

Procesado de muestras de zooplancton para análisis de actividad enzimática

Hernández-León, S.

Instituto de Oceanografía y Cambio Global, ULPGC

Finalidad. Campo de aplicación

Obtener la distribución vertical y regional de la actividad de las enzimas responsables de la respiración en zooplancton.

Conceptos generales

Medir la respiración en el océano consume mucho tiempo a bordo de los buques oceanográficos. La resolución espacial que se obtiene es muy pequeña por lo que desde hace décadas se utiliza la actividad del sistema de transferencia de electrones en las células como índice de la respiración.

Equipamiento necesario

Red de zooplancton.
Arcón congelador -80 °C.

Reactivos u otro material fungible

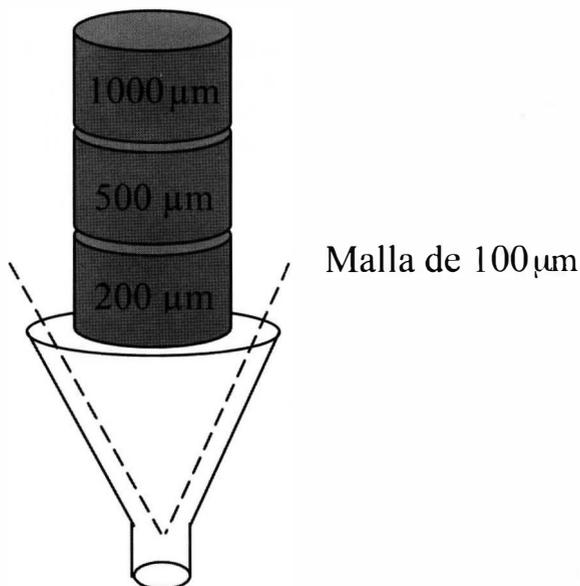
- Nitrógeno líquido.
- Pulverizador/es (tipo *matabi*).
- Embudos, varios tamaños.
- Cubos.

- Tubos eppendorf con tapa agujereada de 2ml.
- Punzón.
- Crioviales de 5 ml.
- Bandejas.
- Mallas de tamaño igual o inferior a la luz e malla de la red utilizada.
- Pinzas, espátulas.
- Rotuladores permanentes para etiquetar los viales.
- Papel de filtro.
- Tren de tamices de 1000, 500 y 200 μm , y malla de 100 μm .
- Cinta criogénica para rotular.
- Media para N_2 líquido.
- Gradilla para ultracongelación (cartón).
- Lechera con Nitrógeno líquido.
- Estadillo.
- Material etiquetado.

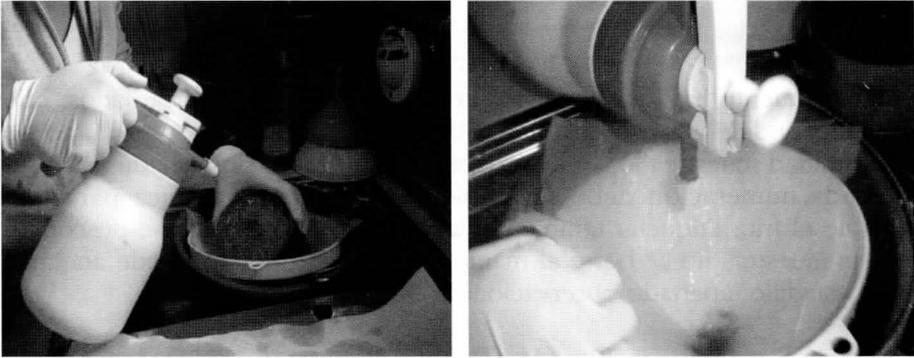
Descripción de la técnica

Procesado de muestras:

Se vierte la muestra sobre una columna de pequeños tamices de 1000, 500 y 200 μm . Es importante asegurarse de que están en este orden para evitar perder parte de la muestra.



El contenido del tamiz de 1000 μm se vierte con la ayuda de un pulverizador sobre una malla de forma cuadrada de 100 μm dispuesta en un embudo en forma de "filtro de café". Con un pulverizador se concentran los organismos en el centro de la malla.



Se abre la malla y se coloca sobre un papel secante, de tal forma que se retira el máximo de agua de la muestra.

Con una espátula se recogen los organismos y se pasan a un criovial (eppendorf). Este debe tener un pequeño orificio en la tapa hecho con un punzón para dejar pasar el aire y evitar que estalle tras la congelación. Nunca llenar los viales hasta arriba. Es mejor recoger en dos viales. Apuntar siempre en cuantos viales se ha introducido una misma muestra.



Cerrar el Eppendorf. **COMPROBAR QUE LA TAPA DEL EPPENDORF TIENE UN PEQUEÑO AGUJERO.** Nunca congelar sin comprobar esto pues el tubo se partiría al contacto con el nitrógeno. Se introducen los crioviales en una media o similar y a continuación en nitrógeno líquido para su congelación inmediata.

Repetir el proceso para los tamices de 500 y 200 μm . Cuando están todas las muestras procesadas se recuperan los crioviales y se colocan dentro de la caja de congelación de cartón. Después se llevan a la cámara congeladora de $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ para su almacenaje definitivo. Etiquetar la caja de congelación.

Etiquetado:

Inicialmente hay que tener los crioviales ordenados y rotulados, con rotulador indeleble, con el número de código de muestra y el rango de profundidad muestreado. La letra debe ser muy clara, sin tachaduras.

Cada numeración debe ser cubierta por cinta criogénica para que aguante el frío. Etiquetar también el tapón para que cuando se descongele las muestras no se borre al manipularlas. Este número puede anotarse en el estadillo, apartado observaciones.