



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**“COMUNIDADES DE AMEBAS DE VIDA LIBRE EN
CUATRO GALERÍAS DE LA GRUTA “ENTRADA DOS
CERROS”, TACOTALPA, TABASCO, MÉXICO”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIÓLOGA

PRESENTA

Erika Zenteno Robledo

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Salvador Rodríguez Zaragoza

LOS REYES IZTACALA, EDO. DE MÉXICO, 2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIAS

A mis padres Susana y Carlos por darme la vida, por todo el apoyo, cuidados y consejos durante toda mi existencia. Les agradezco todo y los aprecio mucho, gracias a ustedes puedo decir que tengo una carrera profesional, los quiero mucho.

A mi hermano Carlitos por escucharme y darme el apoyo emocional y personal, al aguantar mis locuras, te quiero mucho y gracias por ser mi hermanito.

A toda mi familia mis abuelas, mis tías y tío, mis primas y primos que en las buenas y en las malas siempre han estado ahí, solo les puedo decir que los quiero muchísimo y agradezco su apoyo.

A mis amigos de la carrera que gracias a ustedes pase momentos increíbles y me hicieron amenas las prácticas de campo, que bonitos recuerdos.

AGRADECIMIENTOS

A la UNAM y a la FES-Iztacala en primer lugar, porque me han hecho como persona y profesional capaz y responsable, además de haber aportado tanto conocimiento a mi vida.

Al Doctor Salvador por aceptarme en el laboratorio, así como su gran apoyo y confianza, le agradezco sus enseñanzas y el que me ayudará a realizar este gran paso en mi vida.

Al Profesor Horacio porque siempre he contado con su apoyo incondicional y las atenciones que ha tenido para la conclusión de este trabajo.

Al Arqueólogo Eladio porque sin su ayuda no se hubiera podido realizar este trabajo de tesis, por las facilidades y los conocimientos arqueológicos que me ha brindado, así como su apoyo y confianza.

Al Profesor Ramón por la ayuda brindada durante la realización de la presente tesis.

A Sandra y Angélica que fueron un gran apoyo para la realización de la misma.

Por último a:

Dr. Daniel Muñoz Iniestra

M. en C. Francisco López Galindo

ÍNDICE

RESUMEN	3
INTRODUCCIÓN	3
ANTECEDENTES	6
HIPÓTESIS	8
JUSTIFICACIÓN	8
PREGUNTA	8
OBJETIVO GENERAL	9
OBJETIVOS PARTICULARES	9
ÁREA DE ESTUDIO	9
MATERIALES Y MÉTODO	11
RESULTADOS	13
DISCUSIÓN	19
CONCLUSIONES	28
GLOSARIO	28
ANEXOS	29
REFERENCIAS	33

Resumen

Las amebas de vida libre (AVL) son protozoos que se encuentran en gran diversidad de ambientes, incluyendo las grutas. Además son uno de los principales grupos de depredadores que controlan las poblaciones de bacterias en el suelo.

El objetivo del presente estudio fue determinar y comparar la estructura de la comunidad de amebas de vida libre (AVL) que se encuentran en cuatro galerías de la Gruta Entrada Dos Cerros. Para ello, se tomaron cuatro muestras compuestas de sedimento y tres repeticiones por muestra a una profundidad de cero a cinco centímetros empleando una pala. Se registraron 22 especies de AVL, los géneros más comunes fueron *Vahlkampfia* (8 especies), *Acanthamoeba* (4 especies) y *Mayorella* (2 especies). Las galerías son microambientes microbiológicamente diferentes entre sí. Estas diferencias se deben a las condiciones ambientales de la gruta tales como la cantidad de humedad, el sustrato, la materia orgánica y el pH. Los nutrimentos y las AVL llegan al sedimento acarreados por corrientes de agua, movimientos de aire o adjuntos a los cuerpos de otros animales que entran en las grutas.

Introducción

Las amebas de vida libre (AVL) son protozoos que se encuentran en gran diversidad de ambientes (Peralta-Rodríguez, Ayala-Oviedo, 2009).

Las amebas son uno de los principales grupos de depredadores que controlan las poblaciones de bacterias en el suelo (Walochnik, Mulec, 2009). Se hallan en la zona de rizósfera y pueden llegar hasta la zona no saturada de los sistemas de aguas subterráneas (Rodríguez-Zaragoza, 1994).

Las AVL se sitúan en suelos o sedimentos donde la textura es un factor físico que controla la distribución de los depredadores, su potencialidad de dispersión lo determina el diámetro medio del poro de los agregados del suelo (Rodríguez-

Zaragoza, 1994). Por otra parte, las AVL se observan como partículas suspendidas en la columna de agua en los primeros 30 micrómetros de la superficie, o en los cuerpos de los animales y las plantas sumergidas. Estos microorganismos no distinguen entre ambientes terrestres o acuáticos debido a que viven en estas interfaces (Rodríguez-Zaragoza, 1994), se han localizado en todos los continentes, en diversas altitudes sobre el nivel del mar y son capaces de resistir altas temperaturas (Peralta-Rodríguez, Ayala-Oviedo, 2009).

La estructura de las comunidades de amebas en los ambientes acuáticos está fuertemente influenciada por los siguientes factores: pH, temperatura, concentración de ácido sulfhídrico y salinidad, los cuales afectan de manera directa la supervivencia de estos organismos (Rodríguez-Zaragoza, 1994).

Estos microbios son propagados por viento y corrientes de agua. Cuando están en el aire, los quistes y trofozoítos se comportan como cualquier otra partícula de materia en suspensión. La luz ultravioleta y la sequía son las principales causas de pérdida de viabilidad de estos organismos, por lo que su dispersión por el aire está limitada por el tiempo de exposición a estos agentes.

La actividad depredadora de las AVL en la zona de la raíz puede ser de mayor importancia de lo que se pensaba anteriormente, debido a que no necesitan grandes cantidades de agua para desarrollar su actividad en su entorno natural (Rodríguez-Zaragoza, 1994).

En ambientes poco explorados, tales como las grutas, se encuentran microorganismos residentes y transitorios. De estos, los microbios transitorios ingresan a las grutas por las corrientes de aire, corrientes de agua, insectos, murciélagos y a través de seres humanos. Estos microorganismos dependen únicamente de los recursos con los que cuenta este ambiente, no obstante tienden a prosperar en lugares con abundante materia orgánica disponible (Northup et al., 1997).

Dentro de una gruta, cualquier lugar con suficiente humedad puede contener microbios. Si hay una corriente de agua en la gruta, se encontrarían algas y bacterias en la superficie del agua y en el aire; mientras que los protozoos se hallarán en la columna de agua y en sedimentos del fondo del arroyo. Algunos

microbios de las grutas, como los del sedimento, producen compuestos químicos especializados o toxinas para defenderse de sus depredadores, los cuales podrían ser útiles para el humano en la lucha contra las enfermedades o la contaminación (Northup et al., 1997).

Los microorganismos del suelo conforman las redes tróficas edáficas, las cuales son más eficaces que las redes tróficas de organismos macroscópicos en la transformación de la biomasa (Clarholm, 1994; Bonkowski, 2004). En estas redes el aumento de las especies conlleva a una mejora en la utilización de la energía para el sistema pues su capacidad de fijación de biomasa es de alrededor del 45% (Clarholm, 1994). A este fenómeno se le refiere como la paradoja del circuito microbiano (Bonkowski, 2004), el cual explica la productividad y la diversidad tan altas que pueden tener los sistemas basados en microorganismos (Bowler et al., 2009).

Otra consecuencia de esta estructuración de los sistemas microbianos es la alta diversidad de especies que pueden contener, lo que da por resultado una elevada redundancia en el sistema. Al ser diferentes especies que desarrollan una misma actividad se asegura que el sistema funcione a pesar de las fluctuaciones ambientales que pueden favorecer a un grupo de especies en detrimento de otras (Rodríguez-Zaragoza, 1994).

Los protozoos son un puente importante entre la mesofauna y la microflora, pues, aunque hay grupos de nemátodos que se alimentan de bacterias, éstos crecen mejor cuando se incluyen protozoos en su dieta (Anderson et al., 1978).

Las comunidades de protozoos están formadas por especies dominantes, comunes y raras en ambientes sin perturbación recurrente (Mondragón-Camarillo, 2007; Cortés Pérez, 2009) y presentan preferencias alimenticias que permiten catalogarlos como bacterívoros, fungívoros, algívoros, carnívoros y omnívoros (Rodríguez-Zaragoza et al., 2004).

Por otra parte, las comunidades microbianas también se ven afectadas de manera indirecta por el tipo de materia orgánica que enriquece el suelo (Rodríguez-Zaragoza et al., 2008). Puede inferirse que las comunidades microbianas se acoplan y moldean al tipo de materiales que tienen disponibles (Rodríguez-

Zaragoza et al., 2008; Steinberger et al., 2009), por lo que las amebas de vida libre forman parte de éstas comunidades que transforman la materia orgánica en las redes tróficas.

Antecedentes

Northup et al. (1997) realizaron una revisión sobre la importancia de los microorganismos que se ubican en las cuevas, señalando sus hábitos e importancia en la medicina y en la investigación científica.

^aRodríguez-Zaragoza et al. (2005) estudiaron la influencia de la estacionalidad y del dosel de raíz de *Zygophyllum dumosum* en la diversidad de especies de AVL a dos profundidades del suelo (0-10 y 10-20 cm) en el desierto de Negev, Israel. Encontrando un total de 90 especies de amebas, siendo los géneros más comunes: *Hartmannella*, *Platyamoeba*, *Vahlkampfia*, *Acanthamoeba*, y *Echinamoeba*.

Bastian et al. (2009) realizaron un estudio en la cueva de Lascaux sobre bacterias y AVL que se localizaban en el sedimento. Encontrando bacterias principalmente como *Ralstonia mannitolilytica* y *Ralstonia pickettii*, seguidas por *Pseudomonas saccharophila*, *E. coli*, *Achromobacter xylosoxidans*, y *Pseudomonas lanceolata*. En menores proporciones estaban *Afipia* spp., *Legionella* spp., *Stenotrophomonas maltophilia* y *Aquicella* spp. En las galerías con pinturas paleolíticas descubrieron a la ameba desnuda de vida libre *Nuclearia delicatula*. Localizaron a *Acanthamoeba polyphaga*, en las biopelículas, la que además es un reservorio de bacterias patógenas como *Legionella* spp.

Walochnik y Mulec (2009) estudiaron la diversidad de AVL en 11 hábitats diferentes de precipitados de carbonatos de cuatro cuevas cársticas de Eslovenia. Encontraron a *Echinamoeba silvestris* aislada de una comunidad algal aerofítica, *Acanthamoeba castellanii* genotipo T4 y *Hartmannella vermiformis* aisladas de una piscina de cueva con balsas de calcita flotantes, y una nueva especie de ameba

de la familia Vahlkampfiidae *Allovahlkampfia spelaea* gen. nov. sp. nov., la cual fue aislada de una estalagmita estromatolítica.

Douterelo et al. (2010) compararon los efectos de dos terrenos de diferentes regímenes en la diversidad metabólica y en la estructura de la comunidad bacteriana en un gradiente de profundidad, con el fin de relacionarlos con los procesos de degradación de la materia orgánica y el potencial para la conservación *in situ* de los objetos arqueológicos encontrados en los suelos de los humedales. Las taxa predominantes en el perfil del suelo fueron las Proteobacterias y las Acidobacterias, pero no había un cambio claro en la composición de la comunidad de bacterias con respecto a una mayor profundidad, ya que varios grupos taxonómicos (Protobacteria-D y Espiroquetas) sólo se detectaron a 50 cm de profundidad. El sitio con una mayor cantidad de agua presentó una mayor actividad metabólica y diversidad bacteriana.

Hipótesis

Si el arrastre de materia orgánica por agua es el único aporte de nutrimentos y microorganismos a la gruta, entonces la estructura de las comunidades de amebas de vida libre del sedimento son semejantes entre las cuatro galerías de la gruta Entrada Dos Cerros ya que sus galerías están ubicadas entre los 27 y los 29 msnm; con una temperatura del sedimento aproximada de 24°C, están expuestas a la misma fuente de humedad y solo difieren en la textura del sedimento y color de éste.

Justificación

El conocimiento del mundo microbiano en general y de la diversidad microbiana en particular, es escaso. En ambientes como las grutas no se conocen las especies existentes ni la diversidad de patógenos microbianos capaces de sobrevivir en los ambientes generados en las grutas ni los depredadores que controlan sus poblaciones.

Las comunidades microbianas son más eficaces en la transformación de la biomasa que cualquier otra red trófica. Dentro de la red se encuentran los protozoos, tales como las amebas de vida libre (AVL), siendo importantes depredadores de otros microorganismos, los cuales sirven también de alimento para organismos de mayor tamaño como los nemátodos.

Debido a lo anterior, se requiere conocer cuáles son las AVL que conforman esta comunidad, y de qué manera son afectadas éstos organismos por las condiciones ambientales de la gruta.

Por tal motivo, en el presente trabajo se plantea la siguiente pregunta: ¿cuáles serán las diferencias entre las comunidades de amebas de vida libre del sedimento de las diferentes galerías de la Gruta Entrada Dos Cerros, Tacotalpa, Tabasco, México?

Objetivo General

Determinar y comparar la estructura de la comunidad de amebas de vida libre (AVL) que se encuentran en cuatro galerías de la Gruta Entrada Dos Cerros.

Objetivos Particulares

Aislar amebas de vida libre (AVL) presentes en la Gruta Entrada Dos Cerros

Identificar las especies de AVL

Cuantificar la cantidad total de AVL

Comparar la comunidad de AVL entre las galerías de la gruta

Área de estudio: Gruta Entrada Dos Cerros



Figura 1. Gruta Entrada Dos Cerros.

Ubicación geográfica

Las coordenadas geográficas de la Gruta Entrada Dos Cerros son Latitud Norte 17°32'55.49" y Longitud Oeste 92°45'31.73" (dentro de la zona 13). Éstas fueron tomadas mediante aparato geoposicionador marca GARMIN ETREX LEYEND C, el cual está calibrado en Datum WGS 84 México.

Ubicación política

La Gruta Entrada Dos Cerros se localiza en el Municipio Tacotalpa, en la Región Serrana de Tabasco, México.

Fisiografía

De acuerdo con la geomorfología, esta región presenta un paisaje tipo cárstico, que se caracteriza por la presencia de una gran cantidad de sistemas cavernosos, los cuales han sido aprovechados por los pobladores del lugar en numerosas ocasiones y de manera diversa durante el curso de la historia (Terreros-Espinosa, 2006).

Clima

Tabasco presenta clima cálido húmedo, la temperatura media anual es de 27°C, la temperatura máxima promedio es de 36°C y se presenta en el mes de mayo, la temperatura mínima promedio es de 18.5°C durante el mes de enero.

La precipitación media estatal es de 2550 mm anuales, las lluvias se presentan todo el año, siendo más abundantes en los meses de junio a octubre.

El clima cálido húmedo favorece el cultivo de plátano, papaya, naranja, limón, coco, cacao, arroz, maíz y frijol, entre otros (INEGI).

Flora

Se encuentran árboles de selva alta como ceiba; de maderas preciosas como cedro y caoba; pastizales y frutales como cacao, zapote, mamey, tamarindo, naranjo, limonero, entre otros (Atlas de México, 2002).

Fauna

Se han registrado la presencia de venados, ocelotes, serpientes; aves multicolores como papagayo, loro, ceniztonle y diversos insectos (Atlas de México, 2002).

Gruta “Entrada Dos Cerros”

La gruta se ubica a 29 metros sobre el nivel del mar (msnm), cuenta con seis galerías, dos de las cuales están colapsadas. Las cuatro galerías restantes se ubican entre los 27 y los 29 msnm. El piso presenta una temperatura aproximada de 24 °C. Las galerías difieren en la textura del sedimento y color de éste, así como la humedad relativa.

Materiales y Método

Muestreo

En la Figura 1, se ubican los puntos donde se tomaron muestras compuestas con las siguientes características:

Tabla 1. Características generales del sedimento de la gruta

Muestra	Característica y tipo de sedimento
Galería 1	Sedimento húmedo con fragmentos de rocas.
Galería 2	Sedimento húmedo con carbonatos recristalizados.
Galería 3	Sedimento seco con carbonatos recristalizados.
Galería 4	Sedimento seco con fragmentos de rocas.

Se tomaron cuatro muestras compuestas (ver Figura 1) de sedimento y tres repeticiones por muestra a una profundidad de cero a cinco centímetros empleando una pala. Las muestras fueron introducidas individualmente en bolsas de plástico Ziploc® y colocadas en una hielera para no sobrecalentarlas. Las muestras se trasladaron al laboratorio de Ecología Microbiana, UBIPRO, FESI, UNAM.

Dentro de la galería se registró la temperatura (empleando un termómetro infrarrojo), y de forma cualitativa humedad relativa, exposición solar y presencia de flora y fauna.

Trabajo de laboratorio

Las muestras de sedimento se dejaron secar a temperatura ambiente y se tamizaron con una malla No. 10. Éstas se prepararon para la obtención de la solución madre de extracto de sedimento y las respectivas soluciones de trabajo bajo los criterios de ^aRodríguez-Zaragoza et al., 2005 y Cortés Pérez, 2009. Los sedimentos fueron evaluados de acuerdo con su textura y humedad a capacidad de campo por el método gravimétrico, posteriormente para la determinación de materia orgánica (MO) por la técnica digestión de ácido y pH del sedimento real en una proporción 10/25 de sedimento agua, todo esto bajo el criterio de Muñoz et al., 2007.

Se prepararon medios de cultivo selectivos siguiendo el criterio de Cortés Pérez, 2009.

Para la identificación de amebas se hizo una dilución de 1:10 del sedimento extraído en agua corriente esterilizada para evitar la toxicidad de otros organismos siguiendo el criterio de Bamforth (2001). El cultivo inicial se hizo homogeneizando un gramo de sedimento de la muestra en 10 ml de la solución de trabajo (1:10). Los homogeneizados no se tocaron en 30 minutos para la sedimentación de las partículas, el sobrenadante se transfirió en el cultivo de agar no nutritivo libre de bacterias. Las amebas se sedimentaron en el agar por dos horas antes de retirar el exceso de agua para evitar el crecimiento de ciliados y flagelados (^aRodríguez-Zaragoza et al., 2005).

Los cultivos fueron revisados con microscopio invertido Olympus© después de 20 días de incubación a 28°C (Cortés Pérez, 2009). Se usó un microscopio de contraste de fases Nikon© y las claves para la identificación de amebas de vida libre desnudas (Page 1976,1988, 1991) para su determinación.

Se realizó un análisis de similitud de Sørensen con el programa PCOrd ver.4© para Windows©. Para estimar la cantidad de amebas se calculó el Número Más

Probable. Lo anterior se realizó utilizando placas de 24 pozos de la siguiente manera: se homogenizó un gramo de sedimento de la muestra en 10 ml de la solución de trabajo (dilución 1:10) y no se tocaron en 30 minutos para la sedimentación. A cada pozo se le agregó 50 µl de agar no nutritivo, 900 µl de extracto del sedimento y 100 µl de sobrenadante del homogeneizado. Se realizó una dilución 10^{-6} (6 tubos con 4 repeticiones), posteriormente se incubaron las placas por 15 días a 28°C (Cortés Pérez, 2009). Al término de los 15 días cada una de las placas fue observada al microscopio (invertido) Olympus®, se registró la ausencia o presencia de amebas y al término se obtuvieron las frecuencias (Rodríguez-Zaragoza et al., 2005). El número más probable se calculó mediante la fórmula de Thomas (Clesceri, 1992) y los datos obtenidos fueron analizados empleando una prueba de chi-cuadrada (prueba de independencia) (Moore, 2000).

Resultados

Propiedades físico-químicas del sedimento

Las propiedades físicas del sedimento con respecto a la textura (Tabla 2) se aprecia que predominó la textura arcillosa, seguida del franco limoso y franco arenoso. En cuanto a la humedad, la galería Dos registró el valor más alto (51.51%) y la galería Cuatro registró el valor más bajo (9.48%). Sobre las propiedades químicas del sedimento se tiene que en la Materia Orgánica (MO) se presentan los valores generales desde el más alto con 1.18% de la Galería Uno al más bajo con 0.44% de la Galería Tres. Por último, el pH de las galerías Uno y Dos son ligeramente alcalinos (7.7 y 7.8, respectivamente), el pH de la galería Tres es extremadamente ácido (3.8) y el de la galería Cuatro resultó ser neutro (6.8).

Tabla 2. Propiedades físico-químicas del sedimento de las galerías.

Muestra	Tipo de sedimento	Característica de la muestra	Textura	HCC	MO		pH (Real)	
Galería 1	Húmedo	Fragmentos de rocas	Arcilloso	42.18%	1.18%	Pobre	7.7	Ligeramente alcalino
Galería 2	Húmedo	Carbonatos recristalizados	Arcilloso	51.51%	0.56%	Extremadamente pobre	7.8	Ligeramente alcalino
Galería 3	Seco	Carbonatos recristalizados	Franco limoso	29.31%	0.44%	Extremadamente pobre	3.8	Extremadamente ácido
Galería 4	Seco	Fragmentos de rocas	Franco arenoso	9.48%	0.88%	Pobre	6.8	Neutro

Riqueza y abundancia de AVL

Se observó que las galerías Uno y Dos son húmedas, con fragmentos de rocas y carbonatos recristalizados respectivamente, las galerías Tres y Cuatro son secas, con carbonatos recristalizados y fragmentos de rocas respectivamente. Asimismo, en cuanto a número de especies, las galerías Dos y Cuatro registraron la misma riqueza de especies (8, ambas), mientras que las otras galerías presentaron una menor riqueza, siete especies en la galería Tres (7) y cinco en la galería Uno (5) (Tabla 3).

Tabla 3. Relación entre las cuatro galerías y AVL.

Muestra	Tipo de sedimento	Característica de la muestra	Núm. de especies	Abundancia de AVL
Galería 1	Húmedo	Fragmentos de rocas	5	10,302
Galería 2	Húmedo	Carbonatos recristalizados	8	370,328
Galería 3	Seco	Carbonatos recristalizados	7	32,371
Galería 4	Seco	Fragmentos de rocas	8	1,014,713

El sedimento se clasificó en húmedo y seco, en cada caso se consideró con fragmentos de rocas o con carbonatos recristalizados (Tabla 4), para conocer si existe relación entre el tipo de sedimento y las características de las muestras de las diferentes galerías (fragmentos de rocas o carbonatos recristalizados), se aplicó una prueba de chi-cuadrada (independencia) ($P < 0.05$), considerando las cuatro galerías estudiadas, se concluyó que sí hay diferencias significativas entre la abundancia de amebas con respecto al tipo de sedimento y las características de las muestras de las cuatro galerías estudiadas. Se contabilizó un total de 1 427 714 amebas (ind/100 g de sedimento seco) de todas las galerías de la gruta.

Tabla 4. Número más probable de AVL en sedimentos de la gruta.

	Fragmentos de rocas	Carbonatos recristalizados	Totales por fila
Sedimento seco	1,014,713	32,371	1,047,084
	Galería 4	Galería 3	
Sedimento húmedo	10,302	370,328	380,630
	Galería 1	Galería 2	
Totales por columna	1,025,015	402,699	1,427,714
Valores esperados	91,989	234,145	
	253,054	644,115	

Valor Chi-cuadrado= 1,223,303

Valor crítico= 3.84

Se registraron 22 especies de AVL pertenecientes a 11 Géneros y nueve Familias (Tabla 5).

Tabla 5. Especies de amebas de vida libre.

Familia	Género y Especie
ACANTHAMOEBIDAE Sawyer & Griffin, 1975	<i>Acanthamoeba</i> sp. Volkonsky, 1931
	<i>Acanthamoeba castellanii</i> (Douglas, 1930)
	<i>Acanthamoeba tubiashi</i> Lewis & Sawyer, 1979
	<i>Acanthamoeba polyphaga</i> (Puschkarew, 1913)
VAHLKAMPIIDAE Jollos, 1917	<i>Adelphamoeba</i> sp. Napolitano, Wall & Ganz, 1970
ECHINAMOEBIDAE Page, 1975	<i>Comandonia</i> sp. Pernin & Pussard, 1979
MASTIGAMOEBIDAE Goldschmidt, 1907	<i>Mastigamoeba</i> sp. Schulze, 1875
PARAMOEBIDAE Poche, 1913; emend. Page, 1987	<i>Mayorella</i> sp. Schaeffer, 1926
	<i>Mayorella penardi</i> Page, 1972
NUCLEARIIDAE Cann & Page, 1979	<i>Nuclearia</i> sp. Cienkowski, 1865
LEPTOMYXIDAE Pussard & Pons, 1976; emend. Page, 1987	<i>Rhizamoeba</i> sp. Page, 1972
GUTTULINOPSIDAE L. S. Olive, 1970	<i>Rosculus</i> sp. Hawes, 1963
AMOEBIDAE Ehrenberg, 1838	<i>Trichamoeba</i> sp. Fromentel, 1874
VAHLKAMPIIDAE Jollos, 1917	<i>Vahlkampfia</i> sp. Chatton & LaLung-Bonnaire, 1912
	<i>Vahlkampfia aberdonica</i> Page, 1974
	<i>Vahlkampfia avara</i> Page, 1967
	<i>Vahlkampfia debilis</i> Jollos, 1917
	<i>Vahlkampfia froschi</i> (Hartmann, 1907)

	<i>Vahlkampfia russelli</i> (Singh, 1952)
	<i>Vahlkampfia ovis</i> (Schmidt, 1913)
	<i>Vahlkampfia ustiana</i> Page, 1974
NUCLEARIIDAE Cann & Page, 1979	<i>Vampyrellidium perforans</i> Surek & Melkonian, 1980

Distribución de especies por galería

La relación de las AVL y las galerías de la Gruta “Entrada Dos Cerros” se muestra en la Tabla 6. Los Géneros *Mastigamoeba* y *Trichamoeba*, se encontraron en las galerías Dos y Cuatro. Las especies de *V. avara*, *V. russelli* y *V. ustiana*, registraron en las galerías Tres y Cuatro. La especie *Vahlkampfia* sp. se observó en las galerías Uno y Dos.

Tabla 6. Especies de AVL registradas en las diferentes galerías.

Género y Especie	Galería 1	Galería 2	Galería 3	Galería 4
<i>Acanthamoeba</i> sp.	*			
<i>Acanthamoeba castellanii</i>	*			
<i>Acanthamoeba tubiashi</i>	*			
<i>Acanthamoeba polyphaga</i>			*	
<i>Adelphamoeba</i> sp.			*	
<i>Comandonia</i> sp.		*		
<i>Mastigamoeba</i> sp.		*		*
<i>Mayorella</i> sp.	*			
<i>Mayorella penardi</i>		*		
<i>Nuclearia</i> sp.			*	
<i>Rhizamoeba</i> sp.		*		
<i>Rosculus</i> sp.		*		
<i>Trichamoeba</i> sp.		*		*

<i>Vahlkampfia</i> sp.	*	*		
<i>Vahlkampfia aberdonica</i>				*
<i>Vahlkampfia avara</i>			*	*
<i>Vahlkampfia debilis</i>			*	
<i>Vahlkampfia froschi</i>				*
<i>Vahlkampfia russelli</i>			*	*
<i>Vahlkampfia ovis</i>				*
<i>Vahlkampfia ustiana</i>			*	*
<i>Vampyrellidium perforans</i>		*		

Análisis de agrupación por galería

En la Figura 2, se presenta el análisis de similitud de la comunidad de AVL entre las diferentes galerías de la Gruta, en el cual se resalta que las galerías Uno y Dos son sedimentos húmedos, por otra parte las galerías Tres y Cuatro son secos.

Vahlkampfia sp. (Vh) se encontró en sedimento húmedo, sin diferenciar en la característica de la muestra (carbonatos recristalizados o fragmentos de rocas). *Mastigamoeba* sp. (Ma) y *Trichamoeba* sp. (Tri) se encontraron en sedimento húmedo y con carbonatos recristalizados así como en seco con fragmentos de rocas.

Vahlkampfia avara (VV), *Vahlkampfia russelli* (VR) y *Vahlkampfia ustiana* (VUS) se ubicaron en sedimento seco, sin importar la característica de la muestra.

Acanthamoeba castellanii (AC), *Acanthamoeba tubiashi* (AT), *Mayorella* sp. (My) y *Acanthamoeba* sp. (Aca) se presentaron en sedimentos húmedos y con fragmentos de rocas. Mientras que *Comandonia* sp. (Co), *Mayorella penardi* (MP), *Rhizamoeba* sp. (Rh), *Rosculus* sp. (Ro) y *Vampyrellidium perforans* (VP) se les encontró en sedimentos húmedos y con carbonatos recristalizados. El sedimento seco y con carbonatos recristalizados lo prefirieron *Acanthamoeba polyphaga*

(AP), *Adelphamoeba* sp. (Ad), *Nuclearia* sp. (Nuc) y *Vahlkampfia debilis* (VD). En un sedimento seco y con fragmentos de rocas se observaron a *Vahlkampfia aberdonica* (VA), *Vahlkampfia froschi* (VF) y *Vahlkampfia ovis* (VO).

Análisis de similitud de Galerías

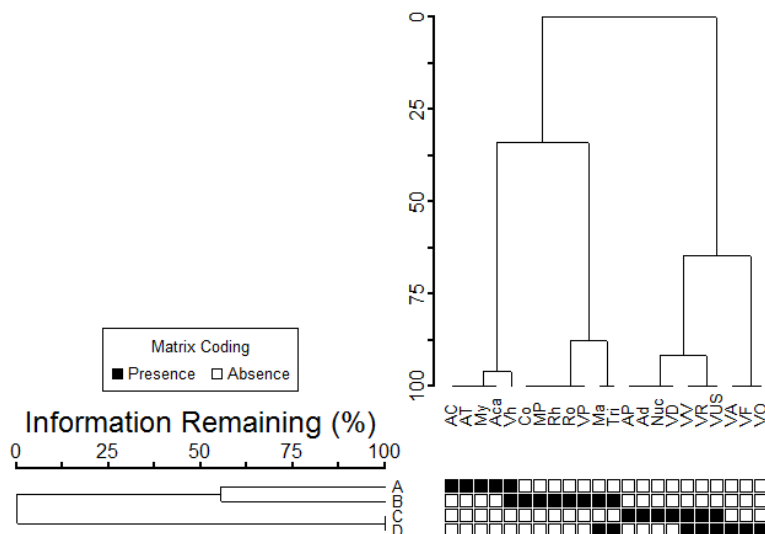


Figura 2. Similitud de la comunidad de AVL entre las diferentes galerías.

Discusión

Contrario a lo esperado, se observaron diferencias significativas entre las comunidades de las cuatro galerías de la gruta, lo que indica que las galerías son microambientes con características propias y diferentes entre sí (Mulec et al., 2002), lo cual afecta la estructura de la comunidad de amebas presente.

Los factores que afectan la distribución de las especies de amebas de vida libre (AVL) pueden dividirse en bióticos y abióticos (Rodríguez-Zaragoza, 1994). Los factores bióticos incluyen a todos los otros seres vivos que comparten la gruta con las amebas desde virus y bacterias hasta mamíferos y aves, eso implica que la

medición de estos factores es sumamente compleja, por otro lado, la determinación de los factores abióticos es más simple y permite explicar una faceta de la organización de las comunidades (Dunson, Travis, 1991).

Las condiciones de la gruta favorecen un intercambio gaseoso (externo-interno), el aire caliente y húmedo entra en la gruta resultando la formación de nubes de agua con micropartículas (hidroaerosoles) que se mueven hacia el interior de la gruta. Cada hidroaerosol actúa como un núcleo de adhesión potencial para las partículas de polvo y esporas en el aire. La sustitución de los hidroaerosoles incrementa el agua (líquida) y la disponibilidad de materia orgánica hacia el interior de la gruta, favoreciendo el desarrollo y diseminación de los microorganismos (Cuezva et al., 2009).

Las AVL pueden ser introducidas en la cueva por la zona epicárstica- por encima de la cueva la capa más superior de la roca abajo del suelo (Walochnik, Mulec, 2009).

La introducción de amebas puede también ocurrir vía ingestión-defecación de varios animales. Los murciélagos son animales altamente migratorios que habitan cuevas y son seres importantes en la propagación de microbios (Walochnik, Mulec, 2009).

Asímismo, los quistes de AVL pueden ser fácilmente propagados por aire y corrientes de agua. La gruta examinada en este estudio no está poblada por murciélagos, sólo unos pocos invertebrados como son grillos y arañas.

Las amebas del sedimento pueden desarrollarse adecuadamente en ambientes de agua dulce; llegan frecuentemente como quistes acarreados por corrientes de agua, movimientos de aire o adjuntos a los cuerpos de otros animales. También pueden alcanzar el agua como trofozoitos. Una vez en el agua, deben adherirse a partículas de materia suspendidas en la columna de agua para alimentarse (Rodríguez-Zaragoza, 1994).

Las galerías cuyas comunidades presentaron una mayor similitud fueron la tres y la cuatro, puesto que en ambas se encontró a *Vahlkampfia avara*, *Vahlkampfia*

russelli y *Vahlkampfia ustiana*, quienes presentaron una amplia distribución y han sido reportadas en diversos ambientes; desde muestras de aire de la ciudad de México (Rivera et al., 1994) hasta aguas termales de España (Peñas-Ares et al., 1994), lo que demuestra la alta adaptabilidad de estas especies a múltiples condiciones ambientales. A pesar de lo anterior ninguna de las especies mencionadas fueron encontradas en las galerías uno y dos.

Las galerías tres y cuatro son similares difiriendo de las galerías uno y dos por la humedad del sedimento. En las galerías tres y cuatro el sedimento es seco mientras que en las galerías uno y dos el sedimento es húmedo; esto implica que la humedad juega un factor importante en la distribución del género *Vahlkampfia* y que este género está adaptado para desarrollarse en condiciones de baja humedad, donde obtiene una ventaja sobre las otras especies de AVL (Rivera et al., 1994).

Se sabe que las amebas no necesitan una capa gruesa de agua para nadar y esto les permite ser activas en sedimentos con bajos niveles de humedad (Rodríguez-Zaragoza, García, 1997).

^bRodríguez-Zaragoza (2005) realizó un estudio en el desierto de Israel, en el que identificó a este género de AVL como colonizador sensible a la falta de humedad del medio, el nivel máximo de humedad en la zona de estudio fue 8.9%, mientras que en las galerías tres y cuatro el nivel máximo de humedad fue 29.31% y 9.48% respectivamente, lo que explica su presencia en estas galerías.

La mayor riqueza de *Vahlkampfia* se encontró en la galería cuatro con seis especies seguida de la galería tres con solo cuatro especies, lo que puede indicar que las ventajas adaptativas respecto a otros organismos similares se pierden conforme aumenta el contenido de humedad del sedimento, lo que se ve reflejado en una menor riqueza en la sala tres y la disminución a sólo una especie en las salas uno y dos, donde la humedad llegó a 42.18 % y 51.51 % de la capacidad de campo respectivamente.

A pesar de la aparente sensibilidad del género *Vahlkampfia* a la humedad, se encontró una especie no identificada de este género en las galerías uno y dos, las cuales presentan sedimento húmedo, lo que sugiere que ésta podría ser una nueva especie que ha desarrollado adaptaciones que le permiten competir efectivamente contra otras especies adaptadas a altas condiciones de humedad.

Para confirmar que se trata de una nueva especie se debe realizar otro estudio, como es la determinación de la secuencia del 16 s del SSUrDNA (Walochnik, Mulec, 2009), pero esto último no era el objetivo del presente trabajo, lo cual se puede realizar en un siguiente trabajo continuando con la línea de estudio.

Por otro lado, además de similitud generada por la riqueza de especies del género *Vahlkampfia*, las galerías tres y cuatro difieren por cinco especies, dos de la galería cuatro, *Mastigamoeba* sp. y *Trichamoeba* sp; y tres de la galería tres *Acanthamoeba polyphaga*, *Adelphamoeba* sp. y *Nuclearia* sp.

Bastian et al., (2009) encontraron en la cueva de Lascaux las amebas *A. polyphaga* y *Nuclearia delicatula*, al igual que en el presente trabajo. Sin embargo, en nuestro estudio morfológico no se pudo determinar la especie de *Nuclearia*.

^bRodríguez-Zaragoza et al., (2005) encontraron a *Vahlkampfia*, *Acanthamoeba* y *Mayorella*, como géneros más comunes en el suelo de desierto; en el presente trabajo se encontraron a *Vahlkampfia* (ocho especies), *Acanthamoeba* (cuatro especies) y *Mayorella* (dos especies) como los géneros más comunes en las galerías.

Walochnik y Mulec (2009) encontraron a *Acanthamoeba castellanii* en una piscina de cueva con balsas de calcita flotantes, en el presente trabajo se aisló de la galería uno que corresponde a un sedimento húmedo con fragmentos de rocas.

Las tres especies que solo se encontraron en la galería tres deben de requerir algún factor presente sólo en esta galería, pero que no medimos en el presente estudio.

El pH del suelo es considerado como un factor importante que afecta la composición y diversidad microbiana, y como consecuencia puede directamente influenciar en la capacidad de los microorganismos de degradar la materia orgánica (Douterelo et al., 2010).

El análisis fisicoquímico demostró que el sedimento de la galería tres es más ácido (pH de 3.8) que el de las otras galerías (pH 6.8 galería cuatro, pH 7.7 galería uno y pH 7.8 de la galería dos), por lo tanto el pH también puede ser un factor adicional que determina la diferencia en el número de especies.

La diferencia de pH en el sedimento de las galerías se puede deber a la insuficiente materia orgánica que sirviera como buffer para el control de los cambios en el pH debidos a la respiración de los organismos, dado que los datos del contenido de materia orgánica salieron en el rango de pobre a extremadamente pobre (Rodríguez-Zaragoza, com. pers.).

Por otra parte, algunas bacterias son capaces de oxidar el sulfuro, formando ácido sulfúrico, el cual puede también bajar los valores del pH del sedimento (valores usualmente de alrededor de 4.0 e incluso más bajo) (Shahack-Gross et al., 2004).

Durante periodos fuertes de actividad biológica pueden ocurrir cambios críticos de pH, dichos cambios pueden oscilar entre valores de 0.5 a uno o dos unidades en ciertos sedimentos y climas (estas variaciones son comunes en sedimentos tropicales) y son mayores donde el sedimento contiene baja capacidad amortiguadora (buffering), como en sedimentos arenosos ácidos (Rodríguez-Zaragoza, 1994).

En la galería dos se registró un total de ocho especies pertenecientes a ocho géneros, lo que representa la mayor riqueza de géneros; *Comandonia* sp., *Mayorella penardi*, *Rhizamoeba* sp., *Rosculus* sp. y *Vampyrellidium perforans* los cuales sólo se encontraron en esta galería.

La abundancia de protozoos en los sedimentos depende directamente del número de bacterias (Bastian et al., 2009), así mismo amebas testadas pueden estar

directamente correlacionadas con materia orgánica, presencia de AVL y hongos. Pocos géneros son encontrados exclusivamente en sedimentos. Las especies más comunes de AVL en sedimentos son *Naegleria gruberi*, *Acanthamoeba* sp. y *Hartmannella hialina* (Rodríguez-Zaragoza, 1994).

Además de la mayor riqueza de géneros, el sedimento de la galería dos presentó el mayor porcentaje de humedad (51.51%) y el pH más básico (7.8), la alta humedad hace que este ambiente sea óptimo para la mayoría de los microorganismos, incluyendo muchos géneros de amebas, ya que se ha demostrado que el incremento de la humedad en el sedimento conlleva al incremento de la abundancia de estas (Schnürer et al., 1986). Además, la textura del sedimento arcilloso puede tener agregados completamente rodeados de agua (Rodríguez-Zaragoza, 1994), explicando los elevados porcentajes en las galerías uno y dos (ver Tabla 2).

La textura franco limoso contiene hierro, óxidos de aluminio y silicio, lo cual se da en ambientes cársticos alterando la disponibilidad de fósforo (López Galindo, com. pers.)

La falta de disponibilidad de agua puede ocasionar cambios importantes en el funcionamiento del sistema edáfico, pero lo mismo puede ocurrir si hay demasiada agua: en ambos casos puede haber una sustitución completa de los principales elementos de las comunidades de microorganismos del sedimento (Rodríguez-Zaragoza, 2009).

Con la degradación de la materia orgánica, ocurren cambios en el régimen de pH, primero hacia condiciones ácidas y después hacia condiciones más alcalinas (Shahack-Gross et al., 2004).

Las condiciones alcalinas indican precipitación de carbonatos. En algunos caso la precipitación mineral esta cerradamente asociada con células bacterianas cuando ellas producen un ambiente alcalino y la nucleación del sitio para la formación de minerales (Walochnik, Mulec, 2009).

Sin embargo el pH alcalino hace que la disponibilidad de fósforo sea baja, eso causa que a pesar de que la humedad sea óptima únicamente aquellos

organismos capaces de solubilizar fósforo sean capaces de desarrollarse en este medio (Bolan, 1991).

Entre los microorganismos que solubilizan fósforo más eficientemente, se encuentran los hongos (Bolan, 1991), por lo que probablemente este ambiente se encuentre dominado por este tipo de microorganismos y por lo tanto las amebas que se encuentren en este ambiente al no poder tomar el fósforo del medio, utilizan a los hongos no solo como fuente de carbono sino también de fósforo (Bolan, 1991).

Dentro de las especies de amebas encontradas en la galería dos, está *V. perforans*, la que es capaz de alimentarse de hongos al perforar su pared celular y succionar su citoplasma (Patterson, Surek, Melkonian, 1987), lo cual soluciona el problema de la disponibilidad de fósforo y también refuerza la idea sobre la presencia de hongos en esta galería.

La galería uno presentó la mayor disimilitud con las galerías dos, tres y cuatro, en esta se encontraron cinco especies, de las cuales cuatro (*Acanthamoeba* sp, *A. castellanii*, *Acanthamoeba tubiashi* y *Mayorella* sp.) no se encontraron en las otras tres, cabe destacar que esta galería es la más alejada de la entrada de la gruta y es la que presentó un menor número de AVL por gramo de sedimento.

Se podría suponer que la baja riqueza y abundancia de AVL se debe a que la única fuente de carbono en la gruta es la materia orgánica arrastrada por el agua (Cuezva et al., 2009), por lo tanto, al ser la galería uno la más alejada de la entrada de la gruta también es la que recibiría una menor cantidad de materia orgánica, y por lo tanto los organismos que se encuentran en esta galería se verían limitados en recursos. Sin embargo, esta galería fue la que presentó la mayor concentración de materia orgánica.

Los suelos arcillosos retienen más materia orgánica que suelos arenosos, a pesar de haber sido sometidos al mismo aporte de materia orgánica (Matus, Maire, 2000).

La acumulación de materia orgánica no sólo depende del contenido y tipo de arcilla y de la naturaleza del material que se incorpora (Matus et al., 1998), sino también de la cantidad y frecuencia de los aportes al suelo (Matus, Maire, 2000).

El agua con altas cantidades de materia orgánica produce un incremento de la población bacteriana la cual alimenta amebas y protozoos en general (Rodríguez-Zaragoza, 1994).

Otra posibilidad para explicar que la galería uno sea la menos rica en géneros de todas podría ser la humedad disponible, esto tiene sentido si se observa que la galería dos resultó la más diversa y la que presentó los mayores niveles de humedad con 51.51%, la humedad en la galería uno fue de 42.18%, lo cual es casi 20% menor que la galería dos. No obstante la humedad en la galería tres y cuatro es de 29.31% y 9.48% y la diversidad es mayor en la galería cuatro, por lo tanto en el caso de la galería cuatro la humedad no parece ser un factor que determine la diversidad de AVL.

Otro aspecto para explicar la baja riqueza de géneros en la galería uno es el tipo de sustrato, en esta se encuentran fragmentos de rocas y en las galerías dos y tres se observa carbonatos recristalizados que son las galerías con mayor riqueza, de igual manera la galería cuatro tiene sustrato rocoso y una baja riqueza de géneros, por lo tanto el factor que aparentemente afecta la riqueza es el tipo de sustrato, siendo mayor la riqueza en los carbonatos recristalizados que en los fragmentos de rocas, no obstante esto no explica la abundancia de AVL puesto que la mayor abundancia fue registrada en la galería cuatro, la cual también tiene un sustrato rocoso.

Para explicar la baja abundancia de la galería uno (10,302 AVL y cinco especies) (ver Tabla 3 y 4) en comparación con la galería cuatro (1,014,713 AVL y ocho especies), la diferencia más grande que existe entre ambas es el número de especies, al comparar esto con las otras galerías, la segunda galería con mayor abundancia es la dos (370,328 AVL y ocho especies) y posteriormente la galería

tres (32,371 y siete especies). Así, las comunidades con un mayor número de especies son más estables y pueden mantener un mayor número de individuos.

Se necesitan 4.6 gramos de bacteria (peso seco) para incrementar una población de amebas de cientos a 1.83×10^5 individuos en una semana. Con 8300 células de *Pseudomonas paucimobilis* para producir un trofozoito de *A. polyphaga* (Rodríguez-Zaragoza, 1994).

Otra consecuencia de esta estructuración de los sistemas microbianos es la alta diversidad de especies que pueden contener, lo que da por resultado una alta abundancia en el sistema. Al ser diferentes especies que desarrollan una misma actividad se asegura que el sistema funcione a pesar de las fluctuaciones ambientales que pueden favorecer a un grupo de especies en detrimento de otras (Mondragón-Camarillo, 2007; Cortés-Pérez, 2009).

De las cinco especies encontradas en la galería uno, tres especies pertenecen al género *Acanthamoeba* el cual es un género común en la naturaleza (Khan, 2006; Walochnik, Mulec, 2009), lo que demuestra su alta adaptabilidad y resistencia (Lloyd et al., 2001), ya que incluso es capaz de obtener su alimento del aire (Preston, Richards, Wotton, 2001), es decir puede capturar otros organismos que son arrastrados por el viento y consumirlos.

Acanthamoeba también puede resistir a concentraciones bajas de oxígeno o incluso anoxia (Rodríguez-Zaragoza, 1994).

Por otro lado en la galería uno también se encontró a *Mayorella*, la cual es una ameba depredadora de otras amebas, incluso se ha reportado que se puede alimentar especialmente de *Acanthamoeba* ya que se han encontrado quistes de esta última en sus vacuolas alimenticias (Chakraborty, Old, Warcup, 1983) y siendo que esta es la otra especie encontrada en la galería es posible asumir que existe una relación depredador-presa entre éstas dos especies.

Conclusiones

Las galerías son microambientes microbiológicamente diferentes entre sí. Estas diferencias se deben a las condiciones ambientales de la gruta tales como la cantidad de humedad, el sustrato, la materia orgánica y el pH. Los nutrientes y las AVL llegan al sedimento acarreados por corrientes de agua, movimientos de aire o adjuntos a los cuerpos de otros animales que entran en las grutas.

El aporte del presente trabajo para el estudio de la microbiota de las grutas es la determinación de las características que permiten la existencia de depredadores bacterianos, tales como las amebas, e intuir las relaciones entre presas-depredadores en los diferentes microambientes proporcionados por las galerías de la gruta, donde se encontraron nuevas especies de microorganismos.

También se proponen nuevos estudios como son las propiedades físico-químicas del sedimento así como su origen, la red trófica de la gruta y estudiar la microbiota completa de la gruta.

Glosario

- **Minerales autigénicos:** se originan por precipitación química ya sea dentro de la cuenca de depositación, o posteriormente, dentro del depósito sedimentario mismo. Los minerales autigénicos son, los principales componentes de los sedimentos químicos.

ANEXOS

Materiales y métodos

Área de estudio:

Gruta Entrada Dos Cerros, Tacotalpa, Tabasco, México



Galerías de la gruta



Galería 1



Galería 2



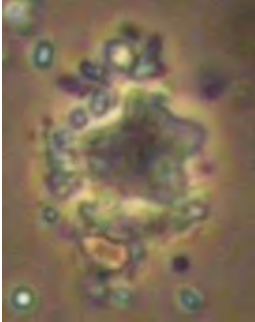
Galería 3



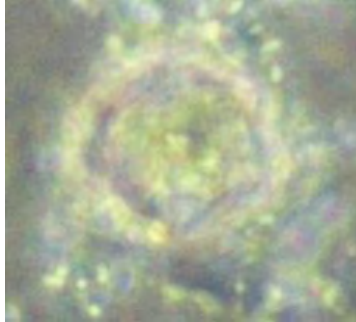
Galería 4

Fotos de Amebas de Vida Libre

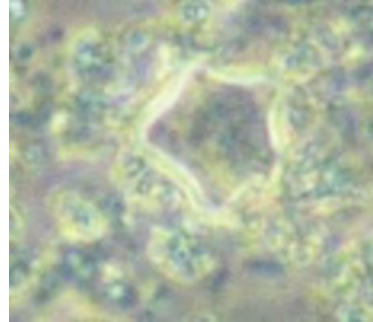
Quiste de *Acanthamoeba* sp.



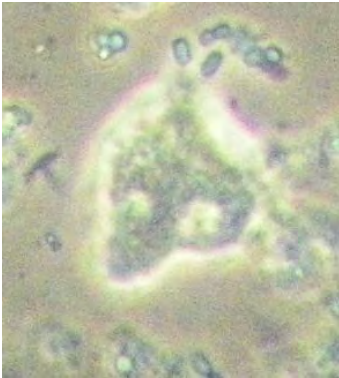
Quiste de *Acanthamoeba castellanii*



Quiste de *Acanthamoeba tubiashi*



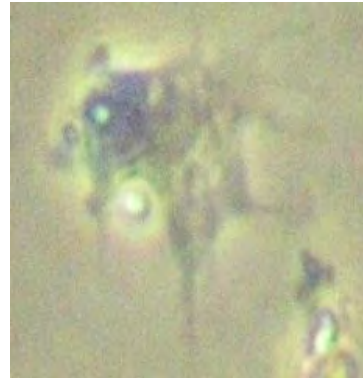
Trofozoito de *Comandonia* sp.



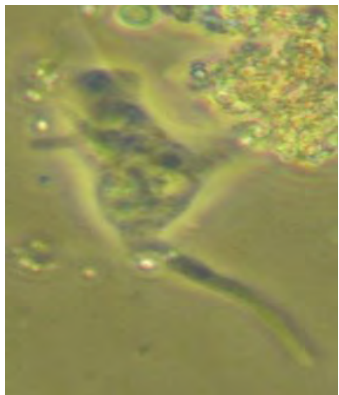
Trofozoito de *Mastigamoeba* sp.



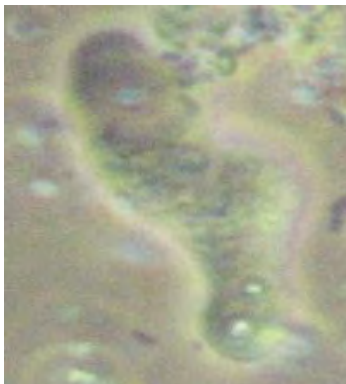
Trofozoito de *Mayorella* sp.



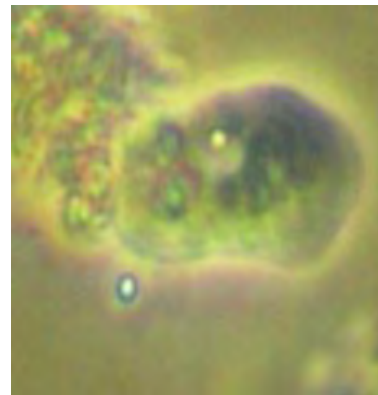
Trofozoito de *Mayorella penardi*



Trofozoito de *Rosculus* sp.

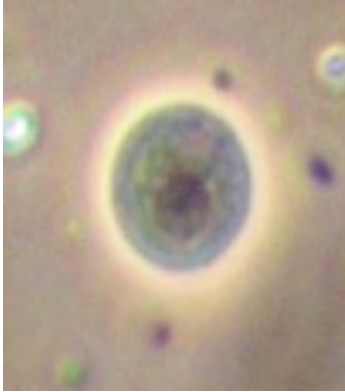


Trofozoito de *Trichamoeba* sp.

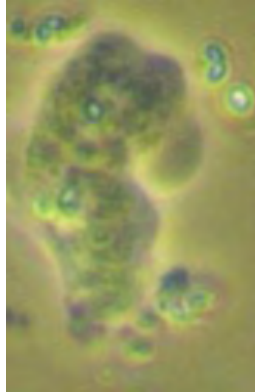


Vahlkampfia sp.

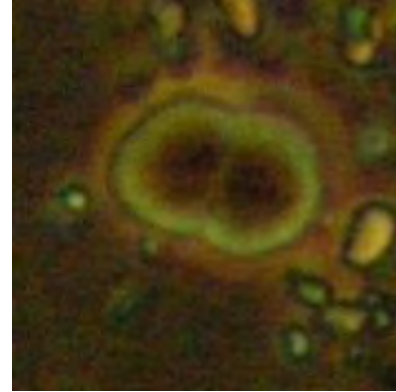
Quiste



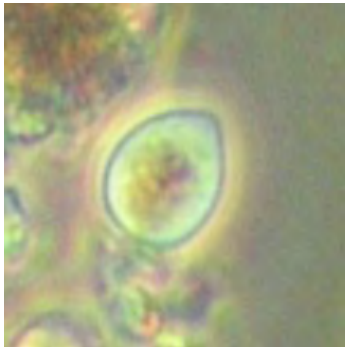
Trofozoito



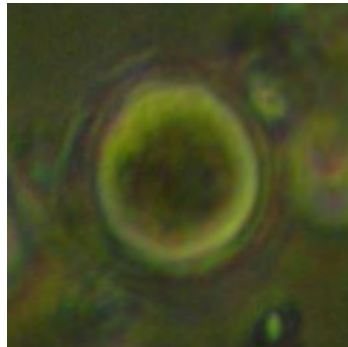
Quiste de *Vahlkampfia ustiana*



Quiste de *Vahlkampfia debilis*



Quiste de *Vahlkampfia froschi*



Referencias

- Anderson, R. V., E. T. Elliot, J. F. McClellan, D. C. Coleman, C. V. Cole, H. W. Hunt. 1978. **Trophic interactions in soils as they affect energy and nutrient dynamics. III. Biotic interactions of bacteria, amoebae and nematodes.** Microbial Ecology, 4: 361-371.
- Bamforth, S.S. 2001. **Proportions of active ciliate taxa in soils.** Biology and Fertility of soils, 33:197-203.
- Bastian, F., C. Alabouvette, C. Saiz-Jimenez. January-February 2009. **Bacteria and free-living amoeba in the Lascaux Cave.** Research in Microbiology, 160: 38-40.
- Bolan, N. S. 1991. **A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants.** Plant and soil, 134: 189-207.
- Bonkowski, M. 2004. **Protozoa and plant growth: the microbial loop in soil revisited.** New Phytologist, 162: 617-631.
- Bowler, C., D. M. Karl, R. R. Colwell. 2009. **Microbial oceanography in a sea of opportunity.** Nature, 459: 180 – 184.
- Chakraborty, S., K. M. Old, J. H. Warcup. 1983. **Amoebae from a take-all suppressive soil which feed on *Gaeumannomyces graminis tritici* and other soil fungi.** Soil Biology and Biochemistry, 15: 17-24.
- Clarholm, M. 1994. **The microbial loop.** En: Ritz, K., Dighton, J., Giller, K.E. (eds.) **Beyond the biomass**, pp. 355-365, Blackwell Scientific Publications, Oxford UK.
- Clesceri, L. 1992. **Métodos normalizados para análisis de aguas potables y residuales.** Ediciones Díaz de Santos. España. 1816 p.
- Cortés Pérez, S. 2009. **Cambio de la comunidad de amebas desnudas en suelo contaminado por combustóleo en el municipio Jalacingo, Veracruz.** Tesis de Maestría, Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM.
- Cuezva S., S. Sanchez-Moral, C. Saiz-Jimenez, J. C. Cañaveras. 2009. **Microbial Communities and Associated Mineral Fabrics in Altamira Cave, Spain.** International Journal of Speleology, 38: 83-92.

- Douterelo, I., R. Goulder, M. Lillie. 2010. **Soil microbial community response to land-management and depth, related to the degradation of organic matter in English wetlands: Implications for the *in situ* preservation of archaeological remains.** Applied Soil Ecology, 44: 219–227.
- Dunson, W. A., J. Travis. 1991. **The role of abiotic factors in community organization.** The American Naturalist, 138:1067-1091.
- INEGI. Síntesis de Información Geográfica del estado de Tabasco.
- INEGI. Conjunto Geológico E15 escala 1:1 000 000.
- Khan, N.A. 2006. ***Acanthamoeba*: biology and increasing importance in human health.** FEMS Microbiology Review, 30:564-595.
- Lloyd, D., N.A. Turner, W. Khunkitti, A.C. Hann, J.R. Furr, A.D. Russell. 2001. **Encystation in *Acanthamoeba castellanii*: development of biocide resistance.** Journal of Eukaryotic Microbiology, 48: 11-16.
- Matus, F. J., C. Maire, M. P. Villalobos. 1998. **Interaction between soil texture and organic matter of clay and silt particles from arable and non-arable soils.** 16^o World Congress of Soil Science. Montpellier, France. 1-24 agost. Symposia N^o 4. 1-10 p.
- Matus, F. J., C. R. Maire G. 2000. **Relación entre la materia orgánica del suelo, textura del suelo y tasas de mineralización de carbono y nitrógeno.** Agricultura Técnica, 60.
- Mondragón-Camarillo, L. 2007. **Efecto del combustóleo sobre la comunidad de ciliados y flagelados de un suelo de cultivo en Jalacingo, Ver.** Tesis Licenciatura FES Iztacala UNAM.
- Moore, D. S. 2000. **Estadística aplicada básica.** W.H. Freeman and Company. U.S.A. 845 p.

- Mulec, J., P. Zalar, N. Zupan Hajna, M. Rupnik. 2002. **Screening For Culturable Microorganisms From Cave Environments (Slovenia)**. Acta carsológica, 31: 177-187.
- Muñoz, D., A. Mendoza, F. López, A. Soler, M. Hernández. 2007. **Edafología. Manual de prácticas**. UNAM FES Iztacala. México. 82 p.
- Northup, D., K. Lavoie, L. Mallory. April 1997. **Microbes in Caves**. NSS NEWS
- Page, F.C. 1976. **An illustrated key to freshwater and soil amoebae**. Freshwater biological association. The ferry house. U.S.A.
- Page, F.C. 1988. **A new key to freshwater and soil gymnamoebae**. Freshwater Biological Association, The ferry house. U.S.A.
- Page, F.C., F.J. Siemensma. 1991. **Nackte Rhizopoda und Heliozoa**. Gustav Fischer Verlag Stuttgart. U.S.A.
- Patterson, D. J., B. Surek, M. Melkonian. 1987. **The Ultrastructure of *Vampyrellidium perforans* Surek & Melkonian and Its Taxonomic Position Among the Naked Filose Amoebae**. Journal of Eukaryotic Microbiology, 34: 63-37.
- Peñas-Ares, M., E. Paniagua-Crespo, R. Madriñan-Choren, M. Marti-Mallen, M. C. Arias-Fernandez. 1994. **Isolation of free living pathogenic amoebae from thermal spas in N.W. Spain**. Water, air and soil pollution, 78: 83-90.
- Peralta-Rodríguez, M.L., J.J. Ayala-Oviedo. 2009. **Amibas de vida libre en seres humanos**. Salud Uninorte, 25: 280-292.
- Preston, T. M., H. Richards, R. S. Wotton. 2001. **Locomotion and feeding of *Acanthamoeba* at the water-air interface of ponds**. FEMS Microbiology Letters, 194: 143-147.
- Rivera, F., P. Bonilla, E. Ramírez, A. Calderón, E. Gallegos, S. Rodríguez, R. Ortiz, D. Hernández, V. Rivera. 1994. **Seasonal distribution of air-borne pathogenic and free-living amoebae in Mexico City and its suburbs**. Water, Air & Soil Pollution, 74: 65-87.

- Rodríguez-Zaragoza, S. 1994. **Ecology of Free-Living Amoebae.** Critical Reviews in Microbiology, 20: 225-241.
- Rodríguez-Zaragoza, S., S. García. 1997. **Species Richness and Abundance of Naked Amebae in the Rhizoplane of the Desert Plant *Escontria chiotilla* (Cactaceae).** Journal of Eukaryotic Microbiology, 44: 122-126.
- Rodríguez-Zaragoza, S., Y. Steinberger. 2004. **Seasonal Dynamics of Amoebae in the root canopy of *Zygophyllum dumosum* in the Negev Desert, Israel.** Pedobiologia, 48: 277-281.
- ^aRodríguez-Zaragoza, S., E. Mayzlish, Y. Steinberger. 2005. **Seasonal changes in Free-Living Amoeba species in the root canopy of *Zygophyllum dumosum* in the Negev Desert, Israel.** Microbial Ecology, 49: 134-141.
- ^bRodríguez-Zaragoza, S., E. Mayzlish, Y. Steinberger. 2005. **Vertical Distribution of the Free-Living Amoeba Population in Soil under Desert Shrubs in the Negev Desert, Israel.** Applied and Environmental Microbiology, 71: 2053–2060.
- Rodríguez-Zaragoza, S., T. González-Ruíz, E. González-Lozano, A. Lozada-Rojas, E. Mayslish-Gati, Y. Steinberger. 2008. **Vertical Distribution of microbial communities under the canopy of two legume bushes in the Tehuacán Desert, México.** European Journal of Soil Science, 44: 373 – 380.
- Rodríguez-Zaragoza, S. 2009. **Importancia de las redes tróficas del suelo.** Memorias Germoplasma Microbiano como Recurso Genético para su aplicación en agricultura, alimentación y ambiente, Simposio 6: Fortalecimiento y desarrollo de capacidades, Facultad de Ciencias, UNAM.
- Schnürer, J., M. Clarholm, S. Boström, T. Rosswall. 1986. **Effects of moisture on soil microorganisms and nematodes: A field experiment.** Microbial Ecology, 12: 217-230.
- Secretaría de Educación Pública. 2002. **Atlas de México.** Educación Primaria. México.

- Shahack-Gross, R., F. Berna, P. Karkanas, S. Weiner. 2004. **Bat guano and preservation of archaeological remains in cave sites.** Journal of Archaeological Science, 31: 1259-1272.
- Steinberger Y., I. Shamir, S. Pen-Muratov, S. Rodríguez-Zaragoza. 2009. **Seasonal effect of three desert halophytes on soil microbial functional diversity.** Microbial Ecology,
- Terreros-Espinosa, E. Enero-Diciembre 2006. **Arqueología zoque de la región serrana tabasqueña.** Estudios Mesoamericanos, 7: 29-43.
- Walochnik, J., J. Mulec. 2009. **Free-living Amoebae in Carbonate Precipitating Microhabitats of Karst Caves and a New Vahlkampfiid Amoeba, *Allovahlkampfia spelaea* gen. nov., sp. nov.** Acta protozoologica, 48: 25-33.