas para la Presentación de Tablas y Figuras

En un protocolo de investigación se pueden incluir tablas y figuras, las mismas deberán estar referenciadas en los párrafos correspondientes, para su presentación se deberán tomar en cuenta las siguientes reglas:

- Las tablas 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 las tablas y figuras, al igual que las notas al pie de página, deberán ir a renglón seguido.
- Las tablas y figuras que aparezcan longitudinalmente en la página, deberán respetar los mismos márgenes ya establecidos para la escritura ordinaria (3.0 cm margen izquierdo y 2.5 cm para los otros tres). La posición de estas tablas 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. Estas páginas podrán no tener el número.
- Las tablas deben ser autoexplicativas. 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.

- Las tablas 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.

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 ANEXO 1 PARA LAS TÉCNICAS DE MUESTREO

**¡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. CRYPTOPHYTA (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) (Fig. 44), 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. 44).

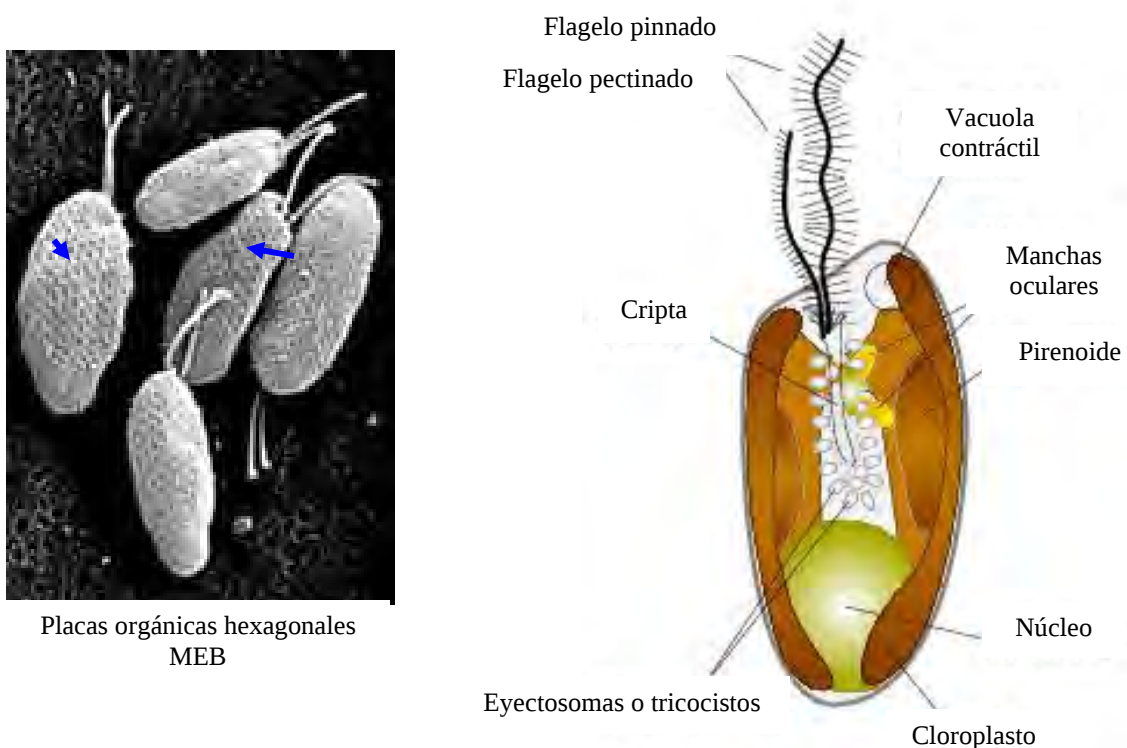
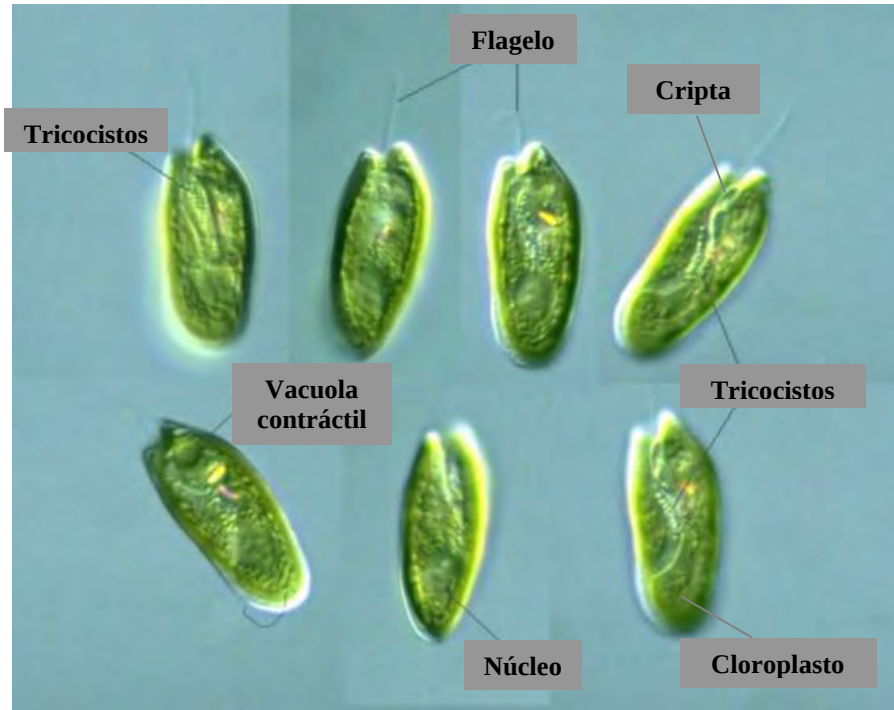


Figura 44. Estructura celular de criptomónidos

El tipo morfológico característico del grupo corresponde a organismos unicelulares móviles o inmóviles (Fig. 45). 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 simbios de radiolarios y corales. Llegan a ingerir algunos ciliados como *Myrionepta rubra*.



Cryptomonas spp.



Cryptomonas ovata



Ochroomonas sp.



Rhodomonas sp.



Chilomonas paramecium

Figura 45. Tipos morfológicos unicelulares móviles

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 acuáticos.
Géneros sugeridos: *Cryptomonas* sp.

4. DESARROLLO DE LA PRÁCTICA

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).
- Organelos celulares (núcleos, gránulos de reserva, cloroplastos, flagelos).
- Utilice las muestras preparadas para el caso anterior y observe:
 - Tipos unicelulares

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)

CONSULTAR ANEXO 2

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 4. DINOPHYCEAE (Dinoflagelados)

1. INTRODUCCIÓN

Esta división 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 cloroplastos en las formas pigmentadas, observándose de uno a dos en las formas más primitivas, mientras que en las más evolucionadas son numerosos y discoidales. Las especies incoloras contienen los pigmentos en gránulos o disueltos en el citoplasma. 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).

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

La cubierta celular puede ser en forma de una pared o un periplasto, las mismas pueden o no presentar ornamentaciones, las cuales se caracterizan por la presencia de valvas o placas y poros o pliegues.

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. 46).

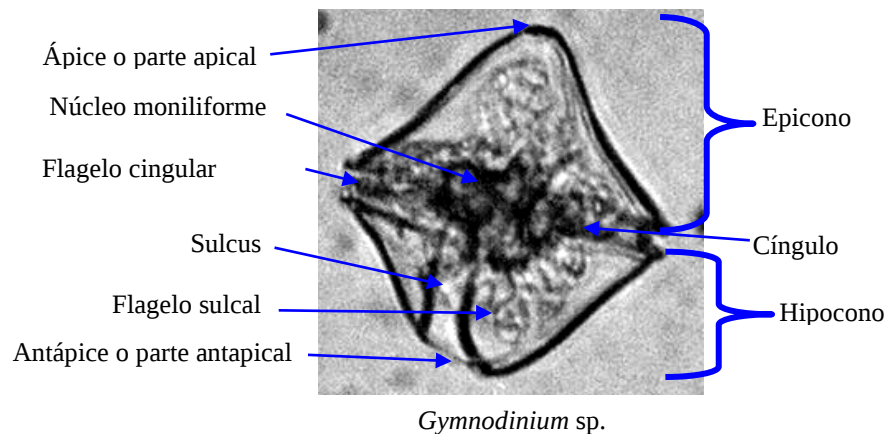
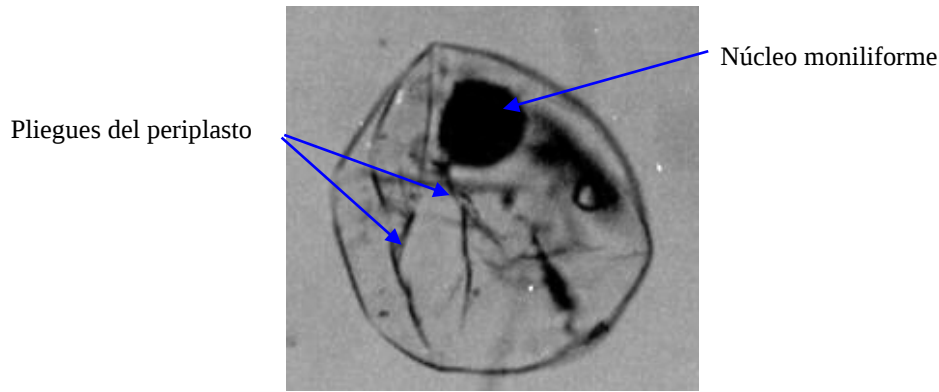


Figura 46. Principales estructuras morfológicas de dinoflagelados

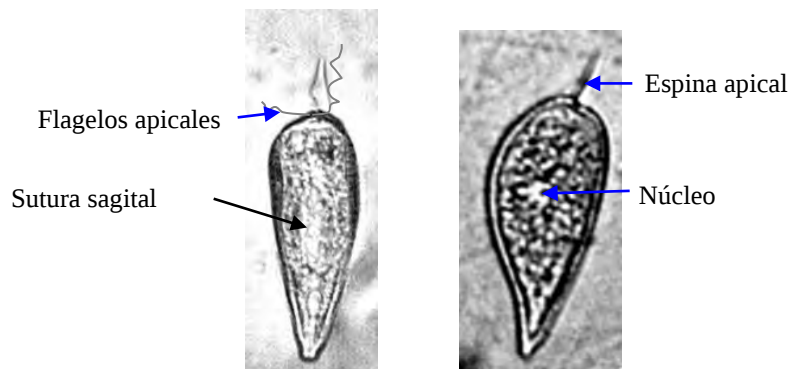
De las formas desnudas se complica un tanto cuanto su determinación, sin embargo, el tipo morfológico que llegan a presentar muchas de ellas facilita este trabajo puesto que son muy característicos para cada especie; estos son de los organismos donde podemos observar los pliegues del periplasto como parte de su ornamentación (Fig. 47).



Pyrocystis noctiluca

Figura 47. Ornamentaciones del periplasto y núcleo moniliforme

En tanto que las formas que presentan valvas, la estructura y disposición de las mismas 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 (Fig. 48).



b) Vista lateral c) Vista ventral

Prorocentrum sp.

Figura 48. 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 49.

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

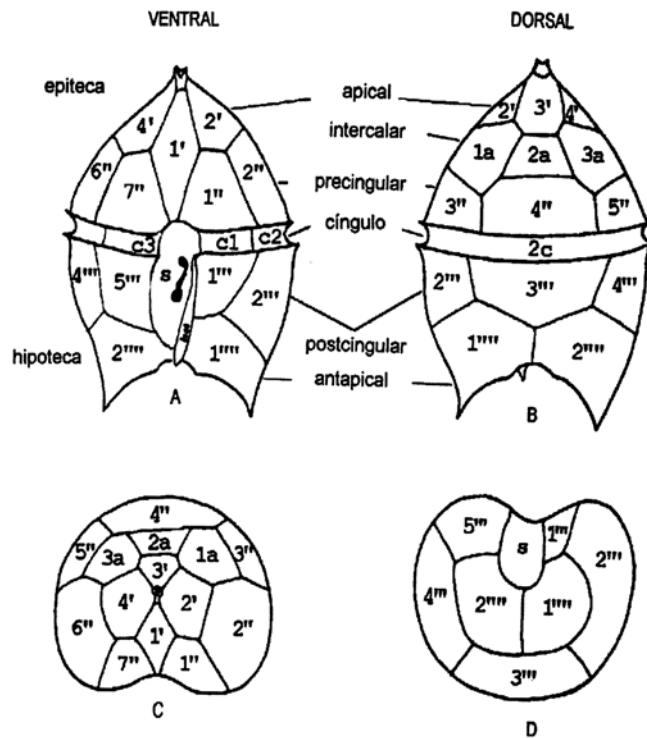


Figura 49. Disposición de las placas en dinoflagelados

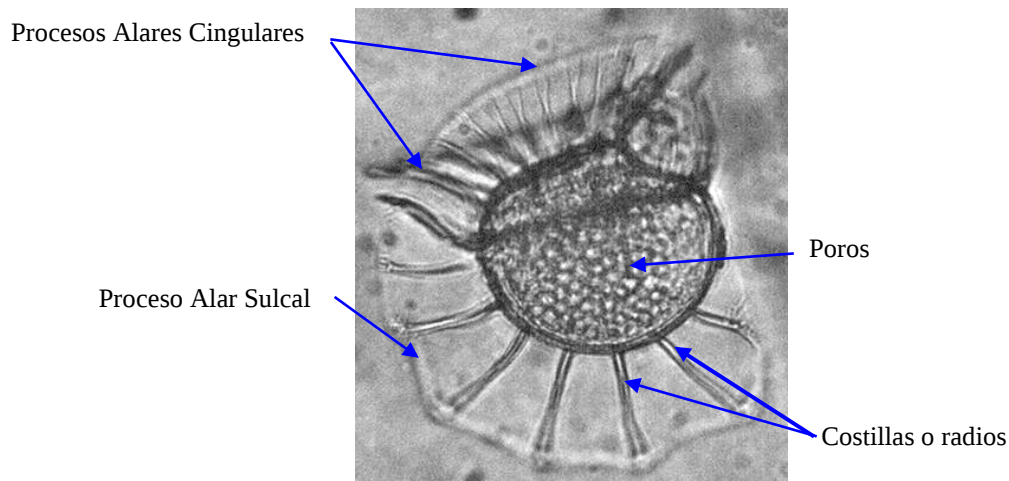
La numeración de las diferentes placas se efectúa a partir del borde izquierdo del surco longitudinal girando hasta terminar en el lado derecho, de esta manera podemos establecer las fórmulas para los géneros peridiniales, por ejemplo:

Gonyaulax sp. [3', 0a, 6'', 6c, 6-7s, 6''', 1p, 1''']

Peridinium sp. [4', 2-3a, 7'' 5-6c, 0s, 5''', 0p, 2''']

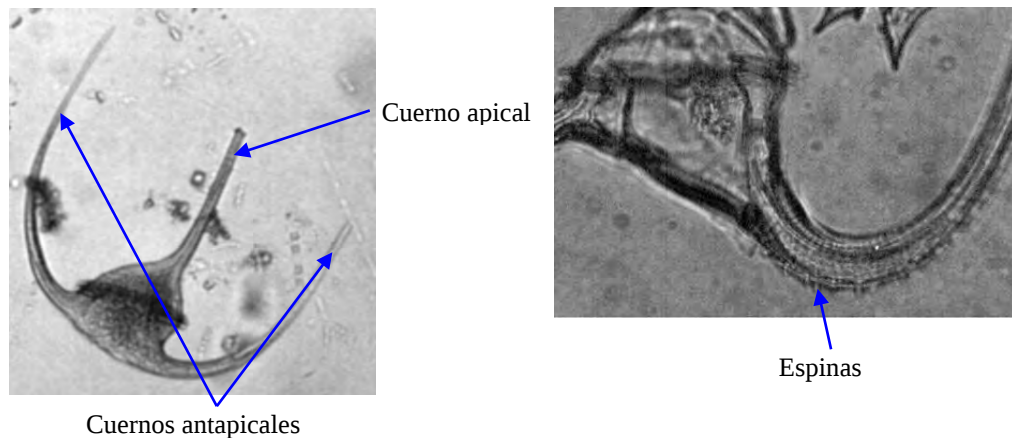
Ceratium sp. [4', 0a, 5'', 4-5c, 0s, 5''', 0p, 2''']

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. 50 y 51).



Ornithocercus sp.

Figura 50. Ornamentaciones en Dinofíceas



Tripos sp.

Figura 51. Cuernos y Espinas

La importancia ecológica de este grupo está basada en la presencia de los mismos en el fitoplancton por lo cual son la mayoría de ellos 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.
- . Reconocer y diferenciar los géneros típicos de este phylum.

3. MATERIAL BIOLÓGICO

Muestras de agua colectadas en los diferentes sistemas acuáticos.

Géneros sugeridos: *Prorocentrum* sp., *Protoperidinium* sp., *Gymnodinium* sp. o *Akashiwo* sp.

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.

- 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, 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

CONSULTAR ANEXO 2

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							

PRÁCTICA No 5. XANTHOPHYCEAE (Tribofíceas)

1 INTRODUCCIÓN

Estas algas poseen uno o varios cloroplastos 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.), otras son multicelulares cenocíticas en forma de filamentos (*Tribonema* sp.), (Fig. 52).

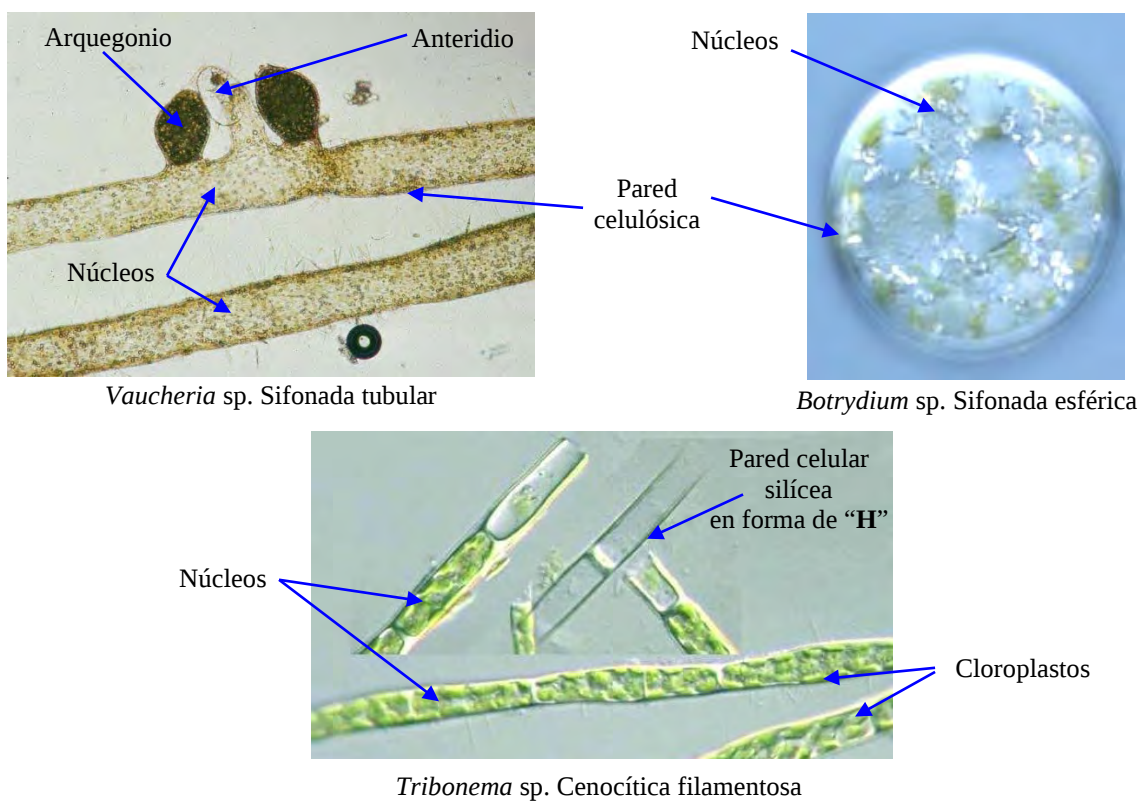


Figura 52. Morfología de tribofíceas multinucleadas

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. 92), 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.

2. OBJETIVOS

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

3. MATERIAL BIOLÓGICO

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

4. 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.

- 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)

CONSULTAR ANEXO 2

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

PRÁCTICA No 6. CHRYSOPHYCEAE (Algas doradas), DICTYOCOPHYCEAE (Silicoflagelados) Y RAPHIIDOPHYCEAE (Rafideofíceas)

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Chrysophyceae

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 (Fig. 53).

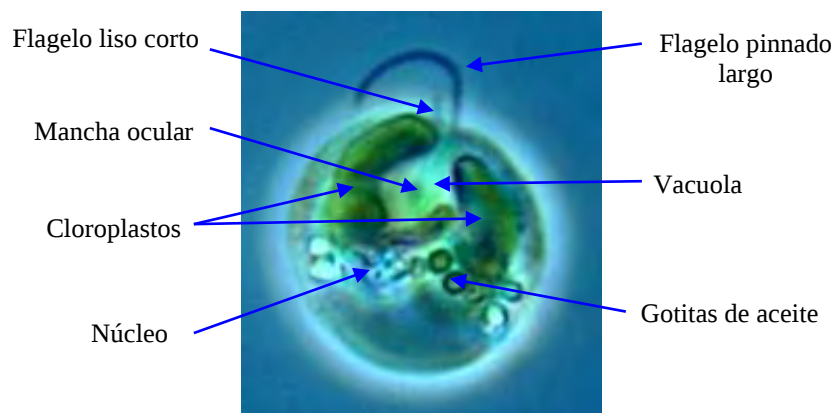
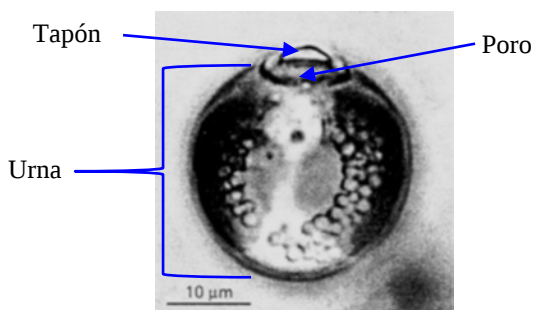
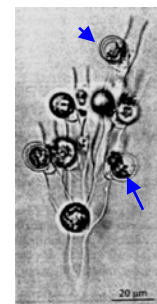


Figura 53. Estructura celular característica de una célula crisofícea

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 (Fig. 54).



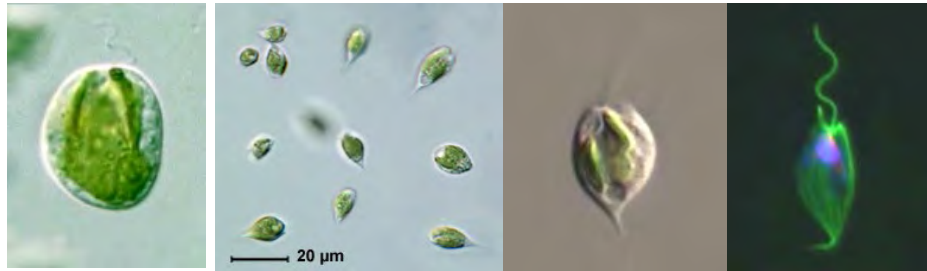
Estatospora o estomatocisto



Estatosporas en *Dinobryon* sp.

Figura 54. Estructura de las estatosporas o estomatocistos de Crisofíceas

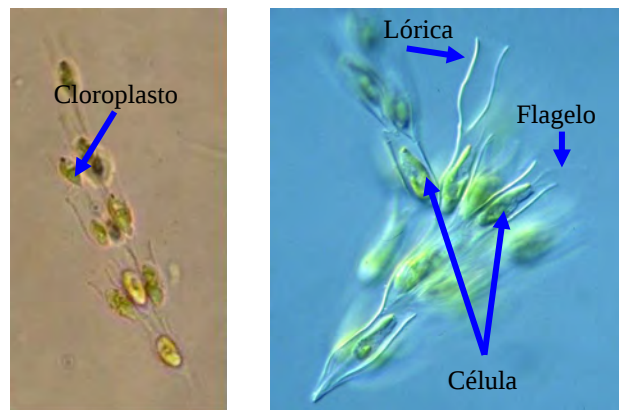
Las especies en su fase vegetativa pueden presentar un recubrimiento celular a manera de periplasto mejor representado en las formas unicelulares (*Chromulina* sp., *Ochromonas* sp.) o bien como lóricas características de las formas coloniales como el caso del género *Dinobryon* sp. (Fig. 55).



Chromulina sp.

Ochromonas spp.

Formas unicelulares con periplasto



Dinobryon spp. colonia arborecente



freshwaterlife.org

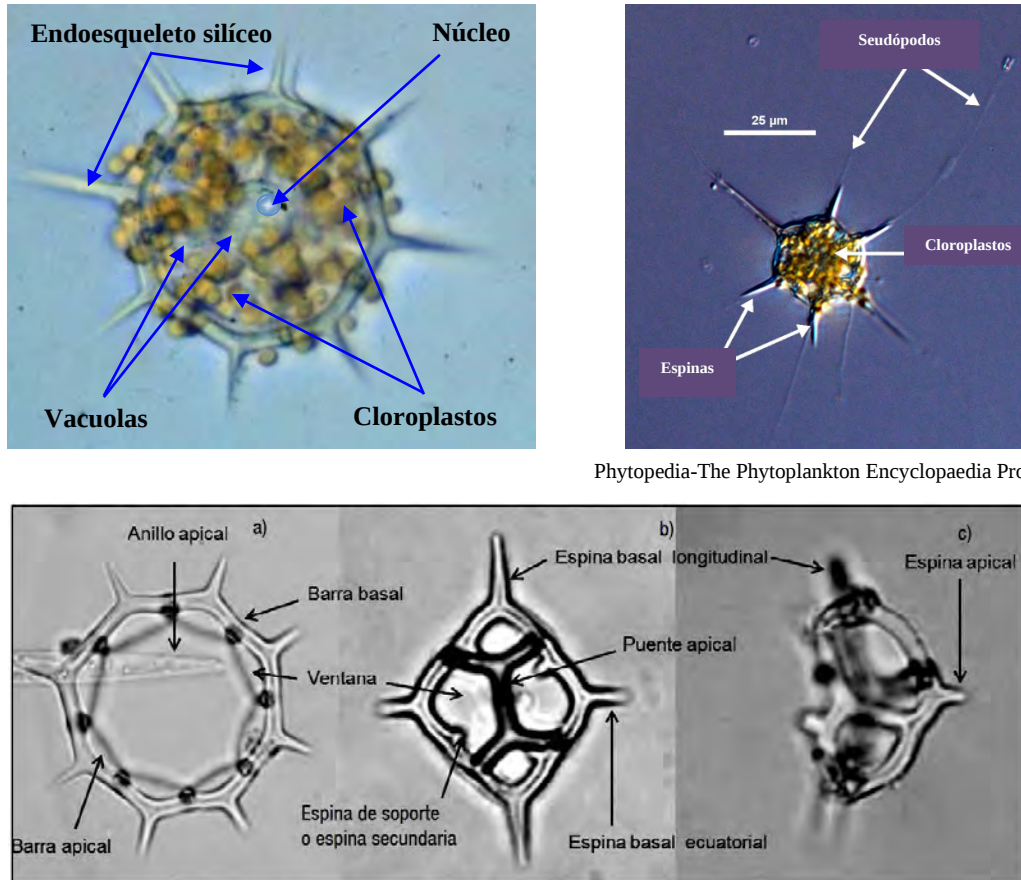
environmentdata.or

Uroglena spp. colonia amorfa

Figura 55. Tipos morfológicos de Crisofíceas

1.3. Dictyochophyceae

Presentan varios cloroplastos 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. 56).



Phytopedia-The Phytoplankton Encyclopaedia Project

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

Figura 56. Estructura morfológica en silicoflagelados (*Dictyocha* spp.)

1.4. Raphideophyceae

Presentan varios cloroplastos 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 formarseudópodos, 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. 57).

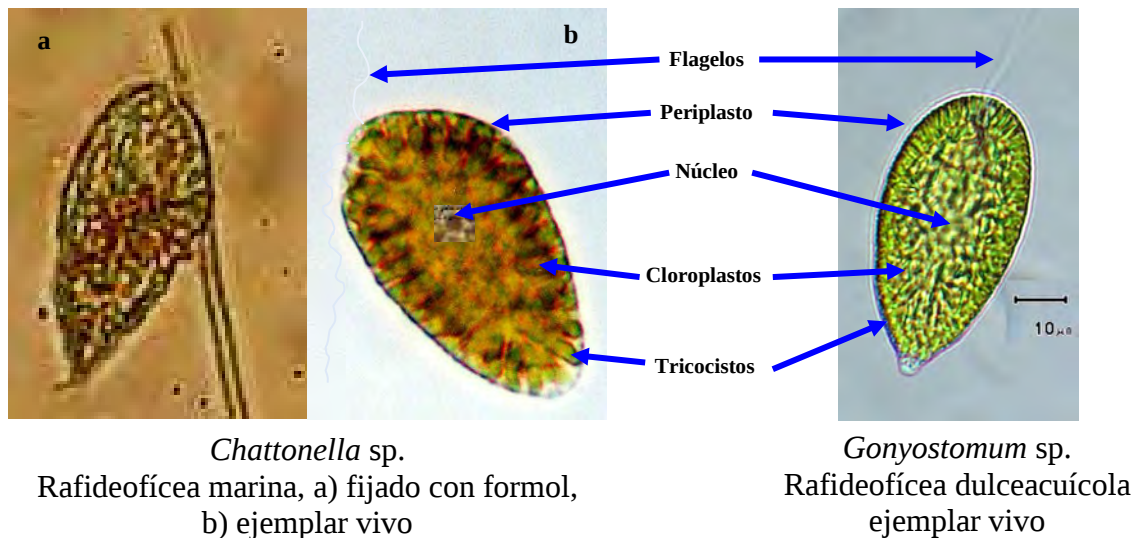


Figura 57. Morfología y citología de rafideofíceas unicelulares

Especies como *Dinobryon* sp., y *Dictyocha* sp., son indicadoras biológicas de aguas dulceacuícolas y marinas frías respectivamente. Por su distribución las vamos a localizar tanto en aguas dulces como marinas.

2. OBJETIVOS

- Observar y diferenciar las estructuras celulares y diversidad morfológica de las algas doradas, 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* sp., *Dictyocha* sp. y *Chattonella* sp.

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 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, 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)

CONSULTAR ANEXO 2

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	OTROS ORGANELOS

PRÁCTICA No 7. BACILLARIOPHYTA (Diatomeas radiales)

1. INTRODUCCIÓN

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. 58).

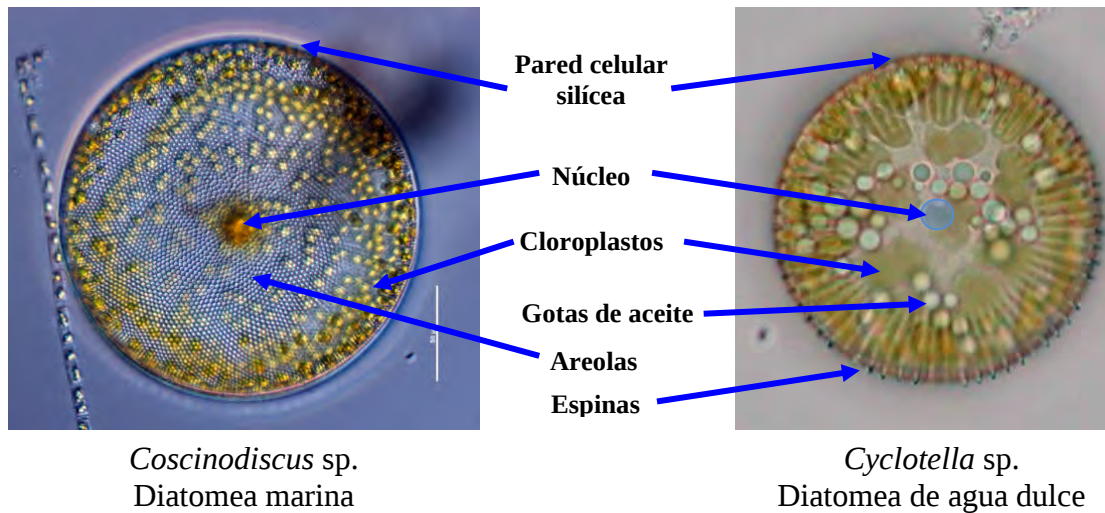


Figura 58. Estructura citológica de diatomeas radiales

La pared celular es tipo sílicea 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. 59).

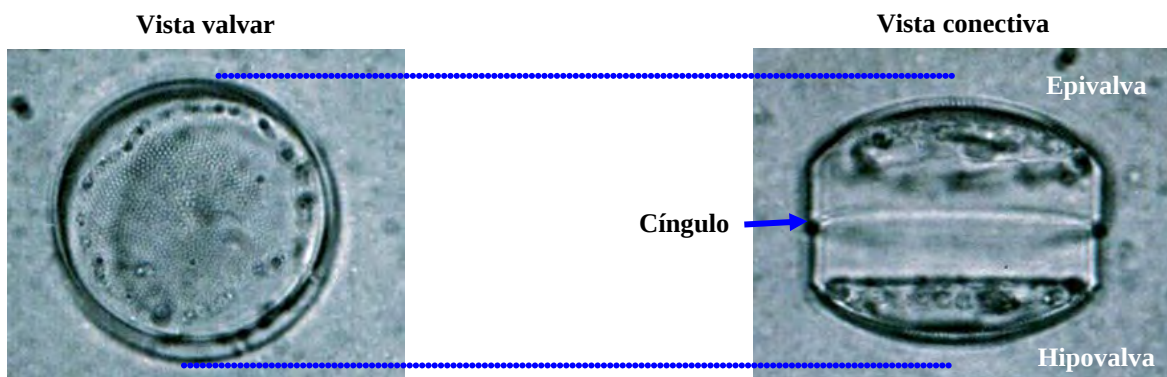


Figura 59. Estructura valvar de una diatomea radial

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. 60).

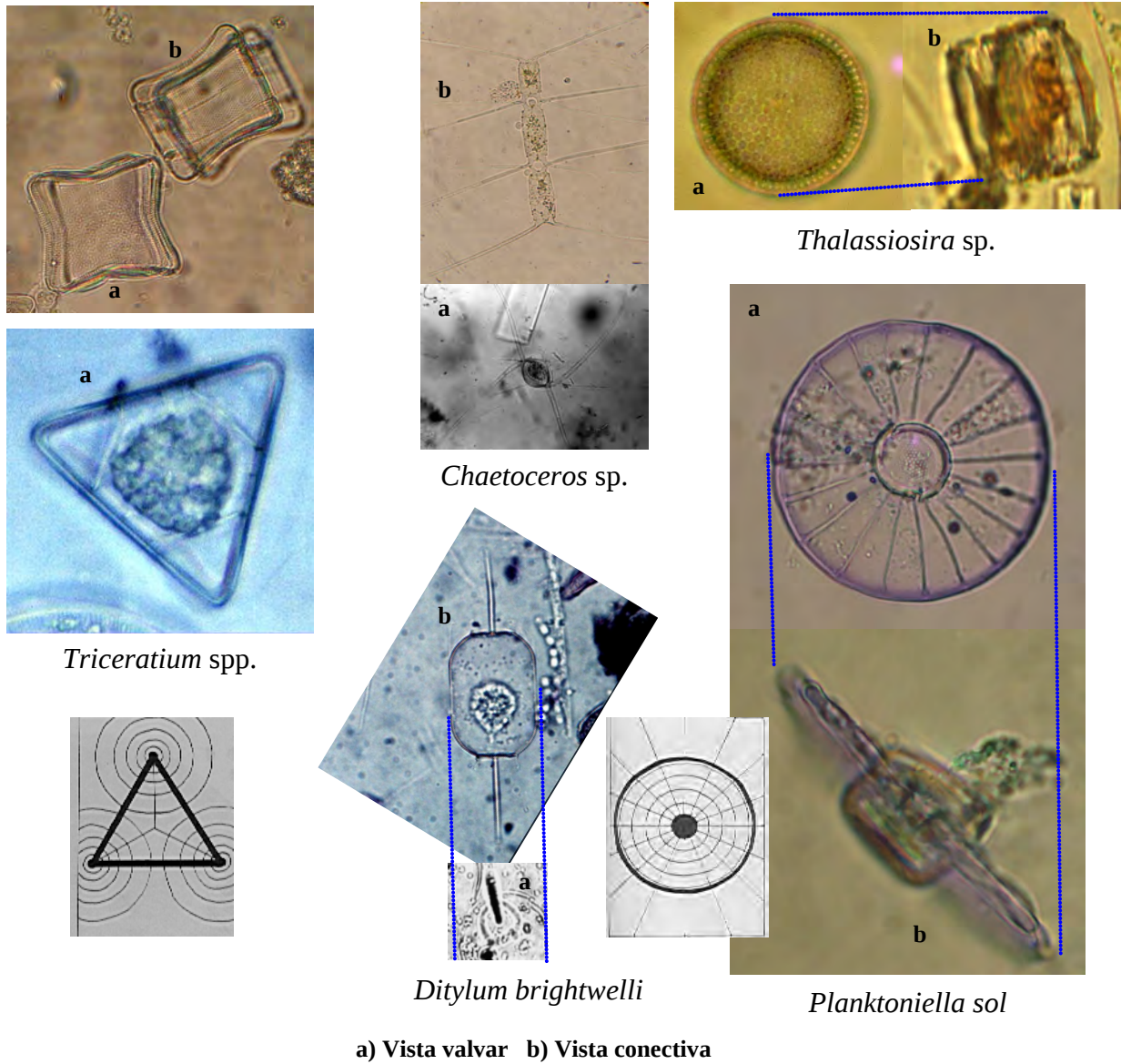


Figura 60. Formas en diatomeas radiales

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. 61).

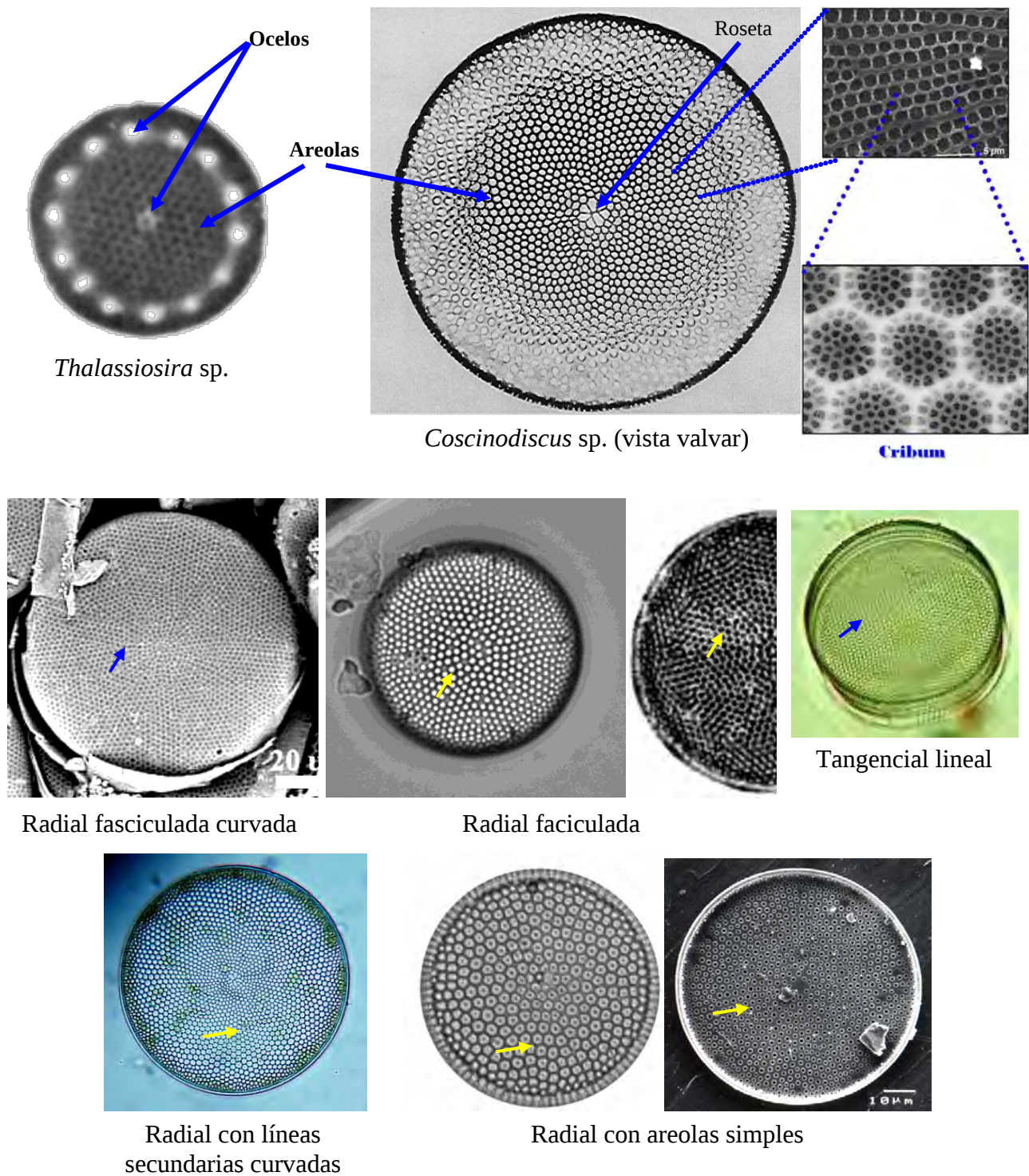


Figura 61. Diatomeas radiales con ocelos, areolas y crium

Presentan también una serie de espinas y/o espínulas, además de prolongaciones alares, tubulares gelatinosas llamadas sedas y cuernos con extremos generalmente redondeados (Fig. 62).

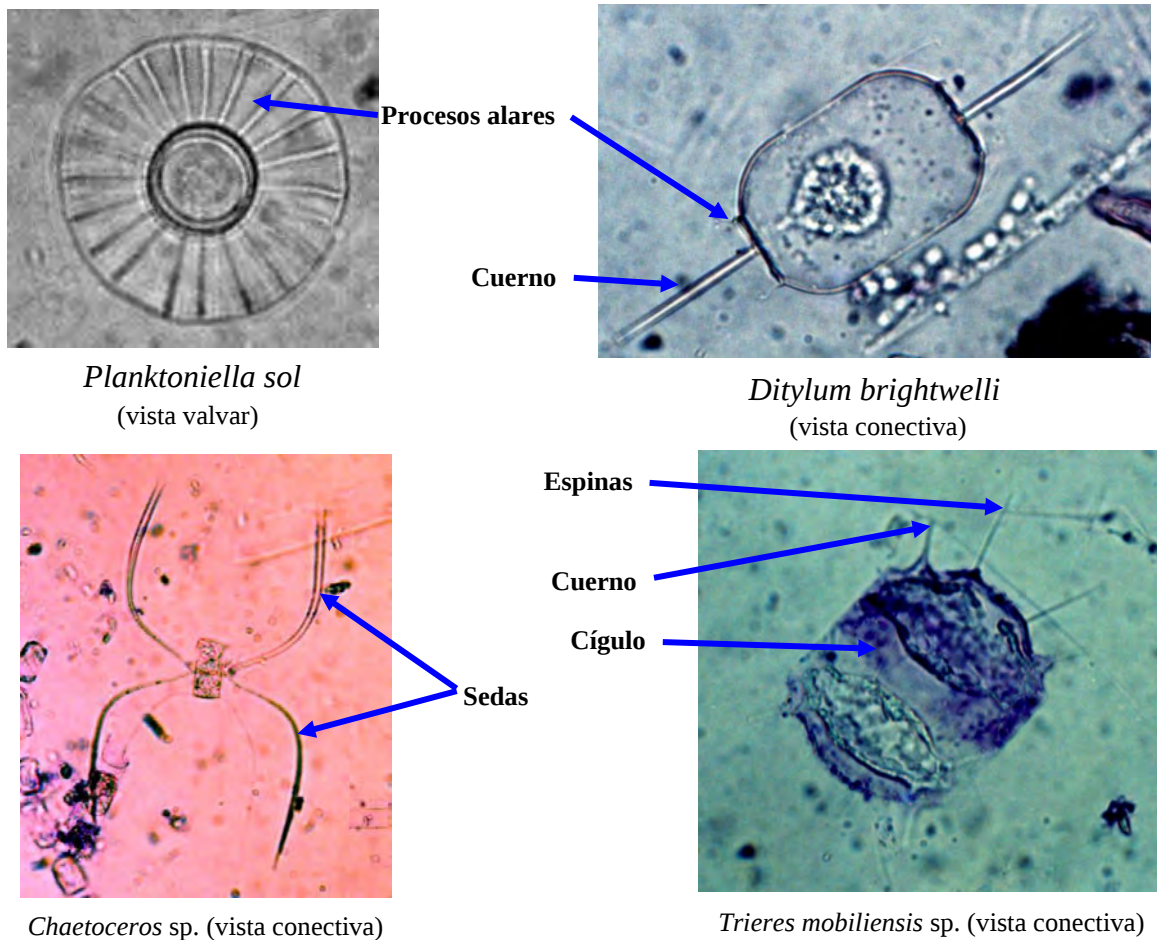


Figura 62. Principales ornamentaciones de las diatomeas radiales

Algunas de las diatomeas radiales presentan una organización celular a manera de colonias que pueden ser filamentos rectos, curvados o espiralados y colonias esféricas (Fig. 63).

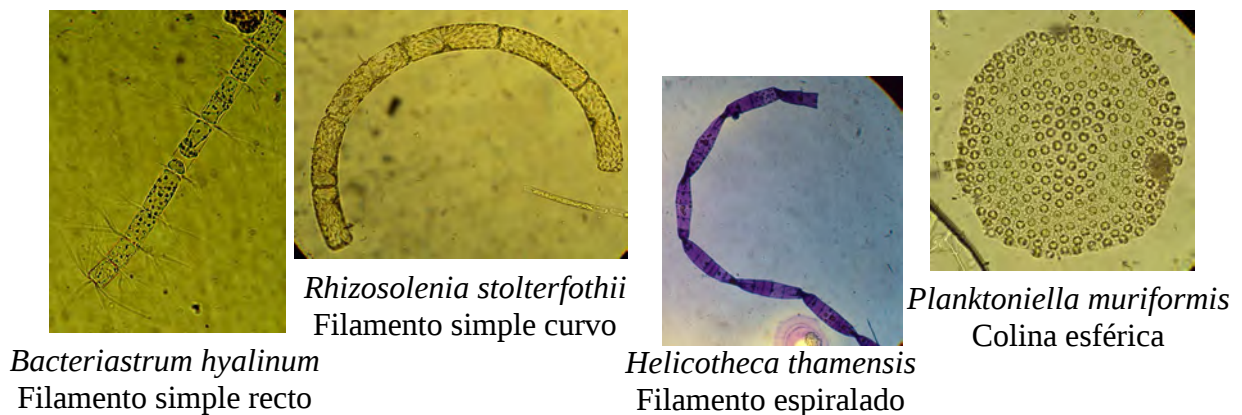


Figura 63. Organización celular colonial en diatomeas radiales

También se presentan los consorcios en forma filamentosa, espiralada, escaleriforme o en zigzag (Fig. 64).



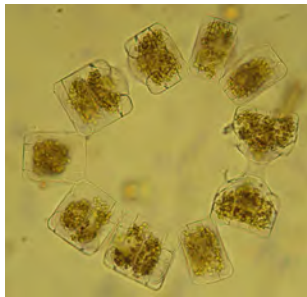
Detonula pumila
consorcio



Thalassiosira blanda
consorcio espiralado



Climacodium biconcavum
consorcio escaleriforme



Biddulphia alternans
consorcio en zigzag



Triceratium sp.
consorcio en zigzag

Figura 64. Organización celular en diatomeas radiales

2. OBJETIVOS

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

3. MATERIAL BIOLÓGICO

Muestras de agua colectadas en los diferentes sistemas acuáticos.

Géneros sugeridos: *Coscinodiscus* sp. y *Chaetoceros* sp.

4. DESARROLLO DE LA PRÁCTICA

4.1. Citología y Morfología

La cubierta de las células se puede resaltar utilizando azul de crecil, 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)

CONSULTAR ANEXO 2

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	RADIOS	BANDAS INTERCALARES	CUERNOS

PRÁCTICA No 8. BACILLARIOPHYTA (Diatomeas bilaterales)

1. INTRODUCCIÓN

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. 65 y 66).

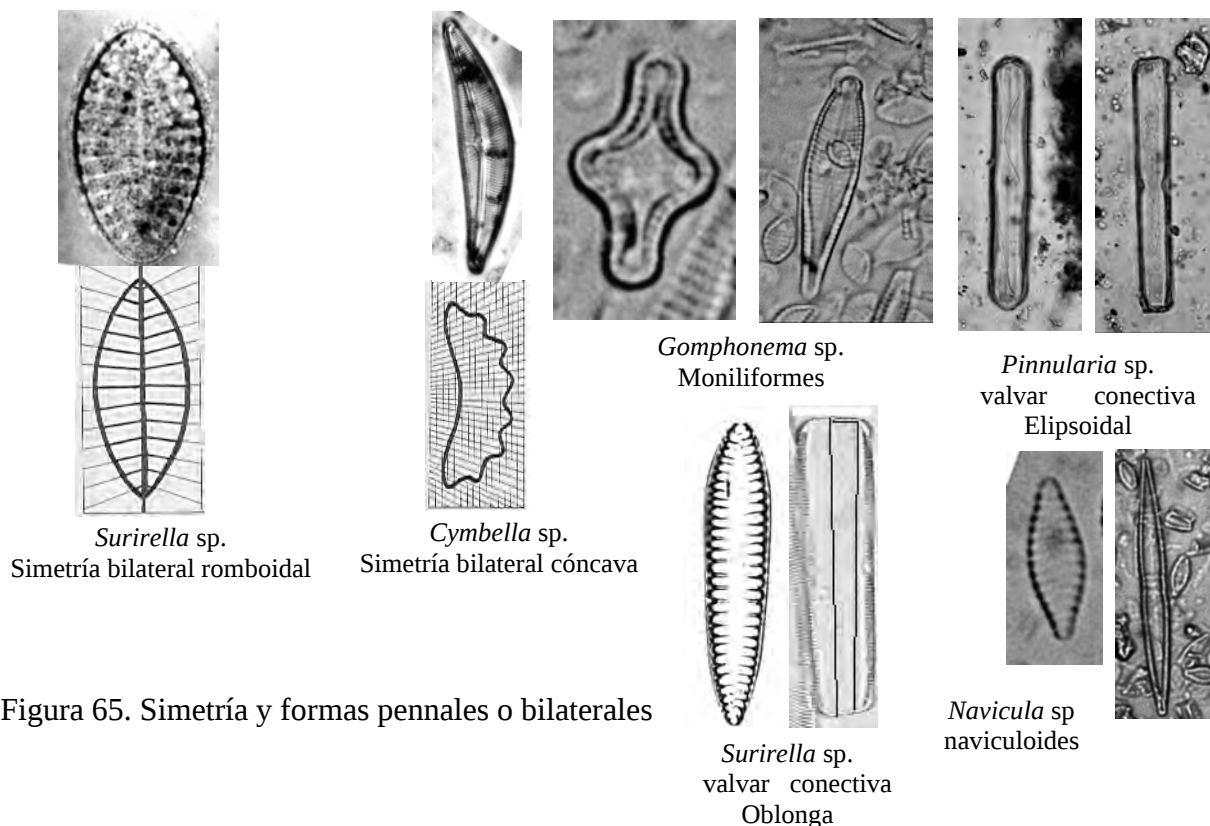


Figura 65. Simetría y formas pennaes o bilaterales

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. 67).

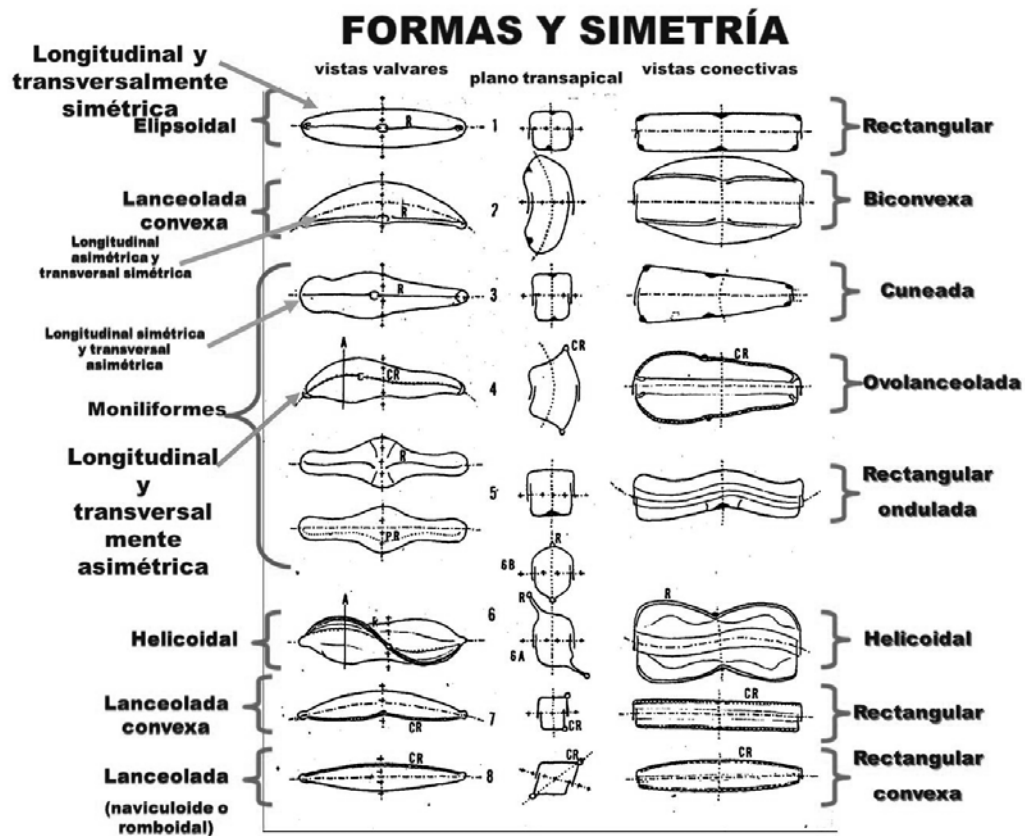


Figura 66. Formas y simetría de las frústulas de diatomeas pennaes o bilaterales
(Modificado de Bourrelly 1966)

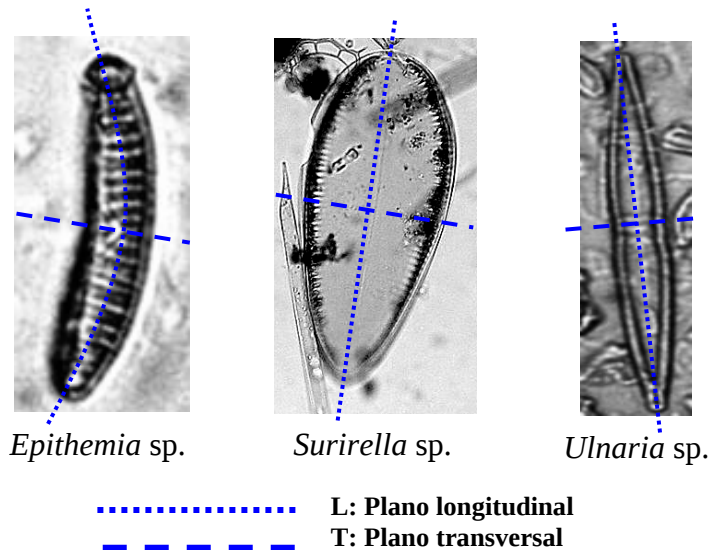


Figura 67. Simetría en Diatomeas Pennales

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. 68).

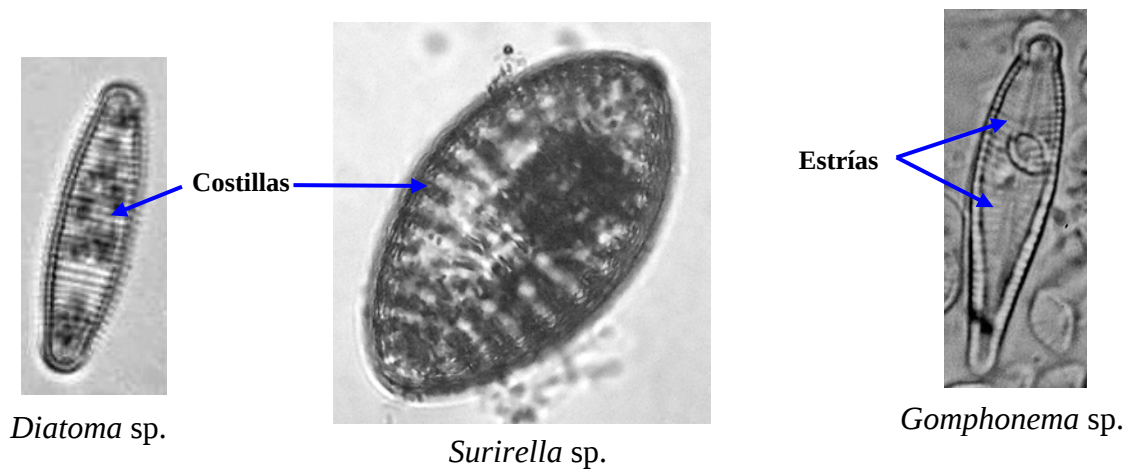


Figura 68. Ornamentaciones en Diatomeas Pennales

Morfológicamente podemos encontrar organismos unicelulares o multicelulares conformando colonias en zig-zag, radiales o filamentosas como empalizadas (Fig. 69).

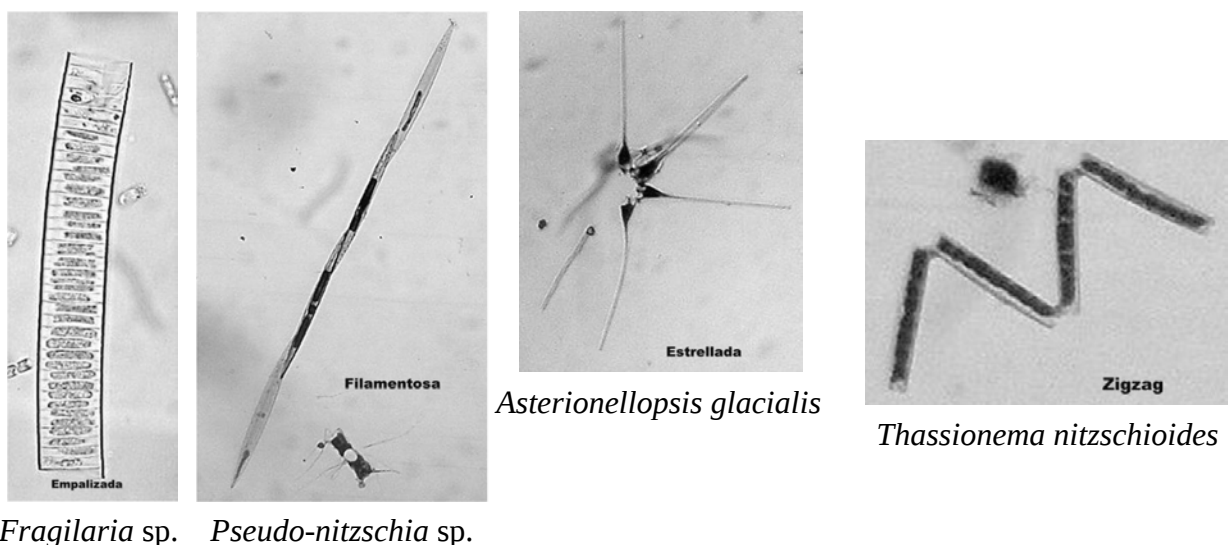


Figura 69. Organización celular (tipos morfológicos) en diatomeas pennales o bilaterales

En el grupo de las diatomeas pennales o bilaterales puede llegar a presentarse movimiento, presentándose géneros que se desplazan mediante el rafe (Fig. 70).

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.

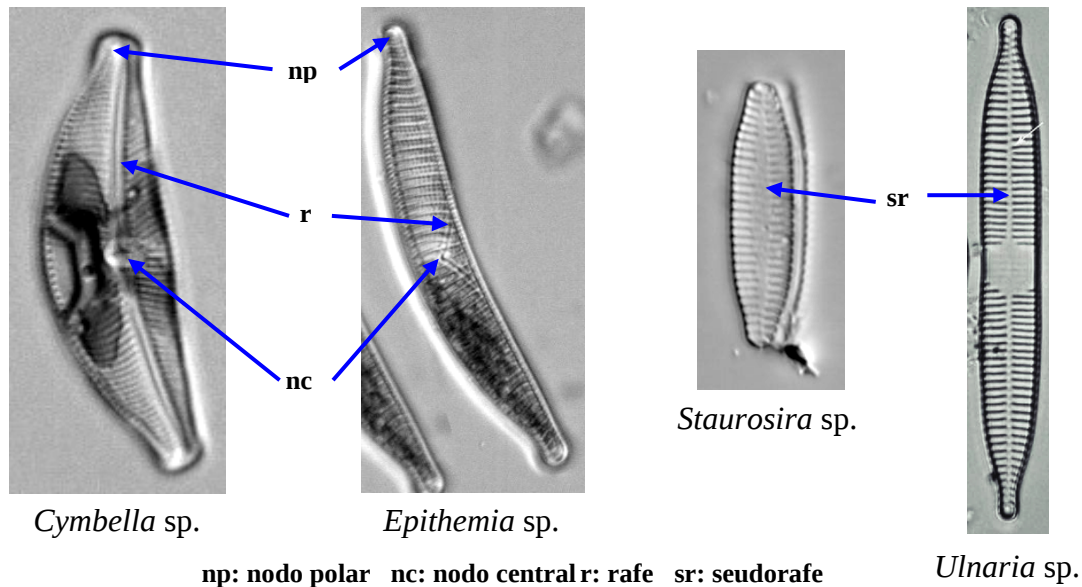


Figura 70. Rafe y pseudorafe

2. OBJETIVOS

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

3. MATERIAL BIOLÓGICO

Muestras de agua colectadas en los diferentes sistemas acuáticos.

Géneros sugeridos: *Cymbella* sp., *Gomphonema* sp., *Asterionellopsis* sp. y *Cylindrotheca* sp.

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 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)

CONSULTAR ANEXO 2

Cuadro con las características observadas en cada género.

GENERO	VISTA VALVAR	VISTA CONECTIVA	SIMETRÍA LONGITUDINAL	SIMETRÍA TRASVERSAL	DISPOSICIÓN DE LAS ESTRÍAS	DISPOSICIÓN DE LAS COSTILLAS

Cuadro comparativo (continuación)

GENERO	FORMA Y POSICIÓN DEL RAFE	SEUDORAFE	QUILLA	FORMA DE LA CÉLULA	FORMA DE LA ORGANIZACIÓN CELULAR

PRÁCTICA No 9. HAPTOPHYTA (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 la β -caroteno y xantofilas como diatoxantina, diadinoxantina y fucoxantina y como sustancia de reserva se ha observado a la crisolaminariana, 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 (Fig. 71).

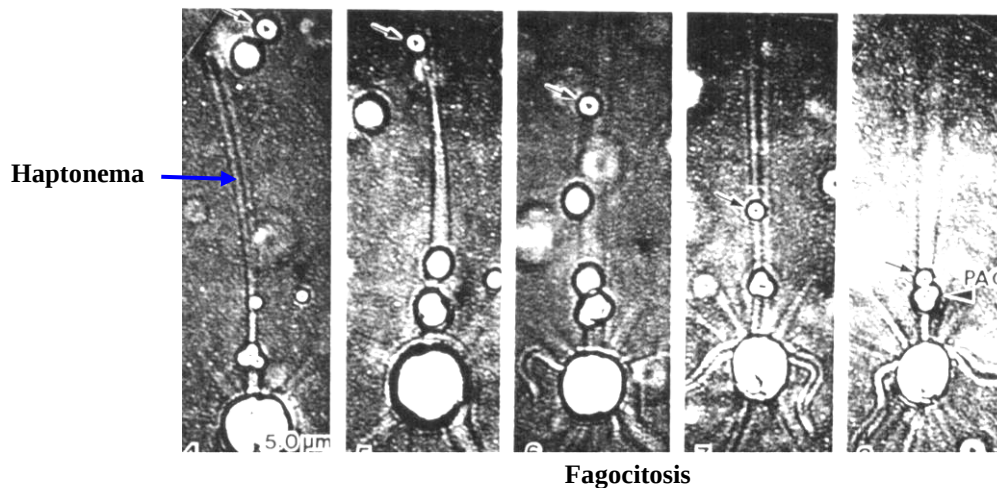
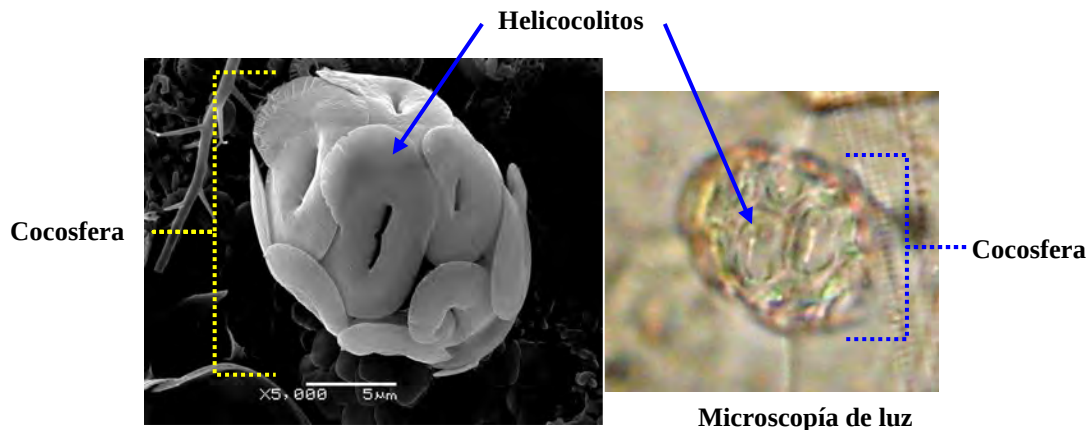


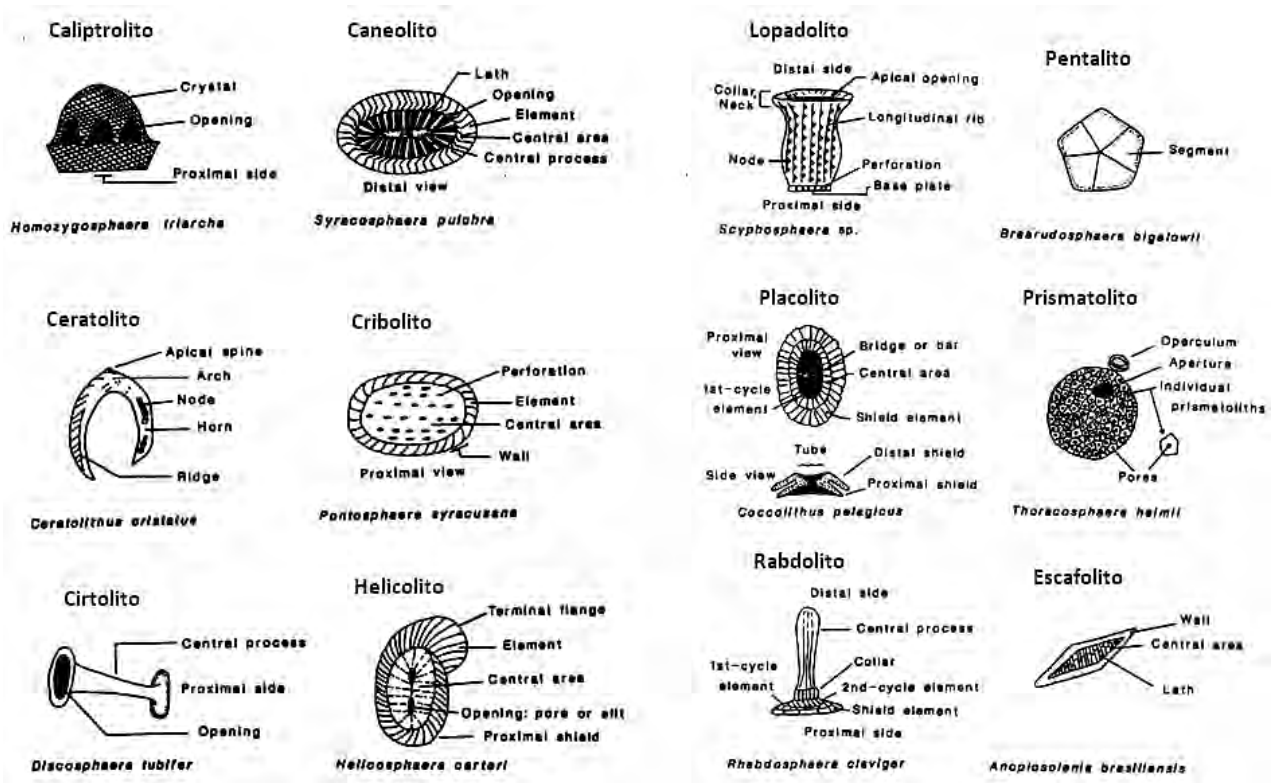
Figura 71. Haptonema y Proceso de fagocitosis

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 (Fig. 72).



Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

Microscopía de luz



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

Figura 72. Morfología de cocolitofóridos

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

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 cocosferas, Forma de los cocolitos, Tipo de 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

CONSULTAR ANEXO 2

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 y utilizando la teoría de conjuntos.

PRÁCTICA No 10. EUGLENOPHYCEAE (Euglénidos)

I. INTRODUCCIÓN

Esta división 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 diadinoxantina (anteraxantina) y astaxantina (hematocromo); pueden o no presentar cloroplastos y cuando los hay pueden contener o no pirenoides y pueden ser ovoides o discoidales; 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 metabolita proceso por el cual pueden cambiar de formas alargadas a esféricas y viceversa (Fig. 73), 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. 74).

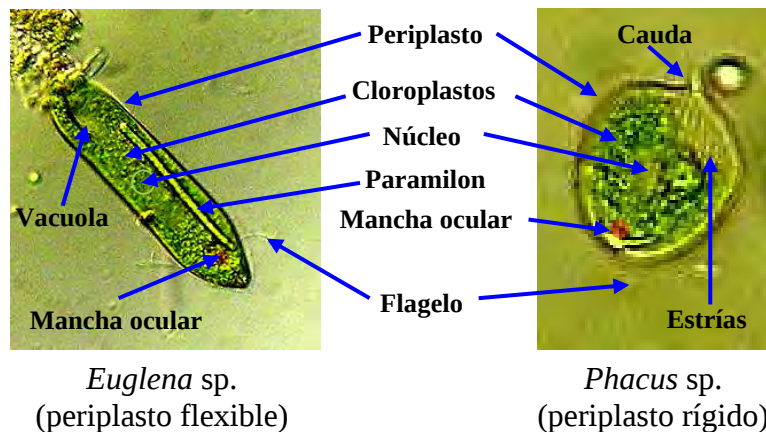


Figura 73. Euglenofíceas con periplasto

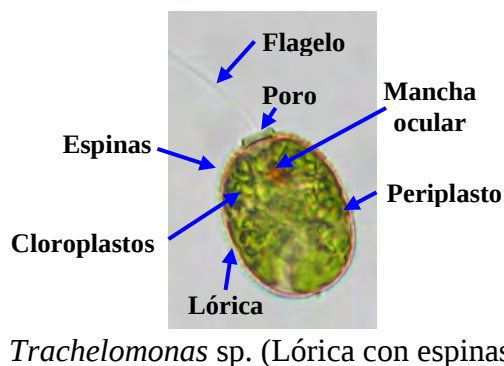
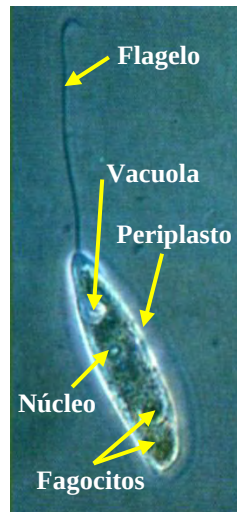


Figura 74. Euglenofíceas con lóricas y periplasto

Otro grupo de euglenofíceas son heterótrofas y carecen de cloroplastos, 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. 75).



Peranema sp.

Figura. 75. Euglenofícea 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. 76 y 77).



Trachelomonas volvocina
(esférica)



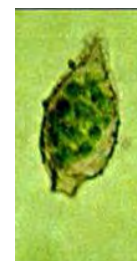
Lepocynclis ovum
(subesférica)



Phacus triqueter
(ovoide)



Euglena spiroides
(oblonga)

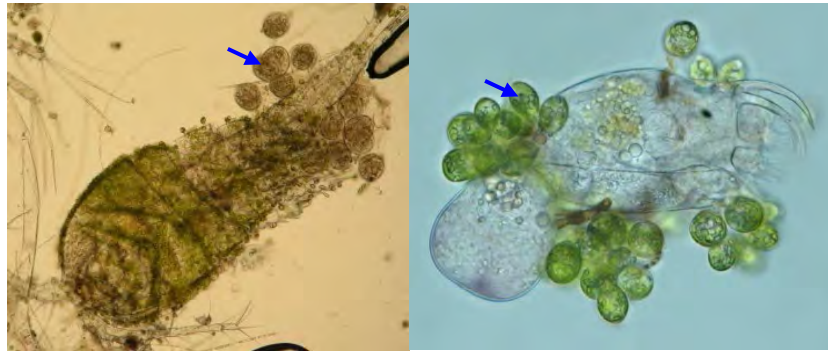


Strombomonas gibberosa
(periforme)



Euglena acus
(aciculada)

Figura 76. Tipos morfológicos unicelulares de euglenofíceas



Colacium cyclopicola
(euglénido colonial asociado epizoico)



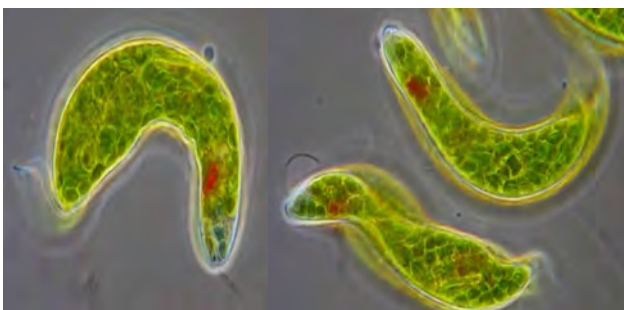
Colacium vesiculosum
(euglénido unicelular asociado epizoico)



Colacium mucronatum
(euglénido unicelular asociado epifito)

Figura 77. Tipos morfológicos de euglénidos asociados

Asociada a la flexibilidad del periplasto algunas euglenofíceas pueden cambiar de forma mediante contracciones celulares, a este fenómeno se le llama metabolia (Fig. 78).



Euglena spiroides



Euglena viridis

Figura 78. Metabolia en euglenofíceas

La reproducción asexual es la más conocida en este grupo y se lleva a cabo por mitosis o división binaria por escisión longitudinal (Fig. 79), aún en aquellas especies coloniales, pueden formar quistes cuando las condiciones del medio les son adversas, en tanto que la sexual es poco conocida.

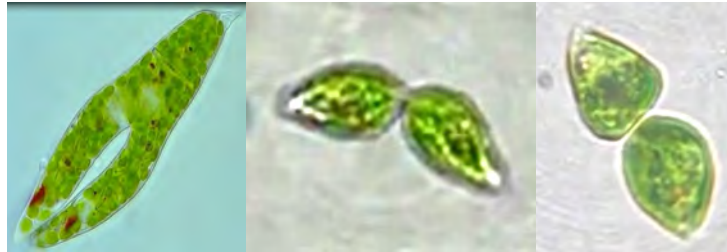


Figura 79. Reproducción asexual en euglenofíceas

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, nematodos, turbelaridos, oligoquetos y copépodos.

Algunas especies son consideradas como productores primarios como fuente de alimento para herbívoros del zooplankton, 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 los diferentes sistemas acuáticos.

Géneros sugeridos: *Euglena* sp., *Phacus* sp. y *Trachelomonas* sp.

3. DESARROLLO DE LA PRÁCTICA

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).
- 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)

CONSULTAR ANEXO 2

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 11. PROTOZOOS SARCODINOS (de vida libre dulceacuícolas y marinos)

1. INTRODUCCIÓN

En este grupo se ubican las formas ameboides, cuyo cuerpo celular puede estar protegido o desnudo, además presentan pseudópodos de diferente tipo, lobópodos, filópodos, rizópodos y auxópodos, cuya principal función es la de alimentación (Fig. 80).

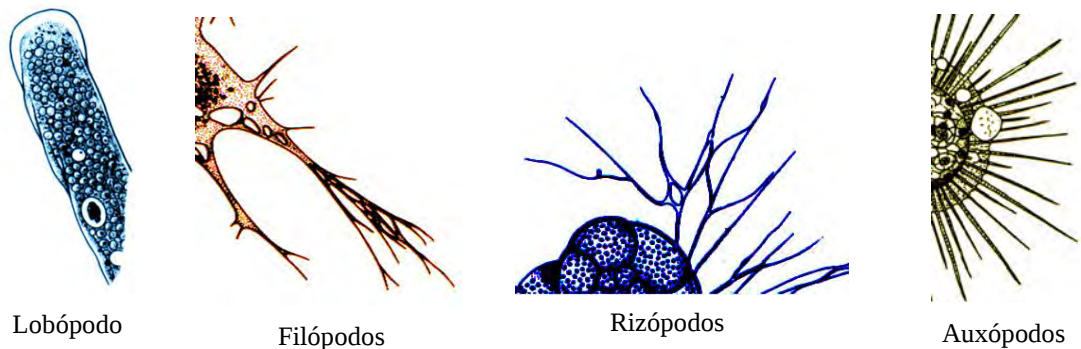


Figura 80. Tipos de pseudópodos en los sarcodinos

Las especies protegidas presentan diferentes tipos de cubiertas celulares entre las que destacan las loricas (Fig. 81), testas externas (Fig. 82) y las tecas o conchas (Fig. 83).

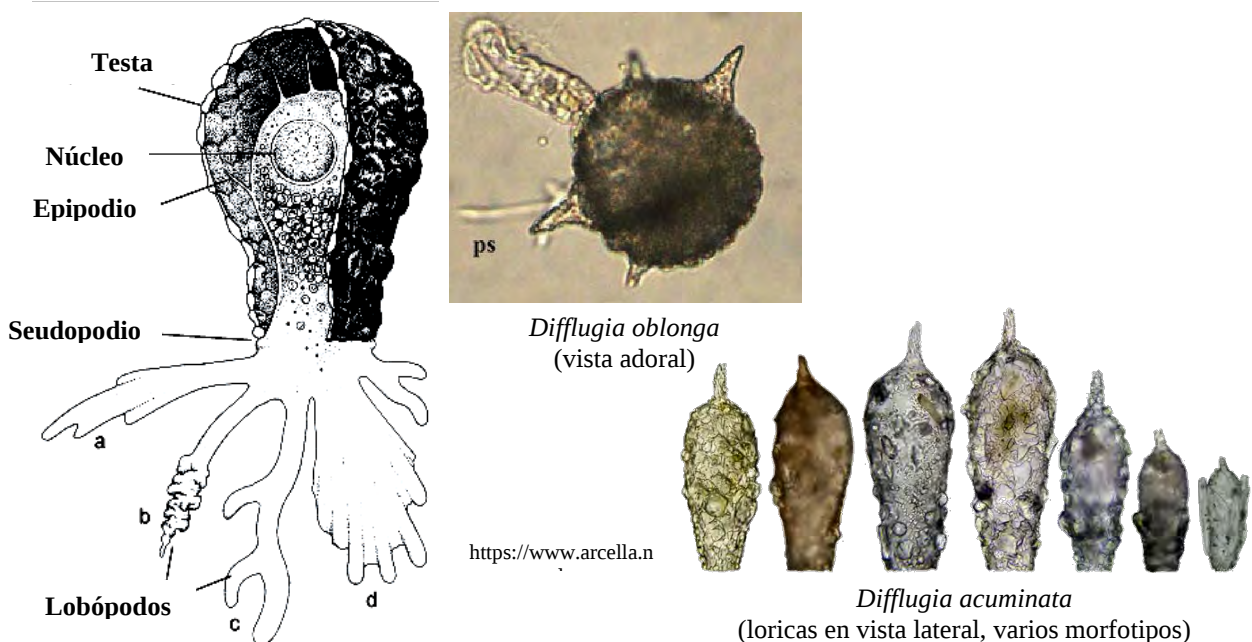


Figura 81. Sarcodinos lorificados de agua dulce

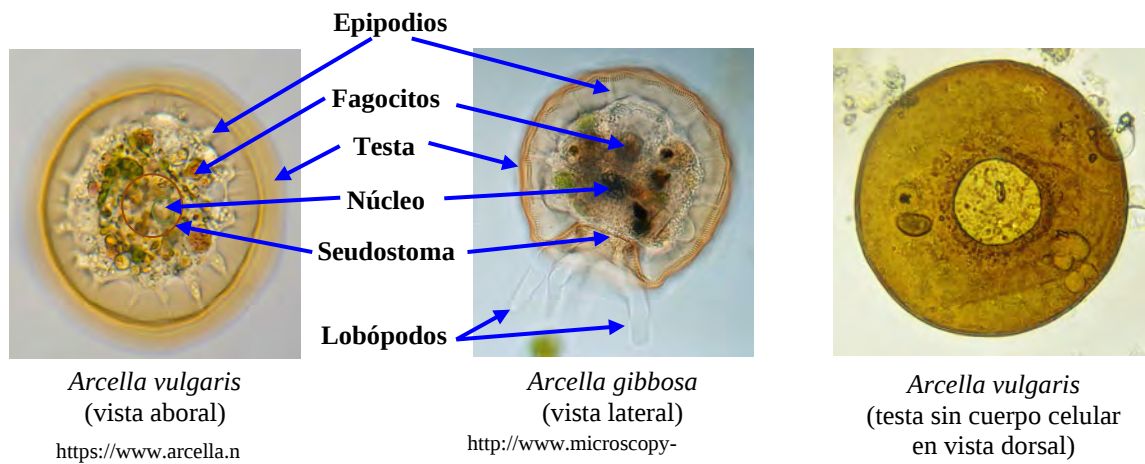


Figura 82. Sarcodinos con testas

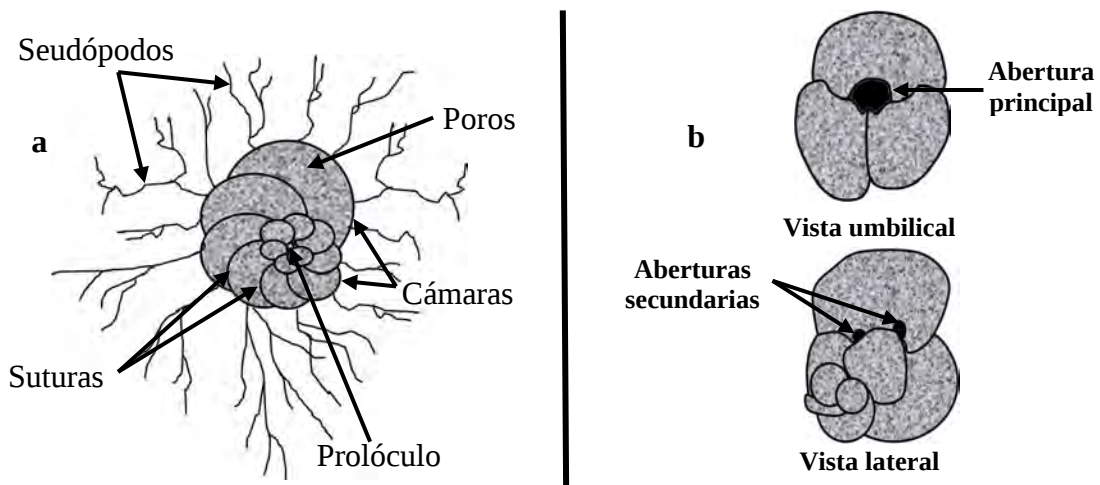


Figura 83. Morfología general de los foraminíferos con teca o concha. a) Características morfológicas de la teca o concha en la vista adoral, b) vistas umbilical y lateral mostrando las aberturas. (Elaborado por J. Gerardo A. Ceballos-Corona).

Algunos géneros representativos de este orden son: *Globigerina* sp., *Hastigerinella* spp., *Asterigerina* spp., *Bolivina* spp., *Ammonia* spp., y *Ammodiscus* spp. (Fig. 84).

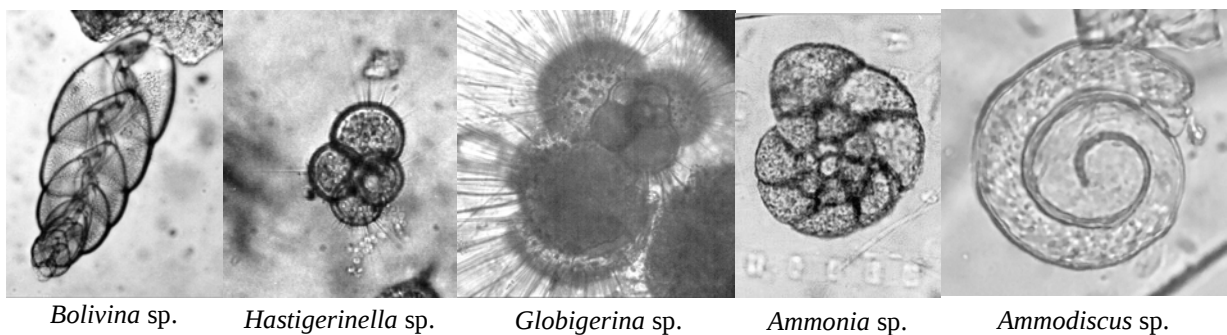
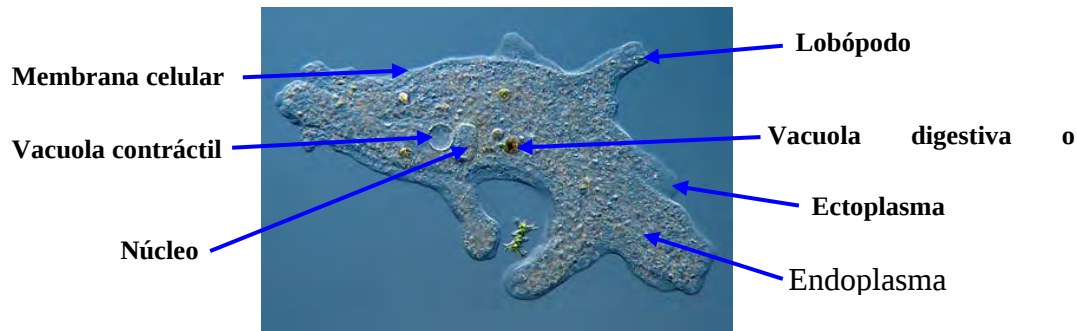
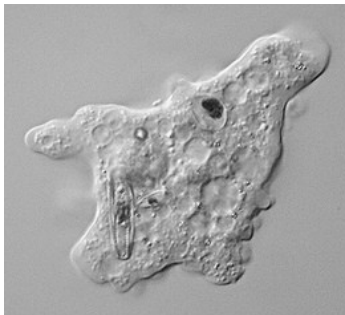


Figura 84. Tipos Morfológicos de Foraminíferos

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 ameboideas de vida libre como: *Amoeba proteus*, *Chaos* spp., *Saccamoeba* spp., *Neoparamoeba* spp. y *Vexillifera* spp. Su cuerpo va de tubular a cilíndrico ramificado o no, el flujo citoplasmático no es bidireccional y la división nuclear es mesomitótica (Fig. 85). La mayoría de los amoebidos desnudos son cosmopolitas, de vida libre, pueden ser acuáticos y terrestres en suelos húmedos con alto contenido de humus.



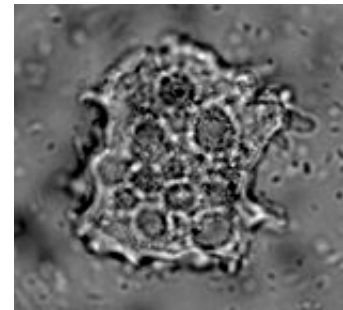
Amoeba proteus



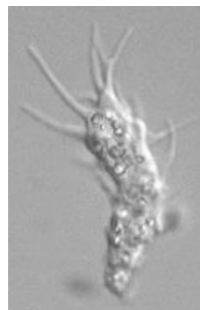
Chaos sp.



Saccamoeba sp.



Neoparamoeba sp.



Vexillifera sp.

Figura 85. Tipo ameboide de vida libre

Un grupo particular lo forman los ameboides desnudos con bastantes auxópodos radiales, este grupo también es conocido como heliozoarios o animalúnculos sol, principalmente son de forma esférica.

El citoplasma se diferencia en un ectoplasma abundantemente vacuolado, además del endoplasma con pocas vacuolas y opaco, no presentan endoesqueleto, cuando hay exoesqueleto este puede ser silíceo o de materia orgánica, la mayoría son dulceacuícolas. La especie que más fácilmente podemos encontrar es *Actinophrys sol*, mientras que un heliozoario tanto marino como de aguas salobres y dulces es *Acanthocystis turfacea* (Fig. 86).

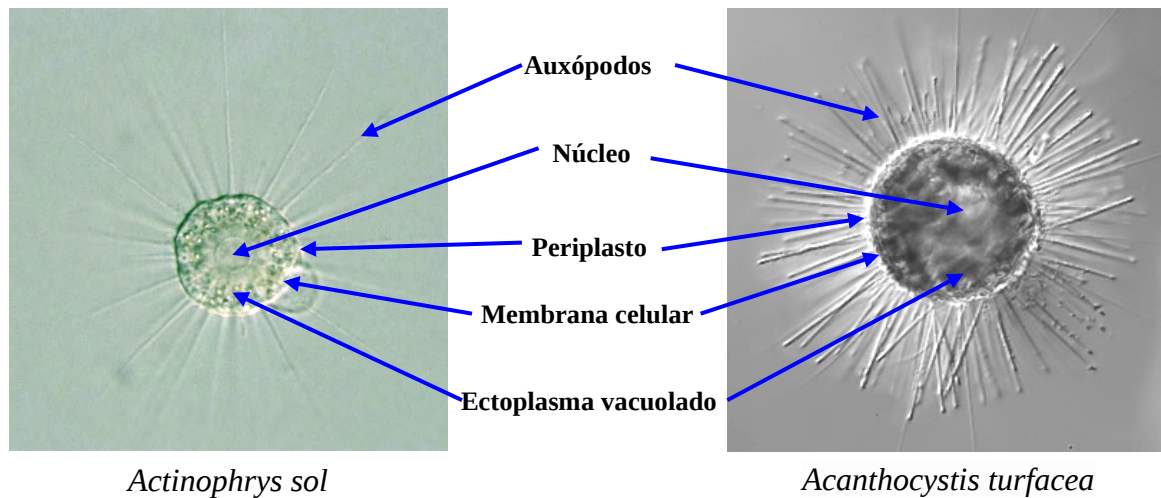
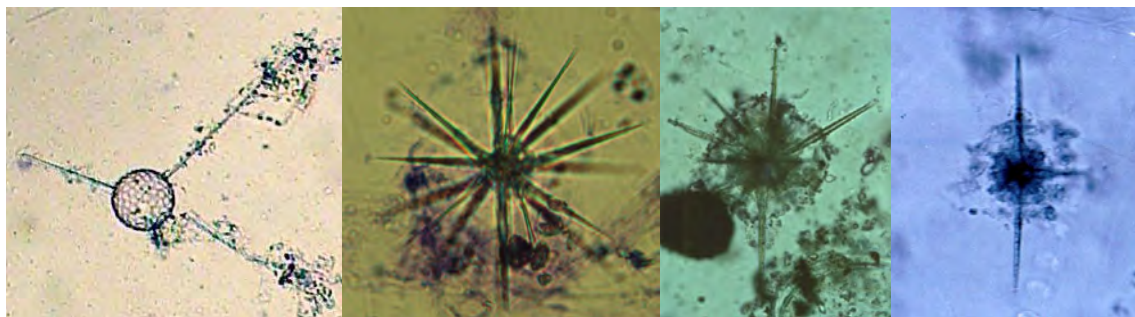


Figura 86. Sarcodinos desnudos del tipo heliozoario

Otro grupo lo conforman aquellos amoebidos que presentan endoesqueleto el cual puede ser de silicatos de calcio y magnesio. Son organismos de formas esféricas, los pseudópodos pueden ser de tipo axópodos, reticulopodos o filópodos, la simetría de estos es radial a partir del centro del organismo, la cubierta celular es de tipo periplasto. Presentan reproducción asexual y sexual esta última implica gametos que son generalmente flagelados. En conjunto se les conocía como radiolarios y por la morfología se clasifican en dos grandes grupos

La clasificación de los radiolarios reconoce dos grupos: 1) los policistinos, con elementos esqueléticos de opalina (sílice simple sólido), y 2) los feodarianos, con elementos esqueléticos huecos de una composición silícea compleja que resulta en una rápida disolución en agua de mar por lo cual su preservación es rara en los sedimentos marinos. Los policistinos, son los radiolarios más conocidos, se subdividen en dos grupos principales: los Spumellaria, de esqueleto básicamente esférico, y los Nassellaria, de esqueleto básicamente cónica. 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 espumelarios presentan formas, desde esféricas hasta elipsoidales y discoidales. Estos son los que suelen tener simetría radial. Es común que los espumelarios tengan varias conchas concéntricas conectadas por barras radiales. Los radiolarios coloniales son espumelarios, algunos con conchas esféricas y otros cuyos esqueletos son, en cambio, una asociación de varillas sueltas, y otros sin esqueletos (Fig. 87).



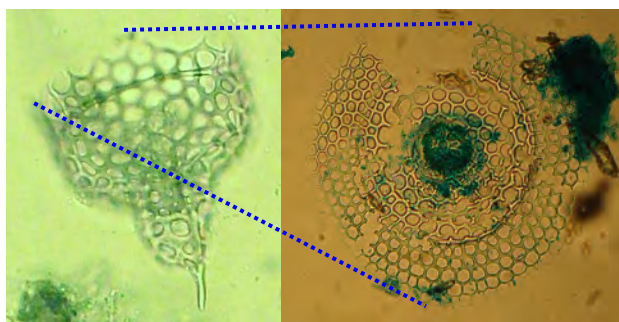
Acanthosphaera sp.

Cladococcus sp.

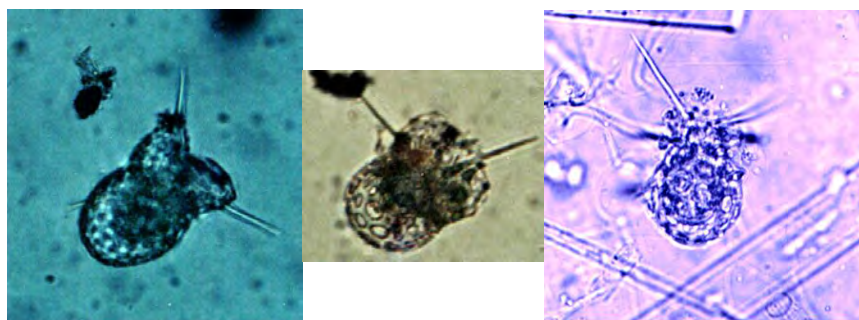
Actinomma spp.

Figura 87. Radiolarios espumelarios

Las formas nasselarias se derivan de espículas geométricamente simples (que se asemejan a las sillas para montar caballos, y anillos en forma de "D" y similares) a los que se agregan una cubierta enrejada para formar una cámara, luego cámaras adicionales que se expanden axialmente en las formas cónicas típicas del grupo (Fig. 88).



Corocalyptra sp.



Arachnocrallium spp.

Figura 88. Tipos Morfológicos de los radiolarios nasselarios

2. OBJETIVOS

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

3. MATERIAL BIOLÓGICO

Muestras de agua colectadas en los diferentes sistemas acuáticos.

Géneros sugeridos: *Arcella* sp., *Amoeba* sp. y un género de Foraminíferos.

4. 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 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 (membrana).
- Organelos celulares (núcleos, vacuolas digestivas y contráctiles, tipos de pseudópodos 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)

CONSULTAR ANEXO 2

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

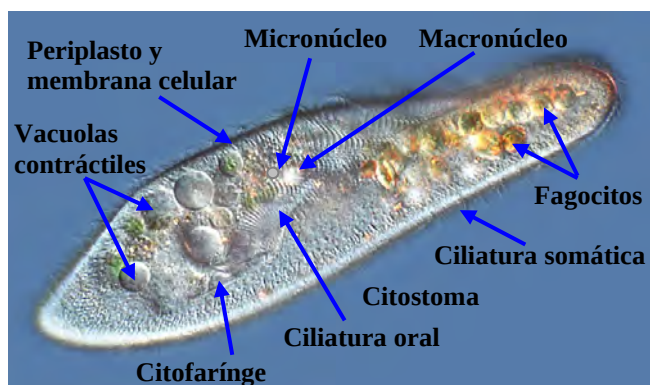
Cuadro Comparativo de los Géneros Observados

GÉNERO	FORMA DE CÉLULA	TIPO DE CUBIERTA	SEUDÓPODOS	ORNAMENTACIONES

PRÁCTICA No 12. PROTOZOOS CILIADOS (de vida libre dulceacuícolas y marinos)

1. INTRODUCCIÓN

Su principal característica 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 citofarínge, quien abre al interior de la célula. Algunas de sus características morfológicas y citológicas se pueden observar en la Figura 89.



Paramecium caudatum

<https://www.flickr.com/photos/microagua/33444627885>

Figura 89. Estructura morfológica y citológica de un ciliado

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. 90)

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. 91).

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 tintinnidos, las cuales frecuentemente se extienden más allá del cuerpo en uno de los lados (Fig. 92).

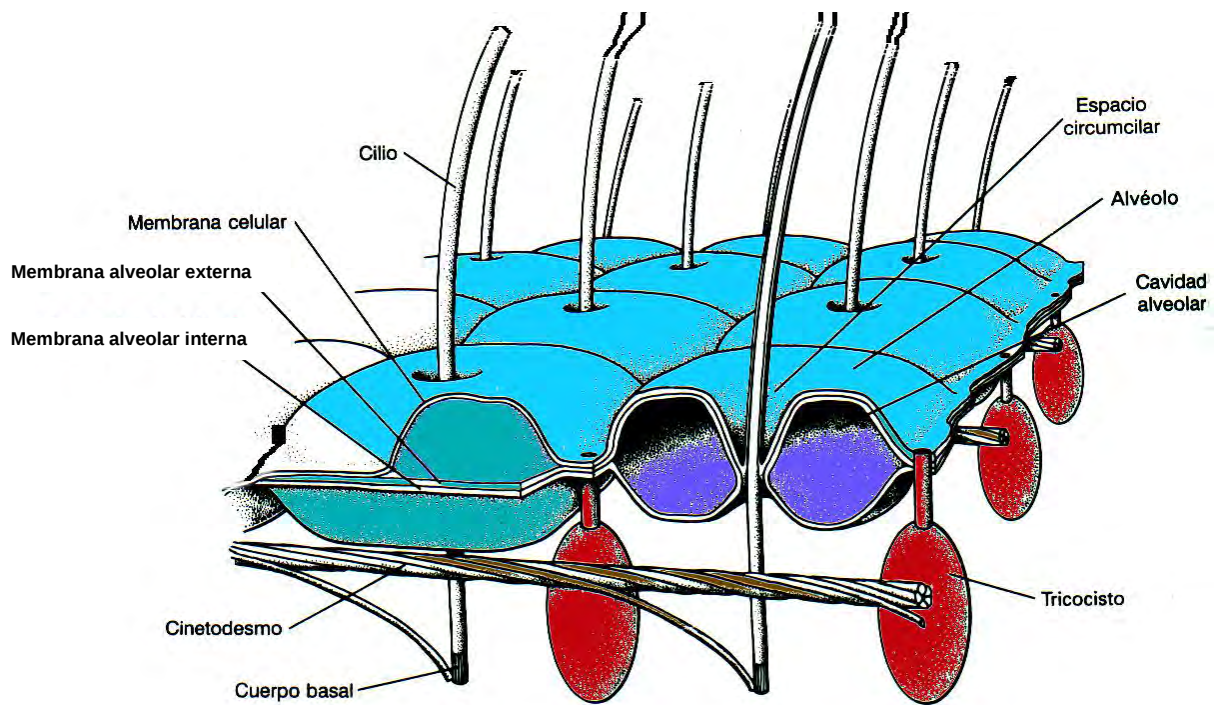
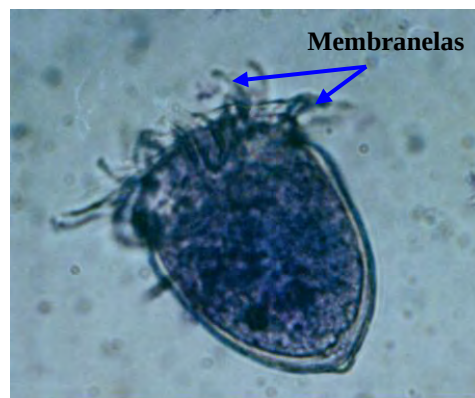


Figura 90. Sistema infraciliar



Euplotes sp.

Figura 91. Ciliado con cirros ventrales



Metacylis pontica

Figura 92. Ciliado con membranelas adoriales

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. 93).



Vorticella sp.

Zoothamnium sp.

Figura 93. 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 localizar en aguas dulces, salobres y marinas, también se pueden encontrar asociados a raíces y musgos con alto contenido de humedad.

2. OBJETIVOS

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

3. MATERIAL BIOLÓGICO

Muestras de agua colectadas en los diferentes sistemas acuáticos.

Géneros sugeridos: *Paramecium* sp., *Euplotes* sp. y un género de Tintinnidos.

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

- 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)

CONSULTAR ANEXO 2

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

Cuadro Comparativo de los Géneros Observados

GENERO	FORMA DE CÉLULA	CUBIERTA CELULAR	TIPO DE CILIOS	CITOSTOMA	VESTÍBULO	ORGANIZACIÓN CELULAR

PRÁCTICA No 13. PROTOZOOS ASOCIADOS PARÁSITOS

1. INTRODUCCIÓN

En medicina y veterinaria a los protozoos asociados se les denomina típicamente como “protozoos parásitos”, donde este término se percibe de forma negativa puesto que para los médicos y los veterinarios devienen 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 protozoarios 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 protozoos 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 obedece a situaciones de la propia historia natural del organismo en cuestión y a las condiciones medioambientales a las cuales esté expuesto, de no tenerse en cuenta esto se cae en dos graves errores, el primero es calificar como negativo a un parásito y el segundo es tratar a una parasitosis, que está causando cierta sintomatología en un hospedero, como algo aislado, ajeno a una historia natural y al medio ambiente.

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, conocer su biología en totalidad. 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; 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 las diversas familias de proteínas de membranas por ejemplo; 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 en la protozoología y replantea al mismo tiempo los conceptos que ya se habían definido en la biología de protozoos, todo esto implica nuevos horizontes científicos reservados para las generaciones de futuros biólogos. Por cuestiones meramente didácticas, se usa la clasificación tradicional (Tabla 4), pero si el estudiante está interesado en ahondar en los nuevos avances taxonómicos con la utilización de herramientas moleculares puede consultar en internet el sitio “The Tree Of Life Web Project”.

Tabla 4. Algunos ejemplos típicos de géneros de protozoos asociados parásitos en humanos, ganado, animales de compañía y en fauna silvestre

Linaje	Géneros	Modo de vida y tipo de importancia
Sarcodina	<i>Entamoeba</i> (Fig. 94)	Parásito (algunas especies comensales pueden causar daño al hospedero). Importancia médica y veterinaria.
	<i>Naegleria</i> , <i>Acanthamoeba</i> , <i>Balamuthia</i> .	De vida libre oportunistas; de importancia médica.
Mastigophora	<i>Giardia</i> (Fig 95), <i>Leishmania</i> , <i>Trypanosoma</i> (Fig 96) <i>Trichomonas</i> , <i>Dientamoeba</i> .	Parásitos obligados de importancia médica y veterinaria.
Apicomplexa	<i>Plasmodium</i> , <i>Leucocytozoon</i> (Fig. 97) <i>Haemoproteus</i> (Fig. 98)	Parásitos obligados de importancia médica y veterinaria.
	<i>Cyclospora</i> (Fig.101) <i>Cystoisospora</i> , <i>Sarcocystis</i> , <i>Toxoplasma</i> , <i>Cryptosporidium</i> (Fig. 100)	Parásitos obligados, zoonóticos, de importancia veterinaria y médica.
Ciliophora	<i>Balantidium</i> (Fig. 102)	Comensal puede causar daño al hospedero, zoonótico de importancia veterinaria y médica.
	<i>Lophomonas</i> (Fig. 99)	Simbiontes mutualistas obligados de insectos comedores de madera, importancia ecológica-faunística. En condiciones particulares devienen en parásitos accidentales de importancia médica.

Ejemplos típicos de común observación:

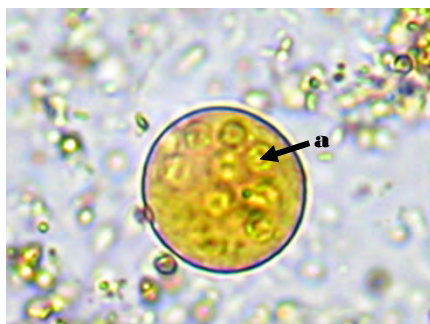


Figura 94. *Entamoeba coli*

Quiste, se diferencian más de cuatro núcleos (a).

Teñido: Lugol, en frotis fresco, 40X.

El quiste de *Entamoeba histolytica* es muy similar, se diferencia por poseer cuatro núcleos máximo.

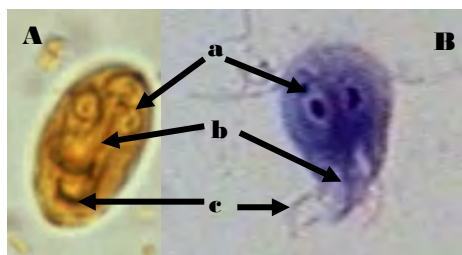


Figura 95. *Giardia lamblia*

A) Quiste, se diferencian zonas adhesivas con dos núcleos (a), el axostilo (b) y primordios flagelares. Teñido: Lugol, en frotis fresco en heces fecales, 40X.
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, 40X.

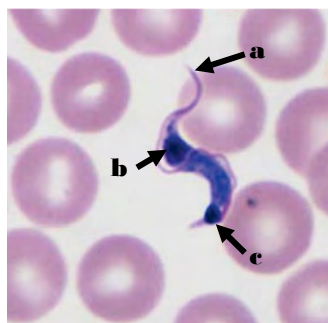


Figura 96. *Trypanosoma* sp.

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

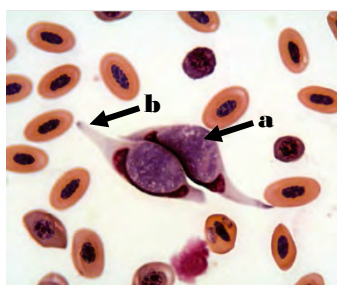


Figura 97. *Leucocytozoon* sp.

Gametocito dentro de un eritrocito de ave. Forma globosa masiva y aplastando el núcleo del eritrocito (a). Eritrocito con deformación elongada con puntas agudas típica del eritrocito invadido (b). Teñido con Wright en frotis sanguíneo, 100X

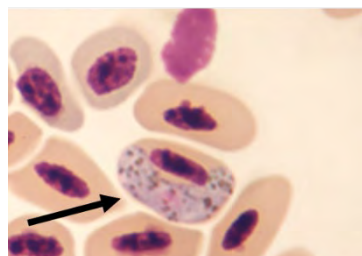


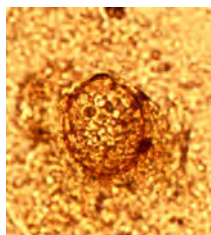
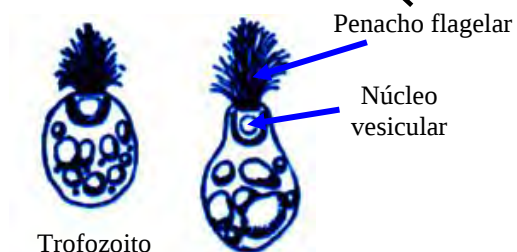
Figura 98. *Haemoproteus* sp.

Gametocito dentro de un eritrocito de ave. Forma típica de herradura circulando el núcleo del eritrocito. Teñido con Wright en frotis sanguíneo, 100X



Figura 99. *Lophomonas* sp.

Trofozoito, a pesar de su pequeño tamaño, 12 μm , es muy evidente, debido a su característico penacho de flagelos y evidentes organelos celulares. Frotis fresco obtenido a partir de artrópodos degradadores de



Quiste

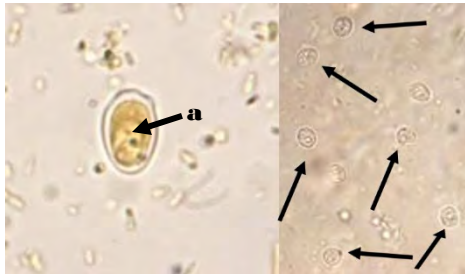


Figura 100. *Cryptosporidium* sp.

Ooquiste esporulado (a), especies del género muy comunes en vertebrados, se debe tener mucho cuidado para su observación ya que su fase de resistencia es de las más pequeñas entre los protozoos, alrededor de 5 μm (ooquistes señalados con flechas).

Frotis fresco en heces fecales 40X.



Figura 101. *Cyclospora* sp.

Ooquiste esporulado (a), dependiendo de la fase de maduración y de la especie se pueden observar hasta cuatro pares de esporozoitos (estructuras visibles dentro del ooquiste que pueden ser redondos a alargados).

Frotis fresco en heces fecales 40X.

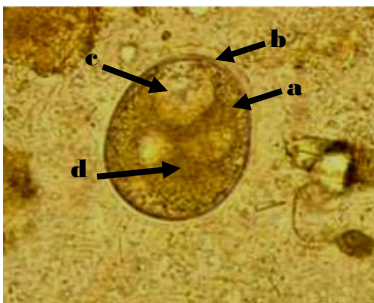


Figura 102. *Balantidium coli*

Quiste grande, 40 μm , esférico a ovalado (a), membrana celular gruesa (b), vacuola digestiva notoria (c), dependiendo del colorante se tiñe intensamente el macronúcleo (d).

Frotis fresco de heces fecales, 40X.

2. OBJETIVOS

- Que el alumno reconozca, en base a la morfología observada, algunos géneros de protozoos asociados parásitos, que pertenezcan a humanos, ganado y animales de compañía, así como de animales 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
- Pincel
- Material de limpieza
- Microscopio
- Solución salina
- Reactivos varios que se indican en la metodología

3.2. Material biológico

Laminillas de frotis permanentes proporcionados por el técnico académico.

Géneros sugeridos: *Giardia* sp., *Trypanosoma* sp., *Entamoeba* sp., *Plasmodium* sp. y *Leishmania* sp.

4. DESARROLLO DE LA PRÁCTICA

4.1. Observación de protozoarios en heces fecales

4.1.1. Preparación de soluciones de tinción

Para tal efecto se utiliza el fijador Solución MIF (mertiolate-yodo-formaldehído).

La solución MIF fija y tiñe a la vez quistes y trofozoítos de protozoos intestinales (así como huevos y larvas de metazoarios). Tiene varias ventajas: preparación simple, bajo costo, proceso de fijación rápido (lo que evita el riesgo de contaminación al momento de trabajar la muestra), los organismos se tiñen durante el proceso de fijación y su calidad conservadora permite el almacenamiento de especímenes durante tiempos prolongados. El fijador en sí consta de dos soluciones, la solución A y la solución B.

Solución A

En 250 ml de agua destilada se disuelven:

- 200 ml de tintura de mertiolate comercial
- 25 ml de formalina
- 5 ml de glicerina

Se agita hasta tener una mezcla homogénea.

Solución B

En 100 ml de agua destilada se disuelven:

- 10 g de yoduro de potasio
- 5 g de yodo cristalino

Se agita hasta que los sólidos se hayan disueltos.

Nota: Si se desea hacer más cantidad de fijador se duplican o triplican, según los requerimientos, las cantidades proporcionadas. Además, las soluciones A y B, por separado, no deberán de tener más de una semana de hechas, por lo que se recomienda, según el volumen de muestras, hacer la cantidad aproximada a las necesidades. No se deben de mezclar hasta el momento de coleccionar la muestra (se explica en el procedimiento), una vez mezcladas las soluciones junto con la muestra biológica, su conservación es garantizada hasta por un año.

4.1.2. Colecta, conservación y transporte

a) Las soluciones se transportan por separado, de preferencia en tubos de ensaye cerrados con tapones de caucho (recomendables tubos de ensaye de 25 x 100 mm sobre todo para la solución B o algún otro envase que garantice que las soluciones no sean derramadas.

b) Las cantidades a preparar son:

- Solución A 4.70 ml
- Solución B 0.30 ml
- Muestra biológica mayor del tamaño de un frijol y menor al de un cacahuate (0.50 g) aproximadamente).

OJO: justo antes de tomar la muestra vaciar la solución A en la B.

c) En seguida se toma la muestra biológica (procurando que sea lo más fresca posible) con un palillo, un aplicador de madera o un abate lenguas según sea el caso y se vierte en el fijador, con el mismo palillo se homogeniza la muestra y se tapa adecuadamente (**la muestra biológica en este punto tiene una garantía de preservación de un año si se mantiene bien sellada**).

d) El tubo o frasco se rotula mediante una etiqueta de pegar con los siguientes datos:

Hospedero animal:
N.C. _____
N.Común _____
Localidad: _____
Coordenadas: _____
Fecha: _____
Colector: _____
Hospedero humano:
Nombre del paciente (no necesario): _____
Sexo: MUJER () HOMBRE ()
Edad: ____ Localidad: _____
Fecha: _____ Colector: _____

El nombre del colector deberá de anotarse con el siguiente formato: apellido paterno, apellido materno e iniciales del nombre.

4.1.3. Observación de muestras

a) Una vez en el laboratorio se resuspende la muestra agitándola ligeramente o con un palillo y con una pipeta Pasteur o de transferencia se toma una gota de la mezcla, se coloca en el portaobjetos y se coloca el cubreobjetos de manera diagonal.

b) Se enfoca en un microscopio compuesto con el objetivo de 10x y se observa con el de 40x haciendo un barrido en zigzag.

c) La observación se realiza en dos pasos:

I. Los quistes y trofozoítos se tiñen de un verde a café amarillentos debido al lugol.

II. Una tinción subsecuente con la eosina del mertiolate (si la muestra biológica tiene más tiempo de haber sido colectada y fijada) torna de color rojo a las membranas nucleares, en la cromatina típicamente permanece invariable el color; los restos fecales se tiñen intensamente de café casi negro.

d) Cada muestra se hace por triplicado.

REALIZAR ESQUEMAS DONDE SE IDENTIFIQUEN ESTRUCTURAS DE LOS CARACTERES OBSERVADOS

Tomar fotografías de los géneros o especies observadas

4.2. Observación de protozoarios en vertebrados pequeños

La observación de protozoarios directamente en hospederos sacrificados tiene dos ventajas muy importantes para el alumno en formación:

a) Conocer una amplia biodiversidad de protozoarios poco típicos en la literatura

b) Al obtener las muestras de hospederos recién sacrificados hay altas probabilidades de observar las fases de trofozoítos, las cuales son difíciles de obtener a partir de una muestra de heces fecales fijadas. Los vertebrados recomendados para realizar la práctica son aquellas especies que forman poblaciones muy abundantes, por lo tanto, no hay riesgo poblacional de obtener algunos ejemplares para ser sacrificados (recomendaciones: lagartijas de collar blanco, ranas verdes de los charcos, aves invasoras, roedores de campo). Realizar el procedimiento de la manera más rápida.

4.2.1. Frotis semipermanentes en base a clara de huevo

a) Se introduce al hospedero en un frasco hermético con algodones empapados de cloroformo hasta que los signos de la respiración, como el movimiento del pecho, cesen (el cloroformo duerme a los hospederos saturando a los pulmones de este gas y evitando que el oxígeno se fije, por lo tanto, es una manera más ética de sacrificio a vertebrados pequeños).

b) En un vertebrado realizar una incisión en la piel desde el ano hasta la garganta, abrir la piel y exponer los músculos abdominales. Con tijeras, y teniendo cuidado de no perforar las vísceras, abrir por completo el músculo abdominal con un corte longitudinal y exponer las vísceras. Una vez expuestas las vísceras, cortar el peritoneo y demás mesenterios para extraerlas del cuerpo. Colocarlas en otra charola de disección con una película de agua, siempre mantener esta película de agua y realizar los siguientes dos procedimientos (intestinal y sanguíneo) de manera rápida y simultánea con la ayuda de los demás integrantes del equipo.

c) preparación de la muestra intestinal:

- ❖ Separar el tracto digestivo del resto de las vísceras.
- ❖ Abrir el tracto digestivo para que quede expuesta la luz intestinal.
- ❖ Tomar una gota de clara de huevo con una pipeta Pasteur o de transferencia y colocarla sobre un portaobjetos.
- ❖ Hacer un raspado del mucus de la luz intestinal y mezclarlo con la clara de huevo, dejar secar al aire (tarda un par de minutos en secar). Colocar un cubreobjetos y enfocar a 5x y observar a 10x y 40x.
- ❖ Realizar frotis con el mucus utilizando una gota de solución salina para observar trofozoítos en movimiento (este frotis no es permanente).

Nota: es recomendable hacer un frotis semipermanente correspondiente a cada parte del tracto digestivo (intestino grueso, intestino delgado, estómago), de igual forma se puede poner una pequeña gota del colorante diluido yodo-lugol con la clara de huevo y el raspado.

d) Preparación de la muestra sanguínea:

- Hacer una punción en los ventrículos para extraer sangre, de inmediato tomar una muestra con una pipeta Pasteur.
- Realizar varios frotis sanguíneos y teñirlos con Wright mediante los siguientes pasos:
 - ❖ Poner una gota de sangre en uno de los extremos de un cubreobjetos (el cubreobjetos debe ser previamente limpiado con un algodón).
 - ❖ Con el canto de otro portaobjetos, de manera vertical con una inclinación de entre 70° a 80°, colocarlo sobre la gota de sangre y realizar el frotis de un solo movimiento barriendo la gota hacia el otro extremo.
 - ❖ Secar al aire.
 - ❖ Fijar el frotis sanguíneo con algunas gotas metanol.
 - ❖ Secar al aire libre.
 - ❖ Saturar el frotis con colorante de Wright durante ocho minutos, posteriormente enjuagar con agua corriente, secar al aire.

e) En un microscopio compuesto enfocar el frotis con 5x y 10x y observar con el objetivo de 100x usando aceite de inmersión.

REALIZAR ESQUEMAS DONDE SE IDENTIFIQUEN ESTRUCTURAS DE LOS CARACTERES OBSERVADOS

Tomar fotografías de los géneros o especies observadas

4.3. Observación de protozoarios en artrópodos

Se recomienda el uso de termitas especies de la madera (no de las especies que construyen nidos de tierra), cucarachas grandes (de preferencia *Periplaneta americana* o *Blattella germanica*) u ortópteros (grillos y saltamontes de preferencia ejemplares grandes).

a) Tomar firmemente al ejemplar con una mano y con la otra, ayudándose con pinzas de punta curva, tomar la cabeza y con un movimiento giratorio desprender la cabeza para separarla junto con el tracto digestivo, si el ejemplar es muy grande se puede anestesiar previamente, introduciéndolo a un frasco hermético con una torunda con cloroformo).

b) preparación de la muestra del tracto digestivo:

- ❖ Separar el tracto digestivo del resto de las vísceras.
- ❖ Abrir el tracto digestivo para que quede expuesta la luz intestinal.
- ❖ Realizar un frotis con el *mucus* utilizando una gota de solución salina para observar trofozoitos en movimiento y/o quistes.
- ❖ Colocar el cubreobjetos y enfocar a 5x y observar a 10x y 40x.

REALIZAR ESQUEMAS DONDE SE IDENTIFIQUEN ESTRUCTURAS DE LOS CARACTERES OBSERVADOS

Tomar fotografías de los géneros o especies observadas

CONSULTAR ANEXO 2

4.3. Observación de protozoarios en preparaciones permanentes

a) Colocar una preparación permanente en un microscopio compuesto, enfocar con el objetivo de 10x y mover el revólver hasta dejarlo entre el objetivo de 40x y el de 100x.

b) Cerrar el diafragma del condensador y el de la fuente de luz hasta que solo quede un pequeño haz de luz sobre el portaobjetos, colocar una microgota de aceite de inmersión sobre el mismo y pasar directamente al objetivo de 100x (Fig. 103).



Figura 103. Haz de luz para colocar microgota de aceite de inmersión

CUIDADO: en caso de ser necesario enfocar, solamente podrás hacerlo con el tornillo micrométrico y de manera pausada, para evitar romper la muestra.

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

Tomar fotografías de los géneros o especies observadas

CONSULTAR ANEXO 2

**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 14. CROMISTAS Y PROTOZOOS ASOCIADOS NO PARÁSITOS

1. INTRODUCCIÓN

Muchos protozoos se encuentran asociados en simbiosis o en comensalismo con otras especies, son organismos que viven habitualmente en el espacio corporal de otro, pero sin perjudicarlo. Algunos de los grupos más comunes se describen brevemente a continuación.

1.1. Chromista (Ciliophora)

1.1.1. Ciliados multinucleados

Son protistas multinucleados, pueden presentar dos o más núcleos, 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), a diferencia de los ciliados verdaderos, están cubiertos de cilios cortos sin infraciliatura y dispuestos en hileras longitudinales o diagonales, no presentan citostoma, y son osmotrofos (Fig. 104).

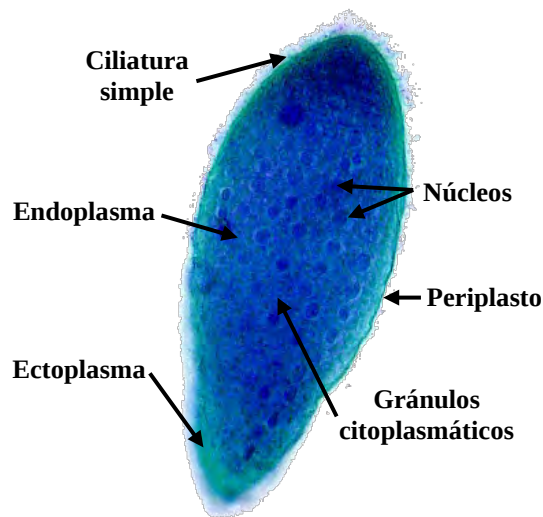
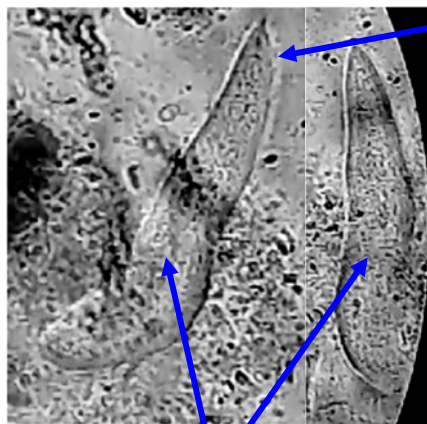


Figura 104. *Opalina ranarum*, trofozoito multinucleado (tinción con azul de metileno)

Actualmente se reconocen unas 400 especies de opalinas en cinco géneros. Los más conocidos son *Cepedea*, *Opalina* y *Protoopalina* (Figs. 105 y 106).

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.



Cubierta ciliar

Figura 105. *Opalina* sp.

Se muestra el cuerpo celular flexible lanceolado y multinucleado.

Las hileras de cilios solo se notan por la parte periférica de la membrana celular.

Lo granuloso del citoplasma se debe a la presencia de pequeños fagocitos.

Los múltiples núcleos se presentan de forma esférica a diferencia de los fagocitos.

Núcleos



Figura 106. *Protoopalina* sp.

Se muestra el cuerpo celular poco flexible lanceolado y más largo que ancho y binucleado.

Las hileras de los cilios son longitudinales

Su citoplasma presenta fagocitos muy finos.

Los núcleos son esféricos y pequeños.

Su tamaño es cerca de cinco veces menor que el de *Opalina*.

Algunas especies se consideran parásitas en particular las que se encuentran en peces.

Todos los representantes de este grupo son endocomensales del intestino grueso de 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.

1.1.2. Ciliados binucleados

Este es un grupo muy diverso, los cuales se caracterizan por la presencia de cilios e infraciliatura, pueden presentar modificaciones de los cilios como es el caso de los cirros, los que sirven para desplazarse sobre materia orgánica o sedimentos finos, las membranelas que ayudan en la alimentación, al igual que los cilios orales. Otra característica exclusiva del grupo es la presencia de dos núcleos, un micronúcleo relacionado con las funciones reproductivas y un macronúcleo asociado a la actividad metabólica. La mayoría presentan un citostoma evidente y un citopigio, así como varios tipos de vacuolas como son la contráctil y alimenticia.

Cuando son totalmente ciliados presentan ciliatura somática, usualmente con cinetosoma ciliado anterior, presentan una cinetia múltiple oral la cual utilizan para desplazarse y alimentarse; la membrana alveolar de la infraciliatura está poco desarrollada, la mayoría presenta vacuolas contráctiles de canales radiados, citopigio evidente, algunas especies son brillantemente pigmentadas ya que presentan cromoplastos especializados. Sus hábitos de vida incluyen, además de la vida libre, el parasitismo y el endocamensalismo un ejemplo de este último caso es el género *Nyctotherus*, endocomensales presentes en la cloaca de las ranas (Fig. 107).

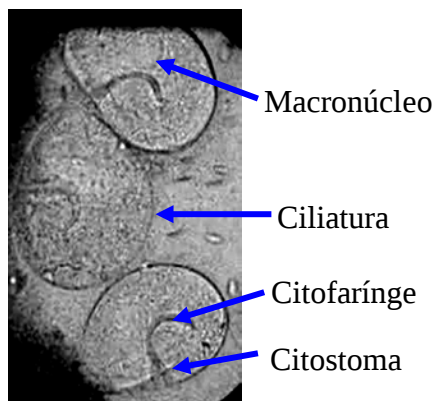


Figura 107. *Nyctotherus* sp.

De acuerdo a Akhmanova *et al.* (1998) y a Boxma *et al.* (2005), Este género presenta cientos de núcleos y múltiples hidrogenosomas.

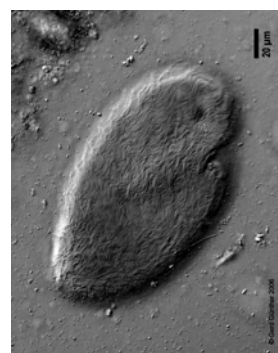
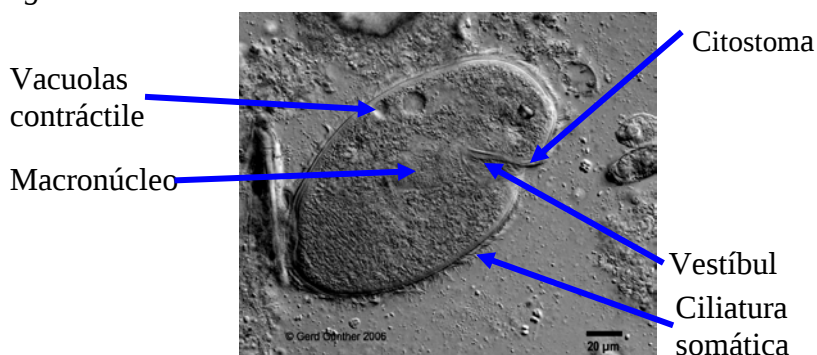
Su forma es ovoide con un citostoma muy evidente bordeado por una membranela, ciliatura corporal abundante, lo que lo hace un nadador muy activo. Presenta un macronúcleo grande por encima del citostoma.

Frotis fresco de la parte final del tracto digestivo de una rana (*Hyla versicolor*).

Otro ejemplo de ciliados asociados, son aquellos que se encuentran en el rumen de bovinos. 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. 108), *Dasytricha* (Fig. 109) y *Oligoisotricha*.



Ciliatura somática o cinetia somática en hileras

Figura 108. *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 109. *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.

Otro grupo de ciliados rumiales 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. 110, 111, 112).

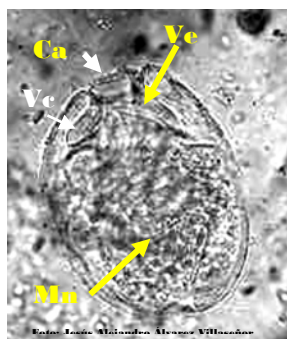


Figura 110. *Entodinium* sp.

Células ovoides.

Presentan ciliatura adoral entorno del citostoma (Ca) y vestíbulo cónico alargado (Ve).

Vacuola contráctil (Vc).

Macronúcleo ovoide localizado en la parte posterior (Mn).

No presentan placas esqueléticas.

Frotis vivo de rumen de vaca.

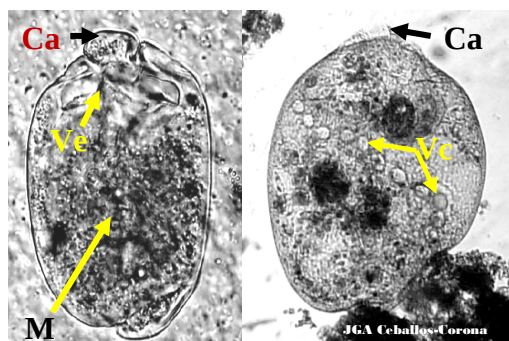


Figura 111. *Diplodinium* sp.

Células de ovoides a elongadas.

Presentan ciliatura adoral (Cad) entorno del citostoma (Ca) y vestíbulo tubular perpendicular al citostoma (Ve).

Más de dos vacuolas contráctiles (Vc).

Macronúcleo ovoide, a veces en forma de cayado localizado en la parte posterior (Mn).

No presentan placas esqueléticas.

Frotis vivo de rumen de vaca.

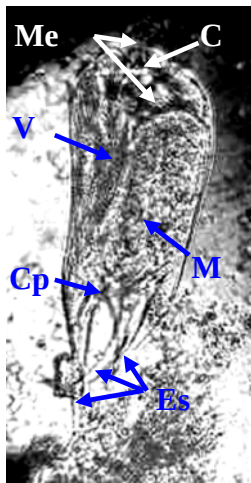


Figura 112. *Epidinium* sp.
 Células elongadas casi cilíndricas.
 Presentan dos zonas de membranelas (Men) entorno del citostoma (Ca) y son retráctiles.
 Vestíbulo corto y tubular (Ve).
 Macronúcleo alargado, a localizado en la parte posterior (Mn).
 Dos vacuolas contráctiles.
 Presentan citoprocto evidente (Cp)
 Presentan tres placas esqueléticas.
 Presentan de una a cinco espinas o lóbulos caudales (Esc)
 Frotis vivo de rumen de vaca.

1.2. Protozoa

1.2.1. Orden Trichonymphida

Son organismos caracterizados por su complejidad flagelar, presentan un cuerpo de oval a alargado con un solo núcleo central. Se les puede observar un sistema de mastigontes, cada uno constituido de numerosos flagelos, formando bandas espirales (Martínez y Elías, 1985). Es común que se les observe el rostrum; la importancia de este grupo está dada por su capacidad de degradar la celulosa debido a una simbiosis con bacterias, y a su vez estableciendo una relación simbiótica vital con sus hospederos, las termitas (Fig. 113).

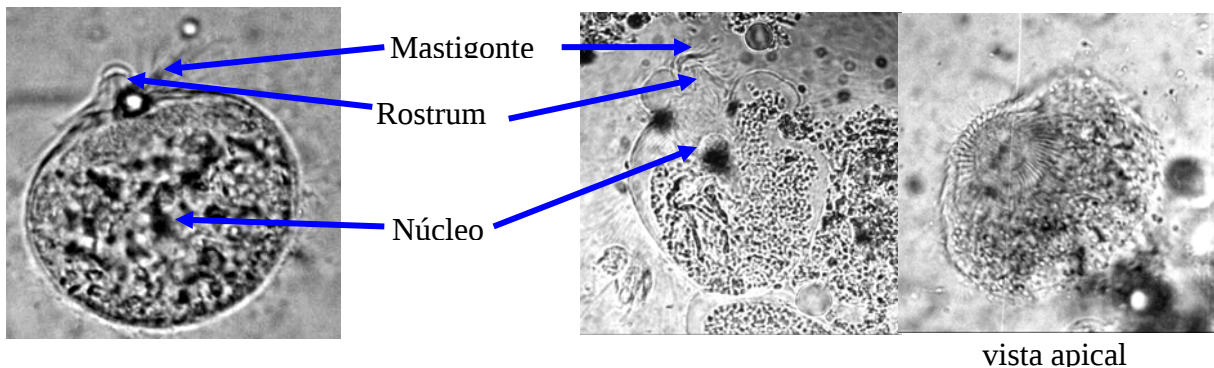


Figura 113. *Trichonympha* sp.
 Típicamente se encuentran en termitas.
 Fácilmente observable por el característico mastigonte anterior cuyos flagelos comúnmente se dirigen hacia la parte posterior a manera de una melena, el rostrum y un núcleo mediano.

2. OBJETIVOS

- Que el alumno conozca la morfología y las principales estructuras celulares de algunos de los grupos de protistas asociados no parásitos.

3. 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

4. MATERIAL BIOLÓGICO:

10 termitas grandes vivas, 3 cucarachas vivas, sapo o rana, líquido de rumen de bovinos.

Géneros sugeridos: *Opalina* sp., *Trichonympha* sp., *Nyctotherus* sp. y un género de ciliados del líquido del rumen de bovinos.

5. DESARROLLO DE LA PRÁCTICA

5.1. Observación de organelos celulares de flagelados.

- En un portaobjetos coloque una termita y en el microscopio estereoscópico haga la disección del abdomen y extraiga el tubo digestivo.
- Elimine el resto del cuerpo y realice un frotis del tubo digestivo, agregue una gota de solución salina e inmediatamente coloque el cubreobjetos.
- Observe al microscopio compuesto; disposición flagelar, penacho flagelar y rostrum con los objetivos de 10x y 40x.

REALIZAR ESQUEMAS DONDE SE IDENTIFIQUEN ESTRUCTURAS DE LOS CARACTERES OBSERVADOS

Tomar fotografías de los géneros o especies observadas

5.2. Disección de la rana para observación de *Opalina* sp. y *Protopalina* sp.

- 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.
- Colocar 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.

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

Tomar fotografías de los géneros o especies observadas

5.3. Observación de algunos géneros de ciliados en el líquido del rumen.

a) En un portaobjetos colocar una o dos gotas del líquido ruminal, agregar una o dos gotas de lugol y colocar el cubreobjetos y observa al microscopio compuesto en 10x y 40x.

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

CONSULTAR ANEXO 2

Tomar fotografías de los géneros o especies observadas

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

GÉNEROS	NÚCLEO	MACRONÚCLEO	MICRONÚCLEO	VACUOLAS	CINÉTICAS	VESTÍBULO	MEMBRANELAS

GÉNEROS	FORMA DE LA CÉLULA	CITOSTOMA	CITOFARÍNGE	MASTIGONTE	ROSTRUM	ESPINAS	PLACAS ESQUELÉTICAS	HÁBITO DE VIDA	HOSPEDERO

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?

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* (Xanthophyceae) de cuerpos de agua temporales del Estado de México. *Hidrobiológica*, 15(3), 311-320.
- 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 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, Cyttarocylidae, 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.

ANEXO 1

COLECTA, FIJACIÓN Y PRESERVACIÓN DE PROTISTAS DULCEACUÍCOLAS

1. INTRODUCCIÓN

Los ambientes dulceacuícolas se reconocen porque poseen sales menores a un gramo por litro de agua, se clasifican de acuerdo al movimiento del agua, los cuales se describen a continuación:

Sistemas lénticos o de aguas estancadas, se consideran lagos, lagunas, presas, charcos, en general todos aquellos sistemas donde se encuentren acumuladas las aguas (Fig. 114).



Figura 114. Sistemas lénticos, izquierda un axalapasco, centro un lago y derecha una presa.

Sistemas lóticos o de aguas en movimiento, se toman en cuenta ríos, arroyos y manantiales, (Fig. 115).

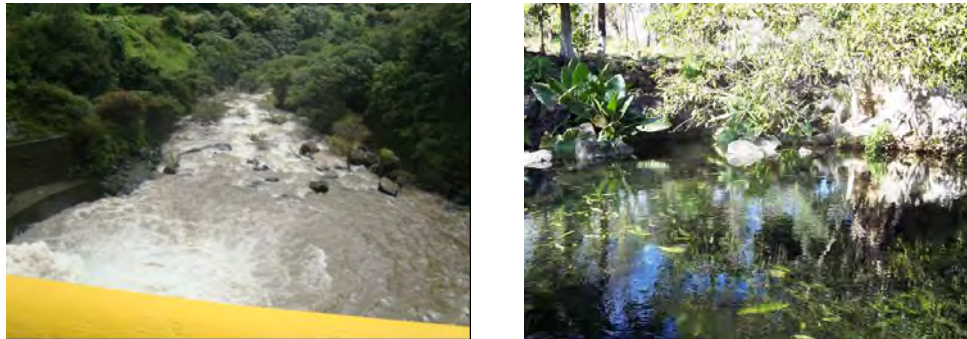


Figura 115. Sistemas lóticos, izquierda río Cupatitzio y derecha manantial de Parácuaro

Los grupos de microalgas y protozoos, se encuentran en una gran diversidad de sistemas tanto terrestres como acuáticos, en el caso particular de los sistemas dulceacuícolas, ambos grupos los ubicamos en los gremios del plancton y perifiton.

Entendemos como plancton, aquel gremio compuesto por organismos que se encuentran en la superficie del agua flotando libremente los cuales no son capaces de contrarrestar las corrientes, aun cuando presentan cierto movimiento es de poca importancia, sin embargo, éste si juega un papel significativo en cuanto a la alimentación. De acuerdo a sus tipos de nutrición los protistas planctónicos se dividen en fitoplancton los autótrofos y zooplancton los heterótrofos.

Considerando su ciclo de vida este gremio se divide en:

- Euplancton u holoplancton, constituido por organismos cuyo ciclo de vida es totalmente pelagial.
- Meroplancton, organismos que permanecen solo una parte de su ciclo de vida en el plancton.
- Seudoplancton o ticoplancton, formado por organismos que accidentalmente se incorporan al plancton.

Además, los planctontes también se separan de acuerdo al tamaño que estos presentan, estableciéndose la siguiente clasificación para el caso de los dulceacuícolas:

- Macroplancton, organismos mayores de 500 μm .
- Microplancton, organismos entre 20 μm y 500 μm .
- Nannoplancton, organismos entre 2 μm y 20 μm .
- Picoplancton, organismos menores de 2 μm .

Si se toma en cuenta la columna de agua reciben otra clasificación:

- Euplancton, se distribuyen en las capas iluminadas, aquí predomina el fitoplancton y muy poco zooplancton.
- Escotoplancton, se localiza en aguas profundas, predomina el zooplancton, aunque pueden observarse algunos organismos del fitoplancton.

El otro gremio se llama perifiton el cual vive en torno o adherido a sustratos y generalmente se localiza en la zona litoral de estos sistemas y de acuerdo al tipo de sustrato reciben los siguientes nombres:

- Epífito, aquellos organismos que viven entorno o adheridos a algas o vegetales acuáticos.
- Epixilótico, los que se encuentran sobre troncos sumergidos.
- Epilítico, organismos que están sobre rocas o cualquier estructura mineral, incluyendo los elaborados por el humano.
- Epizóico, organismos que se encuentran sobre conchas o caparazones de animales.
- Epipsámico, son organismos que se encuentran sobre la arena o sustratos limosos formando una película o “biofilm”.

1.1. Dónde y cómo coleccionar protistas dulceacuícolas

La captura de protistas dulceacuícolas, se lleva a cabo mediante diferentes técnicas, dependiendo de los objetivos establecidos. Algo fundamental cuando se muestrean los sistemas dulceacuícolas, es conocer las variables ambientales, porque de acuerdo a esto los sistemas se comportan muy diferente. Uno es la energía solar que penetra hasta cierta profundidad marcando de esta manera la distribución de los organismos, esto se analiza con el disco de Secchi y con la nubosidad ya que si es un día nublado los organismos tienden a localizarse más hacia la superficie, que si está despejado puesto que tienden a bajar un poco, esto se reporta en porcentaje, la profundidad también marca la distribución por lo tanto se debe estimar, para eso se cuenta con una cuerda graduada en metros que contiene peso, el pH permite conocer si son aguas ácidas o básicas, lo cual se determina mediante colorimetría, el oxígeno disuelto se efectúa con la técnica

de winkler modificada al azida de sodio, el viento puede formar parches en la distribución de los protistas en los sistemas, por eso se debe evaluar, para ello se cuenta con la escala de Beaufort. La temperatura del aire y del agua es muy importante estimarlas lo cual se lleva a cabo mediante un termómetro de mercurio.

Para llevar a cabo el muestreo de protistas dulceacuícolas, primero debemos tomar en cuenta cuál de los gremios vamos a coleccionar ¿los protistas del plancton o los del perifiton?, además debemos de establecer qué tipo de muestreo será ¿cualitativo o cuantitativo?, de acuerdo a los objetivos que se establezcan.

1.1.1. Colecta de plancton

Los muestreos se deben realizar en el mismo punto o lo más cerca posible de donde se analicen las variables ambientales, el número de colectas y sitios dependerá de los objetivos planteados.

1.1.1.1. Colecta para análisis cualitativo

El análisis cualitativo es importante para saber el tipo de organismo que existe en el cuerpo de agua, con este se llega a conocer que especies son dominantes y junto con el análisis de las variables ambientales se puede conocer el estado de envejecimiento del cuerpo de agua. El muestreo se puede realizar preferentemente con una red de cuchara 39 μ m para sistemas someros, a continuación, se describen los métodos tanto para sistemas lóticos como para lénticos.

➤ Potamoplancton (el plancton de ríos)

En este caso se debe de aprovechar que el agua se encuentra en continuo movimiento, para esto se busca una zona con una profundidad de ser posible mayor a los 50 cm, se coloca la red de cuchara contracorrientes y se deja durante cinco minutos para capturar el plancton, posteriormente este material se colocará en un frasco de plástico y se fijará con formol al 4 % neutralizado con bórax, el frasco se etiquetará, para trasladarlo al laboratorio para su posterior análisis (Fig. 116).



Figura 116. Colecta de potamoplancton, se muestra la colecta en un

➤ Limnoplankton (el plancton de lagos y embalses)

Si se trata de sistemas con profundidades mayores de cinco metros, es conveniente la utilización de redes cónicas de arrastre, para lo cual se usa una lancha con motor fuera de borda, manteniéndose la velocidad más baja más o menos constante.

El arrastre puede ser horizontal ya sea en zigzag, circular, en este la red deberá de colocarse por la parte interna del círculo para evitar que la misma sea destruida por la propela del motor, o vertical, para lo cual a la red se le coloca un peso muerto, ya sea en el aro mayor o en la unión de los cabos, bajándose a una profundidad generalmente definida por la transparencia del sistema y efectuando un movimiento diagonal del fondo hacia arriba (Fig. 117).

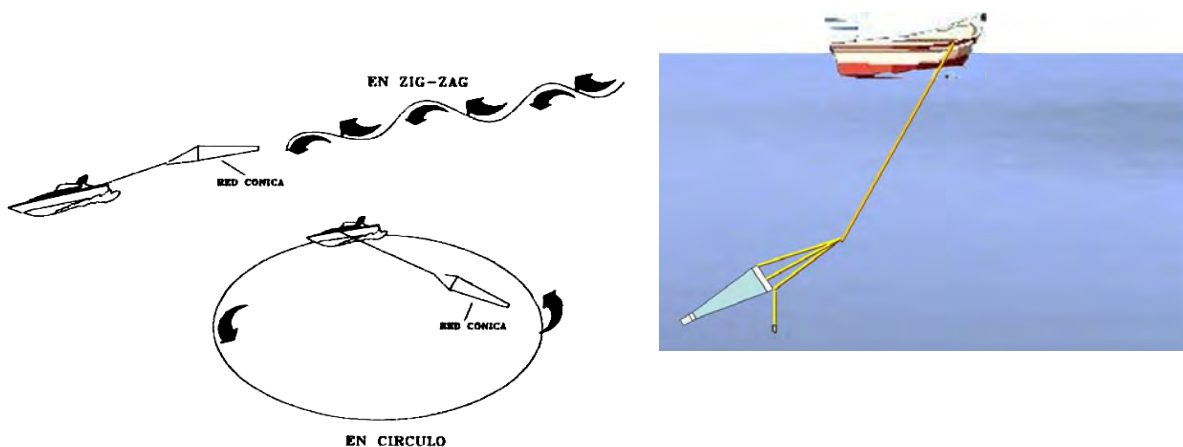


Figura 117. Colecta por arrastre horizontal con lancha de motor fuera de borda, a la izquierda forma del movimiento de la lancha, a la derecha muestreo vertical con peso muerto.

Si los sistemas son someros, menores de tres metros, ya sean charcas temporales, canales, bordos, lagunas y lagos, no es conveniente usar lancha con motor fuera de borda, en cambio se recomienda una lancha movida por remos, procurando mantener también una velocidad constante en lo posible, el movimiento de la lancha es semejante al que se presenta en la figura 4, se utiliza de preferencia una red de cuchara o una red pequeña de arrastre (Fig. 118).



Figura 118. Muestreo de red para análisis cualitativo, colecta en la columna del agua de un cuerpo de agua profundo.

El material obtenido mediante redes se coloca en frascos de plástico con una capacidad de 250 ml, la muestra deberá de quedar fijada a con formol neutralizado con bórax a una concentración final del 4 %, los mismos se rotularán con marcador de tinta permanente contra el agua con los siguientes datos:

Tiempo de arrastre:

El análisis cuantitativo requiere de la colecta de un volumen determinado de agua, ya que es necesario que se tengan representados todos los planctones incluyendo el picoplancton. Lo cual únicamente se logra mediante la utilización de muestreadores de volumen determinado, no menor de 2 litros ya que también se requiere agua para el análisis de variables fisicoquímicas, es el caso de las botellas tomamuestras horizontales tipo Van Dorn (Fig. 120).



Figura 120. Botella tomamuestras tipo Van Dorn.

Mediante este método se pueden obtener muestras a diferentes profundidades, considerando el nivel de transparencia del sistema, los cuales pueden ser generalmente en tres: superficie, a la mitad de la transparencia obtenida y un metro por debajo del límite inferior de transparencia (Fig. 121).



Figura 121. Muestreo para análisis cuantitativo de plancton mediante botella tipo Van Dorn, a diferentes profundidades de la columna de agua.

Las muestras obtenidas de esta manera se colocan en frascos de color ámbar de un litro de capacidad y se fijan con formol neutralizado con bórax a una concentración final del 1 %, o bien con lugol hasta alcanzar una coloración paja oscuro. Los frascos deberán de etiquetarse con los mismos datos que las muestras obtenidas con red.

1.1.2. Colecta de perifiton o “biofilm”

En el caso de sistemas lóticos se recomienda que los sitios se ubiquen a corta distancia de su formación y en las partes bajas, también, en las uniones con otras corrientes, así como en lugares contaminados tanto en las partes altas como en las partes bajas del sistema. En los cuerpos lénticos debe considerarse tanto las entradas, así como las salidas del cuerpo de agua, además de áreas contaminadas y no contaminadas.

Al igual que en el plancton es necesario realizar estudios cualitativos y cuantitativos de los sistemas, además de que es importante también llevar a cabo el análisis de las variables fisicoquímicas puesto que éstos influyen en la calidad del agua, ahora bien, el “biofilm” no es un buen indicador biológico, como en el caso del plancton, debido a la falta de sustratos naturales en muchos de los sitios dentro del cuerpo de agua a estudiar.

El perifiton o biofilm se clasifica dependiendo del sustrato sobre el cual yace (Fig. 122), a continuación, se presentan las subdivisiones del mismo:

- Epifítico, aquel que se encuentra sobre algas y plantas éstas últimas ya sean hidrófitas o no.
- Epilítico, se localiza sobre rocas y otros minerales, incluyendo los concretos fabricados por los humanos.
- Epixilótico, adherido a troncos muertos o a la corteza de árboles sumergidos.
- Epipsámico, si están sobre la arena, limo o arcilla.
- Epizoico, cuando se encuentran sobre animales en particular sobre bivalvos o caparzones de tortugas.

Algunos organismos se encuentran relacionados con los sustratos que el humano ha introducido en los ecosistemas dulceacuícolas, es el caso de pedazos de tela, plásticos, botellas de vidrio, aluminio, PVC, entre otros, en este sentido se le dará el nombre directo del sustrato.



Figura 122. Perifiton o Biofilm de acuerdo a los tipos de sustratos, a la izquierda epixilótico, epífito y epilítico, en medio epipsámico y a la derecha epizoico

1.1.2.1. Muestreo cualitativo

La colecta del perifiton o biofilm, se lleva a cabo en los diferentes sustratos, se le debe de dar prioridad a los sustratos naturales, las muestras se obtienen raspando la superficie de los mismos, utilizando para ello un cuchillo, navaja o espátula para aquellos sustratos duros o bien un cepillo de dientes para los suaves, en este último caso el raspado se realiza de manera circular, algunos

sustratos como plantas acuáticas pueden ser exprimidos suavemente dentro de una bolsa de plástico para después depositarlo en un frasco de plástico de 250 ml. El material colectado de esta manera se fija con formol neutralizado con bórax a una concentración final del 4 % con agua del medio los frascos deben ser etiquetados mediante marcador de tinta permanente contra el agua antes de depositar las muestras, con los siguientes datos:

Localidad: _____ Municipio: _____
Fecha _____ Hora de colecta _____
Coordenadas: _____
Perifiton: _____
Tipo de sustrato: _____
Color de la muestra: _____
Dimensiones de cuadro: _____
Fijador: _____
Nombre del colector: _____ No. Colecta _____

1.1.2.2. Muestreo cuantitativo

Para poder realizar este muestreo, se debe conocer el área donde se localizan los organismos, este método sirve para recolectar solamente en la zona del litoral y es donde se encuentra una gran variedad de organismos, la técnica que se recomienda es el uso del cuadrante, los cuales pueden ser de 20 x 20 cm, 10 x 10 cm y 5 x 5 cm, mientras más perturbado este el sistema más pequeño debe ser el cuadrante a utilizar (Fig. 123).



Figura 123. Diferentes técnicas de muestreo de cuantificación, izquierda un cuadrante abierto, centro un cuadrante cerrado y derecha un cuadrado marcado con cinta métrica, en todos los casos se colecta todo el material que queda dentro de la zona demarcada por el cuadro.

También existe el estudio cuantitativo a lo largo de la columna de agua, ya que el biofilm se distribuye verticalmente, para ello se debe muestrear en las plantas acuáticas con tallos, por medio de una hoz se corta los tallos justo al nivel del suelo y se saca del agua, se van raspando a diferentes longitudes del tallo (cada 25 cm) que están en el agua y cada nivel se va colocando en un frasco de plástico diferente, el volumen puede ser desde 10 hasta 50 ml de agua, mientras que se pueden también ubicar rocas en diferentes niveles verticales para su raspado y fijación las muestras se estudian por separado.

Una variante de los sustratos sólidos o minerales naturales, para la cuantificación, se lleva a cabo mediante la técnica de sustratos artificiales de Koanetzow y Sladeckova (Fig. 124), ésta técnica se recomienda para un análisis cuantitativo, así como para estudiar la colonización de los organismos en los sustratos. Para tal efecto se recomienda utilizar portaobjetos u otro material acrílico o de asbesto, se sugiere no realizar cambios del tipo de sustrato durante el estudio ya que la colonización varía con el sustrato.

La recolección y transporte de las placas en posición horizontal y vertical (Fig. 20), debe realizarse cada ocho días quitando las placas horizontales y verticales y se colocan otras nuevas. Las placas recolectadas se limpian dentro de un frasco de plástico de 250 ml y el material es fijado con formol neutralizado con bórax a una concentración final del 4 %, el etiquetado del frasco es semejante al que se usa para el perifiton agregando el periodo de exposición.

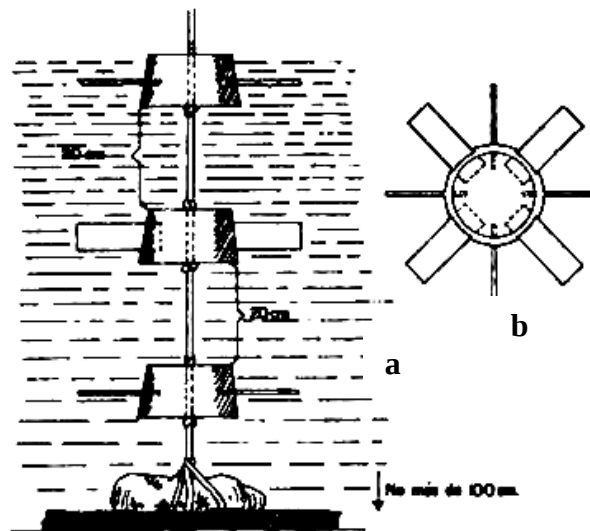


Figura 124. Colector artificial de Koanetzow y Sladeckova, exposición de portaobjetos a) de lado, b) tapón en vista transversal.

2. DESARROLLO DE LA PRÁCTICA DE CAMPO

2.1. Objetivos

- Que el alumno realice muestreos de sistemas dulceacuícolas, para obtener material biológico, que les permita su correcta identificación y cultivo.
- Que el alumno conozca las técnicas para medir las variables ambientales fisicoquímicas del sistema muestreado, que le permita tener una visión de las condiciones bajo las que se desarrollan los protistas dulceacuícolas.

2.1.1. Equipo y materiales para la colecta de protistas planctónicos y perifitónicos

A continuación, se citan los materiales necesarios para coleccionar protistas dulceacuícolas:

- Red cónica de cuchara con abertura de malla de 39 μm
- Equipo Winkler para oxígeno disuelto
- Termómetro
- Brújula y altímetro
- Disco de Secchi
- Papel indicador de pH
- Cinta métrica
- Frascos de plástico de 50 ml
- Frascos de plástico de 250 ml
- Cuerda marcada en metros
- Escala de Beaufort (velocidad del viento)
- Libreta de tránsito o de nivel (diario de campo)
- Lápiz Mirado N° 2
- Marcador de tinta permanente contra el agua y de punto mediano.

2.2. Determinación de variables fisicoquímicas

Antes de iniciar la colecta de plancton y perifiton es necesario realizar la determinación de las variables fisicoquímicas, para lo cual se deberán de tomar en cuenta los siguientes pasos:

2.2.1. Oxígeno disuelto

Utilizando un frasco para DBO y mediante el adaptador obtenga una muestra de agua, recuerde que no debe provocar burbujas, puesto que alterara los resultados de oxígeno disuelto, una vez obtenida la muestra tape y agregue dos mililitros de sulfato manganoso con una pipeta metiendo solo la punta de la misma en el frasco de DBO, tape y agite suavemente, y ahora agregué con otra pipeta dos mililitros de álcali-yoduro introduciendo solo la punta de la pipeta en el frasco de DBO tape y agite y deje decantar la muestra hasta casi la mitad del frasco, tenga cuidado porque puede quemarse con este reactivo, finalmente agregue dos mililitros de ácido sulfúrico con otra pipeta haciendo lo mismo que en los pasos anteriores tenga mucho más cuidado porque se puede quemar ya que este es un ácido fuerte. Guarde y traslade al campamento para titular con tiosulfato de sodio de preferencia al 0.025 N.

2.2.2. Temperatura

Con un termómetro de mercurio, medir la temperatura del agua de la superficie y el fondo, así como de diferentes niveles si el cuerpo de agua es profundo, además se tomará la temperatura del aire a la sombra.

2.2.3. Determinación de pH

Mediante una tira del papel indicador de pH determine su valor en el sistema.

2.2.4. Transparencia

Utilizando el disco de Secchi determine la transparencia del sistema, ésta actividad deberá de llevarse a cabo del lado donde este iluminado por el sol, la medición se realizará en centímetros.

2.2.5. Profundidad

Auxiliándose del disco de Secchi obtenga la profundidad del medio, la medición se realiza en centímetros.

2.2.6. Nubosidad, dirección y velocidad del viento

Para obtener la cobertura de nubosidad realícelo en porcentaje sobre el área de estudio.

Mediante la escala de Beaufuort, determine la intensidad del viento y con la brújula la dirección de dicha variable.

2.3. Colecta de plancton y perifiton

Previamente a esta actividad se deberá de elegir un cuerpo de agua dulce para estudiar los protistas.

2.3.1. Colecta de Plancton

Para el análisis cualitativo la colecta se efectuará con la red de cuchara de 39 μm , un arrastre horizontal en forma de “8” sobre la superficie durante 5 minutos. Al retirar la red, puede ir bajando el contenido de plancton con agua del medio por la parte exterior de la red, esta operación deberá de realizarse las veces necesarias para completar 250 ml. Previamente etiquete un frasco de plástico de 250 ml con el marcador de tinta permanente y coloque 10 ml de formol neutralizado con bórax, donde deberá de vaciar el contenido concentrado del frasco colector para que la muestra quede fijada al 4 %. Para el análisis cuantitativo se tomará una muestra de 250 ml para efectuar el conteo en el laboratorio, fijar y rotular frasco.

2.3.2. Colecta de perifiton o biofilm

Para la colecta de los organismos adheridos, el análisis cualitativo se efectuará en forma manual con un cuchillo o un cepillo, de cada sustrato que exista en el cuerpo de agua. Cada muestra obtenida se vaciará en un frasco de 50 ml con agua y se etiquetará, la muestra deberá de quedar fijada con formol neutralizado con bórax a una concentración final del 4 %. Con respecto a la obtención de las muestras para cuantificar se utilizará un cuadrante de 5 x 5, el cual se colocará en el sustrato y se raspará, la muestra obtenida de cada sustrato se colocará en diferentes frascos de 50 ml, cada frasco llevará los datos correspondientes y su fijador.

NOTA. Si el equipo quiere estudiar los organismos en vivo del plancton se traerá una muestra utilizando la red de 39 μm , el contenido se vaciará en un frasco de un litro, dicho frasco se llenará con agua se colocará la tapadera y se traerá a baja temperatura.

COLECTA, FIJACIÓN Y PRESERVACIÓN DE PROTISTAS MARINOS

1. INTRODUCCIÓN

Un bioma es la asociación de ecosistemas característicos de una zona biogeográfica, y está definido a partir de las relaciones entre sus componente bióticos y abióticos. A nivel global se pueden distinguir tres grandes biomas: el aéreo, el terrestre y el acuático. A su vez el bioma acuático esta subdividido en dos, el dulceacuícola y el marino.

El bioma marino está formado por un conjunto de ecosistemas que configuran un grupo más o menos homogéneo, debido a dos factores importantes la temperatura y la salinidad, éstas variables le dan un carácter de mayor estabilidad, ya que las temperaturas de las aguas oceánicas presentan poca modificación, recordemos que el agua tienen un carácter regulador, presenta una alta inercia térmica, es lenta la trasmisión de calor y también es lento el enfriamiento por irradiación, en comparación con las áreas terrestres o continentales. Por otra parte, la salinidad en el medio marino más o menos es constante, 35 ‰ en promedio, esto hace que la composición iónica del agua de mar sea semejante a los líquidos corporales de la gran mayoría de la biota que habita este bioma, aquí se incluyen los océanos, mares, marismas, lagunas costeras, rías, entre otros.

Para facilitar el estudio del bioma marino se han establecido diferentes divisiones y subdivisiones del mismo considerando parámetros bióticos y abióticos. En sentido horizontal, partiendo de la línea de costa hacia aguas abiertas, en el ambiente pelágico, se reconocen dos provincias la nerítica y la oceánica (Fig. 125).

La provincia nerítica, corresponde a la zona más cercana a la línea de costa, básicamente la podemos ubicar sobre la plataforma continental, y en promedio tiene una amplitud de 200 m, por su proximidad al continente y por su menor profundidad, muestra condiciones ambientales más variables en el tiempo y en el espacio, permitiendo que se encuentre en ella una mayor diversidad de formas vivas, presenta abundante microflora (algas) y microfauna (protozoos), ya que sus aguas tienden a ser más ricas, por contar con altas concentraciones de nutrientes y porque la luz solar penetra en toda su extensión, por la acción del oleaje y las corrientes se acumula gran cantidad de nutrientes, lo que permite un abundante crecimiento de algas. Muchas de las especies encontradas aquí generalmente no se localizan en otros lugares del mar o en aguas abiertas; los microorganismos, además de ser abundantes, presentan gran diversidad.

La provincia oceánica, se presenta más allá de los 200 m de la línea de costa, arbitrariamente se dice que comienza donde termina la plataforma continental, es un ambiente netamente pelágico, que corresponde a las aguas conocidas como mar abierto, los nutrientes son escasos, la luz solar solo penetra en la llamada zona fótica, a diferencia de la provincia nerítica, en ésta las corrientes superficiales y el oleaje no influyen en la remoción y concentración de nutrientes, aquí se observa una diversidad menor de especies, dominando los representantes microalgales sobre los protozoos.

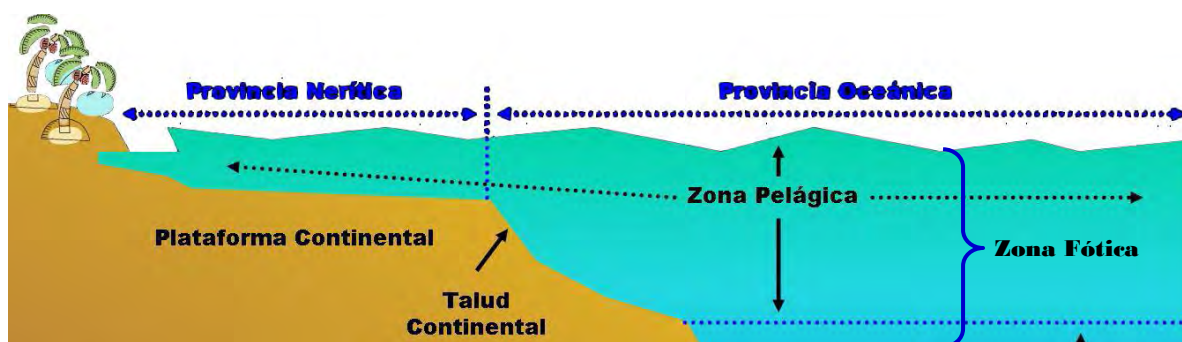


Figura 125. Provincias marinas.

Los protistas marinos básicamente se van a ubicar en dos de los ecosistemas del bioma marino, en el plancton y en el bentos. La vida suspendida en las aguas y que no es capaz de contrarrestar los movimientos de la misma, como es el oleaje y las corrientes superficiales, por su nula o escasa capacidad de movimiento, es llamada “plancton”, en este sentido aquel que se encuentra en la provincia nerítica es denominado “plancton nerítico” y el que se encuentra en la provincia oceánica se le nombra “plancton oceánico”. Los organismos que viven relacionados con los sustratos, es decir el bentos, se localiza tanto en áreas profundas como en la línea de costa, propiamente el litoral, en éste último se presentan otras divisiones, las zonas supralitoral, mesolitoral o intermareal e infralitoral o submareal, considerando la presencia de organismos bioindicadores (Fig. 126).



Figura 126. Zonificación del litoral.

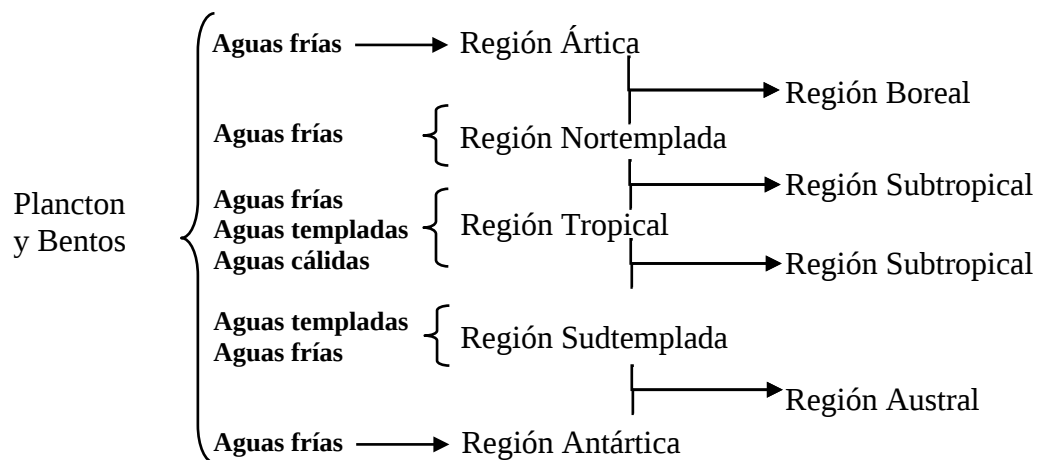
La zona supralitoral, es un ambiente completamente terrestre, el agua de mar solo llega de manera nebulizada, la brisa, o bien por algún desastre provocado por ciclones o un tsunami, aquí no encontraremos organismos marinos de ningún tipo.

La zona mesolitoral o intermareal, esta área se encuentra sometida a los periodos de mareas, bajamar y pleamar, es un ambiente netamente marino; en la parte superior podemos ubicar unos pequeños moluscos llamados litorinas, cianobacterias y otras algas capaces de resistir las condiciones adversas de sequedad a la que ésta sujetado este segmento del litoral.

En la parte media se encuentran tapetes de macroalgas que sirven de refugio para una gran diversidad de organismos, muchos en estadios larvales o juveniles, algunos protistas se encuentran asociados a esas macroalgas, incluso formando una película, biofilm, sobre sustratos rocosos y troncos sumergidos, como son dinoflagelados y diatomeas. En zona inferior se observa también tapetes macroalgales, pero diferentes a los de la zona media, ya que deben ser resistentes a las condiciones extremas por la exposición directa al fuerte oleaje, también son áreas de refugio para macroinvertebrados principalmente crustáceos, los protistas que aquí viven también están asociados a las macroalgas y en películas sobre las rocas.

La zona infralitoral o submareal, es un ambiente totalmente sumergido, submarino, la posibilidad de que quede al descubierto es muy remota ya que solo ocurrirá en caso de un tsunami, es una zona muy estable generalmente cubierta por tapetes macroalgales, convirtiéndose en un área perfecta para el refugio, reproducción, crecimiento y alimentación de muchos peces e invertebrados, las macroalgas y las rocas contienen un número considerable de dinoflagelados, que pueden ser tóxicos productores de ciguatera o no nocivos.

Los protistas que podemos encontrar tanto en el ambiente planctónico como en el bentónico corresponden a grupos de criptofíceas, dinoflagelados, silicoflagelados, rafideofíceas, diatomeas, haptofíceas, euglenofíceas, coanoflagelados, foraminíferos, radiolarios, acantáridos y ciliados principalmente. Geográficamente se encuentran distribuidos siguiendo las regiones bioclimáticas (Osorio, 1943) ya sea en aguas frías, templadas o cálidas, como se muestra en el siguiente esquema:



En la parte pelágica, los océanos están formados por masas de agua definidas por la temperatura y la salinidad, en la Tabla 5 se muestra esta clasificación, modificada de Cifuentes *et al.* (1986).

Tabla 5. Masas de agua superficial marina (modificado de Cifuentes *et al.* 1986)

Masas de agua	Temperatura		
	Mínima	Máxima	Media
Fría	1°C	17°C	11°C
Templada	16°C	27°C	22°C
Cálida	20°C	30°C	27°C

Los protistas también pueden ser utilizados como bioindicadores, ya que responden sensiblemente a los cambios de temperatura y salinidad, lo cual afecta su distribución.

Otro grupo de protistas corresponden a los nocivos, entre ellos se encuentran los tóxicos y los no tóxicos, además de aquellos que son parásitos inclusive de otros protistas. La mayor parte de estos son dinoflagelados, aunque también se encuentran rafideofíceas y diatomeas.

1.1. Dónde y cómo colectar protistas marinos

Para llevar a cabo esta actividad primero debemos tomar en cuenta en cuál de los ecosistemas marinos vamos a colectar los protistas en el plancton o en el bentos.

1.1.1. Colecta de plancton

Para ello se deben considerar varios aspectos como sus tipos de nutrición, ciclo de vida y sus tamaños; con relación al tipo de nutrición se divide en fitoplancton o plancton fotosintético y zooplancton o plancton heterótrofo, examinando sus ciclos de vida ha sido clasificado de la siguiente manera:

- Euplancton u holoplancton, organismos cuyo ciclo de vida es totalmente planctónico.
- Meroplancton, son organismos que parte de su ciclo de vida son planctónicos y la otra generalmente son bentónicos.
- Ticoplancton o pseudoplancton, formado por organismos que accidentalmente se incorporan al plancton, ya sea por el oleaje o el movimiento de mareas que los desprende de las macroalgas y otros sustratos.

El plancton marino también se clasifica de acuerdo al tamaño, en realidad éste es un criterio un tanto cuanto arbitrario, ya que se tomó como base para su clasificación la abertura de malla más fina que se conocía para la captura del plancton y considerando que una micra es la milésima parte de un milímetro, aceptándose de manera generalizada los siguientes criterios:

- Picoplancton, menor de 2.0 μm .
- Nanoplancton, de 2.0 a 20.0 μm .
- Microplancton de 20.0 a 200.0 μm .
- Mesoplancton de 200.0 μm a 2.0 cm.
- Macroplancton de 2.0 a 20.0 cm.
- Megaplancton mayor de 20.0 cm.

Para la colecta de plancton marino se requieren diferentes modelos de muestreadores, dependiendo de los objetivos del trabajo que se vaya a realizar; las colectas pueden ser para estudios cuantitativos y/o cualitativos.

1.1.1.2. Estudios cuantitativos

La colecta para este tipo de investigaciones requiere de poder capturar muestras de una cantidad determinada de agua al azar, lo cual nos permite poder llevar a cabo un conteo de células, esto implica la utilización de colectores específicos como las botellas tomamuestras, ya sean verticales, Niskin y horizontales, Van Dorn (Fig. 127).



Figura 127. Botellas tomamuestras tipo Niskin izquierda y Van Dorn derecha.

La cantidad de agua que se tome dependerá del número de variables que se vayan a medir, es común que se obtenga de tres a doce litros dependiendo de la capacidad de la botella tomamuestras, de esa muestra para el caso de la cuantificación de células basta con un litro, el cual se deposita en un frasco de preferencia de color ámbar, si el frasco es transparente entonces se deberá de cubrir ya sea con papel aluminio o con cinta para aislar de color negro y deberá de fijarse con lugol hasta alcanzar una tonalidad ámbar ligeramente claro, la muestra así obtenida posteriormente se llevará a un proceso de sedimentación en cámaras cilíndricas especiales tipo Kolwizt o bien en celdas Sedgewick rafter (Fig. 128).

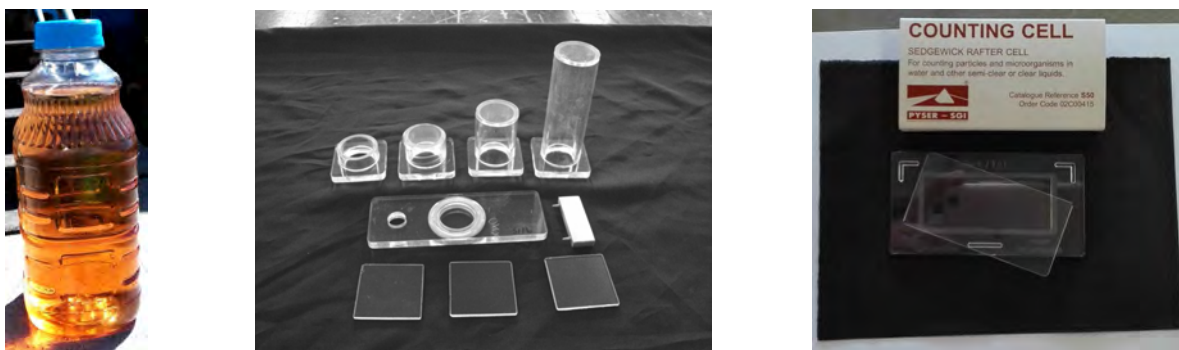


Figura 128. Izquierda muestra fijada con lugol, al centro cámaras cilíndricas tipo Kolwizt y a la derecha celda Sedgewick rafter.

1.1.1.2. Estudios cualitativos

La colecta para este tipo de investigaciones requiere solamente de redes de tipo cónico, cuya abertura de malla va desde 10.0 μm hasta 60.0 μm , los modelos de las mismas son muy variados, dependen del tipo de muestreo que se quiera realizar. Las más utilizadas son las de arrastre horizontal, llamadas redes cónicas, con una longitud promedio mayor a 150 cm y un diámetro del aro aproximadamente de 50 cm, ideales para las zonas con una profundidad mayor a los tres metros, a este tipo de redes se le agrega un peso llamado “muerto” en uno de los cabos del aro de entrada para mantenerla por debajo de la superficie (Fig. 129).

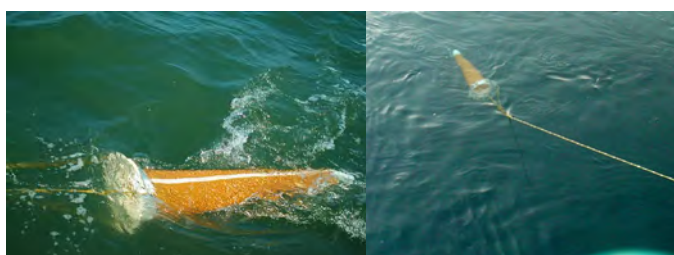


Figura 129. Redes de aro estándar para colecta horizontal, se muestra una red cónica con abertura de malla aproximadamente de 39.0 μm y una longitud de 150 cm, con un aro mayor de abertura de 50 cm de diámetro.

Para llevar a cabo un muestreo en la provincia nerítica, se requiere de una embarcación, mínimamente de 7 m de eslora y motor fuera de borda, lo cual implica poder realizar muestreos en círculo o en zig-zag (Fig. 130), el tiempo de arrastre dependerá del color y transparencia del agua, entre más verdosa y menos transparente sea el arrastre deberá de ser entre 2 y 3 minutos, si el agua es más azulosa y mayor la transparencia se aumentará el tiempo de arrastre hasta los 5 minutos.

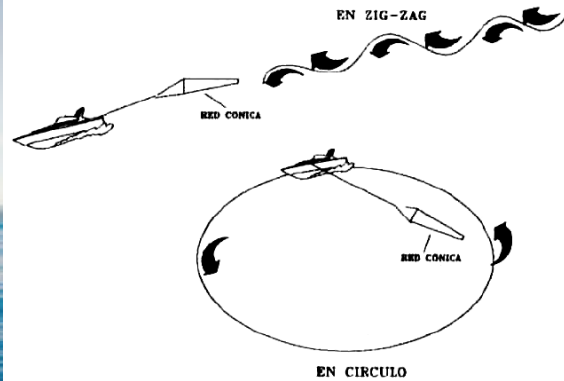


Figura 130. Muestreo de plancton marino por arrastre en la provincia nerítica, a la izquierda se muestra el tipo de embarcación a utilizar y a la derecha los modelos de arrastre superficial.

Para el caso de la provincia oceánica forzosamente se deberá de utilizar una embarcación de mayor calado, como los buques oceanográficos, el arrastre se realiza de manera vertical con la ayuda de un winche con motor (Fig. 131), a una velocidad aproximada a las 30 rpm, la profundidad del arrastre dependerá de la ubicación del mínimo de luz detectado.

El agua filtrada se deposita en frascos de plástico con una capacidad de 250 ml, previamente se le colocará a dicho embace con marcador de tinta permanente lo siguientes datos: fecha, localidad, coordenadas, hora de colecta, tipo de muestreador, tipo de fijador, nombre del colector, además de 10 ml de formol concentrado neutralizado con bórax, para que la muestra quede a una concentración final de formol al 4 %, el bórax cambia el pH del formol haciéndolo neutro, y de esta manera se evita la degradación de las estructuras que contengan carbonato de calcio como es el caso de los cocolitofóridos y los foraminíferos, entre otros.



Figura 131. Muestreo de plancton marino por arrastre vertical en la provincia oceánica, a la izquierda se muestra el B/O El Puma de la UNAM y al centro y derecha el winche y la red cónica de arrastre.

La recolecta de plancton en sistemas someros como las lagunas costeras, marismas, manantiales, desembocadura de arroyos, esteros, entre otros, puede realizarse con red cónica de aro o de cuchara, en forma estacionaria (Fig. 132). El agua requiere de un filtrado de la misma mayor de 200 l, para lo cual se utiliza una cubeta de preferencia de cuatro litros de capacidad, con la cual se obtiene de manera directa el agua para depositarla en la red cónica.



Figura 132. Muestreo estacionario, red cónica para arrastre con una longitud aproximada de 50 cm, aro mayor de 25 cm y una abertura de malla más o menos de 39 μ m.

Otra forma de capturar el agua es mediante un arrastre, lo cual se puede realizar con una red de cuchara o una de arrastre, la longitud de ambas es la misma, al igual que el diámetro del aro mayor y la abertura de malla, 39 μ m (Fig. 133), este arrastre se puede llevar a cabo a pie sumergido en el agua, si el sistema lo permite, o bien a bordo de una embarcación pequeña ya sea impulsada por remos o con motor fuera de borda de 4 hp.



Figura 133. Muestreo por arrastre en sistemas someros, izquierda con red cónica de arrastre y derecha con red de cuchara.

Al igual que las muestras obtenidas en sistemas profundos las muestras se fijan a una concentración final de formol al 4 % neutralizado con bórax.

Es importante mencionar que cuando existen fenómenos como las “mareas rojas” o Florecimientos Algales Nocivos, FAN, el arrastre se suprime ya que las aberturas de la malla de la red se colmatan inmediatamente y se corre el riesgo de que se rompa, en esos casos la muestra se obtiene de manera directa ya sea mediante una red cónica por arrastre vertical manual o mediante una cubeta de 19 l.

1.1.2. Colecta de protistas bentónicos

Los protistas del bentos, es una comunidad multiespecífica, generalmente en forma de película “biofilm”, asociada a diferentes sustratos, macroalgas, pastos marinos, troncos sumergidos, esqueletos de coral, corales vivos, rocas, arena y sedimentos arcillosos, incluso en el detritus submarino, entre otros. Por sus hábitos de vida podemos subdividirlos en:

- Endobiontes, aquellos que viven en simbiosis en el interior de tejidos de pólipos, típicamente en los corales.
- Epibiontes, son protistas que se encuentran asociados de manera externa, se pueden dividir de acuerdo al tipo de sustrato en:
 - Epífitos, sobre algas y fanerógamas marinas.
 - Epixilóticos, sobre troncos sumergidos.
 - Epilíticos, sobre sustratos rocosos, concretos e incluso podemos considerar aquí los que están en partes metálicas sumergidas.
 - Epipsámicos, aquellos que viven adheridos o sobre los granos de arena en aguas marinas superficiales, aquí podrían considerarse también los que viven sobre sedimentos arcillosos.

Los métodos de colecta básicamente se pueden dividir en dos, manuales y con dragas, ambos pueden ser aplicados a estudios cuantitativos y/o cualitativos.

1.1.2.1. Colecta de protistas epífitos

Las colectas se realizan de los sustratos macroalgales de los grupos de algas verdes Chlorophyta, algas rojas Rhodophyta y algas pardas Phaeophyceae.

La obtención de las macroalgas se lleva a cabo en la zona mesolitoral o intermareal, se realiza con la ayuda de una espátula, considerando la exposición al oleaje, expuestas, semiexpuestas o no expuestas, los ejemplares colectados se depositan en bolsas de plástico de 30 x 30 cm, en la cual se coloca una pequeña etiqueta de papel herculene de 4x4 cm donde se anotan los siguientes datos: fecha, localidad, coordenadas, fijador utilizado y nombre del colector, la fijación se realiza con formol neutralizado con bórax a una concentración final al 4 % (Ceballos *et al.* 2015), después de 24 h de fijación, se vacía el agua formolada en frascos de plástico de 250 ml y se lleva a cabo una limpieza de los ejemplares macroalgales, eliminando los micromacroinvertebrados con la ayuda de pinzas y agujas de disección, ambas muestras, el agua formolada y las macroalgas, se trasladan al laboratorio donde se llevará a cabo su posterior tratamiento.

Ya en laboratorio los protistas se obtienen de dos maneras: a) directamente de los talos mediante frotación ligera con un cepillo pequeño de sedas finas y suaves (Fig. 134), para evitar el desprendimiento de las células de las macroalgas y solo capturar los protistas y b) a partir de la revisión del agua formolada, debido al posible desprendimiento de los protistas asociados a los talos por acción del formol al ser agregado para la fijación.



Figura 134. Material para la obtención de protistas epífitos, a la izquierda cepillo limpiador, a la derecha macroalgas.

1.1.2.2. Colecta de protistas epipsámicos

Para la captura de protistas de sedimento se puede emplear una draga Petersen con una capacidad de 0.2 m^2 , o bien un nucleador cilíndrico (Fig. 135). Las muestras se depositan en bolsas de plástico de $30 \times 30 \text{ cm}$ y se fijan con formol neutralizado con bórax a una concentración final del 5 %, a dicha bolsa se le agrega una pequeña etiqueta de papel herculene de $4 \times 4 \text{ cm}$ con los siguientes datos: fecha, localidad, coordenadas, fijador utilizado, tipo de muestreador y nombre del colector. Los sedimentos así obtenidos se trasladan al laboratorio para su posterior tratamiento.

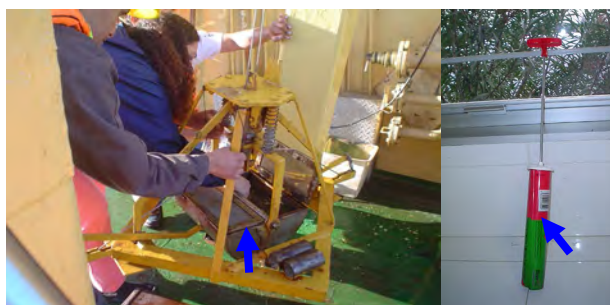


Figura 135. Colectores para protistas epipsámicos, izquierda draga Petersen y derecha nucleador cilíndrico.

2. DESARROLLO DE LA PRÁCTICA DE CAMPO

2.1. Objetivo

Que los alumnos desarrollen habilidades y destrezas con relación al uso de instrumentos y equipo de campo, para la obtención de ejemplares de protistas, así como, determinar las variables ambientales fisicoquímicas de los sistemas muestreados, que les permitan tener una perspectiva de las condiciones bajo las que se desarrollan los protistas costeros y marinos.

2.1.1. Equipo y Materiales para la Colecta de Protistas Planctónicos y Bentónicos

- Red cónica de cuchara
- Red cónica para arrastre
- Draga Petersen
- Nucleador cilíndrico
- Termómetro de mercurio
- GPS y brújula
- Kit para variables fisicoquímicas
- Salinómetro
- Equipo para oxígeno disuelto
- Disco de Secchi
- Cepillitos interdentes para braquets
- Lugol concentrado
- Vernier milimétrico
- Formol concentrado neutralizado con bórax
- Sonda graduada en metros
- Espátula
- Frascos de plástico de 250 ml
- Frasquitos ampolleteros
- Papel indicador de pH
- Papel aluminio
- Etiquetas de papel herculene de 4x8 cm
- Libreta de tránsito o de nivel
- Marcador grueso de tinta permanente contra el agua
- Lápiz Mirado N° 2
- Escalas de Beaufort y Douglas

2.1.2. Determinación de variables fisicoquímicas

Antes de iniciar la colecta de plancton es necesario realizar la determinación de las variables fisicoquímicas mencionados en los objetivos, para lo cual se deberán de tomar en cuenta los siguientes pasos:

- a) Determine la transparencia del sistema mediante el disco de Secchi, las unidades a utilizar serán los centímetros.
- b) Obtenga la profundidad del medio, para lo cual se auxiliarán del disco de Secchi, las unidades serán los centímetros o metros o bien en brazas.
- c) Determine la temperatura del agua (superficie y fondo), y a la sombra la del aire.
- d) Mediante el kit determine el oxígeno disuelto, el pH y la conductividad.
- e) Por medio del salinómetro determine la salinidad.
- f) Establezca el porcentaje de nubosidad.
- g) Utilizando la escala de Beaufort y Douglas determine la velocidad y la dirección del viento con ayuda de la brújula, además establezca el estado del mar.

2.1.3. Colecta de plancton en sistemas someros

- a) Para los sistemas someros utilice redes de cuchara, con una abertura de malla aproximada de 39 μm . Efectué varios arrastres manuales en forma de ochos durante un tiempo aproximado de cinco minutos.

b) Preparar un frasco de plástico de 250 ml con tapa y empaque, etiquetado con plumón de tinta permanente y marcando con una línea el nivel de 240 ml hasta donde debe llegar la muestra filtrada (Fig. 136) para que al agregar el formol la misma quede a una concentración final del 4 %.

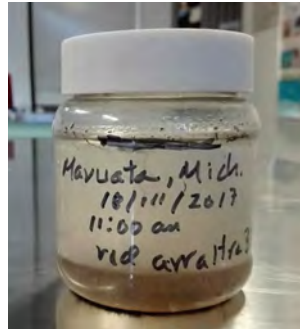


Figura 136. Frasco con muestra filtrada, la línea negra marca el nivel de 240 ml de concentrado, para agregar 10 ml de formol neutralizado con bórax.

c) Vacíe el agua filtrada en el frasco y de ser necesario repita la operación de arrastre para completar una muestra de 240 ml, agregue el formol necesario para que ésta quede al 4 %.

2.1.4. Colecta de plancton en sistemas pelágicos

a) Para el caso de las aguas pelágicas de mar abierto, utilice una red de arrastre de aproximadamente 1.20 m de longitud y un diámetro del aro mayor de 50 cm, con abertura de malla de 39 μm o menos (Fig. 137).

b) Previo al arrastre, la red junto con su frasco colector se atará a un cabo con una longitud aproximada de 30 m, además deberá de amarrarse un peso muerto con una cuerda de aproximadamente 1.5 m donde se une uno de los cabos al aro de la red, que permita mantener la red sumergida (Fig. 137).

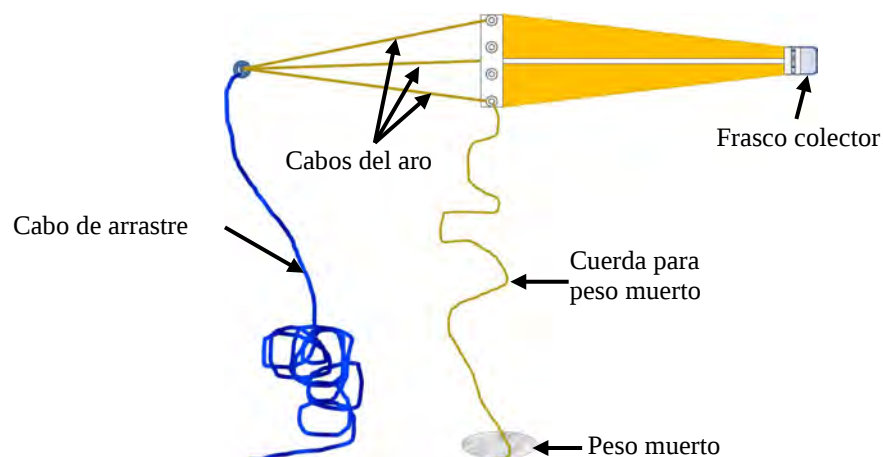


Figura 137. Red cónica de arrastre para aguas pelágicas, se muestran los cabos, el frasco colector y el peso muerto.

c) El muestreo deberá de realizarse a bordo de una lancha con motor fuera de borda, el arrastre deberá de llevarse a cabo de manera circular lo más amplio posible y a la velocidad más baja de la lancha, con la red por dentro del círculo para evitar su posible rompimiento por la propela del motor (Fig. 138).

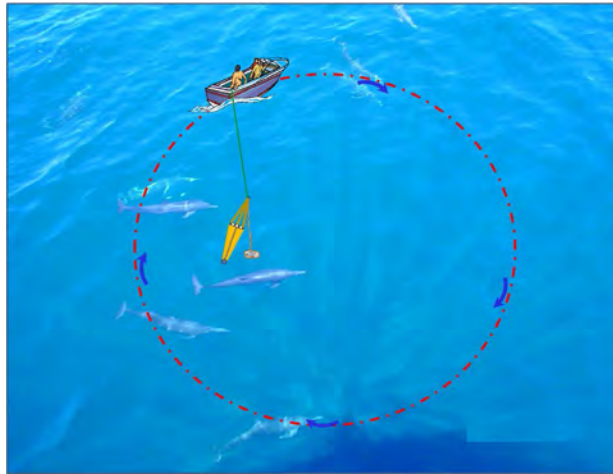


Figura 138. Arrastre circular con lancha con motor fuera de borda.

d) La duración del mismo dependerá de la transparencia y del color del agua, a mayor transparencia, más o menos de seis metros en adelante, mayor el tiempo de arrastre hasta alcanzar un máximo de cinco minutos, si la transparencia es menor de seis metros entonces el arrastre se reducirá hasta aproximadamente tres minutos.

e) El frasco colector tiene un volumen de 250 ml, por tal motivo solo deberá realizarse un arrastre por cada dos equipos, dividiéndose la muestra para vaciarse a un frasco de plástico previamente etiquetado con marcador de tinta permanente y señalando con una línea el nivel que debe alcanzar la muestra para agregar el formol concentrado neutralizado con bórax, de tal manera que la muestra quede fijada a una concentración final de 4 %.

2.1.5. Colecta de protistas epífitos y endófitos

a) Colectar algas pardas, rojas y verdes, cilíndricas y laminares, mediante una espátula, colocándolas en una bolsa de plástico, a dicha bolsa se le colocará una etiqueta de papel herculene de 4x8 cm, anotando con lápiz los datos correspondientes a la colecta (Fig. 139) y manteniéndolas siempre frescas dentro de una cubeta con agua del medio en un lugar sombreado.

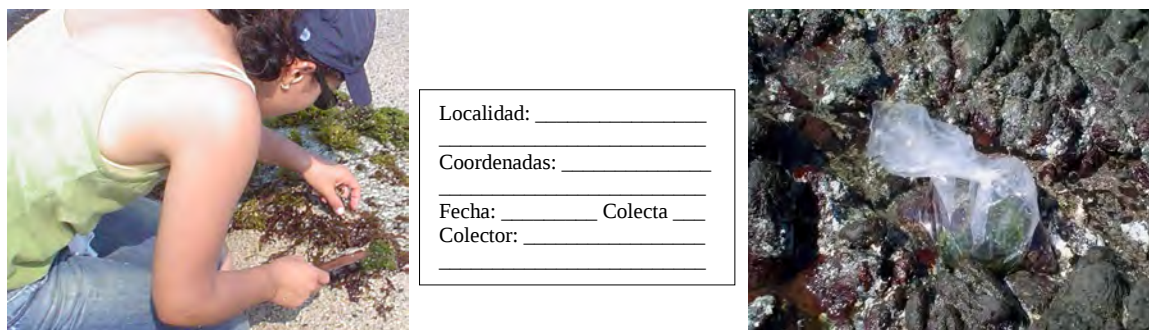


Figura 139. Colecta de material ficológico, a la izquierda uso de espátula, centro etiqueta de papel herculene y derecha bolsa de plástico con ejemplares recién

b) El material deberá de transportarse al área de trabajo donde se procesará, primero eliminando los microinvertebrados, que deberán de depositarse en un frasquito ampolletero con agua del medio preparada a una concentración final de alcohol al 10 % y su respectiva etiqueta (Fig. 140).



Figura 140. Limpieza de microinvertebrados, a la derecha frasco ampolletero con microinvertebrados en alcohol al 10%.

c) Una vez eliminados los microinvertebrados, se procede a la obtención de los protistas epífitos y endófitos, para lo cual primero se prepara un frasco con formol neutralizado con bórax y agua de mar a una concentración final del 4 %, enseguida se llevará a cabo un cepillado suave sobre la superficie de los talos de las algas, procurando que el contenido arrastrado por el cepillito interdental entre en el frasco previamente preparado y etiquetado (Fig. 141), los datos de la etiqueta de este frasco corresponderán a los mismos de la etiqueta de la bolsa donde se transportaron las macroalgas.



Figura 141. Limpieza del talo de macroalgas mediante cepillo interdental.

d) Si el objetivo es realizar un conteo para obtener la abundancia de los protistas, entonces se deberá de sacar la superficie del área cepillada, de preferencia esto se realizará mediante un vernier y las células se reportarán en cels/área.

e) Algunos protistas son endófitos sobre todo en talos laminares gruesos o en talos cilíndricos de las algas pardas y rojas, para tal caso, el material colectado debemos de colocarlo en una bolsa de plástico, agregando formol neutralizado con bórax a una concentración final del 4 % con agua de mar y agitando vigorosamente para permitir que al romperse los talos se desprendan también los protistas endófitos.

f) El material así obtenido deberá de pasarse por un tamiz de una abertura de malla de aproximadamente 150 μm para retener los restos de los talos, el líquido resultante deberá de colocarse en un frasco de plástico de 250 ml para su posterior revisión y tratamiento.

2.1.6. Colecta de protistas epipsámicos y bentónicos en sustratos blandos

a) Para la zona mesolitoral de playas arenosas, en especial de arenas de grano muy fino, se requiere esperar a que baje la marea para coleccionar directamente con una pala de jardinero o bien utilizando un nucleador, elaborado a partir del cilindro metálico o de pvc de una bombilla para desinfectante (Fig. 142).

b) La muestra se colocará en papel aluminio, roseándola con una solución de formol al 4 % neutralizado con bórax y preparada con agua del medio, la cual se depositará en una bolsa de plástico a la que se le agregará una etiqueta de papel herculene de 4x8 cm con los datos de la colecta.



Figura 142. Izquierda obtención de núcleo, derecha barra de núcleo

c) Las muestras de fondos blandos menores a tres metros se obtienen mediante una draga tipo Ekman (Fig. 143), ya sea a bordo de una embarcación o de forma manual, para saber si existen fondos blandos de donde se van a sacar las muestras es necesario una consulta con los pescadores quienes tienen una mayor experiencia en el conocimiento de las zonas a muestrear, una vez obtenidos los sedimentos directamente de la draga se obtiene una submuestra mediante una cuchara de jardinero y repita la misma operación del paso b).



Figura 143. Obtención de sedimentos blandos de zonas menores a tres metros de profundidad por medio de una draga tipo Ekman.

ANEXO 2: ENLACES PARA VIDEOS

PRÁCTICA No 1. CONOCIMIENTOS BÁSICOS DE MICROSCOPIA Y MORFOLOGÍA GENERAL

<https://www.youtube.com/watch?v=LXbWgRwXFPk&t=2s>
https://www.youtube.com/watch?v=H75_-bgcavY&t=1s
<https://www.youtube.com/watch?v=NepvSAJhlkw>
<https://www.youtube.com/watch?v=vnQqhRyexfY>
<https://www.youtube.com/watch?v=KSSXirH3T0c>
<https://www.youtube.com/watch?v=8yTtm5nDnWk>
<https://www.youtube.com/watch?v=WFpBRfLtbIo>

PRÁCTICA No 3. CRYPTOPHYTA (Criptomónidos)

<https://www.youtube.com/watch?v=g6kXduiDrF0>

PRÁCTICA No 4. DYNOPHYCEAE (Dinoflagelados)

<https://www.youtube.com/watch?v=ay-b3RbMzmo>
<https://www.youtube.com/watch?v=8lXusmvqq2E>
<https://www.youtube.com/watch?v=hrsgHB--ccY>
<https://www.youtube.com/watch?v=NkmDM9q84fs>
<https://www.youtube.com/watch?v=sw4HsTa1XUs>

PRÁCTICA No 5. XANTHOPHYCEAE (tribofíceas)

<https://www.youtube.com/watch?v=D3BMHOBm70A>
<https://www.youtube.com/watch?v=9Uq7kd-N1Ck>

PRÁCTICA No 6. CHRYSOPHYCEAE (Algas doradas), DICTYOCOPHYCEAE (Silicoflagelados) Y RAPHIIDOPHYCEAE

<https://www.youtube.com/watch?v=8izBgYtEJuY>
https://www.youtube.com/watch?v=vpIeI9qf_UQ

PRÁCTICA No 7. BACILLARIOPHYTA (Diatomeas radiales)

<https://www.youtube.com/watch?v=x38PP-OGww0>
<https://www.youtube.com/watch?v=IpfqhpA8Pi4>
<https://www.youtube.com/watch?v=vnQqhRyexfY>
<https://www.youtube.com/watch?v=MoZG1AUEubg>
<https://www.youtube.com/watch?v=A9FQXaWg2Bo>
<https://www.youtube.com/watch?v=ZA2Tyfh9KqI>
<https://www.youtube.com/watch?v=v3R056t5QP0>

PRÁCTICA No 8. BACILLARIOPHYTA (Diatomeas bilaterales)

<https://www.youtube.com/watch?v=AzWolPrYKBw>
https://www.youtube.com/watch?v=DpNZBjEK_w8
<https://www.youtube.com/watch?v=puBqrSRJYD4>
https://www.youtube.com/watch?v=DpffRw_EJXU

PRÁCTICA No 9. HAPTOPHYTA (Cocolitofóridos)

<https://www.youtube.com/watch?v=td557Vdlu8Q>

PRÁCTICA No 10. EUGLENOPHYCEAE (Euglénidos)

<https://www.youtube.com/watch?v=dbMrJ-TkR28>

<https://www.youtube.com/watch?v=l33O7Hsjs-A>

<https://www.youtube.com/watch?v=j0CzBb18Ym0>

<https://www.youtube.com/watch?v=LyF05Oko8tY>

<https://www.youtube.com/watch?v=dqVKGp2172U>

<https://www.youtube.com/watch?v=1KopXqZ5zRs>

<https://www.youtube.com/watch?v=zkONlPI-RMM>

<https://www.youtube.com/watch?v=RHjFl5tgqTQ>

<https://www.youtube.com/watch?v=qkZpGgdc88w>

<https://www.youtube.com/watch?v=R5FXWvIJ2mk>

PRÁCTICA No 11. PROTOZOOS SARCODINOS (de vida libre dulceacuícolas y marinos)

<https://www.youtube.com/watch?v=mphQfogcDDI>

<https://www.youtube.com/watch?v=EbXVuBVOxKo>

<https://www.youtube.com/watch?v=7Oark6BvzEQ>

<https://www.youtube.com/watch?v=uswEztMU7qM>

<https://www.youtube.com/watch?v=uMZdthLu8fo>

<https://www.youtube.com/watch?v=-jpJhDHSWow>

<https://www.youtube.com/watch?v=1ytC99Nf7kY>

<https://www.youtube.com/watch?v=BTHAoDm1wCE>

<https://www.youtube.com/watch?v=rAkzrXxS2tl>

<https://www.youtube.com/watch?v=AOEUrc1IN9w>

<https://www.youtube.com/watch?v=z1XwOA7Fc-o>

<https://www.youtube.com/watch?v=IUVY1zksch0>

PRÁCTICA No 12. PROTOZOOS CILIADOS (de vida libre dulceacuícolas y marinos)

<https://www.youtube.com/watch?v=WfpBRfLtbIo>

https://www.youtube.com/watch?v=tN_OsouJ_e4

<https://www.youtube.com/watch?v=pzrLj-RZPcQ>

<https://www.youtube.com/watch?v=Q27tRX5-UWg>

<https://www.youtube.com/watch?v=MVZVkY490vg>

<https://www.youtube.com/watch?v=lG1qFJDTLqM>

<https://www.youtube.com/watch?v=Y3sZ2UHla5Q>

<https://www.youtube.com/watch?v=Y3sZ2UHla5Q>

PRÁCTICA No 13. PROTOZOOS ASOCIADOS PARÁSITOS

<https://www.youtube.com/watch?v=kOrsI-VWDrc>

<https://www.youtube.com/watch?v=wEeMGwZM6c8>

<https://www.youtube.com/watch?v=aYQhYrydRhQ>

https://www.youtube.com/watch?v=VRMv_lzhMZc

<https://www.youtube.com/watch?v=HlhYAyNy36g>

<https://www.youtube.com/watch?v=P9va64T8H2s>

<https://www.youtube.com/watch?v=tfdo3SShy9c>

<https://www.youtube.com/watch?v=OhkIJBIPZnU>
<https://www.youtube.com/watch?v=ee159M3wxA8>
<https://www.youtube.com/watch?v=uO58oIMmPrQ>
<https://www.youtube.com/watch?v=A9G6mGXmWcQ>

PRÁCTICA No 14. CROMISTAS Y PROTOZOOS ASOCIADOS NO PARÁSITOS

https://www.youtube.com/watch?v=nxhT_GdObzk
<https://www.youtube.com/watch?v=V71CC5rJdEU>
<https://www.youtube.com/watch?v=-4a3TWNre7s>
https://www.youtube.com/watch?v=G_sT3iiRHD0
<https://www.youtube.com/watch?v=NOzwGSAPpmo>
<https://www.youtube.com/watch?v=HOx7SDdIqyU>