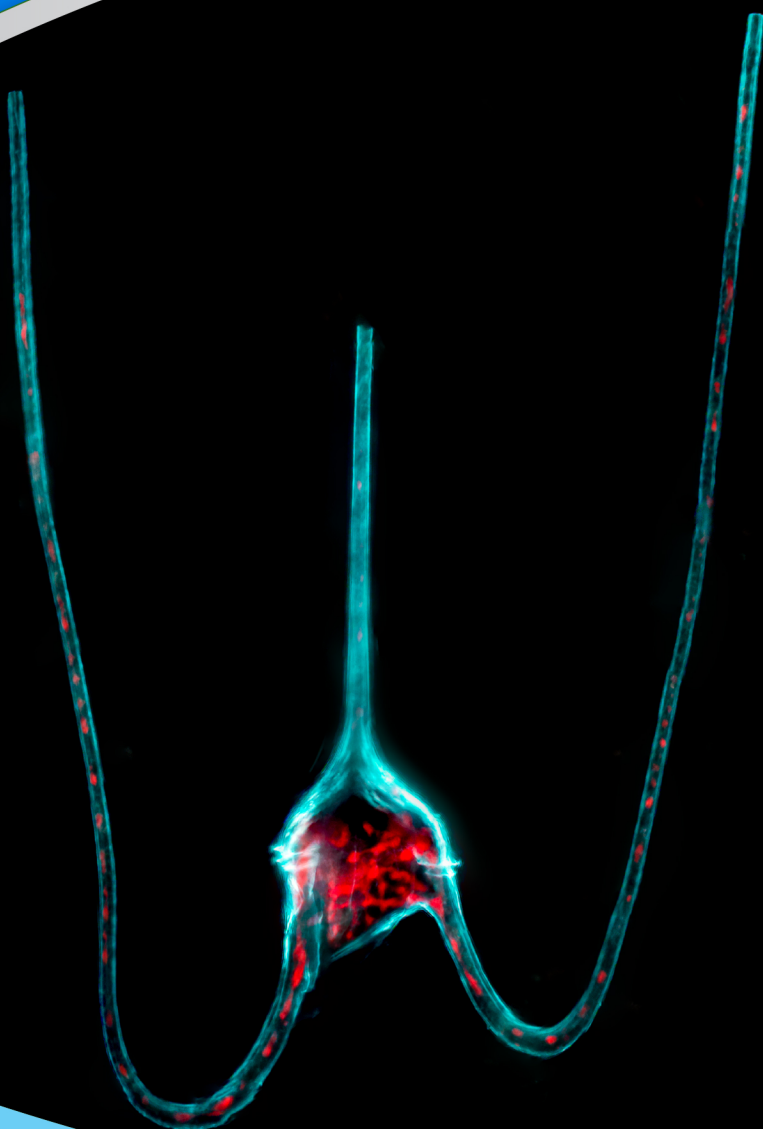


Fitoplancton

María Eugenia
Zamudio Resendiz

Sinuhé
Hernández Márquez

Ana Karen
Balboa Calvillo



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA UNIDAD IZTAPALAPA

RECTOR GENERAL

Dr. José Antonio de los Reyes Heredia

SECRETARIA GENERAL

Dra. Norma Rondero López

UNIDAD IZTAPALAPA

RECTORA

Dra. Verónica Medina Bañuelos

SECRETARIO

Dr. Javier Rodríguez Laguna

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE C. B. S.

Dr. José Luis Gómez Olivares

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE HIDROBIOLOGÍA

M. en B. E. Sergio Humberto Álvarez Hernández

COORDINADOR DE EXTENSIÓN UNIVERSITARIA

Dr. Rodolfo Palma Rojo

JEFE DE LA SECCIÓN DE PRODUCCIÓN EDITORIAL

Adrian Felipe Valencia Llamas

Primera edición 2023

ISBN: 978-607-28-3001-1

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

Av. Ferrocarril San Rafael Atlixco, Núm. 186, Col. Leyes de Reforma 1A Sección,
Alcaldía Iztapalapa, C.P. 09310, Ciudad de México. Tel.: 5804 4600

Impreso y hecho en México/*Printed in Mexico*

En portada: *Tripes macroceros* (Ehrenberg) Hallegraef & Huisman, de la Bahía de Acapulco, México. Fotografía tomada por Uriel Tenatic Ruíz García miembro del Laboratorio de Fitoplancton Marino y Salobre de la UAM-Iztapalapa y gran divulgador científico en Instagram @microbe_guru.

Contenido

Presentación	9
Contenido sintético de la UEA Fitoplancton	11
Modalidades de conducción del proceso de Enseñanza-Aprendizaje	13
Modalidades de evaluación	13
Reporte de práctica	13
Reglamento del laboratorio de fitoplancton	15
Microscopia, iluminación de Köhler, y calibración métrica	17
El plancton, observación, niveles de organización y diferenciación	23
Reconocimiento e identificación básica de organismos de la División Cyanobacteria (Algas verde-azules)	31
Reconocimiento e identificación básica de las Divisiones Chlorophyta y Charophyta (Algas verdes) con tinción de almidón	35
Reconocimiento e identificación básica de organismos de la División Euglenozoa	39
Reconocimiento, tinción, identificación básica y ruptura de placas de organismos de la División Dinoflagellate (Dinoflagelados)	43
Reconocimiento e identificación básica de organismos de la División Bacillariophyta o Heterokontophyta (Diatomeas)	49
Limpieza de diatomeas	53
Densidad y abundancia relativa de fitoplancton	57
Técnicas asociadas al cultivo de microalgas planctónicas marinas	63
Determinación de clorofila - a, b y c	69



Dedicatoria

A la **Dra. Ma. Esther A. Meave del Castillo** incansable ficóloga, investigadora y profesora muy querida en la Licenciatura en Hidrobiología, descansa en paz.



Agradecimientos

A David Balboa Calvillo por su contribución al esquema de las figuras 18 y 20.

A los tres revisores anónimos

Presentación

El programa educativo de la licenciatura de Hidrobiología de la UAM-Iztapalapa, tiene como finalidad formar jóvenes con habilidades y competencias que les permitan identificar, evaluar, diagnosticar y resolver los problemas relacionados con la gestión y aprovechamiento de los ecosistemas acuáticos y sus recursos. Como parte de dicha formación, en esta licenciatura se imparte la Unidad de Enseñanza-Aprendizaje de Fitoplancton y el presente manual contribuye al aprendizaje teórico-práctico de dicha asignatura.

El objetivo de este manual es proporcionar las herramientas prácticas relacionadas con el aprendizaje y formación de estudiantes de la licenciatura de Hidrobiología, con la finalidad de que adquieran las competencias de formación académica en el área de Fitoplancton y conozcan la importancia de la identificación y evaluación ecológica de estos organismos.

Este manual está diseñado para integrar diferentes metodologías ya establecidas y/o modificadas a lo largo de los años para el estudio del fitoplancton con diferentes fines, sean ecológicos, taxonómicos, de toxinas o de citología con el fin de sumar al mejor entendimiento de los alumnos.

Contenido sintético de la UEA Fitoplancton

Caracterización de la comunidad planctónica

Definiciones y clasificaciones

Métodos de estudio del fitoplancton

Diversidad.

- Bioquímica

- Genética

- Taxonómica

Ecología y geografía

- Factores limitantes

- Sucesiones temporales

- Ambientes y regiones

Importancia económica del fitoplancton

- Problema de trasportación de organismos en agua de lastre

- Mareas rojas y florecimientos nocivos

- Biotecnología: cultivos, alimentación, acuicultura

Modalidades de conducción del proceso de Enseñanza-Aprendizaje

Como parte de la UEA de Fitoplancton, al principio del trimestre el profesorado presentará el contenido de la UEA y los criterios de evaluación, donde se aclarará el porcentaje de calificación que corresponda al laboratorio.

La parte práctica de la UEA constará de 11 sesiones de prácticas de acuerdo con el presente manual y a criterio del profesorado se podrá desarrollar un tema de investigación a desarrollar a lo largo del trimestre.

Modalidades de evaluación

Para acreditar la parte práctica de la UEA de Fitoplancton se deberá cumplir con los reportes de prácticas de acuerdo con las características que se piden a continuación, el reporte se realizará por equipos integrados por 4 a 6 personas, aunque esto podría ajustarse considerando el número de alumnos por trimestre.

Reporte de práctica

El reporte de práctica debe contener las siguientes partes, en el orden que se mencionan:

Portada: Que contenga como mínimo el nombre de la práctica y de los integrantes del equipo que la presentan.

Introducción: No mayor de una cuartilla y sobre el tema a tratar, con citas de literatura científica relacionada con el tema y con formato Harvard. No repetir la introducción que se incluye en este manual.

Objetivos, métodos y materiales: Estos serán proporcionados por el profesorado.

Resultados: Los obtenidos de la práctica, de acuerdo con las indicaciones especificadas en cada una de ellas.

Discusión: De los resultados y si se cubrieron los objetivos planteados, apoyándose de literatura científica, la cual deberá ser debidamente citada.

Referencias: Que incluya toda la literatura citada en introducción, resultados y discusión, con formato Harvard.

Reglamento del laboratorio de Fitoplancton

- Uso obligatorio de bata de laboratorio en todo momento.
- En ninguna circunstancia se puede ingerir alimentos, beber o masticar chicle dentro del laboratorio.
- El alumno debe acudir a las prácticas sólo en presencia de su profesorado y debe abandonar el laboratorio al término de estas.
- Asistir puntualmente en la fecha y hora.
- Hacer uso adecuado de las instalaciones, mobiliario, instrumental, materiales y sustancias respetando los recursos universitarios.
- El alumno es responsable del material, aparatos y mobiliario que utilice, en caso de que se dañen se tendrán que reponer.
- El área del laboratorio es exclusivamente para realizar el trabajo de la práctica; cualquier tipo de acción ajena deberá evitarse dentro de esta área.
- Todo material inerte de desecho que no genere riesgo, después de haberse utilizado será depositado en el bote de basura.
- Los residuos generados ya sean químicos o biológicos se entregarán en contenedores debidamente marcados para ser inactivados según sea el caso.
- Al finalizar la práctica, se limpiará el área de trabajo y se entregarán los materiales utilizados limpios y en buenas condiciones.

Microscopía, iluminación de Köhler, y calibración métrica

Introducción

En el estudio del fitoplancton una herramienta indispensable es el microscopio, ya que los organismos más comunes son de tallas menores a 1 mm, por lo que para su observación es necesario hacer uso de instrumentos que permitan observar su morfología, por lo cual el conocimiento del uso correcto de los diferentes tipos de microscopios es fundamental.

Los microscopios mayormente utilizados son: microscopio (M) de luz, con óptica de campo claro y/o de contraste de fases, campo oscuro, M de fluorescencia, M invertido, M confocal, entre otros; así como microscopios especializados como el M electrónico de barrido (MEB) y el de transmisión (MET).

En la presente práctica se explicará el correcto uso del microscopio óptico de campo claro (Fig. 1), donde se necesita una iluminación uniforme en el área observada, esto es logrado a través de condensar, nivelar y hacer un centrado de la trayectoria de los haces luminosos que inciden en la muestra a observar. El profesor August Köhler utilizó por primera vez esta regulación exacta en la marcha de los haces luminosos, por lo que a la iluminación en campo claro se le conoce como iluminación según Köhler (Sandoval, 2005).

Una de las técnicas necesarias dentro del estudio taxonómico y biotecnológico del fitoplancton es poder medir a los organismos, para poderlos categorizar, estimar o hasta para identificarlos como especies, es por lo que la calibración métrica se vuelve importante dentro de la M de luz, para ello se ocupa una regla estandarizada grabada en un portaobjetos, esta es de un milímetro de longitud dividida en 100 micrómetros, los cuales sirven para calibrar el ocular con reglilla del microscopio con el fin de comprobar la correspondencia en las mediciones.

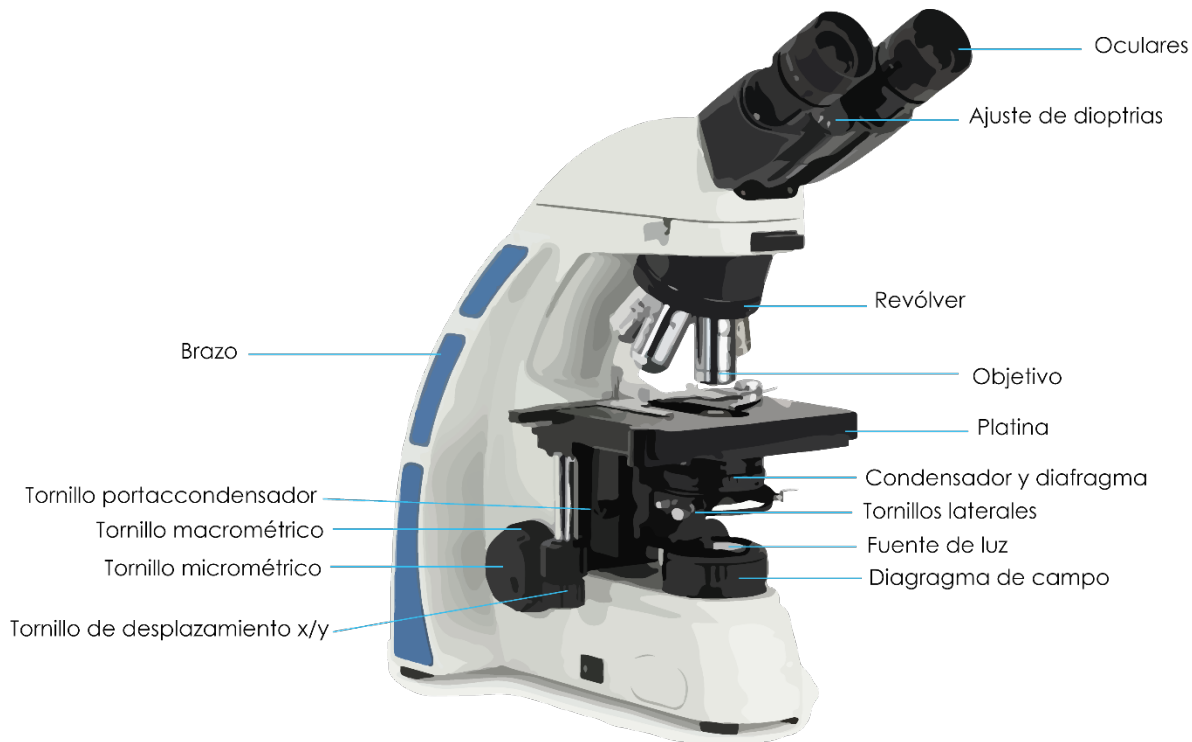


Figura 1. El microscopio y sus partes.

Objetivos

- Conocer las partes básicas del microscopio óptico, su uso y su limpieza.
- Realizar la iluminación de Köhler para campo claro.
- Aprender a calcular el aumento de los objetos observados a través del microscopio.
- Calibrar un microscopio y hacer mediciones (en μm) de organismos fitoplanctónicos.

Material y equipo

Material por equipo

2 Microscopios de campo claro

1 Ocular con regilla

Portaobjetos

Cubreobjetos

2 Pipetas Pasteur con bulbo

Papel Seda

Reactivos

Aceite de inmersión

1 Piseta con etanol

1 Piseta con agua destilada

Material biológico

Muestra de plancton fijada con formaldehído al 4%

Dulceacuicola

Salobre

Marina

Proporcionado por el alumno

Lapicero

Hojas de papel

Procedimiento experimental

Es fundamental conocer las partes de un microscopio, por ello con ayuda del esquema de la figura 2 seguir los pasos a realizar:

Limpieza de microscopio

Corroborar que los oculares y objetivos se encuentren limpios, para poder hacer una adecuada observación, por ejemplo, sin residuos de aceite, sales o agua; si se llegaran a encontrar realizar la limpieza con papel seda y agua destilada.

Montaje de muestra

1. Tomar muestra fijada líquida de fitoplancton con una pipeta Pasteur succionando lentamente de la parte profunda de la muestra dando ligeros toques con el fondo.
2. Sujetar el portaobjetos.
3. Depositar una gota de la muestra en el centro del portaobjetos.
4. Colocar el cubreobjetos en la parte lateral de la gota formando tensión superficial.
5. Dejar caer encima el cubreobjetos.

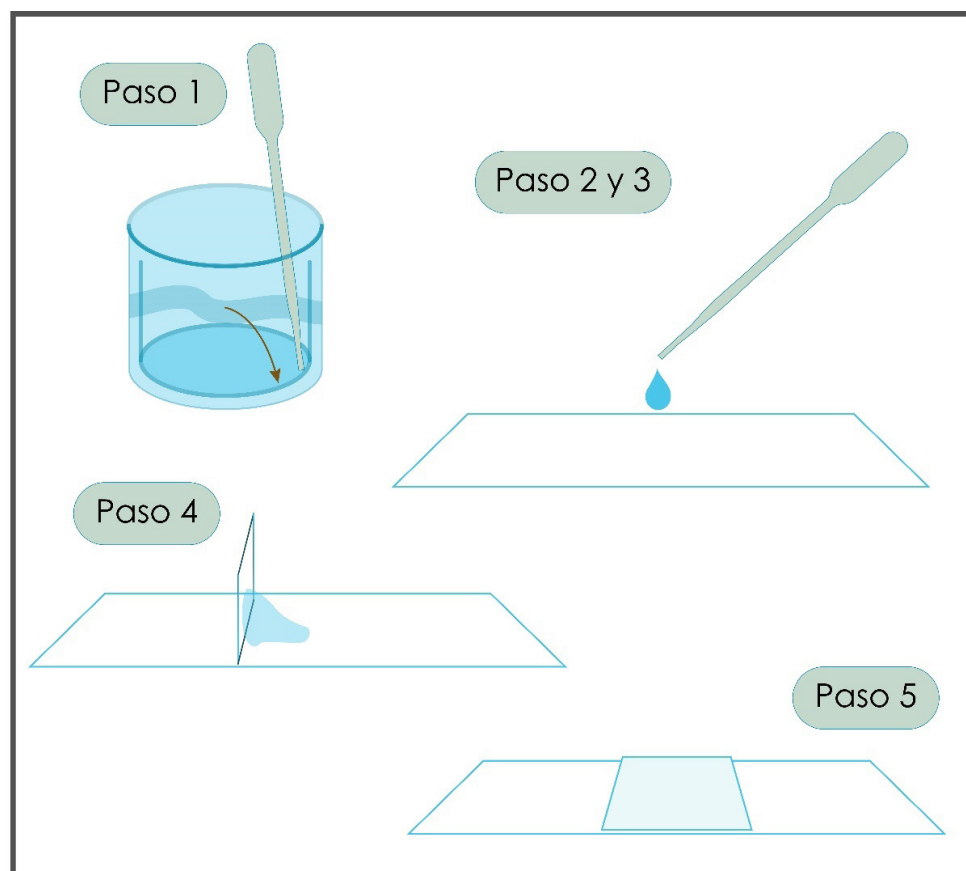


Figura 2. Metodología del montaje de muestra.

Iluminación de Köhler

1. Limpiar los objetivos, oculares y lámparas con papel seda.
2. Colocar la muestra montada en la platina.
3. Seleccionar el mínimo de intensidad luminosa.
4. Colocar el objetivo de 10x.
5. Ajustar la distancia interpupilar.
6. Enfocar la muestra con los tornillos macro y micrométrico.
7. Ajustar las dioptrías de agudeza visual.
8. Cerrar el diafragma del condensador (iris).

9. Subir el condensador hasta el tope, utilizando el tornillo del portacondensador (Fig. 3).
10. Cerrar el diafragma de campo (fuente de luz), analizar si se observa difuso o con un hexágono.
11. Con ayuda del tornillo del portacondensador, subir o bajar el condensador hasta ver nítido el borde del diafragma de campo que aparecerá como un polígono, en algunos casos se ve el borde mitad rojo y mitad azul.
12. Centrar el condensador con sus tortillos laterales.
13. Abrir el diafragma de campo y del condensador totalmente.
14. Ajustar intensidad de luz y ajustar contraste con el diafragma del condensador.
15. Observar la muestra.

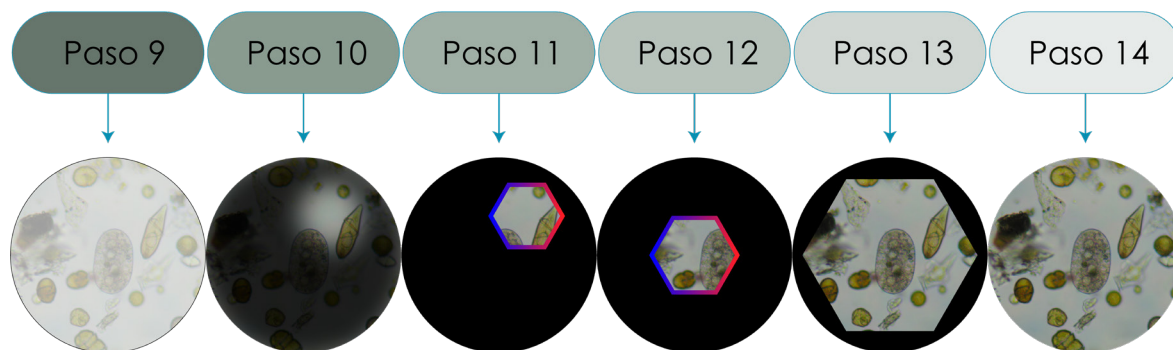


Figura 3. Observación del microscopio en la iluminación Köhler.

Calibración métrica

1. Colocar en la platina el portaobjetos con la reglilla de 1 milímetro, dividida en 100 unidades de 10 μm .
2. Enfocar a 10x y centrar la reglilla; observar.
3. En caso de que el ocular cuente con reglilla pasar al paso 5.
4. Quitar un ocular del microscopio y colocar cuidadosamente el ocular que cuente con la reglilla
5. Observar la reglilla del ocular y la reglilla grabada en el portaobjetos, después hacerlas coincidir en cero (Fig. 4).
6. Prestar atención a las escalas de ambas reglillas, ver en cuales coinciden o se superponen y de las que coincidan escoger la más apartada de cero, obteniendo así el dígito en micrómetros.
7. Calibrar el ocular aplicando una regla de tres de la siguiente manera:

$$\frac{(\text{No. de } \mu\text{m de la reglilla} \times 1 \text{ unidad del ocular})}{(\text{No. de unidades del ocular que se superponen})} = X \mu\text{m}$$

Por lo tanto, cada unidad del ocular valdrá X micrómetros.

Ejemplo:

$$\begin{array}{l} 10 \text{ unidades del ocular} \quad \text{_____} \quad 110 \mu\text{m de la reglilla} \\ 1 \text{ unidad del ocular} \quad \text{_____} \quad 11 \mu\text{m} \\ \hline \frac{(110 \mu\text{m de la reglilla} \times 1 \text{ unidad del ocular})}{/(10 \text{ unidad del ocular})} = 11 \mu\text{m} \end{array}$$

Por lo tanto, cada división del ocular valdrá 11 micrómetros.

8. Enfocar a 40x y a 100x.
9. Repetir los pasos 3 a 7.

10. Anotar las respectivas calibraciones para futuras mediciones dentro del manual.

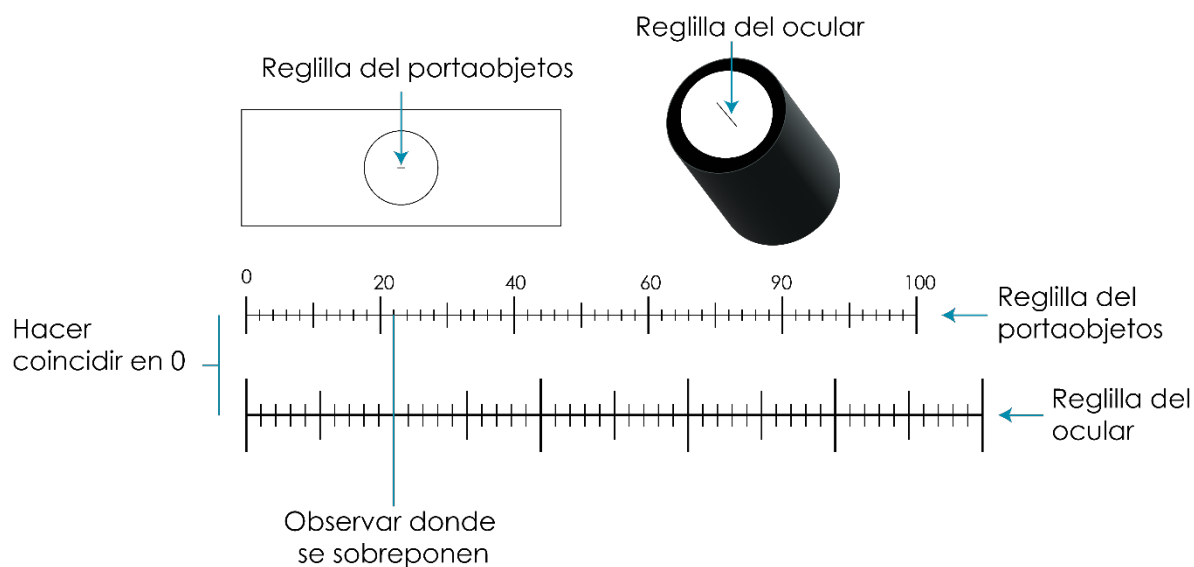


Figura 4. Observación de las reglillas.

Observación

1. Observar las muestras de fitoplancton fijadas con formaldehído al 4%.
2. Montar la muestra.
3. Esquematizar y fotografiar a los organismos.
4. Medir en diferentes aumentos los mismos organismos, si se identifican, medir también estructuras y nombrarlas.

Resultados

Presentar sus ecuaciones obtenidas en el reporte.

Mostrar los esquemas de al menos 10 organismos y de las posibles estructuras identificadas con medidas.

Discutir

Investigar las medidas de los organismos fitoplanctónicos y comparar con las medidas obtenidas, por ejemplo, si hay muchas diferencias o en qué categoría se encuentran.

Mencionar por qué es importante realizar la iluminación de Köhler y la calibración del microscopio.

Cuestionario

1. ¿Cuál es el aumento máximo que se puede obtener con un microscopio óptico?

2. ¿Por qué es importante que el microscopio este calibrado para observar el fitoplancton para su identificación?
3. ¿Por qué es necesario hacer la iluminación de Köhler para observar adecuadamente a los organismos fitoplanctónicos en el microscopio óptico?
4. ¿Qué microscopio se usaría para conocer el dato de densidad de células por litro del fitoplancton, en una determinada profundidad de la columna de agua?
5. ¿Qué microscopio se usaría para observar la teca de dinoflagelados con calcoflúor, este último es un tinte fluorescente?
6. ¿Qué tratamiento es necesario darles a las muestras de microalgas planctónicas para observarlas al microscopio electrónico de barrido?
7. ¿Qué diferencia hay entre la información que se puede obtener de las especies de fitoplancton, con un microscopio electrónico de barrido o con uno de transmisión? ¿Por qué es esto?
8. Si se desea observar con detalle el movimiento del flagelo y el tentáculo de ejemplares del dinoflagelado heterótrofo *Noctiluca scintillans*, ¿qué microscopio se debe usar? y ¿por qué?
9. ¿Cómo podría comprobar a qué grupo pertenece un organismo fitoflagelado encontrado en una muestra de fitoplancton? (es decir, que caracteres morfológicos tratarías de observar y en que microscopio harías tales observaciones)
10. ¿Qué microscopio se usaría para observar el tipo de cloroplasto de algas clorofitas o la posición del núcleo de dinoflagelados microplanctónicos?

Conclusiones

Basándose en los resultados obtenidos y en la discusión, mencionar si se cumplieron los objetivos de la práctica.

Referencias

- Boltoskoy, A. (1995). Técnicas de microscopía electrónica de barrido. Aplicación a las microalgas. En: Alveal, K., Ferrario, M.E., Oliveira, E.C. y Sar, E. (Eds.) Manual de Métodos Ficológicos. Anibal Pinto De. Concepción, Chile. Pp. 119-138
- Casartelli, J.D. (1968). Microscopía teórico-práctica. Ediciones Urmo. 182 p.
- Cáseres, E. (1995). Métodos de preparación de algas para su observación con microscopía electrónica de transmisión convencional (MERTC). En: Alveal, K., Ferrario, M.E., Oliveira, E.C. y Sar, E. (Eds.) (1995). Manual de Métodos Ficológicos. Anibal Pinto De. Concepción, Chile. Pp. 119-138.
- Ducolomb, Y., Fierro, R., González C., Ortiz, R. y Rodríguez, E. (2012). Manual de prácticas de laboratorio Biología Celular. Universidad Autónoma Metropolitana- Unidad Iztapalapa. 63 p.
- Guiry M.D. y Guiry G.M.E. (2023). AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <https://www.algaebase.org>. Última revisión realizada el 10 de enero del 2023.
- Lara-Villa, M.A. Moreno-Ruiz, J.L y Amaro E. (1996). Fitoplancton. Conceptos básicos y técnicas de laboratorio. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. 227 p.
- Meek, G.A. (1976). Practical electron microscopy for biologist. Wiley and Sons, Chichester, New York. 498 p.
- Sandoval, E. (2009). Técnicas aplicadas al estudio de la anatomía vegetal. Universidad Nacional Autónoma de México. Vol. 38. 278 p.
- Vázquez-Nin, G y Echeverría, O. (2000). Introducción a la Microscopía Electrónica Aplicada a las Ciencias Biológicas. Fondo de Cultura Económica. México. 168 p.

El plancton, observación, niveles de organización y diferenciación

Introducción

El plancton se define como los organismos acuáticos que se encuentran suspendidos en la columna de agua y su locomoción no permite que estos naden en contra de la corriente de agua, pueden ser de distintos tamaños (Fig. 5). Este se divide en dos grandes grupos, el zooplancton conformado por el ictioplancton (huevos y larvas de peces), animales y protozoarios, y el fitoplancton conformado principalmente por cianobacterias, algas y algunas plantas acuáticas (Fig. 6) (Reynolds, 2006).



Figura 5. Clasificación por tamaños del fitoplancton (Colombet et al., 2020).

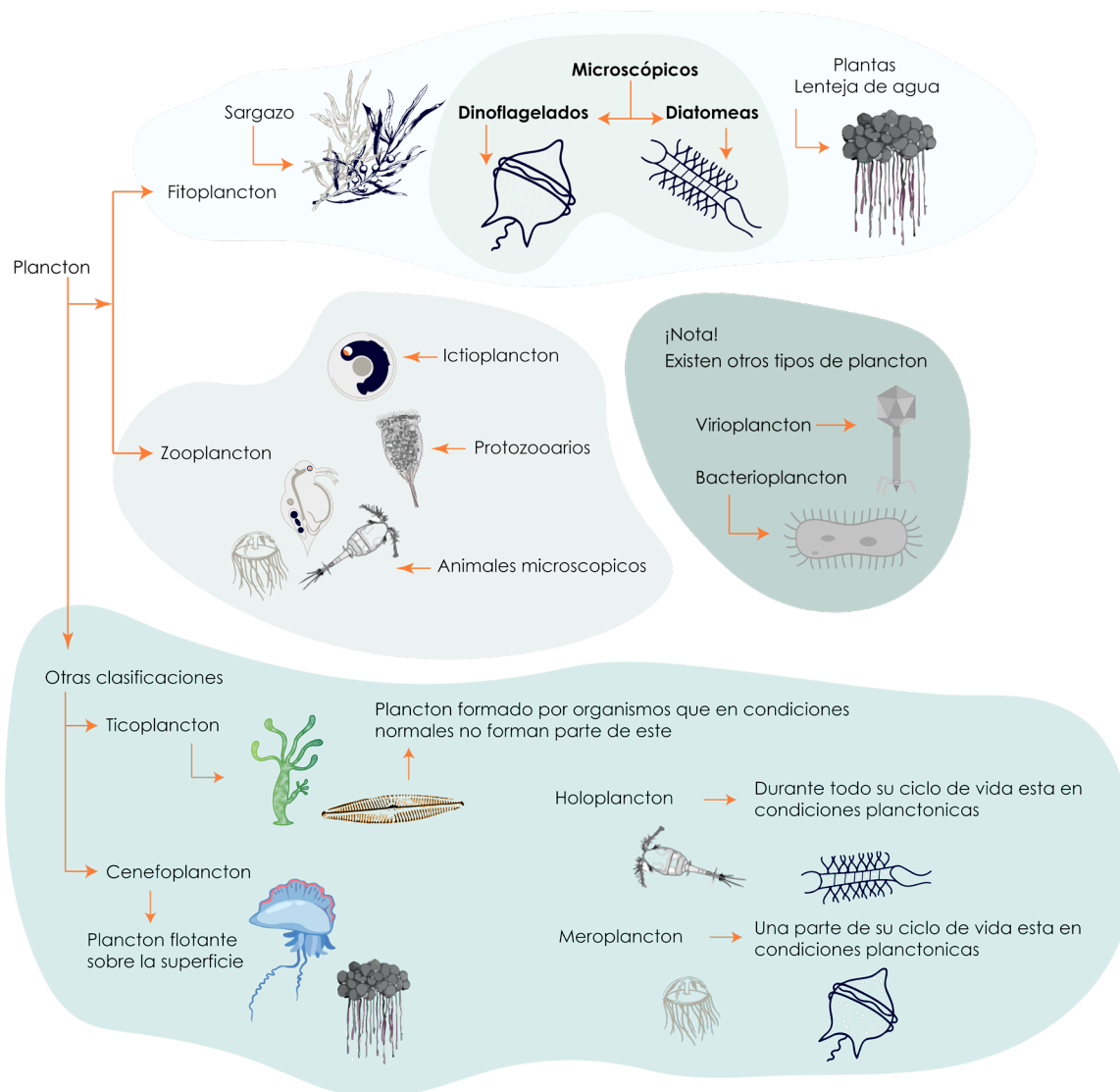


Figura 6. Organismos que se pueden encontrar en el plancton.

Las algas son un grupo de organismos no natural, polifilético y diverso, que incluye organismos procariotas y eucariotas de diferentes reinos, la mayoría fotosintéticos con presencia de mixotrofia y heterotrofia en algunos grupos y con aspectos evolutivos similares que les permite categorizarse dentro del término (Fig. 7). En la actualidad existen varios esquemas de clasificación, por lo que en este manual se utilizará para los diferentes grupos a trabajar la clasificación propuesta por Guiry y Guiry (2023) en la base de datos AlgaeBase.

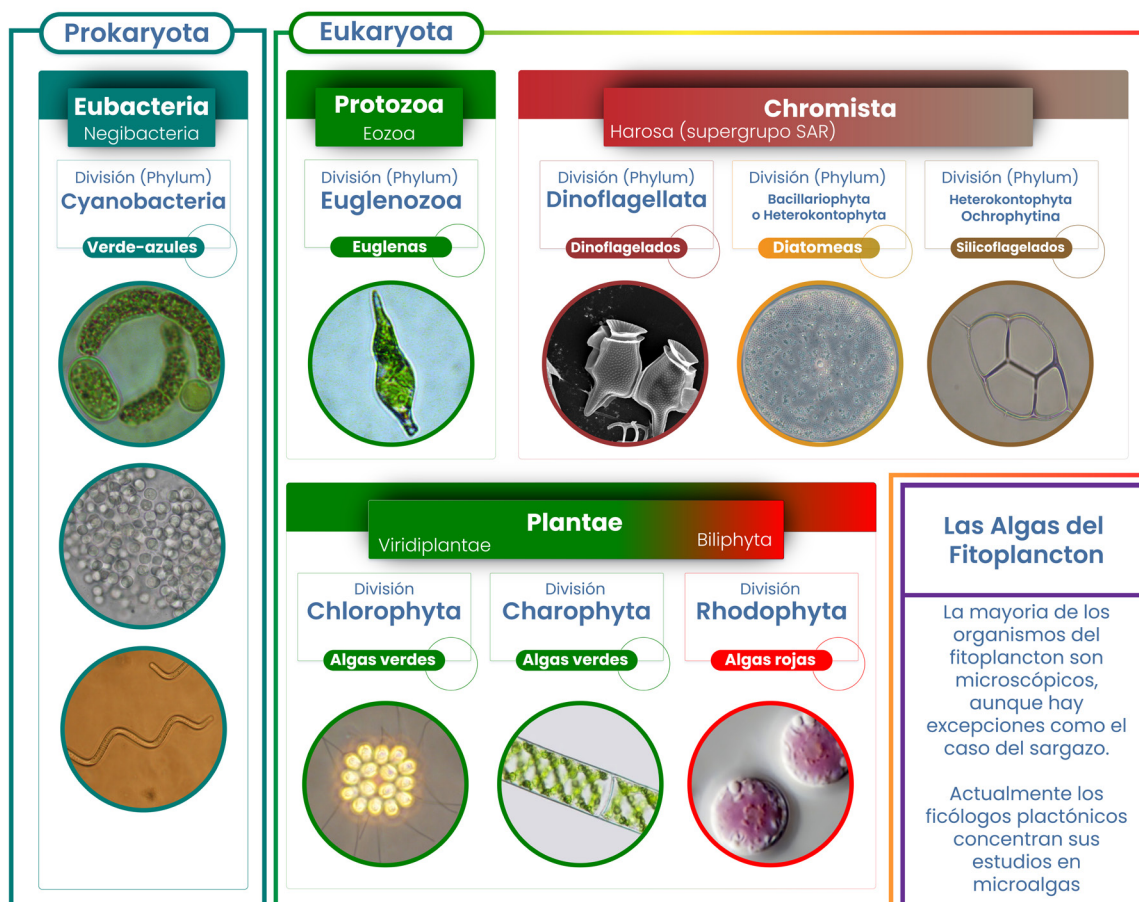


Figura 7. Clasificación del fitoplancton de acuerdo con Guiry y guiry (2024).

En la figura 7 se observa la clasificación taxonómica a la que pertenecen las algas, cada grupo tiene distintas características (Adl et al., 2019; Guiry y Guiry, 2023), por esta razón su identificación en todos los aspectos se vuelve fundamental, como hidrobiólogos a nivel taxonómico para su clasificación, a nivel biotecnológico para su aprovechamiento y a nivel ecológico para conocer el comportamiento de las comunidades.

Mayoritariamente los organismos del fitoplancton corresponden a una sola célula, aunque su nivel de organización sea pluricelular (exceptuando en macroalgas planctónicas como el sargazo); por lo que, conocer el nivel de organización que pueden presentar es importante debido a que cada uno difiere en adaptaciones fisiológicas a nivel de comunicación celular y ecológicas como la flotabilidad. Dentro de los principales niveles de organización tenemos (Fig. 8):

Unicelular: Una sola célula, pueden ser inmóviles o móviles con flagelos.

Tricoma: Células unidas en una sola fila, formando largos hilos.

Filamento: Tricoma envuelto en una vaina mucilaginoso.

Cenobio: Agrupación de células de origen común embebidas en mucilago. Pueden variar en forma y tamaño, las hay móviles e inmóviles (con flagelos por célula).

Cadena: Células unidas por estructuras específicas (cuernos, espinas, filamentos mucilaginosos etc.), que fácilmente pueden ser separadas.

Consorcios: Células unidas unas con otras, con intercambio de nutrientes a través de la pared celular.

Colonias: Células unidas, con diferenciación celular, hay presencia de células reproductivas y vegetativas.



Figura 8. Niveles de organización en el fitoplancton.

Objetivos

Observar, reconocer y diferenciar los organismos planctónicos que se pueden encontrar en la columna de agua de diferentes tipos de ambientes acuáticos.

Identificar dentro del fitoplancton los diferentes niveles de organización que se pueden presentar.

Material y equipo

Material por equipo

1 Microscopio de campo claro

1 Microscopio de contraste de fases

1 Ocular con reglilla

Portaobjetos

Cubreobjetos

2 Pipetas Pasteur con bulbo

Papel Seda

Reactivos

Aceite de inmersión

1 Píseta con etanol

1 Píseta con agua destilada

Material biológico

Muestra de plancton fijada con formaldehído al 4%.

Dulceacuicola

Salobre

Marina

Muestras fijadas con resina en portaobjetos

Proporcionado por el alumno

Lápiz

Hojas de papel

Procedimiento experimental

1. Realizar la iluminación de Köhler.
2. Montar una muestra de material biológico.
3. Esquematizar 10 organismos pertenecientes al zooplancton (pueden tomar fotografías con el celular para ayudarse).
4. Esquematizar 10 organismos pertenecientes al fitoplancton (pueden tomar fotografías con el celular para ayudarse).
5. Observar estructuras y reconocer niveles de organización.
6. Identificar los posibles grupos taxonómicos.

Resultados

Mostrar los esquemas con la siguiente información a manera de ficha:

- Localidad donde se encontró, y si es dulceacuicola, salobre o marina.
- Si es fitoplancton o zooplancton.
- Nombre de las estructuras externas sobresalientes: ej. cuernos, espinas, cerdas, etc.
- Forma de los organismos.
- Nivel de organización: Unicelular o pluricelular. Si es pluricelular anotar si son filamentos, cenobios, colonias, consorcios o cadenas.
- Tipo (forma) y color de cloroplastos.
- Grupo taxonómico (o División algal) al que pertenecen.

Discutir

Investigar aspectos básicos de la morfología del fitoplancton de acuerdo con los distintos grupos que lo componen, resaltando las adaptaciones morfológicas y fisiológicas de los mismos para mantenerse suspendidos en la columna de agua y comparar con los organismos observados y las estructuras que presentan.

Mostrar las diferencias entre fitoplancton y zooplancton, así como discutir sus definiciones.

Cuestionario

1. ¿Qué porcentaje cubren los océanos en nuestro planeta?
2. ¿Cuáles son las diferencias entre fitoplancton y zooplancton?
3. ¿Cuál es la diferencia entre plancton, necton y bentos?
4. Proporcione algunos ejemplos de organismos macropláctónicos algales.
5. ¿A qué se le llama holoplancton y a qué meroplancton?
6. Mencione cuatro tipos de organismos que se alimentan del plancton (2 del fitoplancton y 2 del zooplancton).
7. ¿Cuál es la importancia del fitoplancton en el océano?
8. Mencione factores físicos y químicos necesarios para la existencia del plancton.
9. ¿Por qué es importante monitorear al plancton en el mar?
10. Escriba una definición lo más completa posible del fitoplancton.

Conclusiones

Basándose en los resultados obtenidos y lo discutido, mencionar si se cumplieron los objetivos de la práctica.

Referencias

- Adl, S.M., Bass, D., Lane, C.E., Lukeš, J., Schoch, C.L., Smirnov, A., Agatha, Berney, C., Brown, M.W., Burki, F., Cárdenas, P., Čižek, I., Chistyakova, L., del Campo, J., Dunthorn, M., Edvardsen, B., Eglit, Y., Guillou, L., Hampl, V., Heiss, A.A., Hoppenrath, M., James, T.Y., Karnkowska, A., Kim, E., Kolisko, M., Kudryavtsev, A., Lahr, D.J.G., Lara, E., Le Gall, L., Lynn, D.H., Mann, D.G., Massana, R., Mitchell, E.A.D., Morrow, C., Park, J.S., Pawlowski, J.W., Powell, M.J., Richter, D.J., Rueckert, S., Shadwick, L., Shimano, S., Spiegel, F.W., Torruella, G., Youssef, N., Zlatogursky, V. y Zhang, Q. (2019). Revisions to the classification, nomenclature, and diversity of eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 66(1): 4-119.
- Bourrelly, P. (1966). Les algues d' eau douce. Initiation à la systématique. Tomo I. Les algues Vertes. Éditions N. Boubée & Cie. Paris. 511 p.
- Bourrelly, P. (1968). Les algues d' eau douce. Initiation à la systématique. Tomo II. Les algues d'eau douce. Initiation à la systématique. Tomo 11. Les algues jaunes et brunes Chrysophycées, Phaeophycées, Xanthophycées et Diatomées. Éditions N. Boubée & Cie. Paris. 433 p.
- Bourrelly, P. (1970). Les algues d' eau douce. Initiation à la systématique. Tomo III. Les algues bleues et rouges. Les Eugleniens, Peridiniens et Cryptomonadines. Éditions N. Boubée & Cie. Paris. 505 p.
- Guiry M.D. y Guiry G.M.E. (2023). AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <https://www.algaebase.org>. Última revisión realizada el 10 de enero del 2023.
- Hernández-Becerril, D. U. (1993). Fitoplancton marino en México. En: Salazar-Vallejo S.I. y N.E. González (Eds.) Biodiversidad Marina y Costera de México. CONABIO - CIQRO, México. Pp. 39-53.
- Lara-Villa, M.A., Moreno-Ruiz J.L. y Amaro, E. (1996). Fitoplancton. Conceptos básicos y técnicas de laboratorio. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. 227 p.
- Lee, R.E. (1980). Phycology. Cambridge University Press. 478 p.
- Massuti, M. y Margalef, R. (1950). Introducción al estudio del plancton marino. Patronato Juan de la Cierva de Investigación Técnica. Barcelona. 125 p.
- Ortega, M.M. (1984). Catálogo de Algas continentales Recientes de México. Universidad Nacional Autónoma de México. 307 p., 115 Láminas.

- Reynolds, C.S. (1988). Functional morphology and the adaptative strategies of freshwater phytoplankton. En: Sangreen (Ed.). Growth and reproductive strategies of freshwater phytoplankton. C.D. Cambridge. Pp.388-433.
- Reynolds, C.S. (2006). Ecology of phytoplankton. Cambridge University Press, New York. 435 p.
- Thomas, C.R. (Ed.) (1996). Identifying Marine Diatoms and Dinoflagellates. Academic Press, Inc. 598 p.
- Zeitzschel, B. (1978). Why study phytoplankton? En: Sournia A. (Ed.) Phytoplankton Manual. UNESCO, París. Pp. 1-5.

Reconocimiento e identificación básica de organismos de la División Cyanobacteria (Algas verde-azules)

Introducción

Las cianofitas, cianobacterias, cianoprocariontes o algas verde-azules son microorganismos procariotas fotosintéticos que toman su nombre de sus pigmentos característicos que son la clorofila a y d, además de pigmentos accesorios como la ficoeritrina y la ficocianina; dentro de sus características más importantes es que poseen una membrana plasmática externa que contiene a los tilacoides fotosintéticos, 70 ribosomas y fibrillas de ADN sin una membrana que los separe (Chapman y Chapman, 1973). Algunas pueden presentar toxinas y producir Proliferaciones Algales Nocivas (PAN) o también llamadas Floraciones Algales Nocivas (FAN) (Voloshko et al., 2008).

La importancia de estos organismos radica en que son especies fijadoras de nitrógeno, además que en el contexto geológico son de los primeros organismos en el precámbrico que, al producir oxígeno como subproducto de la fotosíntesis, convirtieron la atmósfera primitiva de reductora a una oxidante lo que permitió la proliferación de la vida sobre la tierra (Núñez y Dos Santos, 2020)

Actualmente existen macroalgas de cianofitas bentónicas, en agregados calcáreos como los estromatolitos, o microalgas planctónicas y simbióticas, las cuales son de interés para este manual, estas pueden tener distintos niveles de organización, dentro de estos pueden tener células modificadas como los acinetos, heterocistos y hormogonios que tienen funciones fisiológicas específicas; otras características importantes son la presencia de una vaina y/o de vacuolas de gas (Komáreck, 2006) (Fig. 9). Todo lo anterior ayuda a identificar a nivel familia o género a algunos organismos.

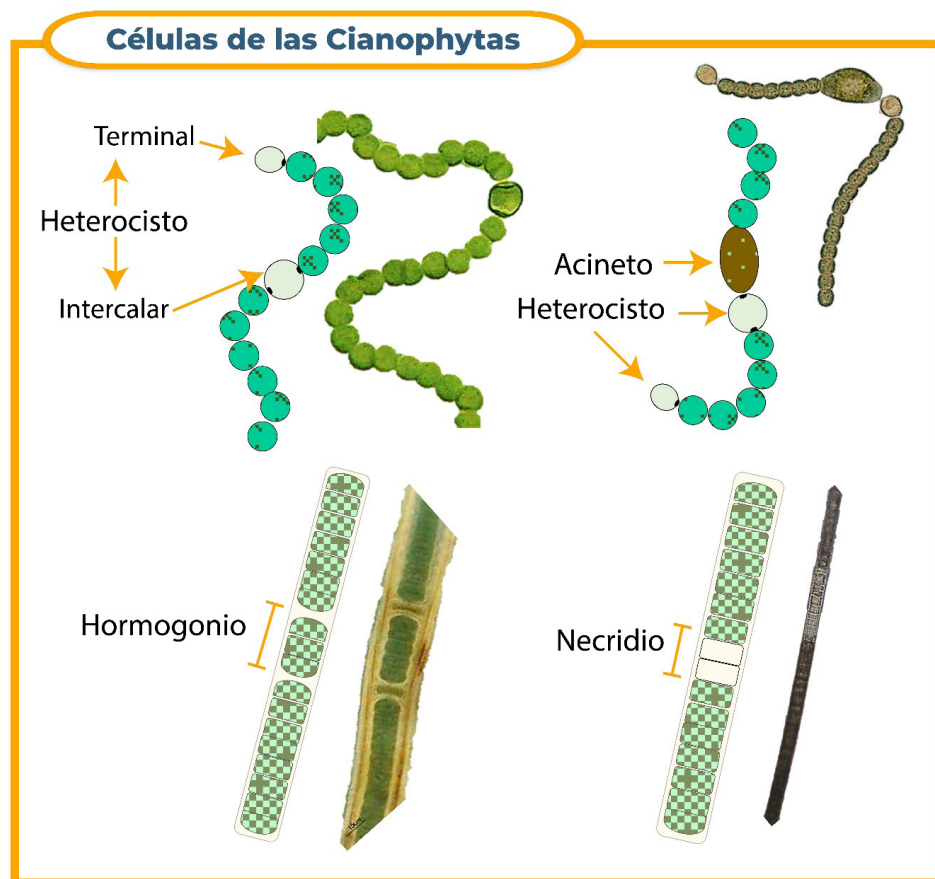


Figura 9. Células modificadas en las Cianofitas.

Objetivos

Reconocer bajo el microscopio a las algas verde-azules.

Identificar estructuras particulares de cianofitas: vaina, acinetos, heterocistos, hormogonios y vacuolas de gas, entre otras.

Observar cianofitas simbióticas de otras algas fitoplanctónicas marinas.

Material y equipo

Material por equipo

1 Microscopio de campo claro

1 Microscopio de contraste de fases

1 Ocular con reglilla

Portaobjetos

Cubreobjetos

2 Pipetas Pasteur con bulbo

Papel Seda

Reactivos

Aceite de inmersión

1 Piseta con etanol

1 Piseta con agua destilada

Material biológico

Muestra de plancton fijada con formaldehído al 4%

Dulceacuícola

Marina con cianofitas endosimbiontes

Proporcionado por el alumno

Lapicero

Hojas de papel

Procedimiento experimental

1. Realizar la iluminación de Köhler.
2. Montar una muestra de material biológico.
3. Buscar y reconocer a las cianofitas.

4. Esquematizar a 10 cianobacterias con diferentes estructuras y niveles de organización (pueden tomar fotografías con el celular para ayudarse).
5. Medir al organismo según su nivel de organización (unicelular, cenobio completo o tricoma).
6. Medir las células individuales: longitud, ancho y diámetro.
7. Diferenciar el tricoma del filamento y efectuar las medidas pertinentes.

Observaciones

1. Con ayuda de literatura y del profesorado, identificar los posibles grupos taxonómicos que se pueden observar.
2. Con ayuda de la base de datos de algaebase (Guiry y Guiry, 2023) disponible en <https://www.algaebase.org/>, colocar la clasificación taxonómica de la siguiente manera:
 - a. Dominio
 - b. Reino
 - c. División (Phylum)
 - d. Clase
 - e. Familia
 - f. Género (Si se logra identificar)
 - g. Especie (Si se logra identificar)

Resultados

Mostrar los esquemas con sus diferentes mediciones, incluyendo la siguiente información a manera de ficha:

- Localidad donde se encontró y si es dulceacuícola, salobre o marina.
- Nombre y mediciones de las estructuras externas sobresalientes: p. ej. acinetos, heterocistos, hormogonios, etc.
- Forma de los organismos.
- Nivel de organización: Unicelular o pluricelular. Si es pluricelular anotar si son filamentos, cenobios o cadenas.
- Tipo (forma) y color de cloroplastos.
- Colocar la clasificación taxonómica obtenida en la recopilación bibliográfica.

Discutir

Investigar en que consiste la diferenciación celular y la polaridad de estas células, mencionar si se presentan en los esquemas.

Investigar la función de los acinetos, heterocistos y hormogonios, e indicar si se presenta en los organismos observados.

Investigar las relaciones simbióticas a nivel funcional de las cianofitas con otros organismos fitoplanctónicos.

Cuestionario

1. Mencione 5 características que comparten las cianofitas con las bacterias y 5 características que comparten con las algas.
2. Describa la manera en que estas algas se reproducen.
3. Mencione en qué consiste el metabolismo de “fijación de nitrógeno”, y la importancia de esta función que realizan las cianofitas en mares tropicales. ¿Qué papel juegan los heterocistos en esta función?
4. Ejemplifique 5 cianofitas tóxicas (Con foto o esquema), indique sus toxinas y los síndromes o intoxicaciones que causan.

Conclusiones

Basándose en los resultados obtenidos y en la discusión, mencionar si se cumplieron los objetivos de la práctica.

Referencias

- Bourrelly, P. (1970). Les algues d'eau douce. Initiation á la systématique. Tomo III. Les algues bleus et rouges. Les Euglénies, Peridiniens et Cryptomonadines. Éditions N. Boubée & Cie. Paris. Pp. 285- 483.
- Chapman, V.J. y Chapman, D.J. (1973). Cyanophyta. En: The Algae. Palgrave, London. https://doi.org/10.1007/978-1-349-27910-4_2
- Cronberg G. y Anadotter, H. (2006). Manual on aquatic cyanobacteria. A photo guide and a synopsis of their toxicology. UNESCO/COI/ISSHA. 106 p.
- Desikachary, T.V. (1959). Cyanophyta. Indian Council of Agricultural Research New Delhi. 359 p.
- Guiry, M.D. y Guiry, G.M. (2023). AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <https://www.algaebase.org/>; Última revisión realizada el 16 de enero de 2023.
- Komáreck, J. (2006). Cyanobacterial Taxonomy: Current Problems and Prospects for the Integration of Traditional and Molecular Approache. *Algae*, 21 (4): 349-375.
- Lara-Villa, M.A., Moreno-Ruíz, J.L. y Amaro, E. (1996). Fitoplancton. Conceptos básicos y técnicas de laboratorio. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. 227 p.
- Núñez, A. y Dos Santos, R.M. (2020). Catálogo Ficológico Cyanophytas: Del Estan- que de la FACEN – UNA / San Lorenzo: FACEN. 100 p.
- Scagel, R.F., Bandoni, R.J., Maze, J.R., Rouse, G.E., Schofield W.B. y Stein, J.R. (1982). Nonvascular Plants. And evolutionary Survey. Wadsworth Publishing Company. California, E.U.A. 570 p.
- Voloshko, L.N., Plyushch, A.V. y Titova, N.N. (2008). Toxins of cyanobacteria (Cyanophyta). *Internacional Journal on Alga*, 10(1): 14-33. DOI: 10.1615/InterJAlgae.v10.i1.20

Reconocimiento e identificación básica de las Divisiones Chlorophyta y Charophyta (Algas verdes) con tinción de almidón

Introducción

Las algas verdes se agrupan en un clado o Subreino denominado Viridiplantae, con dos subclados o Infrareinos bien definidos, el primero las Chlorophyta donde se encuentran la mayoría de las algas verdes, y el segundo las Charophyta tienen un grupo llamado Streptophyta que son un grupo de algas verdes más próximos a las plantas terrestres (Ruhfel et al., 2014; Guiry y Guiry, 2023), todas ellas se distinguen por poseer clorofila a y b, forman almidón con el cloroplasto como sustancia de reserva, usualmente en asociación a un pirenoide. A nivel ultraestructural no presenta retículo endoplásmico en los cloroplastos. Dentro del fitoplancton son principalmente de agua dulce y sólo un 10% son marinas.

Su pared celular está compuesta de celulosa y existe desde formas unicelulares móviles e inmóviles, filamentos simples o ramificados, cenobios, cadenas y colonias como Volvox (Fig. 10). Se reproducen asexualmente por división mitótica o formación de esporas, en tanto los organismos filamentosos los pueden hacer por fragmentación; cuando se presenta la reproducción sexual esta puede ser de formas muy variadas.

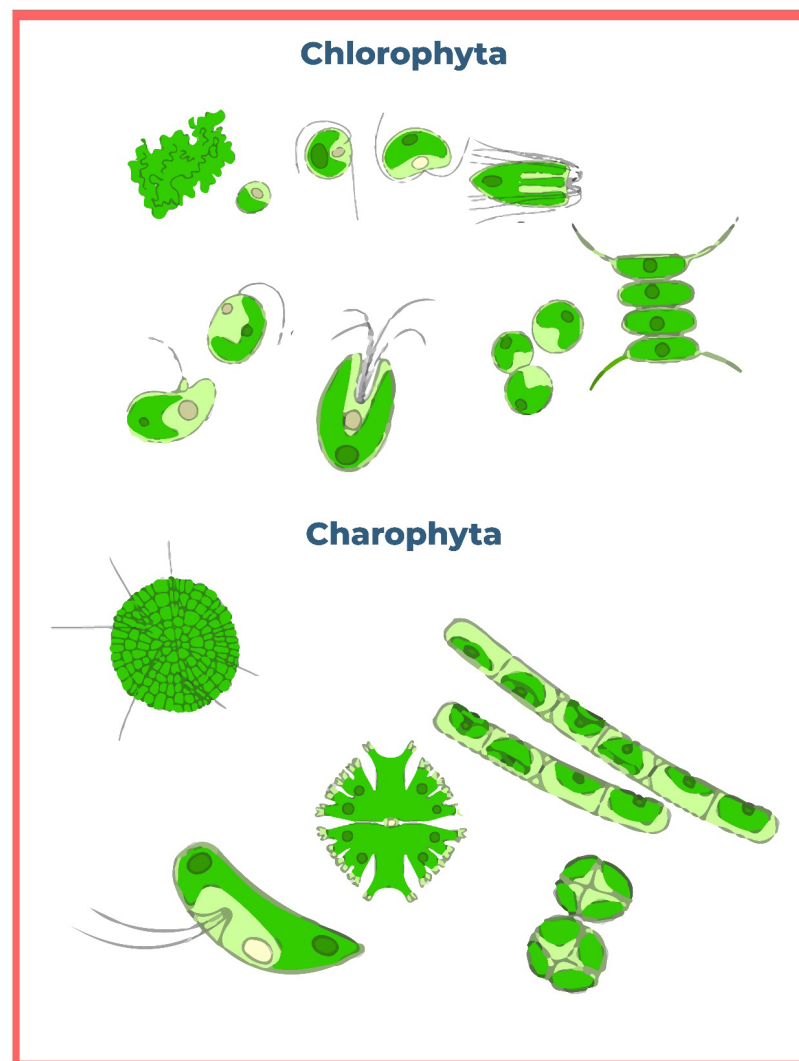


Figura 10. Distintas formas de Chlorophyta y Charophyta (Modificado de Leliaert et al., 2012)

Objetivos

Reconocer e identificar a las algas verdes bajo el microscopio.

Ensayar la técnica de tinción del almidón con Lugol para el reconocimiento de las clorofitas.

Reconocer las características que se usan para la determinación de los géneros y especies.

Material y equipo

Material por equipo

1 Microscopio de campo claro

1 Microscopio de contraste de fases

1 Ocular con reglilla

Portaobjetos

Cubreobjetos

2 Pipetas Pasteur con bulbo

Papel Seda

Reactivos

Lugol

Aceite de inmersión

1 Piseta con etanol

1 Piseta con agua destilada

Material biológico

Muestra de plancton fijada con formaldehído al 4%

Dulceacuícola

Proporcionado por el alumno

Lapicero

Hojas de papel

Procedimiento experimental

1. Realizar la iluminación de Köhler.
2. Montar una muestra de material biológico.
3. Buscar y reconocer a las clorofitas.
4. Esquematizar a 10 clorofitas (pueden tomar fotografías con el celular para ayudarse).
5. Medir al organismo según su nivel de organización (unicelular, cenobio completo o tricoma).
6. Medir las células individuales: diámetro o largo y ancho.

Tinción de almidón

1. Tomar muestra fijada líquida con una pipeta Pasteur succionando lentamente de la parte profunda de la muestra dando ligeros toques con el fondo.
2. Sujetar el portaobjetos.
3. Depositar una gota de la muestra en el centro del portaobjetos.
4. Colocar una gota de Lugol justo en la muestra colocada en el paso 3.
5. Esperar 5 min.
6. Colocar el cubreobjetos en la parte lateral de la gota formando tensión superficial.
7. Dejar caer el cubreobjetos.
8. Observar la muestra y la tinción. En presencia de almidón, el lugol reacciona cambiando de color amarillo-rojo a un color azul-morado. De esta manera, el lugol actúa como un indicador químico, que revela la presencia de almidón en el pirenoide.

Observaciones

1. Con ayuda de literatura y del profesorado identifique los posibles grupos taxonómicos que observó.
2. Con ayuda de la base de datos de algaebase (Guiry y Guiry, 2023) disponible en <https://www.algaebase.org/>, colocar la clasificación taxonómica de la siguiente manera:
 - a. Dominio
 - b. Reino
 - c. División (Phylum)
 - d. Clase
 - e. Familia
 - f. Género (Si se llega a identificar)
 - g. Especie (Si se llega a identificar)

Resultados

Mostrar los esquemas obtenidos con la siguiente información a manera de ficha:

- Localidad donde se encontró y tipo de agua.
- Forma de los organismos.
- Nivel de organización: Unicelular o pluricelular. Si es pluricelular anotar si son filamentos, cenobios, colonias, consorcios o cadenas.
- Tipo (forma) y color de cloroplastos.
- Colocar la clasificación taxonómica obtenida en la recopilación bibliográfica.

Discutir

Investigar sobre los Chlorococcales, Volvocales, Ulvophyceae, Zygnematales, Oedogoniales y Cladophorales; hacer una comparación con las clases encontradas y mencionar sus características principales.

Discutir si la tinción de almidón mostró diferencias visuales entre muestras no teñidas, investigar qué otros colorantes sirven para la identificación de organelos del fitoplancton.

Cuestionario

1. Mencione en que ambientes predominan las algas verdes.
2. Mencione 5 niveles de organización encontrados en Chlorophyta y Streptophyta.
3. ¿Qué caracteres se han valorado para aseverar que las algas verdes dieron origen a las plantas terrestres?
4. ¿Cuál es el nombre del orden de Chlorophyta en el que predominan las colonias móviles?
5. ¿Cuál es el Orden de Streptophyta que presenta reproducción por conjugación? y ¿qué es lo que caracteriza a este tipo de reproducción?

Conclusiones

Basándose en los resultados obtenidos y la discusión, mencionar si se cumplieron los objetivos de la práctica.

Referencias

- Bourrelly, P. (1970). Les algues d'eau douce. Initiation la systématique. Tome 1. Les Algues Vertes. Éditions N. Boubée & Cie. Paris, p.p: 285- 483.
- Guiry M.D. y Guiry G.M.E. (2023). AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <https://www.algaebase.org>. Última revisión realizada el 16 de enero de 2023.
- Hoek, C. Van der, Mann, D.G. y Jahns, H.M. (1995). Algae. An introduction to phycology. University Press. Cambridge, USA. 623 p.
- Lara-Villa, M.A., Moreno-Ruiz, J.L. y Amaro, E. (1996). Fitoplancton. Conceptos básicos y técnicas de laboratorio. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. 227 p.
- Leliaert, F., Smith, D. R., Moreau, H., Herron, M. D., Verbruggen, H., Delwiche, C. F., y De Clerck, O. (2012). Phylogeny and molecular evolution of the green algae. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 31:1-46.
- Ruhfel, B.R., Gitzendanner, M.A., Soltis, P.S., Soltis, D.E. y Burleigh, J.G. (2014). From algae to angiosperms—inferring the phylogeny of green plants (Viridiplantae) from 360 plastid genomes. *BMC Ecology and Evolution*, **14**(23): 1-26. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-14-23>
- Scagel, R.F., Bandoni, R.J., Maze, J.R., Rouse, G.E., Schofield, W.B. y Stein, J.R. (1982). Nonvascular Plants. An evolutionary Survey. Wadsworth Publishing Company. California, E.U.A. 570 p.

Reconocimiento e identificación básica de organismos de la División Euglenozoa

Introducción

Las euglenas han sufrido varios problemas taxonómicos, antiguamente se les agrupaba como una clase dentro del grupo de las Clorofitas, debido a que comparte los mismos tipos de pigmentos; sin embargo, existen euglenas que son totalmente heterótrofas, y entre las que son autótrofas se dan fenómenos de cambio, por ejemplo cuando estas no tienen las condiciones favorables para hacer fotosíntesis cambian su metabolismo interno y se vuelven cazadoras de otras microalgas, o de animales zooplanctónicos (Milanowski et al., 2006; Linton et al., 2009).

Se considera que las euglenas son un grupo polifilético, la evidencia molecular señala que algunos géneros como *Euglena*, *Phacus* y *Lepocinclis*, no son monofiléticos en ningún marcador molecular, por lo que es difícil su clasificación. Actualmente se sabe que las euglenas eran organismos protozoarios, pero realizaron una segunda endosimbiosis con clorofilas y bacterias fotosintéticas. Su adaptabilidad, su papel en el ecosistema y su capacidad de formar proliferaciones algales nocivas, así como la presencia de estigma les da la categoría de alga (Walne et al., 1986; Karnkowska et al., 2014; Wang et al., 2020).

Una característica distintiva de las euglenas es el estigma (Fig. 11), una estructura con distintos tipos de pigmentos que les permite la captación de luz de diferente longitud de onda; también una pared con película estriada que les permite una mejor movilidad, en la mayoría con movimiento metabólico o euglenoideo, donde las células se contraen y extienden con movimientos conocidos como peristálticos, que les ayuda al enquistamiento y adquisición o pérdida de cloroplastos (Nudelman, 2002).

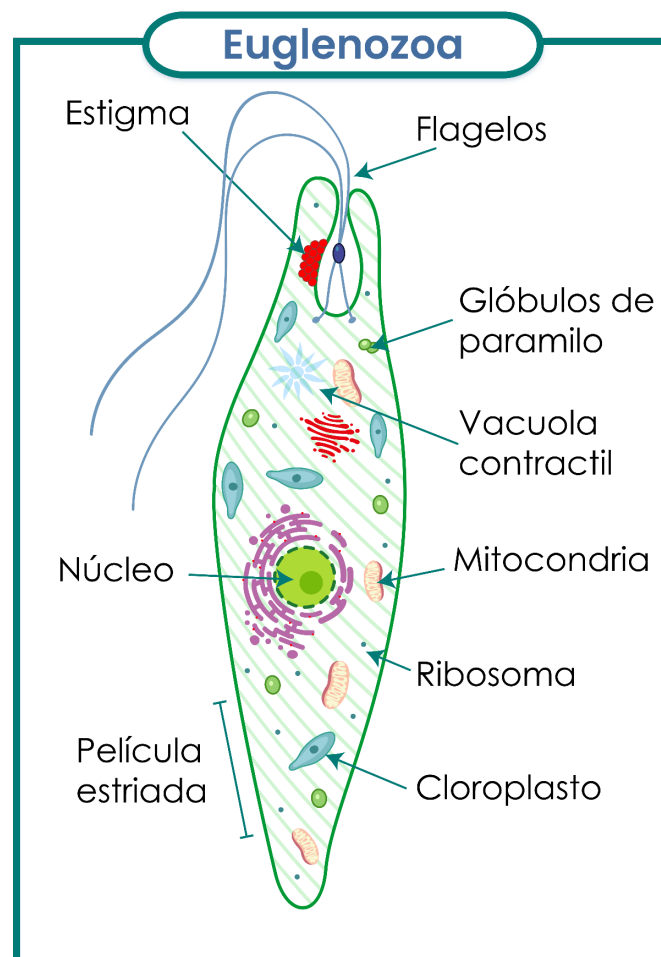


Figura 11. Esquema básico de las Euglenozoa y sus organelos.

Objetivos

Reconocer e identificar a las euglenas bajo el microscopio.

Reconocer las características que se usan para la determinación de los géneros y especies.

Material y equipo

Material por equipo

1 Microscopio de campo claro

1 Microscopio de contraste de fases

1 Ocular con reglilla

Portaobjetos

Cubreobjetos

2 Pipetas Pasteur con bulbo

Papel Seda

Reactivos

Aceite de inmersión

1 Piseta con etanol

1 Piseta con agua destilada

Material biológico

Muestra de plancton fijada con formaldehído al 4%

Muestra de plancton viva

Proporcionado por el alumno

Lapicero

Hojas de papel

Procedimiento experimental

1. Realizar la iluminación de Köhler.
2. Montar una muestra de material biológico.
3. Buscar y reconocer a las euglenas.
4. Observar si hay presencia de cloroplastos para definir tipo de alimentación.
5. Esquematizar a 10 euglenas (pueden tomar fotografías con el celular para ayudarse).

6. Medir las células individuales: longitud, ancho y diámetro.

Observaciones

1. Con ayuda de literatura y del profesorado, identificar los posibles grupos taxonómicos.
2. Con ayuda de la base de datos de algaebase (Guiry y Guiry, 2023) disponible en <https://www.algaebase.org/>, colocar la clasificación taxonómica de la siguiente manera:
 - h. Dominio
 - i. Reino
 - j. División (Phylum)
 - k. Clase
 - l. Familia
 - m. Género
 - n. Especie (Si se logra su identificación)

Resultados

Mostrar los esquemas obtenidos con la siguiente información a manera de ficha:

- Localidad donde se encontró y tipo de agua.
- Forma de los organismos.
- Nivel de organización.
- Tipo de alimentación heterótrofa o autótrofa.
- Tipo (forma) y color de cloroplastos.
- Colocar la clasificación taxonómica obtenida en la recopilación bibliográfica.

Discutir

Investigar sobre los distintos géneros (*Phacus*, *Euglena*, *Eutreptiella*), además realizar una comparación con los organismos observados, mencionando sus características principales.

Cuestionario

1. Señale el ambiente en que predominan Euglenozoa.
2. Proporcione dos semejanzas y cuatro diferencias entre los organismos de Chlorophyta y Euglenozoa.
3. Mencione en qué consiste el mecanismo de heterotrofía facultativa encontrada en Euglenozoa y ¿por qué se considera una adaptación importante para su sobrevivencia en el ambiente que habitan?
4. Indique el nombre del Orden de Euglenozoa, cuyos organismos presentan una alimentación heterótrofa con fagotrofía.

Conclusiones

Basándose en los resultados obtenidos y la discusión, mencionar si se cumplieron los objetivos de la práctica.

Referencias

- Butcher, R.W. (1961). An Introductory Account of the Smaller Algae of British Coastal Waters. Part VIII: Euglenophyceae-Euglenineae. Fish. Invest. Minist. Agric. Fish. Food (GB). 4: 17.
- Guiry, M.D. y Guiry, G.M.E. (2023). AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <https://www.algaebase.org>. Última revisión realizada el 16 de enero de 2023.
- Hrdá, Š., Fousek, J., Szabova, J., Hampl, V. y Vlček, Č (2012). The plastid genome of Eutreptiella provides a window into the process of secondary endosymbiosis of plastid in euglenids. PLoS One, 7: e33746.
- Linton, E.W., Karnkowska-Ishikawa, A., Im Kim, J., Shin, W., Bennett, M.S., Kwiatowski, J., Zakryč B. y Triemer, R.E. (2010). Reconstructing Euglenoid Evolutionary Relationships using Three Genes: Nuclear SSU and LSU, and Chloroplast SSU rDNA Sequences and the Description of Euglenaria gen. nov. (Euglenophyta). Protist, 161: 603-619.
- Milanowski, R., Kosmala S., Zakryč B. y Kwiatowski, J. (2006). Phylogeny of photosynthetic euglenophytes based on combined chloroplast and cytoplasmic SSU rDNA sequence analysis. Journal of Phycology, 42: 721-730.
- Nudelman, M.A. (2002). Estudios de ultraestructura, filogenia molecular y ecofisiología de euglenoideos. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Buenos Aires. 211 p.
- Wang Y., Feng J., Lv J., Liu Q., Nan F., Liu X. y Xie S. (2021). Phylogenetic and Morphological Evolution of Green Euglenophytes Based on 18S rRNA. Journal of Eukaryotic Microbiology, 68: e12824.
- Wotowski, K. y Hindak, F. (2005). Atlas of Euglenophytes. VEDA. 136 p.

Reconocimiento, tinción, identificación básica y ruptura de placas de organismos de la División Dinoflagellate (Dinoflagelados)

Introducción

Los dinoflagelados son organismos principalmente unicelulares, aunque algunas especies pueden formar cadenas, son el segundo grupo más abundante y diverso de microalgas fitoplanctónicas después de las diatomeas, tanto de aguas continentales como marinas (Parra-Toriz et al., 2011). Están clasificados dentro de la División Dinoflagellata (Dinophyta) que pertenecen al grupo taxonómico Alveolata, que comparte con los Apicomplejos; ambos tienen en común una capa continua de vesículas aplanadas debajo de la membrana plasmática que se llaman alvéolos o vesículas alveolares (Hoppenrath, 2017). Existen aproximadamente 8,000 taxa conocidos que se caracterizan por presentar una gran diversidad morfológica (Fig. 12) y funcional (Gómez et al., 2011).

La mitad de los dinoflagelados son heterótrofos, aunque algunos pueden combinar su carácter autótrofo y heterótrofo (mixótrofos) y la otra mitad son autótrofos (Garduño et al., 2009), algunos como las zooxantelas forman simbiosis con protistas e invertebrados marinos (Gómez et al., 2011). Los dinoflagelados autótrofos poseen clorofilas a y c, β -caroteno y xantofilas: como la peridinina, dinoxantina y diadinoxantina. Su principal reserva energética es el almidón, también contienen esteroides característicos como el dinosterol y anfisterol (Garduño et al., 2009).

Han desarrollado a lo largo de su trayectoria evolutiva un núcleo inusual, al que se le llama dinocarión, son morfológicamente distintos de otros eucariotas en la estructura de su flagelo, es decir, dos flagelos diferentes: un flagelo transversal insertado en el cíngulum y un flagelo longitudinal insertado en el sulcus (Peña-Manjarrez, 2008). Las vesículas alveolares se encuentran debajo de la membrana celular (plasmalema o membrana plasmática) y juntas forman el anphiesma (corteza o pared o periplásto). En algunos organismos las vesículas alveolares pueden estar rellenas de celulosa (tecados) y otros estar vacías (desnudos o atecados) (Hoppenrath, 2017).

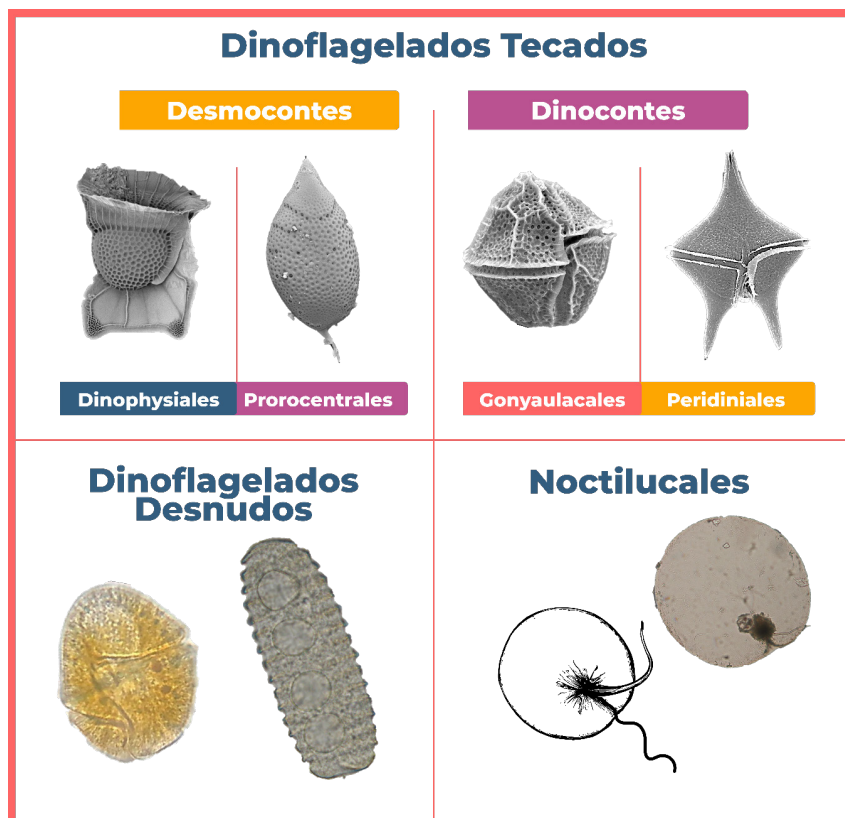


Figura 12. Diversidad morfológica en los dinoflagelados.

La clasificación de los dinoflagelados tecados se basa en la forma de dos regiones denominadas epiteca (superior), e hipoteca (inferior), separadas por el cingulum y en la serie de placas que los conforman (Fig. 13). Cabe destacar que muchas especies tecadas presentan tanto en la epiteca e hipoteca prolongaciones denominadas cuernos o espinas (Peña-Manjarrez, 2008). Los dinoflagelados atecados (desnudos) presentan en general una pared frágil y placas muy finas, las diferentes especies se distinguen por caracteres morfológicos únicos, tales como el tamaño y forma general, posición y desplazamiento del cingulum y del sulcus, así como la presencia o ausencia de cloroplastos y pirenoides, forma y posición del núcleo, forma del surco apical (si está presente) y posibles estructuras en la superficie, tales como estrías longitudinales (Maciel-Baltazar y Hernández-Becerril, 2013a).

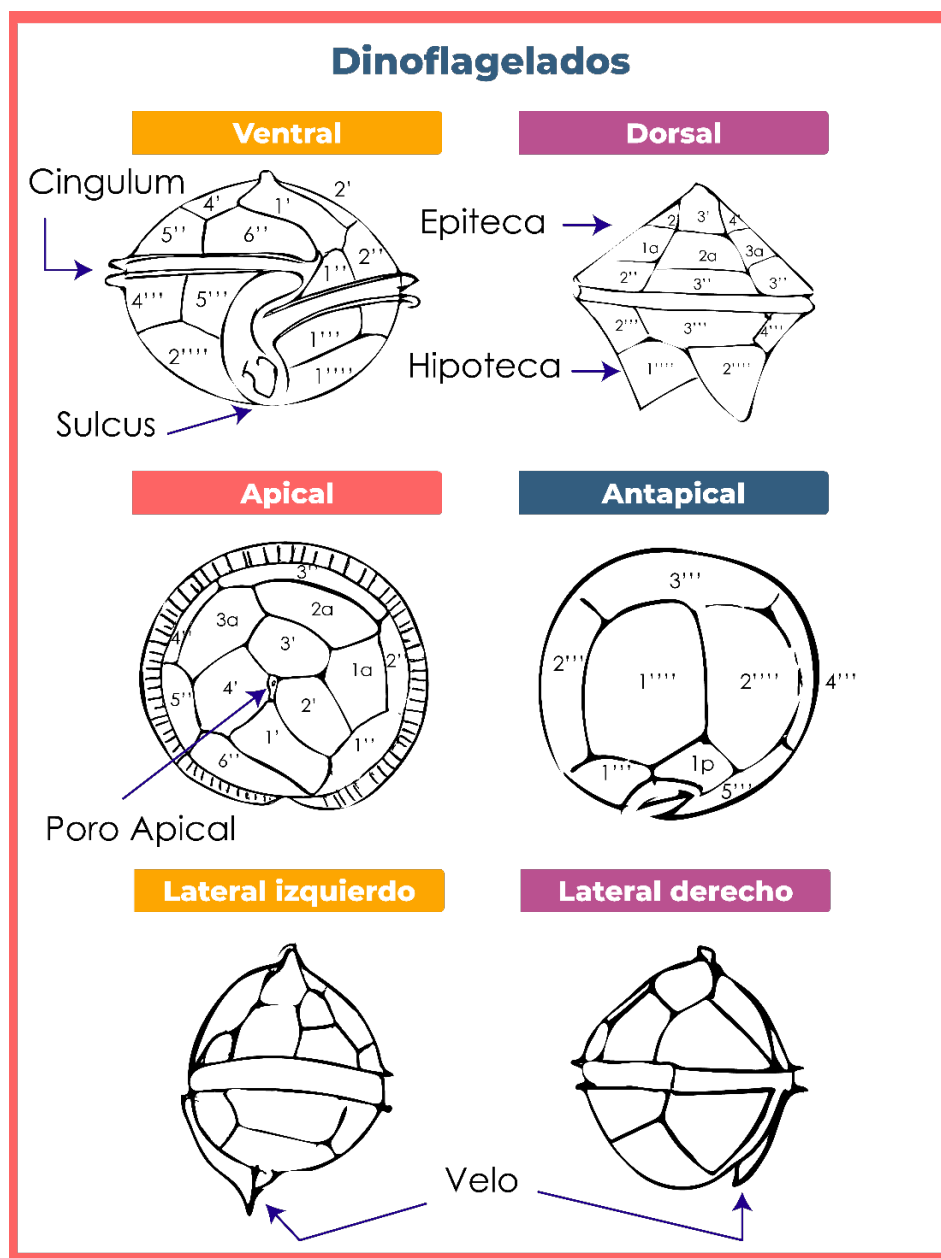


Figura 13. Morfología básica de los dinoflagelados.

Los dinoflagelados pueden producir florecimientos algales que pueden ser o no tóxicos, presentar coloración visible o no, con varias tonalidades, dependiendo de los pigmentos predominantes en los organismos. Estos eventos ocurren en forma de “parches” o “manchas” en la superficie del agua y tiene normalmente pocos metros de grosor en profundidad, se pueden extender por cientos de kilómetros (Ochoa et al., 2003; Poot-Delgado, 2016). Dentro del grupo de los dinoflagelados, 81 especies son productoras de toxinas, estas causan grandes mortalidades en peces, y son acumuladas en organismos filtradores como los moluscos bivalvos (Parra-Toriz et al., 2011); pueden intoxicar a humanos y otros vertebrados a través de su ingestión directa o indirecta del agua con dinoflagelados o mariscos contaminados con los dinoflagelados, la inhalación de la toxinas que producen y se volatilizan o incluso por contacto dérmico, lo cual en algunas ocasiones, puede llegar a ser mortal. Así mismo, también se ven afectadas actividades como el turismo, la acuicultura y la pesca (Okolodkov, 2003).

Objetivos

Realizar la técnica de ruptura de placas en la identificación taxonómica.

Reconocer e identificar a los dinoflagelados bajo el microscopio.

Reconocer las características que se usan para la determinación de los géneros y especies.

Teñir las placas de los dinoflagelados.

Material y equipo

Material por equipo

1 Microscopio de campo claro

1 Microscopio de contraste de fases

1 Ocular con reglilla

Portaobjetos

Cubreobjetos

2 Pipetas Pasteur con bulbo

Papel Seda.

Reactivos

Aceite de inmersión

1 Piseta con etanol

1 Piseta con agua destilada

Hipoclorito de sodio

Azul de tripano

Material biológico

Muestra de plancton fijada con formaldehído al 4%

Muestra de plancton viva

Proporcionado por el alumno

Lapicero

Hojas de papel

Procedimiento experimental

Visualización

1. Realizar la iluminación de Köhler.
2. Montar una muestra de material biológico sin teñir.
3. Buscar y reconocer a los dinoflagelados.
4. Observar si tienen presencia de cloroplastos para definir tipo de alimentación.
5. Esquematizar a 10 dinoflagelados (pueden tomar fotografías con el celular para ayudarse).
6. Medir las células individuales: longitud, ancho y diámetro.
7. Si corresponde, medir algunas estructuras (el cíngulo, el sulcus, aletas cingulares, sulcales, cuernos, espinas, poros de la teca, etc.).

Tinción con azul de tripano

1. Tomar muestra fijada líquida con una pipeta Pasteur succionando lentamente de la parte profunda de la muestra dando ligeros toques con el fondo.
2. Sujetar el portaobjetos.
3. Depositar una gota de la muestra en el centro del portaobjetos.
4. Colocar una gota de azul de tripano justo en la muestra colocada en el paso 3.
5. Esperar 5 min.
6. Colocar el cubreobjetos en la parte lateral de la gota formando tensión superficial.
7. Dejar caer el cubreobjetos.
8. Observar la muestra y la tinción. El azul de tripano teñirá en color azul las suturas entre las placas, por lo que serán fáciles de distinguir; ya que son esenciales para la identificación de los organismos tecados.

Ruptura de placas

1. Montar una muestra fija.
2. Enfocar un dinoflagelado tecado (p. ej. *Pyrodinium bahamense*).
3. Observar la estructura de la teca.
4. Con una pipeta Pasteur, tomar una gota de hipoclorito de sodio.
5. Colocar la gota en la parte lateral del cubreobjetos sosteniendo la pipeta con un ángulo de 45°. Este actuará de acuerdo con la tensión superficial.
6. Esperar 5 min y golpear con un lapicero el cubreobjetos.
7. Observar la ruptura de placas y esquematizar al menos un organismo con la fórmula de la teca.

Observaciones

1. Con ayuda de literatura y del profesorado, identificar los posibles grupos taxonómicos observados.
2. Con ayuda de la base de datos de algaebase (Guiry y Guiry, 2023) disponible en <https://www.algaebase.org/>, colocar la clasificación taxonómica de la siguiente manera:
 - o. Dominio
 - p. Reino
 - q. División (Phylum)
 - r. Clase
 - s. Familia
 - t. Género
 - u. Especie (Si se logra su identificación)

Resultados

Mostrar los esquemas obtenidos con la siguiente información a manera de ficha:

1. Localidad donde se encontró y tipo de agua.
2. Forma de los organismos.
3. Nivel de organización.
4. Tipo de alimentación heterótrofa o autótrofa.
5. Tipo (forma) y color de cloroplastos.
6. Colocar la clasificación taxonómica obtenida en la recopilación bibliográfica.

Esquematizar al menos un organismo con la fórmula de la teca usando la técnica de ruptura de placas.

Discutir

Investigar sobre los distintos géneros, hacer una comparación con los organismos encontrados y mencionar sus características principales.

Mencionar cómo es más factible el estudio de las placas de los dinoflagelados, si con tinción o a través de ruptura de placas.

Cuestionario

1. Mencione tres características de patrón estructural básico de dinoflagelados (recordar qué son los caracteres de unidad, heredados de la especie ancestral).
2. Mencione aquellas características que permiten reconocer a los siguientes órdenes de dinoflagelados: Gymnodiniales, Prorocentrales, Dinophysiales, Gonyaulacales y Peridinales. Elabore un esquema de un organismo de cada uno de los grupos.
3. Mencione las diferencias entre un quiste temporal y un hipnocigoto de dinoflagelados.
4. Mencione los nombres de las diferentes placas que pueda presentar una teca de dinoflagelado, señalando la simbología que se usa para reconocer a los distintos tipos. Elabore esquemas de los organismos en vista ventral, dorsal, apical y antapical.
5. Mencione dos especies de dinoflagelados causantes de DSP (Diarrhetic Shellfish Poisoning, Envenenamiento Diarreico por Consumo de Mariscos), mencionando las toxinas involucradas, el vector y los síntomas de esta intoxicación en humanos.
6. Mencione el nombre de dos especies causantes de ciguatera, las toxinas involucradas, el vector, síntomas en humanos y el tipo de ambientes marinos que representan un riesgo para la salud por esta enfermedad.

7. Señale tres factores que pueden propiciar la formación de un FAN y que ésta prevalezca por un tiempo prolongado.
8. Señale tres tipos de nutrición encontrados en el grupo de dinoflagelados.
9. Mencione al menos dos papeles ecológicos que juegan los dinoflagelados en los ambientes acuáticos.
10. Diga por qué razones los buques cargueros son un medio que favorece la ocurrencia de especies invasoras acuáticas en las zonas las costas.

Conclusiones

Basándose en los resultados obtenidos y en la discusión, mencionar si se cumplieron los objetivos de la práctica.

Referencias

- Garduño Solórzano, G., Licea Durán, S., Oliva Martínez, M.G. y García Gómez, M. A. (2009). Dinoflagelados. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, México. 107 p.
- Gómez, F., Moreira, D. y López-García, P. (2011). Avances en el estudio de los dinoflagelados (Dinophyceae) con la filogenia molecular. *Hidrobiológica*, 21(3): 343-364.
- Hoppenrath, M. (2017). Dinoflagellate taxonomy - a review and proposal of a revised classification. *Marine Biodiversity*, 47:381–403.
- Parra-Toriz, D., Ramírez Rodríguez, M.L.A. y Hernández-Becerril, D.U. (2011). Dinoflagelados (Dinophyta) de los órdenes Prorocentrales y Dinophysiales del Sistema Arrecifal Veracruzano, México. *Revista de Biología Tropical*, 59 (1): 501-514.
- Ochoa, J.L., Núñez-Vázquez, E. y Saad, J. (2003). Diferentes términos utilizados para describir las “Mareas Rojas”. *Revista de Biología Tropical*, 51(3): 621-628.
- Okolodkov, Y.B. (2003). A review of Russian plankton research in the Gulf of Mexico and the Caribbean Sea in the 1960-1980s. *Hidrobiológica*, 13(1): 207-221.
- Peña Manjarrez, J. (2008). Ecología de dinoflagelados productores de florecimientos en la Bahía de Todos Santos, Baja California. Tesis Doctorado en Ciencias (Ecología Marina). Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada, Baja California. 196 p.
- Poot Delgado, C.A. (2016). Florecimientos algales nocivos en las costas de Campeche, Golfo de México. *Investigación y Ciencia*, 68: 91-96.

Reconocimiento e identificación básica de organismos de la División Bacillariophyta o Heterokontophyta dependiendo el autor (Diatomeas)

Introducción

Se estima que las diatomeas (Bacillariophyta o Heterokontophyta dependiendo el autor) tienen una diversidad de 10,000 a 12,000 especies, distribuidas en 1,200 géneros; además de que habitan en un gran número de ambientes acuáticos, lo que las coloca dentro de los principales grupos del fitoplancton (Hasle y Syvertsen, 1997). Se considera que dentro de todos los grupos eucariontes del fitoplancton, las diatomeas son el más exitoso, tanto por el número de especies que existen como por la cantidad de biomasa que generan (Kooistra et al., 2011).

Las diatomeas en su mayoría son unicelulares, aunque también se les puede encontrar formando pseudofilamentos o colonias, habitando tanto ecosistemas dulceacuícolas, salobres, marinos, hipersalinos e incluso ambientes húmedos terrestres y extremos (Hobbs et al., 2009). Dentro de los ambientes acuáticos, pueden formar parte de la comunidad planctónica, bentónica (adheridas a un sustrato) o ticoplanctónicas (bentónicas resuspendidas por movimientos del agua).

Poseen pigmentos fotosintéticos como son las clorofilas a y c, además de otros pigmentos accesorios como: β -caroteno, diatinoxantina, diadinoxantina y fucoxantina que le otorgan el distintivo color dorado a este grupo (Hoek et al., 1995).

Se caracterizan por tener una cubierta hecha de sílice denominada frústula, que se encuentra constituida por dos valvas, una hipovalva que embona en la epivalva como una caja de Petri (Hasle y Syvertsen, 1997). La clasificación de estos organismos se basa principalmente en las ornamentaciones que presenta la frústula, producidas por diversos poros, areolas, procesos (reforzados o labiados), apéndices (cuernos o espinas), presencia o ausencia de rafe; así como algunos otros caracteres morfométricos como: la densidad de estrías, fíbulas, poros, y dimensiones de acuerdo con la posición o vista en que sean observadas las células (Fig. 14). Actualmente la clasificación de estos organismos se sustenta también en análisis moleculares y citológicos (Medlin y Kaczmarska, 2004).

Algunas especies del género *Pseudo-nitzschia* y *Halamphora* producen una toxina llamada ácido domoico, esta es una neurotoxina que producen una intoxicación conocida como Síndrome Amnésico por Consumo de Mariscos (ASP por sus siglas en inglés) (Trainer et al., 2008).

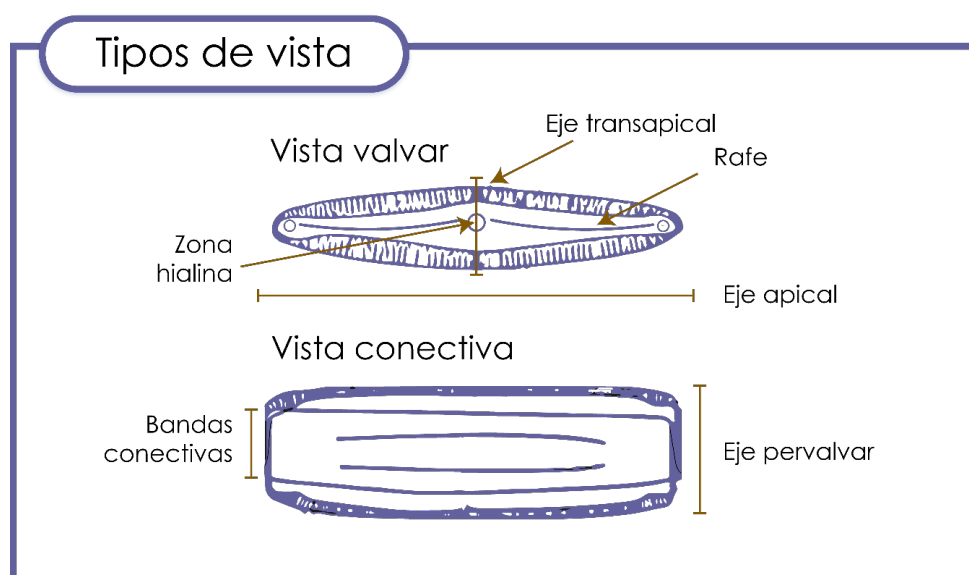


Figura 14. Vistas y ejes de las diatomeas.

Objetivos

Reconocer e identificar a las diatomeas bajo el microscopio.

Reconocer las características que se usan para la determinación de los géneros y especies.

Material y equipo

Material por equipo

1 Microscopio de campo claro

1 Microscopio de contraste de fases

1 Ocular con reglilla

Portaobjetos

Cubreobjetos

2 Pipetas Pasteur con bulbo

Papel Seda

Reactivos

Aceite de inmersión

1 Piseta con etanol

1 Piseta con agua destilada

Material biológico

Muestra de plancton fijada con formaldehído al 4%

Muestra de plancton viva

Muestra montada con resina

Proporcionado por el alumno

Lapicero

Hojas de papel

Procedimiento experimental

1. Realizar la iluminación de Köhler.
2. Montar una muestra de material biológico.
3. Buscar y reconocer a las diatomeas.
4. Identificar el tipo de vista en el que se observan.
5. Esquematizar a 10 diatomeas (pueden tomar fotografías con el celular para ayudarse).

6. Medir al organismo según su nivel de organización (unicelular o cadena).
7. Medir las células individuales: longitud, ancho y diámetro.
8. Señalar sus planos de medición: eje apical, eje pervalvar y/o eje transapical.

Observaciones

1. Con ayuda de literatura y del profesorado identificar los posibles grupos taxonómicos.
2. Con ayuda de la base de datos de algaebase (Guiry y Guiry, 2023) disponible en <https://www.algaebase.org/>, colocar la clasificación taxonómica de la siguiente manera:
 - a. *Dominio*
 - b. *Reino*
 - c. *División (Phylum)*
 - d. *Clase*
 - e. *Familia*
 - f. *Género*
 - g. *Especie* (Si se logra su identificación)

Resultados

Mostrar los esquemas obtenidos con la siguiente información a manera de ficha:

1. Localidad donde se encontró y tipo de agua.
2. Forma de los organismos.
3. Vista en la que se observa (conectiva o valvar)
4. Nivel de organización.
5. Tipo (forma) y color de cloroplastos.
6. Colocar la clasificación taxonómica obtenida en la recopilación bibliográfica.

Discutir

Investigar sobre los distintos géneros; realizar una comparación con los organismos encontrados y mencionar sus características principales.

Cuestionario

1. Mencione las características del patrón estructural básico de diatomeas (recuerda que se refiere a características de unidad del grupo).
2. Mencione las tres clases en que se clasifican las diatomeas según el esquema de Medlind y Kaczmarska (2004), señalando las características diagnósticas de cada una de las clases. Y ¿cuáles son las diferencias con el sistema de clasificación de Round *et al.* (1990)?
3. Define siguientes estructuras de diatomeas y haz un esquema de estas:
 - a) Fultoportulae (Buscar Thalassiosirales o *Skeletonema*)
 - b) Rimoportulae (Buscar Coscinodiscales)
 - c) Rafe
 - d) Ocelos (buscar *Odontella*)
 - e) Pseudorafe (Buscar *Fragillaria*)
 - f) Fíbulas (buscar *Nitzschia* o *Pseudo-nitzschia*)

- g) Estrías (Buscar *Pseudo-nitzschia*)
 - h) Areolas
 - i) Frústula
 - j) Setas
 - k) Pseudonódulo (buscar *Actinocyclus*)
4. Mencione la razón del por qué las diatomeas se usan para reconstrucción de ambientes antiguos.
 5. Mencione a tres especies causantes del envenenamiento amnésico por consumo de mariscos, y señale cual es la toxina que la provoca y los síntomas de la enfermedad.
 6. Señale un método usado para limpieza de las frústulas de diatomeas (es decir quemar todo el contenido citoplásmico y dejar vacía la frústula).
 7. En las siguientes diatomeas, dibuja los ejes: apical, transapical y perivalvar, y diga si se trata de una diatomea céntrica o pennada.
 - Eje apical
 - Eje perivalvar
 - Eje transapical
- a. Rhizosolenia
 - b. Biddulphia
 - c. Navicula
 - d. Entomoneis
 - e. Lioloma
 - f. Thalassiosira
 - g. Cocconeis

Conclusiones

Basándose en los resultados obtenidos y en la discusión, mencionar si se cumplieron los objetivos de la práctica.

Referencias

- Hasle, G.R., y Syvertsen, E.E. (1997). Marine diatoms. En: Tomas CR, editor. Identifying marine phytoplankton: Elsevier Science. Pp. 5-386.
- Hoek, C., Mann, D. y Jahns, H.M. (1995). Algae: An Introduction to phycology. Cambridge University Press. Pp. 623.
- Hobbs, W.I.O., Wolfe, A., Inskeep, W.P., Amskold, L.A. y Konhauser, K.O. (2009). Epipelagic diatoms from an-extreme acid environment: Beowulf Spring, Yellowstone National Park, USA. Nova Hedwigia Supplement., 135: 71-83.
- Kooistra, W., Gersonde, R., Medlin, L.K. y Mann, D. (2011). The origin and evolution of the diatoms: their adaptation to a planktonic existence. En: Falkowski P, Knoll AH, (Eds.) Evolution of primary producers in the sea: Elsevier Science. Pp. 207-249.
- Medlin, L.K. y Kaczmarska, I. (2004). Evolution of the diatoms: V. Morphological and cytological support for the major clades and a taxonomic revision. Phycologia, 43(3): 245-270.
- Trainer, V., Hickey, B.M. y Bates, S.S. (2008). Toxic diatoms. En: Walsh, P.J., Smith, S., Fleming, L., Solo-Gabriele, H., Gerwick, W.H. (Eds.). Oceans and human health: risks and remedies from the seas: Elsevier Science. Vol. 14: 219-237.

Limpieza de diatomeas

Introducción

La taxonomía de las diatomeas se basa principalmente en las estructuras y ornamentación de sus frústulas, por lo que para una adecuada identificación de los organismos es necesario la limpieza de estas; es decir, se necesita eliminar toda la materia orgánica interna y externa, ya que esta impide la adecuada observación de las estructuras de las valvas (Ferrario et al., 1995). Se recomienda hacer limpieza con potentes oxidantes, ácidos, peróxido, luz ultravioleta y enzimas, dependiendo de la resistencia de las frústulas; es decir, de la cantidad de sílice que contenga cada una de las especies. Para observación en microscopía de luz se recomienda usar resinas con un alto índice refractivo (Hasle y Syvertsen, 1997).

Objetivos

Conocer y aplicar el método de Simonsen para limpiar las frústulas de las diatomeas y su montaje en preparaciones permanentes.
Observar las diferencias entre material vivo, procesado y fijado.

Material y equipo

Material por equipo

1 Microscopio de campo claro

1 Microscopio de contraste de fases

1 Ocular con reglilla

Portaobjetos

Cubreobjetos

2 Pipetas Pasteur con bulbo

Papel seda

1 tubo de ensayo

1 Gradilla

Baño maría

Centrifuga

Pinzas de relojero

Placa calefactora

Reactivos

Permanganato de potasio

Ácido clorhídrico puro

Resina sintética Sigma-Aldrich

Aceite de inmersión

1 Piseta con etanol

1 Piseta con agua destilada

Tiras indicadoras de pH

Material biológico

Muestra de plancton fijada con formaldehído al 4%

Marina

Proporcionado por el alumno

Lapicero

Hojas de papel

Etiquetas

Procedimiento experimental

Método de Simonsen

En esta práctica, los estudiantes seguirán el método estándar de Simonsen de 1974. Es un método que incluye ácidos y, por ello, se requiere que todo el trabajo se realice en una campana de extracción y siguiendo el reglamento de laboratorio.

Primera parte 24 h. antes del laboratorio

1. Colocar la muestra de red fijada con formaldehído al 4% en un tubo de ensayo.
2. Centrifugar a 1200 rpm durante 15 minutos.
3. Desechar cuidadosamente con ayuda de una pipeta el sobrenadante.
4. Rellenar con agua destilada el tubo de ensayo.
5. Repetir 2 veces del paso 2 al 4.
6. Repetir el paso del 2 al 3; es decir, sin rellenar con agua destilada el tubo de ensayo.
7. Adicionar una solución saturada de permanganato de potasio, en proporción 1:1 (v:v).
8. Agitar cuidadosamente y dejar reposar en una gradilla durante 24 h.

Segunda parte, en el laboratorio

El tubo de ensayo tiene una coloración morada después de las 24 h.

1. Adicionar ácido clorhídrico puro en proporción 1:1 (v:v) y mezclar cuidadosamente.
2. Observar el cambio de coloración morada a café.
3. Colocar el tubo de ensayo en baño de agua caliente a máxima temperatura.
4. Esperar hasta que la solución se torne incolora o ámbar claro (esto puede tomar de 15 a 60 minutos).
5. Centrifugar a 1500 rpm durante 10 minutos.

6. Desechar el sobrenadante cuidadosamente con ayuda de una pipeta.
7. Rellenar con agua destilada el tubo de ensayo.
8. Repetir 6 veces del paso 5 al 7.
9. Con una tira de papel indicador (No usar potenciómetro ya que este puede afectar la biomasa obtenida), medir en el pH hasta obtener un valor de 7 (neutro), si no es así repetir el paso 5 al 7 hasta que se neutralice.
10. Retirar el sobrenadante.

Montaje en resina

Se trabajará con el precipitado.

1. Se rotula el portaobjetos en la parte lateral con ayuda de las etiquetas y con los siguientes datos:
 - a. Localidad de muestreo
 - b. Tipo de agua: dulceacuícola, salobre o marina.
 - c. Colector
 - d. Fecha de colecta
 - e. Nombre o seudónimo de los que preparan la muestra.
2. Poner una pequeña gota con el material precipitado sobre un cubreobjetos limpio.
3. Se coloca el cubreobjetos en la placa calefactora con calor bajo hasta que seque.
4. Al portaobjetos se le agregará dos gotas de resina sintética (Sigma-Aldrich), cerca del centro
5. Con ayuda de unas pinzas finas o de relojero, tomar el cubreobjetos seco y colocarlo encima de las gotas resina evitando que se formen burbujas.
6. Las preparaciones se dejarán unos segundos sobre la placa calefactora, ligeramente caliente, para permitir que se evapore el solvente de la resina, importante tener cuidado de que no burbujee.
7. Dejar enfriar.

Visualización

1. Montar la muestra obtenida en el microscopio.
2. Observar en el microscopio de contraste de fases, en campo oscuro.
3. Esquematizar a 10 diatomeas (pueden tomar fotografías con el celular para ayudarse).
4. Medir al organismo según su nivel de organización (unicelular, cenobio completo o tricoma).
5. Medir las células individuales: longitud, ancho y diámetro.

Observaciones

1. Con ayuda de literatura y del profesorado, identificar los posibles grupos taxonómicos observados.
2. Con ayuda de la base de datos de algaebase (Guiry y Guiry 2023) disponible en <https://www.algaebase.org/>, colocar la clasificación taxonómica de la siguiente manera:
 - a. Dominio
 - b. Reino
 - c. División (Phylum)
 - d. Clase
 - e. Familia
 - f. Género
 - g. Especie (Si se lograra la identificación)

Resultados

Mostrar los esquemas obtenidos con la siguiente información a manera de ficha:

- Localidad donde se encontró y tipo de agua.
- Forma de los organismos.
- Nivel de organización: Unicelular o pluricelular. Si es pluricelular anotar si son filamentos, cenobios, colonias, consorcios o cadenas.
- Colocar la clasificación taxonómica obtenida en las observaciones.

Discutir

Observar si hay diferencias entre la observación de diatomeas limpias con respecto a aquellas de muestras fijadas o vivas, y cuál es el mejor método para observarlas con énfasis taxonómico.

Mencionar si el método de Simonsen es ideal para diatomeas que se consideran “delicadas” y si esta técnica conserva las frústulas de organismos planctónicos débilmente silicificados, presentes en ambientes oligotróficos o mesotróficos, buscar alternativas para mejorar su estudio.

Cuestionario

1. ¿Qué otros métodos se utilizan para la limpieza de diatomeas?, menciona por lo menos dos.
2. ¿Qué método de limpieza utilizarías para el género *Coscinodiscus* y por qué?
3. ¿Qué método de limpieza utilizarías para el género *Chaetoceros* y por qué?
4. ¿Qué método de limpieza utilizarías para el género *Pseudo-nitzschia* y por qué?
5. ¿Por qué es importante seguir los protocolos de seguridad en la limpieza de diatomeas?

Conclusiones

Basándose en los resultados obtenidos y en la discusión, mencionar si se cumplieron los objetivos de la práctica.

Referencias

- Ferrario, M.E., Sar, E.A. y Salas, S.E. (1995). Metodología básica para el estudio del fitoplancton con especial referencia a las diatomeas. En: Alveal, K., Ferrario, M.E., Oliveira, E.C. y Sar, E. (Eds.) Manual de métodos ficológicos. Anibal Pinto De. Concepción, Chile. Pp. 2-20
- Hasle, R.G. y Syvertsen, E.E. (1997). Marine diatoms. En: Tomas, C.R. (Ed.) Identifying marine phytoplankton Academic Press, New York, USA. Pp. 5 – 386.
- Simonsen, R. (1974). The diatom plankton of the Indian Ocean Expedition of R/V “Meteor” 1964-1965. Meteor Forschungsergebnisse: Reihe D, Biologie, 19: 1-107.

Densidad y abundancia relativa de fitoplancton

Introducción

Como base de la cadena trófica, el estudio de la composición y abundancia del fitoplancton es básica para el entendimiento de un ecosistema acuático, ya que puede servir como un indicador de los cambios ambientales y/o de la presencia de floraciones algales tóxicas o nocivas, ocasionado por el exceso de nutrientes (Karlson et al., 2010); que pueden impactar a las poblaciones cercanas y a la extracción de productos pesqueros o acuícolas, si es el caso. Es por lo que en diferentes partes del mundo se implementan programas de monitoreo de fitoplancton con el fin de reconocer especies potencialmente nocivas o tóxicas y cuál es su comportamiento en diferentes regiones del planeta (Anderson et al., 2005; Akselman et al., 2010; Cortés-Lara, 2012).

Existen dos maneras de conocer la abundancia de las especies, una corresponde a la abundancia absoluta o también conocida como densidad fitoplanctónica, que se refiere a la concentración de organismos unicelulares (o número de células en organismos pluricelulares), por unidad de volumen. El otro concepto corresponde al de abundancia relativa, el cual se refiere a conocer la importancia que tienen una especie dentro de una comunidad, a través de conocer el porcentaje que ocupa una población dentro en una comunidad o ecosistema.

Objetivos

Reconocer la diferencia entre densidad relativa y abundancia relativa.

Ensayar las técnicas para la cuantificación de fitoplancton.

Reconocer las fórmulas para calcular tanto densidad como abundancia relativa.

Material y equipo

Material por equipo

1 Microscopio de campo claro

1 Microscopio de contraste de fases

Portaobjetos

Cubreobjetos

Cámaras Sedgwick-Rafter

2 Pipetas Pasteur con bulbo

Papel seda

Reactivos

1 Piseta con agua destilada

Material biológico

Muestra de plancton fijada con formaldehído al 4%

Marina y dulceacuícola

Proporcionado por el alumno

Lapicero

Hojas de papel

Procedimiento experimental

Abundancia Relativa

1. Realizar la iluminación de Köhler.
2. Montar una muestra de material biológico en portaobjetos y colocar un cubreobjetos.
3. Recorrer la muestra en zig-zag (Fig. 15) con ayuda del tornillo de desplazamiento del microscopio, identificando a nivel género los organismos observados y contando cada uno de ellos, hasta completar un total de 400 **células** (es importante contar células, no número de cadenas o filamentos).
4. Repetir desde el punto 1 tres veces.

Densidad relativa

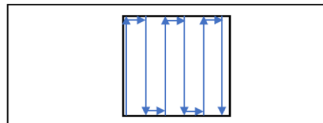
1. Realizar la iluminación de Köhler.
2. Tomar la cámara Sedgwick-Rafter.
3. Cubrir la cámara Sedgwick-Rafter diagonalmente, con un cubreobjetos largo.
4. Llenar la cámara Sedgwick-Rafter con un mililitro de muestra, la cual, al irse llenando, el cubreobjetos se deslizará y cerrará la cámara (Fig. 15).
5. Se contarán los organismos por cuadrante, de manera aleatoria hasta contar como mínimo 400 células. Es importante definir al principio del conteo si se contarán los organismos que caigan en una de las líneas superior o inferior, o en las líneas derecha o izquierda (Fig. 15).
6. Se identificará a nivel género los organismos observados y se contará cada uno de ellos (Fig. 15).

Pasos a seguir

Abundancia Relativa

↳ Paso 3

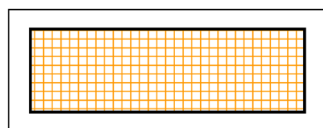
Observar la muestra en zig-zag →



Densidad Relativa

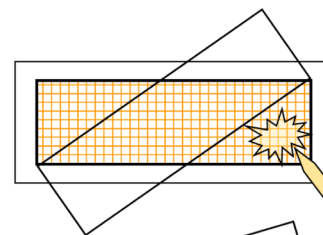
↳ Paso 2

Tomar la cámara
Sedgwick-Rafter →



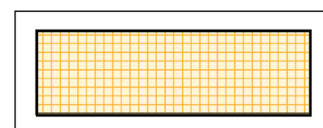
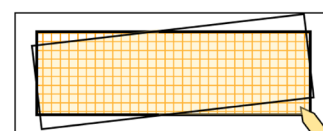
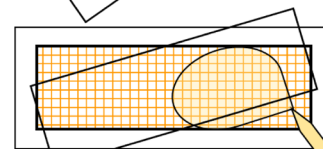
↳ Paso 3

Cubrir diagonalmente
con un cubreobjetos →



↳ Paso 4

Llenar la cámara
con un mililitro de muestra
conforme se va llenando
el cubreobjetos se deslizará
y se cerrará la cámara →



↳ Paso 5

Contar como mínimo 400 células
Es importante definir si se contarán
los organismos que caigan en una
de las líneas superior o inferior, o en
las líneas derecha o izquierda

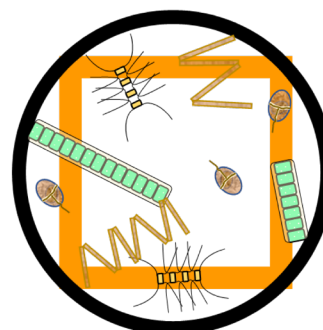


Figura 15. Esquema de conteos de Abundancia Relativa (AR) y Densidad (D).

Observaciones

Abundancia Relativa

1. Con ayuda de literatura y del profesorado, identificar los posibles grupos taxonómicos.
2. Se realizarán los cálculos de abundancia relativa en base al porcentaje de participación de cada taxa referida al número total de organismos fitoplanctónicos contados (Número total igual a 100%)

$$\text{Abundancia relativa} = \frac{(\text{Número de individuos por taxa})}{(\text{Número total de individuos contados})} \times 100$$

Densidad

1. Con ayuda de literatura y del profesorado identificar los posibles grupos taxonómicos observados.
2. Se realizarán los cálculos como el número total de individuos con relación al número de cuadros analizados en la cámara Sedgwick-Rafter.
3. Hay que considerar que a la cámara Sedgwick-Rafter le cabe 1 mL y que está dividida en 20x50 cuadros, lo que nos da un total de 1000 cuadros y que cada cuadro correspondería a 0.001 mL

$$\text{Densidad} = \frac{\text{Número de individuos por taxa}}{\text{Número de cuadros} \times 0.001 \text{ mL}} \text{ Células mL}^{-1}$$

Resultados

Mostrar los resultados de abundancia relativa en un cuadro donde:

- Las filas corresponderán a cada uno de los taxa registrados.
- Las columnas al número de organismos en la primera, y al porcentaje por especie en la segunda.
- Al final se reporta el total de células contadas que corresponderá al 100% de los organismos observados.

Mostrar los resultados de densidad en un cuadro donde:

- Las filas corresponderán a cada uno de los taxa registrados.
- Las columnas al número de organismos de la primera, y el valor de células mL⁻¹ de la segunda.
- Al final se reporta el total de células mL⁻¹.

Discutir

Con base en los resultados discutir la importancia de obtener la abundancia relativa y la densidad del fitoplancton en general y por taxa.

Cuestionario

1. En qué consiste el método de Utermöhl y cuál sería su ventaja sobre la abundancia relativa y el uso de las cámaras Sedgwick-Rafter.
2. ¿Con qué tipo de microscopio se utilizan las cámaras Utermöhl, describa?
3. Además de las cámaras Sedgwick-Rafter y Utermöhl, ¿qué otro tipo de cámaras se utilizan para el conteo de células? ¿Y en qué casos se utilizan?
4. ¿Qué otras técnicas se utilizan para la estimación de la biomasa, mencione al menos tres?

Conclusiones

Basándose en los resultados obtenidos y la discusión, mencionar si se cumplieron los objetivos de la práctica.

Referencias

- Akselman, R., Reguera, B. y Lion, M. (2010). HAB-MAPS of toxic microalgae in coastal and shelf waters of South America. En: Moestrup, Ø. et al. (Eds.) *Proceedings of the 12th International Conference on Harmful Algae*. International Society for the Study of Harmful Algae and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, 2008 Copenhagen. Pp. 243-245
- Anderson, D.M., Pitcher, G.C. y Estrada, M. (2005). The comparative “systems” approach to HAB research. *Oceanography*, 18(2):148-157.
- Anónimo. (2005). Metodología para el establecimiento el Estado Ecológico según la Directiva MARCO del Agua. Protocolos de muestreo y análisis para fitoplancton. Confederación hidrográfica del Ebro. Ministerio del Medio Ambiente. Zaragoza, España. 36 p.
- Cortés-Lara, M.C., Cortés Altamirano, R., Cupul Magaña, A.L., Vidal, L. y Vega, F. (2012). Guía de florecimientos microalgales (2000-2011) causantes de mareas rojas en la Bahía de Banderas Jalisco-Nayarit. Centro Universitario de la Costa, Universidad de Guadalajara. México.
- Edler, L. y Elbrächter, M. (2010). 2 The Utermöhl method for quantitative phytoplankton analysis. En: Karson, B., Cusack, C. y Bresnan, E. (Eds.) *Microscopic and molecular methods for quantitative phytoplankton analysis*. Intergovernmental Oceanographic Commission, UNESCO, París. Manual and Guides 55. Pp.16-20.
- Ferrario, M.E., Sar, E.A. y Salas, S.E. (1995). Metodología básica para el estudio del fitoplancton con especial referencia a las diatomeas. En: Alveal, K., Ferrario, M.E., Oliveira, E.C. y Sar, E. (Eds.) *Manual de Métodos Ficológicos*. Anibal Pinto De. Concepción, Chile. Pp. 2-20.
- Guillard, R.L. (1978). Counting slides. En: Sournia, A. (Ed.) *Phytoplankton manual*. UNESCO, París. Pp. 191-196.
- Hasle, G.R. (1978). Using the invert microscope. En: Sournia, A. (Ed.) *Phytoplankton manual*. UNESCO, París. Pp. 182-189.
- Karson, B., Cusack, C. y Bresnan, E. (Eds.). (2010). *Microscopic and molecular methods for quantitative phytoplankton analysis*. Paris, UNESCO. (IOC Manuals and Guides, no. 55.) (IOC/2010/MG/55) 110 p.
- LeGresley, M. y McDermott, G. (2010). 4 Counting chamber methods for quantitative phytoplankton analysis-haemocytometer, Palmer-Maloney cell and Sedgewick-Rafter cell. En: B. Karson, C. Cusack and E. Bresnan (Eds.) *Microscopic and molecular methods for quantitative phytoplankton analysis*. Intergovernmental Oceanographic Commission, UNESCO, París. Manuals and Guides 55. Pp. 28-30.

Técnicas asociadas al cultivo de microalgas planctónicas marinas

Introducción

El cultivo de microalgas planctónicas requiere el conocimiento de diferentes técnicas para la correcta implementación de sistemas de producción, las cuales se utilizan en los procesos de esterilización, preparación de medio de cultivo, recolecta, aislamiento, crecimiento, mantenimiento y procesos adicionales para el análisis de los organismos.

Los métodos actuales para una correcta identificación taxonómica combinan datos morfológicos con información genética (Vilchis et al., 2016). Sin embargo, para llegar a una clara y determinante conclusión sobre la clasificación de las especies en el fitoplancton, es importante conjuntar la variedad de técnicas y herramientas disponibles para su caracterización. Los métodos de identificación pueden ser variados; no obstante, la utilización holística de cultivos, microscopía, y marcadores moleculares, se vuelve fundamental en el actuar de la identificación taxonómica de estos organismos, a fin de lograr solucionar problemas taxonómicos de manera confiable ante la variedad de grupos en el fitoplancton (González, 1987; Meave et al., 2012; Vilchis et al., 2016). Por lo que la presente práctica describe técnicas básicas de cultivo de fitoplancton para fines de investigación o consultoría.

Objetivos

Conocer las diferentes técnicas de aislamiento, crecimiento y mantenimiento dentro del cultivo de microalgas.

Cultivar organismos fitoplanctónicos para observar, identificar y analizar, los organismos cultivados.

Material y equipo

Material por equipo

5 tubos de ensayo

Autoclave

Caja de cultivo

Filtros de policarbonato de 0.05 μm

Mechero

Microscopio óptico

Pipetas Pasteur o capilares

Piseta de alcohol

Portaobjetos

Sistema de filtración inversa

Reactivos

1 piseta con agua destilada

Medio de cultivo GSE

Material biológico

Cepas de organismos

Muestra de agua marina con presencia fitoplanctónica

Proporcionado por el alumno

Algodón

Ampolleta de complejo B

Hojas de papel

Lapicero

Manguera de equipo de venoclisis

Papel craft

Procedimiento experimental

Las técnicas que se conocerán durante la práctica serán la esterilización, el aislamiento y el cultivo de organismos.

Esterilización

1. Preparación del material, se lavará todo el material de vidrio con jabones especializados o mezcla crómica.
2. A los tubos de ensayo se les pone un tapón de algodón y se envuelven en papel craft.
3. Los medios de cultivo se ubican en frascos de vidrio.

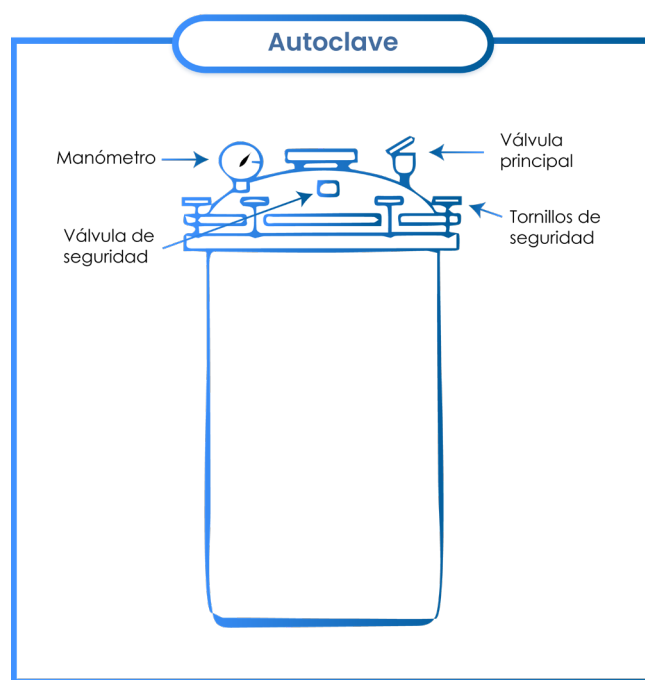


Figura 16. Partes de la autoclave

4. Todo el material y los medios de cultivo se esterilizan en autoclave a 121°C, 14 PSI, por 20 minutos, esto garantiza una buena efectividad para eliminar organismos contaminantes (Fig. 16).
5. Para el correcto uso de la autoclave hay que tener cuidado de que contenga agua a nivel adecuado, cerrar cuidadosamente la tapa (pedir indicaciones a los laboratoristas); esperar el tiempo requerido, después de alcanzada la presión y temperatura. Esperar a que enfíe (si se tiene duda preguntar al laboratorista) para poder abrir la autoclave.
6. Ya que se extrajo el material y reactivos de la autoclave, purgar el agua y dejar abierto para que seque. Preguntar al laboratorista las indicaciones específicas de manejo y limpieza del instrumento utilizado.

Aislamiento

Técnica de filtración inversa, se utilizará un sistema donde la gravedad ayude a la filtración para evitar que las células vivas se maltraten y posteriormente se procederá al aislamiento celular directo por pipeta.

Filtración de agua, preparación de medio

Preparación de medio de agua marina con agregado vitamínico, inoculación, mantenimiento.

Aislamiento preparación e inoculación

Agua marina

Medio GSE modificado enriquecido con agua de mar (Fig. 17).

Medio GSE	
Soluciones Stock	Por litro de agua destilada (H ₂ O)
1. KNO ₃	100.0 g
2. K ₂ HPO ₄	34.8 g
3. Vitaminas	1 capsula por todo el litro
a. B1 (tiamina)	
b. B2 (riboflavina)	
c. B3 (niacina)	
d. B5 (ácido pantoténico)	
e. B6	
f. B7 (biotina)	
g. B12	
h. Ácido Fólico	
4. Metal Mix	g/L
a. Na ₂ EDTA	6.0 g
b. FeCl ₃ ·6H ₂ O	0.29 g
c. H ₃ BO ₃	6.85 g
d. MnCl ₂ ·4H ₂ O	0.86 g
e. ZnCl ₂	0.06 g
f. CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.026 g
5. Selenio acidificado	
Solución madre completa	

Para el 100% del medio de cultivo se agregan 20 ml de solución madre y se afora a 1 litro con agua de mar esterilizada.

Para el 50% del medio de cultivo se agregan 10 ml de solución madre y se afora a 1 litro con agua de mar esterilizada.

Figura 17. Medio GSE Modificado.

Visualización

1. Realizar la iluminación de Köhler.
2. Montar una muestra de material biológico.
3. Buscar y reconocer a los organismos cultivados.
4. Esquematizar y fotografiar a los organismos cultivados.
5. Medir las células individuales: longitud, ancho y diámetro.

Observaciones

1. Con ayuda de literatura y del profesorado, identificar los posibles grupos taxonómicos observados.
2. Con ayuda de la base de datos de algaebase (Guiry y Guiry, 2023) disponible en <https://www.algaebase.org/>, colocar la clasificación taxonómica de la siguiente manera:
 - a. Dominio
 - b. Reino
 - c. División (Phylum)
 - d. Clase
 - e. Familia
 - f. Género
 - g. Especie (Si se llega a identificar)

Resultados

Lograr el cultivo de organismos fitoplanctónicos.

Observar e identificar los diferentes organismos.

Discutir

Investigar para qué sirven los distintos tipos de medio de cultivo y mencione en qué se diferencia de los demás el medio GSE.

Investigar las características de los organismos cultivados.

Cuestionario

1. ¿Por qué se utiliza la técnica de filtración inversa?
2. ¿Qué otro medio de cultivo es óptimo para un crecimiento celular efectivo? Detalle.
3. ¿Por qué realizar un aislamiento celular, siempre es necesario?
4. ¿Por qué es importante agregar vitaminas al medio de cultivo?
5. Esquematiza al organismo que mejor se desarrolló en tu cultivo e investiga más acerca de este.

Conclusiones

Basándose en los resultados obtenidos y en la discusión, mencionar si se cumplieron los objetivos de la práctica.

Referencias

- Andersen, R. A. (Ed.). (2005). *Algal culturing techniques*. Elsevier. 578 p.
- Castro, P., y Huber, M. (2007). *Biología Marina*. McGraw-Hill-interamericana. Madrid, España. 512 p.
- Dodson, A. N. y Thomas, W. H. (1978) Reverse filtration. En: Sournia, A. (Ed.). *Phytoplankton manual*. United Nations Educational Scientific and Cultural Organization. Paris, Francia. Pp. 104-107.
- González, J. (1987). Las algas de México. *Ciencias*, 10: 16-25.
- Hasle, G.R. y Syvertsen, E.E. (1996). Marine diatoms. En: Tomas, C.R. (Ed.). *Identifying Marine Phytoplankton*. San Diego: Academic Press. Pp. 5-385.
- Hernández-Rosas, A., Meave del Castillo, M., Díaz-Larrea, J., y Rodríguez, F. (2018). Single-cell PCR amplification of thecate dinoflagellates: a case study of Tripos (Dinophyceae). *Journal of Applied Phycology*, 30(2): 1117-1124.
- Meave-del Castillo, M.E., Zamudio-Resendiz, M.E., y Castillo-Rivera, M. (2012). Riqueza fitoplanctónica de la Bahía de Acapulco y zona costera adyacente, Guerrero, México. *Acta Botánica Mexicana*, 100: 405-487.
- Vicente, E., De Hoyos, C., Sánchez, P. y Cambra, J. (2005). *Protocolos de muestreo y análisis para fitoplancton*. Confederación Hidrográfica del Ebro. Ministerio de Medio Ambiente URS. Pp. 23-61.
- Vilchis, M.C.L., Felix, M.V., Lopez-Fuerte, F.O. y VEGA, B.O.A. (2016). ¿Conservar fitoplancton vivo? Cepario de microalgas del CIBNOR. *CIBNOR México. Recursos Naturales y Sociedad*, 2(2): 40-55.

Determinación de clorofila - a, b y c

Introducción

La productividad primaria en los sistemas acuáticos se lleva a cabo por los organismos autótrofos, a través del mecanismo bioquímico llamado fotosíntesis, por medio de este proceso el fitoplancton forma su propia materia orgánica a partir de luz, CO_2 , y nutrientes liberando proporcionalmente oxígeno al medio ambiente (Contreras, 1984).

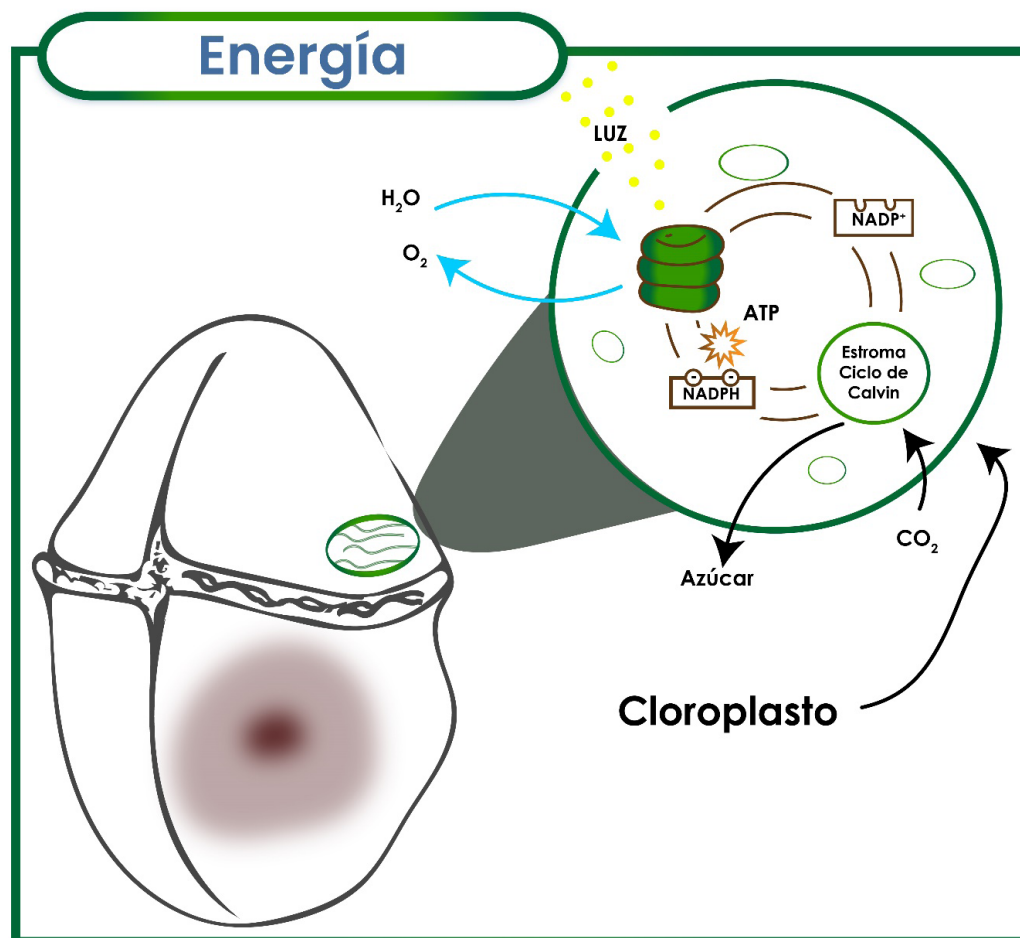


Figura 18. Reacción fotosintética en el fitoplancton.

Las clorofilas son pigmentos que se encuentran en todos aquellos organismos que tienen cloroplastos: plantas, cianobacterias, micro- y macroalgas (Fig. 18). Su principal función radica en la absorción de la energía lumínica, a través de fotones produciendo la excitación de un electrón que cede su energía volviendo al estado normal, a algún pigmento fotosintético y así sucesivamente. El electrón excitado va a facilitar la reducción de una molécula dando lugar a la energía química.

La concentración de clorofila se utiliza para estimar de manera indirecta la biomasa de las comunidades fitoplanctónicas (Fig. 19); por lo que, la medición de la clorofila es importante, incluso para conocer procesos de la eutrofización de los cuerpos de agua (Rivera et al., 2005).

Las clorofilas tienen en su espectro de absorbancia, dos picos o máximos de absorción, uno en el entorno de la luz azul (400-500 nm), y el otro en el entorno rojo (600-700nm); sin embargo, reflejan la parte correspondiente al verde (500-600 nm), razón por la que se observan de ese color. Las clorofilas van acompañadas de pigmentos auxiliares, principalmente carotenoides, xantofilas, y ficobilinas (i.e. ficocianina y ficoeritrina). En esta práctica, se determinará la concentración de clorofila a,

pigmento que se encuentra en los fotosistemas que absorben luz durante la fotosíntesis; también se determinará la concentración de la clorofila b, que se encarga de absorber la luz de otra longitud de onda y le transfiere la energía a la clorofila a y la clorofila c, la cual funciona como un pigmento accesorio del fotosistema II.



Figura 19. Pigmentos fotosintéticos.

Objetivos

Conocer y determinar las concentraciones de clorofila a, b y c en muestras de la columna de agua.

Analizar las diferencias entre los tres tipos de clorofila.

Material y equipo

Material por equipo

Filtros de fibra de vidrio Whatman GF/C de 0.7 μ m

Equipo de filtración Millipore

Pinzas, papel aluminio

Gel de sílice

Tubos de centrifuga graduados

Centrifuga

Pipetas Pasteur

Espectrofotómetro

Papel seda

1 espátula

Reactivos

1g de MgCO_3

Acetona al 90%

1 piseta con agua destilada

Material biológico

Muestra viva de fitoplancton

Procedimiento experimental

1. La cantidad de muestra dependerá de la productividad del cuerpo de agua de donde se tome la muestra: De 2 a 3 litros para agua marina y de 250 a 500 mL y hasta 50 mL para aguas estuarinas.
2. Por medio del equipo Millipore filtrar la muestra, antes de iniciado el filtrado añadir de 3 a 5 gotas de MgCO_3 .
3. Una vez, terminado el filtrado de la muestra con las pinzas doblar y colocar el filtro en tubos para centrifuga, agregando de 2 a 3 mL de acetona al 90%, macerar el filtro dentro del tubo y llenar con acetona hasta 10 mL. Para una mejor extracción de pigmentos se recomienda sonicar las muestras por 5 minutos con hielo, no indispensable.
4. Poner en la obscuridad la muestra por 24 h a una temperatura de 4°C.
5. Centrifugar a 4,000 rpm por 10 minutos.

*La velocidad será determinada en RPM (Rotación por minuto): este valor es indicativo a cuántas veces por minuto gira el rotor de la centrifuga.

Si bien, no especifica la fuerza que se ejerce, varias metodologías se detallan los RPM; en caso de utilizar diferentes marcas de centrifugas es recomendable cambiar la medida a RCF, para asegurar que se aplique la misma fuerza.

*RCF (Fuerza centrífuga relativa): Es también conocida como la Fuerza G y es una unidad de medida de la fuerza real que se está ejecutando. Se calcula utilizando los RPM y el radio de centrifugación, o sea, la distancia desde el centro del rotor hasta la base del tubo que está girando en el equipo.

Se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$\text{RCF o Fuerza G} = 1.12 * \text{Radio (mm)} * (\text{RPM}/1000)^2$$

6. Sacar la muestra con la pipeta Pasteur y colocarla en una celda, para tomar la lectura en el espectrofotómetro a 665 nm (mayor absorbancia clorofila a), 645 nm (mayor absorbancia clorofila b) y 630 nm (mayor absorbancia clorofila c).

Las lecturas del espectrofotómetro se realizarán en contra de un blanco de acetona al 90%.

Cálculos

Para cada concentración de clorofila se realizarán las siguientes ecuaciones (SCOR / UNESCO, 1980):

$$\text{Clorofila a} = 11.64 E_{665} - 2.15 E_{645} + 0.10 E_{630}$$

$$\text{Clorofila b} = 20.94 E_{645} - 3.94 E_{665} - 3.66 E_{630}$$

$$\text{Clorofila c} = 54.22 E_{630} - 14.81 E_{645} - 5.53 E_{665}$$

Cada valor obtenido se multiplica por el volumen de la extracción en ml y se divide por el volumen de la muestra de agua en L.

*La concentración de cada clorofila se especificará en mg/m³.

Uso del espectrofotómetro

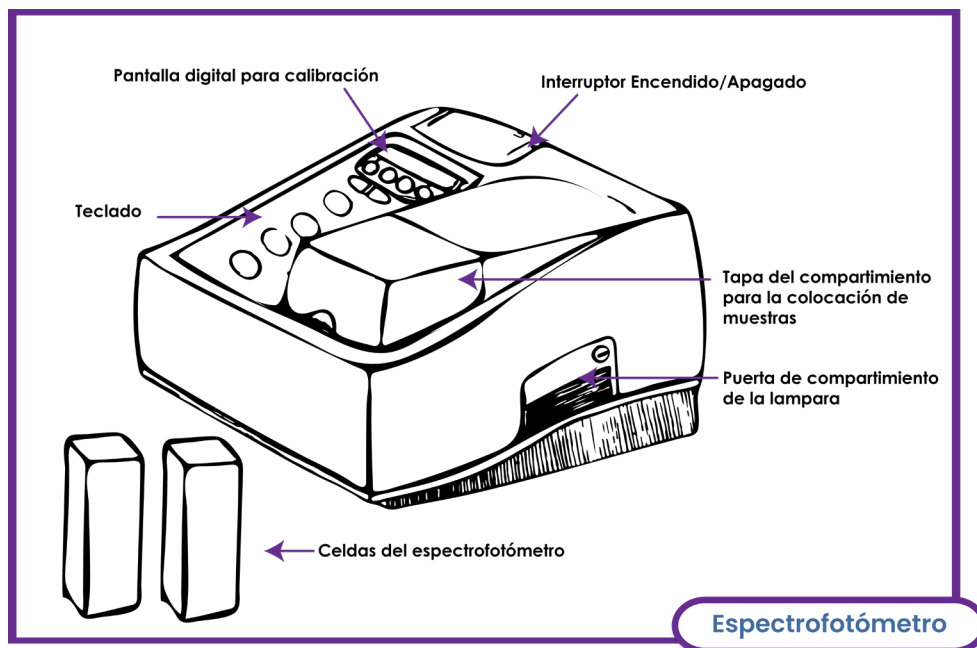


Figura 20 Partes del espectrofotómetro

El espectrofotómetro es un instrumento de laboratorio que se utiliza para obtener análisis cualitativos y cuantitativos, bajo diferentes técnicas (Fig. 20). Tiene la capacidad de proyectar un haz de luz (de una longitud de onda particular) a través de una muestra, midiendo la cantidad de luz que es absorbida por dicha muestra, así como la relación de la intensidad de calor en una muestra y su relación a la cantidad de soluto dentro de la misma (Martínez-Orsorio y Pérez-Espinosa, 2009). Se rige de acuerdo con la ley de Lambert-Beer, basada en que la cantidad de luz absorbida por un cuerpo depende de la concentración de un soluto.

Partes y uso del espectrofotómetro:

1. Encender el equipo.
2. Colocar agua destilada en las celdas y calibrar el equipo de acuerdo, a la longitud de onda a ocupar.
3. Retirar de la celda de enfrente el agua destilada y colocar la muestra, cerrar la tapa y medir la longitud de onda.
4. Al terminar las muestras, limpiar las celas con papel seda, y apagar el equipo como indique el profesorado.

Resultados

Realice los cálculos correspondientes a cada fórmula para conocer las concentraciones de las clorofilas a, b y c.

Realice los gráficos de absorbancia para comparar las concentraciones de las clorofilas a, b y c.

Localidad donde se encontró la mayor biomasa fitoplanctónica y mencione si es dulceacuicola, salobre o marina.

Discutir

Investigar en qué consiste la diferencia entre los pigmentos fotosintéticos.

Investigar la función de los tilacoides en la fotosíntesis.

Investigar si hay estudios previos de concentraciones de clorofila a, b y c para la zona de donde fue tomada la muestra y comparar con sus resultados.

Cuestionario

1. ¿Qué otras técnicas se pueden utilizar para determinar la concentración de clorofila y otros pigmentos?
2. Describa y esquematiza las tres principales etapas del ciclo de Calvin.
3. Describa y esquematiza el proceso de fotosíntesis en el fitoplancton.

Conclusiones

Basándose en los resultados obtenidos y en la discusión, mencionar si se cumplieron los objetivos de la práctica.

Referencias

- Contreras, E.F. (1984). Manual de técnicas hidrobiológicas. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México. 149 p.
- Rivera, C., Zapata, A., Pinilla, G., Donato, J. Chaparro, B. y Jiménez, P. (2005). Comparación de la clorofila a mediante los métodos espectrofotométrico y fluorométrico. *Acta Biológica Colombiana*, 10(2): 95-103.
- Rowan, K. (1989). *Photosynthetic pigments of algae*. Cambridge University Press. USA. 334 p.
- SCOR – UNESCO. (1966). *Determination of photosynthetic pigments in sea water*. París. 69 p.
- Strickland, J. y Parsons, T.R. (1972). *A practical handbook of seawater analysis*. Fisheries Research Board of Canada. 310 p.

Fitoplancton

Se terminó de imprimir en septiembre de 2023,
con un tiraje de 200 ejemplares, más sobrantes para reposición.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

División de Ciencias Biológicas y de la Salud



Av. Ferrocarril San Rafael Atlixco, Núm. 186,
Col. Leyes de Reforma 1ª Sección, Alcaldía Iztapalapa
C.P. 09310, CDMX.