



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA**

**LICENCIATURA EN BIOLOGÍA**

**“REGISTRO DE AMIBAS TECADAS EN CENOTES  
DEL ESTADO DE YUCATÁN”**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**B I Ó L O G A**

**PRESENTA:**

**AMÉRICA PATRICIA GARCÍA GARCÍA**

**DIRECTORA DE TESIS:**

**D en C ELVIA MANUELA GALLEGOS NEYRA**



**LOS REYES IZTACALA, ESTADO DE MÉXICO, 2019**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**




**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.

*En memoria del Arq. Esteban Javier García Ortega*



*Dedico esta tesis con todo mi amor y cariño a las personas más importantes en mi vida: mis padres.*

## *Agradecimientos académicos*

En primer lugar quiero agradecer a mi amada Universidad Nacional Autónoma de México y a mi Facultad de Estudios Superiores Iztacala, por haber recibido de ella mi formación profesional, por los excelentes profesores que a lo largo de mi etapa universitaria me enseñaron todo lo que sabían, compartiendo el gran amor hacia mi carrera, con el único propósito de formar buenos profesionistas.

A mi mamá académica la Dra. Elvia Manuela Gallegos Neyra, porque aparte de ser mi directora de tesis fue mi amiga a lo largo de este proyecto. Gracias por haberme abierto las puertas de su laboratorio, por confiar en mí, por compartir sus conocimientos y su pasión por las amibas tecadas. ¡¡¡ La quiero mucho!!!

A los miembros del comité revisor: Dra. María del Rosario Sánchez Rodríguez, Dra. Elvia Manuela Gallegos Neyra, Dra. Itzel Sigala Regalado, a la M. en C. María de los Ángeles Sanabria Espinoza y al Biol, José Ángel Lara Vázquez, por su disposición y tiempo al leer mi trabajo de tesis, por sus observaciones, sugerencias y correcciones a este.

A la técnico del Servicio Académico de Microscopia Electrónica del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la UNAM, la M. en C. Laura Elena Gómez Lizárraga, por su amabilidad, paciencia y ayuda en la toma de fotografías, por ayudarme a lograr obtener mejores fotografías, ya que sin su ayuda este trabajo no hubiese sido concluido y a quien logre compartir el gusto por las amibas tecadas. ¡Muchas gracias!

Al Dr. Alfonso Lugo Vázquez, por el apoyo y orientación otorgada en los análisis estadísticos.

Al profesor Pedro Gonzales Julián, por su apoyo brindado a lo largo de mi carrera, por su disposición y tiempo para revisar este trabajo de tesis, sus observaciones y sugerencias. ¡¡Muchas gracias profe!!

A los Biólogos; Armando Daniel Corona Arzola y María Jimena Mendoza Romero, porque desde mi llegada al laboratorio me recibieron con una gran sonrisa y amabilidad, gracias por el apoyo brindado en todo el trabajo de laboratorio.

A la Dra. Itzel Sigala, por la ayuda en la identificación de las especies observadas.

A la Biologa Mariela Esquivel Solis, por las muestras y fotografías otorgadas para la realización de este trabajo.

## *Agradecimientos a título personal*

A mi padre; por apoyarme siempre en mis decisiones, por el gran sacrificio que ha hecho por sustentarme, por ser una gran hombre, por ser mi ejemplo de fortaleza y sentirte orgulloso de mis logros, pero sobre todo gracias por tu amor y cariño incondicional. ¡¡Te amo Papá ¡!

A mi madre; por enseñarme a luchar por mis sueños y a esforzarme en ser mejor cada día y alentarme siempre para superarme y ser mejor persona cada día. ¡¡Te amo Má!!

A mi amigo-hermano Jonathan, por ser mi pañuelo de lágrimas en las situaciones más difíciles, por creer en mí, cuando hasta yo dude de lograr concluir este trabajo, gracias por el apoyo brindado.¡¡ Te quiero mucho mi Pepe Grillo!!

A Ale; por esas conversaciones tan divertidas y escucharme cuando más lo necesito, por esas charlas tan divertidas. ¡¡Te quiero!!

A mi amiga de toda la vida Luz Adriana y a su hermosa familia, por las historias vividas durante todos estos años, los consejos y los momentos divertidos que pasamos juntas, gracias por siempre estar ahí en las buenas y las malas. ¡¡Te quiero chaparrita!!

A Aketzalli; mi compañera de toda la carrera, gracias por todo, siempre recordare esos momentos divertidos. ¡¡Te quiero mucho!!

A Karina, a pesar de tu carácter, eres buena onda, siempre es divertido convivir contigo. ¡¡Te quiero mucho!!

A Diana, gracias amiga por tus palabras de aliento, porque a la distancia seguimos manteniendo esa comunicación. ¡Te quiero amiga y siempre contarás conmigo!!

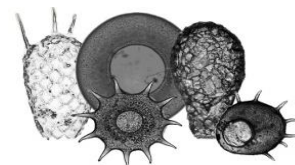
A Aldo por siempre escucharme, aguantar mis problemas, gracias por tus consejos, por siempre estar ahí cuando más lo necesito. ¡¡Te quiero!!

A mi amiga Ana Karen, que a pesar de no estar mucho en comunicación, siempre estuviste ahí para darme un consejo, espero pronto reunirnos y revivir aquellos tiempos en el CCH.

A Ricardo, por ser un gran compañero y amigo de entrenamiento, de quien aprendí que con constancia y disciplina se pueden lograr todo lo que uno se propone. ¡¡Gracias Richard!!

A Irma y a su hermosa familia, por recibirme siempre con una sonrisa, por brindarme esa palabra de aliento en los momentos más difíciles. ¡¡Gracias por todo!!

A todos y cada uno de los integrantes del Laboratorio de Investigación en Patógenos Emergentes, de la UIICSE, que coincidieron conmigo en tiempo y espacio: Army, Jime, Monse, Keyla, Ivone, Mauricio, Rodrigo, Víctor, Jesús y Cristina, por los momentos divertidos y hacer la estancia en el laboratorio muy amena. ¡¡Los quiero y les deseo el mejor de los éxitos!! Pagina

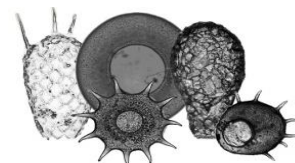


## CONTENIDO

Págs.

CONTENIDO DE FIGURAS .....	5
CONTENIDO DE CUADROS .....	7
I. RESUMEN .....	9
II. INTRODUCCIÓN .....	11
1. Amibas tecadas .....	11
1.1 Características generales de las amibas tecadas .....	11
1.1.2 Taxonomía de las amibas tecadas.....	12
1.1.3 Importancia de las amibas tecadas .....	13
1.1.4 Ecología de las amibas tecadas.....	14
2. Cenotes .....	15
2.1 Importancia de los cenotes .....	15
2.2 Tipos de cenotes .....	16
III. ANTECEDENTES .....	17
IV. JUSTIFICACIÓN .....	20
V. OBJETIVOS.....	20
1. Objetivo general .....	20
2. Objetivos particulares .....	20
VI. ÁREA DE ESTUDIO .....	21
1. Sistema de cenotes T-Zabnáh.....	22
1.1 Ubicación.....	22
1.2 Descripción general.....	22
1.2 Zonas de muestreo.....	23
2. Cenote X-Batún .....	23
2.1 Ubicación.....	23
2.2 Descripción general.....	23
2.3 Zonas de muestreo.....	24
3. Cenote D-Zombakal .....	25
3.1 Ubicación.....	25
3.2 Descripción general.....	25
3.3 Zonas de muestreo.....	26
VII. MATERIAL Y MÉTODOS.....	27

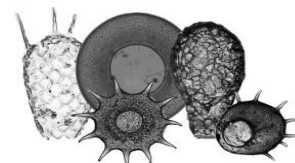




1. Trabajo en campo .....	27
1.1 Recolecta de las muestras.....	27
1.2 Registro "in situ" de factores fisicoquimicos del agua .....	27
2. Trabajo en laboratorio .....	28
2.1 Cultivo de amibas tecadas .....	28
2.2 Fijación, conteo y aislamiento de las amibas tecadas.....	29
2.3 Identificación taxonómica de las amibas tecadas .....	29
2.3.1 Microscopia de luz por contraste de fases .....	29
2.3.2 Microscopia electrónica de barrido .....	30
2.4 Análisis estadísticos.....	31
VIII. RESULTADOS .....	32
1. Descripción y registro fotomicrográfico de las especies de amibas tecadas encontradas en cenotes del estado de Yucatán.....	33
2. Posición taxonómica de las especies de amibas tecadas registradas .....	63
3. Sistema de cenotes T-Zabnáh.....	65
3.1 Riqueza especifica de amibas tecadas registradas en el sistema de cenotes T-Zabnáh.....	65
3.2 Parámetros fisicoquímicos del agua registrados en el sistema de cenotes T-Zabnáh.....	67
4. Cenote X-Batún .....	68
4.1 Riqueza especifica de amibas tecadas registradas en el cenote X-Batún .....	68
4.2 Parámetros fisicoquímicos del agua registrados en el cenote X-Batún.....	71
5. Cenote D-Zombakal .....	72
5.1 Riqueza especifica de amibas tecadas registradas en el cenote D-Zombakal.....	72
5.1 Parámetros fisicoquímicos del agua registrados en el cenote D-Zombakal .....	72
6. Análisis estadísticos.....	73
6.1. Índice de similitud de Bray-Curtis .....	73
6.2 Análisis de componentes principales .....	76
6.2 Análisis de correspondencia sin tendencia .....	78
IX DISCUSIÓN .....	80
1. Sistema de cenotes T-Zabnáh.....	80
2. Cenote X-Batún .....	81
3. Cenote D-Zombakal .....	82
4. Parámetros fisicoquímicos del agua .....	83
5. Análisis estadísticos.....	83

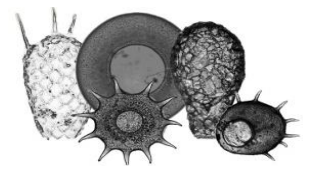






5.1 Índice de similitud de Bray-Curtis .....	83
5.2 Análisis de componentes principales.....	84
5.3 Análisis de correspondencia sin tendencia .....	85
IX. CONCLUSIONES .....	86
X. LITERATURA CITADA.....	88
XI. ANEXOS .....	96
Anexo 1. Soluciones e infusiones para medios de cultivo.....	96
Anexo 2. Abreviaturas utilizadas.....	102





## CONTENIDO DE FIGURAS

Figura 1. Foto donde se muestran los componentes morfológicos de una amiba tecada .....	11
Figura 2. Fotos de amibas tecadas, donde se observan los diferentes tipos de teca: Teca xenógena, con minerales, características del género <i>Diffflugia</i> (a); teca autogénica de origen proteínica, característica del género <i>Arcella</i> (b).....	12
Figura 3. Árbol filogenético de los Eukarya, donde se muestran los tres linajes de amibas tecadas (negritas) incluidas en los clados Amoebozoa y SAR .....	13
Figura 4. Tipos de cenotes.....	16
Figura 5. Localización geográfica del estado de Yucatán en la República Mexicana .....	21
Figura 6. Estado de Yucatán, señalando la localidad de Tecoh, donde se localiza el sistema de cenotes T-Zabnáh .....	22
Figura 7. Esquema del interior del sistema de cenotes T-Zabnáh, Tecoh.....	22
Figura 8. Ubicación del cenote X-Batún .....	23
Figura 9. Cenote X-Batún .....	24
Figura 10. Representación del cenote X-Batún, puntos de recolecta .....	24
Figura 11. Vista aérea, donde se muestra la ubicación del Cenote D-Zombakal .....	25
Figura 12. Cenote D-Zombakal.....	25
Figura 13. Representación del cenote D-Zombakal, numeración de las zonas donde se midieron los parámetros fisicoquímicos del agua .....	26
Figura 14. Observación de las amibas tecadas por microscopia de luz por contraste de fases .....	30
Figura 15. Esquema de la especie <i>Arcella discoides</i> y fotografía tomada con microscopia de luz por contraste de fases.....	34
Figura 16. Esquema de <i>Arcella megastoma</i> y fotografía tomada con microscopia de luz por contraste de fases.....	35
Figura 17. <i>Arcella megastoma</i> , microscopia electrónica de barrido. ....	36
Figura 18. Esquema de la teca de la especie <i>Arcella vulgaris</i> y fotografía tomada con microscopia de luz por contraste de fases .....	37
Figura 19. Esquema de <i>Centropyxis aculeata</i> var. <i>aculeata</i> y fotografía tomada con microscopia de luz por contraste de fases.....	38
Figura 20. <i>Centropyxis aculeata</i> var. <i>aculeata</i> ; microscopia electrónica de barrido. ....	39
Figura 21. Esquema de <i>Centropyxis aculeata</i> var. <i>discoides</i> y fotografía tomada con microscopia de luz por contraste de fases .....	40
Figura 22. <i>Centropyxis aculeata</i> var. <i>discoides</i> , microscopia electrónica de barrido. ....	41
Figura 23. Esquema de <i>Centropyxis constricta</i> var. <i>aerophila</i> y fotografía tomada con microscopia de luz en contraste de fases .....	42
Figura 24. <i>Centropyxis constricta</i> var. <i>aerophila</i> , microscopia electrónica de barrido. ....	43
Figura 25. Esquema de <i>Centropyxis constricta</i> var. <i>spinosa</i> y fotografía tomada con microscopia de luz por contraste de fases .....	44
Figura 26. Esquema de <i>Cyclopyxis eurystoma</i> y fotografía de <i>Cyclopyxis eurystoma</i> , tomada con microscopia de luz por contraste de fases .....	45
Figura 27. <i>Cyclopyxis eurystoma</i> , microscopia electrónica de barrido .....	46
Figura 28. Esquema de <i>Cyclopyxis khali</i> y fotografía tomada con microscopia de luz por contraste de fases .....	47



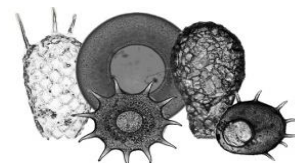


Figura 29. *Cyclopyxis khali*, microscopia electrónica de barrido..... 48

Figura 30. Esquema de *Diffflugia oblonga* var. *oblonga* y fotografía tomada con microscopia de luz por contraste de fases..... 49

Figura 31. *Diffflugia oblonga* var. *oblonga*, microscopia electrónica de barrido..... 50

Figura 32. Esquema de *Euglypha acanthophora* y fotografía tomada con microscopia de luz por contraste de fases ..... 51

Figura 33. Esquema de *Euglypha laevis* y fotografía tomada con microscopia de luz por contraste de fases ..... 52

Figura 34. Esquema de *Euglypha rotunda* y fotografía tomada con microscopia de luz por contraste de fases ..... 53

Figura 35. *Euglypha rotunda*; microscopia electrónica de barrido ..... 54

Figura 36. Esquema de *Paraquadrula irregularis* y fotografía tomada con microscopia por contraste de fases ..... 55

Figura 37. *Paraquadrula irregularis*, microscopia electrónica de barrido ..... 56

Figura 38. Esquema de *Tracheleuglypha dentata* y fotografía tomada con microscopia de luz por contraste de fases ..... 57

Figura 39. *Tracheleuglypha dentata*, microscopia electrónica de barrido. .... 58

Figura 40. Esquema de *Trinema enchelys* y fotografía de *Trinema enchelys*, tomada con microscopia de luz por contraste de fases..... 59

Figura 41. *Trinema enchelys*, microscopia electrónica de barrido ..... 60

Figura 42. Esquema de *Trinema lineare* y fotografía de *Trinema lineare*, tomada en microscopia de luz por contraste de fases ..... 61

Figura 43. *Trinema lineare*, microscopia electrónica de barrido. .... 62

Figura 44. Frecuencia de géneros en las muestras del sistema de cenotes T-Zabnáh. .... 66

Figura 45. Abundancia de especies de amibas tecadas, observadas en las muestras fijadas del sistema de cenotes T-Zabnáh. .... 66

Figura 46. Frecuencia de géneros identificados en las muestras del cenote X-Batún..... 69

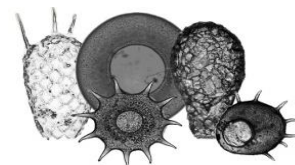
Figura 47. Abundancia de especies de amibas tecadas, observadas en las muestras fijadas del cenote X-Batún. .... 70

Figura 48. Agrupamiento de similitud de Bray-Curtis ..... 75

Figura 49. Análisis de componentes principales ..... 77

Figura 50. Análisis de correspondencia sin tendencia ..... 79

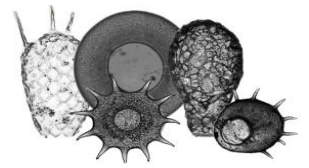




## CONTENIDO DE CUADROS

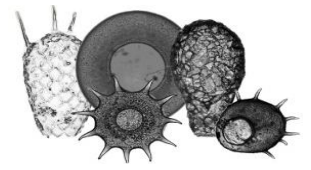
Cuadro 1. Biotopos y zona de muestreo del sistema de cenotes T-Zabnáh, y cenotes X-Batún y D-Zombakal .....	28
Cuadro 2. Taxones de amibas tecadas identificadas en las muestras de los biotopos recolectados en el sistema de cenotes T-Zabnáh y cenote X-Batún. ....	32
Cuadro 3. Promedio de medidas para las tecas de la especie <i>Arcella discoides</i> . ....	34
Cuadro 4. Promedio de medidas para las tecas de <i>Arcella megastoma</i> . ....	35
Cuadro 5. Promedio de medidas para las tecas de la especie <i>Arcella vulgaris</i> . ....	37
Cuadro 6. Promedio de medidas para las tecas de la especie <i>Centropyxis aculeata</i> var. <i>aculeata</i> . ....	38
Cuadro 7. Promedio de medidas para las tecas la especie <i>Centropyxis aculeata</i> var. <i>discoides</i> .....	40
Cuadro 8. Promedio de medidas para las tecas de la especie <i>Centropyxis constricta</i> var. <i>aerophila</i> .....	42
Cuadro 9. Promedio de medidas para las tecas de la especie <i>Centropyxis constricta</i> var. <i>spinosa</i> . ....	44
Cuadro 10. Promedio de medidas para las tecas de la especie <i>Cyclopyxis eurystoma</i> . ....	45
Cuadro 11. Promedio de medidas para las tecas de la especie <i>Cyclopyxis khali</i> . ....	47
Cuadro 12. Promedio de medidas para las tecas de la especie <i>Diffflugia oblonga</i> var. <i>oblonga</i> . ....	49
Cuadro 13. Promedio de medidas de las tecas de la especie <i>Euglypha acanthophora</i> . ....	51
Cuadro 14. Promedio de medidas para las tecas de la especie <i>Euglypha laevis</i> . ....	52
Cuadro 15. Promedio de medidas para las tecas de la especie <i>Euglypha rotunda</i> . ....	53
Cuadro 16. Promedio de medidas para las tecas de la especie <i>Paraquadrula irregularis</i> . ....	55
Cuadro 17. Promedio de medidas para las tecas de la especie <i>Tracheleuglypha dentata</i> . ....	57
Cuadro 18. Promedio de medidas para las tecas de la especie <i>Trinema enchelys</i> . ....	59
Cuadro 19. Promedio de medidas para las tecas de la especie de <i>Trinema lineare</i> . ....	61
Cuadro 20. Taxas de amibas tecadas identificadas en cultivos y muestras fijadas del sistema de cenotes T-Zabnáh.....	65
Cuadro 21 Valores de los parámetros fisicoquímicos del agua, registrados en el sistema de cenotes T-Zabnáh.....	67
Cuadro 22. Taxas de amibas tecadas identificadas en cultivos y muestras fijadas del cenote X-Batún .....	68
Cuadro 23. Valores de los parámetros fisicoquímicos del agua, registrados en el cenote X-Batún. ....	71





Cuadro 24. Valores de los parámetros fisicoquímicos del agua, registrados en el cenote D-Zombakal. ....72



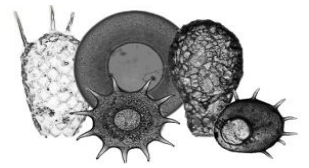


## I. RESUMEN

Las amibas tecadas son protozoos de vida libre que se caracterizan por presentar una cubierta o "teca", son organismos de importancia desde el punto de vista de la ecología y paleoecología, debido a su capacidad de adaptarse a cambios ambientales, confiriéndoles preferencias ecológicas específicas, llegando a ser importantes bioindicadores de sedimentos contaminados en ríos y lagos en todo el mundo. Actualmente el conocimiento que se tiene de estos organismos en cuerpos de agua como los cenotes es escaso, por lo cual el objetivo de este trabajo es contribuir al conocimiento de las amibas tecadas que habitan en diferentes biotopos de cenotes del estado de Yucatán. Los sitios de muestreo fueron: el sistema de cenotes T-Zabnáh, los cenotes X-Batún y D-Zombakal, donde se recolectaron muestras de diferentes biotopos (agua, biopelícula, sedimento y guano), en el caso del cenote D-Zombakal, solo se recolectaron muestras de agua, debido a la ausencia de los demás biotopos. Se registraron *in situ* factores fisicoquímicos del agua (pH, temperatura y conductividad). De las muestras recolectadas, una porción se fijó en etanol al 70 % y otra se ocupó para la realización de cultivos en medios líquidos con solución de Prescott-James, extracto de suelo e infusión de granos, a los medios líquidos se les adiciono una gota de *Enterobacter aerogenes* inactivada por calor. Los cultivos y muestras fijadas fueron revisados bajo microscopia de luz en contraste de fases, en el caso de las muestras fijadas todas las tecas encontradas se contaron y extrajeron con pinceles de cerdas muy finas, se midieron, fotografiaron e identificaron con bibliografía especializada, una vez hecho esto, los ejemplares mejor conservados fueron sometidos a microscopia electrónica de barrido, con el fin de corroborar la identificación realizada.

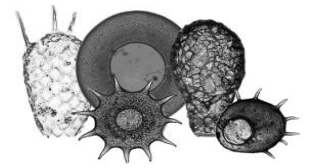
Se identificaron 17 taxones de amibas tecadas, dando 11 nuevos registros de amibas tecadas para estos cuerpos de agua. De los tres sitios de muestreo solo se observó la presencia de amibas tecadas en las muestras del cenote X-Batún y sistemas de cenotes T-Zabnáh. De los cuales la mayor riqueza y abundancia de amibas tecadas fue en el cenote X-Batún (17 taxas), mientras que la menor se registró en el sistema de cenotes T-Zabnáh (diez taxas). Los biotopos que presentaron la mayor riqueza de especies de amibas tecadas fueron; el sedimento (diez taxas) en el sistema de cenotes T-Zabnáh y las biopelículas (17 taxas) en el cenote X-Batún, confirmando que las biopelículas son un importante microhábitat de supervivencia para estos protozoos. En cuanto a los valores fisicoquímicos del agua para los tres sistemas, se encontraron dentro de los adecuados para la proliferación de amibas tecadas. En el análisis de componentes principales, no





se logró observar la relación de algún parámetro fisicoquímico del agua con la abundancia de amibas tecadas. Los géneros *Centropyxis*, *Euglypha* y *Tracheuglypha* fueron los que se presentaron con mayor frecuencia, de los cuales la presencia de especies del genero *Centropyxis* nos puede estar indicando que los cuerpos de agua muestreados en este trabajo pueden estar siendo sometidos a una fuente de estrés ambiental , sin embargo; hacen falta más estudios sobre la ecología de las amibas tecadas en estos cuerpos de agua, así como medir otros factores fisicoquímicos en agua y sedimentos, lo cual podría explicar porque en sitios donde las condiciones son idóneas para su reproducción, estas no lograron observarse.



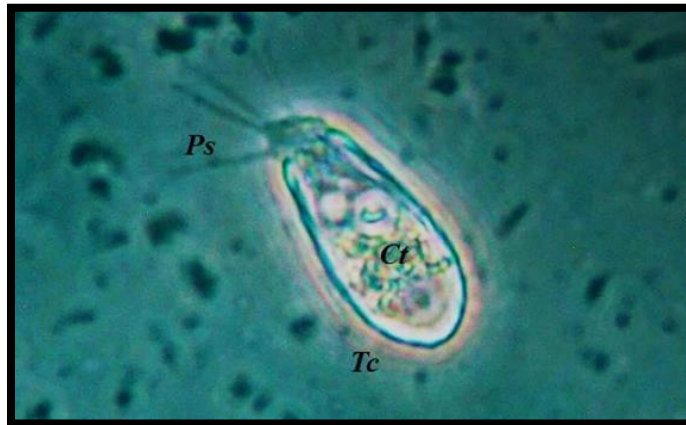


## II. INTRODUCCIÓN

### 1. Amibas tecadas

#### 1.1 Características generales de las amibas tecadas

Las amibas tecadas (AT) son un grupo de protozoos de vida libre, que se caracterizan por poseer una estructura extracelular llamada "teca" o "testa", que encierra al citoplasma y les sirve como protección, esta estructura posee una apertura conocida también como pseudostoma, por la cual se proyectan los pseudópodos que sirven para la alimentación y locomoción de estos organismos (Fig. 1) (Charman, 2001; Gallegos-Neyra *et al.*, 2014).

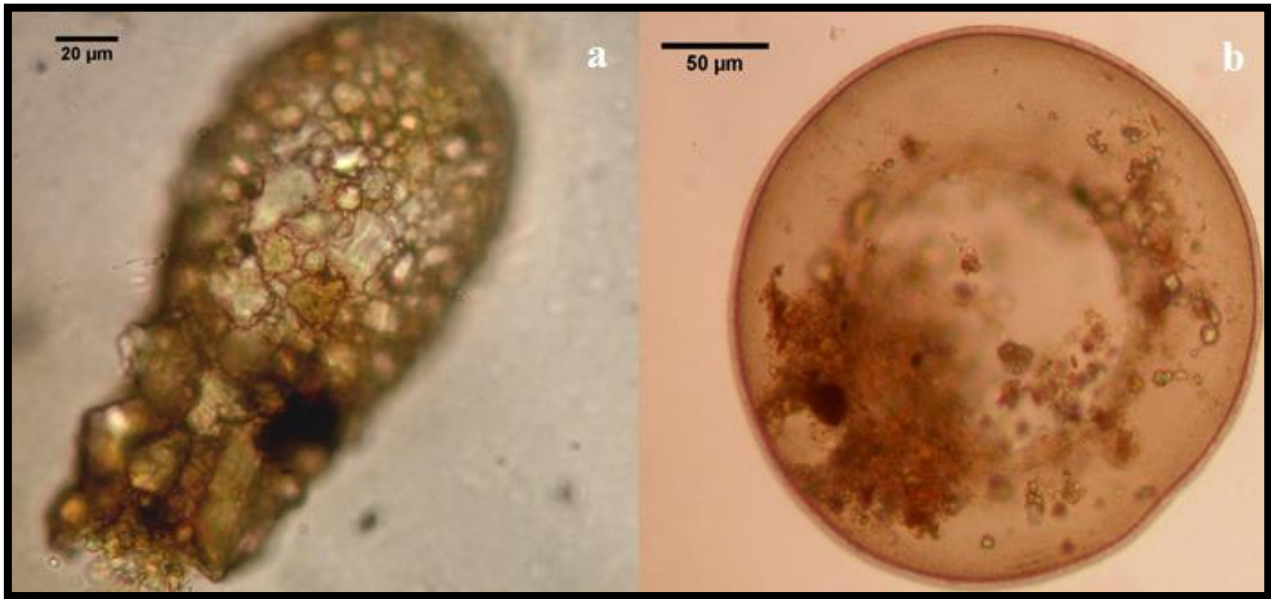
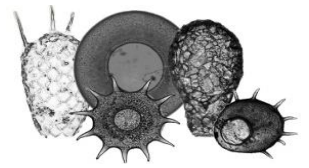


**Figura 1.** Foto donde se muestran los componentes morfológicos de una amiba tecada; pseudópodo (*Ps*); citoplasma (*Ct*); teca (*Tc*). Fotografía tomada por la autora, García, 2018.

La teca varía en cuanto a composición forma y tamaño, siendo esta el principal criterio para su identificación taxonómica (Bonnet, 1975), dependiendo de la especie la teca llega a medir de 20-400µm (Charman *et al.*, 2000). En cuanto a su composición, existen tecas "autogénicas" como es el caso de especies del género *Arcella* o *Euglypha*, que son secretadas por el propio organismo siendo de origen proteico, silíceo o calcáreo. Las tecas "xenogénicas", se forman de partículas capturadas del ambiente "xenosomas", por ejemplo las del género *Diffugia*, que presentan una aglutinación de partículas derivadas del entorno ya sean pequeños granos de sílice, sedimento o frústulas de diatomeas; unidas mediante un cemento secretado por el mismo organismo (Fig. 2) (Ogden y Hedley, 1980; Medioli *et al.*, 1988; Charman *et al.*, 2000).







**Figura 2.** Fotos de amibas tecadas, donde se observan los diferentes tipos de teca: Teca xenógena, con minerales, características del género *Diffflugia* (a); teca autógena de origen proteínica, característica del género *Arcella* (b). Fotografías tomadas por la autora. García, 2018.

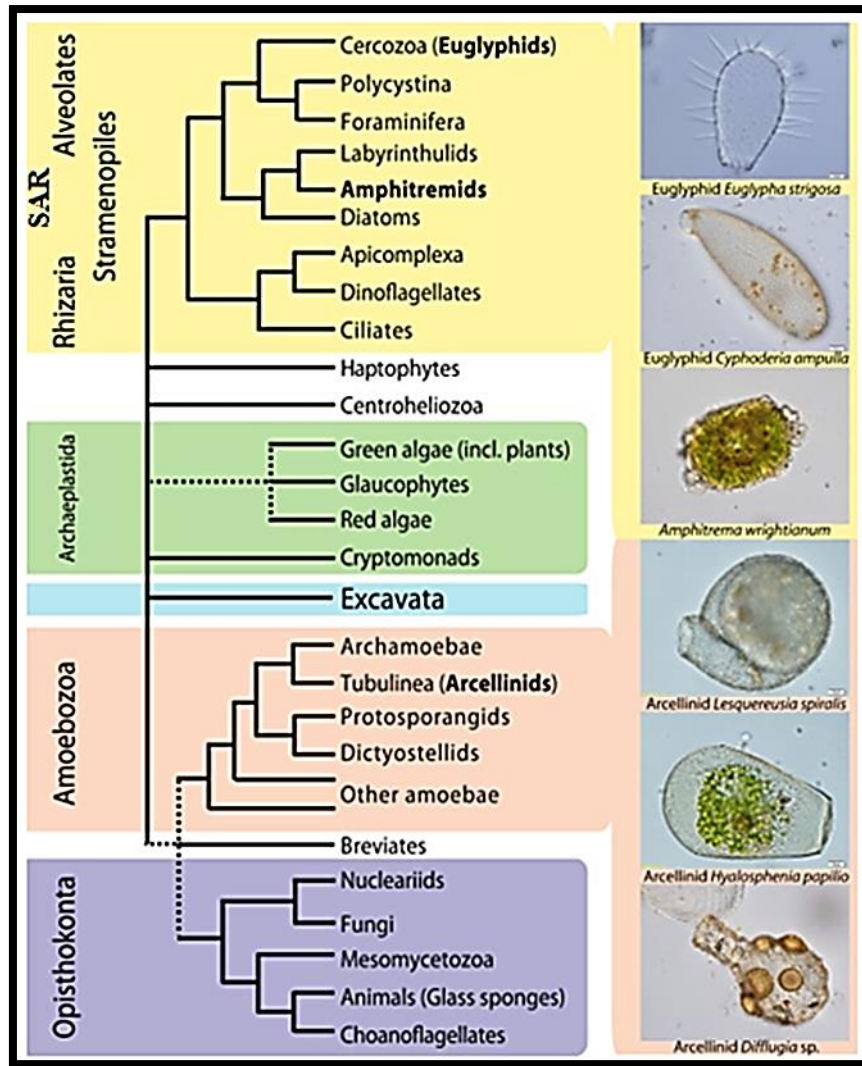
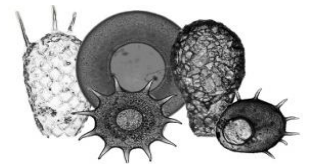
### 1.1.1 Biología de las amibas tecadas

Estos organismos se alimentan de bacterias, hifas de hongos, esporas y levaduras, algas y otros protistas (Medioli y Scott, 1988; Krashevskaya *et al.*, 2008). Su reproducción es asexual principalmente por fisión binaria, pero se ha documentado la reproducción sexual en raras ocasiones (Schönborn y Peschke, 1990; Mignot y Raikov, 1992; Charman, 2001). Las tasas de reproducción son rápidas, de diez a 27 generaciones por año, en condiciones de laboratorio se registran tasas más altas en un tiempo de dos a tres días (Charman, 2001).

### 1.1.2 Taxonomía de las amibas tecadas

De acuerdo a la clasificación de Adl y cols (2012), las amibas tecadas se ubican en dos super grupos Amoebozoa y SAR (Stramenopiles + Alveolata + Rhizaria). Dentro del supergrupo Amoebozoa las encontramos en el grupo Arcellinida y en el super grupo SAR, en el grupo Euglyphida, esto basado en filogenias realizadas con rRNA, incorporando la taxonomía tradicional basada en la morfología de los organismos (Fig. 3).



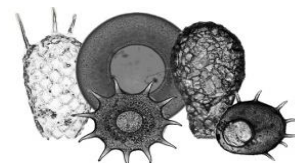


**Figura 3.** Árbol filogenético de los Eukarya, donde se muestran los tres linajes de amibas tecadas (negritas) incluidas en los clados Amoebozoa y SAR (Tomado de Kosakyan *et al.*, 2016).

### 1.1.3 Importancia de las amibas tecadas

En los últimos años las amebas tecadas han demostrado ser indicadores útiles de eutrofización, contaminación y acidificación de las aguas y sedimentos de lagos, esto derivado de impactos antropogénicos (Patterson; 1985; Medioli y Scott 1988; Qin *et al.*, 2007; Escobar *et al.*, 2008; Nassert *et al.*, 2016), también han sido empleadas como monitores de la variabilidad ambiental (Lamentowicz *et al.*, 2011), del pH y de la profundidad de las turberas (Charman *et al.*, 2000; Swindles *et al.*, 2009), indicadores de metales pesados en suelos de turbas (Asada y Warner, 2008) cambios en el uso de suelo (Patterson *et al.*, 2002), gradientes de salinidad en





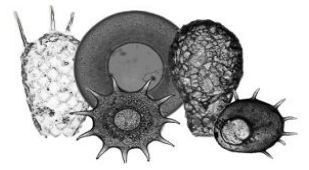
cuerpos de agua (van Hengstum *et al.*, 2008), investigaciones forenses (Swindles y Ruffell, 2009) y su actual uso como indicadores paleoambientales (Payne *et al.*, 2008; Muller *et al.*, 2009). Además de su importancia ecológica al formar parte de la cadena trófica del suelo, ya que las amibas tecadas tienen un papel importante en la biomineralización del sílice y el nitrógeno en los suelos, además de regular a las poblaciones microbianas (Aoki *et al.*, 2007; Tsyganov *et al.*, 2017).

#### 1.1.4 Ecología de las amibas tecadas

Las amibas tecadas se distribuyen generalmente en una gran variedad de ambientes terrestres y acuáticos; desde depósitos de humedales, manantiales, embalses, cascadas, ríos, cenotes, musgos, depósitos de turbas y son frecuentes en los suelos con un alto contenido orgánico (Medioli y Scott, 1988; Charman, 2001; Müller *et al.*, 2008; van Hengstum *et al.*, 2008; Sigala *et al.*, 2016). La riqueza, distribución e incluso variación morfológica de algunas especies ha sido atribuida a las condiciones ambientales, tales como el contenido de humedad, ya que se ha observado que en ambientes con agua abundante y permanente se llegan a observar tecas grandes, mientras que en ambientes con baja disponibilidad de agua o secos, se encuentran tecas pequeñas (Alves *et al.*, 2011), otros factores que influyen en su distribución pueden ser el pH, temperatura, oxígeno, luz, alimento y composición del suelo (Jauhiainen, 2002).

En la república mexicana, hasta hace algunos años solo se conocía la distribución de estos organismos en hábitats terrestres (Golemansky, 1967; Bonnet, 1997; Bobrov y Krasilnikov, 2011), en la actualidad la investigación en ecosistemas lacustres ha ido incrementando (van Hengstum *et al.*, 2008; van Hengstum *et al.*, 2009; Sigala *et al.*, 2016), generando nuevos aportes sobre la distribución de estos organismos en México, los avances en la tecnología de buceo, han permitido la documentación de los cenotes y la fauna de las cuevas (Sánchez *et al.*, 2002), dando nuevos inventarios en: zooplancton, macrocrustáceos y peces; sin embargo, se sabe relativamente poco acerca de la composición de grupos de la microfauna como los son las amibas tecadas en estos cuerpos de agua tan importantes como son los cenotes.





## 2. Cenotes

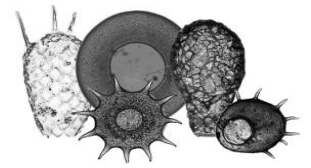
El término cenote proviene del maya "tz-onot", que significa "abismo o pozo" (Eggerbrecht *et al.*, 2001) y denota cualquier espacio subterráneo con agua, con la única condición de que éste abierto al exterior en algún grado, en palabras simples incluye toda manifestación kárstica que alcance el nivel freático (Gaona-Vizcaíno *et al.*, 1985; Beddows *et al.*, 2002).

En México los cenotes se ubican principalmente hacia el norte de la península de Yucatán, la cual es una plataforma calcárea que se originó en la era Cenozoica (Schmitter-Soto *et al.*, 2002) y que posee una geohidrología que difiere de otras regiones de México, ya que sus suelos son de naturaleza kárstica, conformados por calizas, yesos altamente solubles y dolomitas de alta permeabilidad, ocasionando la presencia de fallas, fracturas y cavidades de disolución que dan lugar a una compleja red de corrientes subterráneas interconectadas, dichas corrientes disuelven las calizas superficiales, dando lugar a una gran variedad de cuerpos de agua como son los cenotes (Ruiz, 2010). No se sabe aún el número exacto de cenotes presentes en la península de Yucatán, esto debido a su proceso de formación, pero se estima que aproximadamente existen más de 10,000 cenotes, en muchos de estos, aún se desconoce su ubicación geográfica exacta (Gerard, 2000).

### 2.1 Importancia de los cenotes

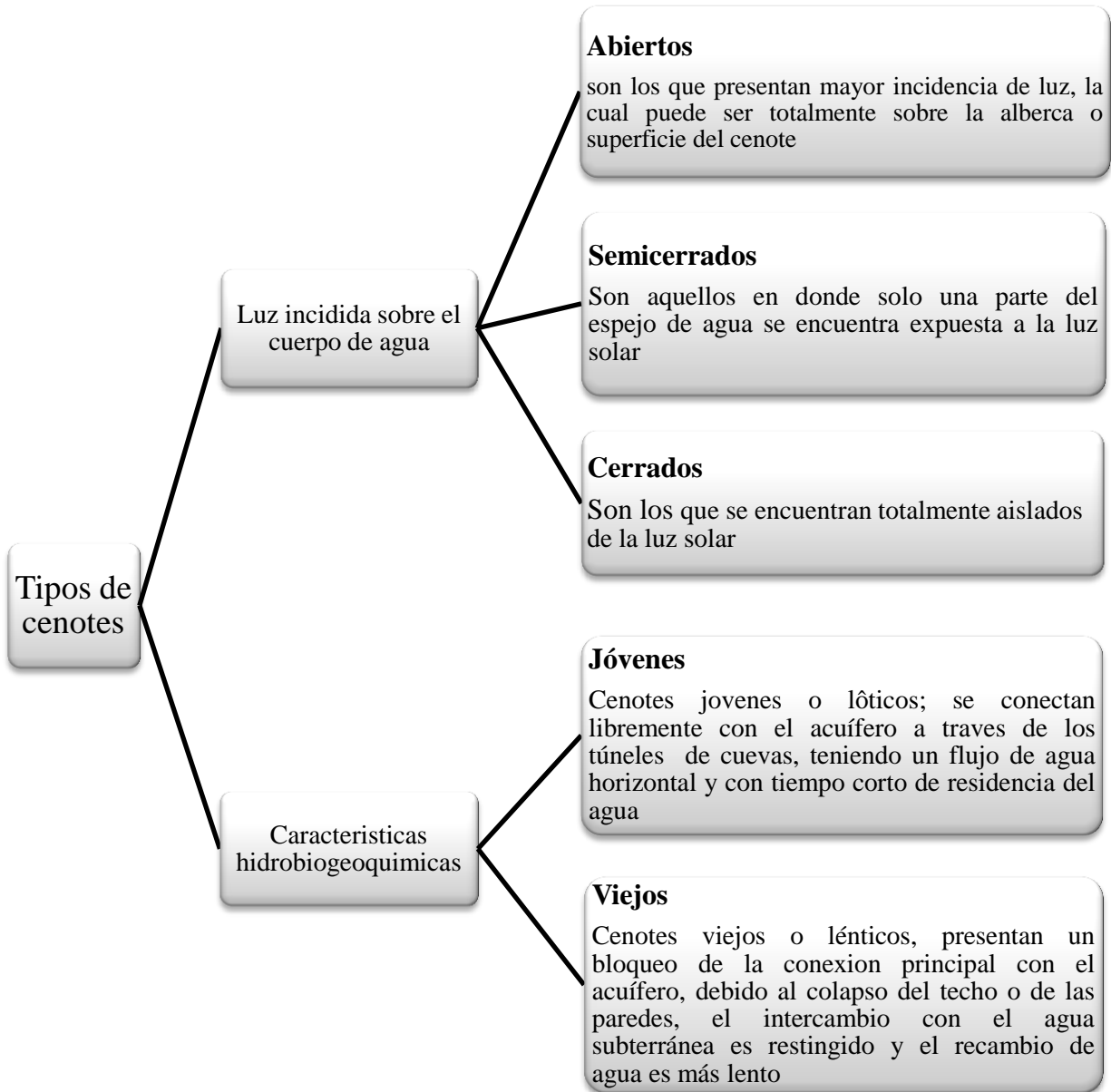
Actualmente el agua de los cenotes se aprovechan de diferentes maneras, por ejemplo; sirven para la extracción de agua para uso doméstico, son lugares con fines turísticos y en algunos casos como lugares de depósito de desechos (aguas de drenajes de comunidades aledañas). Dejando de lado la aportación sociocultural que estos sistemas ofrecen, los cenotes albergan una biota muy diversa, el estudio de estos sistemas ha dado una gran cantidad de inventarios florísticos y faunísticos sobre los organismos que habitan en ellos; sin embargo, estudios recientes sobre la microfauna acuática de los cenotes abarcan grupos variados cuyas características permiten vislumbrar una riqueza biológica aún desconocida y nos muestra que aún hay mucho que estudiar sobre la microfauna de estos sistemas (Aguilar, 2003).





## 2.2 Tipos de cenotes

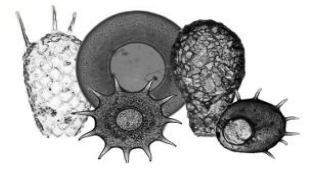
Dependiendo del área de investigación desde el que se estudien los cenotes, se encuentran distintas formas de clasificación para ellos. Se pueden clasificar por la cantidad de luz que incida sobre el cuerpo de agua o por sus características hidrobiogeoquímicas (Schmitter-Soto *et al.*, 2002) y también clasificarse con base en su geomorfología (Fig.4).



**Figura 4.** Tipos de cenotes (Schmitter-Soto *et al.*, 2002).





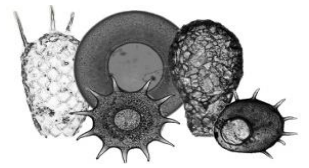


### III. ANTECEDENTES

Hasta hace algunos años el estudio de las amibas tecadas se resumía aproximadamente a 3.000 publicaciones en todo el mundo (Medioli *et al.*, 2003), en la actualidad la investigación de las amibas tecadas ha ido tomando relevancia debido a su gran utilidad en los estudios de monitoreo ambiental, paleoecología, ciencias forenses y de ecotoxicología (Kosakyan *et al.*, 2016). Entre los principales estudios de amibas tecadas en cuerpos de agua en el mundo, se encuentran:

- Mattheeussen y cols, en 2005, identificaron 74 taxones de amibas tecadas en diferentes sustratos de 31 sitios acuáticos en Qeqertarsuaq (Oeste-Groenlandia), donde la mayoría de los taxones pertenecían a los géneros *Diffflugia*, *Euglypha* y *Centropyxis*.
- Escobar y cols. en 2008, identificaron 17 especies y 28 variedades de amibas tecadas, en 57 muestras de lagos superficiales de 35 lagos de Florida, encontrando una alta diversidad de amibas tecadas en lagos mesotróficos y eutróficos, observando que el contenido de materia orgánica en el sedimento, resulto ser el parámetro ambiental que influyo en la presencia/ausencia de amibas tecadas, y que la alcalinidad y pH son parámetros fisicoquímicos de la columna de agua que más influyeron en la abundancia relativa de las especies de amibas tecadas.
- Roe y cols. en 2009, identificaron 23 especies de amibas tecadas en muestras de sedimentos superficiales de 21 lagos y estanques en el área metropolitana de Toronto, mostrando que especies como *Centropyxis aculeata* var. *discoides* y *Centropyxis aculeata* var. *aculeata* son especies capaces de resistir una variedad de ambientes lacustres hostiles, así mismo, *Cucurbitella tricuspis* es abundante en lagos eutróficos y estanques, demostrando que las amibas tecadas tienen un potencial considerable como indicadores de la calidad del agua en los entornos de lagos urbanos y agrícolas.
- Patterson y cols. en 2015, identificaron diez especies de amibas tecadas en sedimentos de núcleos del lago Quistococha, siendo el género *Centropyxis* el que presentó mayor cantidad de especies, atribuyendo la baja diversidad de amibas tecadas a factores como pH bajo en el lago y la escases de material mineralógico adecuado en el sustrato para construir tecas.



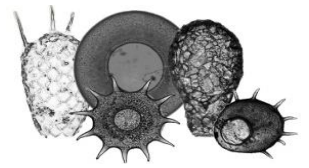


Existen pocas investigaciones de amibas tecadas en México, ya que la mayoría de ellas han sido realizadas en hábitats terrestres, siendo muy escasos los trabajos realizados en cuerpos de agua, de los cuales solo dos han sido estudios relacionados con amibas tecadas en sistemas salobres como son los cenotes.

Entre los autores que han contribuido a enriquecer el conocimiento en México sobre las amibas tecadas, se encuentran:

- Golemansky en 1967, registro 33 especies de amibas tecadas, en musgos del Desierto de los Leones (Ciudad de México) y varias localidades de Oaxaca, donde las especies más frecuentes fueron; *Microchlamys patella*, *Arcella arenaria* y *Diffflugia lucida*, indicando que las amibas tecadas están estrechamente ligadas con los musgos en los que habitan.
- Bonnet en 1997, realizó un trabajo sobre amibas tecadas de América Central y del Caribe, formando una lista de amebas tecadas observadas en suelo mexicano.
- Aladro y cols en 2007, registraron 11 especies de amibas tecadas, en diversos sitios de los estanques de la Cantera Oriente, Ciudad Universitaria, siendo las especies: *Arcella gibbosa*, *Diffflugia lobostoma* y *Diffflugia lanceolata* nuevos registros para México.
- Sigala en 2008, registro la presencia de ocho géneros de amibas tecadas en cinco biotopos de la cueva de los riscos en Querétaro, México, presentando nuevos registros en cuevas y a nivel mundial en México.
- van Hengstum y cols. en 2008, identificaron nueve especies de amibas tecadas en sedimentos de tres cenotes del estado de Yucatán, México, reportando a *Centropyxis constricta* var. *aerophila* como la especie más tolerante a los gradientes de salinidad en estos cuerpos de agua, determinando que las amibas tecadas dentro de estos cuerpos de agua responden al igual que los foraminíferos a un gradiente de salinidad.
- van Hengstum y cols. en 2010, identificaron siete especies de amibas tecadas en sedimentos de la cueva de Aktún Ha en Yucatán, los cuales abarcaban los últimos 4200 años de la cueva, siendo este el primer estudio paleoambiental en el país con amibas tecadas.

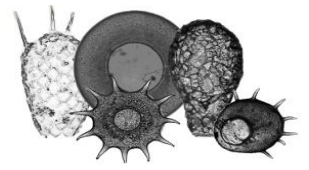




- Bobrov y Krasilnikov en 2011, identificaron 68 taxones de amibas tecadas en suelos de los bosques de pino en Michoacán.
- Flores en 2012, registro siete especies de amibas tecadas en un manantial y una caída de agua del Estado de México, registrando por primera vez en un hábitat dulceacuícola, la especie *Centropyxis aculeata*, y los géneros *Diffflugia* sp. y *Euglypha* sp.
- Sigala y cols. en 2016, identificaron 41 taxas de amibas tecadas, en sedimentos de 29 lagos tropicales del centro de México. Registrando 12 especies y 13 variedades que no estaban reportadas previamente en México.







## IV. JUSTIFICACIÓN

Las amibas tecadas son de gran importancia ecológica y paleoambiental, no solo por ser bioindicadores de lagos y turberas, sino que son reconocidas como depredadores superiores microbianos del suelo. Actualmente los estudios relacionados con amibas tecadas se han realizado en países tanto del hemisferio norte y sur, sin embargo, en México son escasos los trabajos sobre la ecología y distribución de amibas tecadas en cuerpos de agua tan importantes como son los cenotes. El presente estudio pretende contribuir al conocimiento de la diversidad, distribución y ecología de las amibas tecadas en cuerpos de agua tan importantes como son los cenotes, para poder incentivar el desarrollo de más estudios de este tipo y poder mejorar el conocimiento y conservación la riqueza biológica de estos ambientes.

## V. OBJETIVOS

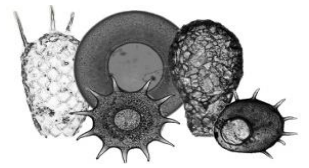
### 1. Objetivo general

- Contribuir al conocimiento de amibas tecadas de diferentes biotopos en cenotes del estado de Yucatán.

### 2. Objetivos particulares

- Aislar y cultivar amibas tecadas a partir de muestras recolectadas de agua, sedimento y biopelículas de los cenotes X-Batún, D-Zombakal y sistema de cenotes T-Zabnáh.
- Identificar taxonómicamente y crear un registro micro-fotográfico de las amibas tecadas presentes en los biotopos muestreados.
- Determinar y comparar la riqueza específica de amibas tecadas obtenida por biotopo y por cenote en los diferentes sitios de muestreo.
- Explicar la distribución de amibas tecadas con base a los factores fisicoquímicos del agua (temperatura, conductividad y pH), registrados en los cenotes X-Batún, D-Zombakal y sistema de cenotes T-Zabnáh.





## VI. ÁREA DE ESTUDIO

El presente estudio se realizó en el estado de Yucatán, ubicado en la "Península de Yucatán" (Fig. 5) (19.66° y 21.61° Norte; 87.50° y 90.43° Oeste) la cual contiene uno de los acuíferos de karst más grandes y extensos del planeta, posee una extensión aproximada de 300,000 km<sup>2</sup> abarcando territorios de México, Guatemala y Belice (Schmitter-Soto *et al.*, 2002). El clima es tropical húmedo y con temperatura media de 25 °C, la mayor parte del estado está cubierta de vegetación de tipo selva baja caducifolia, los meses más cálidos son julio y agosto, los más fríos diciembre y enero. La temporada de secas es en los meses de noviembre a abril, temporada de vientos de marzo a mayo y temporada de lluvias de mayo a octubre (Beddows, 2007),

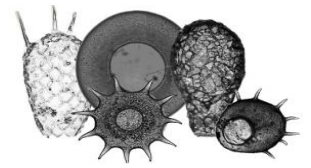


**Figura 5.** Localización geográfica del estado de Yucatán en la República Mexicana (resaltado en negro).

En este trabajo los cenotes seleccionados para este estudio fueron; cenote X-Batún, cenote D-Zombakal y el sistema de cenotes T-Zabnáh, los cuales se encuentran ubicados en el estado de Yucatán.

La siguiente información fue tomada de la página electrónica de la Secretaria de Desarrollo Urbano y Medio Ambiente (SEDUMA) (2012) y complementada con el estudio realizado por Esquivel (2018),





## 1. Sistema de cenotes T-Zabnáh

### 1.1 Ubicación

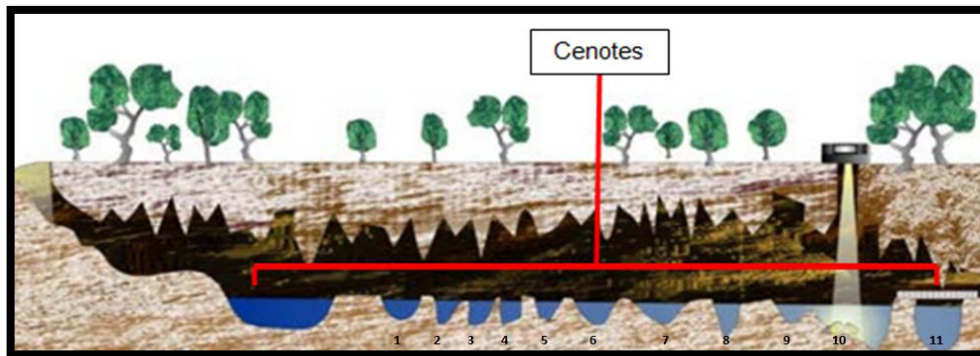
El sistema de cenotes T-Zabnáh se encuentra ubicado a 40 Km de la ciudad de Mérida, en la localidad de Tecoh, con las siguientes coordenadas geográficas: Latitud 20°43'49.6" Longitud 89°28'28.5 (SEDUMA, 2012a) (Fig. 6).



**Figura 6.** Estado de Yucatán, señalando la localidad de Tecoh, donde se localiza el sistema de cenotes T-Zabnáh (b) (Google Earth, 2018).

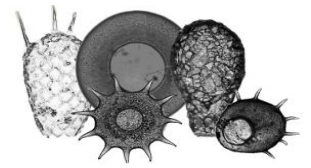
### 1.2 Descripción general

El sistema de cenotes T-Zabnáh, se conforma por una gruta que se originó hace millones de años, por el efecto de la filtración de agua de lluvia en la tierra, la cual ocasiono el colapso del techo de la gruta. La gruta cuenta con 13 cenotes en su interior de tipo cerrado, para ingresar a ellos se tiene que descender 17 metros bajo tierra. Todos los cenotes dentro de esta gruta tienen ausencia de luz, menos el décimo ya que tienen una abertura en el techo (Fig. 7) (SEDUMA, 2012a).



**Figura 7.** Esquema del interior del sistema de cenotes T-Zabnáh, Tecoh, donde se muestra la Numeración utilizada en el muestreo (SEDUMA, 2012a); Esquivel, 2018).





## 1.2 Zonas de muestreo

El sistema T-Zabnáh, cuenta con 13 cenotes, los cuales al momento de ser muestreados fueron numerados de modo distinto al que le asignan los administradores del lugar, ya que dos de ellos fueron imposibles de muestrear, debido a obstrucción física y profundidad, el muestreo en este sistema se realizó con ayuda de la espeleóloga de la Escuela Nacional de Antropología e Historia, Natalia Quintanilla y el guía Manuel García (Esquivel, 2018), en total fueron 12 zonas de muestreo como se puede observar en la figura 7.

## 2. Cenote X-Batún

### 2.1 Ubicación

El cenote X-Batún se localiza a 49 km de la ciudad de Mérida, en la localidad de San Antonio Mulix (Fig. 8), en las coordenadas geográficas: Latitud 20°40'39.1", Longitud 89°46'37.4" (SEDUMA, 2012b).



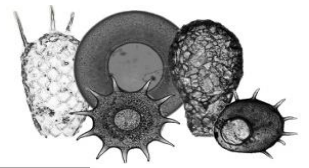
**Figura 8.** Ubicación del cenote X-Batún, San Antonio Mulix (Google Earth, 2018).

### 2.2 Descripción general

El cenote X-Batún tiene una entrada con paredes verticales y es de tipo abierto, cuenta con una entrada de luz directa y tiene gran diversidad de flora y fauna (Fig. 9<sup>a</sup>), en este cenote las raíces de árboles que están en la parte superior tocan el agua, también tiene una zona con vegetación y suelo "negro", donde hay gran cantidad de plantas y despiden un olor azufroso. El color del agua es azul y mide 5 m de largo por 25 m de ancho, con una profundidad máxima de 20 m (SEDUMA, 2012b) (Fig. 9b).







**Figura 9.** Cenote X-Batún (a) y (b) (Cortesía de Esquivel, 2018).

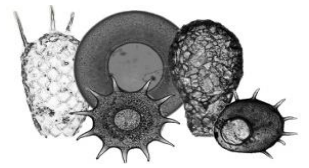
### 2.3 Zonas de muestreo

Al poseer una superficie muy extensa, el cenote X-Batún se dividió en cuatro zonas con el fin de obtener una mayor área de muestreo, las zonas seleccionadas para este, se tomaron con base en el color del sedimento, el cual era diferente en dichas zonas, la zona de muestreo numero cinco, corresponde a una biopelícula de madera.



**Figura 10.** Representación del cenote X-Batún, puntos de recolecta indicados con números (a); fotografía de la zona 5 del muestreo en el cenote X-Batún, madera con biopelícula (b) (Fotografía de Esquivel, 2018).





### 3. Cenote D-Zombakal

#### 3.1 Ubicación

El cenote D-Zombakal se localiza a 49 km de la ciudad de Mérida, en el municipio de San Antonio Mulix, cercano al cenote X-Batún (Fig. 11), en las coordenadas geográficas: Latitud 20°40'11.5", Longitud 89°46'42.8".



**Figura 11.** Vista aérea, donde se muestra la ubicación del Cenote D-Zombakal, San Antonio Mulix, Yucatán (Google Earth, 2018).

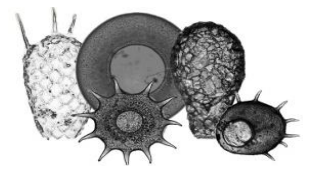
#### 3.2 Descripción general

El cenote es semiabierto con caída libre, el agua es cristalina y en las partes más profundas adquiere un color azul, tiene una profundidad mínima de 0.30 m y máxima de 30 m. En este cuerpo de agua la luz da parcialmente a ciertas horas del día, hay raíces colgantes, pero estas no tocan el cuerpo de agua (SEDUMA, 2012c) (Fig.12).



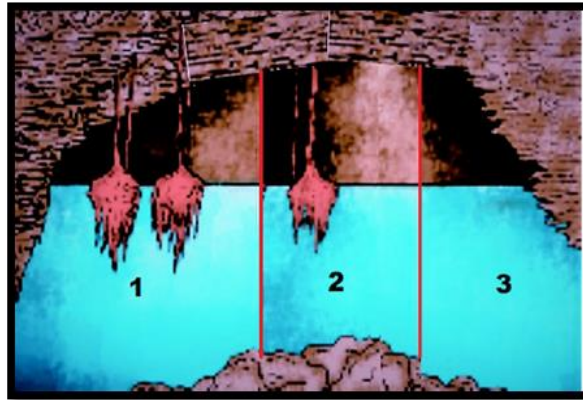
**Figura 12.** Cenote D-Zombakal (Cortesía de Esquivel, 2018).





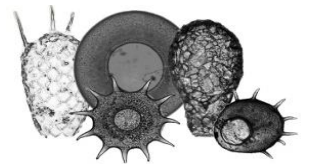
### 3.3 Zonas de muestreo

En el caso del cenote D-Zombakal, se dividió en 20 zonas de muestreo ya que al igual que el cenote X-Batún, contaba con una superficie muy extensa, solo se observo el biotopo agua, en zonas con sedimento menos profundo, el cual era imposible de raspar o recolectar ya que era demasiado compacto, el biotopo biopelícula no estuvo presente en este cenote por lo cual no fue posible recolectarlo (Fig. 13).



**Figura 13.** Representación del cenote D-Zombakal, numeración de las zonas donde se midieron los parámetros fisicoquímicos del agua (Fotografía de Esquivel, 2018).





## VII. MATERIAL Y MÉTODOS

### 1. Trabajo en campo

El muestreo se realizó del 23 al 24 de enero del 2016, por la Bióloga Mariela Esquivel Solís, en el sistema de cenotes T-Zabnáh (municipio de Tecoh) y los cenotes X-Batún y D-Zombakal (los dos últimos ubicados en la localidad de San Antonio Mulix), en la península de Yucatán, México.

#### 1.1 Recolecta de las muestras

En cada localidad de muestreo se recolectaron muestras de diferentes tipos de biotopos, los cuales fueron: agua, sedimento y biopelículas. Las muestras de sedimento y biopelícula se recolectaron en tubos de centrífuga estériles de 50 ml y las muestras de agua se recolectaron en frascos de 500 ml estériles, se procuró obtener muestras de todos los biotopos, sin embargo, no fue posible hacerlo en todos los sitios de muestreo, debido a la ausencia del biotopo.

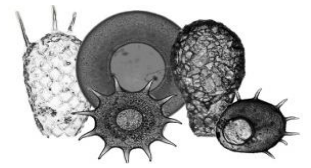
Los biotopos recolectados en el sistema de cenotes T-Zabnáh y los cenotes X-Batún y D-Zombakal, se muestran en el Cuadro 1. En el caso del sistema de cenotes T-Zabnáh, debido a que los frascos de recolecta se agotaron, las muestras 11 y 12 (M1 y M2) fueron combinaciones de agua y sedimento, la muestra 12 se tomó de una charca entre los últimos cenotes, siendo solo recolectados biotopos de agua y sedimento (CHM), por ultimo las muestras 13 y 14 fueron muestras de guano (Esquivel com.pers. 2017).

#### 1.2 Registro "in situ" de factores fisicoquímicos del agua

Con el fin de comprobar si los parámetros fisicoquímicos del agua tienen relación con la presencia de amibas tecadas, se realizó la medición de los siguientes factores: temperatura (°C), pH y conductividad (mS/cm). Los cuales fueron medidos con un tester digital HANNA modelo HI 98129.







**Cuadro 1.** Biotopos y zona de muestreo del sistema de cenotes T-Zabnáh, y cenotes X-Batún y D-Zombakal (Esquivel com.pers. 2018)

T-Zabnáh		X-Batún		D-Zombakal	
Zona de muestreo	Biotopo	Zona de muestreo	Biotopo	Zona de muestreo	Biotopo
C-1	A S Bp	Z-1	A S B	Z-1	A
C-2	A S			Z-2	A
C-3	A S			Z-3	A
C-4	A S B	Z-2	A S B	Z-4	A
C-5	A			Z-5	A
C-6	A S B			Z-6	A
C-7	A S	Z-3	A S B	Z-7	A
C-8	A S			Z-8	A
C-9	A S B			Z-9	A
C-10	A	Z-4	A S B	Z-10	A
C-11	(A+B) (S+A+B)			Z-11	A
CH 12	(S+A)			Z-12	A
M13	G	Z-5	B	Z-13	A
M14	G			Z-14-20	A

Simbología: agua (A); biopelícula (BP); cenote (C); charca de agua (CH); guano (G); muestra (M); sedimento (S) y zona (Z).

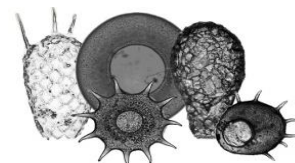
## 2. Trabajo en laboratorio

Las muestras fueron llevadas al Laboratorio de Investigación en Patógenos Emergentes de la Unidad de Investigación Interdisciplinaria para las Ciencias de la Salud y la Educación (UIICSE) de la FES-Iztacala, UNAM, donde fueron almacenadas a temperatura ambiente para su procesamiento.

### 2.1 Cultivo de amibas tecadas

Para la elaboración de los cultivos, a partir de las muestras originales de los diferentes biotopos se tomaron 15 ml de cada una de ellas para ser concentradas por centrifugación a 2,500 Xg, durante 10 min. Se desechó el sobrenadante y posteriormente la pastilla se sembró en cajas para cultivo celular de seis pozos con solución Prescott-James (la cual ha sido utilizada para





cultivos de amibas tecadas) (Volkova y Smirnov, 2016), extracto de suelo e infusión de granos (arroz, maíz y trigo) (Ogden y Meisterfeld, 1991), a los medios líquidos se les adicionó una gota de *Enterobacter aerogenes* inactivada por calor (65-70 °C durante 30 min), la cual sirve de fuente de carbono para que las amibas puedan desarrollarse, posteriormente las muestras se almacenaron a temperatura ambiente.

## 2.2 Fijación, conteo y aislamiento de las amibas tecadas.

De las muestras originales de los diferentes biotopos recolectados en el muestreo del sistema de cenotes T-Zabnáh, cenote X-Batún y cenote D-Zombakal, se tomaron 2 cm<sup>3</sup> para ser fijados en etanol al 70 %. Se realizaron el conteo de todos los organismos observados en 2 cm<sup>3</sup>, en una placa de Petri bajo un microscopio invertido de contraste de fases a diferentes aumentos 10, 20 y 40X (Nikon Eclipse TS100) (Sigala *et al.*, 2016).

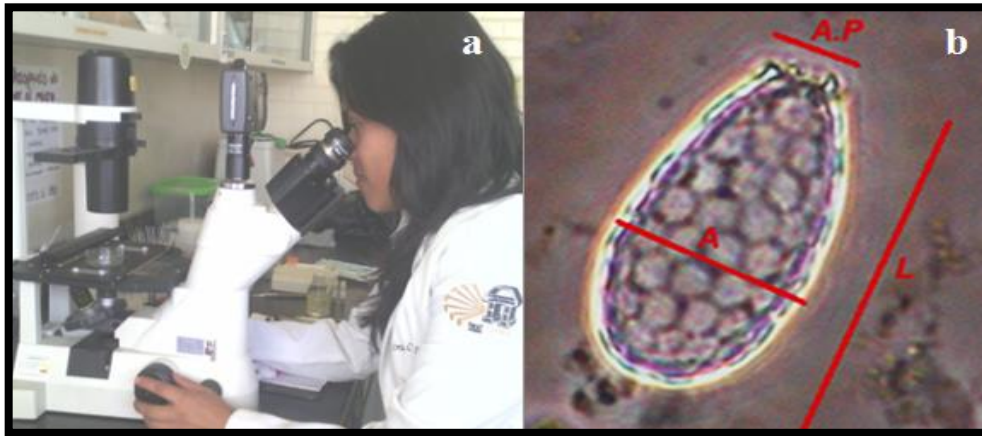
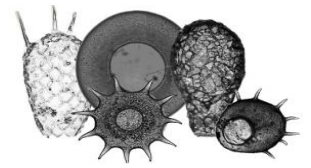
## 2.3 Identificación taxonómica de las amibas tecadas

La identificación taxonómica de las amibas tecadas se realizó mediante las claves taxonómicas de Decloitre (1962), Ogden y Hedley (1980), Kumar y Dalby (1998), Sigala y cols. (2016) y Siemensma (2017). Para realizar la identificación taxonómica de las especies de amibas tecadas, se realizaron dos técnicas diferentes de microscopia, las cuales se describen a continuación.

### 2.3.1 Microscopia de luz por contraste de fases

Los ejemplares de amibas tecadas fueron observados y contabilizados por medio de microscopia de luz por contraste de fases (Fig. 14a), fueron extraídos de las muestras utilizando pinceles finos (Ellison y Ogden, 1987; Sigala, 2017), para ser colocados cada uno de ellos en un portaobjeto con glicerina, esto con el fin de facilitar la toma de microfotografías con vista lateral, ventral y dorsal, así como también para poder registrar los datos morfométricos como: largo, ancho y apertura de la teca, en el caso de ejemplares con espinas se tomó la longitud de una de ellas, esto con ayuda de un ocular reticulado (Fig.14b). De todo lo anterior se realizó un registro microfotográfico con una cámara fotográfica Nikon (Coolpix 990).





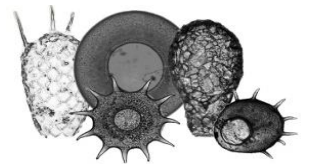
**Figura 14.** Observación de las amibas tecadas por microscopia de luz por contraste de fases (a); regiones de la teca medidas: apertura del pseudostoma (AP), largo de la teca (L) y ancho de la teca (A) (b).

### 2.3.2 Microscopia electrónica de barrido

Con el fin de corroborar la identificación taxonómica descrita, se efectuó microscopia electrónica de barrido (MEB) de los ejemplares mejor conservados de cada especie, usando un microscopio JEOL JSM6360LV, lo anterior fue realizado en el Departamento de Servicio Académico de Microscopía Electrónica de Barrido (SAMEB), en las instalaciones del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la UNAM, con ayuda de la técnico M en C. Laura Gómez Lizárraga.

Los organismos fueron montados con pinceles finos en cubreobjetos circulares, para posteriormente ser procesados para MEB, para el caso de los taxones pequeños, como los pertenecientes a los géneros: *Euglypha*, *Paraquadrulla*, *Tracheleuglypha* y *Trinema*, los especímenes fueron obtenidos apartir de nuestras directas y de cultivos, se concentraron por centrifugación y posteriormente fueron lavados con cloro al 5.25 %, esto con el fin de disolver la materia orgánica que los cubre (Gómez com.pers.2018) y así facilitar la observación de estructuras que son necesarias para la identificación correcta de estos organismos, como lo son las placas y dentaciones que rodean la apertura oral te la teca.



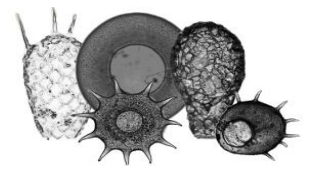


## 2.4 Análisis estadísticos

Utilizando el paquete estadístico PAST (ver. 3.6, 2015), se realizó un análisis de similitud de los sitios de estudio considerando la abundancia de los taxones de amibas tecadas, empleando el índice de Bray-Curtis, el cual es utilizado normalmente para caracterizar los grupos estadísticamente similares (Rocha *et al.*, 2011), dicho análisis se utilizó con el fin de observar que muestras eran iguales entre sí o parecidas según las especies de amibas tecadas que se encontraron en cada grupo formado, el dendograma obtenido se construyó con el método de agrupamiento UPGMA.

Posteriormente, con el fin de ver qué factores fisicoquímicos del agua tenían influencia sobre la distribución de amibas tecadas, se realizó un análisis de componentes principales (PCA) y por último, se realizó un análisis de correspondencia sin tendencia (DCA por sus siglas en inglés), esta técnica multivariada simplifica la información y permite visualizar la relación de especies con variables ambientales mediante un diagrama (Correa *et al.*, 2014), utilizando el paquete estadístico PAST (ver. 3.6, 2015). Los datos seleccionados para este análisis fueron de las muestras que presentaron una abundancia mínima de 50 tecas, número que ha sido referido como suficiente para la caracterización de la comunidad de amibas tecadas (Payne y Mitchell, 2008).





## VIII. RESULTADOS

De las 105 muestras revisadas (71 muestras fijadas y 75 en cultivos) de los diferentes biotopos recolectados, solo se observó la presencia de amibas tecadas en las muestras del sistema de cenotes T-Zabná y el cenote X-Batún, en donde se lograron identificar 17 taxones de amibas tecadas, cinco identificadas hasta nivel de variedad, 15 especies distribuidas en ocho géneros: *Arcella*, *Centropyxis*, *Cyclopyxis*, *Diffflugia*, *Euglypha*, *Paraquadrula*, *Tracheleuglypha* y *Trinema*. Siendo los géneros *Centropyxis* y *Euglypha*, los que presentaron un número mayor de especies, como se observa en el Cuadro 2.

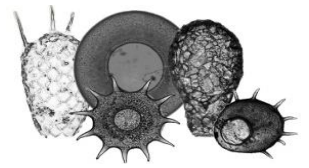
De las 17 taxas identificadas, se generaron 11 nuevos registros de amibas tecadas para estos sistemas salobres del estado de Yucatán: *Arcella discoides*, *Arcella megastoma*, *Cyclopyxis khali*, *Cyclopyxis eurytoma*, *Euglypha acanthophora*, *Euglypha laevis*, *Euglypha rotunda*, *Paraquadrula irregularis*, *Tracheleuglypha dentata*, *Trinema lineare* y *Trinema enchelys* (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Taxones de amibas tecadas identificadas en las muestras de los biotopos recolectados en el sistema de cenotes T-Zabná y cenote X-Batún.

Familias	Géneros	Especies
Arcellidae	<i>Arcella</i>	<i>Arcella discoides</i>
		<i>Arcella megastoma</i> *
		<i>Arcella vulgaris</i> *
Centropyxidae	<i>Centropyxis</i>	<i>Centropyxis aculeata</i> var. <i>aculeata</i>
		<i>Centropyxis aculeata</i> var. <i>discoides</i>
		<i>Centropyxis constricta</i> var. <i>aerophila</i>
		<i>Centropyxis constricta</i> var. <i>spinosa</i>
Difflogiidae	<i>Diffflugia</i>	<i>Diffflugia oblonga</i> var. <i>oblonga</i>
	<i>Euglypha</i>	<i>Euglypha acanthophora</i> *
Euglyphidae		<i>Euglypha laevis</i> *
		<i>Euglypha rotunda</i> *
	<i>Tracheleuglypha</i>	<i>Tracheleuglypha dentata</i> *
Paraquadrulidae	<i>Paraquadrula</i>	<i>Paraquadrula irregularis</i> *
Trigonopyxidae	<i>Cyclopyxis</i>	<i>Cyclopyxis eurytoma</i> *
		<i>Cyclopyxis khali</i> *
Trinematidae	<i>Trinema</i>	<i>Trinema enchelys</i> *
		<i>Trinema lineare</i> *

Nota: Especies que se identificaron como nuevos registros en Yucatán (\*).



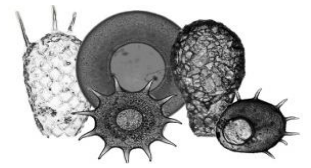


## 1. Descripción y registro fotomicrográfico de las especies de amibas tecadas encontradas en cenotes del estado de Yucatán

La identificación de las amibas tecadas observadas en las muestra de diferentes biotopos del sistema de cenotes T-Zbanáh y cenote X-Batún, se realizó en base a la morfología de la teca observada en cada organismo.

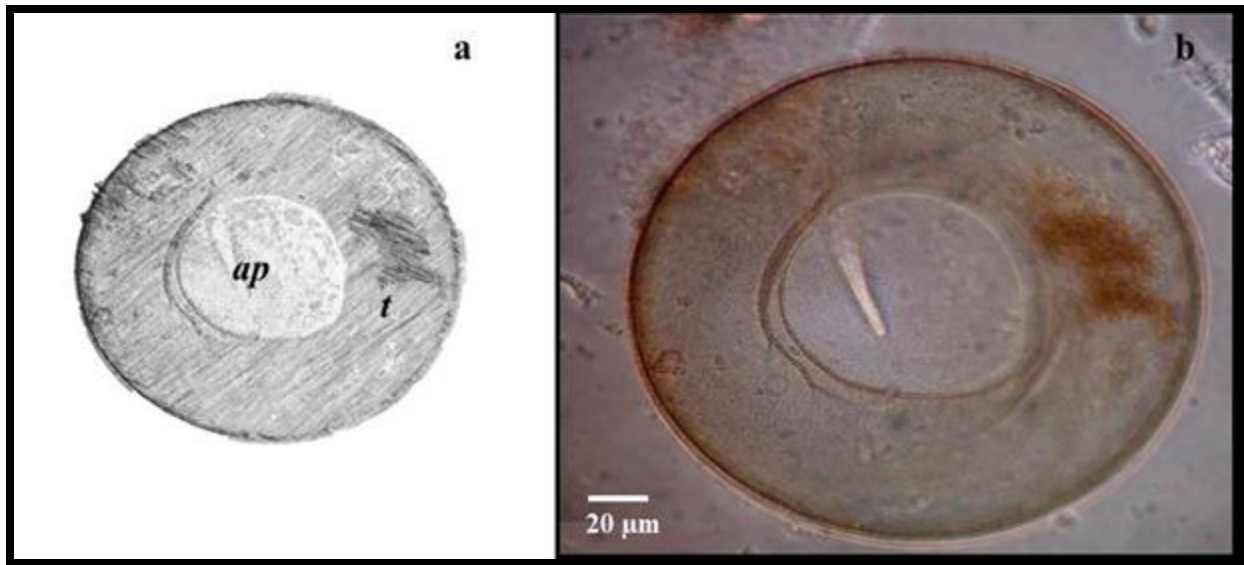
A continuación se muestra el registro fotográfico realizado de las 17 diferentes taxas de amibas tecadas, observadas en este trabajo, así como la descripción morfología de la teca, la cual fue observada por medio de microscopia de luz por contraste de fases y microscopia electrónica de barrido, además se incluye un promedio de medidas registradas de cada una de las especies identificadas.





## 1.2 *Arcella discoides* Ehrenberg, 1843

Amiba con teca autógena de forma circular en vista ventral, se observa de color amarillo claro o marrón. Posee una apertura (o pseudostoma) invaginada en la región central de la teca, la superficie de la misma es lisa, a mayor aumento se alcanzan a observar numerosos poros que conforman la teca (Fig. 15). Los ejemplares observados midieron entre los 100-190  $\mu\text{m}$  de diámetro (Cuadro 3).



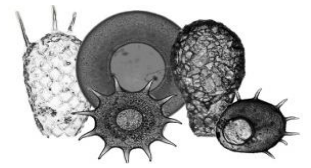
**Figura 15.** Esquema de la especie *Arcella discoides*; apertura (*ap*); teca (*t*) (a); vista ventral, fotografía tomada con microscopía de luz por contraste de fases 200X (b).

**Cuadro 3.** Promedio de medidas para las tecas de la especie *Arcella discoides*.

Nº de organismos medidos	Diámetro de la teca ( $\mu\text{m}$ )	Diámetro de la apertura ( $\mu\text{m}$ )
4	190	83

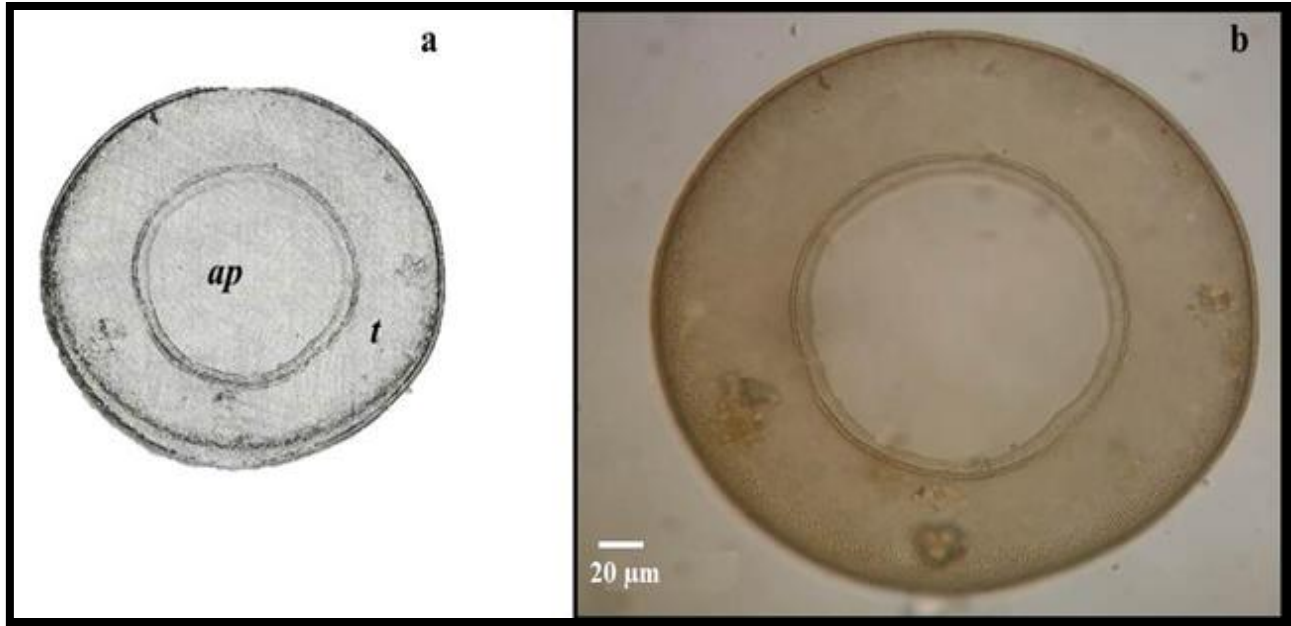






### 1.3 *Arcella megastoma* Penard, 1902

Amiba con teca autógena, de forma circular en vista ventral, posee una coloración marrón (Figs. 16 y 17). Esta especie suele confundirse con *Arcella discoides*, sin embargo *Arcella megastoma* presenta un mayor diámetro de la apertura, localizada en la región central de la teca con un pequeño labio y está rodeada de pequeños poros (Figs. 17c y d). Los ejemplares observados presentaron un diámetro  $200 \mu\text{m} >$  (Cuadro 4).



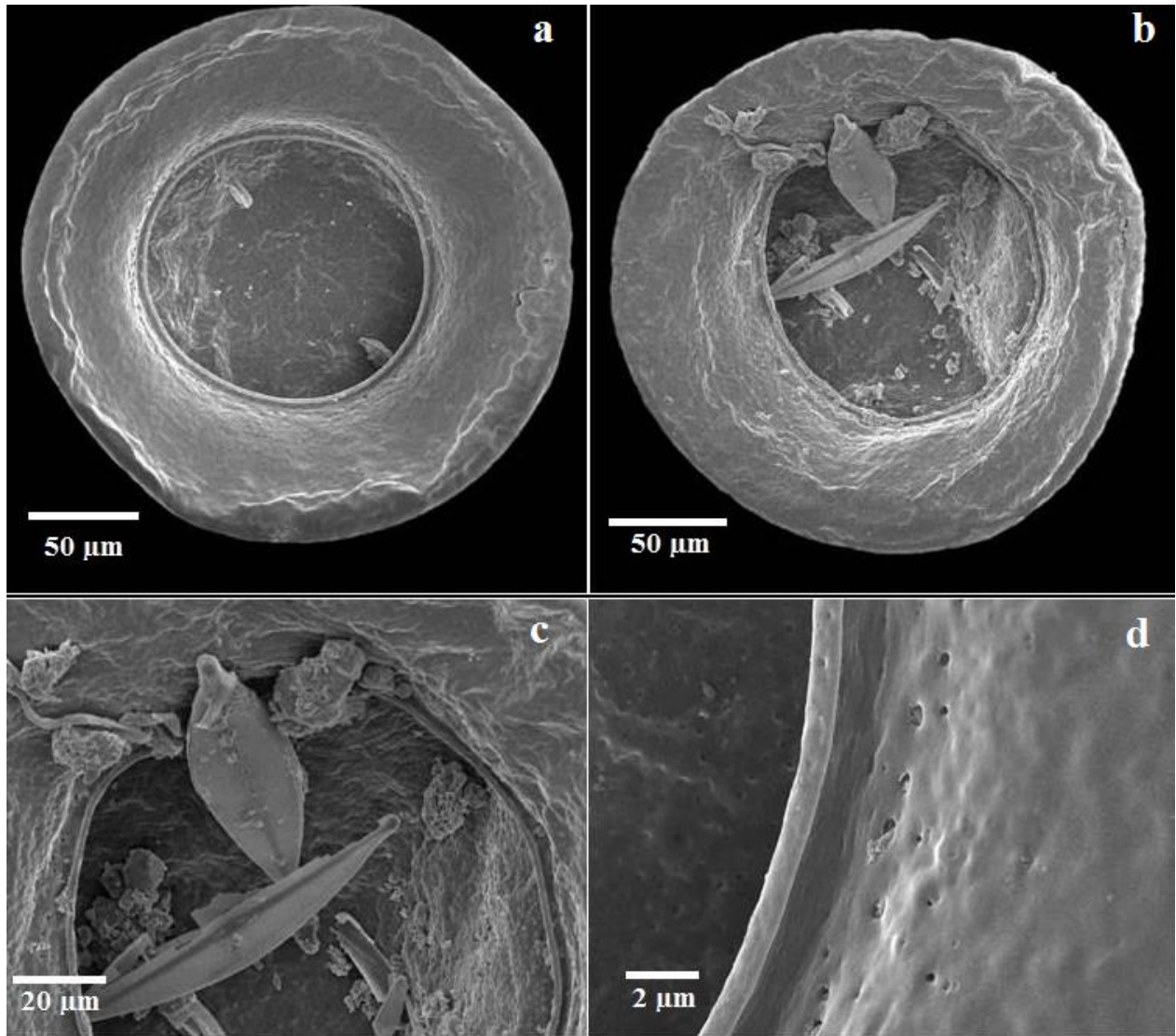
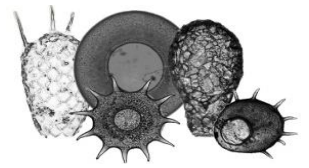
**Figura 16.** Esquema de *Arcella megastoma*; apertura (*ap*); teca (*t*) (a); vista ventral, fotografía tomada con microscopía de luz por contraste de fases 200X (b).

**Cuadro 4.** Promedio de medidas para las tecas de *Arcella megastoma*.

Nº de organismos medidos	Diámetro de la teca ( $\mu\text{m}$ )	Diámetro de la apertura ( $\mu\text{m}$ )
12	257	126

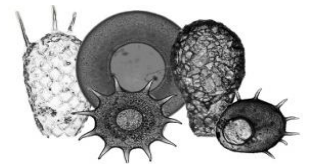






**Figura 17.** *Arcella megastoma*, microscopia electrónica de barrido; vista ventral 330X (a) y (b); acercamiento al pseudostoma donde se observan los poros en la teca y el labio que rodea al pseudostoma 800X (c) y 3,300X (d).





### 1.1 *Arcella vulgaris* Ehrenberg, 1830

Amiba con teca autógena de forma circular, de color amarillo claro o marrón, presenta una apertura invaginada de forma circular, situada en el centro de la teca, la apertura de la teca posee un labio pequeño y está rodeada por unos poros grandes (Fig. 18). Los ejemplares observados tuvieron un diámetro de 100-105  $\mu\text{m}$  (Cuadro 5).

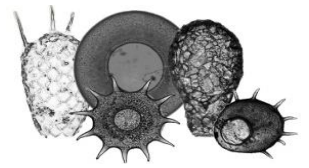


**Figura 18.** Esquema de la teca de la especie *Arcella vulgaris*: apertura (*ap*); poro (*p*) (a); vista ventral, fotografía tomada con microscopía de luz por contraste de fases 400X (b).

**Cuadro 5.** Promedio de medidas para las tecas de la especie *Arcella vulgaris*.

Nº de organismos medidos	Diámetro de la teca ( $\mu\text{m}$ )	Diámetro de la apertura ( $\mu\text{m}$ )
4	105	20





### 1.4 *Centropyxis aculeata* Ehrenberg, 1832 var. *aculeata*

Amiba con teca xenógena, de forma circular u ovoide, presenta una coloración que va desde amarillo a café (Fig. 19). En vista lateral se observa esférica y con una ligera depresión que va hacia la apertura. Presencia de dos o más espinas en los laterales de la testa (Fig. 20). Los organismos observados presentan un diámetro entre los 100-220  $\mu\text{m}$  (Cuadro 6). La apertura de la teca es invaginada y localizada en la región subterminal. La teca se observa cubierta por gránulos minerales y frústulas de diatomeas entre otros tipo de materia orgánica (Figs. 20f y g).

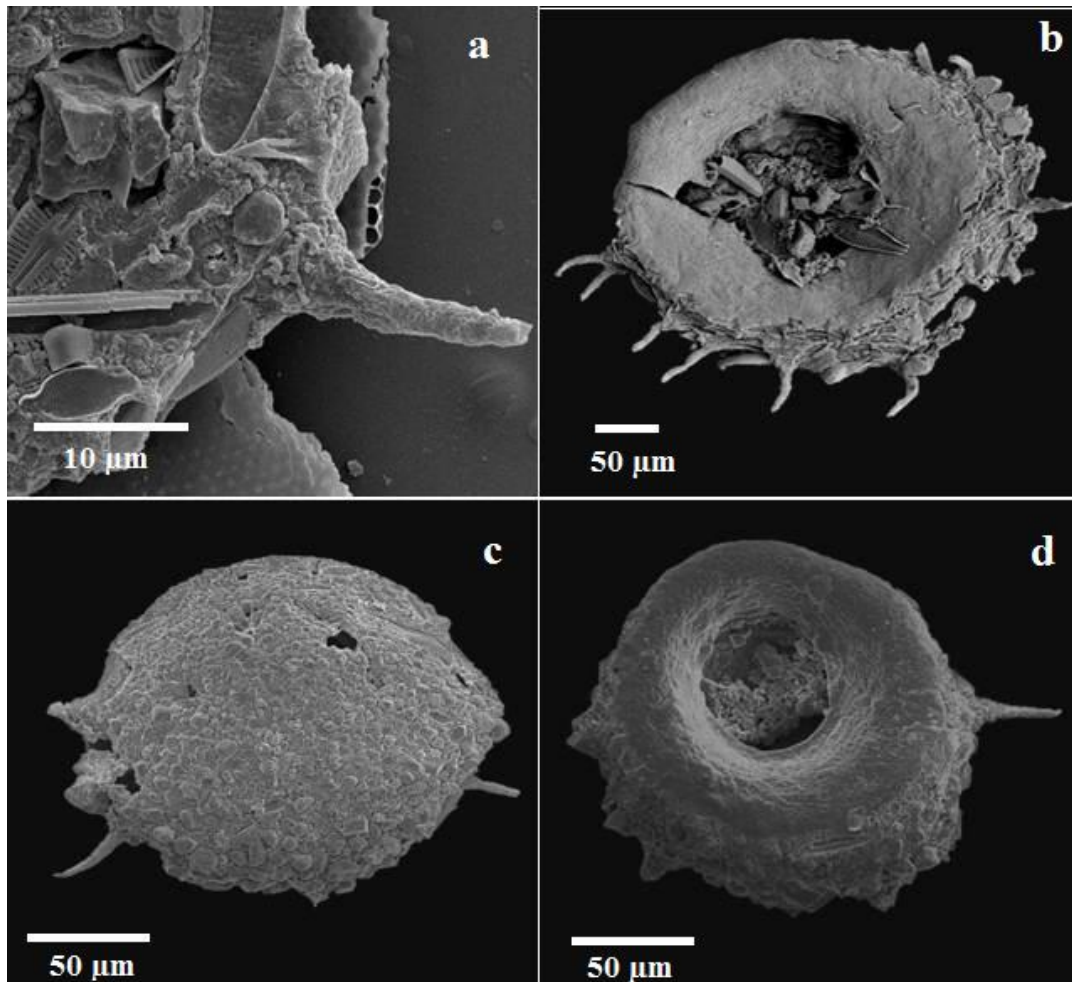
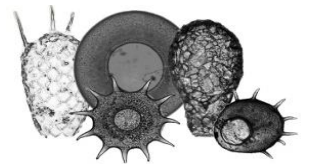


**Figura 19.** Esquema de *Centropyxis aculeata* var. *aculeata*; apertura (*ap*); teca (*t*); espina (*es*) (a); vista ventral, fotografía tomada con microscopia de luz por contraste de fases 100X (b).

**Cuadro 6.** Promedio de medidas para las tecas de la especie *Centropyxis aculeata* var. *aculeata*.

Nº de organismos medidos	Diámetro de la teca ( $\mu\text{m}$ )	Apertura de la teca ( $\mu\text{m}$ )	Longitud de la espina ( $\mu\text{m}$ )
50	150.17	54.51	22.60

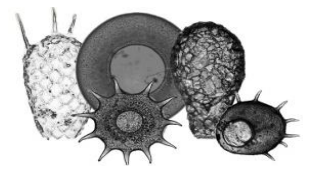




**Figura 20.** *Centropyxis aculeata* var. *aculeata*; microscopia electrónica de barrido: acercamiento a la espina y a la superficie de la teca, donde se observa las diferentes frústulas de diatomeas que la conforman 430X (a); vista ventral 430X (b); vista dorsal 450X (c); vista ventral 500X (d).

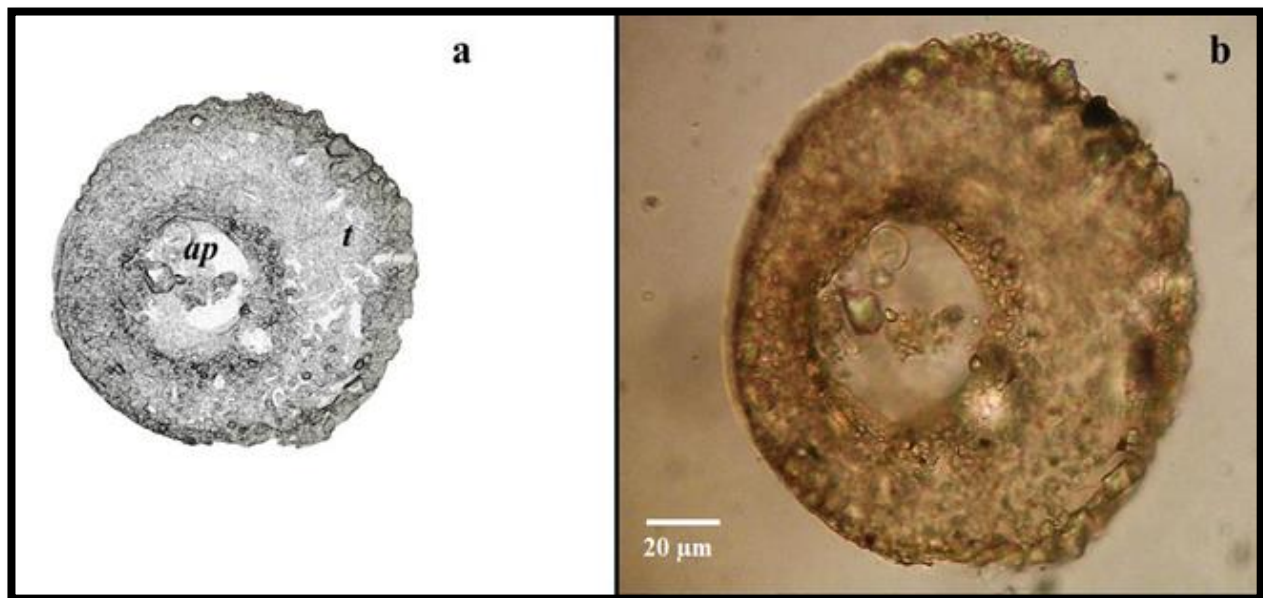






### 1.5 *Centropyxis aculeata* Ehrenberg, 1832 var. *discoides*

Amiba con teca xenógena de forma circular o discoide, coloración marrón (Fig. 21). Similar a la especie *Centropyxis aculeata*, sin embargo esta especie no presenta espinas (Figs. 21 y 22). Los ejemplares observados presentaron un diámetro entre 120-190  $\mu\text{m}$  (Cuadro 7). La apertura de la teca es invaginada y se localiza en la región central o subterminal de la teca (Fig. 22 a y b). La superficie de la teca se logra ver cubierta por granos minerales que son unidas mediante una secreción cementante producida por la misma amiba (Fig. 22 b y d).

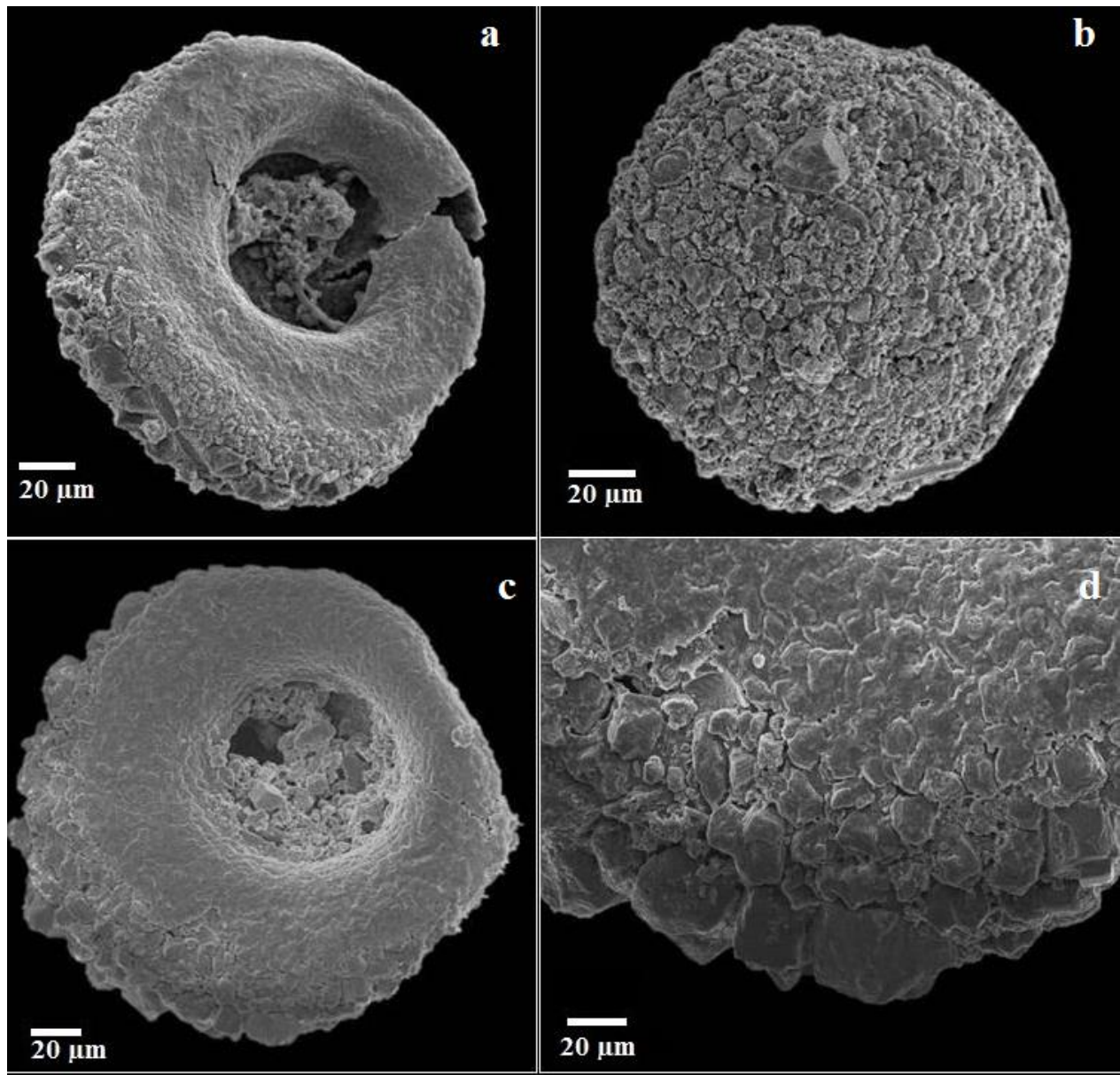
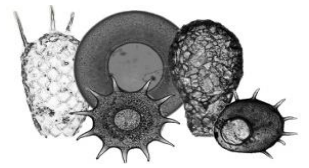


**Figura 21.** Esquema de *Centropyxis aculeata* var. *discoides*, apertura (ap); teca (dt) (a); vista ventral, fotografía tomada con microscopia de luz por contraste de fases 200X (b).

**Cuadro 7.** Promedio de medidas para las tecas la especie *Centropyxis aculeata* var. *discoides*.

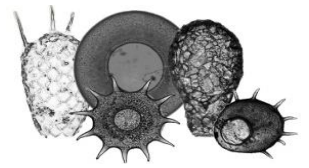
Nº de organismos medidos	Diámetro de la teca ( $\mu\text{m}$ )	Diámetro de la apertura ( $\mu\text{m}$ )
50	124.51	42





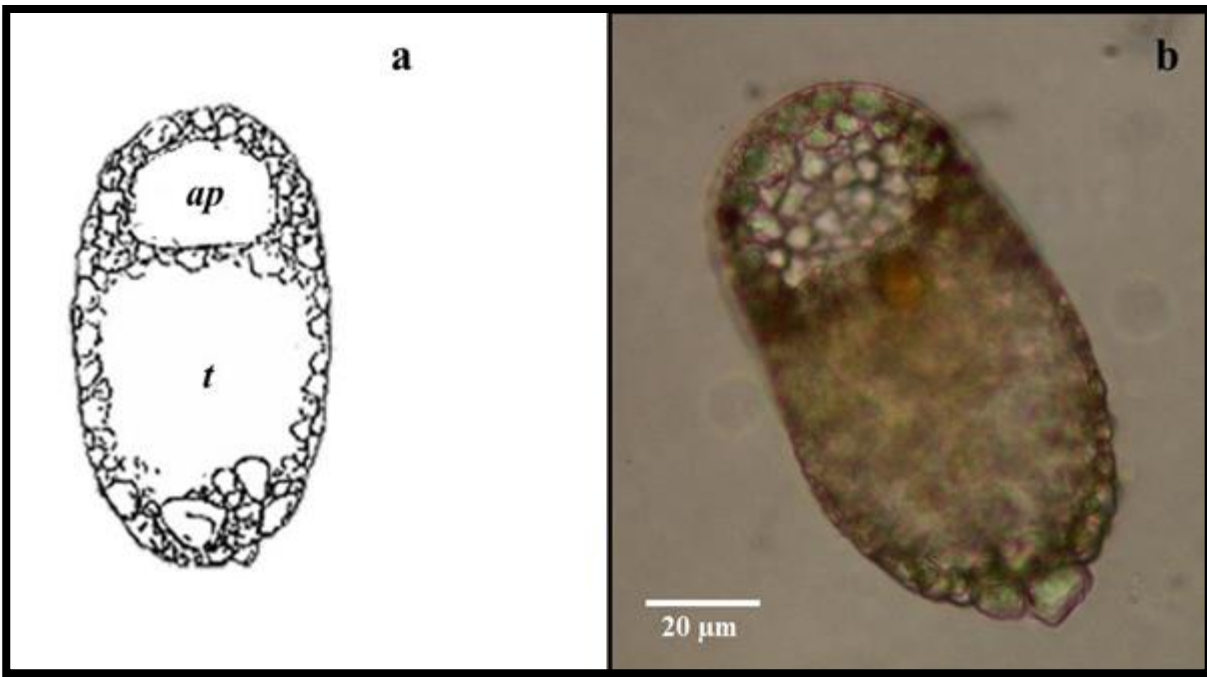
**Figura 22.** *Centropyxis aculeata* var. *discoides*, microscopia electrónica de barrido: vista ventral 430X (a); vista dorsal 450X (b); vista de la apertura 450X (c); acercamiento a la composición de la teca 1,500X (d).





### 1.6 *Centropyxis constricta* Ehrenberg, 1843 var. *aerophila*

Amiba con teca xenógena, forma ovoide en vista ventral y dorsal, coloración marrón (Figs. 23 y 24). Ejemplares observados presentan una longitud de 80-100  $\mu\text{m}$  (Cuadro 8). La apertura de la teca es invaginada, circular u ovoide y se localiza en la región subterminal de la teca. En la superficie de la teca se logran observar gránulos minerales (Fig. 24 b y d).

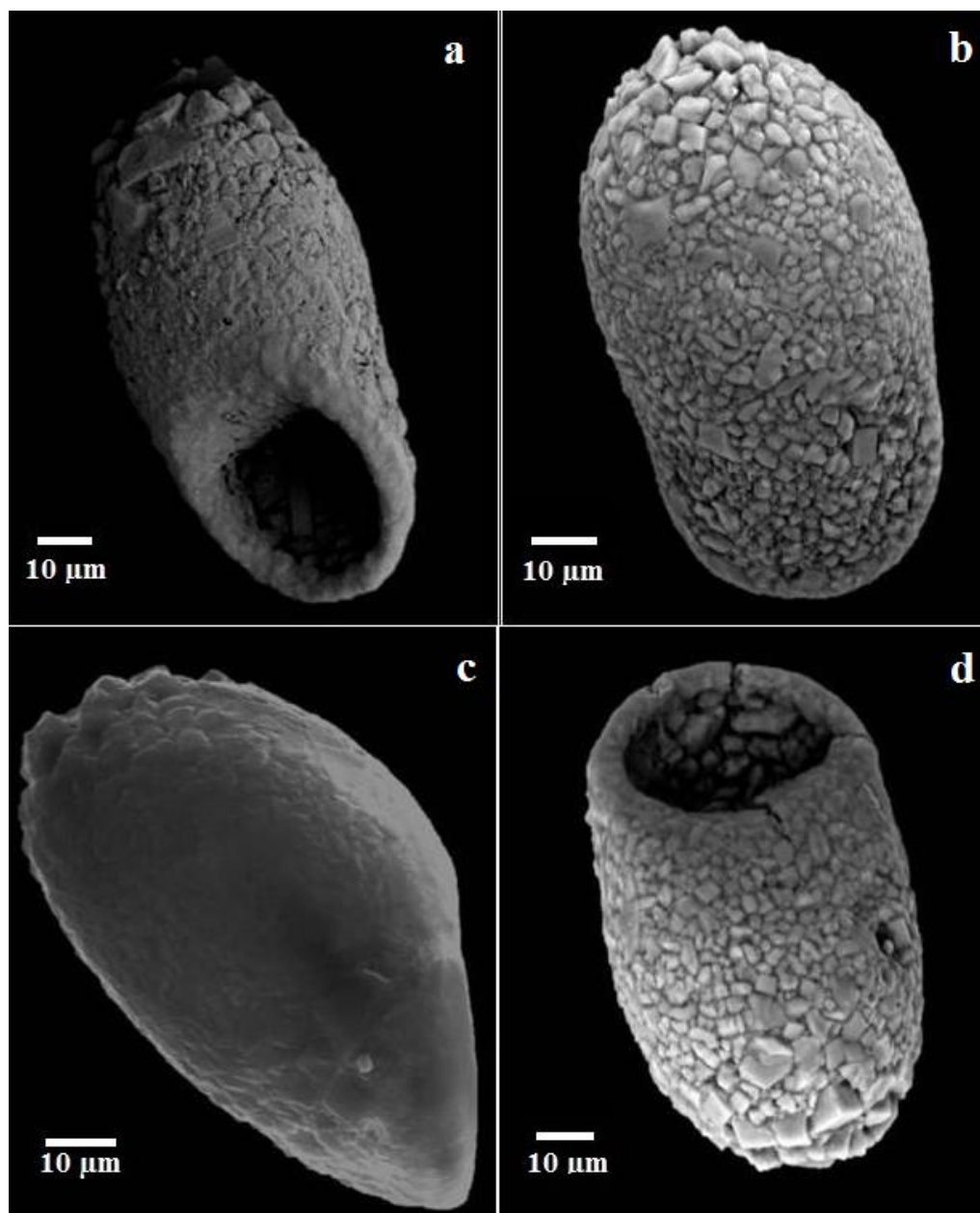
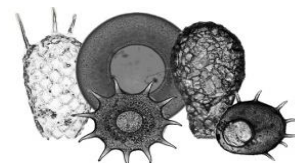


**Figura 23.** Esquema de *Centropyxis constricta* var. *aerophila*; apertura (ap); teca (t) (a); fotografía tomada con microscopia de luz en contraste de fases 200X (b).

**Cuadro 8.** Promedio de medidas para las tecas de la especie *Centropyxis constricta* var. *aerophila*

Nº de organismos medidos	Ancho de la teca ( $\mu\text{m}$ )	Longitud de la teca ( $\mu\text{m}$ )	Apertura de la teca ( $\mu\text{m}$ )
50	48.06	87.86	31.26

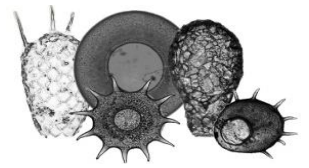




**Figura 24.** *Centropyxis constricta* var. *aerophila*, microscopia electrónica de barrido: vista ventral 700X (a); vista dorsal 850X (b); vista lateral 1,400X (c); vista ventral 1,000X (d).

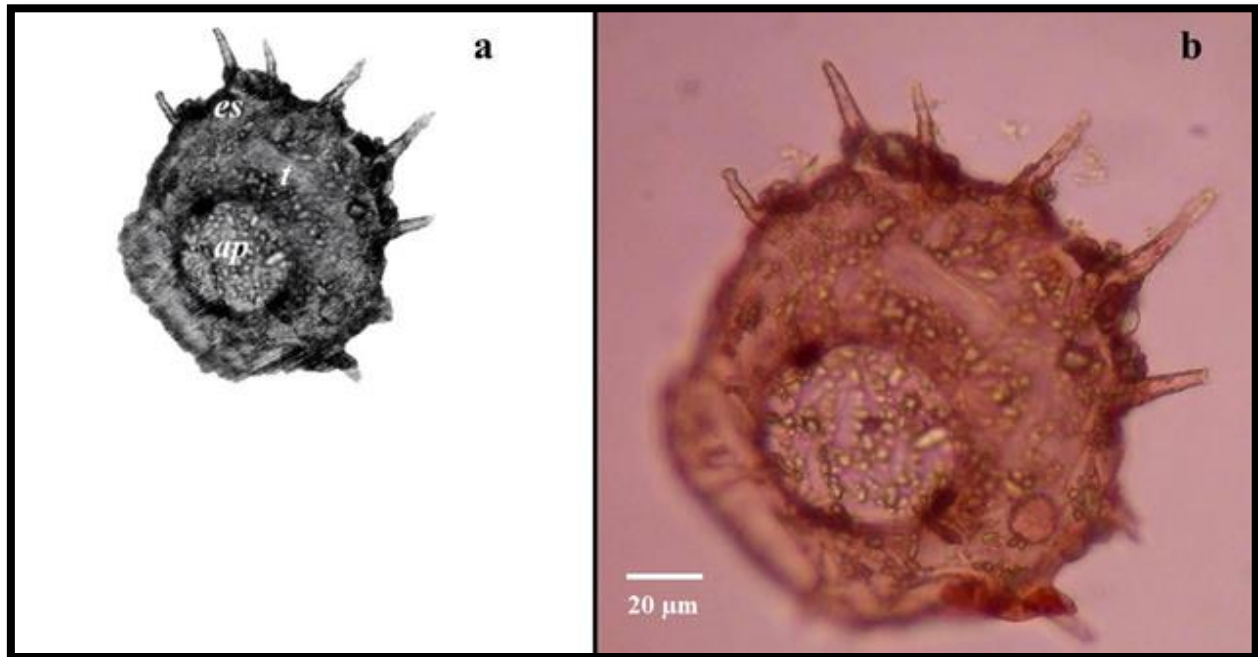






### 1.7 *Centropyxis constricta* Ehrenberg, 1843 var. *spinosa*

Amiba con teca xenógena, de forma circular u ovoide, presenta una coloración que va desde amarillo a café. Presencia de cinco espinas o más en los laterales de la teca. Los organismos observados presentan un ancho entre los 100-140  $\mu\text{m}$  (Cuadro 9). La apertura de la teca es invaginada y localizada en la región central o subterminal de la teca. La teca se observa cubierta por gránulos minerales, frústulas de diatomeas entre demás materia orgánica (Fig. 25).

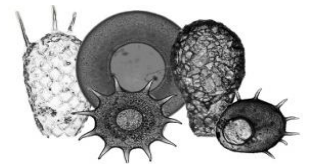


**Figura 25.** Esquema de *Centropyxis constricta* var. *spinosa*: apertura (ap); teca (t); espina (es) (a); vista ventral, fotografía tomada con microscopia de luz por contraste de fases 200X (b).

**Cuadro 9.** Promedio de medidas para las tecas de la especie *Centropyxis constricta* var. *spinosa*.

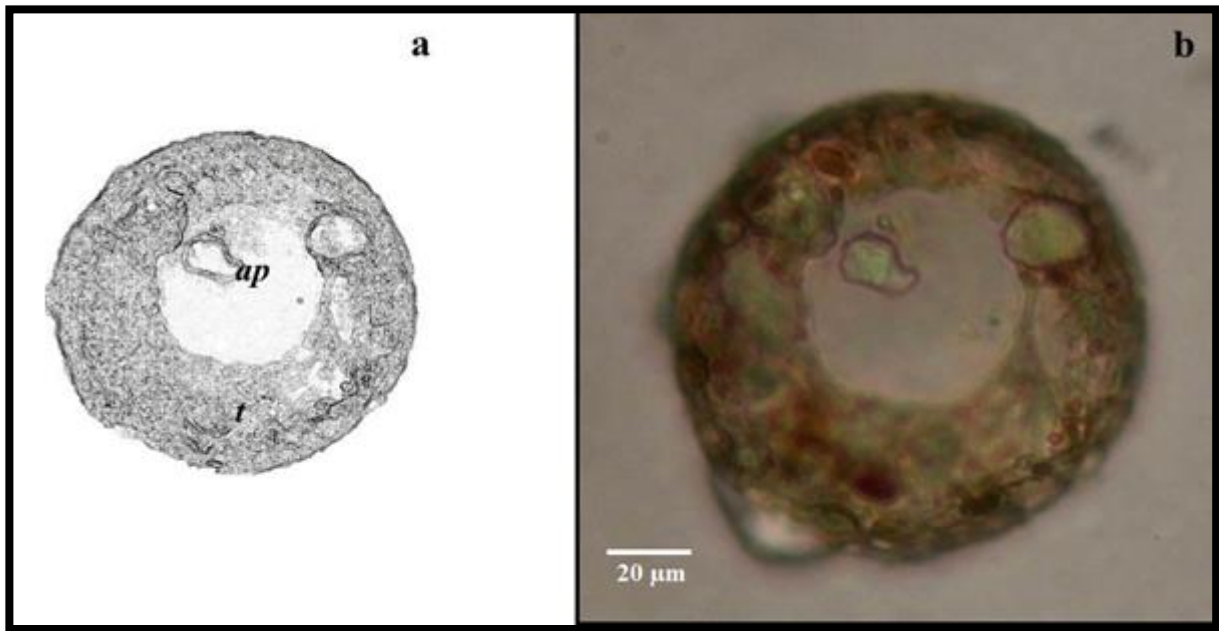
Nº de organismos medidos	Diámetro de la teca ( $\mu\text{m}$ )	Apertura de la teca ( $\mu\text{m}$ )	Longitud de la espina ( $\mu\text{m}$ )
4	120	40	90





### 1.8 *Cyclopyxis eurystoma* Deflandre, 1929

Amiba con teca xenógena, de forma esférica y de color marrón (Fig. 26). La teca posee un diámetro de 40-60  $\mu\text{m}$  (Cuadro 10). Posee una apertura grande de casi 2/3 del diámetro de la teca (Fig. 27 b y c) y es bordeada por una banda lisa de cemento orgánico (Fig. 27 d). La teca es constituida de partículas minerales de tamaños variables, unidos en una matriz orgánica presentando una superficie rugosa, en la parte dorsal donde también se pueden presentar frústulas de diatomeas incorporadas a la teca (Fig. 27a).

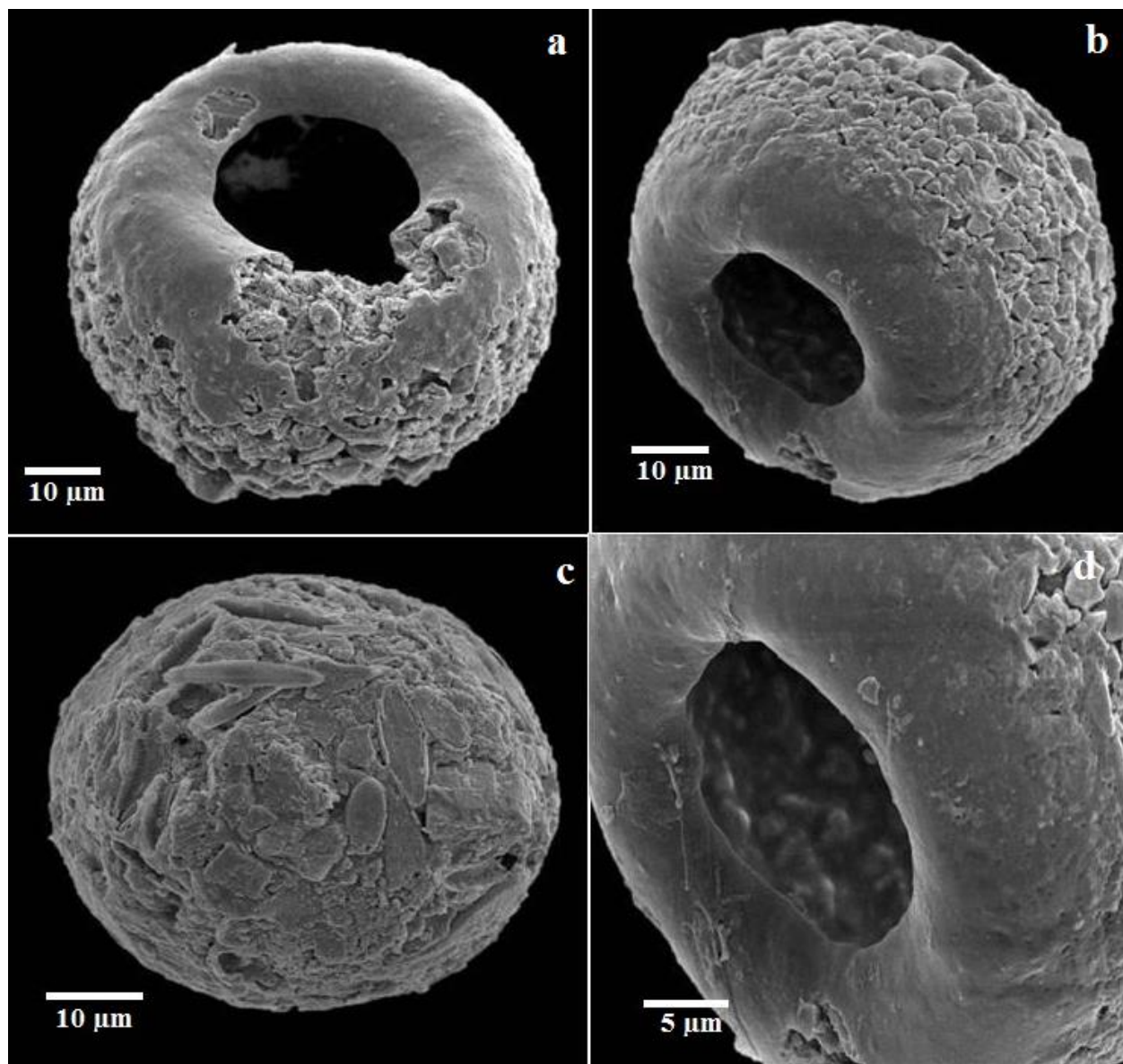
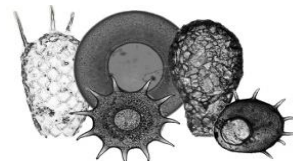


**Figura 26.** Esquema de *Cyclopyxis eurystoma*; apertura (ap); ancho de la teca (at) (a); fotografía de *Cyclopyxis eurystoma*, tomada con microscopia de luz por contraste de fases 400X (b).

**Cuadro 10.** Promedio de medidas para las tecas de la especie *Cyclopyxis eurystoma*.

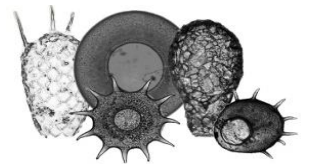
Nº de organismos medidos	Diámetro de la teca ( $\mu\text{m}$ )	Diámetro de la apertura ( $\mu\text{m}$ )
4	60.51	36.9





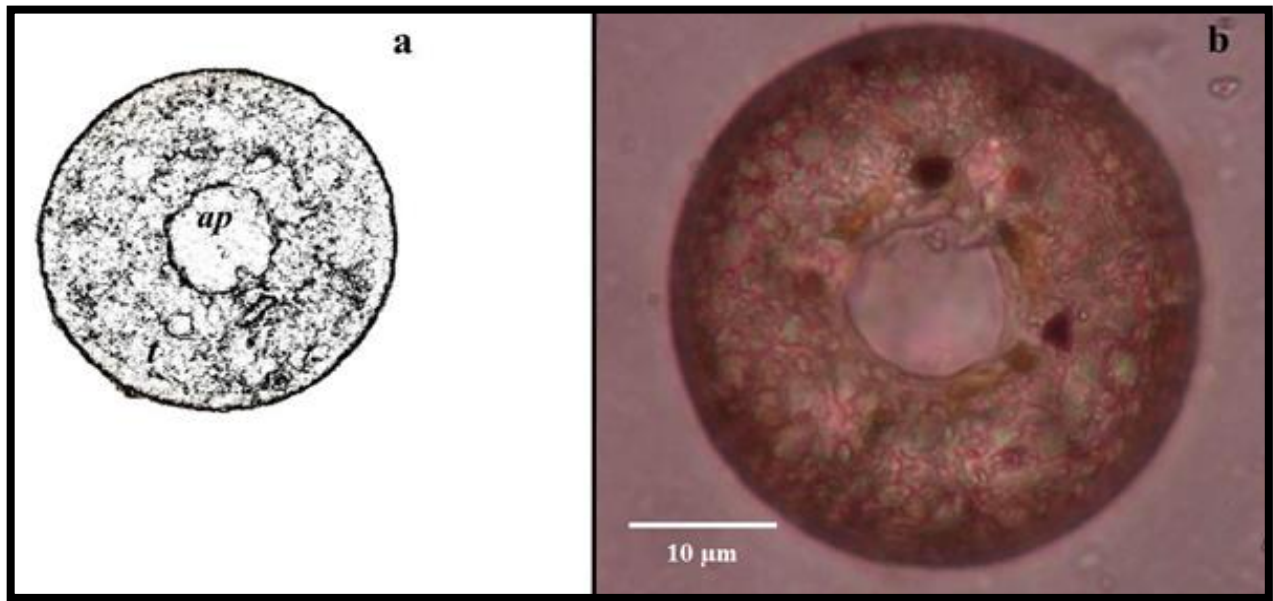
**Figura 27.** *Cyclopyxis eurystoma*, microscopia electrónica de barrido: vista de la apertura 1,300X (a); vista lateral 1,400X (b); vista dorsal 1,500X (c); acercamiento a la apertura 2,700X (d).





### 1.9 Cyclopyxis khali (Deflandre, 1912)

Amiba con teca xenógena de forma circular en vista ventral y dorsal, lados lateral y dorsal uniformemente redondeados, coloración marrón oscuro (Figs. 28 y 29a). Los organismos observados tuvieron un diámetro de 91  $\mu\text{m}$  (Cuadro 11). Apertura de forma circular con un borde irregular, ligeramente invaginada (Fig.29 d). Superficie de la teca rugosa con gránulos minerales aglutinados (Figs.29 a y b).



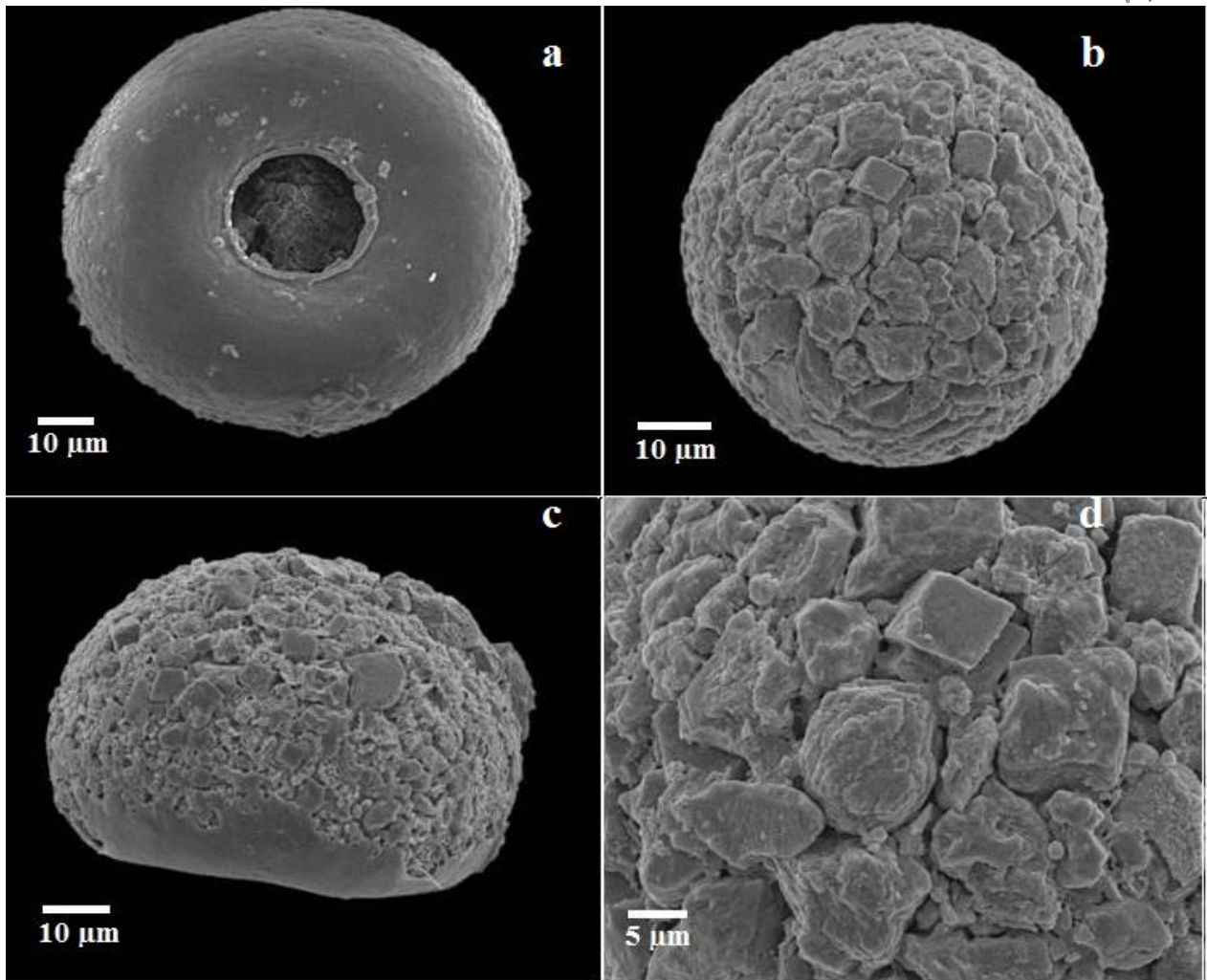
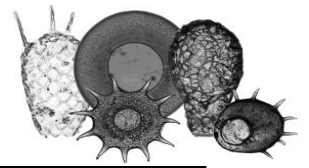
**Figura 28.** Esquema de *Cyclopyxis khali*: apertura (*ap*); teca (*t*) (a); fotografía tomada con microscopía de luz por contraste de fases 200X (b).

**Cuadro 11.** Promedio de medidas para las tecas de la especie *Cyclopyxis khali*.

Nº de organismos medidos	Diámetro de la teca ( $\mu\text{m}$ )	Diámetro de la apertura ( $\mu\text{m}$ )
50	81.86	34.44

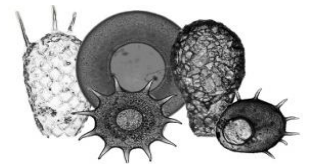






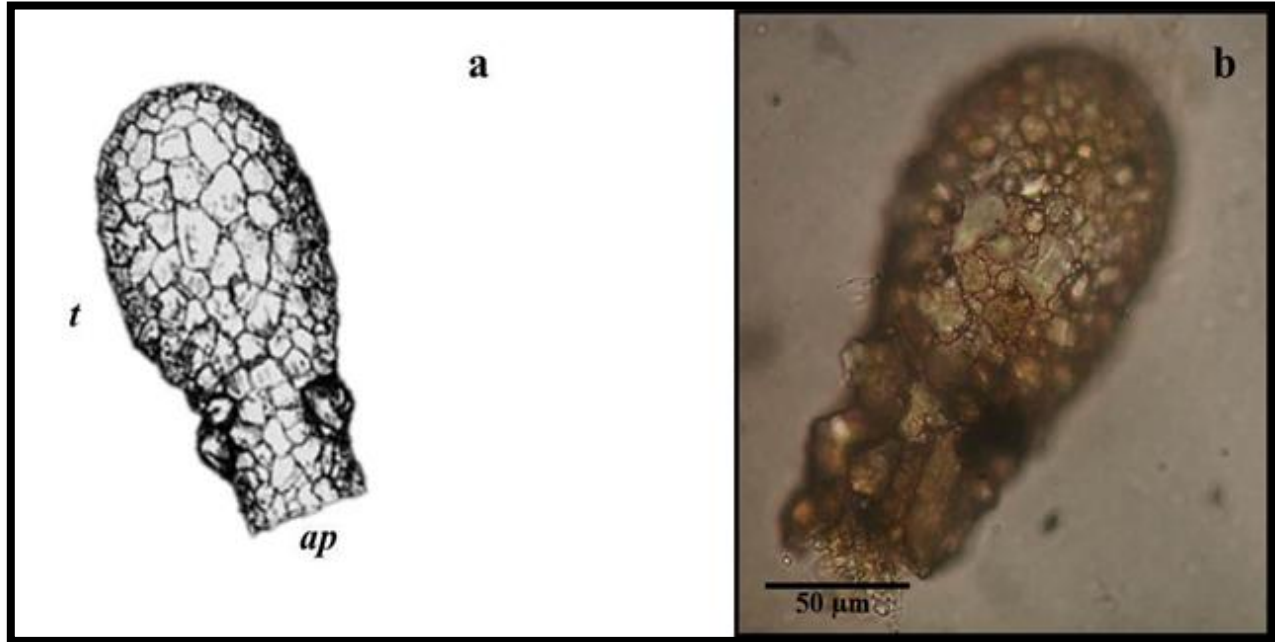
**Figura 29.** *Cyclopyxis khali*, microscopia electrónica de barrido: vista ventral de la teca , donde se observa la apertura 900X (a); vista dorsal 1,300X (b); vista lateral de la teca 1,500X; acercamiento de la teca 2,700X (d).





### 1.10 *Diffflugia oblonga* Ehrenberg, 1832 var. *oblonga*

Amiba con teca xenógena, de forma piriforme (en forma de pera) alargada, presenta una coloración marrón presentando un cuello relativamente largo (Figs.30 y 31a y b). Los ejemplares observados presentaron una longitud de 190-230  $\mu\text{m}$  (Cuadro 12). La teca está conformada por partículas de gránulos minerales cementados y frústulas de diatomeas (Fig. 31). La apertura es de forma circular sin dentaciones, localizada en la región terminal de la teca (Fig. 31 b y c).

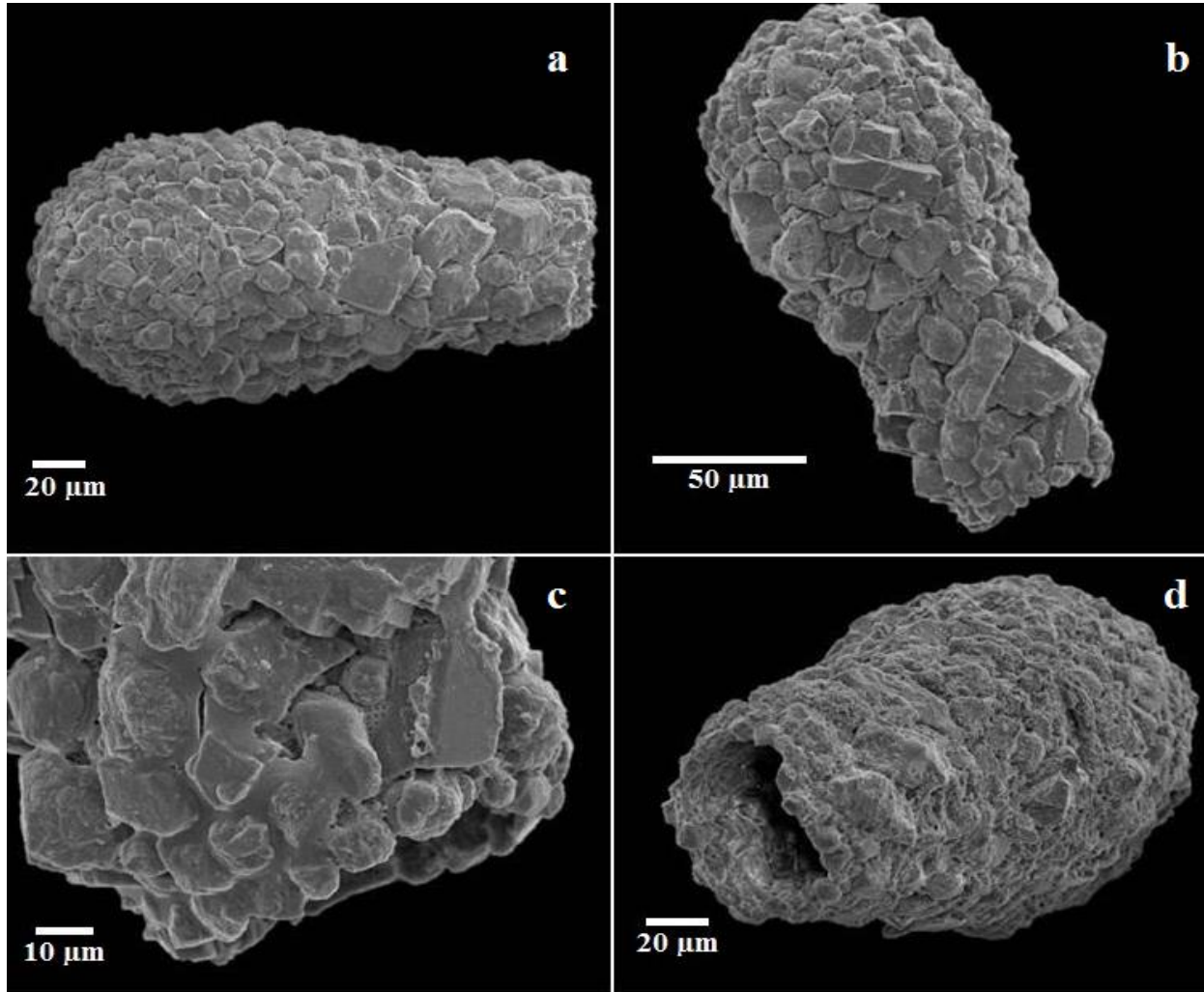
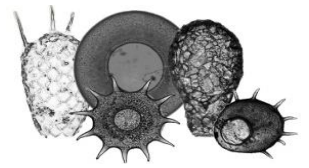


**Figura 30.** Esquema de *Diffflugia oblonga* var. *oblonga*; apertura (*ap*); teca (*t*) (a); fotografía tomada con microscopia de luz por contraste de fases 400X (b).

**Cuadro 12.** Promedio de medidas para las tecas de la especie *Diffflugia oblonga* var. *oblonga*.

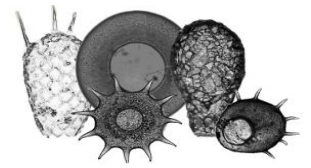
Nº de organismos medidos	Ancho de la teca ( $\mu\text{m}$ )	Longitud de la teca ( $\mu\text{m}$ )	Apertura de la teca ( $\mu\text{m}$ )
50	86.46	177.91	48





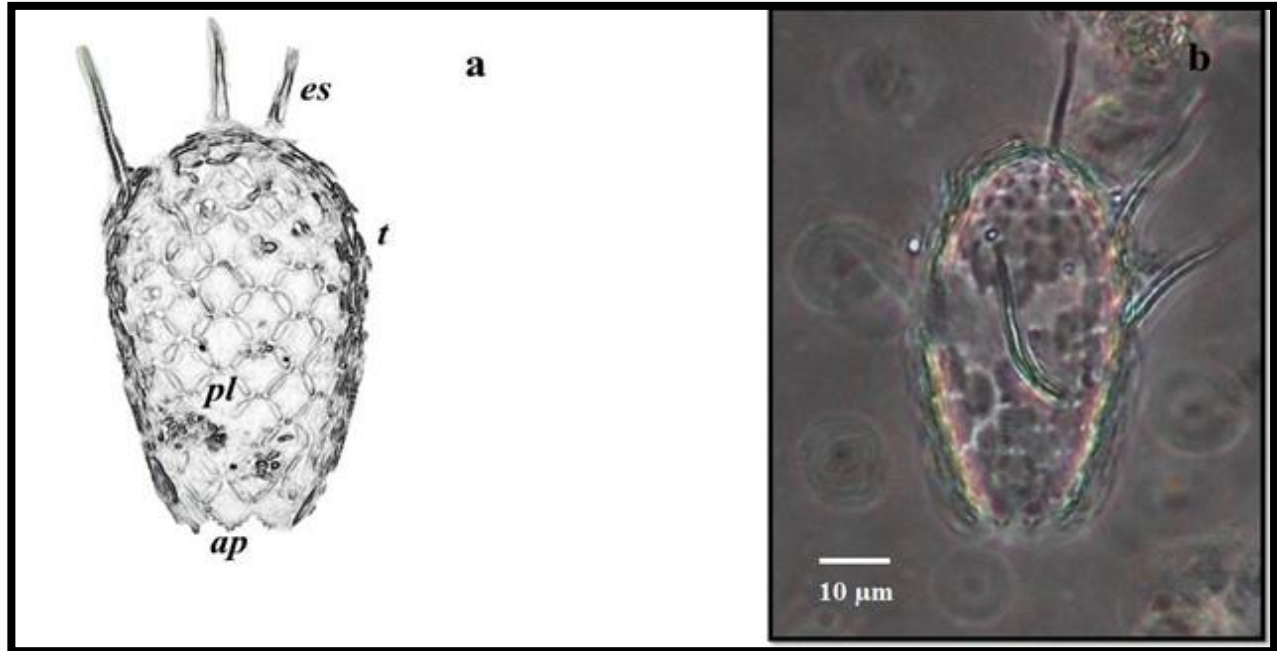
**Figura 31.** *Diffugia oblonga* var. *oblonga*, microscopia electrónica de barrido: lateral 450X (a) y 500X (b); vista lateral de la apertura 6,500X (c); acercamiento a la apertura de la teca 1,800X (d).





### 1.11 *Euglypha acanthophora* (Ehrenberg, 1841)

Amiba con teca autógena, ovoide y transparente, la teca presenta placas imbricadas de forma hexagonal u oval, posee espinas de las placas en la región dorsal. Los ejemplares presentaron longitudes entre los 50-60  $\mu\text{m}$  de largo por 24-30  $\mu\text{m}$  de ancho (Cuadro 13). La apertura es circular y localizada en la parte apical de la teca, la apertura presenta un borde dentado en forma de "v" (Fig. 32).



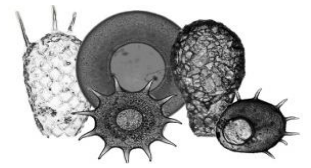
**Figura 32.** Esquema de *Euglypha acanthophora*: apertura (*ap*); teca (*t*); placas (*pl*); espina (*es*) (a); fotografía tomada con microscopia de luz por contraste de fases 40X (b).

**Cuadro 13.** Promedio de medidas de las tecas de la especie *Euglypha acanthophora*.

Nº de organismos medidos	Largo de la teca ( $\mu\text{m}$ )	Ancho de la teca ( $\mu\text{m}$ )	Apertura de la teca ( $\mu\text{m}$ )	Largo de la espina ( $\mu\text{m}$ )
3	56.58	29.52	12.3	24.6

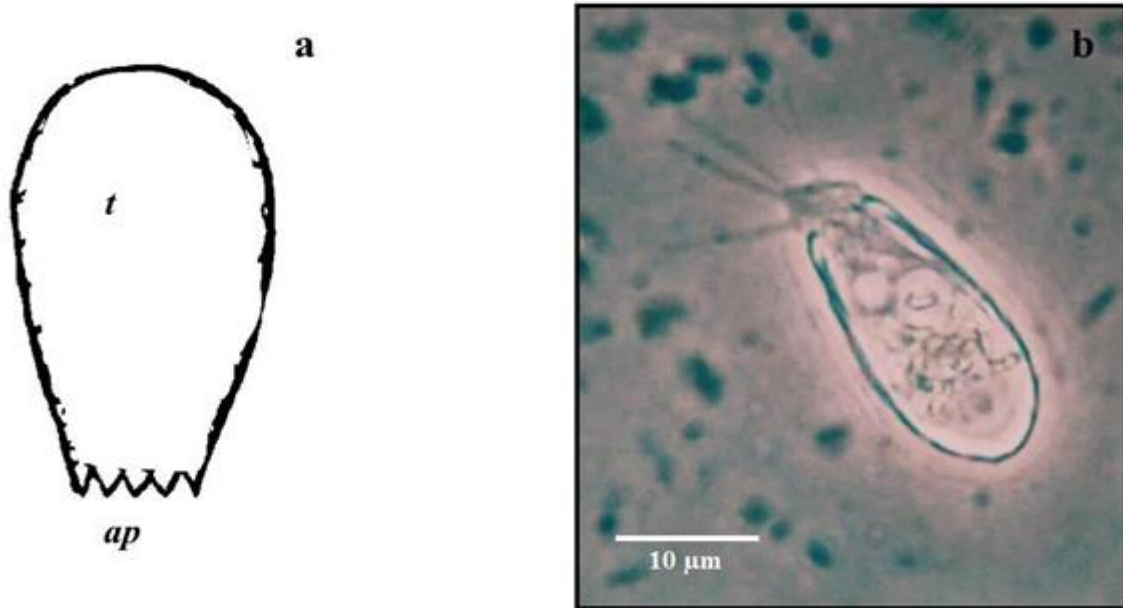






### 1.12 *Euglypha laevis* (Ehrenberg, 1841)

Amiba con teca autógena, ovoide y transparente, ligeramente comprimida. Debido a su tamaño pequeño (Cuadro 14), en microscopia de luz se observa la teca lisa, ya que las placas no se alcanzan a percibir, así mismo se logró observar la presencia de filópodos (Fig. 33 b). Posee una apertura circular situada en la región apical, con un borde denticulado (Fig. 33b). Se observó en cultivos y escasamente en muestras fijadas.

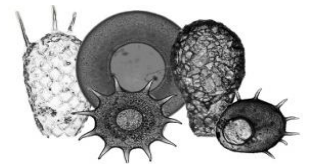


**Figura 33.** Esquema de *Euglypha laevis*; apertura (*ap*); teca (*t*) (a); fotografía tomada con microscopia de luz por contraste de fases 400X (b).

**Cuadro 14.** Promedio de medidas para las tecas de la especie *Euglypha laevis*.

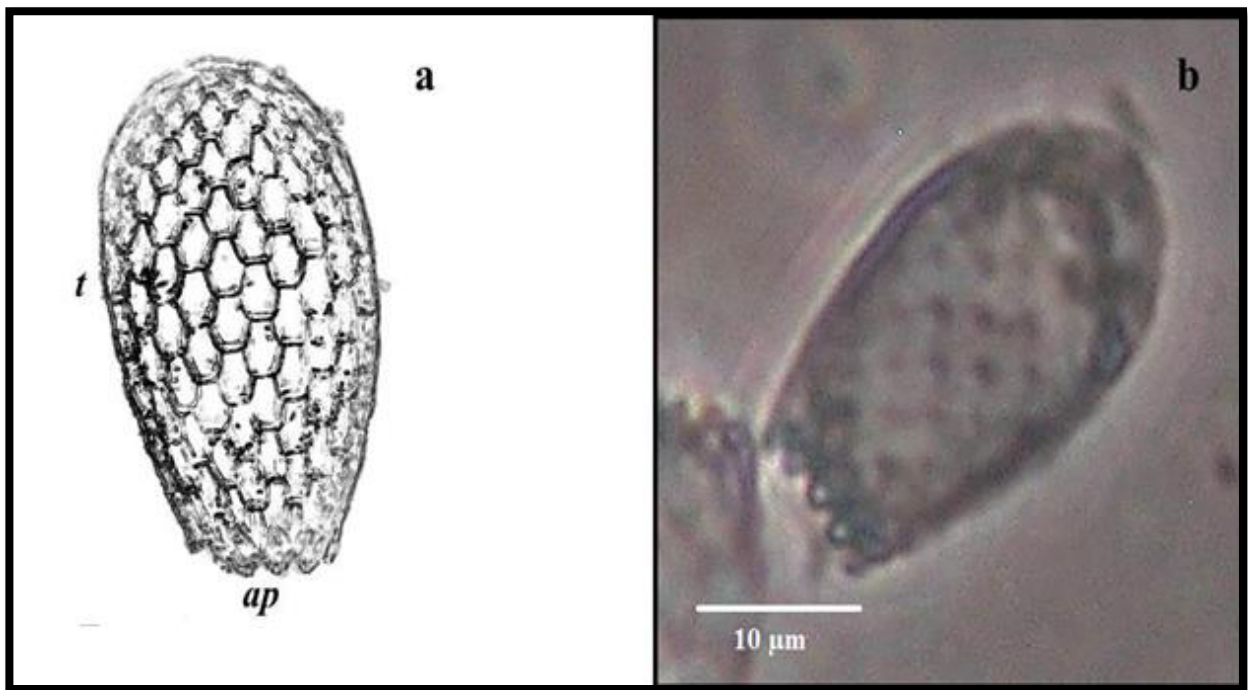
Nº de organismos medidos	Ancho de la teca (µm)	Longitud de la teca (µm)	Apertura de la teca (µm)
50	12.86	28.05	7.84





### 1.13 *Euglypha rotunda* (Ehrenberg, 1845)

Amiba con teca autógena, ovoide, transparente, ligeramente comprimida y con placas superpuestas de forma hexagonal, la teca se estrecha desde la región media hasta la región oral (Figs. 34 b y 35 a). Posee un apertura circular situada en la región apical, rodeada de placas de apertura espaciadas uniformemente, cada placa de la apertura posee un margen denticulado, donde se observa un diente grande en medio de la placa, rodeado de dos dientes pequeños (Fig. 35 b). Los ejemplares presentaron longitudes entre los 25-30  $\mu\text{m}$  (Cuadro 15).

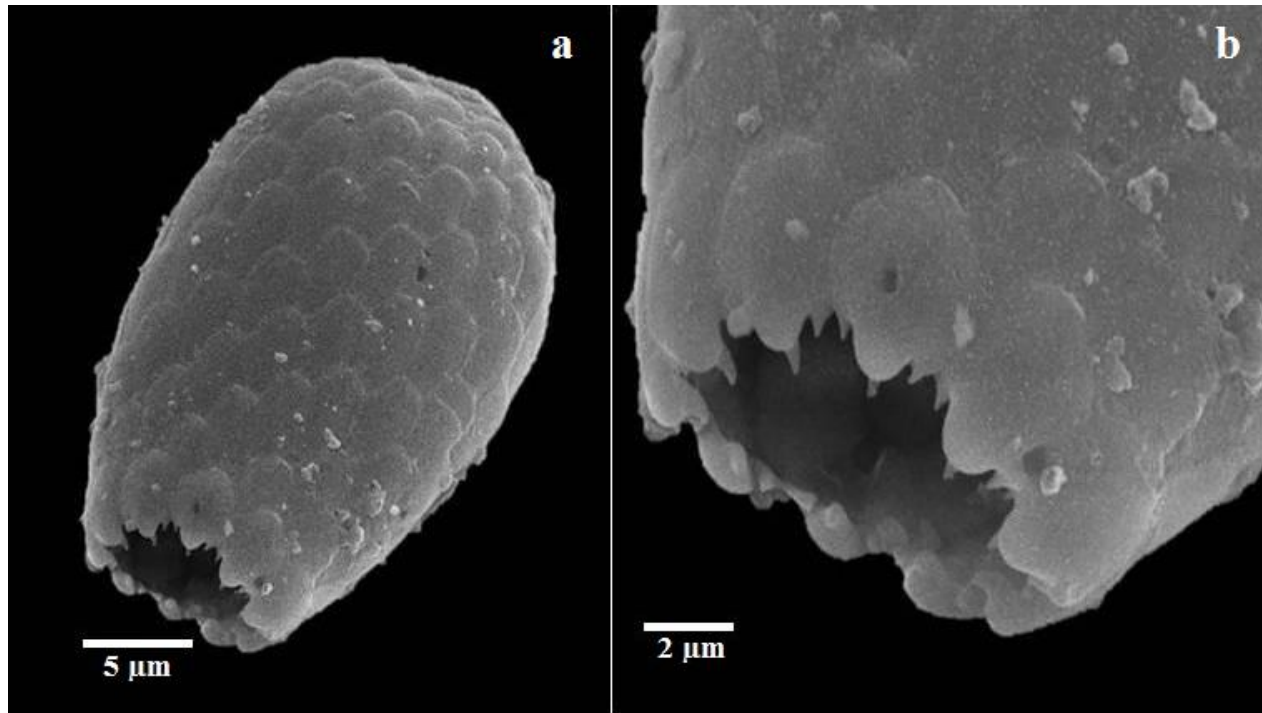
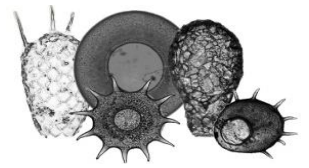


**Figura 34.** Esquema de *Euglypha rotunda*; apertura (*ap*); teca (*t*) (a); fotografía tomada con microscopía de luz por contraste de fases 400X (b).

**Cuadro 15.** Promedio de medidas para las tecas de la especie *Euglypha rotunda*.

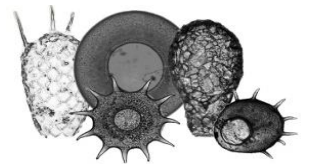
Nº de organismos medidos	Ancho de la teca ( $\mu\text{m}$ )	Longitud de la teca ( $\mu\text{m}$ )	Apertura de la teca ( $\mu\text{m}$ )
25	23	28.05	7.89





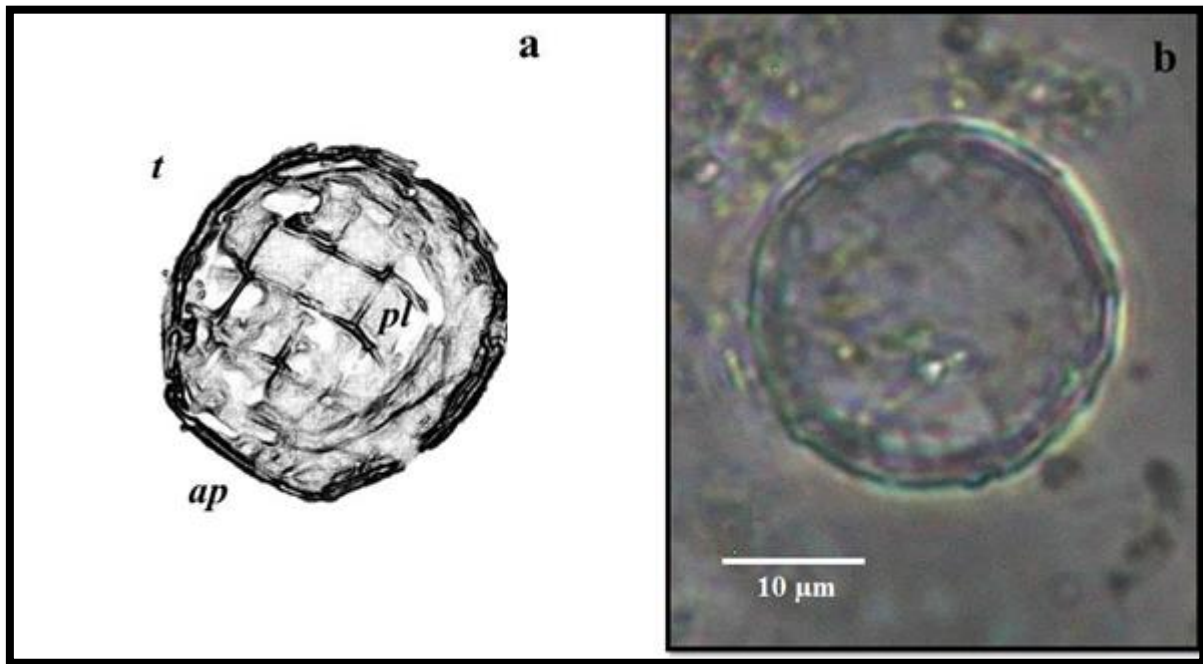
**Figura 35.** *Euglypha rotunda*; microscopia electrónica de barrido: vista dorsal 3,000X (a); acercamiento a la apertura de la teca, donde se observan las placas que la rodean, y el margen denticulado 7,000x (b).





### 1.14 *Paraquadrula irregularis* (Wallich, 1863)

Amiba con teca autógena, forma ovalada y ligeramente comprimida, transparente (Figs. 36 y 37 a y b). Los ejemplares observados presentaron una longitud entre los 20 y 25  $\mu\text{m}$  (Cuadro 16). La teca posee placas con forma cuadrada e interpuestas (Fig. 37 b y c), que alcanzan a ser observadas en aumento de 40X en microscopia de luz.

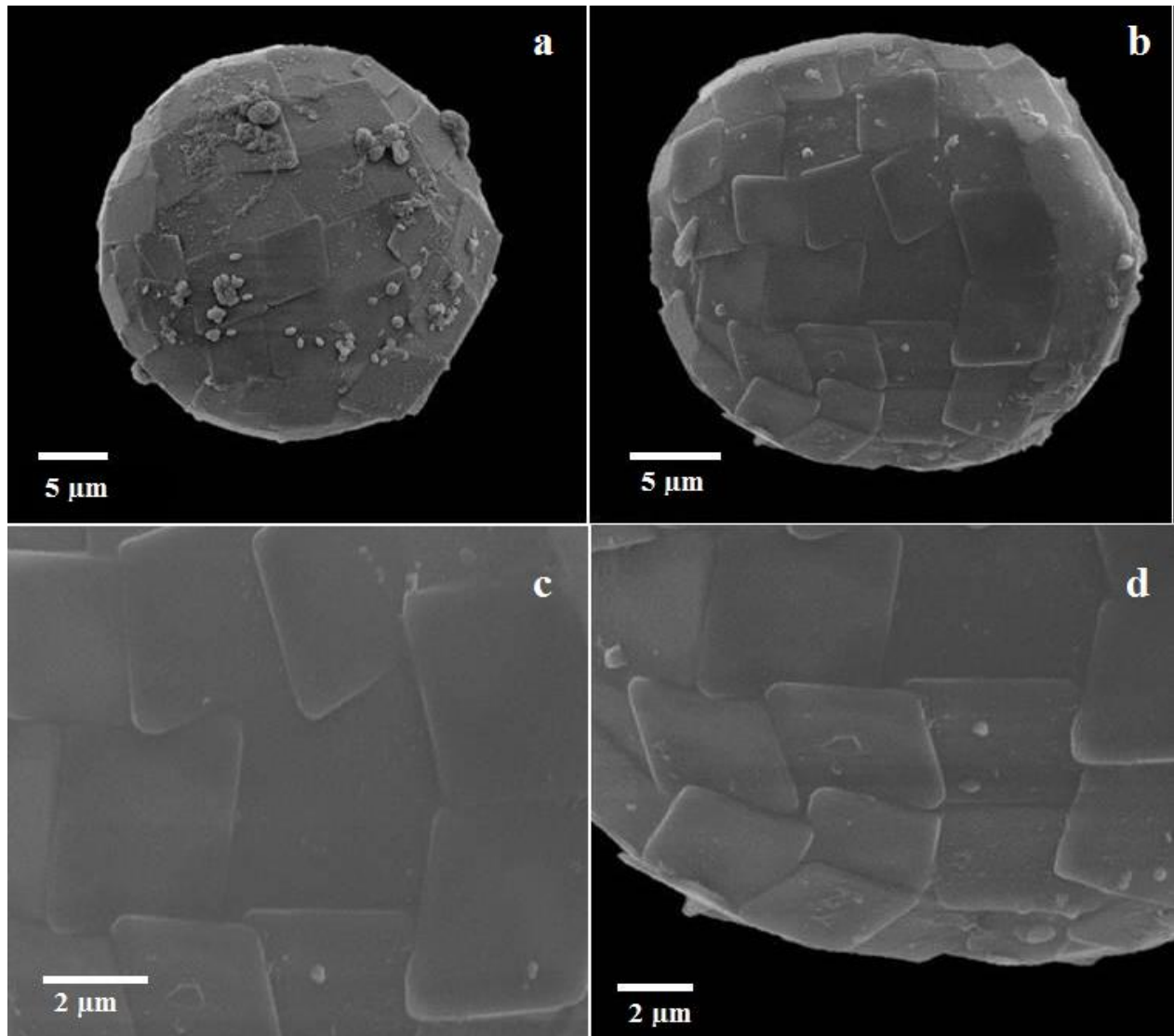
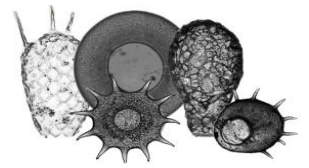


**Figura 36.** Esquema de *Paraquadrula irregularis*: apertura (*ap*); teca (*t*); placas (*pl*) (a); fotografía tomada con microscopia por contraste de fases 400X (b).

**Cuadro 16.** Promedio de medidas para las tecas de la especie *Paraquadrula irregularis*.

Nº de organismos medidos	Ancho de la teca ( $\mu\text{m}$ )	Ancho de la apertura ( $\mu\text{m}$ )
6	24.6	9.84

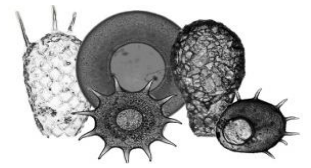




**Figura 37.** *Paraquadrula irregularis*, microscopia electrónica de barrido: vista ventral 2,500X (a) y 3,000X (b); acercamiento a las placas cuadradas de la teca 6,500X (c); acercamiento a la teca 6,500X (d).

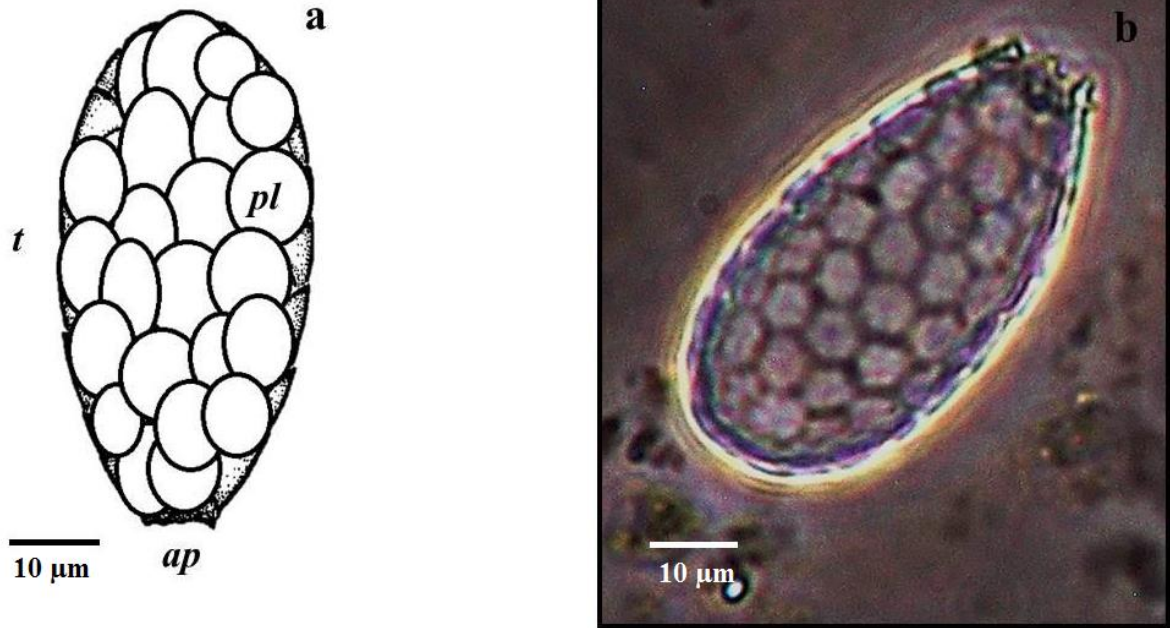






### 1.15 *Tracheleuglypha dentata* (Moniez, 1888)

Amiba con teca autógena, de forma ovoide, transparente y con placas silíceas circulares o hexagonales (Figs. 38 y 39 b), los ejemplares observados presentaron una longitud entre 30 y 50  $\mu\text{m}$  (Cuadro 17). La apertura es de forma circular y se encuentra en la región apical con un margen irregular sin dentaciones (Fig. 39 c y d).

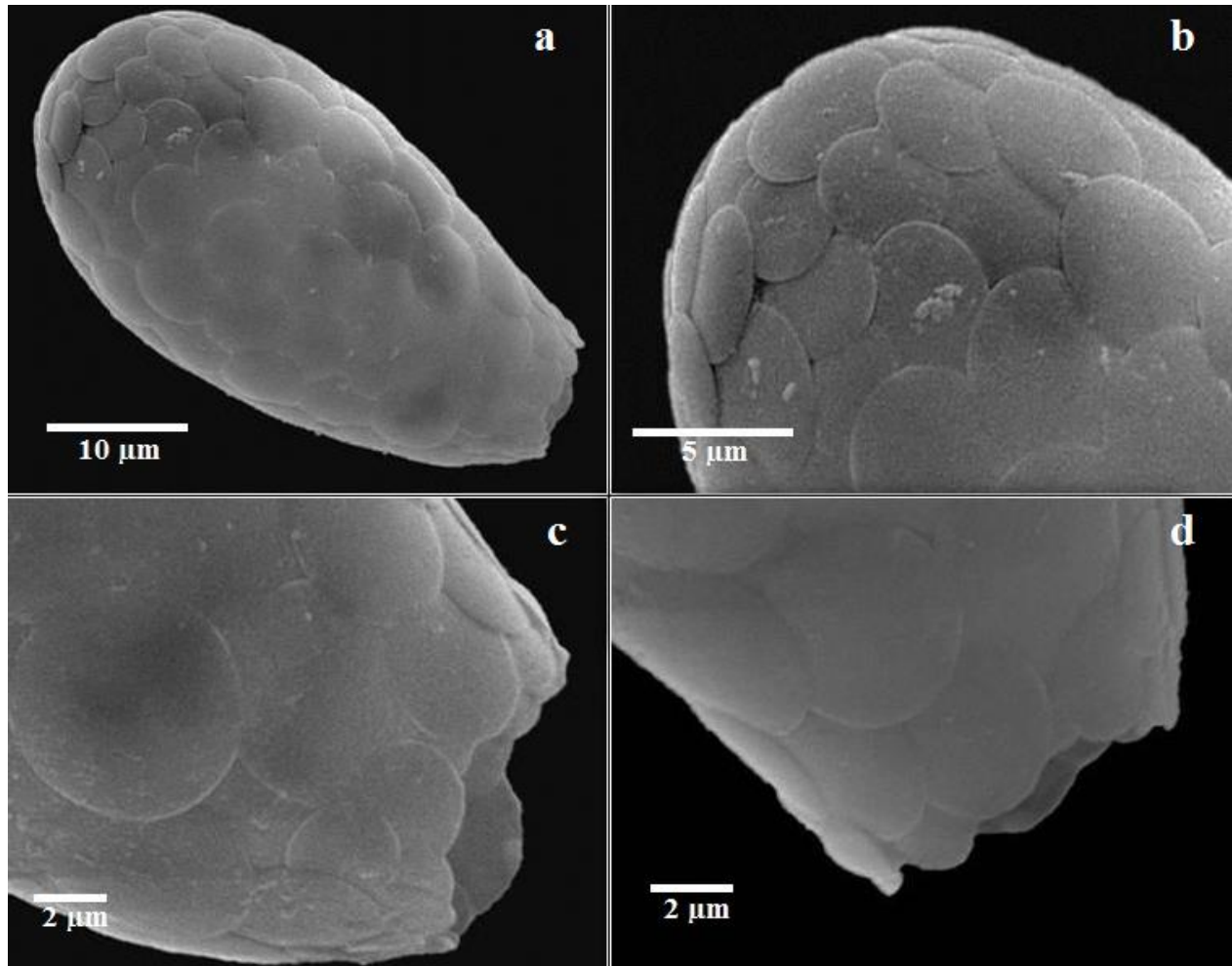
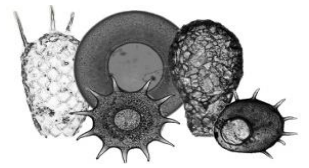


**Figura 38.** Esquema de *Tracheleuglypha dentata*: apertura (*ap*); teca (*t*); placas (*pl*) (a); fotografía tomada con microscopia de luz por contraste de fases 400X (b).

**Cuadro 17.** Promedio de medidas para las tecas de la especie *Tracheleuglypha dentata*.

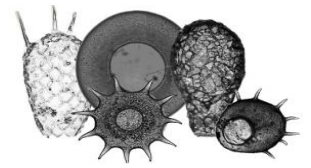
Nº de organismos medidos	Ancho de la teca ( $\mu\text{m}$ )	Longitud de la teca ( $\mu\text{m}$ )	Apertura de la teca ( $\mu\text{m}$ )
25	31.43	49.48	12.35





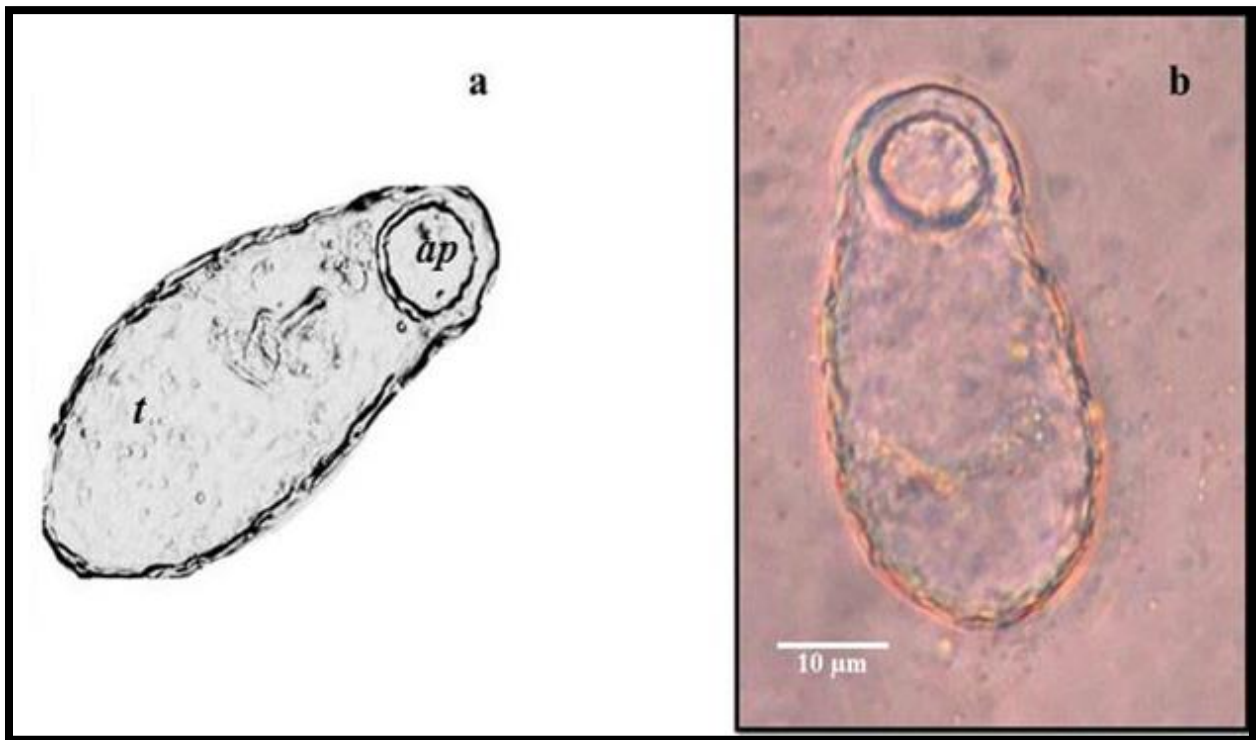
**Figura 39.** *Tracheleuglypha dentata*, microscopia electrónica de barrido: vista lateral 2,500X (a); acercamiento a la parte superior la teca 2,500X (b); acercamiento a la vista lateral de la apertura 7,000X (c) y 8,000X (d).





### 1.16 *Trinema enchelys* (Ehrenberg, 1838)

Amiba con teca autógena, tamaño ovoide alargado y transparente, con placas de sílice con forma circular y superpuestas que en microscopia de luz no son fáciles de observar (Figs. 40 b y Fig. 41 a, b y d) Los ejemplares observados tienen una longitud entre los 35 y 45  $\mu\text{m}$  (Cuadro 18). La apertura de la teca se encuentra en la región subterminal de la teca, es circular rodeada de pequeñas placas circulares con dentaciones (Fig. 41 a y c), la distinción de esta especie con *Trinema lineare*, es el tamaño ya que *Trinema enchelys* es de mayor tamaño.



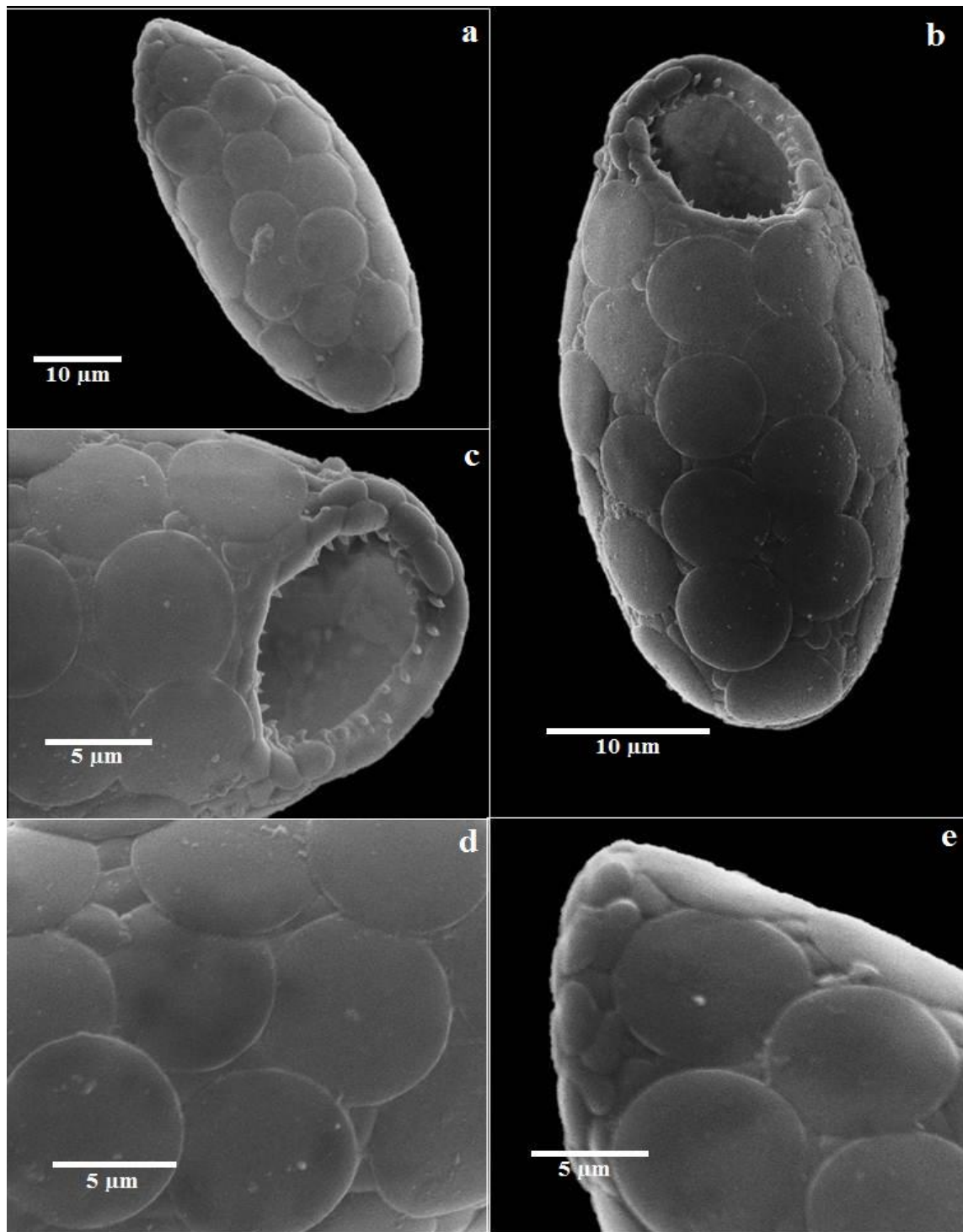
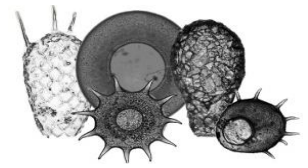
**Figura 40.** Esquema de *Trinema enchelys*; apertura (*ap*); teca (*t*) (a); fotografía de *Trinema enchelys*, tomada con microscopia de luz por contraste de fases 400X (b).

**Cuadro 18.** Promedio de medidas para las tecas de la especie *Trinema enchelys*.

Nº de organismos medidos	Ancho de la teca ( $\mu\text{m}$ )	Longitud de la teca ( $\mu\text{m}$ )	Apertura de la teca ( $\mu\text{m}$ )
20	22.14	29.10	12.5

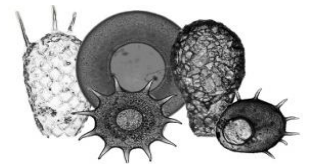






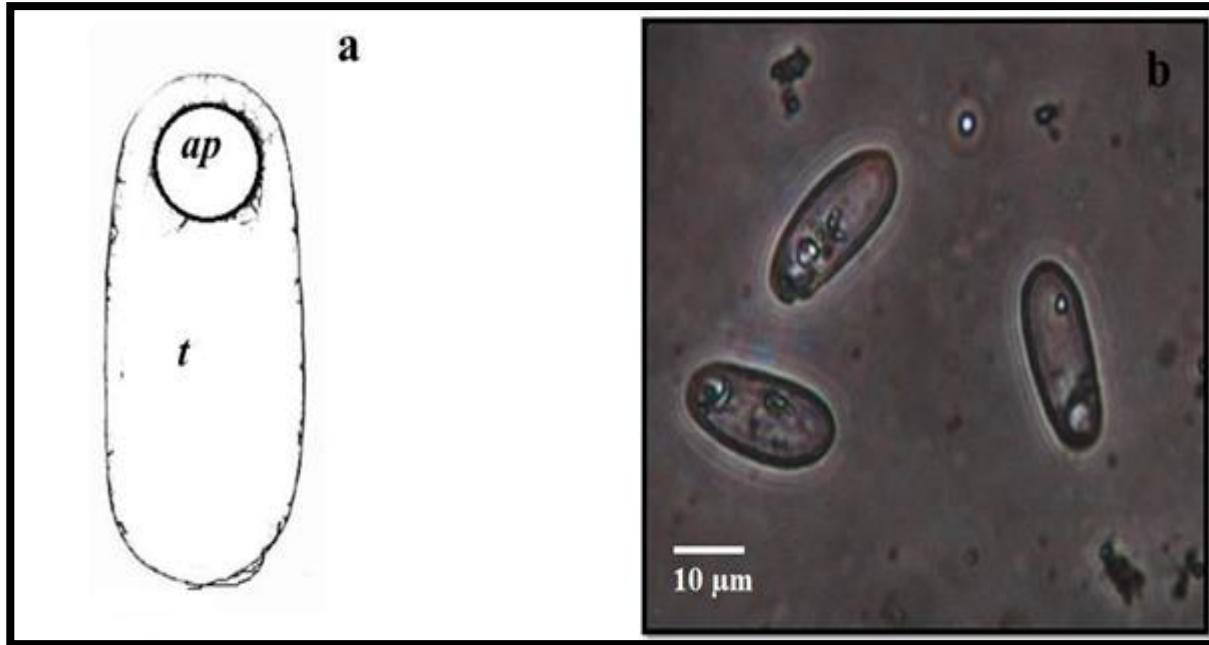
**Figura 41.** *Trinema enchelys*, microscopia electrónica de barrido: vista lateral 1,700X (a); vista ventral 2,500X (b); acercamiento a la apertura, donde se observan las dentaciones 4,300X (c); acercamiento a las placas circulares 5,000X (d); vista lateral de la apertura 5,000X (e).





### 1.17 *Trinema lineare* Penard, 1890

Amiba con teca autógena, tamaño ovoide alargado y transparente, con placas superpuestas de forma circular (Fig. 44 a y b), que son difíciles de ver en microscopia de luz (Fig. 43 b). La apertura es circular, invaginada y situada en la parte subterminal de la teca, la apertura es rodeada por 18 placas circulares denticuladas (Fig. 44 c). Los ejemplares observados tienen una longitud entre los 30 y 40  $\mu\text{m}$  (Cuadro 19).

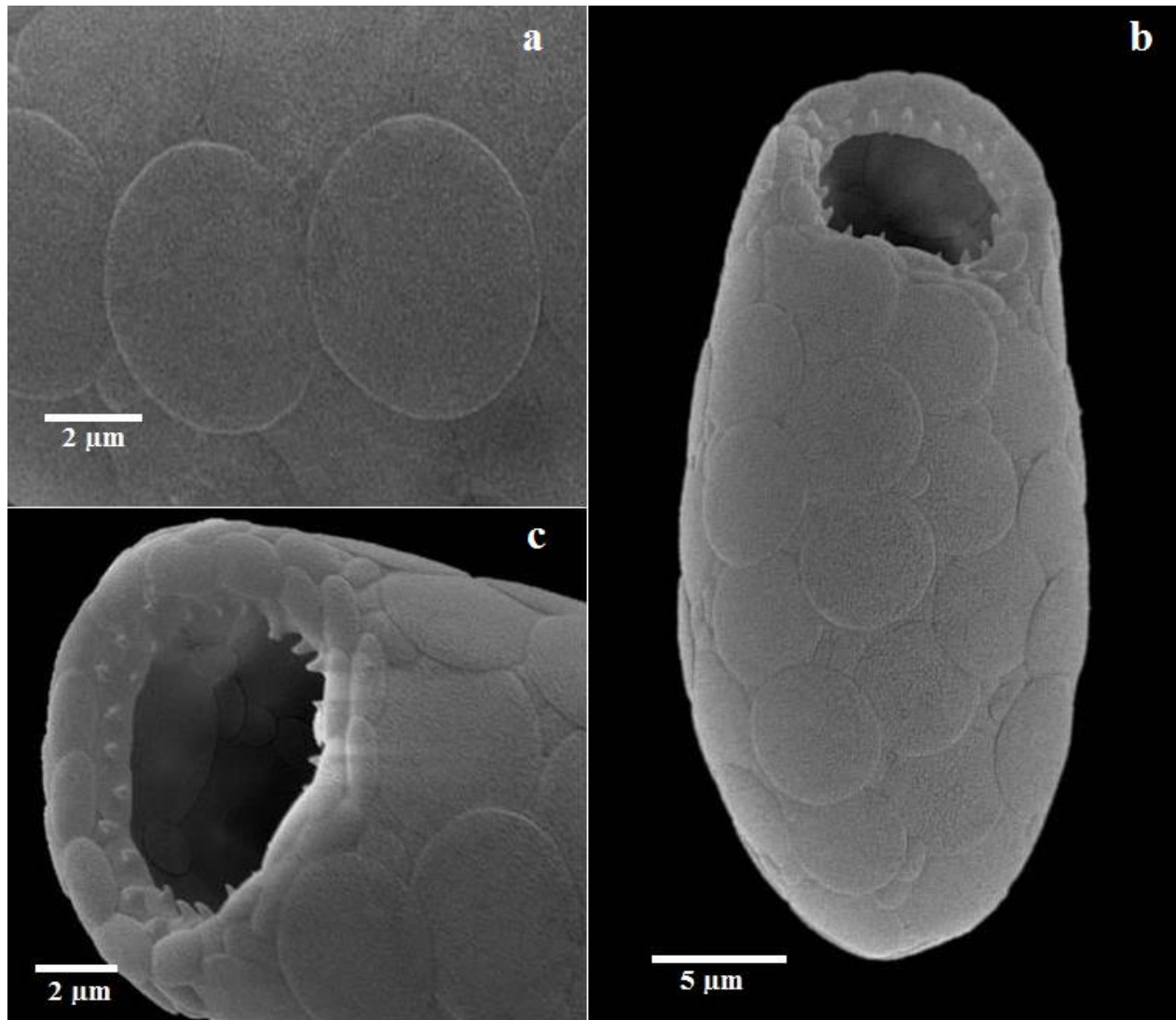
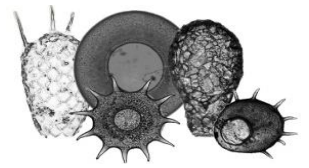


**Figura 42.** Esquema de *Trinema lineare*: apertura (*ap*); teca (*t*) (a); fotografía de *Trinema lineare*, tomada en microscopia de luz por contraste de fases 400X (b).

**Cuadro 19.** Promedio de medidas para las tecas de la especie de *Trinema lineare*.

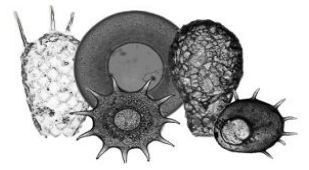
Nº de organismos medidos	Ancho de la teca ( $\mu\text{m}$ )	Longitud de la teca ( $\mu\text{m}$ )	Apertura de la teca ( $\mu\text{m}$ )
35	14.10	26.35	9





**Figura 43.** *Trinema lineare*, microscopia electrónica de barrido: acercamiento a las placas circulares 3,300X (a); vista ventral 3,500X (b); acercamiento a la apertura, donde se observan las dentaciones 7,500X (c).





## 2. Posición taxonómica de las especies de amibas tecadas registradas

La posición taxonómica de las amibas tecadas registradas en el sistema de cenotes T-Zabnáh, cenote X-Batún y cenote D-Zombakal; se realizó con base al esquema propuesto por Adl *et al.*, 2012, el cual hace énfasis principalmente en los protistas e incorpora información de estudios moleculares y filogenéticos realizados en los últimos años. En este trabajo fue necesario llegar hasta el nivel de variedad a pesar de que esta categoría no es reconocida en el Código Internacional de Nomenclatura Zoológica, estas son útiles para distinguir poblaciones ambientalmente significativas en sistemas lacustres (Paterson *et al.*, 2012).

Supergrupo: Amoebozoa Lühe 1913, emend. Cavalier-Smith, 1998.

- Tubulinea Smirnov *et al.*, 2005

- Arcellinida Kent, 1880

- Arcellina Haeckel, 1894

  - Arcella discoides* Ehrenberg, 1843

  - Arcella megastoma* Penard, 1902

  - Arcella vulgaris* Ehrenberg, 1830

- Diffflugina Meisterfeld, 2002

  - Centropyxis aculeata* Ehrenberg, 1832 var. *aculeata*

  - Centropyxis aculeata* Ehrenberg, 1832 var. *discoides*

  - Centropyxis constricta* Ehrenberg, 1843 var. *aerophila*

  - Centropyxis constricta* Ehrenberg, 1843 var. *spinosa*

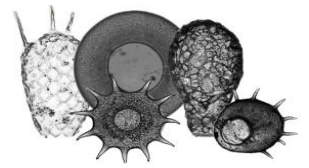
  - Diffflugia oblonga* Ehrenberg, 1832 var. *oblonga*

  - Cyclopyxis eurystoma* Deflandre, 1929

  - Cyclopyxis kahli* (Deflandre, 1912)

  - Paraquadrula irregularis* (Wallich, 1863)

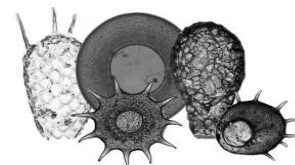




Supergrupo: SAR (Stramenopiles, Alveolata, Rhizaria) Burki *et al.*, 2007

- Rhizaria Cavalier-Smith, 2002
- Cercozoa Cavalier-Smith 1998, emend. Adl *et al.*, 2005
- Imbricatea Cavalier-Smith 2011
- Silicofilosea Adl *et al.*, 2005, emend. Adl *et al.*, 2012
  - Euglyphida Copeland 1956, emend. Cavalier-Smith 1997
  - Euglyphidae Wallich 1864, emend Lara *et al.*, 2007
    - Euglypha acanthophora* (Ehrenberg, 1841)
    - Euglypha laevis* (Ehrenberg, 1845)
    - Euglypha rotunda* (Ehrenberg, 1845)
    - Tracheleuglypha dentata* (Moniez, 1888)
  - Trinematidae Hoogenraad & De Groot 1940, emend Adl *et al.* 2012
    - Trinema enchelys* (Ehrenberg, 1838)
    - Trinema lineare* Penard, 1890





### 3. Sistema de cenotes T-Zabnáh

#### 3.1 Riqueza específica de amibas tecadas registradas en el sistema de cenotes T-Zabnáh

De las 58 muestras (29 en cultivo y 29 fijadas) revisadas de los diferentes biotopos recolectados en el sistema de cenotes T-Zabnáh, se registró un total de diez taxas diferentes de amibas tecadas. Como se observa en el cuadro 20, en el caso de los cultivos, los biotopos donde se logró observar la mayor riqueza de amibas tecadas fue sedimento (siete especies), seguido del biotopo agua (cuatro especies). En las muestras fijadas los biotopos donde se logró observar la mayor riqueza de amibas tecadas fueron sedimento (seis especies), seguido de las biopelículas (tres especies).

**Cuadro 20.** Taxas de amibas tecadas identificadas en cultivos y muestras fijadas del sistema de cenotes T-Zabnáh.

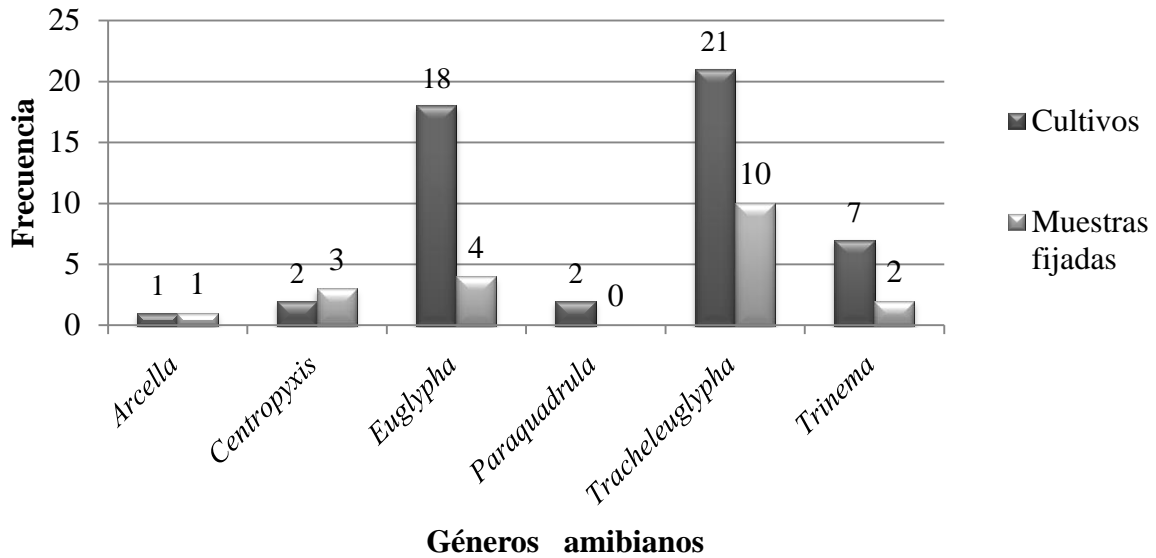
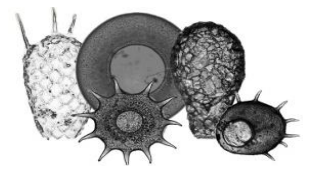
Especies /Biotopo	Cultivos				Muestras fijadas			
	A	Bp	G	S	A	Bp	G	S
<i>Arcella vulgaris</i>				*				*
<i>nCentropyxis aculeata</i> var. <i>aculeata</i>						*		*
<i>Centropyxis aculeata</i> var. <i>discoides</i>				*				
<i>Centropyxis constricta</i> var. <i>aerophila</i>		*						
<i>Centropyxis constricta</i> var. <i>spinosa</i>								*
<i>Euglypha laevis</i>	*	*		*		*		*
<i>Euglypha rotunda</i>	*			*				
<i>Paraquadrula irregularis</i>				*				
<i>Tracheleuglypha dentata</i>	*	*	*	*		*	*	*
<i>Trinema lineare</i>	*			*		*		*

Nota: Biotopo donde se encontró la especie (\*); agua (A); biopelículas (Bp); guano (G); sedimento (S).

El género más frecuentemente observado en los cultivos de diferentes biotopos pertenecientes al sistema de cenotes T-Zabnáh, fue el género *Tracheleuglypha*, seguido del género *Euglypha* y *Trinema*. En el caso de las muestras fijadas el género más frecuente fue de igual manera *Tracheleuglypha*, seguido del género *Euglypha*, *Centropyxis* y *Trinema* (Fig. 44).



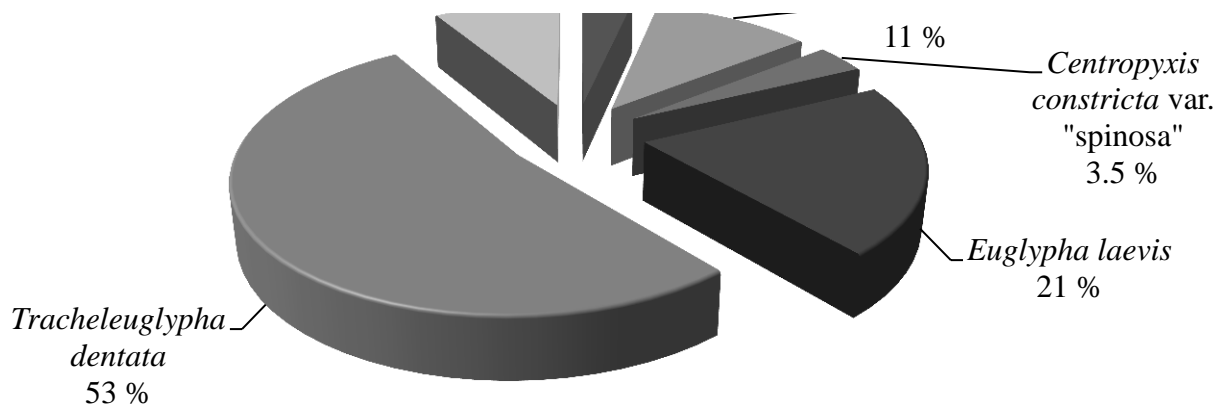




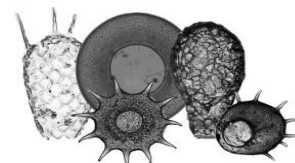
**Figura 44.** Frecuencia de géneros identificados en las muestras del sistema de cenotes T-Zabnáh.

De un total de 57 organismos contabilizados en las muestras de biotopos del sistema de cenotes T-Zabnáh, la especie con mayor abundancia de organismos fueron: *Tracheleuglypha dentata* con el 53 %, seguida de *Euglypha laevis* con el 21 %, como especies menos abundantes se registraron a *Centropyxis aculeata* var. "aculeata" con un 11 %, *Trinema lineare* con el 8.8 %, *Centropyxis constricta* var. "spinosa" y *Arcella vulgaris* con el 3.5 % del total de individuos contabilizados en este sitio de muestreo (Fig. 45).

**Figura 45.** Abundancia de especies de amibas tecadas, observadas en las muestras fijadas del sistema de cenotes T-Zabnáh.







### 3.2 Parámetros fisicoquímicos del agua registrados en el sistema de cenotes T-Zabnáh

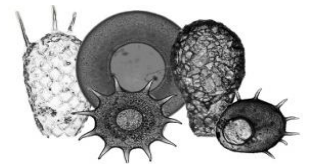
En el estudio de Esquivel (2018), se midieron tres variables fisicoquímicas del agua; temperatura, pH y conductividad. Los valores obtenidos se muestran en el cuadro 2 , con el fin de poder hacer comparaciones de los datos de cada zona muestreada.

Los valores de los parámetros fisicoquímicos del agua registrados en las diferentes zonas del sistema de cenotes T-Zabnáh, fueron los siguientes: En el caso del pH se registraron valores entre 7.4 y 8.1; la temperatura del agua registró valores entre los 27 y 28 °C. Por último los datos de la conductividad registrados, tuvieron valores entre los 0.4 y 1.1 mS/cm.

**Cuadro 21** Valores de los parámetros fisicoquímicos del agua, registrados en el sistema de cenotes T-Zabnáh.

Zona de muestreo	pH	Temperatura (°C)	Conductividad (mS/cm)
1	7,7	28	1,09
2	8,35	27	0,48
3	8,4	27	0,5
4	7,8	27	0,58
5	8	28	0,59
6	8,1	28	0,6
7	8,1	28	0,8
8	7,8	28	1,1
9	7,4	27	1,1
10	7,7	27	1,1
11	7,8	27	1,1





#### 4. Cenote X-Batún

##### 4.1 Riqueza específica de amibas tecadas registradas en el cenote X-Batún

De las 44 muestras revisadas (22 fijadas y 26 en cultivo) de los diferentes biotopos recolectados en el cenote X-Batún, se registró un total de 17 taxas diferentes de amibas tecadas, de las cuales 12 se identificaron hasta el nivel de especie y cinco hasta el nivel de variedad (Cuadro 22).

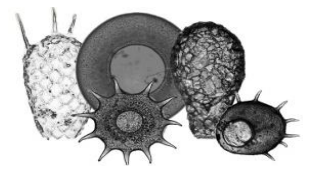
En el caso de los cultivos, los biotopos donde se logró observar la mayor riqueza de amibas tecadas fueron las biopelículas (15 especies), seguido del biotopo sedimento (diez especies). En las muestras fijadas los biotopos donde se logró observar la mayor riqueza de amibas tecadas fueron las biopelículas (17 especies), seguido de sedimento (13 especies).

**Cuadro 22.** Taxas de amibas tecadas identificadas en cultivos y muestras fijadas del cenote X-Batún

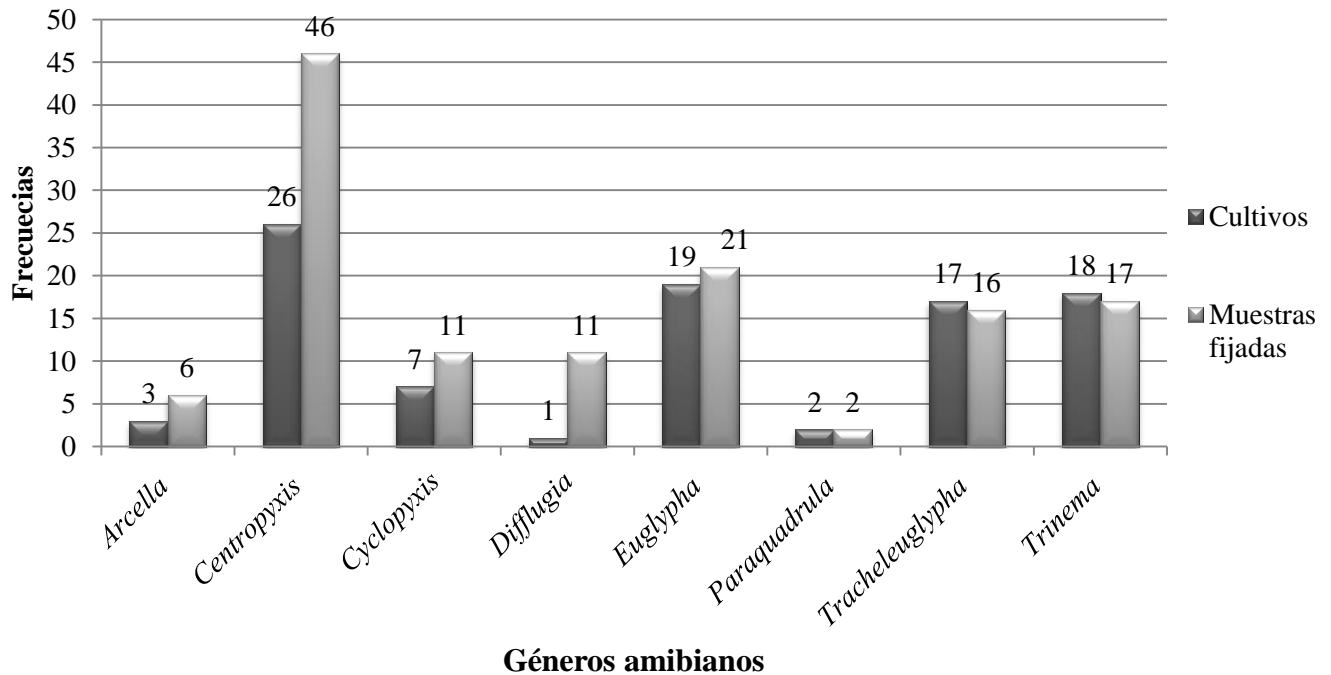
Especies /Biotopo	Cultivos			Muestras fijadas		
	A	Bp	S	A	Bp	S
<i>Arcella discoides</i>		*			*	
<i>Arcella megastoma</i>		*			*	*
<i>Arcella vulgaris</i>		*			*	
<i>Centropyxis aculeata</i> var."aculeata"	*	*	*	*	*	*
<i>Centropyxis aculeata</i> var."discoides"		*			*	*
<i>Centropyxis constricta</i> var."aerophila"	*	*	*	*	*	*
<i>Centropyxis constricta</i> var."spinosa"			*		*	*
<i>Cyclopyxis eurystoma</i>	*	*	*		*	*
<i>Cyclopyxis khali</i>		*			*	*
<i>Diffflugia oblonga</i> var."oblonga"			*		*	*
<i>Euglypha acanthophora</i>		*			*	
<i>Euglypha laevis</i>	*	*	*	*	*	*
<i>Euglypha rotunda</i>	*	*	*		*	*
<i>Paraquadrula irregularis</i>		*			*	*
<i>Tracheuglypha dentata</i>	*	*	*	*	*	*
<i>Trinema enchelys</i>		*	*		*	
<i>Trinema lineare</i>	*	*	*	*	*	*

Nota: Biotopo donde se encontró la especie (\*); agua (A); biopelículas (Bp); guano (G).





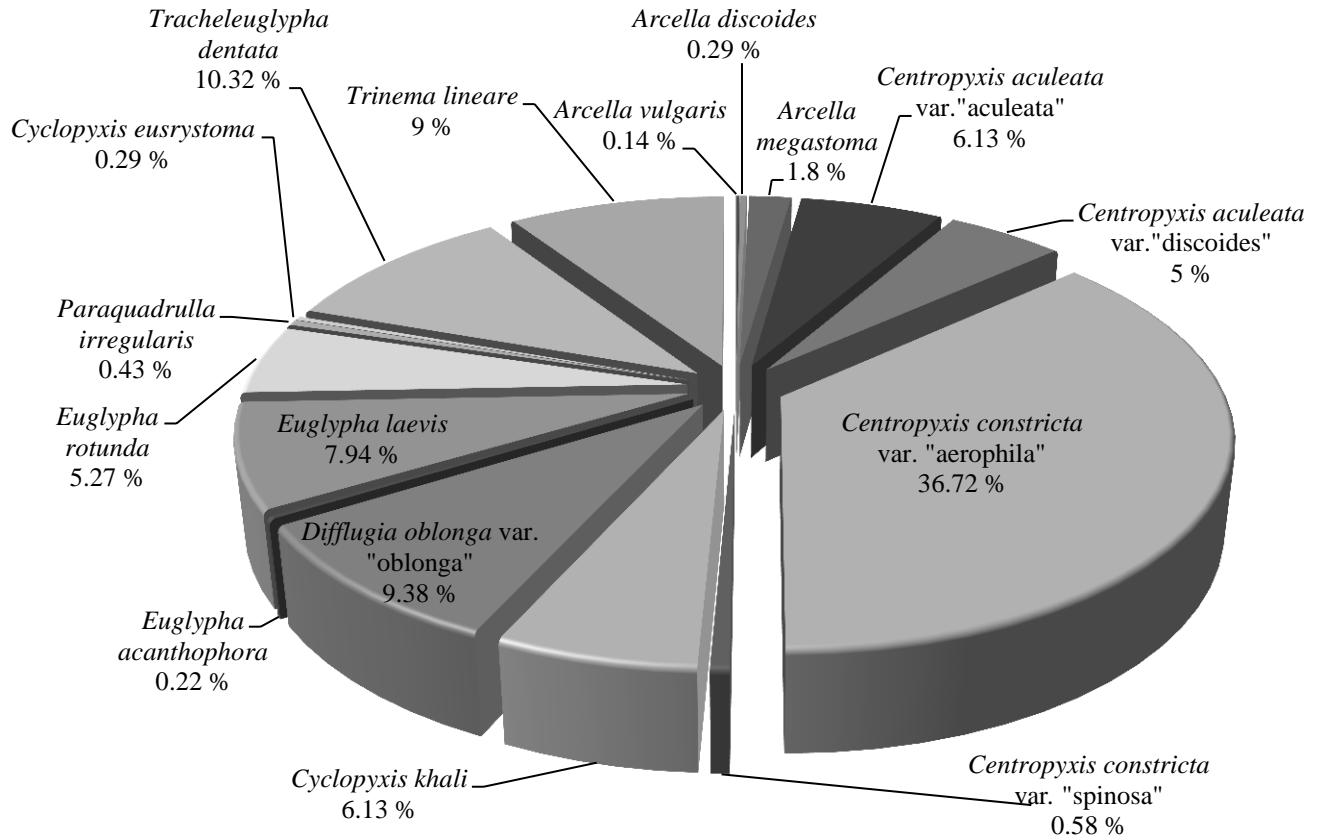
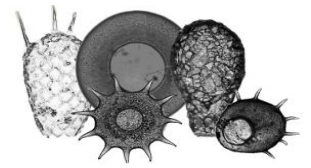
El cenote X-Batún, presentó una alta riqueza y abundancia de amibas tecadas, tanto en las muestras fijadas como en los cultivos de los diferentes biotopos recolectados. El género más frecuente observado en los cultivos y muestras fijadas de los diferentes biotopos pertenecientes al cenote X-Batún, fue el género *Centropyxis*, seguido del género *Euglypha*, *Tracheleuglypha* y *Trinema*, por el contrario los géneros menos frecuentes fueron *Arcella* y *Paraquadrula* (Fig. 46).



**Figura 46.** Frecuencia de géneros identificados en las muestras del cenote X-Batún

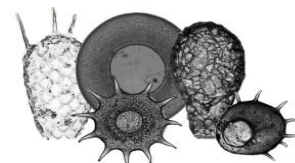
De un total de 1386 organismos contabilizados en las muestras de biotopos del cenote X-Batún, la especie con mayor abundancia de organismos fueron: *Centropyxis constricta* var. *aerophila* con el 36.7 %, siendo la especie más abundante de este cenote, seguido de *Tracheleuglypha dentata* con el 10 %, por último, *Diffugia oblonga* var. *oblonga* y *Trinema lineare* ambos con el 9 % del total de organismos contabilizados en este sitio de muestreo (Fig. 47).





**Figura 47.** Abundancia de especies de amibas tecadas, observadas en las muestras fijadas del cenote X-Batún.





#### 4.2 Parámetros fisicoquímicos del agua registrados en el cenote X-Batún

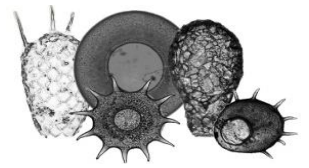
Los valores de los parámetros fisicoquímicos registrados en las diferentes zonas de muestreo del cenote X-Batún, se observan en el cuadro 23. El pH registro valores entre 7.4 y 8.0, siendo un pH neutro o ligeramente básico, similar al reportado en el sistema de cenotes T-Zabnáh; la temperatura predominante fue de 26 °C; los datos de conductividad fueron elevados a comparación de los registrados en el sistema de cenotes T-Zabnáh, teniendo valores entre los 1.8 y 2 mS/cm.

**Cuadro 23.** Valores de los parámetros fisicoquímicos del agua, registrados en el cenote X-Batún.

Zona de muestreo	pH	Temperatura (°C)	Conductividad (mS/m)
1	7,8	25,9	1,8
2	8	25	1,9
3	7,4	26	2
4	7,4	26	2
5	-	-	-

Nota: En la zona cinco no se realizó la medición de parámetros fisicoquímicos al ser biopelícula de madera.





## 5. Cenote D-Zombakal

### 5.1 Riqueza específica de amibas tecadas registradas en el cenote D-Zombakal

En el caso del cenote D-Zombakal, como se mencionó anteriormente el único biotopo muestreado fue el agua, ya que no se encontró la presencia de biopelículas y el sedimento al que se tenía acceso era demasiado compacto, por lo que fueron imposibles recolectar muestras. En los cultivos del cenote D-Zombakal, no se observó la presencia de amibas tecadas.

### 5.1 Parámetros fisicoquímicos del agua registrados en el cenote D-Zombakal

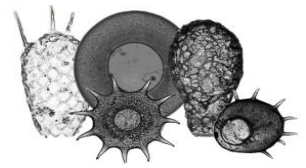
Los valores de los parámetros fisicoquímicos del agua registrados en el cenote D-Zombakal se muestran en el cuadro 24, las 20 zonas de muestreo tuvieron los mismos valores de pH, temperatura y conductividad. En el caso de los valores de pH se mantuvieron constantes, registrando un valor de 7.8; en el caso de la temperatura, esta fue menor a comparación del sistema de cenotes T-Zabnáh y el cenote X-Batún, teniendo un valor de 23 °C; por ultimo en el caso de la conductividad los valores registrados en este cenote fueron de 2.1 ms/cm, siendo más elevados que en el cenote X-Batún.

**Cuadro 24.** Valores de los parámetros fisicoquímicos del agua, registrados en el sistema del cenote D-Zombakal.

Zona	pH	Temperatura (°C)	Conductividad (mS/m)
1	7,8	23°C	2,1
2	7,8	23°C	2,1
3	7,8	23°C	2,1
4	7,8	23°C	2,1
5	7,8	23°C	2,1







## 6. Análisis estadísticos

### 6.1. Índice de similitud de Bray-Curtis

Con el fin de comparar la composición taxonómica de las amibas tecadas encontradas en los biotopos recolectados en los diferentes cenotes, se realizó un dendograma de clasificación jerárquica, utilizando el índice de similitud de comunidades de Bray-Curtis por el método de agrupamiento UPGMA, PAST, donde se observaron inicialmente ocho grupos (Fig. 48).

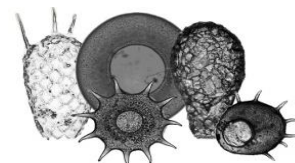
El grupo uno corresponde a una muestra de biopelícula, correspondiente a la zona nueve del sistema de cenotes T-Zabnáh, en esta muestra solo se observó la presencia de la especie *Trinema lineare*, teniendo una baja abundancia (aprox. uno a dos organismos), lo cual explica que este grupo tenga una menor similitud con respecto a los otros grupos.

El grupo dos, se conforma por una muestra de biopelícula, de la zona cuatro del cenote X-Batún, en este grupo se presentó una mayor riqueza de especies a comparación del grupo uno, donde se registraron organismos pertenecientes a las especies; *Centropyxis aculeata* var. *aculeata*, *Centropyxis aculeata* var. *discoides*, *Centropyxis constricta* var. *aerophila*, *Euglypha rotunda* y *Trinema lineare*. Sin embargo; la abundancia de dichas especies en estas muestras no fue muy elevada (aprox. dos a nueve organismos).

El grupo tres, representado por siete muestras (cinco de sedimento y dos de biopelículas) de diferentes zonas del cenote X-Batún, este grupo representa las muestras con una alta riqueza de especies a comparación de los grupos anteriores. Donde las especies como; *Centropyxis aculeata* var. "aculeata", *Centropyxis aculeata* var. "discoides", *Centropyxis constricta* var. "aerophila", *Cyclopyxis khali*, *Diffflugia oblonga* var. "oblonga", *Tracheuglypha dentata* y *Trinema lineare*, fueron las especies con mayor frecuencia y abundancia (aprox. uno a 61 organismos). En contraste con las especies: *Arcella discoides*, *Arcella megastoma*, *Centropyxis constricta* var. *spinosa*, *Cyclopyxis eurystoma*, *Euglypha acanthophora*, *Euglypha laevis*, *Euglypha rotunda* y *Paraquadrula irregularis*, fueron las especies menos frecuentes y con menos abundancia en las muestras (aprox. uno a cuatro organismos).

El grupo cuatro, se conformó por siete muestras (dos de sedimento y cinco de biopelículas) pertenecientes a diferentes zonas del cenote X-Batún, es importante mencionar que este grupo se conformó por las muestras con mayor abundancia de organismos (aprox. uno a 91 organismos).





Las especies más frecuentes coinciden con el grupo tres, a excepción de la especie *Arcella vulgaris*, especie que se presentó en baja abundancia (aprox. uno a dos organismos), al igual que *Arcella megatsoma* y *Cyclopyxis eurystoma*.

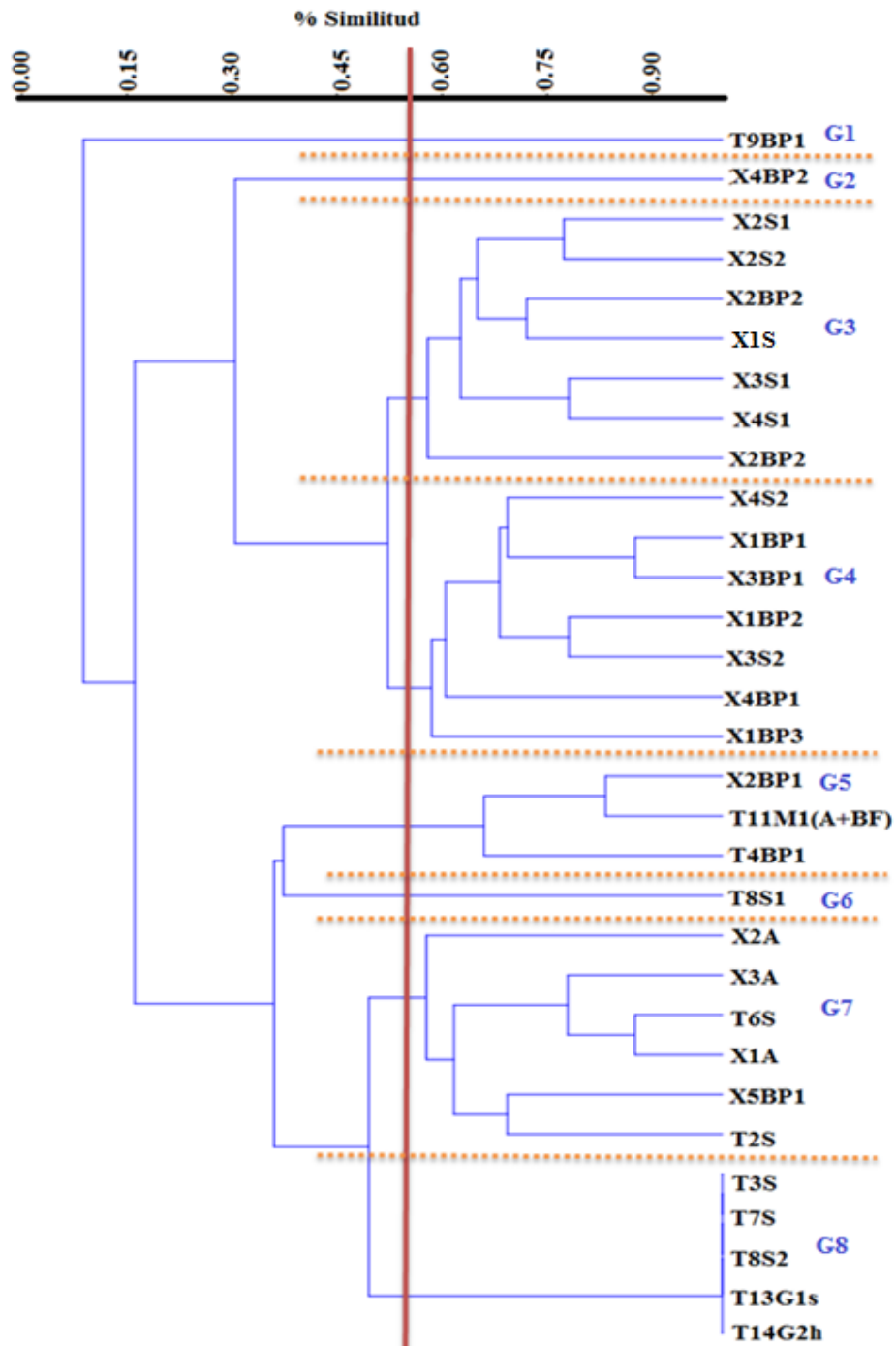
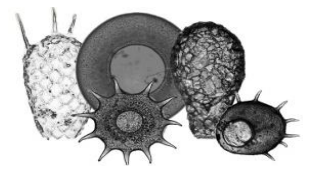
El grupo cinco, se conforma por tres muestras de biopelículas, dos pertenecientes al sistema de cenotes T-Zabnáh y una al cenote X-Batún. Las especies *Euglypha laevis* y *Tracheleuglypha dentata*, son las especies más frecuentes y abundantes (aprox. dos a 15 organismos).

El grupo seis, se conformó por una muestra de sedimento perteneciente al sistema de cenotes T-Zabnáh, donde las especies *Centropyxis aculeata* var. *aculeata* y *Tracheleuglypha dentata*, fueron las más abundantes (aprox. dos a cuatro organismos).

El grupo siete, se conforma por muestras del sistema de cenotes T-Zabnáh y del cenote X-Batún, los biotopos representados fueron agua, sedimento y biopelícula. El grupo se caracterizaron por las especies *Tracheleuglypha dentata* y *Trinema lineare*, que fueron las especies más frecuentes y presentaron la mayor abundancia de organismos (aprox. uno a cinco organismos).

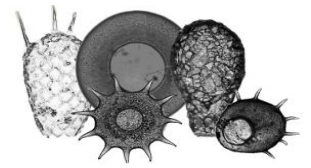
El grupo ocho, se conformó por seis muestras del sistema de cenotes T-Zabnáh, las cuales presentaron el mismo valor de similitud, al presnetar las mismas especies, en las muestras de sedimento la especie registrada fue *Tracheleuglypha dentata*, presentando una baja abundancia (aprox. dos a seis organismos) y en las muestras de guano la única especie registrada fue y *Trinema lineare* con una abundancia de igual manera baja (uno a dos organismos).





**Figura 48.** Agrupamiento de similitud de Bray-Curtis de las muestras de biotopos del sistema de cenotes T-Zabnáh y el cenote X-Batún. Corte de grupos (línea roja) y división de los grupos (líneas punteadas). Ver anexo 2.





## 6.2 Análisis de componentes principales

En el análisis de componentes principales, no se logró observar alguna influencia de las variables ambientales sobre la presencia/ausencia de amibas tecadas, sin embargo, se observó la formación de cuatro grupos, similares a los que se mostraron en el dendograma de similitud (Fig. 49).

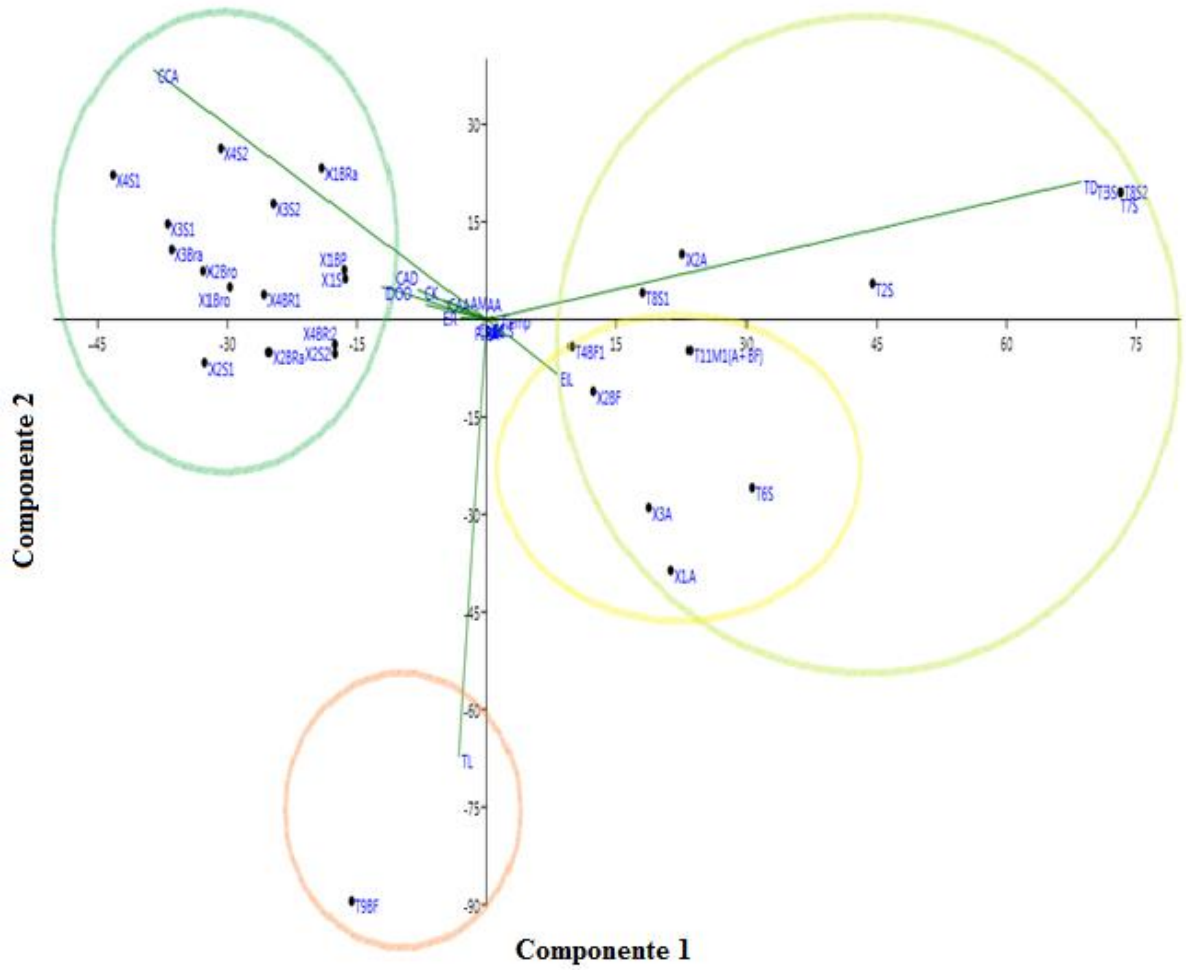
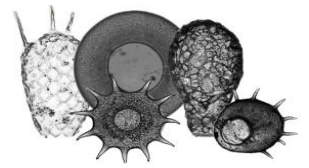
El primer grupo se llamó "CCA", por ser las abreviaturas de la especie *Centropyxis constricta* var. *aerophila*, la cual caracterizo a este grupo conformado por 14 muestras del sistema X-Batún, donde se puede observar que los sitios X1BRa, X3S2 y X4S2 cercanos al vector CCA, fueron los sitios donde la especie *Centropyxis constricta* var. *aerophila* fue la más abundante.

El segundo grupo "TD", nombrado así por la especie *Tracheleuglypha dentata*, formado por muestras del sistema de cenotes T-Zabnáh y cenote X-Batún. Se observó que los sitios: T3S, T8S1 y T7S cercanos al vector "TD", solo presentaron la presencia de la especie *Tracheleuglypha dentata*; a pesar de que fueron pocos los organismos observados en estas muestras, esto represento el 100 % de la muestra, lo cual explica su agrupación en la parte final del vector. Por otro lado los sitios T8S1 y X2A, también cercanos al vector "TD" presentaron más especies, sin embargo la especie más abundante en ellos fue *Tracheleuglypha dentata*.

El tercer grupo "EL", nombrado así por la especie *Euglypha laevis*, se observaron en muestras del sistema T-Zabnáh y cenote X-Batún, donde las muestras de los sitios T4BF1, X2BF y T11M1(A+BF), la especie *Euglypha laevis* fue la más abundante.

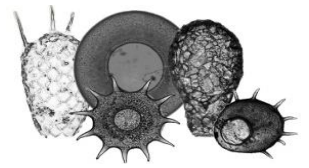
El cuarto grupo "TL", nombrado así por la especie *Trinema Lineare*, se conformó por una muestra del sitio T9BF perteneciente al sistema T-Zabnáh, donde solo se observó esta especie a pesar de no ser tan abundante.





**Figura 49** Análisis de componentes principales (PCA), de las diferentes muestras del cenote X-Batún y sistema de cenotes T-Zabnáh





## 6.2 Análisis de correspondencia sin tendencia

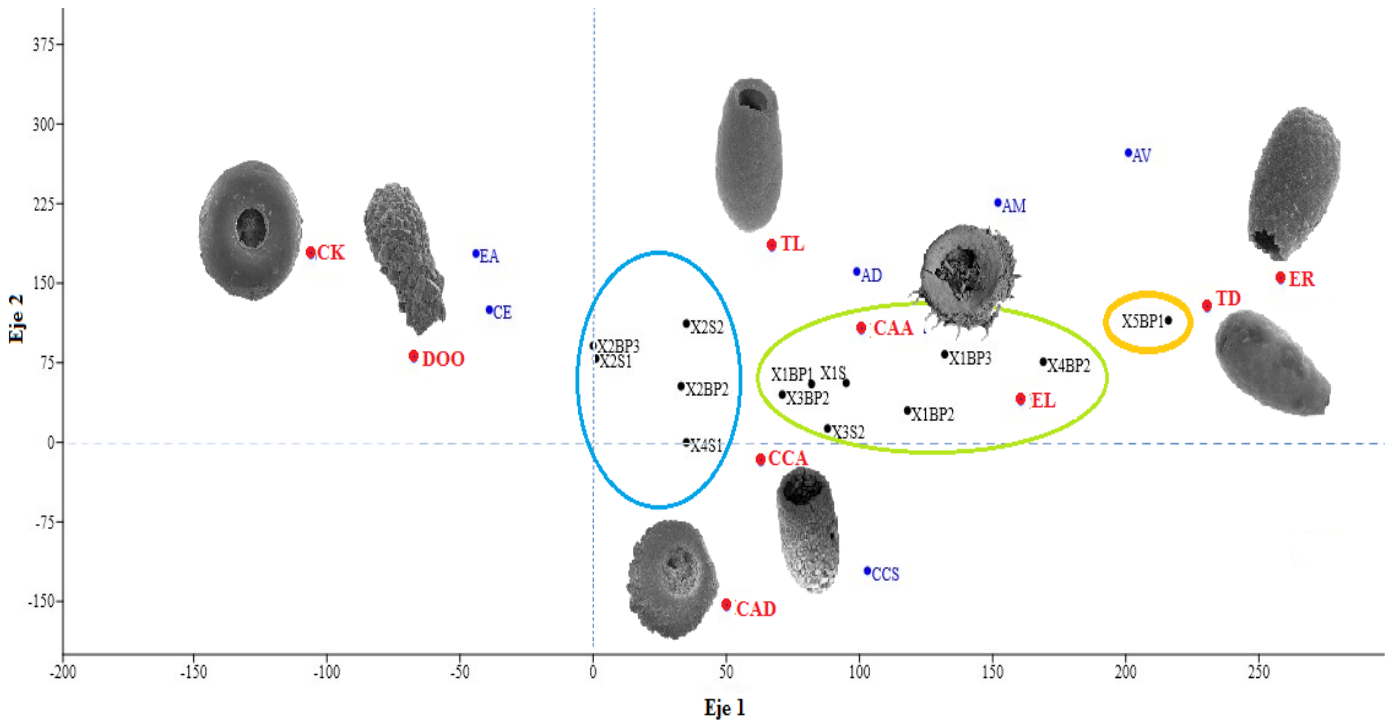
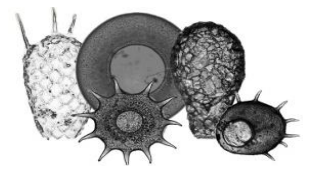
Las muestras seleccionadas para el análisis, pertenecieron al cenote X-Batún, debido a que la mayoría de estas presentaron una gran abundancia de organismos. Como se observa en la figura 50, se formaron tres grupos; el grupo azul estuvo conformado por muestras de la zona dos y cuatro, de las cuales la mayoría fueron muestras de sedimento, cercanas a este grupo observamos a las especies: *Centropyxis constricta* var. *aerophila*, *Cyclopyxis khali* y *Diffflugia oblonga* var. *oblonga*, las cuales fueron las especies más frecuentes en este grupo.

Las muestras que conformaron el grupo verde, fueron en su mayoría muestras de biopelículas de las zonas uno, tres y cuatro del cenote X-Batún, que como se mencionó anteriormente en el análisis de cluster, las biopelículas presentaron la mayor riqueza y abundancia de amibas tecadas, donde las especies más frecuentes fueron: *Centropyxis constricta* var. *aerophila*, *Centropyxis aculeata* var. *aculeata*, *Centropyxis aculeata* var. *discoïdes* y *Euglypha laevis*.

Por último el grupo naranja lo conformo una muestra de biopelícula de la zona 5, donde se registró una baja riqueza de amibas tecadas a comparación de los otros grupos, donde las especies más frecuentes y abundantes fueron: *Euglypha rotunda* y *Tracheleuglypha dentata*.

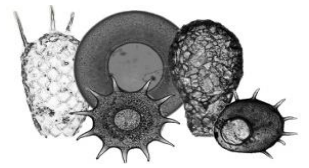






**Figura 50.** Análisis de correspondencia sin tendencia (DCA) de las muestras de biotopos del cenote X-Batún; en negro se muestran las zonas de muestreo; las especies de amibas tecadas más frecuentes en rojo y las especies menos frecuentes en azul morado. *Arcella discoides* (AD); *Arcella megastoma* (AM); *Arcella vulgaris* (AV); biopelícula (BP); *Centropyxis aculeata* var. *aculeata* (CAA); *Centropyxis aculeata* var. *discoides* (CAD); *Centropyxis constricta* var. *aerophila* (CCA); *Centropyxis constricta* var. *spinosa* (CCS); *Cyclopyxis eurystoma* (CE); *Cyclopyxis khali* (CK); *Diffflugia oblonga* var. *oblonga* (DOO); *Euglypha acantophora* (EA); *Euglypha laevis* (EL); *Euglypha rotunda* (ER); sedimento (S); *Tracheleuglypha dentata* (TD); *Trinema lineare* (TL).





## IX DISCUSIÓN

Hoy en día, el estudio de amibas tecadas en cuerpos de agua como son los cenotes, es escaso teniendo solo dos estudios registrados en este tipo de sistemas, en los cuales no se hace una comparación de la riqueza específica en diferentes biotopos. En el presente trabajo realizado en el sistema de cenotes T-Zabnáh, cenotes X-Batún y D-Zombakal, ubicados en el estado de Yucatán, se logró identificar a 17 taxones de amibas tecadas, de las cuales seis taxas de amibas tecadas identificadas coinciden con la población registrada anteriormente en este tipo de cuerpos de agua por van Hengstum y cols. en el 2008.

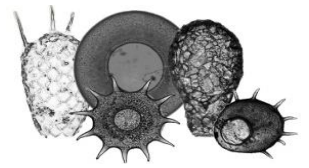
De los tres sitios de muestreo, el cenote X-Batún presento la mayor riqueza de amibas tecadas (17 taxas), seguido del sistema de cenotes T-Zabnáh (diez taxas), quedando en último lugar el cenote D-Zombakal (cero taxas), donde no se logró observar la presencia de amibas tecadas.

### 1. Sistema de cenotes T-Zabnáh

En el caso del sistema de cenotes T-Zabnáh, se observó una baja riqueza y abundancia de amibas tecadas a comparación de la registrada en el cenote X-Batún. El biotopo más diverso fué el sedimento, quedando las biopelículas y el agua en segundo y tercer lugar. Esto es de esperarse ya que se conoce que el sedimento es el sustrato donde preferentemente se suelen encontrar amibas tecadas, siendo reportados como organismos bentónicos (Escobar *et al.*, 2008). Sin embargo, los géneros más frecuentemente observados fueron: *Euglypha*, *Tracheleuglypha* y *Trinema*, los cuales se caracterizan por la presencia de tecas autogénicas, es decir la teca es elaborada por el propio organismo, siendo relativamente escasos los géneros de teca aglutinada (xenogénicas), esto nos puede estar indicando que la baja abundancia de amibas tecadas xenogénicas en el sedimento del sistema de cenotes T-Zabnáh, se podría deber a que este no es adecuado para la elaboración de tecas xenogénicas, ya que en sustratos muy compactos la ausencia de material xenosómico para la construcción de la teca, suele ser una limitante en la población de las amibas tecadas (Laminger, 1978), de igual manera que los sustratos arenosos son típicamente bajos en nutrimentos y son inhóspitos para las amibas tecadas (Patterson y Kumar, 2002; Roe y Patterson, 2009).

Por otra parte hay que tener en cuenta que el sistema de cenotes T-Zabnáh se encuentra en una gruta donde la entrada de materia orgánica a los cuerpos de agua es escasa, donde el guano que





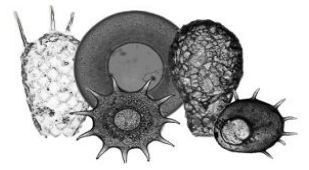
cae directamente en la superficie sea la principal fuente de esta, lo que desfavorece la proliferación de amibas tecadas, sin dejar de lado que estos cuerpos de agua pueden estar siendo sometidos a una fuente de estrés, debido a que el impacto antropogénico que hoy en día se tiene en Yucatán sobre estos cuerpos de agua, ha ido incrementando a lo largo de los últimos años, siendo la agricultura una de las actividades con mayor impacto hacia la calidad del agua de los cenotes, debido al uso de una gran cantidad de plaguicidas, los cuales pueden tener efectos adversos a largo plazo sobre los organismos vivos (Rendón, 2016). Rodríguez y cols., (2018), reportaron, que en las aguas subterráneas de los cenotes del municipio de Tecóh (lugar donde se encuentra ubicado el sistema de cenotes T-Zabnáh), se registraron valores elevados de heptacloro y lindano, esto también puede llegar a tener una relación con la baja diversidad de amibas tecadas, sin embargo hace falta un estudio más completo sobre el agua y sedimento de este sistema, para poder descartar que, estos cuerpos de agua estén siendo afectados por el impacto antropogénico.

## 2. Cenote X-Batún

El cenote X-Batún presentó la mayor riqueza y abundancia de amibas tecadas (17 taxas) tanto en cultivos como en muestras fijadas a comparación del sistema de cenotes T-Zabnáh, lo cual puede atribuirse a la presencia de materia orgánica que caía en la superficie al ser un cenote de tipo abierto, así como la gran diversidad de flora que hay en este cenote, ya que según lo reportado por Ledeganck y cols. (2003), en sitios con una gran diversidad de vegetación existe una estrecha correlación entre esta y la elevada riqueza de especies de amibas tecadas.

El biotopo que registro la mayor riqueza y abundancia de amibas tecadas en el cenote X-Batún, fueron las biopelículas, como lo reporta Esquivel (2018), esto puede deberse a que este biotopo está formado por sustancias poliméricas extracelulares producto del metabolismo de la flora y fauna que se desarrolla sobre las algas, plantas, rocas, agua y sustratos artificiales; las biopelículas proveen un microhabitat que brinda protección, humedad y alimento a un gran número de microorganismos heterótrofos como son las amibas tecadas. El segundo biotopo con mayor riqueza y abundancia de amibas tecadas, fue el sedimento, comparando las especies registradas en el sistema de cenotes T-Zabnáh con las registradas en el cenote X-Batún, observamos que en X-Batún las especies con teca de origen xenogénica presentan una mayor abundancia en este biotopo, lo que nos indica que el sedimento en este cuerpo de agua es





adecuado para la elaboración de dichas tecas, ya que se ha reportado que las amibas tecadas tienen preferencia en sedimentos acuáticos con partículas minerales que facilitan la construcción de su teca (Mattheeussen *et al.* 2005).

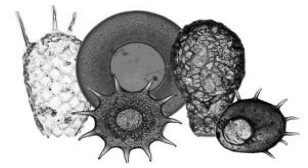
La elevada frecuencia y abundancia de especies del género *Centropyxis* en las muestras del cenote X-Batún, nos hace inferir que este cuerpo de agua puede estar siendo sometido a alguna fuente de estrés, basándonos en estudios donde reportan que los taxones pertenecientes al género *Centropyxis* son considerados oportunistas y adaptados a una variedad de condiciones, como bajo suministro de nutrientes, temperatura y agua contaminada (Holkova, 2007; Camacho *et al.*, 2015), también se han descrito como colonizadores de sitios altamente contaminados por arsénico (As) y mercurio (Hg) (Patterson *et al.*, 1996).

### 3. Cenote D-Zombakal

En el cenote D-Zombakal no se registró la presencia de amibas tecadas, aunque este tenía las condiciones fisicoquímicas para la proliferación de amibas tecadas. Una causa de esto puede ser que el único biotopo que se recolectó fue el del agua, ya que no se observó la presencia de biopelículas y el sedimento al que se tenía acceso era demasiado compacto lo cual dificultó la recolecta del mismo.

Con los resultados observados, podemos inferir que en el cenote D-Zombakal, al ser un cenote de tipo semiabierto, donde no se observó la presencia de vegetación alrededor del cuerpo de agua, hay una escasa productividad primaria, lo cual dificulta la proliferación de ciertos organismos como bacterias o protozoos, esto se confirma ya que en todos los cultivos de muestras del cenote D-Zombakal, no se observó la presencia de ningún microorganismo (bacterias o protozoos) a diferencia de los cultivos del cenote T-Zabnáh en donde sí hubo presencia de protozoos, a pesar de no haber observado una gran diversidad en las muestras fijadas, sin embargo, se necesitarían hacer un estudio más completo sobre la calidad del agua de este cenote y poder confirmar esta aseveración, ya que estudios sobre amibas tecadas en otros cuerpos de agua han demostrado que factores fisicoquímicos como la temperatura, pH, oxígeno disuelto, conductividad, el contenido orgánico de los sedimentos, entre otros, tienen cierta influencia sobre la diversidad de las amibas tecadas (Payne *et al.*, 2008).





#### 4. Parámetros fisicoquímicos del agua

Los valores de temperatura del agua registrados en los tres sitios de muestreo (Cuadros. 21, 23 y 24) se encuentran entre la temperatura media del agua en cenotes (Schmitter-Soto *et al.*, 2002). En el caso de los valores de pH registrados en los sitios de muestreo, estos fueron valores de pH entre 7-8, que son valores típicos de estos sistemas ya que, por la naturaleza del suelo de la península, se suele presentar niveles de pH básicos (Schmitter-Soto *et al.*, 2002; Elías *et al.*, 2007; Cervantes-Martínez *et al.*, 2009). Así mismo estos valores de pH se consideran idóneos para la supervivencia de amibas tecadas, estudios han reportado que en ambientes lacustres con un pH alcalino, se presentan una alta diversidad de especies, debido a que en medios con pH ácido, algunas tecas (siendo principalmente las idiosómicas o autógenas) suelen disolverse (Escobar *et al.*, 2008).

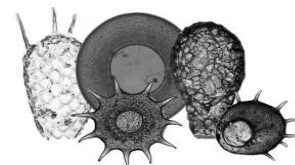
En el caso de los valores de conductividad registrados en los sitios de muestreo, el sistema de cenotes T-zabnáh registro una conductividad por debajo de los valores promedio para un ambiente kárstico, valores de conductividad que oscilan entre los 0.6 y los 0.8 mS/cm (Bibiano *et al.*, 2015). En el cenote X-Batún y cenote D-Zombakal, los valores de conductividad estuvieron entre los 1.8 y 2 mS/cm, siendo más elevados a comparación de los registrados en el sistema de cenotes T-Zabnáh, rebasando los valores descritos para sistemas kársticos, estos dos últimos sistemas presentan mayor profundidad, lo cual puede estar influyendo para presentar esos elevados valores de conductividad, ya que se sabe que existe una correlación entre la conductividad y la profundidad de estos sistemas, ya que sistemas con una profundidad de 70 m presentan conductividades entre 1.7 y 2.51 mS/cm (Elías *et al.*, 2007), sin dejar de lado que en sistema kársticos la concentración de iones como carbonatos suele ser elevada y puede estar siendo reflejada en las altas conductividades.

#### 5. Análisis estadísticos

##### 5.1 Índice de similitud de Bray-Curtis

En el dendograma de similitud, se observaron ocho grupos; los grupos uno, cinco, seis y ocho, que agrupan muestras de biopelículas, guano y sedimento pertenecientes al sistema de cenotes T-Zabnáh, donde se registró una baja riqueza y abundancia de amibas tecadas, siendo las especies *Euglypha laevis*, *Tracheleuglypha dentata* y *Trinema lineare*, las más frecuentes. Como





se mencionó anteriormente; la falta del material adecuado en el sedimento para la elaboración de las tecas de especies xenogénicas, puede ser un factor importante para la baja riqueza y abundancia de amibas tecadas en el sistema de cenotes T-Zbanáh. En el caso de los grupos tres y cuatro estos fueron conformados por muestras de biotopos como biopelícula y sedimento perteneciente al cenote X-Batún, presentaron una elevada similitud entre sus muestras, ya que es en estas es donde se registró la mayor riqueza y abundancia de amibas tecadas. Por último el grupo siete se conformó por muestras del cenote X-Batún y Sistema de cenotes T-Zabnáh, en este grupo se observó la presencia de especies con teca de origen idiosómico; *Tracheuglypha dentata*, *Euglypha laevis* y *Trinema lineare*, las cuales caracterizaron a los diferentes grupos, dichas especies se presentaron en bajas abundancias en el biotopo agua y debido a su pequeño tamaño son especies de amibas tecadas que pueden ser dominantes en el plancton, ya que características como: la capacidad de formar vacuolas gaseosas para la flotación, la producción de tecas con menor densidad, una mayor tasa de reproducción y una reducción en su tamaño, resultan ventajosas para su mantenimiento en la columna de agua (Alves *et al.*, 2012),

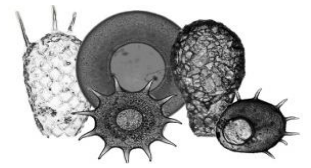
## 5.2 Análisis de componentes principales

En el PCA, no se logró observar alguna influencia de las variables ambientales con la presencia o ausencia de amibas tecadas en las muestras revisadas. No obstante, podemos observar el agrupamiento de las muestras con mayor riqueza y abundancia de amibas tecadas, las cuales pertenecieron al cenote X-Batún, donde la especie *Centropyxis constricta* var. *aerophila* fue la más abundante en este sitio de muestreo, el cual presento una elevada conductividad a comparación del sistema de cenotes T-Zabnáh, que como se mencionó anteriormente registro una baja riqueza y abundancia de especies, donde las especies más frecuentes y abundantes fueron *Tracheuglypha dentata* y *Euglypha laevis*.

Debido a lo anterior podemos inferir que los sitios con mayor riqueza de organismos, puede estar relacionada con la conductividad, indicando la presencia de materia orgánica en los cuerpos de agua, lo cual nos puede estar reflejando la productividad de los cuerpos de agua, ya que está ligada a la disponibilidad de recursos alimentarios y beneficia la presencia de comunidades de protozoos entre ellos las amibas tecadas (Roe *et al.*, 2009), sin embargo hace falta un estudio más detallado sobre la geoquímica de estos cuerpos de agua, así como poder medir otras variables ambientales y poder confirmar esta aseveración.







### 5.3 Análisis de correspondencia sin tendencia

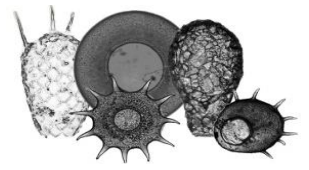
Las relaciones ambiente-especie de acuerdo con el análisis de correspondencia sin tendencia, demostraron que ciertas especies como *Diffflugia oblonga* var. *oblonga* y *Cyclopyxis khali*, taxones que han sido reportados como indicadores de cuerpos de agua mesotróficos, tuvieron cierta afinidad al sedimento de la zona dos, ya que este presentaba un aspecto de "tierra negra", característica de sedimentos ricos en materia orgánica, y que suelen ser preferidos por la especie *Diffflugia oblonga* var. *oblonga* (Roe y Patterson, 2014). Así mismo las zona dos pueden ser un punto de colecta para especies como *Cyclopyxis eurystoma*, y *Paraquadrulla irregularis*, especies que solo se registraron en las muestras de esa zona.

De la misma manera que en el análisis de clúster, se observó un grupo conformado por las muestras de biopelícula de diferentes zonas del cenote X-Batún (grupo de color verde), las cuales registraron la mayor riqueza y abundancia de organismos, siendo *Centropyxis constricta* var. *aerophila* la especie más abundante en este grupo y que ha sido reportada anteriormente en estos cuerpos de agua por van Hengstum y cols. en el 2008, refiriéndola como una especie capaz de tolerar diferentes gradientes de salinidad y que probablemente sea una especie característica de estos cuerpos de agua.

En este mismo grupo se observó la frecuencia de *Centropyxis aculeata* var. *discoides* y *Centropyxis aculeata* var. *aculeata*, especies que han sido referidas como especies oportunistas capaces de tolerar condiciones ambientales benignas o adversas (Zapata *et al.*, 2002; Fernandez *et al.*, 2012) ambas especies se han reportado en cuerpos de agua salobre en las regiones costeras, así como en lagos acidificados por minas, contaminados por metales u otros materiales y con bajos niveles de oxígeno (Roe y Patterson, 2014), las cuales nos hacen inferir que este cuerpo de agua pueda estar siendo sometido a una fuente de estrés.

Las especies *Euglypha rotunda* y *Tracheleuglypha dentata*, mostraron una relación al ser las especies más abundantes en la muestra de biopelícula de la zona cinco, estas especies se caracterizan por presentar una teca de sílice la cual se ve favorecida por el pH de este cuerpo de agua, ya que al ser un pH casi básico, la preservación de tecas autogénicas es mayor a comparación de cuerpos de agua con pH ácidos, donde la teca suele disolverse.

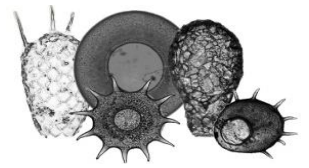




## IX. CONCLUSIONES

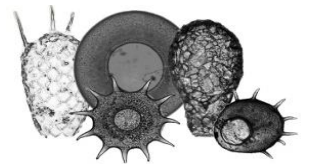
1. El presente trabajo contribuyó al conocimiento de las amibas tecadas generando un segundo antecedente de la presencia de estos organismos en cenotes del estado de Yucatán.
2. Fueron identificadas 17 taxas de amibas tecadas, divididas en nueve géneros, 15 especies y cinco variedades, de los cuales 11 son nuevos registros en cenotes del estado de Yucatán.
3. Se aislaron e identificaron 1455 organismos, divididos en ocho géneros, de los cuales *Centropyxis*, *Euglypha* y *Tracheleuglypha*, fueron los géneros más representativos.
4. Se elaboró un registro microfotográfico de las especies de amibas tecadas identificadas en los sitios de muestreo.
5. De los tres sitios de muestreo solo se observó la presencia de amibas tecadas en las muestras del cenote X-Batún y sistemas de cenotes T-Zabnáh. De los cuales la mayor riqueza de amibas tecadas fue en el cenote X-Batún, mientras que la menor se registró en el sistema de cenotes T-Zabnáh (diez taxas). El cenote con mayor abundancia de organismos fue X-Batún, ya que del total del 100% de individuos aislados en todo el estudio, el 95 % se localizó en este cenote y el 5 % restante se localizó en las muestras del sistema de cenotes T-Zabnáh.
6. En el sistema de cenotes T-Zabnáh y cenote X-Batún, se recolectaron los cuatro biotopos estudiados: agua, biopelículas, sedimento y guano, para el caso del cenote D-Zombakal, solo se recolectaron muestras de agua, debido a la ausencia de los demás biotopos. Los biotopos que presentaron la mayor riqueza de especies fueron; el sedimento (diez taxas) en el sistema de cenotes T-Zabnáh y las biopelículas (17 taxas) en el cenote X-Batún, fueron las biopelículas con 17 taxas.





7. La variedad más abundante reportada en este estudio fue *Centropyxis constricta* var. *aerophila*, representando casi el 37 % del total de los organismos contabilizados.
8. De acuerdo con el análisis de componentes principales, no se relacionó ningún factor fisicoquímico del agua con la presencia y abundancia de amibas, sin embargo, la conductividad parece ser el parámetro que podría estar influyendo en la proliferación de amibas tecadas, ya que en sitios con una conductividad elevada se registró una mayor riqueza de especies de amibas tecadas.
9. Hacen falta más estudios sobre la ecología de las amibas tecadas en estos cuerpos de agua, así como medir otros factores fisicoquímicos en agua y sedimentos, lo cual podría explicar porque en sitios donde las condiciones son idóneas para su reproducción, como fue el caso del cenote D-Zombakal, estas no lograron observarse.
10. La presencia de especies del género *Centropyxis*, el cual ha sido reportado como indicador de cuerpos de agua perturbados, nos hace inferir que los cuerpos de agua muestreados en este trabajo pueden estar siendo sometidos a una fuente de estrés.





## X. LITERATURA CITADA

Adl, S. M., Simpson, A. G., Lane, C. E., Lukeš, J., Bass, D., Bowser, S. S. y Heiss, A. 2012. The revised classification of eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 59 (5): 429-514.

Aguilar, V. 2003. Aguas continentales y su diversidad biológica. *Biodiversitas*. 48: 1-15.

Alves, G. M., Velho, L. F. M., de Moraes Costa, D. y Lansac-Tôha, F. A. 2012a. Size structure of testate amoebae (Arcellinida and Euglyphida) in different habitats from a lake in the upper Paraná River floodplain. *European Journal of Protistology*. 48 (3): 169-177.

Alves, G. M., Velho, L. F. M., Simões, N. R. y Lansac-Tôha, F. A. 2010b. Biodiversity of testate amoebae (Arcellinida and Euglyphida) in different habitats of a lake in the Upper Paraná River floodplain. *European Journal of Protistology*. 46 (4): 310-318.

Aoki, Y., Hoshino, M., y Matsubara, T. 2007. Silica and testate amoebae in a soil under pine-oak forest. *Geoderma*. 142 (1-2): 29-35.

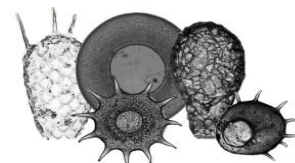
Asada, T. y Warner, B. G. 2009. Plants and testate amoebae as environmental indicators in cupriferous peatlands, New Brunswick, Canada. *Ecological Indicators*. 9 (1):129-137.

Barnett, R. L., Newton, T. L., Charman, D. J. y Gehrels, W. R. 2017. Salt-marsh testate amoebae as precise and widespread indicators of sea-level change. *Earth-Science Reviews*. 164: 193-207.

Beddows, P., Blanchon, P., Escobar, E. y Torres-Talamante, O. 2007. Los cenotes de la península de Yucatán. *Arqueología Mexicana*. 83: 32-35.

Benítez, L. S. A. 2014. *Variación en la Estructura y Composición de la Fauna Anquihalina del Sistema Ox Bel Ha (Península de Yucatán) a través de un gradiente de distancia desde la zona litoral*. Tesis de Maestría en Ciencias (Biología). Universidad Nacional Autónoma de México. México. 77 p.





Bibiano, L., Gárfias, J. y Llanos, H. 2015. Hidrogeoquímica y procesos naturales de ablandamiento del agua subterránea en sistemas kársticos. *Tecnología y Ciencias del Agua*. 6 (3): 57-78.

Bobrov, A. A. y Krasil'Nikov, P. P. 2011. Testate amoebas of pine forests in México. *Biology Bulletin*. 4: 470-476

Bonnet, L. 1975. Type morphologique, ecologie et évolution de la thèque chez les Thécamoebiens. *Protistologica*. 11: 363-378.

Bonnet, L. 1997. Faunistique et biogéographie des Thécamoebiens.I. Thécamoebiens des sols du Mexique. *Extrait du Bulletin de la Société D' Histoire Naturelle de Toulouse*. 113 (1-2): 1-5.

Camacho, S., Connor, S., Asioli, A., Boski, T. y Scott, D. 2015. Testate amoebae and tintinnids as spatial and seasonal indicators in the intertidal margins of Guadiana Estuary (southeastern Portugal). *Ecological Indicators*. 58: 426-444.

Cervantes-Martínez, A., Mezeta-Barrera, M. y Gutiérrez-Aguirre, M. A. 2009. Limnología básica del lago kárstico turístico Cenote Azul en Quintana Roo, México. *Hidrobiológica*. 19 (2): 177-180.

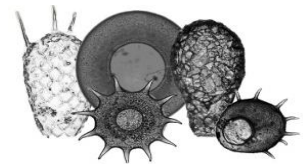
Charman, D. J. 2001. Biostratigraphic and paleoenvironmental applications of testate amoebae. *Quaternary Science Reviews*. 20 (16-17): 1753-1764.

Charman, D. J., Hendon D. y Woodland W. A. 2000. *The Identification of Testate Amoebae (Protozoa: Rhizopoda) Peats*. QRA Technical Guide No. 9, Quaternary Research Association, London. 147 p.

Eggebrecht, E., W. Seipel. N. Grube y E. Krejci. 2001. *Mundo Maya*. Cholsamaj. Guatemala. 654 p.

Elías .G. M., Martínez. C., Aguirre, G., Ibarra, A. y Minervacoaut. A. 2007. Los cenotes y lagunas del centro y sur de la península de Yucatán. **En:** *Las Aguas Interiores de México: Conceptos y Casos/Guadalupe De la Lanza Espino*. pp. 424-445.





Ellison, R. L. y Ogden, C. G. 1987. A guide to the study and identification of fossil testate amoebae in Quaternary lake sediments. *Internationale Revue der Gesamten Hydrobiologie*. 72 (5): 639-652.

Escobar, J., Brenner, M., Whitmore, T. J., Kenney, W. F. y Curtis, J. H. 2008. Ecology of testate amoebae (thecamoebians) in subtropical Florida lakes. *Journal of Paleolimnology*. 40 (2):715-731.

Esquivel, S. M. 2018. *Estudio de amibas potencialmente patógenas en biotopos de tres sistemas de cenotes en el estado de Yucatán, México*. . Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias. México. Universidad Nacional Autónoma de México. 69 p.

Fernández, L. D. y Zapata, J. 2012. Variación estacional en la comunidad de amebas testadas de una turbera temperada del sur de Chile. *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción*. Chile: 80:27-39.

Flores, F. M. L. 2012. *Estudio Taxonómico de Protozoos de Vida Libre (Ciliados, Rizópodos y Euglenoideos) de un Manantial y una Caída de Agua del Estado de México*. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias. México. Universidad Nacional Autónoma de México. 84 p.

Gallegos-Neyra, E., Lugo-Vázquez, A., Calderón-Vega, A., Sánchez-Rodríguez, M. y Mayén-Estrada, R. 2014. Biodiversidad de protistas amébidos de vida libre en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 85: S10-S25.

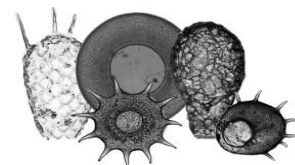
Gaona-Vizcaíno, S .M., Villasuso. Pino, J. Pacheco, A. Cabrera, J. Trejo, G. A. Thchee, C. Tamayo, V. Coronado, J. Durazo y Perry. E. 1985. Hidrogeoquímica de Yucatán 1: perfiles hidrogeoquímicos profundos en algunos lugares del acuífero del noroeste de la Península de Yucatán. *Boletín Instituto de Geofísica, UNAM, México*, 16: 1-30.

Gerrard, S. 2000. *The Cenotes of the Riviera Maya*. Ed. Rose Printing Inc., Tallahassee, Florida. 242 p.

Golemansky, V. 1967. Tecamebianos muscícolas (Rhizopoda, Testacea) de México. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural*. 28: 73-78.







Holková, K. 2007. Thecamoebians from the upper Vltava River (Sumava Mountains, Czech Republic): species composition of assemblages vs. environment in streams. *The Journal of Foraminiferal Research*. 37 (4): 287-299.

Jauhiainen, S. 2002. Testacean amoebae in different types of mire following drainage and subsequent restoration. *European Journal of Protistology*. 38: 59-72.

Kosakyan, A., Gomaa, F., Lara, E. y Lahr, D. J. 2016. Current and future perspectives on the systematics, taxonomy and nomenclature of testate amoebae. *European Journal of Protistology*. 55:105-117

Krashevskaya, V., Bonkowski, M., Maraun, M., Ruess, L., Kandeler, E., y Scheu, S. 2008. Microorganisms as driving factors for the community structure of testate amoebae along an altitudinal transect in tropical mountain rain forests. *Soil Biology and Biochemistry*. 40 (9): 2427-2433.

Kumar, A. y Dalby, A. P. 1998. Identification key for Holocene lacustrine arcellacean (thecamoebian) taxa. *Paleontología Electrónica*, 1(1):1-39

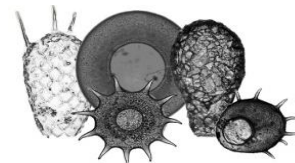
Lamentowicz, Ł., Gąbka, M., Rusińska, A., Sobczyński, T., Owsiany, P. M. y Lamentowicz, M. 2011. Testate amoeba (Arcellinida, Euglyphida) ecology along a poor-rich gradient in fens of western Poland. *International Review of Hydrobiology*. 96 (4): 356-380.

Laming, H. 1978. The effects of soil moisture fluctuations on the testacean species *Trinema enchelys* (Ehrenberg) Leidy in a high mountain brown-earths-podsol and its feeding behaviour. *Archiv für Protistenkunde*, 120(4), 446-454.

Ledeganck, P., Nijs, I., y Beyens, L. 2003. Plant functional group diversity promotes soil protist diversity. *Protist*, 154(2), 239-249.

Mattheeussen, R., Ledeganck, P., Vincke, S., Van de Vijver, B., Nijs, I., y Beyens, L. 2005. Habitat selection of aquatic testate amoebae communities on Qeqertarsuaq (Disko Island), West Greenland. *Acta protozoologica. -Warszawa*, 44(3), 253-263.





Medioli, F. S. y Scott, D. B. 1988. Lacustrine thecamoebians (mainly arcellaceans) as potential tools for paleolimnological interpretations. *Paleogeography, Paleoclimatology, Paleoecology*. 62:361-386.

Mignot, J. P. y Raikov, J. B. 1992. Evidence for meiosis in the testate amoeba *Arcella*. *Journal Eukaryotic Microbiology*. 39 (2):287-289.

Müller, S., Bobrov, A. A., Schirrmeister, L., Andreev, A. A. y Tarasov, P. E. 2008. Testate amoebae record from the Laptev Sea coast and its implication for the reconstruction of late Pleistocene and Holocene environments in the Arctic Siberia. *Paleogeography, Paleoclimatology, Paleoecology*, 271(3-4): 301-315.

Nasser, N. A., Patterson, R. T., Roe, H. M., Galloway, J. M., Falck, H., Palmer, M. J. y Neville, L. A. 2016. Lacustrine Arcellinida (Testate Amoebae) as bioindicators of arsenic contamination. *Microbial Ecology*. 72 (1): 130-149.

Ogden, C. G. y Hedley, R. H. 1980. *An Atlas of Freshwater Testate Amoebae*: Oxford University Press. New York. 225 p.

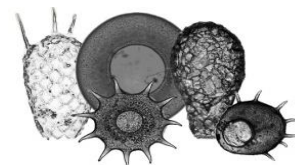
Ogden, C. G., y Meisterfeld, R. 1991. The biology and ultrastructure of the testate amoeba, *Diffflugia lucida* Penard (Protozoa, Rhizopoda). *European Journal of Protistology*. 26 (3-4); 256-269.

Patterson, R. T., Baker, T. y Burbidge, S. M. 1996. Arcellaceans (thecamoebians) as proxies of arsenic and mercury contamination in northeastern Ontario lakes. *The Journal of Foraminiferal Research*. 26 (2): 172-183.

Patterson, R. T., MacKinnon, K. D., Scott, D. B. y Medioli, F. S. 1985. Arcellaceans ("Thecamoebians") in small lakes of New Brunswick and Nova Scotia: modern distribution and Holocene stratigraphic changes. *Journal of Foraminiferal Research*. 15: 114-137.

Patterson, R. T. y Kumar, A. 2002. A review of current testate rhizopod (thecamoebian) research in Canada. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 180 (1-3): 225-251.





Payne, R. J., Charman, D. J., Matthews, S. y Eastwood, W. J. 2008. Testate amoebae as palaeohydrological proxies in sürmene ağaçbaşı yaylasi peatland (northeast Turkey). *Wetlands*. 28 (2): 311-323.

Qin, Y. M., Gu, Y. S., Xie, S. C. y Zhou, X. G. 2007. The environmental change over the last 30 years in Swan Oxbow of the Yangtze River, China: evidence from testate amoebae and pigments. *Geology Science and Technology*. 26: 37-42.

Qin, Y., Wang, J., Xie, S., Huang, X., Yang, H., Tan, K. y Zhang, Z. 2010. Morphological variation and habitat selection of testate amoebae in Dajiuhu peatland, central China. *Journal of Earth Science*. 21(1): 253-256.

Roe, H. M., Patterson, R. T., & Swindles, G. T. 2010. Controls on the contemporary distribution of lake thecamoebians (testate amoebae) within the Greater Toronto Area and their potential as water quality indicators. *Journal of Paleolimnology*, 43(4), 955-975.

Rocha, R. A., Chavez, L. R., Ramirez, R. A., y Chazaro, O. S. 2011. Comunidades. Metodos de estudio. México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM. 248 p.

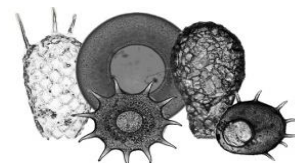
Roe, H. M. y Patterson, R. T. 2014. Arcellacea (testate amoebae) as bio-indicators of road salt contamination in lakes. *Microbial Ecology*. 68 (2): 299-313.

Rodríguez, A. G. P., López, M. I. R., Casillas, Á. D., León, J. A. A., y Banik, S. D. 2018. Impact of pesticides in karst groundwater. Review of recent trends in Yucatan, Mexico. *Groundwater for Sustainable Development*, 7, 20-29.

Ruiz, C. G. 2010. *Aspectos de la Biología y Ecología Poblacional de Creasieiella anops (Creaser, 1936) (Isópoda; Cirolanidae) en Cenotes del Norte de Quintana Roo*. Tesis de Maestria en Ciencias. (Biología). Universidad Nacional Autónoma de México. México. 66 p.

Schmitter-Soto, J.J., Comin, F.A., Escobar-Briones, E., Herrera-Silveira, J., Alcocer, J., Suarez-Morales, E., Elias-Gutierrez, M., Díaz Arce, V., Marin, L.E y Steinich, B., 2002. Hydrogeochemical and biological characteristics of cenotes in the Yucatán Península (SE México). *Hydrobiologia*. 467: 215-228.





Schönborn, W. y Peschke, T. 1990. Evolutionary studies on the *Assulina-Valkanovia* complex (Rhizopoda, Testaceafilosia) in *Sphagnum* and soil. *Biology and Fertility of Soil*. 9 (2); 95-100.

Secretaria de Desarrollo Urbano y Medio Ambiente (SEDUMAa). 2012. Tzabnáh, de Gobierno del estado de Yucatán. Disponible en: [http://www.seduma.yucatan.gob.mx/cenotes-grutas/fichas-tecnicas/Yucatan\\_Tecoh\\_cenote\\_Tzabnah.pdf](http://www.seduma.yucatan.gob.mx/cenotes-grutas/fichas-tecnicas/Yucatan_Tecoh_cenote_Tzabnah.pdf) . Fecha de acceso: Agosto 2018.

Secretaria de Desarrollo Urbano y Medio Ambiente (SEDUMAb). 2012. X'Batún, de Gobierno del estado de Yucatán. Disponible en: [http://www.seduma.yucatan.gob.mx/cenotes-grutas/fichas-tecnicas/Yucatan\\_Uman\\_cenote\\_Xbatun.pdf](http://www.seduma.yucatan.gob.mx/cenotes-grutas/fichas-tecnicas/Yucatan_Uman_cenote_Xbatun.pdf). Fecha de acceso: Agosto 2018.

Secretaria de Desarrollo Urbano y Medio Ambiente (SEDUMAc). 2012. Dzonbacal, de Gobierno del estado de Yucatán. Disponible en: [http://www.seduma.yucatan.gob.mx/cenotes-grutas/fichas-tecnicas/Yucatan\\_Uman\\_cenote\\_Dzonbacal.pdf](http://www.seduma.yucatan.gob.mx/cenotes-grutas/fichas-tecnicas/Yucatan_Uman_cenote_Dzonbacal.pdf). Fecha de acceso: Agosto 2018.

Sigala, I., Lozano-García, S., Escobar, J., Pérez, L. y Gallegos-Neyra, E. 2015. Testate amoebae (Amebozoa: Arcellinida) in tropical lakes of central México. *Revista Biología Tropical*. 64 (1):393-413.

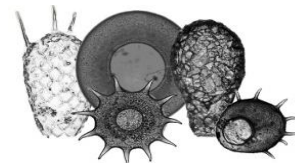
Sigala, R. I. 2008. *Registro Protozoológico en Cinco Biotopos de la Cueva de los Riscos, Querétaro, México*. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias. México. Universidad Nacional Autónoma de México. 110 p.

Siemensma. F. 2018. Microworld, world of amoeboid organisms. Disponible en: <https://www.arcella.nl/>. Fecha de acceso: Agosto 2018.

Stringfield, V. T. y LeGrand, H. E. 1974. Karst hydrology of northern Yucatan Peninsula, **En:** Weidie, A., (Ed.), *Field Seminar on Water and Carbonate Rocks of the Yucatan Peninsula, Mexico*. Nueva Orleans, Geol.Soc., pp. 25-44.

Swindles, G. T., Charman, D. J., Roe, H. M. y Sansum, P. A. 2009. Environmental controls on peatland testate amoebae (Protozoa: Rhizopoda) in the North of Ireland: implications for Holocene palaeoclimate studies. *Journal of Paleolimnology*. 42 (1): 123-140.





Swindles, G. T. y Ruffell, A. 2009. A preliminary investigation into the use of testate amoebae for the discrimination of forensic soil samples. *Science and Justice*. 49 (3): 182-190.

Tsyganov, A. N., Shatilovich, A. V., Esaulov, A. S., Chernyshov, V. A., Mazei, N. G., Malysheva, E. A. y Mazei, Y. A. 2017. Morphology and phylogeny of the testate amoebae *Euglypha bryophila* Brown, 1911 and *Euglypha cristata* Leidy, 1874 (Rhizaria, Euglyphida). *European Journal of Protistology*. 61: 76-84.

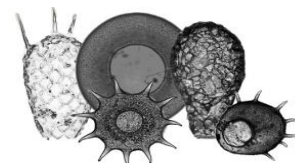
van Hengstum, P. J., Reinhardt, E. G., Beddows, P. A., Huang, R. J. y Gabriel, J. J. 2008. Thecamoebians (testate amoebae) and foraminifera from three anchialine cenotes in Mexico: Low salinity (1.5–4.5 psu) faunal transitions. *Journal of Foraminiferal Research*. 38 (4): 305-317.

van Hengstum, P. J., Reinhardt, E. G., Beddows, P. A., Schwarcz, H. P., y Gabriel, J. J. 2010. Foraminifera and testate amoebae (thecamoebians) in an anchialine cave: surface distributions from Aktun Ha (Carwash) cave system, Mexico. *Limnology and Oceanography*. 54 (1): 391-396.

Volkova, E., y Smirnov, A. 2016. Regeneration of test in testate amoebae of the genus *Arcella* (Tubulinea, Arcellinida). *European Journal of Protistology*, 55; 128-140.

Zapata, J., Álvarez, P. y Cea, C. 2002. Tecamebas del Río Contaco (40 33' 12 "S; 73 43' 00 "W), Osorno, Chile. *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción, Chile*, 73: 17-35.





## XI. ANEXOS

### Anexo 1. Soluciones e infusiones para medios de cultivo

#### Extracto liquido de suelo

Puntos a considerar antes de preparar el extracto de suelo:

- 1.- Utilice suelo de jardín, evite usar suelo de bosque o un tipo de suelo que tengan un exceso de materia orgánica, arena o arcilla.
- 2.- Revise el pH del medio preparado y ajústelo a 7
- 3.- Remueva rocas y escombros como hojas, ramas, etc., antes de usar el suelo
- 4.- Deje secar el suelo al sol aproximadamente 3 días antes de usarlo, el tiempo dependerá de la cantidad de humedad que contenga el mismo.
- 5.- Ya que el suelo este completamente seco, se pasara a través de diferentes tamices, esto con la intención de dejar el suelo lo más fino posible.

#### Procedimiento

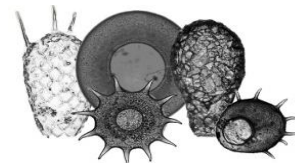
1.- Mezcle el suelo con el agua siguiendo estas proporciones:

	Botella (500mL)	Botella (250mL)	Tubo
Suelo de jardín	52g	35g	2g
Agua destilada	330mL	220mL	15mL

- 2.- Mezcle la cantidad de suelo con el volumen de agua destilada de acuerdo a las proporciones señaladas.
- 3.- Filtre la mezcla con un filtro de café
- 4.- Esterilice en autoclave a 15psi, 121°C durante 15min.







## Extracto de suelo con sales

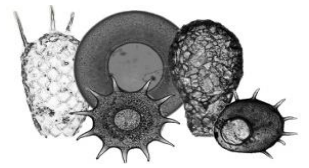
### Materiales

- ❖ Extracto liquido de suelo.....10mL
- ❖  $K_2HPO_4$ , 0.1 % p/v.....2mL
- ❖  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0.1 % p/v.....2mL
- ❖  $KNO_3$  1.0 % p/v.....2mL
- ❖ Agua destilada.....84mL

### Procedimiento

- Mezclar los volúmenes de cada solución y esterilizar en autoclave a 15psi, 121°C durante 15min.





## Solución Prescott- James (para *Amoeba proteus*)

Realiza tres soluciones stock, cada una con 100ml de agua destilada

### ❖ Solución stock A

$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 0.433\text{g}$

$\text{KCl} \text{ -----} \rightarrow 0.162\text{g}$

### ❖ Solución stock B

$\text{K}_2\text{HPO}_4 \text{ -----} \rightarrow 0.512\text{g}$

### ❖ Solución stock C

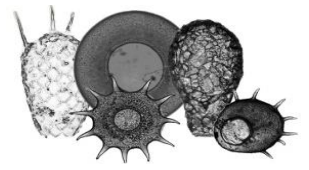
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} \rightarrow 0.280\text{g}$

### Procedimiento:

- Combine 1ml de cada solución stock y aforar a 1 litro con agua destilada para obtener la solución final.
- Esterilice en autoclave a 15psi, 121°C durante 15min.

## Infusión de granos





Use granos los cuales no hayan sido tratados con fungicidas o insecticidas.

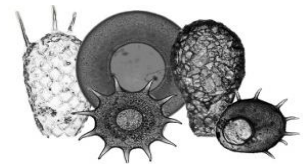
- 1.- Pase ligeramente los granos por la flama de un mechero
- 2.- Coloque el agua destilada en un vaso de precipitado o matraz
- 3.- Coloque los granos
- 4.- Caliente hasta ebullición y deje calentando hasta alcanzar el tiempo recomendado para cada grano.

Tiempo de cocción por cada tipo de grano:

- ✓ **Cebada, avena y arroz integral:** 2 o 3 granos por cada 25 a 30ml de agua. Hervir por 5 minutos
- ✓ **Alpiste:** 10 a 12 granos por cada 25 a 30ml de agua. Hervir por 5 minutos.
- ✓ **Maíz:** Use granos de maíz secos, uno por cada 25 a 30ml de agua. Hierva por 10 minutos, luego haga un hoyo a lado de cada grano de maíz
- ✓ **Mijo:** Alrededor de 5 granos por cada 25 a 30ml de agua. Hierva por un minuto.
- ✓ **Arroz integral:** 2 a 3 granos por cada 25 a 30ml de agua. Hervir solamente el agua por 5min el agua y después dejar enfriar y agregar los granos de arroz.

**Infusión de planta (Cerophyl 0.15%)**





## Material

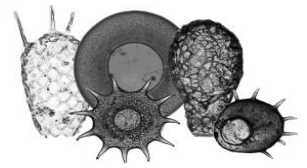
- ❖ Cerophyl..... 0.15g
- ❖ Agua destilada.....100mL
- ❖ Filtro de café
- ❖ Parilla eléctrica
- ❖ Potenciómetro

## Procedimiento

- Disolver 0.15g de cerophyl en 100mL de agua destilada, llevar a ebullición y después hervir a fuego lento por 10min.
- Clarificar la infusión pasándola a través de un filtro de café, posteriormente el pH del filtrado será ajustado a 7 usando 0.1M de NaOH.
- Esterilizar en autoclave a 15psi, 121°C durante 15min.

## Medio líquido con solución Prescott-James





## Reactivos

- ❖ Solución Prescott –James (estéril)
- ❖ Extracto de suelo con sales (estéril)
- ❖ Infusión de granos (trigo, maíz, arroz)
- ❖ Infusión de planta (Cerophyl 0.15%) (estéril)
- ❖ Tubo de concentrado de *Enterobacter aerogenes* inactivada por calor
- ❖ Concentrado de muestra centrifugada
- ❖ \*Arena de mar (estéril) (Usar para cultivo de amibas tecadas)

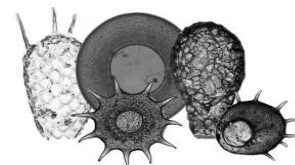
## Material

- ❖ Placa de 6 pozos para cultivo celular
- ❖ Pipetas Pasteur estériles
- ❖ Mecheros
- ❖ Pipeta de 1mL estéril
- ❖ Pinzas

## Procedimiento

- ❖ Agregar 1mL de la solución Prescott-James en cada pozo de la placa de cultivo celular a utilizar.
- ❖ Posteriormente agregar la cantidad de las soluciones en la siguiente proporción:
  - ✓ Extracto de suelo con sales: (4 gotas)
  - ✓ Infusión de granos: (3 gotas por cada infusión de trigo, maíz y arroz)
  - ✓ Infusión de planta : (3 gotas)
  - ✓ Tubo de concentrado de *Enterobacter aerogenes*: (1 gota)
  - ✓ Concentrado de la muestra centrifugada (6 gotas)
  - ✓ \*Arena de mar (estéril): Agregar una pizca de granos de arena
- ❖ Dejar a temperatura ambiente o colocar en incubadora según sea el objetivo de estudio



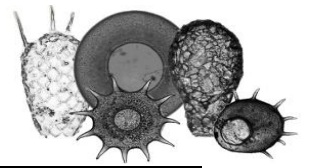


## Anexo 2. Abreviaturas utilizadas

Abreviatura	Significado
X1A	Muestra de agua, de la zona del cenote X-Batún
X1S1	Muestra de sedimento, de la zona uno del cenote X-Batún
X1BP1	Muestra uno de biopelícula, de la zona uno del cenote X-Batún
X1BP2	Muestra dos de biopelícula, de la zona uno del cenote X-Batún
X1BP3	Muestra tres de biopelícula, de la zona uno del cenote X-Batún
X2A	Muestra de agua, de la zona dos del cenote X-Batún
X2S1	Muestra uno de sedimento, de la zona dos del cenote X-Batún
X2S2	Muestra dos de sedimento, de la zona dos del cenote X-Batún
X2BP1	Muestra uno de biopelícula, de la zona dos del cenote X-Batún
X2BP2	Muestra dos de biopelícula, de la zona dos del cenote X-Batún
X2BP3	Muestra tres de biopelícula, de la zona dos del cenote X-Batún
X3A	Muestra de agua, de la zona tres del cenote X-Batún
X3S1	Muestra uno de sedimento, de la zona tres del cenote X-Batún
X3S2	Muestra dos de sedimento, de la zona tres del cenote X-Batún
X4S1	Muestra uno de sedimento, de la zona cuatro del cenote X-Batún
X4S2	Muestra dos de sedimento, de la zona cuatro del cenote X-Batún
X4BP1	Muestra uno de biopelícula, de la zona cuatro del cenote X-Batún
X4BP2	Muestra dos de biopelícula, de la zona cuatro del cenote X-Batún
X5BP1	Muestra uno de biopelícula, de la zona cinco del cenote X-Batún
T2S	Muestra de sedimento, de la zona dos del sistema de cenotes T-Zabnáh
T3S	Muestra de sedimento, de la zona tres del sistema de cenotes T-Zabnáh
T4BP1	Muestra uno de biopelícula, de la zona cuatro del sistema de cenotes T-Zabnáh
T6S	Muestra de sedimento, de la zona seis del sistema de cenotes T-Zabnáh







T7S	Muestra de sedimento, de la zona siete del sistema de cenotes T-Zabnáh
T8S2	Muestra dos de sedimento, de la zona ocho del sistema de cenotes T-Zabnáh
T9BP1	Muestra uno de biopelícula, de la zona nueve del sistema de cenotes T-Zabnáh
T11M1(A+BF)	Muestra mixta uno de agua y biopelícula, de la zona 11 del sistema de cenotes T-Zabnáh
T13G1s	Muestra uno de guano seco, de la zona trece del sistema de cenotes T-Zabnáh
T14G2h	Muestra dos de guano húmedo, de la zona trece del sistema de cenotes T-Zabnáh

