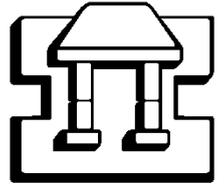




Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Estudios Superiores Iztacala



**“Identificación de morfotipos y determinación de especies protozoos
asociados a la rizósfera del árbol de zapote blanco *Casimiroa edulis* Llav. &
Lex. 1825 en distintas etapas de su desarrollo”**

Tesis

Que para obtener el título de

BIOLOGO

presenta

Jesús Mendoza-Badillo

Asesor

M. en C. Ramón Víctor Moreno Torres

Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México 2017



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.

Índice

Resumen	1
Introducción	1
Antecedentes	3
Justificación	5
Hipótesis	5
Objetivos	5
Metodología	6
Resultados	13
Análisis y Discusión	27
Conclusión	34
Bibliografía	35

Agradecimientos

Unas largas listas de nombres de personas se agolpan en mi mente al pensar a quienes debo agradecer y quiero agradecer, como si regalaran dinero en un lugar, de esa misma forma. Así que ira de forma aleatoria:

-Mis padres, el Sr. Silvio y la Sra. Julia quienes han confiado tanto en mi que me han dejado andar solo, siempre vigilantes y afectuosos.

-Mis hermanas Carolina y Gabriela, por la último rezo, porque a donde quiera que se vaya a viajar en su mente escuche estas palabras y como siempre “si Gaby todo está bien” y a la primera por lo consiguiente que mis palabras lleguen a donde nos recuerda muy unidos y volvamos a serlo, a Guadalupe, no te conocí, pero me dicen que eras mi hermana también y te llevó conmigo entonces.

-Mis amigos que aún viven de forma física: Omar, mi mejor amigo, el de toda la vida nos titularemos a la par al parecer tenemos de que seguir platicando y Mauricio también de toda la vida, muchas bromas y humor negro, pues claro el mejor. Gustavo “Goss”, Víctor “Don COWE” también Manuel pero no le gusta, RAY porque su nombre no le gusta, Gerardo “Gerry hemo”, Lazuli “fshhhhhh que pasho”, Erika “kikin”, Clever “un hermano”, Mario, Tosco, Edmundo “EL SHUM”, Alan “Spoky yao”, Paulina, Daniela “Dany pequeña”, Karen haber cuando se arma la conchaburguesa, Saul “Shaul Shaolin a echar el básquet”, Pablito perdón por el balonazo, Gerardo “Minuti” no se me ha olvidado que me tiraste ceniza de cigarro camará, Arturo “Castruro”, Diana “Dianita Monroy”, Alejandra “Viri” un día si se arma ir a un museo, el Miní, a la Banda Micro “abusados que ya es la segunda venida del señor” y los que murieron y que solo hago una mención porque viven en mi memoria.

-A “Miros”, aprendí muchas cosas junto a ti y de paso a la señora Eva gran consejera.

-A mis mascotas ya solo me queda KIM, que en paz descansen las demás.

-A mi familia en general, mis tíos y tías, abuelos y abuelas y bisabuelo y primas.

-A el único primo que tenía, que soledad y que ganas de que vieras la culminación de mi tesis y de tantas veces que me aconsejaste y me hiciste sentir acompañado, como habíamos quedado el viaje será en otro tiempo, hasta que te vuelva a ver, que te digo,

que no supe en donde desahogarme mejor que en estas páginas en donde también te hago un homenaje.

-A todos los demás no los menciono en particular porque si no, no voy a acabar, pero siguen conmigo y no hay tanto problema entonces.

-A mis profes, asesor y sinodal, Ramón y Salvador, gracias por eso y más, no existen dos como ustedes, ni los habrá, he desarrollado un cariño tal que los veo también como figuras paternas, nunca cambién, ni se mueran pronto, quisiera seguir platicando con ustedes y aprendiendo de ustedes y pagarles también (risas pero en serio y de forma sensata).

-A Carmina, poco tiempo de conocerte no significa que no sea suficiente para hacerte un lugar también aquí y a la Dra. Araceli Malagón quien me dio una gran oportunidad que espero estar aprovechando.

Cierro con una frase de Theodosius Dobzhansky:

Visto a la luz de la evolución, la biología es, quizás, la ciencia más satisfactoria e inspiradora. Sin esa luz, se convierte en un montón de hechos varios, algunos de ellos interesantes o curiosos, pero sin formar ninguna visión conjunta.

Resumen

El presente trabajo describe los cambios de la distribución espacial de la comunidad de protozoos en la rizósfera del árbol de zapote blanco en 6 edades diferentes: 3, 7, 15, 35, 50 y 75 años ubicados en un predio particular en la Ciudad de México el cual tienen un suelo caracterizado como franco-arenoso, el cual ha sido utilizado como tierra de cultivo por al menos 100 años. La comunidad de protozoos ciliados fue muy homogénea en cuanto a su distribución y cantidad de géneros, el grupo de las amebas fue el grupo dominante en cuanto a la cantidad de géneros; mientras que los flagelados fue el grupo más heterogéneo en cuanto a su distribución a lo largo de la rizósfera. Sin embargo, sus frecuencias y riqueza por árbol permiten observar que la comunidad de protozoos asociados a la rizósfera se modifica conforme avanza la edad de los individuos, reduciendo la riqueza de los flagelados y aumentando la de las amebas.

Introducción

El presente trabajo es un estudio exploratorio de un suelo que ha pertenecido a la misma familia por al menos 100 años, en el que siempre se han encontrado árboles de zapote y las personas que habitan ese lugar el Sr. Julio Mendoza Escamilla y la Sra. Teresa Huidobro González brindan testimonio de esto.

En un ecosistema, la función de los protozoos es promover la recirculación de materia orgánica y nutrimentos para entonces aumentar su disponibilidad para la mesofauna, pues son la conexión entre ésta y las comunidades bacterianas del suelo (Fenchel, 2008).

Las bacterias se alimentan del detrito, organismos muertos y otros compuestos orgánicos que se convierten en biomasa bacteriana (Caron, 1990). Al alimentarse de bacterias asociadas a la zona rizosférica de las plantas, los protozoos aumentan la tasa de absorción de ciertos elementos importantes para el desarrollo vegetal, tales como el nitrógeno al transformarlo en compuestos biodisponibles para la planta (Clarholm, 1989). Otro aspecto importante de los protozoos es su papel en la evolución de las comunidades del suelo, pues también se ha demostrado que los protozoos no son sólo benéficos para los organismos que se alimentan de ellos, sino que también las comunidades bacterianas se ven beneficiadas al mantener y aumentar su riqueza, pues al ser depredada una parte de la comunidad, se liberan nutrientes y bioespacios,

que permiten que exista la posibilidad de que otras especies se desarrollen modificando la estructura de la comunidad (Hagström, *et al.* 1988).

Los hábitos alimenticios de los protozoos incluyen a los autótrofos, mixotrofos, saprofitos y detritívoros. Todos ellos tienen un papel fundamental en la remineralización de los nutrientes del suelo y contribuyen indirectamente al desarrollo de las plantas (Bonkowski & Clarholm, 2012).

La principal zona de interacción de la comunidad de protozoos con otros microorganismos es la rizósfera (zona que se encuentran en contacto íntimo) en ella suceden una serie de reacciones físicas y químicas que afectan la estructura del suelo y el desarrollo de los organismos. Su principal característica es la multitud de químicos que se encuentran en ella. Es el lugar de destino de los carbohidratos producidos por la fotosíntesis, los cuales también son utilizados como fuente de energía por los microorganismos asociados. Por ello el número de bacterias que hay en la rizósfera es superior entre 10 y 1000 veces a las encontradas en el resto del suelo (Bonkowski & Clarholm, 2012). Otros exudados de la planta y del metabolismo de la microbiota le dan otras características propias de cada tipo de sistema. Los exudados mucilaginosos promueven la agregación de las partículas del suelo, lo que confiere estabilidad al terreno frente a la erosión y la acción del agua. La segregación de compuestos fenólicos atrayentes, realizada por la planta, favorece el establecimiento de colonias de hongos y bacterias. También se liberan, en pequeña proporción, factores de crecimiento de la planta para su fitoestimulación (Bonkowski, 2004). Otros microorganismos asociados son capaces de producir hormonas vegetales, así como proteínas con actividades enzimáticas diversas: fosfatasas, proteasas, ureasas, glutaminasas, deshidrogenasas y diversidad de agentes quelantes y/o disolventes de elementos minerales, favoreciendo el aprovechamiento tanto de moléculas orgánicas como de minerales por parte de la planta y de los microorganismos circundantes (Hass & Defago, 2005).

En síntesis, la rizósfera provee un microambiente complejo y dinámico, en el que la cantidad de asociaciones e interacciones entre los microorganismos y las plantas forman comunidades únicas que modifican las características fisicoquímicas del suelo, las que a su vez moldean su actividad (Martín *et al.* 2006). Es de esperarse que la comunidad de microorganismos cambie con las transformaciones que experimentan las plantas en el transcurso de los años.

Por ellos nos preguntamos: ¿Qué tipos de protozoos habitan la rizósfera de los árboles de *C. edulis* que tienen diferentes edades y en diferentes profundidades en las que se encuentra su raíz?

Antecedentes

Cheung et al. 2013, explican, en una revisión, que los protozoos autótrofos y las bacterias son la porción principal que asimila la materia orgánica disuelta y la ponen disponible para niveles tróficos más altos.

Jeuck y Arndt, 2013, describen a los flagelados heterótrofos como los más comunes y abundantes en el suelo, como los principales bacterívoros con un rol esencial en las redes tróficas terrestres.

Bonkowski & Clarholm, 2012, describieron que la comunidad de protozoos tiene un papel fundamental en la reintegración de la materia orgánica y minerales al suelo, debido a que sin la depredación los nutrientes y minerales utilizados por las bacterias se mantendrían inmovilizados en su biomasa generando limitación del flujo nutrientes para los niveles tróficos superiores. Los protozoos, al depredar bacterias, son responsables de esta removilización de estos nutrientes. Este mismo efecto se aplica con los protozoos autótrofos en los que se observa la mineralización de nutrientes, que llegan a utilizar las plantas.

Vohnik et al. 2012, describieron que la riqueza de tecamebas asociadas a la rizósfera de una planta indican su condición de especie natural o introducida, al comparar los estudios taxonómicos de las amebas de cada muestra.

Lugtenberg & Kamilova, 2009 y Spaepen et al. 2007, descubrieron que el cambio en el crecimiento de la raíz de árboles, es un efecto indirecto de las poblaciones de protozoos debido a la depredación de las rizobacterias capaces de sintetizar Acido Indol Acético (AIA), que es uno de los promotores directos del crecimiento radicular y de la arquitectura de la raíz.

Landolt et al. 2006, así como Stout, 1973, explican que los protozoos que juegan un papel determinante como bacterívoros al alimentarse de los consorcios bacterianos en suelos agrícolas y silvestres y así volver disponibles nutrientes.

Rodríguez-Zaragoza en 2005, encontró que la reducción en la riqueza de especies de amebas desnudas en el suelo, está asociado con la perturbación del mismo y su degradación. También describió la relación entre la cantidad de unidades formadoras de colonias en la interrizosfera de *Prosopis laevigata* - *Neobuxbaumia tetetzo*, encontró que en la rizósfera de *N. tetetzo* había el triple con respecto al suelo interrizosférico y un aumento hasta de 10 veces en las ufp encontradas en la rizósfera de la leguminosa.

También, comparó la comunidad de amebas de la zona interrizosférica con la rizósfera de *P.laevigata* y reportó una similitud del 55% en tanto que con la zona de *N. tetetzo* fue del 85%.

Bonkowski. 2004, encontró que además del efecto demostrado de la liberación de nutrientes a partir de biomasa bacteriana, hay efectos indirectos auxiliares de los protozoos en el crecimiento de la planta, probablemente causados por cambios en la biota bacteriana, que modifican a su vez a la estructura de la comunidad de protozoos.

Timonen et al. 2004, realizaron un estudio en el que describieron la comunidad de protozoos asociados a la rizósfera de *Pinus sylvestris* en suelos de un bosque con presencia y ausencia de dos micorrizas *Suillus bovinus* y *Paxillus involutus*, descubriendo que la comunidad de protozoos variaba con la presencia y ausencia de estas micorrizas, esto al cambiar la cantidad y concentraciones de compuestos de los exudados rizosféricos en presencia de las micorrizas o de las bacterias asociadas directamente a la raíz.

Cutler et al. 1990 explican la relación entre los tamaños de partículas que componen los suelos y la conformación de los agregados cuando los árboles liberan exudados y que el resultado de esto es la generación de microhabitats que pueden ser específicos para un tipo de comunidad.

Schnürer et al. 1985, tuvieron un crecimiento bacteriano transitorio de 4 a 6 días después de la precipitación aún con humedad favorable, explicando que esto promovió la reactivación de quistes de amebas que estimularon el crecimiento de las poblaciones bacterianas al depredarlas aumentando la disponibilidad de nutrientes.

Elliott et al. 1980, estudio las tasas de respiración de dos bacterívoros: un nematodo y una ameba del género *Achantamoeba*, encontrando que, cuando ambos

depredadores fueron alimentados con *Pseudomonas sp.*, las tasas de respiración de las amebas eran mayores que las de los nematodos debido a que las primeras accedían a poros en el suelo, en tanto que los nematodos no tenían este acceso, por lo que los nematodos cambiaron su preferencia alimenticia y consumieron a las amebas.

Stout & Heal, 1972 calcularon que el consumo de materia orgánica de los protozoos en un campo de cultivo, fue de 150-900g de bacterias x m⁻² x año⁻¹, lo que es igual a la producción de 15-85 veces la de los cultivos permanentes, por lo que el posible papel central de los protozoos sea el de potencializar la mineralización y fijación de nitrógeno para las plantas.

Justificación

Los estudios de las comunidades microbianas asociadas a las rizósfera son poco conocidos, no obstante, han revelado ser de gran importancia para conocer el funcionamiento del microecosistema como una unidad, es decir las interacciones entre los componentes del microhabitat que soporta la vida de las especies participantes, este conocimiento permitirá desarrollar estrategias de mantenimiento y cuidado de los mismos y nos conducirá a la realización de estudios más específicos.

Hipótesis

La edad en una especie de planta en este caso *C. edulis* participa en la maduración y dinámica del desarrollo de las comunidades de protozoos asociados a su rizósfera.

Objetivos

Principal:

Comparar las comunidades de protozoos presentes en la rizósfera en función de la edad de los árboles.

Particulares:

Identificar a los protozoos de suelo rizosférico.

Ubicar los géneros de protozoos a lo largo de la rizósfera, en función de la profundidad alcanzada por las raíces de los árboles.

Comparar los conjuntos de ciliados, flagelados y amebas que se presentan en los árboles de diferentes edades.

Caracterizar el tipo de suelo y las condiciones fisicoquímicas presentes.

Metodología

Área de estudio

Es un domicilio particular ubicado en la colonia Ahuehuetes Delegación Gustavo A. Madero. Coordenadas geográficas 19°32' 46.18" N 99°08' 00.11"W.

El suelo del presente estudio, se ha mantenido aislado y libre de construcción, dentro de la mancha urbana, se ha trabajado a través de la agricultura tradicional del maíz, la calabaza "Chilacayota" y el chayote. Sólo fue utilizado para la subsistencia de la familia que es dueña, solo se utilizó como aporte externo de nutrientes el estiércol de borrego.

Hasta hace 40 años, era una magueyera con árboles de zapote y hasta hace 10 años el riego era de secano, por lo que dependía de las lluvias, mantos freáticos, ojos de agua y riachuelos que existían en función de su ubicación en las faldas del cerro del Chiquihuite, 19° 31 57.25" N 99° 07 50.30" O.

El terreno cuenta con 6 árboles de zapote de 75, 50, 35, 15, 7 y 3 años de edad según nos expresan los habitantes del predio con edades superiores a las de los

árboles, la población original era de 40 árboles de zapote la cual fue talada aproximadamente hace 55 años.



Figura 1.- Imagen aérea del predio en donde se encuentra el área de estudio tomada de Google Earth.

Obtención de muestras

Se excavó en la tierra a un lado del tronco de cada árbol de *Cassimiroa edulis* más comúnmente llamado zapote blanco, la profundidad de la excavación se realizó de acuerdo con la longitud de las raíces hasta que ya no se encontraron más raíces por cada árbol. Posteriormente se raspó la tierra de cada segmento de la raíz con raíces secundarias, ya que estas últimas son las encargadas de liberar exudados rizosféricos (Oliveros-Bastida et al. 2009). El suelo recuperado se guardó en bolsas ziplock® etiquetadas con el nombre del autor del proyecto, la fecha de colecta y la edad de cada individuo. Se obtuvieron 2 muestras de 6 árboles de las siguientes edades: 75, 50, 35, 15, 7 y 3 años, cada muestra tenía 6 unidades muestrales una por cada estrato de profundidad de donde se colectó el suelo rizosférico: a 5, 30, 50, 100, 150 y 200 cm de profundidad que fue la profundidad en la que se encontraron las raíces de mayor longitud. Las muestras empaquetadas se metieron en una hielera y se llevaron al laboratorio de Ecología Microbiana FES Iztacala, UNAM, para su conservación.

El muestreo se hizo en dos ocasiones, durante la temporada más seca de verano (antes de las lluvias) y en otoño que es la temporada más húmeda con el propósito de hacer más representativo el estudio de la comunidad de protozoos.

Activación de quistes y recuperación de ciliados y flagelados presentes en las muestras.

Para las muestras recogidas en la temporada seca del año, es necesario humectar la muestra, ya que esto favorece las condiciones para la extracción de la mayor cantidad de organismos, de acuerdo con Clarholm, 1981, que propone se recreen las condiciones de lluvia en la que todos los grupos de protozoos se sincronizan por un periodo corto de tiempo.

Se pesaron 250 g de las diferentes muestras de suelo, se colocaron en una caja, se hidrataron con agua destilada para llevarlos al 60% de su capacidad de campo y se mantuvieron a temperatura ambiente durante 72 h. Finalmente, se agregaron de 10 a 15 ml. de agua destilada y se inclinó la caja para que los ciliados y flagelados presentes en la muestra nadaran, se resuspendieran y fueran recuperados por medio de pipeta pasteur.

Los protozoos recuperados de las muestras fueron colocados en portaobjetos para hacer preparaciones frescas y observar sus características de movilidad en un microscopio de contraste de fases, el cual tiene un equipo de videograbación integrado. Los movimientos fueron grabados con el propósito de realizar la identificación taxonómica por métodos morfofisiológicos (Mondragón 2007).

Activación de quistes y recuperación de amebas y protozoos deslizantes presentes en las muestras.

Para la recuperación de amebas se preparó una dilución 1:10, con 1g de suelo rizosférico y 9 ml de extracto de suelo (Cortés, 2015).

El extracto de suelo se obtuvo de la siguiente manera: 200 g de suelo del mismo terreno, tamizados en una malla del # 10, se disolvieron en 1 lt de agua destilada y se incubaron en Baño María a 60°C durante 2h Posteriormente, la solución se filtró con papel filtro Watman de # 4 y papel periódico; el filtrado fue esterilizado en autoclave a 15 lb/pul² y 125°C por 15 min, (Mondragón, 2007).

La dilución para la recuperación de las amebas se homogenizó agitando con vortex en pulsos de 15 segundos, una vez homogeneizado, se permitió la sedimentación de las arcillas y partículas de gran tamaño durante 45 min. Posteriormente se separó el sobrenadante y se vertió 1ml aprox. de lo que se recuperó de la dilución en cajas de Petri que contenían 10 ml de Agar-Extracto de Suelo solidificado.

El Agar-Extracto de Suelo, se preparó con 1:5 v/v extracto de suelo: agua destilada y 1.3% de agar, fue esterilizado en autoclave.

Una vez vertida la solución que contiene a las amebas en el medio Agar-Extracto de Suelo se dejó reposar 20 minutos, con el propósito de que las amebas tuvieran una superficie sólida en la cual pudieran adherirse y desplazarse. Posteriormente se añadieron 10 ml de extracto de suelo diluido 1:10 con agua corriente, el cual primeramente se utilizó para recuperar a los protozoos deslizantes de muestras de suelo rizosférico, para que esto sucediera, se recuperaron 7 ml con pipeta pasteur de esta fase líquida añadida y se mantuvo el volumen necesario (aproximadamente 3 ml) para mantener una película acuosa con la finalidad de permitir el desplazamiento de los flagelados y ciliados que no son nadadores (modificado de Cortés, 2011).

Identificación Taxonómica

La identificación de las familias y géneros se llevó a cabo con las claves de Lynn, 2007 para los ciliados, Smirnov y Brown, 2004 para las amebas y las claves de Jeuck y Arndt, 2013, para los flagelados.

Pruebas físicas y químicas del suelo

Las pruebas físicas y químicas se realizaron por cada uno de los 6 árboles. Cada muestra consistió en acumular 1 kg de suelo tomando partes iguales de cada profundidad de la rizósfera.

Físicas:

-Tamaño de partículas se realizó utilizando el hidrómetro de Bouyoucos que se basa en medir la densidad de la suspensión del suelo, la cual está en función de la velocidad de sedimentación de cada una de las partículas. A partir de los valores obtenidos se determinó la Clasificación Textural para ubicarlo dentro de la clase

textural correspondiente (Grafica de Clases Texturales Sistema Internacional) (INEGI, 2000).

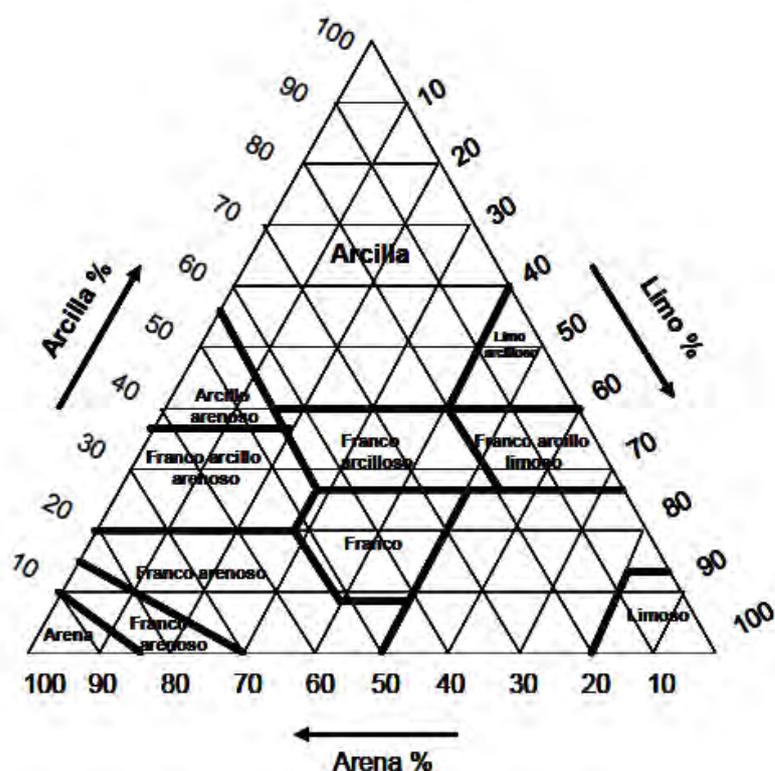


Figura 2. Triángulo de textura del sistema de clasificación de la USDA (INEGI, 2000)

-pH, Para la determinación del potencial de hidrógeno se preparó una solución que contenía una relación 1:2.5 m/v (1 g de suelo y 2.5 ml de agua), tomando lectura con un potenciómetro Instruments Lida PHS-W Bante (calibrado con soluciones buffer de calibración de pH 10 y 5). El valor de pH se comparó con valores de tablas (INEGI, 2000).

Categoría	Valor de pH
Fuertemente ácido	< 5.0
Moderadamente ácido	5.1 - 6.5
Neutro	6.6 - 7.3
Medianamente alcalino	7.4 - 8.5
Fuertemente alcalino	8.5

Tabla 1. Criterios de evaluación de un suelo con respecto a su pH (NOM-021-REC-NAT-2000).

Salinidad:

Se calculó a partir de la relación que guarda el pH y los miliVolts que produce la lectura, de acuerdo con los milivolts se calculó el amperaje en mmhos/cm despejando la fórmula:

$G=1/R$. En donde $R= I/V$, I es constante= 0.99985 A (amperes) Los valores se compararon con los valores de la siguiente tabla:

Categoría del suelo	Valor (mmhos/cm o dS/m)
No salino	0 - 2.0
Poco salino	2.1 - 4.0
Moderadamente salino	4.1 - 8.0
Muy salino	8.1 - 16.0
Extremadamente salino	> 16.0

Tabla 2. Criterios de evaluación de un suelo con respecto a su salinidad (NOM-021-REC-NAT-2000).

Químicas:

-%Materia Orgánica. Se calculó utilizando la técnica volumétrica del método de Walkley y Black, que se basa en una combustión húmeda de la materia orgánica con una mezcla de dicromato de potasio y ácido sulfúrico; se utilizó para distinguir si el suelo era de naturaleza orgánica o mineral (FAO/UNESCO/ISRIC, 2000)

Clase	Materia orgánica (%)	
	Suelos volcánicos	Suelos no volcánicos
Muy bajo	< 4.0	< 0.5
Bajo	4.1 - 6.0	0.6 - 1.5
Medio	6.1 - 10.9	1.6 - 3.5
Alto	11.0 - 16.0	3.6 - 6.0
Muy alto	> 16.1	> 6.0

Tabla 3. Criterios de inclusión para la naturaleza del suelo (FAO/UNESCO/ISRIC,2000).

Cantidad de Nitrógeno. Se valoró utilizando la técnica de nitrógeno total. Se basa en la digestión de 10g de suelo con una mezcla sulfo-salicílica para determinar por

destilación la cantidad de nitrógeno. Esta determinación incluye a los nitratos (Jarquín-Sánchez et al. 2011).

Clase	N inorgánico en el suelo (mg kg ⁻¹)
Muy bajo	0 - 10
Bajo	10 - 20
Medio	20 - 40
Alto	40 - 60
Muy alto	> 60

Tabla 4. Criterios para evaluar la concentración de Nitrógeno total en el suelo (Jarquín-Sánchez et al. 2011).

Los resultados fueron expresados en tablas en formato LAMS 03, según la Guía Normativo-Metodológica del INEGI para los análisis físicos y químicos en la cartografía edafológica.

% DE ARCILLA	% DE LIMO	% DE ARENA	CLASIFICACIÓN TEXTURAL	COLOR		C E dS/m ⁻¹ RELACION 1:5	pH EN AGUA RELACION 1:2.5
				EN SECO	EN HUMEDO		
8	36	56	Ca	10 YR 5/2	10 YR 3/2	0.1810	8.44
18	22	60	Ca	7.5 YR 5/4	7.5 YR 4/3	0.1810	8.00
22	22	56	Cra	7.5 YR 5/4	7.5 YR 3/4	0.1580	8.23
22	28	50	Cra	7.5 YR 7/4	7.5 YR 5/4	0.2356	8.37
28	28	44	Cra	7.5 YR 8/4	7.5 YR 6/4	0.1695	8.59
6	18	76	Ac	7.5 YR 8/3	7.5 YR 6/4	0.1522	8.53
12	62	26	Cl	7.5 YR 7/2	7.5 YR 5/3	1.7815	8.02
12	36	52	Ca	7.5 YR 8/2	7.5 YR 6/3	2.1551	8.04
14	50	36	C	10 YR 7/2	10 YR 4/2	1.8965	7.93
12	28	60	Ca	10 YR 8/1	10 YR 7/3	1.8390	7.96
12	30	58	Ca	10 YR 8/1	10 YR 7/3	2.2988	8.75
12	32	56	Ca	10 YR 8/2	10 YR 7/3	3.1609	9.33

Tabla 5. Formato de tabla LAMS 03 para interpretar datos físicos y químicos

RESULTADOS

El único grupo que permaneció constante en los dos muestreos es el de los ciliados, es el grupo más homogéneo tanto en distribución a lo largo de la rizósfera como su presencia en cada uno de los muestreos. Para identificar a los ciliados se debe observar principalmente la posición del citostoma la disposición de los cilios, la posición de la vacuola contráctil, la forma del soma si tiene cilios modificados como los cirros o membranelas.

Didinium fue uno de los géneros que presentó un arreglo en sus cilios en fajas o hileras y el polo superior tiene una especie de cúpula.

Colpoda presentó el aparato bucal subapical característico de este género.

Colpidium fue identificada por su forma semicónica.

Tetrahymena también tienen una forma semicónica, pero este es más achatado similar a un ovoide y presentó muchas vacuolas alimenticias.

Stylonychia que tiene membranelas y un arreglo complejo de los demás cilios orales que nos llevó a su identificación, según las claves de Lynn et al. 2000, que fueron simplificadas y traducidas por Delgado, 2007.



Géneros de ciliados asociados a la rizosfera, fotos tomadas por Jesús Mendoza Badillo, 2015.

Los flagelados presentaron dos géneros particulares: *Trimastix* que solo apareció en el primer muestreo y en el árbol de 75 años de edad y *Spumella* que solo apareció en el primer muestreo y en todos los árboles menores de 50 años, además fue el único flagelado encontrado a 200 cm de profundidad.

Para la identificación de los flagelados observamos la cantidad y posición de los flagelos, así como su tipo de movimiento, si los flagelos se usaban para nadar o para deslizarse como en el caso de las *Apusomonas* que presentaron dos flagelos que salen de un mastigoforo uno lo usaba para alimentarse y se movía de forma similar a un remo; el otro flagelo fue muy difícil de observar salía también del mastigoforo pero por detrás del soma, este permitía deslizarse por el medio (Jeuck & Arndt, 2013).

Las *Cercomonas* tienen también dos flagelos con los que se deslizaban, pero además se impulsaban con un pseudopodo ubicado en su parte posterior. *Apusomonas* tienen un soma aplanado y hacen un movimiento giratorio para avanzar.

Paraphysomonas presentaron dos flagelos muy largos y de apariencia sinuosa que alcanzaban a girar hasta dos veces antes de que todo el flagelo complete un movimiento.

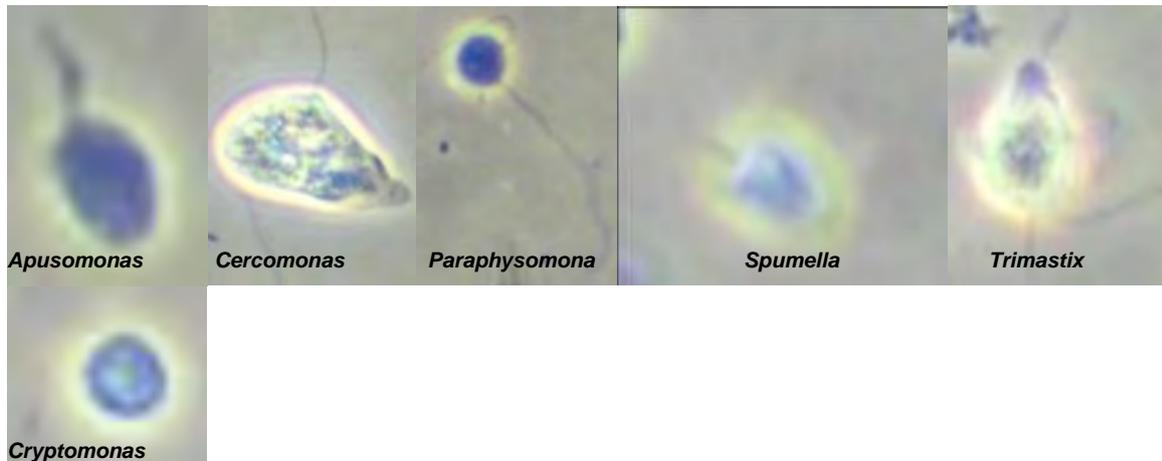
Spumella los flagelos fueron de longitudes diferentes y uno lo utilizaba para nadar y el otro para alimentarse creando una corriente que terminaba en la parte apical del soma.

Trimastix, un flagelado con cuatro flagelos situados uno en la parte anterior del cuerpo, otro en la posterior y los otros dos a los costados de su cuerpo piriforme (Jeuck & Arndt, 2013).

Cryptomonas tuvieron un color marrón, con un surco a manera de hendidura lo que las caracteriza como grupo (The taxonomicon).

Muestreo 1	Muestreo 2
<i>Cercomonas</i>	<i>Cercomonas</i>
<i>Apusomonas</i>	<i>Apusomonas</i>
<i>Paraphysomonas</i>	<i>Paraphysomonas</i>
	<i>Cryptomonas</i>
<i>Spumella</i>	
<i>Trimastix</i>	

Tabla 9. Géneros de ciliados encontradas en el 1^{er} y 2^{do} muestreo.



Géneros de flagelados, fotos tomadas por Jesús Mendoza Badillo, 2015.

La relación que guarda el primer y segundo muestreo global de todos los géneros de amebas encontradas permite observar que existen algunos géneros como: ***Vampyrella*** y ***Dermamoeba***, que solo aparecen en el primer o en el segundo muestreo respectivamente, Todo esto aun siguiendo el mismo procedimiento de muestreo, pero en una estación diferente del año (Tabla 10).

Dentro de los géneros que identificamos con las claves de Smirnov & Brown, 2004 y la Tesis de doctorado de Cortez, 2011, están:

Hartmanella. Su forma de desplazarse es hacer un solo lobopodo que hace pasar de sol a gel repetidamente.

Saccamoeba. Esta se desplaza haciendo un solo dígito hacia un costado, de la tal manera que siempre al desplazarse hace una “L”, ambos géneros se desplazan muy rápido.

Rhaphidiophrys, un heliozoo que tiene filopodos silíceos rígidos y permanentes que salen del soma esférico bien definido, también presenta una capa de material de silíceo debajo de la membrana celular. De esta forma, el heliozoo se observa como una esfera escamosa con múltiples radios saliendo de ella.

Dermamoeba. Presenta una lorica que suele ser cónica y hace a la ameba extender sus dactylopodios por la circunferencia más grande lo cual permite su polarización.

Thecamoebas se observan con una teca de agregados, por lo general minerales, que suelen llevar encima, al microscopio se observa en un movimiento de elongación y retracción del cuerpo de la ameba similar al del oleaje dentro de la testa.

Dactylamoeba, se observó que generaba lobopodos para su movilidad y alimentación, de tal forma que pareciera un abanico.

Korotnevella fue identificada por presencia de un lobopodo principal extendido para su desplazamiento impulsado por otros lobopodos pequeños.

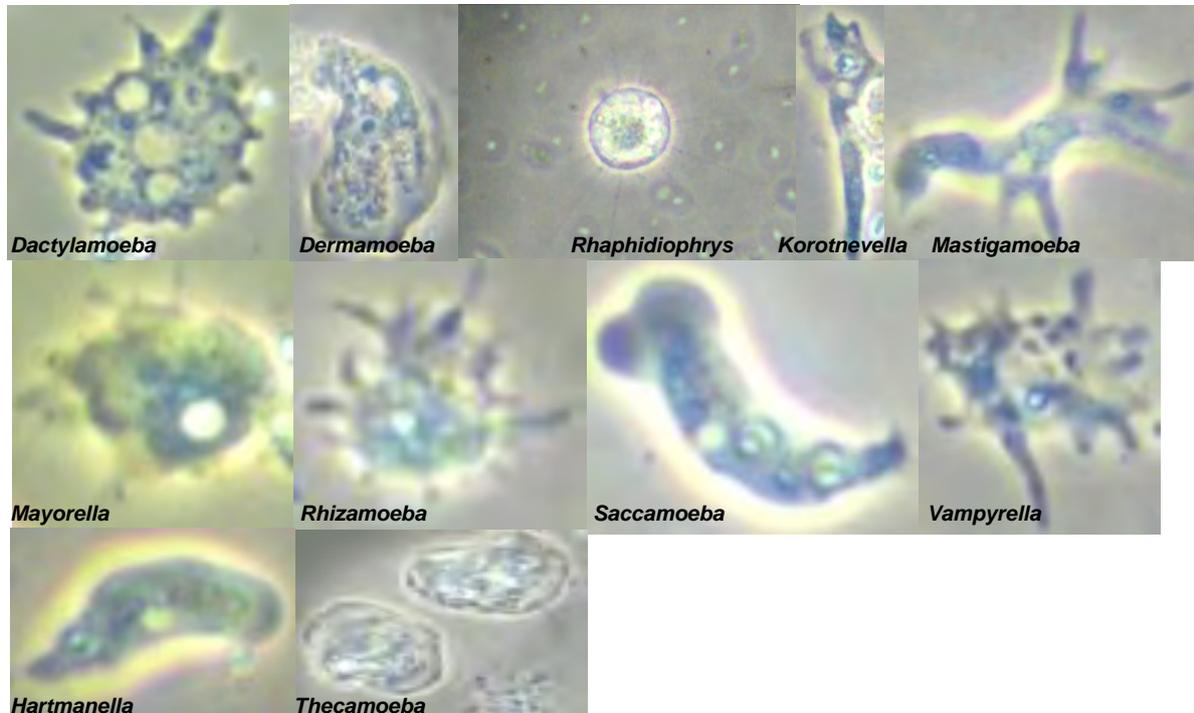
Mastigamoeba para desplazarse, suele lanzar uno o dos lobopodos principales que posteriormente hacen unos más pequeños que se anclan y permiten a la ameba deslizar el resto de su cuerpo hacia los lobopodos más pequeños y a su vez forma un dígito grueso al final que termina de empujar el resto del cuerpo.

Mayorella y **Rhizamoeba** tienen en común que suelen lanzar lobopodos que jalan el cuerpo sin distenderse, solo que **Mayorella** suele lanzar unos pequeños lobopodos por la periferia de su cuerpo y una porción del cuerpo hace el movimiento sol-gel haciendo un pseudolobopodo por el que desplaza en movimientos cortos, en tanto que **Rhizamoeba** suele lanzar múltiples lobopodos con los que se desplaza

Vampirella suele hacer múltiples lobopodos y de vez en cuando lanzar uno de mayor tamaño y con forma de punta, por el que se hace pasar desplazando primero la parte central del soma y después los lobopodos.

1er muestreo	2do muestreo
<i>Hartmanella</i>	<i>Hartmanella</i>
<i>Dactylamoeba</i>	<i>Dactylamoeba</i>
	<i>Dermamoeba</i>
<i>Korotnevella</i>	<i>Korotnevella</i>
<i>Thecamoeba</i>	<i>Thecamoeba</i>
<i>Mastigamoeba</i>	<i>Mastigamoeba</i>
<i>Rhizamoeba</i>	<i>Rhizamoeba</i>
<i>Mayorella</i>	<i>Mayorella</i>
<i>Rhaphidiophrys</i>	<i>Rhaphidiophrys</i>
<i>Vampyrella</i>	
<i>Saccamoeba</i>	<i>Saccamoeba</i>

Tabla 10. Géneros de amebas encontrados en el 1^{er} y 2^{do} muestreo.



Géneros de amebas, fotos tomadas por Jesús Mendoza Badillo, 2015.

Resultados del Análisis de Suelo

Los análisis indicaron que se trata de un suelo franco-arenoso (F-A) sus colores; pardo oscuro en seco y pardo fuerte húmedo, son característicos de un suelo que tiene buena aireación y drenado de agua, sin metales de transición que pudieran cambiar su coloración a tonos rojizos (Huerta, 2010).

Particularmente para el suelo del árbol con 50 años, el color pálido denota empobrecimiento de minerales como el Fe^{+2} y Mn^{+2} . Aun teniendo el mismo porcentaje de arenas, limos y arcillas que el árbol de 15 años, el porcentaje de M.O. y N_2 es mucho menor.

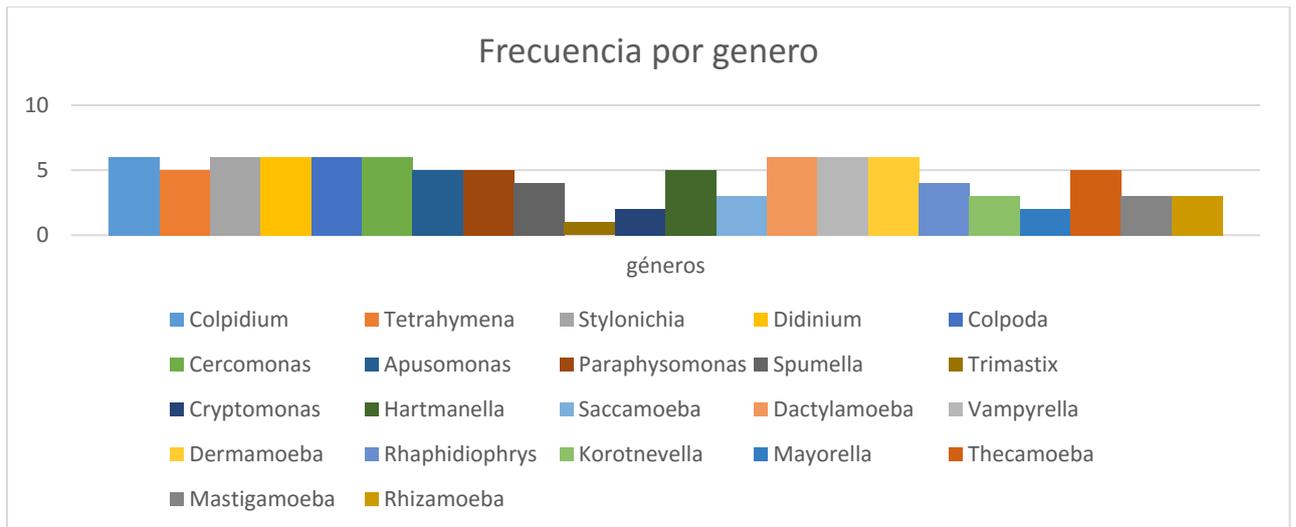
Edad del Árbol	% de arcilla	% de limo	% de arena	Clasificación textural	ph en agua en relación 1: 2.5 m/v	C. E. en mmhos/cm relación 1:5 m/v	%M. O.	N. total en (mg/kg ⁻¹)
3	12	26	62	F- A	7.21	0.024	8.694	0.03991
7	8	24	68	F-A	7.21	0.024	4.962	0.01330
15	10	24	66	F-A	7.40	0.024	6.041	0.03152
35	14	26	60	F-A	7.98	0.026	2.180	0.00240
50	10	24	66	F-A	7.94	0.026	0.082	0.00700
75	2	20	78	F-A	7.13	0.023	22.48	0.51615

Tabla 10. Análisis fisicoquímicos de las muestras de suelo rizosférico y agrícola temporal.

No todos los arboles presentaron la riqueza total de los géneros de protozoos, en la gráfica1 observamos la frecuencia en la que aparecieron los géneros en el estudio:

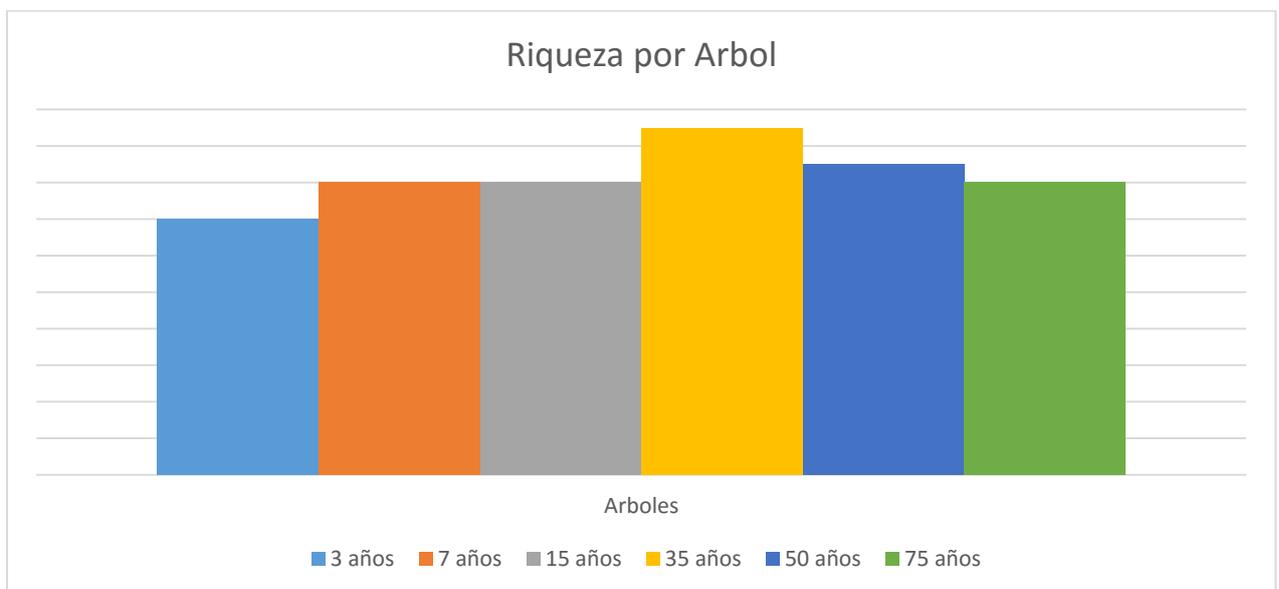
Colpidium, Stylonichia, Didinium, Colpoda, Dactylamoeba, Vampyrella y Dermamoeba se observaron en todos los árboles.

Trimastix, Cryptomonas y Mayorella presentaron una baja frecuencia.



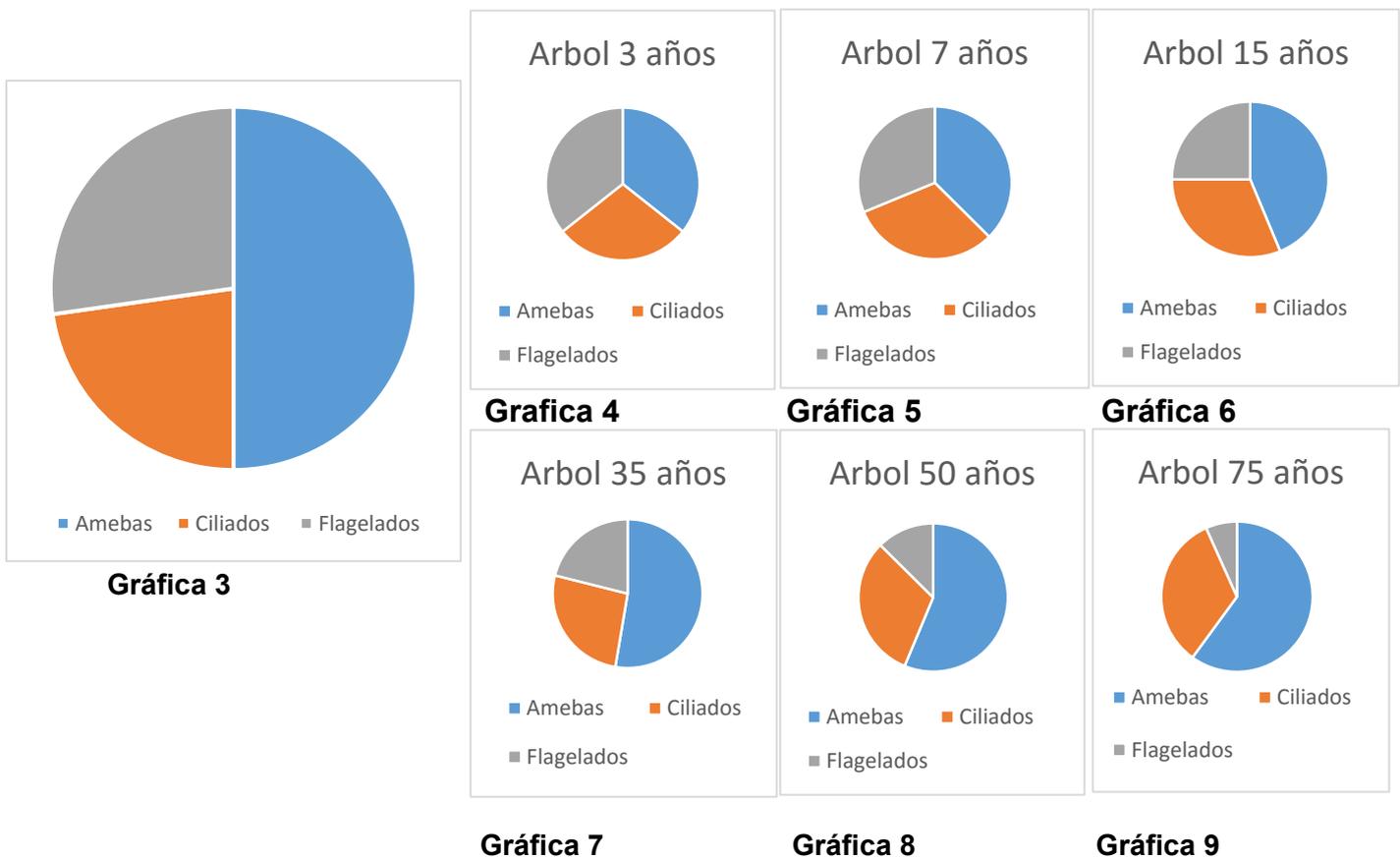
Gráfica 1 Frecuencia de cada género encontrado en los arboles de *C. edulis*.

En la gráfica 2 se esquematiza el número de géneros de protozoos asociados a su rizósfera, poniendo de relieve que, para todos, la riqueza es similar sin importar que géneros de protozoos presente.



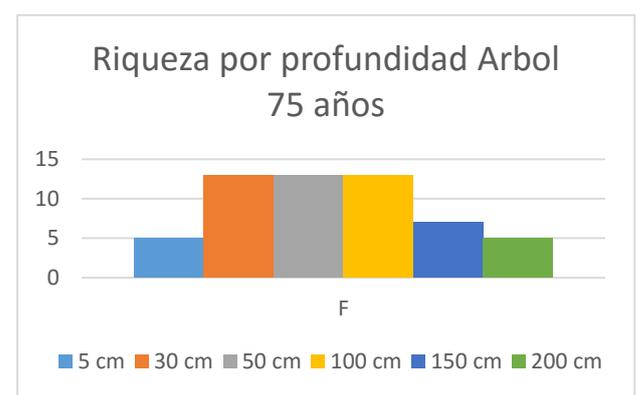
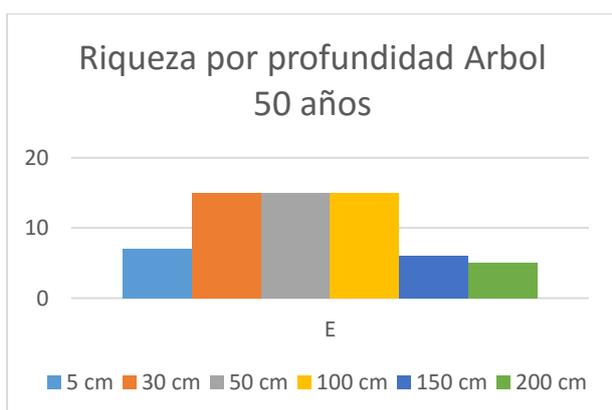
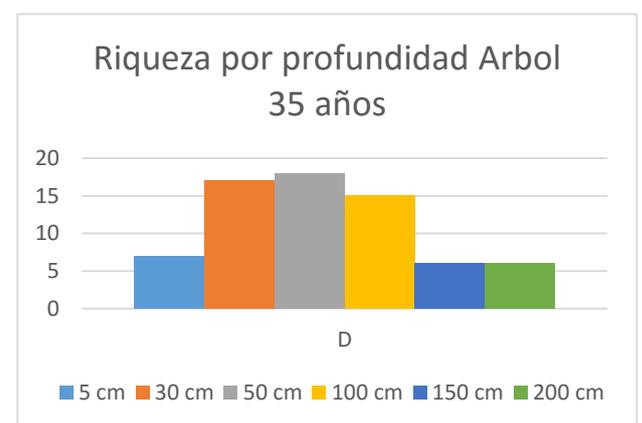
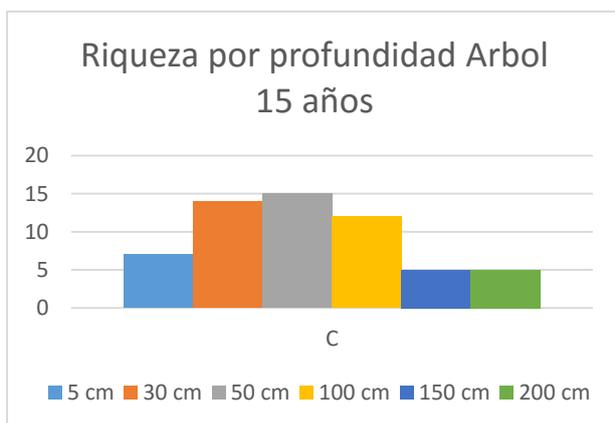
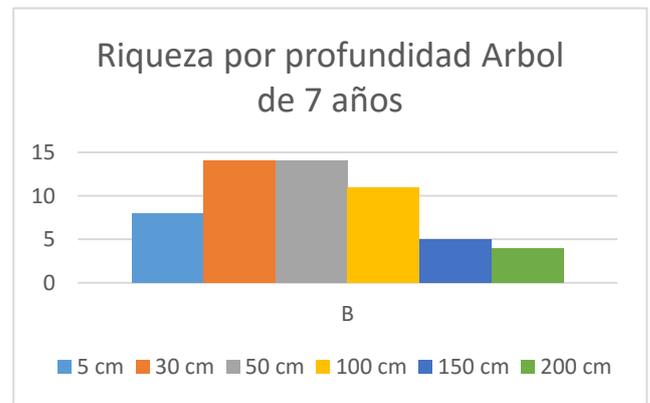
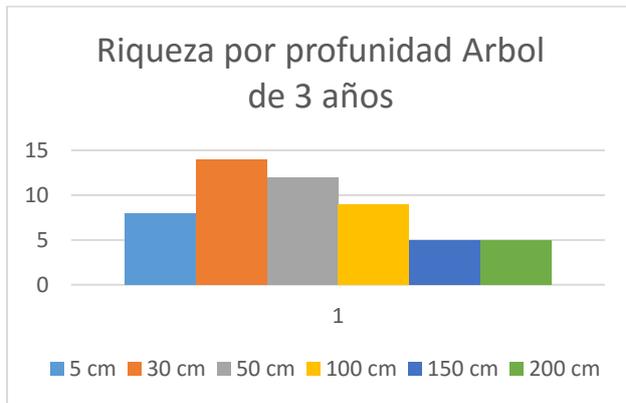
Gráfica 2. Riqueza de géneros por árbol ordenados por edad.

Las gráficas 3 a 9 demuestran que las amebas son el grupo dominante en el estudio y que ligeramente es mayor la riqueza de flagelados que de ciliados. Las amebas a lo largo del crecimiento del árbol como especie se vuelven más presentes por género en comparación con los otros grupos. Los flagelados disminuyen su presencia los ciliados se mantienen a lo largo de cada edad. Consideramos que los ciliados son el grupo más homogéneo de la rizósfera estudiada, probablemente, por su tamaño, movilidad, metabolismo y hábitos alimenticios que les permite desplazarse con gran facilidad por todo el hábitat y encontrar en él sus recursos.



Gráficas 3-9. Riqueza de cada grupo principal de protozoos global y por árbol.

Las gráficas 10-15 permiten observar que las zonas que comprenden de las profundidades 30 a 100 cm de profundidad en el suelo tienen la mayor riqueza del total de géneros observados sin hacer distinción de que tipos de protozoos, ni afinidad de cada género por cada estrato, al manejarlo así también se observa que hacia los extremos la riqueza de protozoos disminuye.



Gráficas 10-15. Riqueza de géneros por estrato de suelo.

El siguiente esquema artístico es resultado de las observaciones totales hechas en los árboles de *C. edulis*.



Figura 3. Esquema de distribución de protozoos a lo largo de la rizósfera de un árbol de *C. edulis*.

Respecto a la siguiente tabla, ordena a las familias de ciliados, flagelados y amebas presentes a lo largo de todo el estudio y su ubicación. Los ciliados encontrados en este estudio, se presentaron en árboles de todas las edades, y los géneros *Colpidium* y *Colpoda* prácticamente en todas las profundidades, los otros géneros *Stylonichia*, *Didinium* y *Tetrahymena* ya no se encontraban a 2m.

Por otra parte, los flagelados estuvieron presentes en casi todas las edades a excepción de *Trimastix* que sólo se encontró en el árbol de 75 años y a 150 cm. En tanto que los géneros de *Apusomonas*, *Paraphysomona*, *Spumella* y *Chrysomona* ya no tienen presencia en el árbol de 75 años. *Apusomonas* al igual que *Cercomona*, y *Cryptomonas*, sólo se presentaron de 5 a 50 cm de profundidad. Finalmente comentaremos que *Spumella* fue el único flagelado que se encontró a 2m.

Observándose *Dactylamoeba* en árboles de todas las edades y en todas las profundidades estudiadas, por lo que puede considerarse el grupo más generalista de este estudio.

Por otro lado, los géneros *Saccamoeba*, *Korotnevella*, *Rhizamoeba*, al parecer requieren que los árboles hayan llegado a la edad de 35 años para aparecer en sus raíces desde profundidades de 30 cm y hasta 100 cm.

Por su parte los géneros que se encontraron en las profundidades menores entre los 5 y los 50 cm fue *Hartmanella* y *Rhaphidiophrys* y los géneros *Saccamoeba*, *Mayorella*, *Mastigamoeba* y *Vampyrella* aparecieron a los 30 cm y hasta 100 cm.

Grupo	Familia	Género	Edad del árbol	Profundidad en raíz
Ciliados	Turaniellidae	<i>Colpidium</i>	3,7,15,35,50,75	30,50,100,150,200
	Tretahymenidae	<i>Tetrahymena</i>	7,15,35,50,75	50,100
	Oxytrichidae	<i>Stylonichia</i>	3,7,15,35,50,75	30,100,150
	Didiniidae	<i>Didinium</i>	3,7,15,35,50,75	5,30,50,100
	Colpodidae	<i>Colpoda</i>	3,7,15,35,50,75	5,30,50,100,150,200
Flagelados	Cercomonadidae	<i>Cercomonas</i>	3,7,15,35,50,75	5,30,50
	Apusomonadidae	<i>Apusomonas</i>	3,7,15,35,50	5,30,50
	Paraphysomonadaceae	<i>Paraphysomonas</i>	3,7,15,35,50	5,30,50,100
	Chromulinaceae	<i>Spumella</i>	3,7,15,35	30,50,100,200
	Trimastigidae	<i>Trimastix</i>	75	150
	Chrysophyceae	<i>Cryptomonas</i>	3,7	5,30
Amebas	Hartmanellidae	<i>Hartmanella</i>	3,7,15,35,75	30,50
		<i>Saccamoeba</i>	35,50,75	30,50,100
	Dactylamoebidae	<i>Dactylamoeba</i>	3,7,15,35,50,75	5,30,50,100,150,200
	Vampirellidae	<i>Vampyrella</i>	3,7,15,35,50,75	30,50,100
	Dermamoebidae	<i>Dermamoeba</i>	3,7,15,35,50,75	5,30,50,100,150,200
	Rhaphidiophryidae	<i>Rhaphidiophrys</i>	3,7,15,35	30,50
	Paramoebidae	<i>Korotnevella</i>	35,50,75	30,50,100,150,200
		<i>Mayorella</i>	50,75	30,100
	Thecamoebidae	<i>Thecamoeba</i>	7,15,35,50,75	50,100
	Mastigamoebidae	<i>Mastigamoeba</i>	15,35,50	30,50,100
	Rhizamoebidae	<i>Rhizamoeba</i>	35,50,75	30,50,100

Tabla 6. Géneros y Familias de protozoos a lo largo de la rizósfera de cada árbol de *C. edulis*.

Las figuras 1 y 3 son dendrogramas hechos a partir de un análisis de similitud de Sorensen que se hicieron a partir de matrices de datos cualitativos de presencias y ausencias, la primera revelo la similitud de las comunidades por árbol únicamente poniendo de relieve la edad y la segunda también integra la profundidad en cada estrato, revelando que existen al menos tres comunidades diferentes para el primer caso siendo las de 50 y 75 años muy diferentes entre sí y las de los árboles de 7 y 15 años prácticamente idénticas, sin embargo, al agregar los datos de profundidad, las 3 comunidades anteriores se vuelven más complejas y en vez de observar 3 se observan 5 comunidades, el estrato de 5 cm de profundidad tienen dos comunidades en una se agrupan los arboles de 3, 7, 15, 35 y 50 años y en la otra la de 75 años. A los 30 y hasta los 100 cm se observan 2 comunidades. A los 30 cm los arboles de 7 y 3 años prácticamente tienen la misma comunidad, pero a los 15 años empieza a diferenciarse, aunque aún son muy parecidas, a los 35 años la comunidad a la misma profundidad comienza a diferenciarse y continua a los 50 años, llegando a los 75 años es una comunidad diferente lo que ya se observaba a la profundidad de 50 cm para el mismo árbol. A los 50 cm las comunidades de los árboles de 7 y 15 años son muy similares entre si y menos al compararla con la del árbol de 3 años, las de los árboles de 35, 50 y 75 años son aún más diferentes. A los 100 cm de profundidad las comunidades de cada árbol se encuentran más agrupadas que a la profundidad de 50 cm, sin embargo, las profundidades de 15 y 35 años son similares entre si al igual que las de 35 y 50 años y los extremos de 75 y 3 años presentan un grado de madurez diferente, en especial el de 3 años en comparación con los demás árboles. En adelante las profundidades de 150 y 200 cm se presentan agrupadas y conforman otra comunidad, para los 150 cm las comunidades de los árboles de 3, 7 y 15 años son muy similares entre sí, las de 35 y 50 años son similares entre ellas y la de 75 años diferente de las otras. Para los 200 cm los árboles de 50 y 75 años tienen comunidades muy similares, 3 y 15 años también presentan comunidades similares, el árbol de 35 años presentan un grado de diferenciación mayor y el de 7 años aún más.

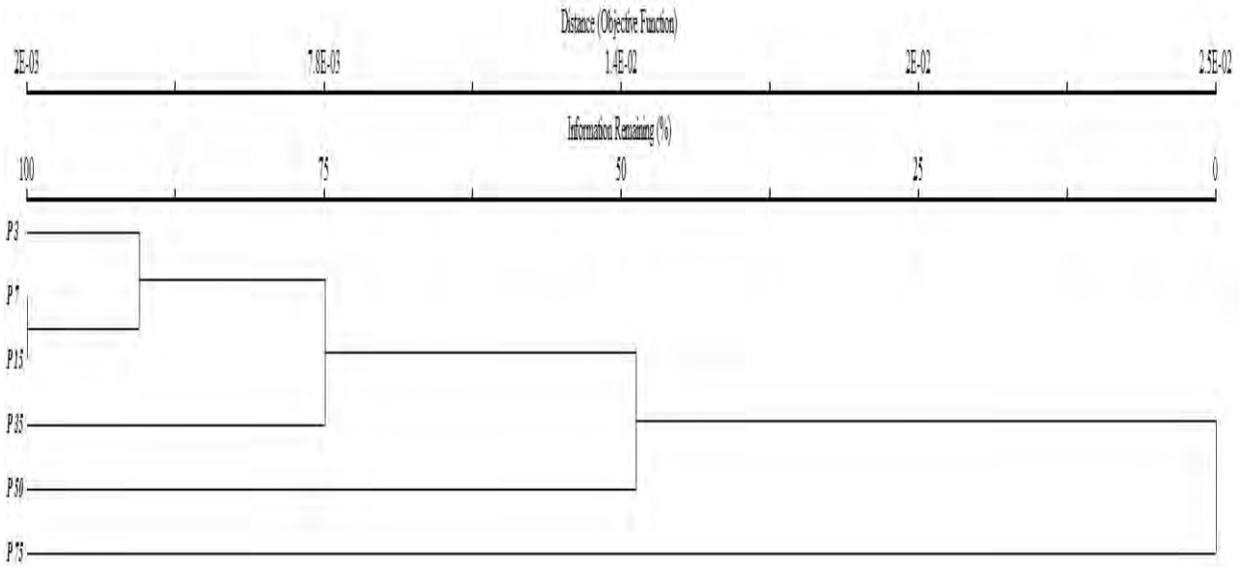


Figura 1. Similitud de comunidades de protozoos entre edades de árboles de Zapote Blanco.

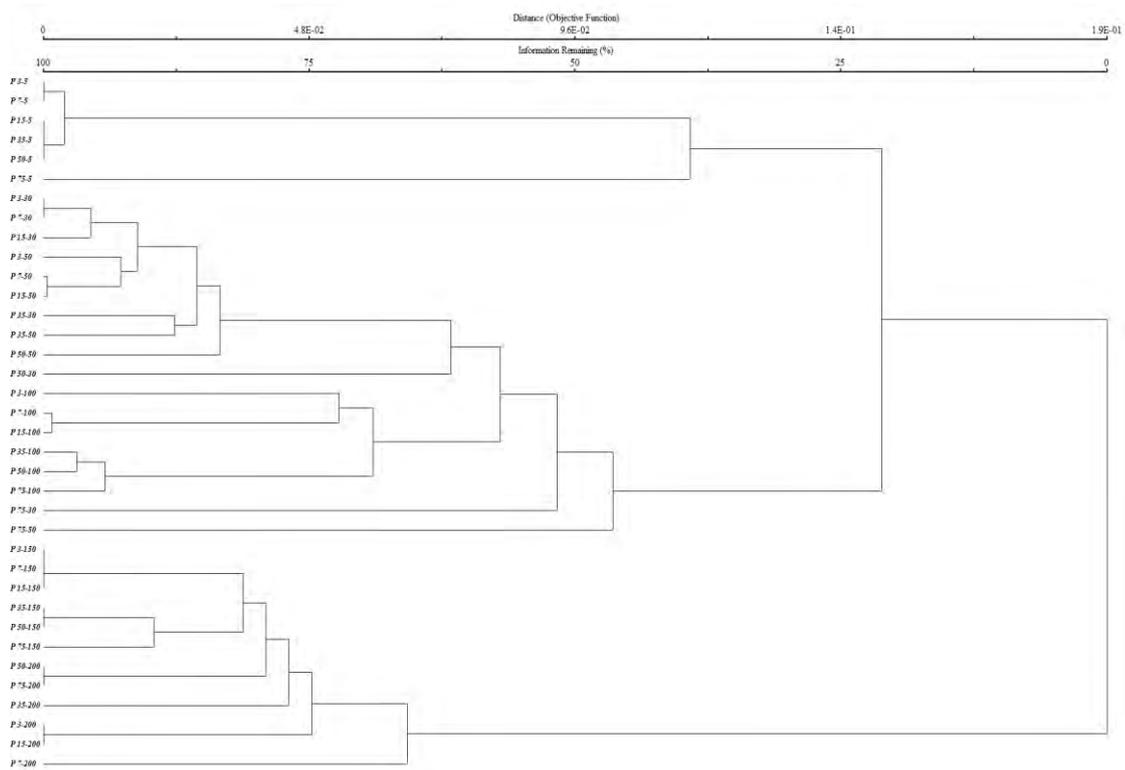


Figura 2. Similitud de comunidades de protozoos entre profundidades y edades de árboles de Zapote Blanco.

Discusión

Según nos narra el Sr. Julio Mendoza Escamilla y La Sra. Teresa Huidobro González que son los dueños del terreno, el suelo ha pasado por muchos eventos que han modificado su condición. Ha tenido uso agrícola, también ha sido terreno ocioso; se ha sembrado con maíz y también ha sido una magueyera, se ha dejado crecer el pasto en algunas zonas y repoblado con árboles de la familia de las Cupresáceas aunque posteriormente fueron talados, una vez que fue incendiado. También se han sembrado y talado Pirules (*Schinus molle*) y durante todos estos eventos, han permanecido los árboles de zapote. Según Bonkowski & Clarholm 2012, la importancia de cada una de las fracciones de la comunidad de microorganismos también ha sufrido modificaciones a lo largo del tiempo y varía de acuerdo al hábitat.

El tipo de suelo es franco-arenoso, no salino y de pH neutro con tendencias a la alcalinidad, los únicos parámetros estudiados que presentaron variabilidad fueron la M.O. y la concentración de N, lo cual se explica con los criterios de selección para las unidades muestrales de suelo, pues se recogieron específicamente de la rizósfera de los árboles en donde los exudados rizosféricos y las comunidades asociadas influyen en el porcentaje de M.O. y N, la disponibilidad de estos influyen en la disponibilidad de alimento y constitución del hábitat para que la comunidad de protozoos se desarrolle. Por lo tanto, la presencia y ausencia de varios tipos de protozoos a lo largo de la rizósfera depende del ambiente que promueve, por lo que se modifica la distribución de los protozoos entre las raíces de los árboles.

A lo largo de la rizósfera del árbol de zapote, se encontraron organismos de los tres grupos principales de protozoos. Además, conforme aumentó la profundidad en el suelo, la composición de la comunidad variaba.

Los ciliados fueron el grupo más homogéneo al encontrarse a lo largo de toda la rizósfera, Fukami et al. 1999, explica que los ciliados son organismos que tienen una estructura morfológica excelente para el desplazamiento pues la mayoría no poseen una estructura rígida por lo que pueden amoldarse al sustrato para desplazarse con los cilios y los cirros que son sus estructuras locomotoras principales, aún los organismos de cuerpo rígido que por su tamaño caben en los poros pequeños del suelo son capaces de adaptarse a las variaciones físicas de la constitución del mismo. Clarholm, 1981 también explica que los exudados rizosféricos suelen acomplejar el

sustrato haciendo al suelo rizosférico con poros más grandes a su alrededor por lo que puede circular más agua o aire que en el resto del suelo. Además, la mayoría de los ciliados son bacterívoros o mixotrofos (Bonkwoski, 2004), lo cual contribuye a la explicación de una distribución relativamente homogénea. Aunque suelen ser un grupo numeroso, no en todos los suelos son el grupo predominante.

Los flagelados son organismos de tallas más pequeñas y dinámicos en comparación con los ciliados y las amebas. Por su morfología se encontraron tanto nadadores como deslizantes (Jeuck y Arndt, 2013), en este caso los nadadores son más pequeños que los deslizantes. Al aumentar la profundidad en el suelo los espacios se reducen por la cantidad de materia que comprime el sustrato volviéndolo más denso y sin espacios porosos, a excepción del sustrato que rodea las raíces.

Las raíces más grandes o principales distribuyen la fuerza de compresión y los exudados que liberan las raíces secundarias hacen complejos del sustrato mismos que por su tamaño, fomentan la estructuración del suelo, por lo que la presencia de las raíces afecta positivamente la composición de la comunidad de protozoos asociados a la rizósfera. Aunque se encontraron a lo largo de toda ella la mayoría de los flagelados se restringieron hasta 1m de profundidad como máximo. Finlay y Esteban, 2001, describen que la cantidad de flagelados presentes en sistemas acuáticos está en función de su tamaño, sin embargo Lekfeldt & Rønn, (2008), ponen como principal factor para la riqueza y tipos de flagelados, al tamaño y el tipo de bacterias que se desarrollan en el hábitat, citan a Mohapatra & Fukami, (2005), quienes demuestran la disminución en el crecimiento de la población de *Jakoba libera* al adicionar *Micrococcus* sp. cuando estos se alimentan principalmente de *Pseudomonas* sp. Para este sistema terrestre el grupo más común fue el de las *Cercomonas* que se encontró en todos los árboles, era muy abundante en las observaciones lo cual no concuerda con Finlay & Esteban, (2001) por la abundancia de estas mismas que son de tallas más grandes que *Paraphysomona*, *Spumella* y *Trimastix* siendo estos nadadores, también son más grandes que *Cryptomonas* y *Apusomonas* que son deslizantes, pero de talla promedio. Los mismos autores y Jones, (2000), explican que los flagelados libres nadadores suelen ser más grandes que los deslizantes y que no son buenos indicadores de la situación de un ambiente, suelen tolerar grandes concentraciones de sales disueltas además de que suelen ser

aerotolerantes por lo que soportan grandes concentraciones de materia orgánica (MO) y cambios importantes en el pH.

Lekfeldt & Rønn, 2008 explican lo contrario, involucran el tipo de bacterias que la rizósfera permite se desarrollen y que esto influye directamente en la riqueza y la abundancia de los géneros de flagelados encontrados también para los protozoos en general. Lo que sucede en este estudio se entiende mejor con esta explicación pues al avanzar la edad de los árboles, la cantidad de géneros de flagelados disminuye y aunque la MO es directamente proporcional con el N en este estudio son contrastantes solo para el árbol de 50 años, no están relacionadas con la disminución de géneros de flagelados que se observan conforme avanza la edad del árbol.

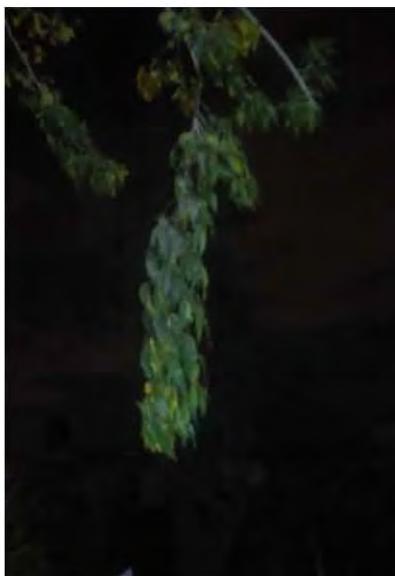
En lo que respecta al grupo predominante, las amebas, se encontraron a lo largo de toda la rizósfera y tuvieron una riqueza de géneros mayor que los otros dos tipos de protozoos. Las amebas según explica Smirnov & Brown, 2004, son depredadores de la biomasa bacteriana, por sus características, suelen ser los mejores indicadores del estado de un suelo, es por su tipo de alimentación y gran susceptibilidad que son especialmente sensibles a factores como la presencia o ausencia de bacterias, la edad y tamaño del consorcio microbiano, la concentración de cloruro de sodio y materia orgánica (Crump, 1949). En caso del género *Rhaphidiophrys*, que son un grupo especialmente sensible a los cambios en su entorno y que se alimentan por filtración, hacen evidente que el suelo tiene poros para infiltrar agua y aire de forma fluida, esto por su morfología rígida la mayor parte del tiempo con filopodos frágiles y permanentemente extendidos que requieren de poros y buena capacidad de drenaje en el suelo para alimentarse además de condiciones estables de pH y salinidad. Las *Tecamoebas* en este estudio las encontramos en todos los árboles y de 50 a 100 cm de profundidad, con excepción del ejemplar de 3 años de edad. Consideramos que, para la presencia de estas amebas el factor más importante fue la edad del árbol, que proporcionó un ambiente que “maduró” a lo largo del tiempo hasta que fue adecuado para dar lugar a las *Tecamoebas* con base en esa maduración se originó el hábitat de estos géneros de amebas.

Con respecto a la rizósfera del árbol de 3 años, esta contiene 4 de los 5 ciliados, 5 de los 6 flagelados y 4 de las 10 amebas. Mismos que se encuentran en general en los otros árboles de mayor edad, sus números en cuanto a cantidad de géneros permiten

observar los cambios que sufre la comunidad de protozoos. Al entrar en detalle podemos observar una tendencia a la predominancia de los géneros de amebas y ciliados sobre la de los flagelados, el árbol de 75 años presenta 2 de los 6 géneros de flagelados, 5 de los 5 géneros de ciliados y 9 de los 10 géneros de amebas. Cabe resaltar que a los 7 años de edad el árbol ya presenta los 5 géneros de ciliados y aumenta en 1 género la cantidad de amebas, pero es hasta el árbol de 35 años de edad en el que se observa una disminución de 1 género rompiendo la tendencia de 5 encontrados en los árboles de menor edad.

Hartmanella y *Rhaphidiophrys* son géneros que no aparecen en la muestra del árbol de 50 años, el cual se encuentra cerca de un estacionamiento en donde la compactación mecánica del suelo es muy evidente además de que se hacen fogatas casi diario; no solo no se encontró en el árbol de 50 años, tampoco en el árbol de 35 años, por lo que las condiciones físicas y químicas no afectaron directamente su presencia y ausencia en la rizósfera de cada árbol.

El suelo aledaño al árbol de 50 años también presenta un color más pálido que el resto de los suelos colectados, aunado a una baja concentración de MO este suelo puede estar empobrecido en minerales, también fue el primer árbol en enfermar y sufrir un crecimiento anormal de ramas, los demás ejemplares arbóreos de nuestro estudio también enfermaron presentando clorosis en los folios junto con una plaga de cenicilla y un crecimiento anormal de ramas. Tampoco se presentó el género *Korotnevela* en el segundo muestreo de este árbol en particular y *Vampyrella* no se presentó para el segundo muestreo en ningún árbol, esto cuando ya estaban enfermos todos los árboles, lo que puede ser un indicio de que la salud del árbol influya indirectamente en la composición de las comunidades de protozoos asociadas a él.



Las *Dactylamebas* y *Dermeamebas*, son comunes en el suelo y a lo largo de la rizósfera debido a que ahí se encuentra el agua mátrica en mayor cantidad pues los árboles con sus raíces retienen mas agua y el sustrato acomplejado con los exudados rizosféricos también. Herrera (2001), explica que las amebas de vida libre suelen ser más abundantes en el suelo que en ambientes acuáticos y representan hasta el 50% de la biomasa de protozoos, la flexibilidad de sus cuerpos les permite acceder hasta cavidades de 2µm de ancho, aun así, las *Dermeamebas* no se observaron hasta el segundo muestreo en temporada de lluvias cuando la disponibilidad de agua era mayor.

El estado de los árboles en el segundo muestreo fue determinante para el estudio, pues habían sufrido la remoción de parte del suelo debido a que las lluvias lo lavaron, algunas de las raíces estuvieron a la intemperie y se secaron. Por lo anterior, se tuvo que hacer otra excavación para encontrar raíces secundarias, para entonces los árboles ya estaban enfermos con las características anteriormente explicadas. Bonkwoski, 2004, explica la estrecha relación entre las plantas y las comunidades que habitan su rizósfera, esta puede ser perjudicial o benéfica dependiendo del estado de salud de las plantas, pues influye en la composición de los exudados rizosféricos.

El grupo de los ciliados presentó poca variación entre los árboles, mientras que la riqueza de las amebas aumentó con la edad y la de los flagelados se redujo aun siguiendo el mismo método de muestreo, sin embargo, como el estudio se realizó estrictamente en un ambiente más estable y resistente a los cambios de tiempo atmosférico y actividades desarrolladas en el terreno, como lo es la rizósfera según la literatura, los resultados obtenidos respaldan a la edad de los arboles como un factor importante para detallar estudios en la dinámica de las comunidades de protozoos del suelo.

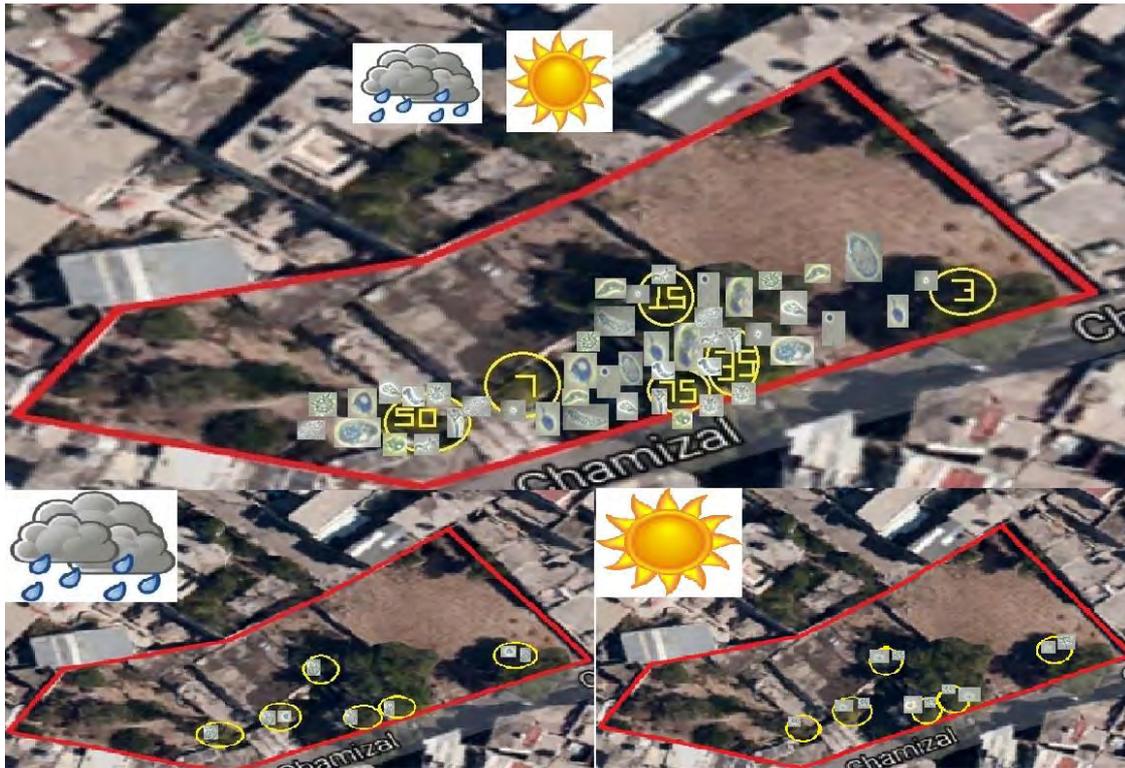


Figura 4. Mapa mental con la ubicación de los árboles en el predio y la distribución de los protozoos en la rizósfera de cada uno.

La especie *C. edulis* tiende a reducir la riqueza de flagelados cuando los arboles aumentan su madurez, mientras la riqueza de las amebas aumenta y la de los ciliados no se altera.

La distribución de las comunidades de protozoos a lo largo de la rizósfera no es homogénea, esto no es principalmente debido a las condiciones ambientales o las características fisicoquímicas del suelo por si solas, sino a la edad. No solo se observa la disminución de géneros de protozoos y el aumento de los géneros de amebas, todo esto va sucediendo a diferentes profundidades en las que las comunidades evolucionan conforme el árbol madura, la profundidad que alcanza el árbol al desarrollar sus raíces y los exudados rizosféricos que libera a lo largo de su vida moldean indirectamente a las comunidades de protozoos, como esto sucede a lo largo del tiempo la profundidad permite ponderar a la edad como variable determinante para este tipo de estudio y no al contrario como pudiera observarse a simple vista pues la variable profundidad solo propone una condición para la generación de un hábitat mismo que se ha modificado con el paso del tiempo y la maduración del árbol, mismo efecto que se manifiesta sobre las comunidades de protozoos, la totalidad de los

miembros de la población del árbol tienen edades distintas, pero sus raíces siempre se encontraron hasta los 2m de profundidad la cual es la que alcanzan las raíces de los árboles antes de llegar a la roca madre en donde las raíces se extienden sobre la superficie de la roca. Esto se puede observar en los dendrogramas con tendencias a agrupar a las comunidades de los árboles más jóvenes y separar a las de los más viejos, a medida en que las raíces profundizan en el suelo creando nuevos habitats, las de los árboles de 50 y 75 años en comunidades distintas en comparación con las de los demás árboles, las de 35 años en un punto intermedio y las de 15, 7 y 3 años similares entre sí. Incluso al no tener un coeficiente de similitud menor a 50 % el cual es requisito necesario para considerar a una comunidad diferente de otras, se puede observar disimilitud entre las comunidades que se agrupan en los mismos estratos de diferentes edades.

Conclusión

Por lo que se puede afirmar que existe una distribución espacio-temporal característica de los protozoos asociados a la rizósfera formando comunidades y que se modifican en cuanto a riqueza de géneros conforme avanza la edad del árbol y se observa conforme sus raíces profundizan en el suelo.

Bibliografía

- Amaral-Zettler L. Nerad T. O'Kelly C. Peglar M. Gillevet P. Silberman J. Sogin M. 2000, A molecular reassessment of the *Leptomyxid amoebae*. *Protist* 151: 275-282.
- Arndt H. Dietrich D. Auer B. Cleven E. Gräfenhan T. Weitere M. Mylnikov A. 2000, Functional diversity of heterotrophic flagellates in aquatic ecosystems, Eds. B.S. C. Leadbeater and J. C. Green, New York, 240-268.
- Bonkowski M., 2004, Protozoa and plant growth: the microbial loop in soil revisited, *New Phytol*, 162: 617-631.
- Bonkowski M. & Clarholm M. 2012, Simulation of plant growth through interactions of bacteria and protozoa: Testing the auxiliary microbial loop hypothesis, *Acta protozoologica*, 51: 237-247.
- Caron D. 1990, Evolving role of protozoa in aquatic nutrient cycles, NATO Advanced Study Institute Series, Springer-Verlag, Berlín, 387-415.
- Cheung M. Nong W. Kwan H. Wong C. 2013, Composition of Heterotrophic in Coastal Waters of Different Trophic Status, Springer Science, E.U. 351 – 356 pp.
- Clarholm M., 1981, Protozoan Grazing of Bacteria in Soil-Impact and Importance, Department of Microbiology, Sweden, *Microbial Ecology* 7: 343-350.
- Clarholm M., 1989, Effects of plant-bacterial-amoebal interactions on plant uptake of nitrogen under field conditions. *Biology and Fertility of Soils* 8: 373-378.
- Corliss O. J., 1979, The Ciliated Protozoa Characterization, Classification and Guide to the Literature Second Edition, Ed. Pergamon Press, 79-80.
- Cortés S. 2015, Efecto del combustóleo sobre la estructura trófica de la comunidad de amebas de vida libre del suelo, Tesis de Doctorado, Facultad de Estudios Superiores Iztacala UNAM, 130.
- Cutler D. Letice M. Crump M. Sandom H., 1991, A quantitative investigation of the bacterial and protozoan population of the soil, with an account for the protozoan fauna, *Phil. Trans. R. Sco.*, London, B 211: 317-350.
- Crump M. L., 1949, The Influence of the Bacterial Environment on the Excystment of Amoebae from Soil, Department of Soil Microbiology, England, 16-21.
- Delgado. M. G., 2007, Protozoos y la nueva visión evolutiva con la traducción de claves para la determinación de algunos grupos, Tesis de licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Iztacala UNAM, 112.
- Elliott T., Anderson V., Coleman C. Cole V. 1980, Habitable pore space and microbial trophic interactions, *Copenhagen, OIKOS* 35: 327-335.
- Fenchel T. 2008, The microbial loop 25 years later, *Marine Biology Ecology* 336: 99-103.

Finlay J. & Esteban F., 2001, Ubiquitous Microbes and Ecosystem Function, *Limnetica*, España 20(1): 31-43.

Fukami K. Watanabe A. Fujita S. Yamaoka K. Nishijima T. 1999, Predation on naked protozoan microzooplankton by fish larvae, *Marine Ecology- Progress Series* 185: 285-291.

Hagström A. Azam F. Andersson A. Wikner J. Rassoulzadegan F. 1988, Microbial loop in an oligotrophic pelagic marine ecosystem: Possible roles of Cyanobacteria and nanoflagellates in the organic fluxes, *Marine Ecology - Progress Series* 49: 171-178.

Hass D. & Defago G. 2005, Biological control of soilborne pathogens by fluorescent pseudomonas. *Nature Review Microbiology* 3: 307-319.

Herrera M. 2001, Riqueza de especies de amebas desnudas y aislamiento de bacterias endosimbiontes en un suelo desnudo, conservado de Zapotitlan de Salinas, Puebla, Unidad de Biotecnología y Prototipos, UNAM, 11.

Huerta C. E., 2010, Determinación de propiedades físicas y químicas de suelos con mercurio en la región de San Joaquín, QRO. y su relación con el crecimiento bacteriano, Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias Naturales UAQ, México, 60.

Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática INEGI, 2000, Los análisis físicos y Químicos en la cartografía edafológica del INEGI, Guía Normativo- Metodológica, México, 40.

Jeuck A. & Arndt H., 2013, A Short Guide to Common Heterotrophic Flagellates of Freshwater Habitats Based on the Morphology of Living Organisms, *Zoological Institute, Germany, Protist* 164: 842-860.

Jones R. I., 2000, Mixotrophy in planktonic protists: an overview, *Department of Biological Sciences, Institute of Environmental and Natural Sciences Lancaster University, Freshwater Biology* 45: 219-226.

Karpov. A. S. 2010, Flagellar apparatus structure of thaumatomonas (Thaumatomonadida) and thaumatomonad relationships, *St. Petersburg State University, Russia, Protistology* 6(4): 236-244.

Krome K.; Rosenberg. K.; Dickler C.; Kreuzer. K.; Ludwig-Muller J.; Ullrich-Eberius C.; Scheu S.; Bonkowski M., 2010, Soil bacteria and protozoa affect root branching via effects on the auxin and cytokinin balance in plants. *Plant soil* 328: 191-201.

Landolt J. Stephenson S. Cavander J., 2006, Distribution and ecology of Dictyostelid cellular slime molds in Great Smoky Mountains National Park, *Mycología* 98: 541-549.

Lekfeldt S. & Rønn R. 2008, A common soil flagellate (*Cercomonas* sp.) grows slowly when feeding on the bacterium *Rhodococcus fascians* in isolation, but does not discriminate against it in a mixed culture with *Sphingopyxis wittflariensis*, *Federation of European Microbiological Societies*, 113-124.

Lugtenberg B. & Kamilova F., 2009, Plant-growth-promoting rhizo-bacteria, *Ann. Rev. Microbiol.*, 6: 60-72.

- Lynn D. 2007, The ciliated protozoa Characterization, Classification, and Guide to the Literature Third Edition, Ed. Springer, Canada, 571.
- Martín M. Martínez-Granero F. Rivilla R. 2006, Colonización de la rizósfera por *Pseudomonas*, Universidad Autonoma de Madrid, España, 11.
- Mondragón L. 2007, Efecto del combustóleo sobre la comunidad de ciliados y flagelados de un suelo de cultivo en Jalacingo, Veracruz, Tesis de Licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Iztacala UNAM, México, 39.
- Oliveros-Bastida J.; Macías F.; Carrera C.; Marín y José D.; Molinillo M. 2009, Exudados de la raíz y su relevancia actual en las interacciones alelopáticas, España, *Química Nova* 32 (1): 198-213.
- OOMS M. Beyens L. Temmerman S., 2012, Testate Amoeba as proxy for water level changes in a brackish tidal marsh, Alemania, *Acta Protozoologica* 51: 271-289.
- Philips D.; Ferris. H.; Cook D.; Strong D., 2003, Molecular control points in rhizosphere food webs, *Ecology* 84: 816-826.
- Rodríguez-Zaragoza S. 2005, Riqueza de especies de amebas desnudas en la rizosfera de *Neobuxbaumia tetepo* y *Prosopis laevigata* en el Desierto del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, México, *Revista Sociedad Mexicana de Historia Natural* 2(1): 54-64.
- Schnürer J. Clarholm M. Rosswall T. 1985, Microbial biomass and activity in an agricultural soil with different organic matter contents, *Soil Biology & Biochemistry* 17: 611-618.
- Smirnov V. A. & Brown. S., 2004, Guide to the methods of study and identification of soil gymnamoebae, St. Petersburg University, Russia, *Protistology* 3 (3): 148-190.
- Spaepen S.; Vanderleyden J.; Remans R., 2007, Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiol. Rev.* 31: 425-448.
- Stout J., 1973, The relationship between protozoan population and biological activity in soils, Zealand, *American Zoologist* 13(1):193-201.
- Stout J. & Heal O., 1972, Protozoa. In *Soil Biology*, Ed. A. Burges and F. Raw. London Academic Press, 149-189.
- Timonen S. Christensen S. Flemming E., 2004, Distribution of protozoa in scots pine mycorrhizospheres, *Soil Biology & Biochemistry* 36: 1087-1093.
- Vdacky P. & Tirjaková E., 2007, Observación on soil haptorid ciliates (Protozoa, Ciliophora) from Slovakia, Faculty of natural Sciences, *Biología Bratislava* 62 (6): 720-730.
- Vohník M. Burdikova Z. Wilkinson D., 2012, Testate amoeba communities in the Rhizosphere of *Rhododendron ponticum*, (Ericacea) in a Evergreen Broadleaf Forest in Southern Spain, Spain, *Acta Protozoológica* 51: 259-269.