



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS
INSTITUTO DE ECOLOGIA

**“PROTISTAS AMOEBOIDES DE UN DESIERTO
INTERTROPICAL MEXICANO”**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:

HORACIO PÉREZ JUÁREZ

DIRECTOR DE TESIS: DR. SALVADOR RODRIGUEZ ZARAGOZA
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA, UNAM

COMITÉ TUTOR:
DRA. CECILIA TERESA XIMENEZ GARCIA
FACULTAD DE MEDICINA, UNAM
Dr. LUIS ENRIQUE EGUIARTE FRUNS
INSTITUTO DE ECOLOGIA, UNAM

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., OCTUBRE DE 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

Al posgrado Doctorado en Ciencias Biomédicas, UNAM por la formación recibida durante los estudios de Doctorado.

Al programa CONACyT - becas nacionales – CVU 408467/262505 por el apoyo recibido. Este proyecto estuvo financiado por los proyectos de investigación DGAPA-PAPIIT-IN217112 “Estructura de comunidades microbianas en suelo de leguminosas, cactáceas, y costras biológicas en Zapotitlán Salinas, Puebla”, el proyecto PAPCA-UNAM-2013-2014 “Dinámica espacial de la comunidad de amebas desnudas de vida libre del suelo bajo *Prosopis laevigata* y *Parkinsonia praecox* en una terraza degradada de Zapotitlán Salinas, Puebla”, por Swiss NSF grant no. 310003_A163254/1 y por CONACyT número 272601.

A los miembros del Comité Tutor: Dr. Salvador Rodríguez Zaragoza (tutor principal), Dra. Cecilia Teresa Ximénez García, Dr. Luis Enrique Eguiarte Fruns y al Dr. Diego Julio Arenas Aranda (q.e.p.d.) por la dirección en el trabajo de tesis.

A los miembros de jurado: Dr. Arturo Carlos II Becerra Bracho, Dr. Luis David Alcaraz Peraza, Dr. Erasmo Negrete Abascal y Dra. Ana Elena Escalante Hernández, por sus valiosas aportaciones en la redacción final de la tesis.

Al Dr. Víctor Manuel Rivera Aguilar, Dra. Cecilia Ximénez García y Dr. Enrique Lara por haber colaborado con gran parte del financiamiento para que se realizara esta investigación, así como por su aporte en el diseño del mismo.

A la Dra. Angélica Serrano Vázquez, por su ayuda en la revisión de la estructura, redacción y edición de esta tesis.

A los miembros del jurado: Dr. Arturo Carlos II Becerra Bracho, Dr. Luis David Alcaraz Peraza, Dr. Erasmo Negrete Abascal, Dra. Ana Elena Escalante Hernández, por sus valiosas aportaciones en la redacción de esta tesis.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

A la Dra. Cecilia Ximénez por toda la ayuda que me ha brindado y por aceptarme como parte de su laboratorio. Siempre me ha hecho sentir como en casa y ha apoyado cada una de mis propuestas y desiciones. Además muchas gracias por la enseñanza dentro de la investigación, pero sobre todo como persona.

Al Dr. Luis Eguiarte por que su apoyo siempre fue indispensable para mí y siempre me ayudó, desde el inicio y durante todo el tiempo que duró el doctorado. Muchas gracias por la calidez que siempre tuvo, mostrándome la parte humana de la ciencia.

Al Dr. Enrique Miguel Lara Pandis y al Dr. Edward A. D. Mitchell, primero que todo por abrirme las puertas de su laboratorio en la Universidad de Neuchatel, Suiza, y segundo, por permitirme aprender un poco de lo mucho que saben sobre los protistas con concha. Mi visita a su laboratorio ha sido la experiencia más enriquecedora que he tenido.

Al Dr. Salvador Rodríguez Zaragoza, por abrirme las puertas de su laboratorio, por las charlas amenas y por la oportunidad de trabajar con los protistas, pues fue con usted donde se desarrolló la inquietud por estos increíbles organismos.

Al Dr. Víctor Manuel Rivera Aguilar, por su orientación y apoyo, pero también por las experiencias compartidas, las charlas y los viajes, ¡Muchas gracias!

Al Dr. Diego Julio Arenas Aranda donde quiera que se encuentre, por la ayuda que me brindó desde el inicio de mi doctorado, QPD.

A la M en C. Mayra Mónica Hernández Moreno y al M en C. Humberto Macías Cuellar por su apoyo en la estandarización de las técnicas edafológicas y en interpretación de los resultados, además de la logística y el diseño para los muestreos. También por la amistad, los consejos, las charlas y los viajes juntos al campo, por la disposición para colaborar en la investigación científica con nosotros.

Al Dr. Daniel Muñoz y al M en C. Francisco López por su ayuda y disponibilidad en el trabajo de análisis de suelos.

Al Dr. Héctor Godínez Álvarez por toda su enseñanza, apoyo y asesoría en la parte del análisis estadístico, el diseño experimental y revisión de los manuscritos.

A la Química Alicia Valadez, donde quiera que este, primero que todo por su amistad y paciencia desde el primer día que llegue a este laboratorio, pero sobre todo por la confianza que nos tuvo.

Al Dr. René Cerritos, por su ayuda en el manejo de las herramientas moleculares y por su ayuda en los primeros experimentos con biología molecular que realicé en el Laboratorio de Inmunología.

Al señor René Pacheco y a los responsables de bienes comunales del municipio de Zapotitlán Salinas y de San Antonio Texcala por las facilidades brindadas para el trabajo de campo en el área de estudio.

A la M en C. María de Lurdes Alonso, al M en C. Tobias Portillo y Marco Gudiño por su apoyo en la toma de fotografías y el formato de las imágenes de las publicaciones.

A todos los miembros del Laboratorio de Inmunología: Dra. Paty, Liliana, Male, Erick, Dr. Enrique, Oswaldo, Miriam, Don Toño, Doña Magos, Ángeles, Marta, Dra Emma, Ulises, del Departamento de Medicina Experimental, UNAM, por abrirme las puertas de su laboratorio compartiendo los buenos momentos conmigo. Además, me adoptaron, me hicieron partícipe de las tareas, me apoyan siempre. Me divierto mucho con ustedes, son una gran familia, a la que sin duda, también pertenezco.

A todos los integrantes y amigos del Laboratorio de Biología del suelo de la Universidad de Neuchatel, por la amabilidad y atenciones que tuvieron conmigo desde el primer día que llegue a su laboratorio y por supuesto por todas las cervezas que compartimos.

A los miembros del laboratorio de Microbiología, mi hermano Chucho, Luisotototota, Isabel, Abbid, Mario, Marisol, Jacobo, Eli, Miguelón, David, Jessica, Ramón, por todas y cada una de las experiencias vividas, desde las discusiones de los artículos hasta las borracheras, pasando por los partidos de futbol. Reconozco los momentos divertidos, pero

destaco el mejor de todos, ese momento que cambio mi vida para siempre, el momento en que conocí a Angélica.

A mi hija Constanza, porque es una motivación constante en mi vida que me impulsa para lograr mis metas. Connie, gracias también por el amor que me tienes y porque me haces sentir tan orgulloso con tu inteligencia, con tu belleza y con tu espontaneidad. Eres lo mejor que me ha pasado y, aunque al principio reconozco que tuve miedo, me doy cuenta que ser tu papa ha sido todo un privilegio. Es difícil creer que alguien tan pequeñita pueda cambiar tanto la vida de alguien. Aún recuerdo y atesoro esas noches largas cuidándote toda la noche por que eras intolerante a la lactosa, o las noches en las que no me dejabas (o sigues sin dejarme) dormir porque estas todo el tiempo empujándome con tus piecitos, o esos días en los que pasamos horas viendo tus caricaturas favoritas como Peppa Pig, Paw Patrol o My Little Pony, o también por los días en los que nadamos juntos, o comemos chocolates, quiero que sepas que disfruto cada momento contigo y cada uno de los días desde que tu llegaste a nuestras vidas ¡Te amo Constanza!

A Angélica a la que agradezco todo el cariño y amor sincero que me tiene, pero sobre todo la paciencia y por ser siempre mí apoyo, mi compañera y quien junto a mi hija, son mi principal motivación. Eres una mujer llena de virtudes y casi sin defectos, la más trabajadora de todas y con la que comparto muchas manías y pasiones como viajar, ir al cine, comer etc. La mujer que desde hace años aceptó ser mi compañera, transformando mi vida y llenándola de experiencias únicas con cosas tan sencillas como comer juntos, hasta

viajar por todos lados. Hoy más que nunca reconozco lo que vales y lo importante y valiosa que eres, has sido y serás en mi vida, por todo eso, muchas gracias. “Espero poder envejecer junto a ti, tu el AMOR DE MI VIDA”.

A mis padres que son mi ejemplo de trabajo y humildad y de quienes he aprendido que la única forma de obtener las cosas es trabajando. Son las personas que me educaron con mano firme, jalándome las orejas cada que me salía del camino. Son las dos personas de quienes solo he recibido cariño, admiración, motivación y palabra de aliento para no claudicar, alentándome siempre a esforzarme para lograr cumplir con mis metas. Les agradezco por permitirme crecer en un hogar sano en todos los sentidos, pues ahora que soy padre me doy cuenta de lo importante que es tener un hogar con amor, cariño y comprensión. Sé que ustedes dos están orgullosos de mí porque he logrado concluir mis estudios de Doctorado, pero sepan que ustedes son los principales responsables de lo que ahora soy como profesionalista y padre. Los quiero mucho y otra vez gracias por todo lo que me han dado.

A mis hermanos, Jesús y Olga Shaden, que son ejemplo de trabajo y disciplina, a quienes he visto sobreponerse de sus tropiezos para lograr lo que se proponen. Para ustedes dos toda mi admiración ¡Los quiero mucho!

A la Señora Lina Vázquez, quien me ha aceptado como parte de su familia y quien desde el primer día que llegue a su casa me hizo sentir como si fuera mi casa. Reconozco que es

usted una persona fuerte pero a la vez amable y cálida, se todo por lo que ha tenido que pasar y como ha logrado superado las tragedias. Le agradezco a usted por haber sembrado en cada una de sus hijas pero particularmente en Angélica los valores y principios que las distinguen y particularmente le agradezco por haber hecho de Angélica una mujer trabajadora e integra. Pero, sobre todo, le agradezco por la ayuda y el tiempo que pasan con mi hija, porque sin ese cuidado hubiera sido muy difícil concluir con mis estudios de Doctorado.

A todos los miembros de mi nueva familia Virginia, María de Jesús, Mercedes, Daniela, Miguelito y Miguel, por ser siempre gentiles conmigo, pues entiendo que no es fácil convivir de forma repentina con un extraño, sin embargo, ustedes siempre han sido amables y respetuosas muchas gracias por aceptarme como parte de la familia.

A todas y cada una de las personas a las que considero mis amigos, la mayoría de ellos ahora doctores; agradezco por su compañía y por los buenos momentos que hemos compartido desde un inicio en la Universidad y ahora como investigadores. Espero que muy pronto nuestra amistad nos permita acercarnos a las colaboraciones científicas.

A todas las personas que estuvieron a lo largo de mis estudios de Doctorado y que sin querer no las mencione, todas las gracias del mundo.

Todo lo que necesitas es tener un sueño, pero ten cuidado con lo que sueñas, porque un día se puede hacer realidad por ejemplo ¡convertirte en un Doctor!

DEDICATORIA

**A MIS PADRES A MIS HERMANOS A MI ESPOSA Y A MI HIJA
A TODOS LOS QUE HICIERON POSIBLE ESTO
A MI PERSEVERANCIA**

INDICE

CAPÍTULO	CONTENIDO	PAGINA
	Presentación	1
	Resumen general	4
	General Abstract	6
Capítulo 1	Descripción General del Proyecto	8
	- Introducción	
	- Justificación	
	- Objetivo	
Capítulo 2	Minirevisión: Estructura de las comunidades de protistas a la luz de la teoría ecológica	25
Capítulo 3	Artículo de investigación: Population dynamics of amoeboid protists in a tropical desert: seasonal changes and effects of vegetation and soil conditions.	50
Capítulo 4	Artículo de investigación: <i>Quadrullella texcalense</i> sp. nov. from a Mexican desert: An unexpected new environment for hyalospheniid testate amoebae.	64
Capítulo 5	Discusión general	78
	Discusión	
	Conclusión	
	Perspectivas	
	Referencias	90

PRESENTACIÓN

Los protistas son grandes depredadores de bacterias y de otros microorganismos y su función principal ha sido asociada con el reciclaje de los nutrientes, sin embargo, su inmensa cantidad en el suelo, sugiere que su importancia es más profunda de lo que se sabe hasta ahora. Actualmente, los estudios sobre la ecología de estos microorganismos, tienen como objetivo principal, conocer los factores que determinan la estructura de sus comunidades, así como sus interacciones tróficas a escalas tanto espaciales como temporales.

Por tal motivo, el objetivo de este trabajo fue generar conocimiento sobre la ecología de los protistas amoeboides, tomando en cuenta los factores que dirigen la estructura y distribución de sus comunidades, de manera espacial y temporal, para contribuir en la ampliación del conocimiento actual sobre protistas que habitan los desiertos, particularmente en el desierto de Tehuacán, Puebla. La información generada a partir de estos estudios es un paso previo para comprender con mayor detalle los procesos ecológicos en que se encuentran involucrados estos microorganismos. Así mismo, la información generada ayudará a tomar en cuenta a los protistas como indicadores de la calidad del suelo y así poder predecir cambios futuros en la función de los ecosistemas de desierto y de esta manera plantear estrategias sobre manejo sustentable de estas zonas.

Para cumplir con el objetivo, esta tesis se dividió en cinco capítulos: El primer capítulo incluyó la descripción general de la investigación, donde se describieron las características que definen las zonas áridas y los desiertos mexicanos centrándose en el del valle de Tehuacán, así como las generalidades de los protistas amoeboides con particular énfasis en

amebas desnudas y amebas tecadas. Además, este capítulo incluyó la justificación del estudio y el objetivo general.

El segundo capítulo constó de una minirevisión sobre la estructura de las comunidades de protistas amoeboides a la luz de la teoría ecológica, para contextualizar el presente estudio en el marco de los conceptos generales de ecología.

En el tercer capítulo se mostró un análisis sobre la dinámica espacial y temporal de amebas desnudas en una terraza degradada del valle de Tehuacán. En este capítulo se usaron métodos tradicionales de cultivo e identificación morfológica para la identificación de protistas amoeboides. Este estudio mostró que las amebas son afectadas por el cambio estacional, destacando al grupo de las heteroloboseas, como las amebas que resistieron mejor a las condiciones de estrés hídrico. Los resultados obtenidos nos permitieron conocer con más detalle la dinámica estacional de estos protistas en esta zona árida, así como los principales factores que determinan su distribución. Los resultados generados en este capítulo fueron publicados en el Acta Protozoologica con un factor de impacto de 1.96 (Pérez-Juárez et al., 2018).

El cuarto capítulo mostró la primer aproximación en suelos de desiertos en México sobre la presencia de amebas tecadas. Este capítulo se centró en la descripción de una nueva especie de ameba tecada a la que nombramos *Quadrullela texcalense*, cuyo nombre hace referencia al sitio donde fue encontrada esta especie. Hasta antes de este descubrimiento las especies pertenecientes al género *Quadrullela* habían sido consideradas como especies hidrófilas exclusivamente, pero *Quadrullela texcalense*, oriunda de un desierto, supone un hallazgo importante para la biología de esta amebas y abre un debate sobre la evolución y adaptación

de estos microorganismos y, posiblemente, muchas otras especies a las condiciones de aridez. Los resultados de este capítulo fueron publicados en el *European Journal of Protistology* con un factor de impacto de 2.43 (Pérez-Juárez et al., 2017)

El quinto y último capítulo incluyó la discusión general y las conclusiones de la tesis, así como las perspectivas, ya que tomando en cuenta los datos obtenidos en esta tesis, así como observaciones particulares, varias perspectivas pudieron ser propuestas, desde estudios ecológicos y experimentales que incluyan a algunos taxa termófilos de amebas desnudas, hasta la descripción de varias nuevas especies de amebas desnudas y tecadas en este desierto. Cabe destacar, que durante la realización de esta tesis se generaron varias colaboraciones con diferentes grupos y personalidades especializadas en protistas, en desiertos y en el suelo, tanto a nivel nacional como internacional, que permitirán continuar generando publicaciones de alto nivel en esta área.

RESUMEN GENERAL

Los protistas amoeboides son organismos eucariontes unicelulares muy abundantes en el suelo. Este grupo parafilético comparte la característica de locomoción dada por diferentes tipos de pseudopodios así como la de formar conchas (amebas tecadas) o no formarlas (amebas desnudas). En el suelo, los protistas amoeboides se encuentran fuertemente asociados a ecosistemas húmedos, y a pesar de que también han sido encontrados en suelos de desierto, se cuenta hasta ahora con muy poco conocimiento de estos microorganismos en desiertos tanto en México como a nivel mundial. Un desierto importante en México por su gran diversidad biológica y por su alto endemismo es el de Tehuacán, el cual cuenta con características que resultan interesantes para el estudio de los protistas amoeboides. En esta tesis se analizó, de manera general, la ecología de dos grupos de protistas amoeboides, las amebas desnudas y las amebas tecadas que habitan en diferentes microhábitats del suelo del desierto de Tehuacán. Los microhábitats que se estudiaron en esta tesis y en los que habitan tanto las amebas desnudas, como las amebas tecadas, nos brindan información importante sobre la ecología de estos microorganismos en las zonas áridas. Se pudo observar que las poblaciones de protistas amoeboides cambian en el espacio y en el tiempo, sin embargo, existen organismos que persisten, sin importar la pendiente, la radiación solar y la estacionalidad. Incluso, se pudieron observar organismos adaptados a estas condiciones anteriormente descritos solo como organismos acuáticos. Se pudo observar también que entre las amebas desnudas, las Heteroloboseas pueden tener un papel ecológico muy importante, pues se encuentran entre los protistas amoeboides más adaptados a las duras condiciones que se generan en suelos degradados de este desierto. Adicionalmente, los

resultados obtenidos durante este estudio revelaron que la comunidad de protistas ameboides que habitan este desierto es diversa y presenta un abanico de posibilidades de estudio, pues existen especies que no han sido descritas aún, cómo es el caso de *Quadrullella texcalense*, que es una nueva especie de ameba tecada que se describe en esta tesis. Todos los resultados encontrados durante esta tesis permiten concluir que el desierto de Tehuacán alberga una gran riqueza de protistas amoeboides inexplorada, por lo que se deben hacer mas estudios sobre este grupo de microorganismos, ya sea con métodos tradicionales y/ó con métodos moleculares, para conocer más sobre su ecología y diversidad, pues podrían estar participando de manera fundamental en el mantenimiento de los ecosistemas de desierto.

Palabras clave: amebas desnudas; amebas tecadas; zonas áridas; Heterolobosea; *Quadrullella texcalense*.

GENERAL ABSTRACT

The amoeboid protists are unicellular eukaryotic organisms very abundant in the soil. This paraphilic group shares the characteristic of locomotion given by different types of pseudopodia and they can form shells (testate amoebae), or not form it (naked amoebae). In the soil, the amoeboid protists are strongly associated with humid ecosystems, and although they have also been found in desert soils, We still know very little about the biology of this microeukaryotes that inhabit in these arid ecosystems. An important desert in Mexico for its great biological diversity and high endemism is the Tehuacán Desert, which has characteristics that are interesting for the study of amoeboid protists such as the thermal stability and rain cycle. In this thesis, the ecology of two groups of amoeboid protists, naked amoebae and testate amoebae that inhabit different microhabitats of the soil of the Tehuacán desert was analyzed. The microhabitat that was studied in this thesis and in those that inhabit both the naked amoebae and the testate amoebae provide us with important information about the ecology of these microorganisms in arid zones. It was observed that communities of amoeboid protists change in space and time, however, there are organisms that persist, regardless of the weather, solar radiation and seasonality. In fact, it was possible to observe organisms adapted to these conditions previously described only as aquatic organisms. It was also observed that among the naked amoebas, the Heteroloboseas can have a very important ecological role since they are among the amoeboid protists better adapted to the harsh conditions that are generated in degraded soils of this desert. Additionally, the results obtained during this study revealed that the community of amoeboid protists that inhabit this desert is diverse and presents a range of study

possibilities, since there are species that have not yet been described, such as the new species *Quadrullella texcalense*, which is a new species of thecamoeba that was described in this thesis. All the results found during this thesis allow us to conclude that the Tehuacán desert harbors a great wealth of unexplored amoeboid protists, so it is necessary to do many more studies on this group of microorganisms, either with traditional methods and/or with molecular methods.

Keywords: naked amoebae; amoeba tecadas; arid zones; Heterolobosea; *Quadrullella texcalense*.

CAPITULO 1:
DESCRIPCIÓN GENERAL DEL PROYECTO

INTRODUCCIÓN

¿Qué es lo que define un desierto?

Se estima que los desiertos cubren una quinta parte de la superficie terrestre (Noy-Meir, 1973). A lo largo del tiempo los desiertos habían sido considerados como parajes inhóspitos, con baja productividad primaria, altas temperaturas y con muy poca humedad, lo que evitaba que se desarrollara la vida (Douglas, 2012). Sin embargo, en las últimas décadas, se ha demostrado que los desiertos poseen una alta diversidad biológica, compuesta por plantas y animales que han desarrollado diversas adaptaciones que les han permitido sobrevivir bajo las condiciones extremas que se generan en estos sitios (Dimmitt, 2000).

Entre las condiciones ambientales que caracterizan a los desiertos encontramos sequías periódicas y extremas, altas temperaturas y una fuerte exposición a la radiación solar (Noy-Meir, 1973). Sin embargo, la característica determinada como el común denominador en los desiertos, es la aridez, que es definida como la falta de agua en el suelo y de humedad en el aire, siendo entonces la disponibilidad de agua uno de los principales factores que conduce los procesos y que define las poblaciones biológicas que habitan en los desiertos (Whitfor, 2002).

En la actualidad se habla de disponibilidad de agua para determinar la aridez en un desierto por medio de la evapotranspiración, pues anteriormente, los desiertos solo habían sido definidos como áreas que recibían una precipitación anual promedio menor a 250 mm (10 pulgadas). Sin embargo, este parámetro no reflejaba la realidad de las condiciones ambientales dentro de un desierto, pues la pérdida de humedad debido a la evaporación y la

transpiración del agua por las plantas, es en realidad la principal causa de la aridez, pues la humedad que se pierde por estos procesos, puede llegar a ser mucho mayor a la que se gana a través de la lluvia (Noy-Meir, 1973).

Este déficit de agua provoca un impacto severo en la temperatura de los desiertos, debido a que la humedad también es un regulador térmico del ambiente (Austin, 2004). Además, la falta de humedad atmosférica evita la formación de nubes, lo que evita que la superficie esté protegida de los rayos del sol que se reflejan con fuerza, calentando todo lo que está en la superficie durante el día y pasa lo contrario durante la noche, pues el mismo calor se pierde rápidamente debido a la falta de humedad en el ambiente (Whitford, 2002). Estos cambios bruscos de temperatura durante el día y la noche son una característica de los desiertos que modula el desarrollo de los organismos que habitan en estos ecosistemas (Austin, 2004).

De acuerdo con los cambios en la temperatura, los desiertos pueden ser clasificados en cuatro tipos: caliente, semiárido, costero y frío. En los desiertos calientes las temperaturas van de los -18 °C a los 49 °C, en los desiertos semiáridos, las temperaturas máximas y mínimas oscilan entre 10 °C y 38 °C. Los desiertos costeros y los desiertos fríos tienen temperaturas mucho más bajas que los desiertos cálidos y semiáridos, con temperaturas medias en verano de entre 13 °C y 24 °C y en invierno inferiores a los 0°C.

Las características físicas y biológicas de las zonas en donde están ubicados los desiertos son definidas por el conjunto de los diferentes factores climatológicos, por lo que la delimitación y definición de un desierto también puede estar basada en criterios climáticos (Douglas, 2012).

Actualmente, el uso del término desierto es discutido y tiende a ponerse en desuso pues existe una tendencia hacia el uso del término "tierras secas" considerado como más apropiado. Estas tierras secas o desiertos se clasifican de acuerdo con el grado de aridez al que está sometida cada zona, que pueden ser hiperáridas ($P/ET > 0.03$), áridas, ($P/ET = 0.03 - 0.2$) y semiáridas ($P/ET = 0.2 - 0.5$), (Whitford, 2002).

De acuerdo con esta clasificación, los desiertos prácticamente desprovistos de vegetación, con suelos pobres en nutrientes y excesivamente secos, como son el desierto del Sahara, el de Atacama y el de Sonora, son los desiertos hiperáridos y casi todos los desiertos que cuentan con alta diversidad biológica están agrupados dentro de las categorías de áridos y semiáridos.

¿Qué desiertos se encuentran en México?

En México el 49% del territorio nacional es árido y semiárido, de acuerdo al Instituto Nacional de Estadística, geografía e Informática (www.inegi.gob.mx).

La mayor parte de estas áreas corresponden a las dos grandes regiones desérticas de México, los desiertos Chihuahuense y Sonorense, los cuales se extienden desde el norte de México, ocupando gran parte del territorio nacional y también una pequeña fracción ubicada en el centro del territorio nacional conocido como el desierto de Tehuacán (Hernandez, 2006).

El desierto de Chihuahua está considerado dentro de las 37 regiones del mundo que cuentan aún con extensiones considerables de área silvestre poco perturbada (Mittermeier et al., 2002). Se estima que su superficie es de aproximadamente 507,000 km² y es considerado el desierto más extenso de Norteamérica. Este desierto se divide en tres sub-regiones con

base en el análisis de los patrones de distribución de especies endémicas de cactáceas (Hernández and Gómez-Hinostrosa, 2005):

- a) Subregión principal: es el cuerpo principal del desierto y es la región más grande que se extiende desde el sur de San Luis Potosí hasta el sur de Texas y el sureste de Arizona.
- b) Subregión Meridional: se ubica al sur de la subregión principal y corresponde a la llamada Zona árida Queretaro-Hidalguense y a las zonas secas de Guanajuato.
- c) Subregión sureña: Se sitúa al este de la subregión principal, incluyendo los estados de Nuevo León y Tamaulipas.

De acuerdo con la unión internacional para la conservación de la naturaleza (UICN) el desierto de Chihuahua, puede ser uno de los desiertos con mayor diversidad biológica en el mundo, determinado por la riqueza de especies y número de endemismos (Hernández, 2006). Este desierto presenta un clima seco, con una breve temporada de lluvia durante el verano y otra más breve durante el invierno (Hernández, 2006). La altitud a lo largo del desierto de Chihuahua varía entre los 600 y los 1,675 m s. n. m. Las temperaturas oscilan entre 35° y 40°C al medio día y el promedio de temperatura anual es de 24°C, el cual varía con la altitud, pues en las zonas más altas se han llegado a registrar nevadas (Hernandez, 2006).

El otro gran desierto del norte de México es el desierto de Sonora, que al igual que el Desierto Chihuahuense, esta dentro de las 37 regiones del mundo que cuentan aún con extensiones considerables de área silvestre poco perturbada (Van Devender, 2006). El desierto de Sonora cuenta con una área de aproximadamente 260 000 km² (Shreve, 1964). Dentro del territorio mexicano, el Desierto de Sonora se extiende por toda la península de

Baja California y el estado de Sonora, siendo dividido por el Golfo de Cortés (Dimmitt, 2000). Sin embargo, algunos autores consideran que la península de Baja California no es parte del Desierto de Sonora, pues su aislamiento geográfico otorga características muy distintivas a su flora y fauna (Hernández, 2006).

El desierto de Sonora es un desierto cálido con temperaturas que pueden exceder los 40°C durante los días de verano, y durante el invierno las temperaturas bajan drásticamente, registrándose incluso fuertes nevadas en las zonas más elevadas (Hernández, 2006).

Este desierto también posee una variedad de plantas y animales endémicos, entre los que destacan los saguaros (*Carnegiea gigantea*) y los órganos (*Stenocereus thurber*), además de una gran cantidad de especies de Agaves y Yucas (Shreve, *et al.*, 1964). En el caso de la fauna, existen alrededor de 600 especies de mamíferos, destacando la presencia del jaguar como el mamífero carnívoro de mayor tamaño. Otros animales importantes que habitan el desierto Sonorense son alrededor de 350 especies de aves, 100 especies de reptiles y 20 especies de anfibios hasta ahora reportados (Dimmitt, 2000).

El tercer desierto de nuestro país se encuentra en el centro-sur, abarcando una parte del sudeste del estado de Puebla y el noreste del estado de Oaxaca y es conocido como el complejo del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Este es el desierto intertropical más diverso a nivel mundial y donde destacan un alto número de endemismos tanto de flora como de fauna (Villaseñor *et. al.*, 1990; Davila, 2002). Este desierto posee una historia cultural rica, pues algunas evidencias lo señalan como el sitio donde se inició la agricultura y la domesticación del maíz (Moreno-Calles and Casas, 2008; Blancas, *et. al.*, 2009; Moreno-Calles and Casa, 2010).

El Valle de Tehuacán

El Valle de Tehuacán es un desierto intertropical, que se sitúa en el centro-sur de la República Mexicana, con una extensión de 10,000 km² que abarca una parte del sudeste del estado de Puebla y el noreste de Oaxaca (Villaseñor, *et. al.*, 1990; Dávila, *et. al.*, 2002). Forma parte de la Reserva de la Biosfera de Tehuacán-Cuicatlán (Valiente-Banuett, 2000). Este valle presenta un promedio anual de precipitación pluvial de entre 350 y 450 mm y una temperatura media anual de 21° C (López-Galindo, *et. al.*, 2003).

El Valle de Tehucan es el desierto más meridional de América pues se localiza en la región central de México (Darlington, 1957). El Valle de Tehucan cuenta con una diversidad biológica muy alta que resulta atípica para las zonas áridas (Moreno-Calles, 2008). Entre los factores que promueven esta elevada diversidad biológica destacan la compleja historia geológica del valle, la influencia de las zonas biogeográficas Neártica y Neotropical y la cercanía de áreas húmedas de varios estados como Oaxaca y Guerrero que en conjunto forman un complejo corredor estacional y altitudinal que permite la entrada de especies de afinidad méxicana (Arizmendi and Espinosa de los Monteros, 1996; Rojas-Martínez and Valiente-Banuett 1996, Dávila, *et. al.* 2002). Asimismo, el Valle se caracteriza por la presencia de un complejo escenario fisiográfico y un diverso rango altitudinal que tienen entre otros, la existencia de diferentes tipos de suelo y de vegetación formando un complejo mosaico ecológico (Dávila, *et. al.*, 2002).

El valle de Tehuacán alberga entre el 10 y el 11% de la flora total registrada hasta ahora en México y de la cuales 365 especies de plantas son endémicas, por lo que es considerado como un centro de alto endemismo a nivel mundial por la Unión Internacional para la

Conservación de la Naturaleza (UICN) (Dávila, *et. al.*, 2002). En el caso de la fauna que habita el desierto de Tehucán y que ha sido poco estudiada, la diversidad de especies hasta ahora conocida, supera a otros desiertos secos de mayor extensión territorial como son los desiertos del norte (Moreno-Calles, 2008). En el caso de los organismos invertebrados como los protistas existen pocos registros con relación al número y a la diversidad de especies (Rodriguez-Zaragoza and Garcia, 1997), pero es de esperarse que el número de endemismos y la diversidad de especies de estos microorganismos puede estar al menos, en proporción con las especies vegetales y animales.

El clima del desierto de Tehuacán está determinado por la posición latitudinal sureña, por la temporada de lluvias que normalmente se presenta de septiembre a noviembre y por el complejo marco fisiográfico con diversas altitudes (Villaseñor, *et. al.*, 1990; Ortega-Gutierrez, 1978). La historia geológica del valle indica que diferentes factores biológicos y físicos acontecieron a lo largo del Cenozoico y que también se han asociado con la diversificación biológica en el desierto de Tehuacán (Arakaki, *et. al.*, 2011). Entre ellos podemos destacar la disminución global en la temperatura que redujo la precipitación, el incremento de la aridez (Arazaki, *et. al.*, 2011) y la elevación de sistemas montañosos en Norte y Sudamérica, los cuales indujeron cambios en la circulación atmosférica que disminuyeron el transporte de humedad y modificaron los patrones de precipitación (Arakaki, *et. al.*, 2011). La parte norte-central del Valle de Tehuacan tiene un origen cretácico, mientras que la región centro-sur corresponde a una mezcla de sedimentos precámbricos y del Jurásico inferior (hace aproximadamente 180 m.a.). Como consecuencia de este mosaico geológico, muchos tipos de suelos se pueden encontrar en la zona,

incluidos los calcáreos, salinos y aquellos con altos niveles de yeso (López-Galindo, *et. al.*, 2003).

Protistas amoeboides

Los protistas son un grupo parafilético de organismos eucariotas unicelulares muy numeroso, y es posible que compongan la mayor parte de la biodiversidad eucariota global (Cavalier-Smith, 1998; Adl, *et. al.*, 2005; 2012; Sunagawa, *et. al.*, 2015; Grossmann, *et. al.*, 2016). Los protistas se encuentran entre los microorganismos más abundantes en el suelo, con números estimados que están de entre 10^3 y 10^4 organismos por gramo de suelo (Bamforth, 1980; Clarholm, 1985; Finlay, *et. al.*, 2000; Domonell, *et. al.*, 2013) superados sólo por las bacterias y los virus. La mayoría de protistas del suelo son pequeños ($< 200 \mu\text{m}$) y se alimentan principalmente de bacterias, existiendo también claras excepciones tanto en el tamaño como en los hábitos alimenticios (Levine, *et. al.*, 1980, Darbyshire, 1994; Adl and Gupta, 2006; Esteban, *et. al.*, 2006).

Entre los protistas más numerosos en el suelo encontramos a los amoeboides, donde se incluyen organismos desnudos y con conchas o tecas, conocidos como amebas desnudas y amebas tecadas, respectivamente. A pesar de pertenecer a diferentes grupos taxonómicos como Amebozoa, Excavata, Rhizaria y Stramenophiles, estos organismos comparten entre sí la característica de poseer diferentes tipos de pseudópodos para la locomoción (Cavalier-Smith, 1998; Cavalier-Smith, 2003; Adl, *et. al.*, 2005; Nikolaev, *et. al.*, 2005; Adl *et. al.*, 2012). En el suelo los protistas amoeboides se encuentran fuertemente asociados a suelos de ecosistemas húmedos, sin embargo existen reportes de protistas amoeboides encontrados en suelos de zonas áridas (Varga, 1936; Robinson, 2002; Bamforth, 2008).

A pesar de los trabajos realizados hasta ahora por algunos investigadores, el conocimiento de los protistas amoeboides que habitan en el suelo de las zonas áridas es aún limitado y es probable que existan también un gran número de estos organismos sin describir (Bates, *et. al.*, 2013; Heger, *et. al.*, 2013; Geisen, *et. al.*, 2015). Es por esto que tanto los estudios clásicos basados en el cultivo de estos organismos como los que se basan en herramientas moleculares, son esenciales para conocer la diversidad de los protistas amoeboides del suelo de zonas áridas.

Las amebas desnudas

Las amebas desnudas son organismos unicelulares que presentan pseudopodios para su locomoción, tienen ciclos de vida desde simples hasta muy complejos (Smirnov and Brown, 2004), y son consideradas microorganismos, porque la mayoría de ellas no se pueden observar a simple vista, ya que su tamaño está alrededor de los 3-500 μm , aunque solo unas pocas especies pueden superar los 10 mm (Page, 1988). Muchas especies de amebas desnudas pueden formar una estructura de resistencia conocida como que resulta necesaria para poder soportar las condiciones ambientales que muchas veces resultan extremas (Foissner, 1987; Darbyshire, 1994).

Algunas amebas desnudas pueden ser patógenas (Siddiqui and Khan, 2012; Schuster, 2002; Visvesvara *et. al.*, 1993; De Jonckheere, 2004), sin embargo, también hay una gran cantidad de especies que tienen un papel benéfico y fundamental en la mineralización (la transformación de algunos nutrientes como por ejemplo: el nitrógeno) y a su vez, el reciclaje de nutrientes en los ecosistemas terrestres (Clarholm, 1985; Darbyshire, 1994;

Griffiths, 1999; Bonkowski, 2004), como es el caso de las zonas áridas (Darby, *et. al.*, 2006).

Las amebas desnudas son consideradas como los depredadores de bacterias más eficientes en el suelo, incluido el suelo de las zonas áridas, debido a su especializado modo de alimentación (Paul and Clark, 1989). Las amebas desnudas se desplazan desde la superficie de las raíces de las plantas hasta los pequeños poros de los agregados del suelo con ayuda de sus pseudopodios y de esa manera pueden tener acceso a las colonias de bacterias o a las biopelículas bacterianas del suelo, donde otros depredadores no pueden llegar (Darbyshire and Greaves, 1973). Por medio de la depredación, las amebas estimulan el crecimiento de las poblaciones de bacterias y aumentan la disponibilidad de nutrientes para las plantas y los demás organismos que habitan el suelo, ya que liberan los nutrientes fijados en la biomasa microbiana en forma principalmente de amonio (NH₄), lo que determina el ritmo del ciclo de los nutrientes (Alphei, *et. al.*, 1996; Kuikman and van Veen, 1989; Kuikman, *et. al.*, 1990; Jentschke, *et. al.*, 1995; Bonkowski, *et. al.*, 2001a). Pero a pesar de que se ha reconocido la importancia de los microeucariontes incluidas los protistas ameboides en los ecosistemas con baja productividad primaria, como los desiertos (Whitford, *et. al.*, 1983; Garner and Steinberger, 1989), existen pocos trabajos publicados sobre la composición de sus comunidades de estos protistas amoeboides, sin embargo, estos pocos trabajos sugieren que una elevada diversidad de protistas habita los desiertos y que su importancia funcional aún no ha sido revelada por completo (Robinson, *et. al.*, 2002).

Aparentemente debido a la baja disponibilidad de agua, muchas de las amebas desnudas reportadas en suelos de zonas áridas son pequeñas (< 30 µm) y algunas tienen la capacidad

de formar quistes, entre otras características que les permiten sobrevivir a las condiciones extremas (Foissner, 1987).

En los suelos, las poblaciones de protistas, incluidas las amebas desnudas, se distribuyen principalmente en los primeros 15 cm de profundidad (Pankhurst, *et. al.*, 1997). Se ha encontrado una asociación entre la diversidad de amebas desnudas y la presencia de plantas, aumentando hasta 30% la abundancia de amebas desnudas en comparación con el suelo desnudo, debido a que se ven influenciadas de forma positiva por la zona de raíces (Griffiths, 1999; Zwart, *et. al.*, 1994). También se ha encontrado que la composición de la comunidad de amebas desnudas en zonas áridas está afectada por la humedad y el contenido de materia orgánica del suelo (Anderson, 2000; Bass and Bischoss, 2001; Anderson, 2002; Bates, *et. al.*, 2013). Por ejemplo, Grupa and Roper, (1996), observaron en un desierto del sur de Australia que las poblaciones de amebas desnudas eran bajas durante la temporada seca pero durante los periodos de humedad, el número y la actividad de los protistas aumentaba significativamente. Pero aunque se ha establecido que la disponibilidad de agua es el factor más limitante en estos ecosistemas, en realidad se sabe poco sobre los efectos del cambio estacional y/o los patrones de precipitación sobre la presencia de las diferentes especies de amebas desnudas del suelo de zonas áridas.

El desierto de Tehuacán exhibe alta heterogeneidad espacial en el suelo (Perroni-Ventura, *et. al.*, 2006; Gonzales-Ruiz, *et. al.*, 2007, Serrano-Vazquez, *et. al.*, 2013), donde los arbustos modifican las propiedades físicas y químicas del suelo en comparación del suelo desprovisto de vegetación a través del tiempo, donde las variaciones más contrastantes se pueden valorar a partir de la propia fenología de las plantas y por las variaciones

estacionales (Serrano Vázquez, *et. al.*, 2013). Estas características dinámicas del suelo de esta zona a nivel de microambiente, podrían estar generando hábitats que serían ocupados por una gran cantidad de microorganismos, donde las amebas desnudas podían estar formando parte importante de esta comunidad microbiana.

Amebas tecadas

Las amebas tecadas son un grupo de protistas ameboides que se caracteriza por poseer una concha o teca (Meisterfeld, 2002a). Esta teca presenta una gran cantidad de formas y generalmente incluyen una matriz proteínica, en la cual se encuentran incrustados algunos elementos minerales que la forman y que pueden ser autosecretados (por ejemplo en los géneros *Euglypha*, *Quadrullella* y *Lesquereusia*), o tomados del ambiente donde se encuentren (como en los géneros *Centropyxis* y *Diffflugia*), o pueden ser también tomados de otros organismos que les sirven como presas (como *Nebela*, *Padaungiella* y *Apodera*) (Meisterfeld, 2002b).

Las amebas tecadas cubren un rango amplio de tamaños: las más pequeñas pueden medir alrededor de 30 μm de largo y las más grandes alcanzan los 350 μm (Meisterfeld, 2002a). Estos protistas son comunes en cuerpos de agua, como plancton o en sedimentos (Golemansky, 1991; Golemansky, 1992), pero también se encuentran en los ambientes terrestres (Nguyen-Viet, *et. al.*, 2008). Las amebas tecadas responden con gran sensibilidad a los cambios ambientales, por lo que son utilizadas como organismos bioindicadores en estudios estatigráficos (Turner and Swindles, 2012). Además, debido a esta característica de la sensibilidad a los cambio y al origen, resistencia y conservación de sus tecas, también

son utilizadas para realizar estudios paleoecológicos y biogeográficos (Charman, 2001; Mitchell, *et. al.*, 2008; Elliott, *et. al.*, 2012).

Las amebas tecadas se encuentran vinculadas principalmente con altos contenidos de humedad y de materia orgánica, por lo que son muy comunes y diversas en suelos húmedos, hojarasca, musgos y en menor medida en hábitats de agua dulce (Meisterfeld, 2002a; Todorov, 2002; Mitchell, *et. al.*, 2008; Charman, 2001). En zonas como turberas y bosques constituyen una gran parte de la biomasa microbiana, típicamente del 10 al 30% (Gilbert, *et. al.*, 1998a; Gilbert, *et. al.*, 1998b; Mitchell, *et. al.*, 2003).

A pesar de la importancia de las amebas tecadas, el conocimiento que se tiene sobre ellas en comparación de otros protistas del suelo es pobre (Foissner, 1987). Los estudios sobre amebas tecadas comenzaron al final del siglo XIX, donde las primeras especies fueron descritas y muchos de esos taxa son reconocidos hasta ahora (Leclerc, 1816; Ehrenberg, 1838). A finales del siglo XIX y a inicios del siglo XX fueron reportados en diferentes partes del mundo, una cantidad considerable de estudios que definían sus principales grupos taxonómicos (Wallich, 1864; Leidy, 1879; Penard, 1890, Penard, 1902; Cash and Hopkinson, 1905; Cash and Hopkinson, 1909; Awerintzew, 1906; Wailes, 1912; Cash and Wailes, 1915; Cash, *et. al.*, 1905-1921). Más recientemente, el conocimiento ha avanzado sobre su papel en el ciclo de los elementos en los ecosistemas, principalmente terrestres, sin embargo, es una área que actualmente se encuentra en desarrollo. (Aoki, *et. al.*, 2007; Schröter, *et. al.*, 2003). Desafortunadamente, la mayoría de estos estudios se centran en ambientes acuáticos o terrestres demasiado húmedos y se conoce poco sobre su presencia e

importancia en ambientes áridos (Bamforth, 2008; Fernández, 2015; Robinson, *et. al.*, 2002).

La mayoría de las amebas tecadas han sido clasificadas usando métodos de taxonomía clásica, en base a la morfología de la teca (Deflandre, 1928; Saedeleer, 1934; Hoogenraad and de Groot, 1940; Jung, 1942; Deflandre, 1953). En muchos grupos de amebas tecadas la forma de la teca y el pseudostomas permite su rápida y precisa identificación, permitiendo llegar hasta el nivel de especie (Wanner, 1999). Sin embargo, esta metodología también puede conducir a errores taxonómicos, ya que factores como fuente de alimento, temperatura y contaminantes orgánicos (como los insecticidas) pueden afectar la morfología de la concha, lo que puede provocar alta variabilidad morfológica intraespecífica (Chardez, 1989; Schönborn, 1992; Wanner, 1999; Wanner and Meisterfeld, 1994; Wanner *et. al.*, 1994). Por tal motivo, resulta necesario apoyarse en herramientas moleculares para una correcta clasificación (Mitchel, *et. al.*, 2008).

Particularmente el género *Quadrullella* ha sido muy estudiado en las latitudes medianas y altas del Hemisferio Norte (Charman and Warner, 1997; Mazei, *et. al.*, 2009), pero todavía es poco conocido en otros lugares; la mayoría de los estudios se focalizaron en turberas y sedimentos de agua dulce, y secundariamente en hojarasca de bosque (Smith and Wilkinson, 2007). Pocos estudios se han enfocado en otros ambientes, aunque se sabe que este género evita los sustratos calcáreos (Meisterfeld, *et. al.*, 2002a). En Norteamérica, Bamforth, (2008) encontró nueve géneros de amebas tecadas en un desierto frío de Utah, sin embargo, no reportó la presencia de *Quadrullella*. En Sudamérica, Fernández, (2014)

reportó 12 géneros de amebas tecadas en el desierto de Atacama en Chile, pero tampoco refirió la presencia de *Quadrullela* .

A pesar de que Centroamérica es un “hotspot” de biodiversidad a nivel mundial, tanto de plantas como de animales, no hay trabajos que demuestren la presencia de amebas tecadas y sobre todo del género *Quadrullela* en los desiertos de esta zona. Por lo tanto, es necesario generar conocimiento sobre las diferentes especies de amebas tecadas en Centroamérica, así como realizar un ajuste en la taxonomía de estos organismos, a partir del enfoque morfológico-molecular tomando en cuenta las zonas áridas como hábitat potencial, para ampliar el conocimiento sobre la ecología y taxonomía de estos protistas.

JUSTIFICACIÓN

Las amebas del suelo son probablemente el grupo de protistas más abundante y diverso que habita el suelo, incluyendo especies de importancia tanto médica como ecológica. Sin embargo, el conocimiento sobre su diversidad, biología, ecología, y taxonomía sigue siendo muy limitado, especialmente en el suelo. Esto se debe a que la mayoría de los estudios que han documentado sobre los protistas ameboides se han desarrollado en campos de cultivo, en turberas, en selvas o en bosques de los países tropicales del hemisferio norte, pero, la diversidad que habita en las zonas áridas de los países tropicales ha sido pobremente estudiada. El desierto de Tehuacán es un desierto intertropical con diversidad biológica alta, sin embargo los protistas ameboides han sido pobremente estudiados. Este desierto podría revelar una diversidad de especies de protistas alta, así como nuevas especies, lo que nos permitiría ampliar nuestro conocimiento sobre la biología y la ecología de este componente de la comunidad del suelo.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia de protistas ameboides en las zonas áridas, a partir de los factores que dirigen su estructura y distribución de manera espacial y temporal, en el desierto de Tehuacán, Puebla.

CAPÍTULO 2:
ESTRUCTURA DE LAS COMUNIDADES DE PROTISTAS A LA LUZ DE LA
TEORÍA ECOLÓGICA

“Estructura de las comunidades de protistas a la luz de la teoría ecológica”

RESUMEN

Hasta hace poco, la mayoría de los estudios sobre la teoría ecológica consideraban principalmente las interacciones negativas y los factores abióticos que extinguen las poblaciones y eliminan las especies. Sin embargo, cada vez es más claro que factores positivos pueden tener también una fuerte influencia en las comunidades naturales y son cruciales para su funcionamiento, como es el caso de los protistas que habitan el suelo. Por lo tanto resulta de gran interés conocer cuales son los principales factores que estructuran las comunidades de protistas, a la luz de la teoría ecológica, particularmente de los que habitan en el suelo, lo cual es crucial para la comprensión, manejo y conservación de estas comunidades microbianas del suelo de zonas altamente sensibles a la pérdida de la diversidad, como son las zonas áridas.

PALABRAS CLAVE: protistas amoeboides; zonas áridas; modelos ecológicos; ecología microbiana; facilitación.

INTRODUCCIÓN

Hasta hace poco, la visión de un mundo natural, estructurado por el conflicto y las privaciones, dominó los estudios ecológicos. Estudios clásicos sobre cómo modelar la competencia y depredación (Connell, 1961; Holt, 1977; Lotka and Volterra, 1925; Rosenzweig and MacArthur, 1963; Schoener, 1983), cómo analizar empíricamente la exclusión competitiva (Hardin, 1960; Gause, 1932; Gause, 1934), y el desarrollo de la teoría del nicho y el agrupamiento de las especies (Grinnell, 1924; Hutchinson, 1957; Vandermeer, 1972; MacArthur, 1963), entre otros, tuvieron fuerte influencia sobre los aportes ecológicos durante varias décadas. La mayoría de los estudios se enfocaron en la importancia de la competencia, la depredación, las perturbaciones físicas y el estrés fisiológico en la estructuración de las comunidades (Boucher, 1988). Es decir, la teoría ecológica consideraba principalmente las interacciones negativas y los factores abióticos que extinguen poblaciones y eliminan especies (Palmer, *et. al.*, 1997).

Sin embargo, cada vez es más claro que factores positivos pueden tener también una fuerte influencia en las comunidades naturales y son cruciales para su funcionamiento. Este es el caso de la facilitación (cuando al menos una especie se beneficia de la interacción y no le causan daño a ninguno), la cual debe ser involucrada en la teoría del nicho y la exclusión competitiva (Boucher, 1988; Stachowicz, 2001; Bruno, *et. al.*, 2003). Se ha demostrado de manera experimental que la facilitación tiene una fuerte influencia en el estado físico individual, la distribución de las poblaciones y las tasas de crecimiento, la composición y diversidad de las especies e incluso en la dinámica de la comunidad a escala de paisaje

(Boucher, 1988; Callaway, 1995; Bertness, 1997; Jones, 1997; Bruno, 2001; Stachowicz, 2001; Brooker, *et. al.* 2008; McIntire and Fajardo 2014; Ward, 2016).

El aumento reciente en los estudios de ecología microbiana permiten visualizar la cantidad y el tipo de relaciones positivas que se dan en todos los tipos de ambientes (Mulder, 2001; Bruno, 2003; Bonkowski, 2004; Moeller, 2004; Sachs, 2004; Furla, *et. al.*, 2005; Willmer, 2011; Davy, 2012; Fleming, 2016; Li, *et. al.*, 2019 Goldfort, 2018). Por ejemplo, el mutualismo entre corales y dinoflagelados simbióticos (Muscatine, 1990), y entre hongos micorrízicos y plantas vasculares (Harley, 1983), permiten que tanto los corales como las plantas persistan en un rango más amplio de condiciones físicas de lo que sería posible en ausencia de esta interacción (Boucher, 1988). Otro ejemplo es el caso de la ameba tecada *Paulinella chromatophora* y un endosimbionte fotosintético que resulta necesario para la supervivencia de la ameba, pues al remover el simbiote de su célula, ésta muere rápidamente (Nowack, *et. al.*, 2008).

Del mismo modo las interacciones de las amebas que habitan los suelos con las plantas son importantes, ya que los microambientes creados por plantas y árboles de sucesión temprana facilita la posterior extensión del rango de innumerables especies microbianas asociadas (Crocker, 1955). Es decir, el nicho ecológico realizado y el mismo espacio físico ocupado por una especie en presencia de interacciones interespecíficas, es en realidad mayor que el ocupado cuando la especie vive sola, lo que difiere con las predicciones hechas a partir del nicho fundamental (Bruno, *et. al.*, 2003).

En el caso del modelo depredador-presa indica que la interacción es ventajosa para el depredador (aumento en el tamaño poblacional), pero perjudicial para la presa (disminución en el tamaño poblacional) (Connell, 1961; Holt, 1977; Lotka and Volterra, 1925; Rosenzweig and MacArthur, 1963; Schoener, 1983). El modelo ha sido explorado en grupos de protistas (Gause, 1932; Gause, 1934; Lawler and Morin, 1993; Petchey, 2000; Altermatt, *et. al.*, 2015). Sin embargo, no se puede decir que esta relación depredador-presa sólo sea benéfica para el depredador, sobre todo en comunidades microbianas. Se sabe que los protistas amoeboides funcionan como estimuladores de las poblaciones bacterianas, como de *Pseudomonas*, pues al depredarlas promueven la reproducción bacteriana, lo que mantiene fisiológicamente jóvenes a las poblaciones de bacterias, pues las especies depredadas mantienen su tasa de crecimiento en fase exponencial, que es un fenómeno conocido como “Modelo de cosecha óptima” (Gause, 1932; 1934; Bonkowski, 2004; Flues, *et. al.*, 2017).

Además del beneficio que se da a las poblaciones bacterianas, la depredación por parte de los protistas amoeboides estimula el reciclaje de nutrientes en el suelo, pues las bacterias suelen secuestrar nutrientes importantes como el nitrógeno (Bonkowski, 2004), debido a su alta capacidad fisiológica para generar biomasa. Los protistas, al depredar a las bacterias liberan estos nutrientes al suelo, dejándolos disponibles para otros habitantes (Kuikman, *et. al.*, 1990; Ekelund and Rønn, 1994). Este comportamiento se toma en cuenta en el modelo de cascadas tróficas *top down* (Hunter, 1992), donde el tamaño de las poblaciones se determina desde la parte superior, hasta la parte inferior de las redes tróficas, es decir, la

abundancia de la población de los depredadores determinan la abundancia de todas las demás poblaciones.

Ciertamente, a pesar de que lo descrito en el párrafo anterior puede suceder en el suelo, también es bien sabido que las comunidades microbianas están influenciadas por los factores ambientales, lo que podría explicarse a partir del modelo conocido como *bottom-up* (Hunter, 1992). Este modelo es lo contrario al modelo *top down*, pues en este caso el tamaño de las poblaciones, se determina desde el nivel inferior hasta el superior en las redes tróficas, pues la abundancia de los productores está determinada por variables abióticas como la disponibilidad de nutrientes, radiación solar, disponibilidad de agua, entre otros (Foissner, 1999). Cabe señalar que ambos procesos (*top down* y *bottom up*) en el suelo pueden tener mayor o menor influencia, según el tipo de ecosistema, si existe la limitación en recursos y fuertes variaciones ambientales. Por ejemplo en el caso de los desiertos, los procesos *bottom up* podrían explicar en su mayoría el tamaño y la composición de las poblaciones microbianas (Meserve, 2003).

Determinar un solo factor abiótico que afecte el desarrollo de los microorganismos es muy difícil, pues son numerosos los factores físicos y químicos que participan en la estructuración de las comunidades microbianas (Gobat, 2004). Entre los factores que se han identificado están la radiación ionizante; la temperatura, que en muchos casos determina la velocidad de crecimiento y la actividad; la presión debido a las fuerzas osmótica, hidrostática y atmosférica; el potencial redox que ejerce efecto sobre el tipo de metabolismo microbiano; el pH del cual depende la disponibilidad de nutrientes; la

disponibilidad de agua líquida, esencial para todos los procesos de la vida; y la concentración y la forma química de los compuestos orgánicos e inorgánicos que muchas veces son nutrientes esenciales actuando como sustancias inhibidoras o tóxicas (Atlas, 1998; Gobat, 2004; Geisen, *et. al.*, 2018).

Además, los microorganismos han desarrollado diversas estrategias que les permiten sobrevivir y mantenerse en las comunidades. Una sistema para clasificar de manera general estas estrategias es usando el denominado gradiente *r-K* (MacArthur and Wilson, 1963), en el cual los microorganismos adaptados a la reproducción rápida son conocidos como estrategias *r* y los que crecen lentamente, que son buenos competidores y se encuentran en poblaciones cerca de su capacidad de carga del medio (estrategas *K*). De manera particular, Bamfort, (2005) explicó esta clasificación tomando como modelo algunos protistas como estrategias *r* y *K* donde encontró muchos protistas que pueden ser considerados estrategias *r* debido a sus elevadas tasas de reproducción. Sin embargo, también encontró estrategias *K*, los cuales se reproducen lentamente y suelen tener éxito en las situaciones donde hay limitación por los recursos (Pianka, 1970).

Los ciliados, flagelados y las amebas desnudas tienen tiempos generacionales cortos, que están en el orden de unas horas cuando el alimento esta disponibles (Geisen, *et. al.*, 2018). En contraste, las amebas tecadas tienen tiempos generacionales mucho mas largos, debido a que la construcción de la teca es un proceso largo y costoso con relación al gasto de energía (Foisner, 1997).

En el caso de los desiertos, debido a que existen limitaciones fuertes de recursos sobre todo en las áreas desprovistas de vegetación o suelo desnudo, que se ven afectadas por las variaciones ambientales, los residentes tienen estrategias y características particulares para poder sobrevivir (Whitford, 2002). Además, los microambientes que se crean bajo la sombra de la vegetación, poseen condiciones más místicas y estables en comparación con el suelo desnudo, por lo que muchos de los microorganismos suelen estar refugiados en estas zonas (Rodríguez-Zaragoza, 1997; Fernández, 2015, Pérez-Juárez, 2018).

Estructuración de la comunidad de protistas del suelo

Para conocer los factores que afectan la estructura de las comunidades de protistas en el suelo, se han realizado estudios donde se toman en cuenta las variables abióticas que los afectan (Geisen, *et. al.*, 2018). Se han identificado algunos factores, como la geografía y los climas actuales y pasados, características bióticas y abióticas del ambiente en escala de unos cuantos milímetros hasta centímetros, y la frecuencia y nivel de las perturbaciones (Rodríguez-Zaragoza, 1994; Geisen, *et. al.*, 2018).

Los protistas son conocidos como microorganismos acuáticos, pero muchos de ellos han logrado adaptarse a las condiciones del suelo y necesitan humedad para estar activos, pues todas sus funciones están estrictamente limitadas por el agua disponible (Clarholm, 1981; Geisen, *et. al.*, 2014), pero esta necesidad se incrementa en el contexto de las zonas áridas y de los desiertos. La humedad del suelo es un factor clave para regular la diversidad de protistas del suelo, la densidad y la composición de la comunidad en todos los ecosistemas incluidos los desiertos donde el agua casi nunca está disponible (Kennedy, 1993; Anderson, 2000; Krashevskaya, *et. al.*, 2012; Tsyganov, *et. al.*, 2013; Pérez-Juárez, *et. al.*, 2018). Los

protistas menos afectados son los de menor tamaño, ellos muestran un amplio rango de tolerancia a la súbita disponibilidad de agua, siendo los taxa de mayor tamaño los más afectados por la sequía y los cambios en la disponibilidad de agua (Geisen, *et. al.*, 2014).

La diversidad de protistas generalmente alcanza su punto máximo en suelos continuamente húmedos (Geisen, *et. al.*, 2014), pero algunos grupos pueden ser muy diversos alternando los periodos de sequía y lluvia (Cavender, *et. al.*, 2016).

En contraste, el exceso de agua provoca condiciones anóxicas, disminuyendo drásticamente la tasa de crecimiento en condiciones de adecuada oxigenación, siendo variable la tolerancia a la anoxia entre los diferentes grupos de protistas (Fenchel and Finlay, 1990). Casi todas las especies requieren oxígeno, pero pueden soportar las condiciones de anoxia por el enquistamiento (Schwarz and Fenzel, 2003).

La variación en la temperatura afecta a los protistas del suelo, principalmente mediante la regulación de la humedad en las regiones cálidas a través de la sequia y en las regiones frías a través de la congelación (Bamfort, 1973). Por lo tanto, los protistas muestran un amplio rango de temperaturas optimas y tolerancias dependiendo del ambiente y de su ciclo de vida (Liu, *et. al.*, 2015). Algunos protistas pueden soportar por periodos breves la congelación o incluso la desecación (Muller, *et. al.*, 2004). Las temperaturas superiores a los 60 °C mata a los protistas (Tansey and Brock, 1972; Clarke, 2014), pero a 35 °C se selecciona a los eucariontes termófilos, incluidos en los suelos (De Jonckheere, *et. al.*, 2011). Incluso algunos protistas han sido encontrados en el valle seco del ártico uno de los sitios más fríos y secos en la tierra (Niederberger, *et. al.*, 2015).

El pH local del suelo y la conductividad frecuentemente afectan la densidad, diversidad, composición de especies, la distribución o la actividad de los protistas (Ekelund and RØnn, 1994; Opravilova and Hajek, 2006; Ehrmann, *et. al.*, 2012; Mitchell, *et. al.*, 2013; Dupont, *et. al.*, 2016; Lara, *et. al.*, 2016), y en muchos casos muestran también una fuerte adaptación a condiciones extremas de pH (Shields and Durrell, 1964; Lukesova and Hoffmann, 1996; Zancan, *et. al.* 2006; Frankova, *et. al.*, 2009; Dupont, *et. al.*, 2016; Rojas, *et. al.*, 2016; Antonelli, *et. al.*, 2017).

En el caso de la luz, esta también afecta a los protistas principalmente a los fotosintéticos (Shields and Durrell, 1964; Lukesova and Hoffmann, 1996) y a los protistas depredadores de estos protistas fotosintéticos (Seppey, *et. al.*, 2017). Se observado que la luz UV y la luz roja influyen en su dispersión pues en el caso de la luz UV esta puede dañar el DNA y matar a los protistas incluso aquellos que se encuentran enquistados (Thomas, *et. al.*, 1995).

Otros factores como los contenidos de carbono orgánico y de nitrógeno también contribuyen a la diversidad y estructura de las comunidades de protistas (Carlson, *et. al.*, 2010; Dassen, *et. al.*, 2017). Por ejemplo, las poblaciones varían fuertemente a lo largo de los gradientes de nitrógeno (Shields and Durrell, 1964; Clarholm, 2002; Acosta-Mercado and Lynn, 2004; Bernasconi, *et. al.*, 2011) y algunos estudios revelan que la diversidad y densidad de las amebas testadas se reduce mediante la adición experimental de carbono (C) y fósforo (P), pero se incrementa mediante la adición de nitrógeno (Krashevskaya, *et. al.*, 2010, 2014).

Dentro de los factores bióticos, podemos señalar que las plantas y el tipo de vegetación afecta las comunidades de protistas, las diferencias en la calidad del mantillo (*litter*) (Acosta-Mercado and Lynn, 2004; Garbeva, 2004). La rizosfera de las plantas también puede diferenciar entre dos poblaciones de protistas, afectando a una de ellas, esto se ha observado en diferentes plantas, las cuales seleccionan a los grupos de microorganismos que se establecerán cerca de su zona de raíces (Acosta-Mercado and Lynn, 2004; Fernandez-Parra, 2015; Pérez-Juárez, *et. al.*, 2018). Aunque los protistas pueden depredar a cualquier microorganismo que puedan engullir, se ha demostrado que pueden seleccionar a sus presas. Debido a esto, la estructura de la comunidad de protistas va a depender también de las presas disponibles, pues los factores ambientales que afectan directamente la estructura de la comunidad de protistas, también pueden afectar de manera directa a otros microorganismos que son presas potenciales de los protistas, por ejemplo las bacterias, las cuales son consideradas las principales presas de los protistas, además de algas, nemátodos otros protistas y los hongos (Foisner, 1987).

Perturbaciones antropogénicas también pueden afectar la estructura de las comunidades de protistas del suelo, incluyendo el cultivo, la contaminación por plaguicidas y fertilizantes (Brussaard, *et. al.*, 2016; Foissner, 1997, 1999; Li, *et. al.*, 2005; Adl, Coleman and Real, 2006; Zancan, *et. al.*, 2006; Lara, *et. al.*, 2007; Lentendu, *et. al.*, 2014; Gabilondo, *et. al.*, 2015; Imparato, *et. al.*, 2016; Antonelli, *et. al.*, 2017). Sin embargo, la resistencia a algunos fungicidas e insecticidas varía entre los diferentes grupos de protistas heterotróficos (Foissner, 1999). Por otra parte, se ha demostrado que incrementos en los nutrientes en suelos pobres incrementa el crecimiento de protistas fototróficos (Gilbert, *et. al.*, 1998a).

CONCLUSIONES

Tomando en cuenta la teoría ecológica para determinar cuales son los factores que determinan la estructura y distribución de las comunidades de protistas amoeboides en suelos, principalmente de zonas áridas, cada uno de los modelos retomados en esta teoría que fue desarrollada de manera general, pero que ha sido aplicada principalmente para organismos superiores pueden explicar la presencia y distribución de estos microorganismos en el suelo de las zonas áridas. Sin embargo, los modelos propuestos pueden estar relacionados entre sí, y es difícil tratar de explicar de manera separada el efecto de cada uno de ellos sobre las comunidades de protistas, pues es posible que se encuentren ocurriendo de manera simultánea y concatenada en la naturaleza, por lo que es necesario que sean analizados con precaución, para evitar conclusiones erróneas, especialmente con protistas amoeboides, de los cuales se tiene todavía poco conocimiento.

Hasta ahora, podríamos pensar que los factores abióticos tienen una fuerte influencia en la estructura de estas comunidades, pero las interacciones con otros organismos vivos como las bacterias y las plantas también poseen un alto impacto sobre estas comunidades.

Si bien, la investigación sobre los protistas del suelo está ganando impulso gracias a los trabajos hasta realizados donde se muestra la importancia de estos para el ambiente, ha permitido atraer la atención de cada vez más investigadores, aún existen lagunas de investigación importantes sobre todo en los ecosistemas áridos que es necesario analizar.

REFERENCIAS

Adl, S. M., Coleman, D. C., Read, F. (2006). Slow recovery of soil biodiversity in sandy loam soils of Georgia after 25 years of no-tillage management. *Agriculture, ecosystems & environment*, 114(2-4), 323-334.

Acosta-Mercado, D, and Lynn D. H. (2004). Soil ciliate species richness and abundance associated with the rhizosphere of different subtropical plant species. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 51(5), 582-588.

Altermatt, F., Fronhofer, E. A., Garnier, A., Giometto, A., Hammes, F., Klecka, J., Legrand, D., Machler, E., Massie, T. M., Pennekamp, F., Plebani, M., Pontarp, M., Schtickzelle, N., Thuillier, V., Petchey, O. L. (2015). Big answers from small worlds: a user's guide for protist microcosms as a model system in ecology and evolution. *Methods in Ecology and Evolution*, 6(2), 218-231.

Anderson, O. R. (2000). Abundance of Terrestrial Gymnamoebae at a Northeastern US Site: A Four-year Study, Including the El Nino Winter of 1997–1998. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 47(2), 148-155.

Antonelli, M., Wetzel, C. E., Ector, L., Teuling, A. J., and Pfister, L. (2017). On the potential for terrestrial diatom communities and diatom indices to identify anthropic disturbance in soils. *Ecological indicators*, 75, 73-81.

Atlas, R. M. (1998). *Microbial Ecology: Fundamentals And Applications*, 4/E. Pearson Education India.

- Austin, A.T., Yahdjian, L., Stark J. M., Belnap, J., Porporato, A., Norton, U., Ravetta, D. A., Schaeffer, S. M. (2004). "Water pulses and biogeochemical cycles in arid and semiarid ecosystems." *Oecologia*, 141.2 , 221-235
- Bamforth, S. S. (1973). Population dynamics of soil and vegetation protozoa. *American Zoologist*, 13(1), 171-176.
- Bamforth, S. S., Wall, D. H., Virginia, R. A. (2005). Distribution and diversity of soil protozoa in the McMurdo Dry Valleys of Antarctica. *Polar Biology*, 28, 756-762.
- Bernasconi, S. M., Bauder, A., Bourdon, B., Brunner, I., Bünemann, E., Christl, I., Derungs, N., Edwards, P., Farinotti, D., Fre, B Frossard, E., Furrer, G., Gierga, M., Goransson, H., Gulland, K., Hagedorn, F., Hajdas, I., Hindshaw, R., IvY-Ochs, S., Jansa, J., Jonas T., Kiczka M., Kretzschmar R., Lemarchand E., Luster J., Magnusson J., Mitchell, E. A. D. (2011). Chemical and biological gradients along the Damma glacier soil chronosequence, Switzerland. *Vadose Zone Journal*, 10, 867-883.
- Bertness, M. D., and Leonard, G. H. (1997). The role of positive interactions in communities: lessons from intertidal habitats. *Ecology*, 78, 1976-1989.
- Bonkowski, M. (2004). Protozoa and plant growth: the microbial loop in soil revisited. *New Phytologist*, 162(3), 617-631.
- Boucher, D. H. (1988). *The biology of mutualism: ecology and evolution*. Oxford University Press on Demand.
- Brooker R. W., Maestre F. T., Callaway R. M., et. al., and Armas C. (2007). Facilitation in plants communities: the past, the present, and the future. *Journal of Ecology*, 96 (1), 18-34.

Bruno, J. F. (2001). Habitat modification and facilitation in benthic marine communities. *Marine community ecology*.

Bruno, J. F., Stachowicz, J. J., and Bertness, M. D. (2003). Inclusion of facilitation into ecological theory. *Trends in Ecology & Evolution*, 18, 119-125.

Brussaard, C. P., Peperzak, L., Beggah, S., Wick, L. Y., Wuerz, B., Weber, J. Samuel, A., van der Burg, B., Jonas, A., Huisman, J., Van Der Meer, J. R. (2016). Immediate ecotoxicological effects of short-lived oil spills on marine biota. *Nature communications*, 7, 11206.

Callaway, R. M. (1995). Positive interactions among plants. *The Botanical Review*, 61, 306-349.

Carlsn, M. L., Flagstad, L. A., Gillet, F., Mitchell, E. A.D. (2010). Community development along a proglacial chronosequence: are above-ground and below-ground community structure controlled more by biotic than abiotic factors?. *Journal of Ecology*, 98, 1084-1095.

Cavender, J. C., Landolt, J. C., Romeralo, M., Perrigo, A., Vadell, E. M., Stephenson, S. L. (2016). New species of Polysphondylium from Madagascar. *Mycologia*, 108, 80-109.

Clarholm, M. (1981). Protozoan grazing of bacteria in soil—impact and importance. *Microbial Ecology*, 7, 343-350.

Clarholm, M. (2002). Bacteria and protozoa as integral components of the forest ecosystem—their role in creating a naturally varied soil fertility. *Antonie van Leeuwenhoek*, 81, 309-318.

- Clarholm, M. (2005). Soil protozoa: an under-researched microbial group gaining momentum. *Soil biology & biochemistry*. Edit press.
- Clarke, A. (2014). The thermal limits to life on Earth. *International Journal of Astrobiology*, 13, 141-154.
- Connell, J. H. (1961). Factor son the distribution of the barnacle *Chthamalus stellatus*. *Ecology*, 42, 710-723.
- Crocker, R. L., Major, J. (1955). Soil development in relation to vegetation and surface age at Glacier Bay, Alaska. *The Journal of Ecology*, 427-448.
- Dassen, S., Cortois, R., Martens, H., de Hollander, M., Kowalchuk, G. A., van der Putten, W. H., De Deyn, G. B. (2017). Differential responses of soil bacteria, fungi, archaea and protists to plant species richness and plant functional group identity. *Molecular ecology*, 26, 4085-4098.
- Davy, S. K., Allemand, D., Weis, V. M. (2012). Cell biology of cnidarian-dinoflagellate symbiosis. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 76, 229-261.
- De Jonckheere, J. F., Murase, J., Opperdoes, F. R. (2011). A new thermophilic heterolobosean amoeba, *Fumarolamoeba ceborucoi*, gen. nov., sp. nov., isolated near a fumarole at a volcano in Mexico. *Acta Protozoologica*, 2011, 41-48.
- de Ruiter, P. C., Neutel, A. M., Moore, J. C. (1995). Energetics, patterns of interaction strengths, and stability in real ecosystems. *Science*, 269, 1257-1260.,
- Dupont, A. Ö. C., Griffiths, R. I., Bell, T., Bass, D. (2016). Differences in soil micro-eukaryotic communities over soil pH gradients are strongly driven by parasites and saprotrophs. *Environmental microbiology*, 18, 2010-2024.

- Ehrmann, O., Puppe, D., Wanner, M., Kaczorek, D., Sommer, M. (2012). Testate amoebae in 31 mature forest ecosystems—densities and micro-distribution in soils. *European journal of protistology*, 48, 161-168.
- Ekelund, F., Rønn, R. (1994). Notes on protozoa in agricultural soil with emphasis on heterotrophic flagellates and naked amoebae and their ecology. *FEMS Microbiology Reviews*, 15, 321-353.
- Foissner, W. Soil protozoa: fundamental problems, ecological significance, adaptation in ciliates and testaceans, bioindicators, and guide to the literature. *Protozoology* 1987; 2, 69–212.
- Foissner, W. (1997). Protozoa as bioindicators in agroecosystems, with emphasis on farming practices, biocides, and biodiversity. *Agriculture, ecosystems & environment*, 62(2-3), 93-103.
- Foissner, W. (1999). Soil protozoa as bioindicators: pros and cons, methods, diversity, representative examples. In *Invertebrate Biodiversity as Bioindicators of Sustainable Landscapes* Edit Pres.
- Fenchel, T., and Finaly, B. J. (1990). Anaerobic free-living protozoa: growth efficiencies and the structure of anaerobic communities. *FEMS Microbiology Letters*, 74, 269-275.
- Fernández, L. D. (2015). Source–sink dynamics shapes the spatial distribution of soil protists in an arid shrubland of northern Chile. *Journal of Arid Environments*, 113, 121-125.

- Flemming, H. C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S. A., Kjelleberg, S. (2016). Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology*, 14(9), 563.
- Flues, S., Bass, D., Bonkowski, M. (2017). Grazing of leaf-associated Cercomonads (Protists: Rhizaria: Cercozoa) structures bacterial community composition and function. *Environmental microbiology*, 19(8), 3297-3309.
- Fránková, M., Bojková, J., Pouličková, A., Hájek, M. (2009). The structure and species richness of the diatom assemblages of the Western Carpathian spring fens along the gradient of mineral richness. *Fottea*, 9(2), 355-368.
- Furla, P., Allemand, D., Shick, J. M., Ferrier-Pagès, C., Richier, S., Plantivaux, A., Tambutté, S. (2005). The symbiotic anthozoan: a physiological chimera between alga and animal. *Integrative and Comparative Biology*, 45(4), 595-604.
- Gabilondo, R., Fernández-Montiel, I., García-Barón, I., Bécares, E. (2015). The effects of experimental increases in underground carbon dioxide on edaphic protozoan communities. *International Journal of Greenhouse Gas Control*, 41, 11-19.
- Garbeva, P., van Veen, J. van Elsas, J. 2004. Microbial diversity in soil: Selection of Microbial Populations by Plant and Soil Type and Implications for Disease Suppressiveness. *Annual Review Phytopathology*. 42, 243-270
- Gause, G. F. (1932). Experimental studies on the struggle for existence: 1. Mixed population of two species of yeast. *Journal of Experimental Biology*. 9,389-402.
- Gause, G. F. (1934). The struggle for existence. Baltimore, MD: Williams and Wilkins

- Geisen, S., Cornelia, B., Jörg, R., Michael, B. (2014). Soil water availability strongly alters the community composition of soil protists. *Pedobiologia*, 57 (4-6), 205-213.
- Geisen, S. Mitchel, E. A., Adl, S. Bonkowski, M., Dunthorn, M, Ekelund, F., Fernández, L. D., Jousset, A., Krashevskaya, V., Singer, D., Spiegel, F. W., Walochnik, J., Lara, E. (2018). Soil protists: a fertile frontier in soil biology research. *FEMS Microbiology reviews*, 42, 293-323.
- Gilbert, D., Amblard, C., Bourdier, G., Francez, A. J. (1998a). Short-term effect of nitrogen enrichment on the microbial communities of a peatland. *Hydrobiologia*, 373, 111-119.
- Grinnell, J. (1924). Geography and Evolution. *Ecology*, 5, 225-229.
- Goldford, J. E., Lu, N., Bajić, D., Estrela, S., Tikhonov, M., Sanchez-Gorostiaga, A., Sanchez, A. (2018). Emergent simplicity in microbial community assembly. *Science*, 361(6401), 469-474.
- Gobat, J.M., Arango, M., Matthey, W. (2004). The living soil: Fundamental of soil sciences and soil biology, Sciences Pub Inc.
- Hardin, G. (1960). The competitive Exclusion Principle. *Science*, 131, 1292-1297.
- Harley, J. L. and Smith, S. E. (1983). Mycorrhizal Symbiosis, Academic Press
- Holt, R. D. (1977). Predator, apparent competition, and the structure of prey communities. *Theoretical population biology*, 12, 197-229.
- Hutchinson, G. E. (1957). Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology, 22, 415-427.
- Hunt, H.W, Coleman, D.C. Ingham, E.R. (1987). The detrital food web in a shortgrass prairie. *Biol Fertil Soils*, 3, 57– 68.

Hunter, M. D., and Price, P. W. (1992). Playing chutes and ladders: heterogeneity and the relative roles of bottom-up and top-down forces in natural communities. *Ecology*, 73(3), 724-732.

Imparato, V., Santos, S. S., Johansen, A., Geisen, S., Winding, A. (2016). Stimulation of bacteria and protists in rhizosphere of glyphosate-treated barley. *Applied soil ecology*, 98, 47-55.

Jones, C. G., Lawton, J. H., Shachak, M. (1997). Positive and negative effects of organisms as physical ecosystem engineers. *Ecology*, 78(7), 1946-1957.

Kennedy, A. D. (1993). Water as a limiting factor in the Antarctic terrestrial environment: a biogeographical synthesis. *Arctic and Alpine Research*, 25(4), 308-315.

Krashevskaya, V., Maraun, M., Ruess, L., Scheu, S. (2010). Carbon and nutrient limitation of soil microorganisms and microbial grazers in a tropical montane rain forest. *Oikos*, 119(6), 1020-1028.

Krashevskaya, V., Sandmann, D., Maraun, M., Scheu, S. (2012). Consequences of exclusion of precipitation on microorganisms and microbial consumers in montane tropical rainforests. *Oecologia*, 170(4), 1067-1076.

Krashevskaya, V., Sandmann, D., Maraun, M., Scheu, S. (2014). Moderate changes in nutrient input alter tropical microbial and protist communities and belowground linkages. *The ISME journal*, 8(5), 1126.

Kuikman, P. J., Jansen, A. G., Van Veen, J. A., Zehnder, A. J. B. (1990). Protozoan predation and the turnover of soil organic carbon and nitrogen in the presence of plants. *Biology and fertility of soils*, 10(1), 22-28.

- Lara, E., Berney, C., Ekelund, F., Harms, H., Chatzinotas, A. (2007). Molecular comparison of cultivable protozoa from a pristine and a polycyclic aromatic hydrocarbon polluted site. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(1), 139-148.
- Lara, E., Roussel-Delif, L., Fournier, B., Wilkinson, D. M., Mitchell, E. A. (2016). Soil microorganisms behave like macroscopic organisms: patterns in the global distribution of soil euglyphid testate amoebae. *Journal of biogeography*, 43(3), 520-532.
- Lawler, S. P., and Morin, P. J. (1993). Food web architecture and population dynamics in laboratory microcosms of protists. *The American Naturalist*, 141(5), 675-686.
- Lentendu, G., Wubet, T., Chatzinotas, A., Wilhelm, C., Buscot, F., Schlegel, M. (2014). Effects of long-term differential fertilization on eukaryotic microbial communities in an arable soil: a multiple barcoding approach. *Molecular Ecology*, 23(13), 3341-3355.
- Li, Q., Mayzlish, E., Shamir, I., Pen-Mouratov, S., Sternberg, M., Steinberger, Y. (2005). Impact of grazing on soil biota in a Mediterranean grassland. *Land degradation & development*, 16(6), 581-592.
- Li, M., Wei, Z., Wang, J., Jousset, A., Friman, V. P., Xu, Y., Pommier, T. (2019). Facilitation promotes invasions in plant-associated microbial communities. *Ecology letters*, 22(1), 149-158.
- Liu, Q. S., Yan, S. Z., Chen, S. L. (2015). Species diversity of myxomycetes associated with different terrestrial ecosystems, substrata (microhabitats) and environmental factors. *Mycological progress*, 14(5), 27.
- Lukešová, A., Hoffmann, L. (1996). Soil algae from acid rain impacted forest areas of the Krušné hory Mts. 1. Algal communities. *Vegetatio*, 125(2), 123-136.

- MacArthur, R. H., Wilson, E. O. (1963). An equilibrium theory of insular zoogeography, *Evolution*, 17 (4), 373-387.
- McIntire E. J., Fajardo, A. (2014). Facilitation as a ubiquitous driver of biodiversity. *New Phytologist*, 201 (2), 403-416.
- Meserve, P. L., Kelt, D. A., Milstead, W. B., Gutierrez, J. R. (2003). Thirteen years of shifting top-down and bottom-up control. *AIBS Bulletin*, 53(7), 633-646.
- Mitchell, E. A., Payne, R. J., van der Knaap, W. O., Lamentowicz, Ł., Gąbka, M., Lamentowicz, M. (2013). The performance of single-and multi-proxy transfer functions (testate amoebae, bryophytes, vascular plants) for reconstructing mire surface wetness and pH. *Quaternary Research*, 79(1), 6-13.
- Moeller, D. A. (2004). Facilitative interactions among plants via shared pollinators. *Ecology*, 85(12), 3289-3301.
- Mulder, C. P. H., Uliassi, D. D., Doak, D. F. (2001). Physical stress and diversity-productivity relationships: the role of positive interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(12), 6704-6708.
- Müller, H., Achilles-Day, U. E., Day, J. G. (2010). Tolerance of the resting cysts of *Colpoda inflata* (Ciliophora, Colpodea) and *Meseres corlissi* (Ciliophora, Spirotrichea) to desiccation and freezing. *European journal of protistology*, 46(2), 133-142.
- Muscatine, L. M. (1990). The role of symbiotic algae in carbon and energy flux in reef corals. In *Coral Reefs Ecosystems of the World* (Dubinsky, Z., ed.), Elsevier, Vol. 25, pp. 75–87.

- Niederberger, T. D., Sohm, J. A., Gunderson, T. E., Parker, A. E., Tirindelli, J., Capone, D. G., Cary, S. C. (2015). Microbial community composition of transiently wetted Antarctic Dry Valley soils. *Frontiers in microbiology*, 6, 9.
- Nowack, E. C., Melkonian, M., Glöckner, G. (2008). Chromatophore genome sequence of *Paulinella* sheds light on acquisition of photosynthesis by eukaryotes. *Current Biology*, 18(6), 410-418.
- Opravilová, V., Hajek, M. (2006). The variation of testacean assemblages (Rhizopoda) along the complete baserichness gradient in fens: a case study from the Western Carpathians. *Acta protozoologica*, 45(2), 191.
- Palmer, M. A., Ambrose, R. F., Poff, N. L. (1997). Ecological theory and community restoration ecology. *Restoration ecology*, 5(4), 291-300.
- Pérez-Juárez, H., Serrano-Vázquez, A., Lara, E., Ximénez C., Godínez, H., Rodríguez-Zaragoza, S., Eguiarte, L. E., Hernández, M. M., Fernández, L. D., Rojas-Velázquez, L., Morán, P., Castillo, M., Rivera, V. M. (2018). Population dynamics of amoeboid protists in a tropical desert: seasonal changes and effects of vegetation and soil conditions. *Acta Protozoologica*, 57-3.
- Pianka, E.R. (1970). On r and K selection American Naturalist. 104 (940), 592-597.
- Petchey, O. L. (2000). Prey diversity, prey composition, and predator population dynamics in experimental microcosms. *Journal of Animal Ecology*, 69(5), 874-882.
- Rodríguez-Zaragoza, S. and Garcia, S. (1997). Species richness and abundance of naked amebae in the rhizoplane of the desert plant *Escontria chiotilla* (cactaceae). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 44(2), 122-126.

Rojas, C., Gutierrez, R. M., Bruns, M. A. (2016). Bacterial and eukaryal diversity in soils forming from acid mine drainage precipitates under reclaimed vegetation and biological crusts. *Applied soil ecology*, 105, 57-66.

Rosenzweig, M. L., and MacArthur, R. H. (1963). Graphical representation and stability conditions of predator-prey interaction. *The American Naturalist*, 97, 209-223.

Sachs, J. L., Mueller, U. G., Wilcox, T. P., Bull, J. J. (2004). The evolution of cooperation. *The Quarterly review of biology*, 79(2), 135-160.

Schoener, T. W. (1983). Field experiments on interspecific competition. *American Naturalist*, 122, 240.

Schwarz, M. J., and Frenzel, P. (2003). Population dynamics and ecology of ciliates (Protozoa, Ciliophora) in an anoxic rice field soil. *Biology and fertility of soils*, 38(4), 245-252.

Sepey, C. V., Singer, D., Dumack, K., Fournier, B., Belbahri, L., Mitchell, E. A., Lara, E. (2017). Distribution patterns of soil microbial eukaryotes suggests widespread algivory by phagotrophic protists as an alternative pathway for nutrient cycling. *Soil Biology and Biochemistry*, 112, 68-76.

Shields, L. M., Durrell, L. W. (1964). Algae in relation to soil fertility. *The Botanical Review*, 30(1), 92-128.

Stachowicz, J. J. (2001). Mutualism, facilitation, and the structure of ecological communities: positive interactions play a critical, but underappreciated, role in ecological communities by reducing physical or biotic stresses in existing habitats and by creating new habitats on which many species depend. *AIBS Bulletin*, 51(3), 235-246.

- Tansey, M. R., Brock, T. D. (1972). The upper temperature limit for eukaryotic organisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 69(9), 2426-2428.
- Thomas, D. M., Stanton, N. L., Seville, R. S. (1995). A stable eimerian assemblage in Wyoming ground squirrels (*Spermophilus elegans elegans*): maintaining viability over winter. *Journal of the Helminthological Society of Washington*, 62(1), 1-5.
- Tsyganov, A. N., Milbau, A., Beyens, L. (2013). Environmental factors influencing soil testate amoebae in herbaceous and shrubby vegetation along an altitudinal gradient in subarctic tundra (Abisko, Sweden). *European journal of protistology*, 49(2), 238-248.
- Vandermeer, J. H. (1972). Niche Theory. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 3, 107-132.
- Van Devender, Thomas R., (2006). *The Sonoran desert tortoise: natural history, biology, and conservation*. University of Arizona Press.
- Ward D. (2016). *The Biology of deserts*, Oxford University Press.
- Willmer, P. (2011). *Pollination and floral ecology*. Princeton University Press.
- Whitford, W. G. (2002). *Ecology of desert systems*. Elsevier.
- Zancan, S., Trevisan, R., Paoletti, M. G. (2006). Soil algae composition under different agro-ecosystems in North-Eastern Italy. *Agriculture, ecosystems & environment*, 112(1), 1-12.

CAPITULO 3:
**POPULATION DYNAMICS OF AMOEBOID PROTISTS IN A TROPICAL
DESERT: SEASONAL CHANGES AND EFFECTS OF VEGETATION AND SOIL
CONDITIONS**

Pérez-Juárez H, Serrano-Vázquez A, Lara E, Ximénez C, Godínez H, Rodríguez-Zaragoza S, Eguiarte LE, Hernández MM, Fernández LD, Rojas-Velázquez L, Morán P, Castillo M, Rivera VM. Population dynamics of amoeboid protists in a tropical desert: seasonal changes and effects of vegetation and soil conditions. *Acta Protozoologica*. 2018; 57:231–243.

RESUMEN

En ambientes áridos, la diversidad protista es mayor en el suelo cubierto por vegetación que en el suelo y es probable que varíe de acuerdo con los marcados patrones estacionales; Sin embargo, estos patrones no se han explorado en detalle en las zonas áridas. Aquí, utilizamos enfoques basados en el cultivo y la morfología para describir los patrones de diversidad de los protistas ameboides en áreas con suelo vegetado y desnudo del desierto intertropical de Tehuacán, México, durante las estaciones secas y húmedas. En general, se recuperaron 27 especies protistas pertenecientes a Amoebozoa, Excavata y Rhizaria utilizando métodos dependientes del cultivo. Entre los grupos de protistas del suelo encontrados, Excavata (representada principalmente por Heterolobosea) fue siempre el taxón más prevalente. La diversidad protista fue diferente entre el suelo con vegetación y el suelo desnudo, principalmente durante la estación seca. Además, la conductividad eléctrica y el pH del suelo se correlacionaron con las especies protistas durante la estación húmeda. Nuestros resultados apoyan la hipótesis de que los patrones de diversidad de protistas del suelo exhiben una variación estacional entre las estaciones seca y húmeda, aunque no se puede descartar el papel de otros factores ambientales como el pH. Además, los suelos con vegetación podrían ser un refugio para los protistas ameboides durante los periodos de condiciones extremas del suelo de las estaciones secas.

PALABRAS CLAVE: Heterolobosea; microhábitat del suelo; variación estacional; protista del suelo Desierto de Tehuacán.

Population Dynamics of Amoeboid Protists in a Tropical Desert: Seasonal Changes and Effects of Vegetation and Soil Conditions

Horacio Pérez-Juárez^{1,2,3}, Angélica Serrano-Vázquez^{1,3}, Enrique Lara⁴, Cecilia Ximénez³, Héctor Godínez-Alvarez⁵, Salvador Rodríguez-Zaragoza¹, Luis E. Eguiarte⁶, Mayra M. Hernández Moreno⁷, Leonardo D. Fernández⁸, Liliana Rojas-Velázquez^{2,3}, Patricia Morán³, Mariela Castillo¹, Víctor M. Rivera Aguilar¹

¹ Laboratorio de Ecología Microbiana, Unidad de Biotecnología y Prototipos, Facultad de Estudios Superiores, Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, México

² Doctorado en Ciencias Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, México

³ Laboratorio de Inmunología, Unidad de Investigación en Medicina Experimental, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México

⁴ Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid, España

⁵ Laboratorio de Ecología, Unidad de Biotecnología y Prototipos, Facultad de Estudios Superiores, Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, México

⁶ Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, México

⁷ Laboratorio de Edafología, Unidad de Biotecnología y Prototipos, Facultad de Estudios Superiores, Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, México

⁸ Centro de Investigación en Recursos Naturales y Sustentabilidad (CIRENYS), Universidad Bernardo O'Higgins, Santiago, Chile

Abstract. In arid environments, protist diversity is higher in soil covered by vegetation than in bare soil and is also likely to vary in line with the marked seasonal patterns; however, these patterns have not been explored in detail in arid zones. Herein, we used culture – and morphological-based approaches to describe patterns of amoeboid protist diversity in vegetated and bare soil areas from the intertropical desert of Tehuacán, Mexico, during dry and wet seasons. Overall, 27 protist species belonging to Amoebozoa, Discoba and Rhizaria were retrieved using culture-dependent methods. Among the soil protist groups found, Discoba (principally represented by Heterolobosea) was always the most prevalent taxa. Protist diversity was different between soil with vegetation and bare soil, principally during the dry season. Moreover, the electrical conductivity and pH of the soil were correlated with the protist species during the wet season. Our results support the hypothesis that soil protist diversity patterns exhibit a seasonal variation between dry and wet seasons. This seasonal variation likely relies on water availability, although the role of other environmental factors cannot be completely ruled out. In addition, the soils with vegetation could be a refuge for the amoeboid protists during the harsh soil conditions of dry seasons.

Keywords: Heterolobosea, seasonal variation, soil microhabitat, soil protist, Tehuacán desert

Address for correspondence: Horacio Pérez-Juárez: Circuito de Posgrado s/n, Coyoacán, Cd. Universitaria, 04510, Ciudad de México, CDMX. daztan13@hotmail.com; Cecilia Ximénez: Dr. Balmis No. 148 Col. Doctores, Ciudad de México, México, C.P. 06726. cximenez@unsm.mx; Salvador Rodríguez: Avenida de los Barrios #1, Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México, C.P. 54090. srodrige@unsm.mx

INTRODUCTION

Amoeboid protists constitute the most diverse functional category in soils (Geisen *et al.* 2018); they play a major role in nutrient cycling by preying on bacteria (Bonkowski 2004), fungi (Geisen *et al.* 2016) and algae (Seppely *et al.* 2017), subsequently releasing labile nutrients available for other microorganisms and plants into the soil (Geisen *et al.* 2017).

Although the protists are dependent on the availability of water (Anderson 2000, Griffiths *et al.* 2001), desert soils host many amoeboid protists despite their low moisture and nutrient contents (Robinson *et al.* 2002, Pérez-Juárez *et al.* 2017). While many soil factors drive their distribution at a local scale (e.g., pH and nutrients) (Geisen *et al.* 2014, Lanzén *et al.* 2016), water availability seems to always be the most limiting factor in arid soils (Whitford 2002). This is why the harshness of arid soils is exacerbated during dry seasons, and many amoeboid protists withstand the challenges of low water availability and UV radiation prevailing in dry seasons only in soils covered with vegetation, as plants contribute to keeping water and nutrient levels relatively constant in the arid soil (Barness *et al.* 2009, Li *et al.* 2011, Sylvain and Wall 2011). Indeed, evidence shows that in arid soils, unicellular diversity tends to be higher in soils covered by vegetation than in bare soils (Robinson *et al.* 2002; Rodríguez-Zaragoza and Steinberger 2004; Rodríguez-Zaragoza *et al.* 2005 a, b; Bamforth 2008; Barness *et al.* 2009; Fernández 2015). Additionally, many protists simply cannot survive in an active state without water (Bamforth 1963); therefore, arid soils in dry seasons filter only taxa with physiological and morphological traits adequate to withstand the lack of water (Austin *et al.* 2004, Geisen *et al.* 2014, Fernández 2015). Most of these species, however, can withstand long periods of dormancy spent as cysts, a coccoid form that can withstand adverse conditions, including drought (Geisen *et al.* 2014). Protist cysts from various species differ in their structure, ontogeny and surface properties (Foissner 2011) and probably also in their resistance to the harsh conditions encountered during the dry season.

This study was conducted in the intertropical desert of Tehuacán in Mexico. This desert is regarded as a biodiversity hotspot (Davila *et al.* 2002), harboring even an endemic soil protist species (i.e., a testate amoeba species, Pérez-Juárez *et al.* 2017). In this desert, the vegetation is dominated by *Prosopis laevigata* and

Parkinsonia praecox (Fabaceae). Both species exhibit a patchy distribution interspersed with wide areas of bare soil. The two shrubs have ecophysiological features that may affect soil in different ways and can create microenvironments in the soil under their canopies, protecting it also from the climate of the desert that includes long periods of drought, typically interrupted by a short wet season (Barness *et al.* 2009; Serrano-Vázquez *et al.* 2013).

In this context, we described the patterns and underlying causes driving amoeboid protist diversity in soils with vegetation and in bare soil areas during the dry and wet season in Tehuacán, an intertropical desert in Central Mexico. To do this, we used culture – and morphological-based approaches. The morphological-based approaches are valid for identifying amoeboid protists because amoeboid protists are a polyphyletic group of eukaryotic unicellular organisms that use pseudopodia (i.e., extensions of cytoplasm) for movement and feeding. Pseudopodia vary in shape among taxa and, therefore, along with differences in patterns of locomotion, are regarded as valuable morphological traits to classify these protists into different groups (Fahmi *et al.* 2003; Pawlowski and Burki 2009).

Therefore, we posit that the temporal dynamics of soil amoeboid protist populations can follow two patterns to be tested in our research: (1) Species are homogeneously distributed during the dry season, and less resistant populations decrease considerably in the bare soils but persist underneath plants, which act as a refuge. (2) Alternatively, all species present may have developed similar resistance mechanisms, and consequently, biodiversity remains unaltered. In this manuscript, we tested the likeliness of both scenarios and whether the first was retained. Additionally, we determined whether there was an effect of other related variables, such as soil characteristics and soil depth, on amoeboid protist species.

MATERIAL AND METHODS

Study area

Tehuacán Valley is a semiarid desert formed by the rain shadow effect of the Sierra Madre Oriental (Villaseñor *et al.* 1990). Alluvial terraces deposited by the Salado River constitute local landscapes with relatively flat surfaces and deep soils (López-Galindo *et al.* 2003). The predominant soil units are calcareous regosols and fluvisols, according to FAO-WRB (López-Galindo *et al.* 2003). Our study site is located in Zapotitlán Salinas between 18°12' and

18°25' N and 97°24' to 97°25' W. The annual mean temperature is 21 °C, and the precipitation is between 400–450 mm. The vegetation in the alluvial terraces is dominated by shrubs of *Pr. laevigata* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) MC Johnston and *Pa. praecox* (Ruiz & Pav.) Hawkins (Osorio-Beristain et al. 1996, Valiente-Banuet et al. 2000, Serrano-Vázquez et al. 2013). Both species form shrub patches that alternate with large areas of bare soil (Fig. 1). *Protophysa laevigata* and *Pa. praecox* play key ecological roles because they provide a suitable habitat for other plants, microorganisms, birds, rodents, and insects that are critical for such processes as organic matter decomposition, seed dissemination, pollination, and plant establishment in the Tehuacán desert (Valiente-Banuet et al. 2000).

Sampling

Three individual organisms of *Pr. laevigata* and three of *Pa. praecox* with similar morphological characteristics (3–3.5 m height, 2.5–2.9 m canopy diameter, and 0.2–0.3 m basal diameter), along with three bare soil sites in an alluvial terrace were selected (hereafter referred to as microhabitats). For each microhabitat, we collected soil samples during the wet season (September 2008; 27 samples) and dry season (May 2009; 27 samples). The soil samples were collected using a stainless steel corer (10 cm in diameter) beneath each selected shrub and from bare soil areas. Soil samples were collected from 0 to 30 cm deep in soil layers of 10 cm (0 to 10, 10 to 20 and 20 to 30 cm). A total of 54 soil samples were collected (three microhabitats by three replicates by three depths by two seasons = 54) and stored in self-sealing bags. Bags were deposited in a camp cooler to avoid overheating and stored at 4 °C, after measuring the soil moisture and obtaining subsamples for soil amoeboid protists, until processing for the next analyses.

Physical and chemical soil properties

To examine the roles of two legume shrubs on amoeboid protist communities, we evaluated how *Pr. laevigata* and *Pa. praecox* modify the soil conditions in the first 30 cm of depth (in 10 cm intervals). All soil samples were analyzed separately for each physical and chemical property. The soil moisture content was determined by the gravimetric method after arriving at the laboratory (weighing samples before and after drying them at 110 °C for 72 h; Ortiz and Ortiz 1980). The soil composition (percentage of sand, silt, and clay) was determined using a hydrometer with a method described by Bouyoucos (1962). This method takes into account the precipitation time of the particles and temperature (Medina et al. 2007). The pH was determined in a 1:2.5 soil solution in distilled water (Bates 1954, Willard et al. 1958) using a potentiometer (Conductronic pH 120, pH Electrode BA17; Boeco, Hamburg, Germany). Electrical conductivity was determined from a soil extract with a soluble salt tester (Mark Kelway, model SST, Kel Instruments Co., Inc., Wyckoff, NJ, USA) following the manufacturer's instructions. Organic matter content was measured using humid combustion as described by Walkley and Black (1934) and available phosphorus (orthophosphates) based on Olsen's (1954) extraction method, using NaHCO₃ as the extractant (Cajuste 1986).

Isolation and identification of amoeboid protists

We obtained the amoeboid protists in triplicate for each soil sample immediately after arriving at the laboratory. All soil samples were analyzed separately. One gram of dry soil for each sample was

added to 10 ml of 1:5 soil extract, and the suspension was thoroughly mixed by vortexing for five 15-s pulses in screw-capped glass test tubes. This suspended sample was then left untouched for 15 min to allow the sedimentation of heavy particles (Rodríguez-Zaragoza et al. 2005a). All the supernatant was then gently transferred onto bacteria-free nonnutritive agar plates (Rodríguez-Zaragoza et al. 2005a).

The amoeboid protists were allowed to settle on the agar for 2 h before withdrawal of the excess water, and both trophozoites and cysts were completely isolated with a Pasteur pipette, pulling out the end after heating it on a Bunsen flame to capture cells or cysts one by one, as described in Smirnov and Brown (2004). The same person carried out a intentional, nonbiased and exhaustive sampling to select the amoeboid protists. All picked cells or cysts were individually transferred to new nonnutrient agar plates with soil extract to allow for their proliferation, and they later were identified after seven days of incubation at 28.5 °C. Amoeboid protist species were placed under a coverslip and morphologically identified using an Olympus CH2 phase contrast microscope based on classical amoeboid protist identification textbooks. The main bibliographic sources used in this study were Brown and De Jonckheere (1999), Page (1976), Page (1988), and Smirnov and Brown (2004). It is important to note that the optical resolution of the method used was lower than that of others; however, it is a practical method for cultures of amoeboid protists (Smirnov and Brown 2004).

We prepared the soil extract by suspending 200 g of soil collected at each site in 1000 mL of distilled water and heating the mixture to 60 °C in a water bath for 6 h, then filtering it through a Whatman paper number 41 and autoclaving it for 15 min at 121 °C and 1.1 kg cm⁻² pressure. The final solution was then stored at 4 °C until use (Rodríguez-Zaragoza et al. 2005b).

Data analyses

The soil parameters such as moisture, organic matter content and percentage of sand, silt and clay were arcsine square root transformed to meet the assumptions of normality and equality of variances. The variance in soil data was analyzed with nested linear mixed effects models, in which season and habitat within season were considered fixed factors and soil depth within habitat was considered as a random factor. The models were fitted with the JMP statistical software version 8.0 (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA).

Based on morphological identification, we constructed a presence-absence matrix with all amoeboid species recorded in all samples analyzed. These data were used to evaluate the following parameters: 1) variation in richness of amoeboid protists by microhabitat and 2) relationship between richness of amoeboid protists and physical and chemical parameters of soil in each microhabitat. The richness of amoeboid protists was compared among microhabitats by constructing accumulation curves for each season. We estimated these curves with confidence intervals of 95% with the program EstimateS version 9 (Colwell 2013).

The Sørensen (2c/a+b) method was employed to compare the similarity in the communities of amoeboid protists in the two seasons analyzed.

We analyzed the correlation between amoeboid protist composition in the three previously selected microhabitats and the soil parameters using canonical correspondence analysis (CCA). For each season, we constructed one matrix of microhabitat samples

by amoeboid protists and another matrix of microhabitat samples by soil parameters. Amoeboid protists recorded only once were excluded from the analysis to avoid bias by rare protists. Analyses were performed using the *envfit* function implemented in the *vegan* package using R software version 2.9 (Oksanen *et al.* 2013).

RESULTS

Physical and chemical soil parameters

The physical and chemical soil parameters varied according to season, microhabitat and soil depth. In general, soil had a loamy clay texture. Soil moisture was lower than 20%. The electrical conductivity showed values less than 1 mmhos cm^{-1} ; and the pH remained slightly basic. The contents of organic matter and available phosphorus were poor in all microhabitats. There were significant differences in the soil moisture, pH, sand and silt content between microhabitats during both dry and wet seasons, while organic matter was only significantly different in the dry season (Tables 1–2).

Richness of amoeboid protists

Amoeboid protist was composed of species belonging to Amoebozoa, Discoba and Rhizaria. This composition varied according to season and microhabitat. However, species of Discoba (i.e., eruptive amoebae *sensu* Smimoff and Brown 2004; Adl *et al.* 2018) were observed in all microhabitats in two seasons (Table 3).

Considering soil microhabitats, we did not observe clear significant differences in the number of species,

with the exception of bare soil during the dry season, where the species of amoeboid protists decreased below detection level ($P < 0.05$; Fig. 2). Additionally, when comparing morphotypes, it was observed that during the wet season, the number of protist species with eruptive morphotypes decreased, and only during this season did the lingulate morphotype appear (Fig. 2).

The rarefaction curves showed that during the dry season, the richness was higher in soils protected by the canopy of shrubs than in bare soil (Fig. 3a). This protist diversity pattern, however, was absent during the wet season because amoeboid protist richness was similar in both soils protected by the canopy of shrubs and bare soils (Fig. 3b).

The Sørensen analysis showed a similarity of 80% between the species of protists existing in the dry and wet seasons. We found 25 species during the dry season and 20 during the rainy season. Of all species, 18 were detected in both seasons, 7 were present only during the dry season, and only 2 were detected during the wet season.

Correlation analyses

The CCA showed that the correlation between amoeboid protists and soil parameters varied depending on the season (Fig. 4, Table 4). In the dry season, the first and second canonical axes explained 21–33% of the total variance. In the wet season, the first and second canonical axes explained 17–28% of the total variance (Fig. 4). The electrical conductivity ($P = 0.011$) and pH ($P = 0.037$) were the only soil parameters significantly correlated with protists in the wet season (Fig. 4).

Table 1. Mean and standard deviation of physical and chemical soil parameters (moisture, sand, silt, clay, pH, electrical conductivity (EC), organic matter and orthophosphates) under *Pr. laevigata* (PL), *Pa. praecox* (PP) and bare soil (BS) during dry and wet seasons. Means that do not share a letter are significantly different ($P < 0.05$).

Soil property	Dry			Wet		
	PL	PP	BS	PL	PP	BS
Moisture (%)	8.3 ± 0.5a	13.8 ± 2.2b	7.0 ± 0.4a	15.0 ± 2.1b	6.4 ± 0.6a	8.8 ± 0.9a
Sand (%)	43.2 ± 2.1b	36.8 ± 1.6a	32.7 ± 5.2a	39.2 ± 1.5ab	44.6 ± 3.2b	36.2 ± 2.0a
Silt (%)	33.4 ± 2.4b	40.6 ± 1.6a	42.9 ± 4.7a	39.5 ± 1.3ab	35.4 ± 2.9b	41.0 ± 1.9a
Clay (%)	23.4 ± 1.2	22.6 ± 1.4	24.4 ± 1.2	21.3 ± 0.7	20.0 ± 1.2	22.8 ± 0.7
EC (millimhos cm^{-1})	1.1 ± 0.3	1.7 ± 0.4	0.5 ± 0.2	2.3 ± 0.7	4.6 ± 0.9	4.6 ± 1.0
pH	7.7 ± 0.0b	7.6 ± 0.1b	8.3 ± 0.3a	7.7 ± 0.1b	7.7 ± 0.0b	7.4 ± 0.1a
Organic matter (%)	2.7 ± 0.2b	1.7 ± 0.2a	1.6 ± 0.5a	1.7 ± 0.2	1.7 ± 0.1	1.5 ± 0.1
Orthophosphates (mg kg^{-1})	5.2 ± 0.6	4.0 ± 0.3	3.0 ± 0.4	4.2 ± 0.3	3.8 ± 0.1	3.9 ± 0.2

Table 2. Statistical effect [F-value (d. f., P-value)] of season and habitat within season for different soil properties using linear mixed effect models with nesting.

Soil property	Season		Microhabitat (Season)	
	F (d. f., P)	F (d. f., P)	F (d. f., P)	F (d. f., P)
Moisture (%)	0.1 (1, 41, 0.7)	8.4 (4, 12, 0.002)		
Sand (%)	1.4 (1, 41, 0.2)	3.6 (4, 10, 0.05)		
Silt (%)	0.06 (1, 41, 0.8)	5.0 (4, 10, 0.02)		
Clay (%)	3.6 (1, 41, 0.06)	0.8 (4, 14, 0.6)		
Electrical conductivity (millimhos cm ⁻¹)	13.6 (1, 41, 0.0006)	1.2 (4, 11, 0.4)		
pH	16.6 (1, 41, 0.0002)	5.5 (4, 14, 0.007)		
Organic matter (%)	3.3 (1, 41, 0.08)	3.4 (4, 14, 0.04)		
Orthophosphates (mg kg ⁻¹)	0.05 (1, 41, 0.8)	2.5 (4, 14, 0.09)		

DISCUSSION

The Tenacian desert exhibits variation in the amoeboid protist community concomitant with marked seasonal changes. Bare soil amoeboid protists were strongly affected by seasonal changes because during the dry season, there was a drastic decrease in their richness, except for *Heterolobosea*, whereas amoeboid richness remained constant underneath both *Pa. praecox* and *Pr. laevigata* desert shrubs in wet and drought conditions. It has been shown that desert shrubs modify the soil physical and chemical parameters under their canopies (Serrano-Vázquez et al. 2013).

In this study the pH was the only edaphic factor that was modified by the two shrubs in wet or drought conditions, in contrast to the bare soil. In addition, we found a correlation with the pH and electrical conductivity of soil that likely explains shifts in the diversity of amoeboid protist species. The pH and electrical conductivity could play a key role in the availability of nutrients in the soil (Stewart and Tiessen 1987, Braschi et al. 2003). In soils with alkaline pH, mineral complexes with nutrients may be produced, making them unavailable to plants and many microorganisms (Tunesi et al. 1999), as a consequence of evapotranspiration and salt accumulation that increase the electrical conductivity (Li et al. 2011, Serrano-Vázquez et al. 2013).

Thus, the pH and electrical conductivity are important in the microbial communities distributed in the soil (Avis et al. 2008, Puignare et al. 2004) and, consequently, in the diversity patterns of many microeukaryotes, including amoeboid protists (Li et al. 2018, Shen et al. 2014). In addition, remaining moisture, relatively moderate temperatures, and nutrient input from dead leaves

are certainly favorable conditions for many amoeboid protists that inhabit the microhabitats with vegetation (Robinson et al. 2002).

It can therefore be reasonably assumed that shrub canopies act as refugia for many protist species during the dry season in contrast to the bare soil. During the dry season, the community of protists in bare soils was poor, in contrast to the diversity found underneath shrubs. Additionally, all species found in bare soil samples also occurred in the samples from under shrubs and were almost only *Heterolobosea*. This pattern of diversity has been previously reported for protists from other hot deserts (Robinson et al. 2002, Bamforth 2008, Fernández 2015). This suggests that this pattern of diversity is the result of nonrandom mechanisms, such as those mediated by a source-sink dynamics process (Fernández 2015). Most likely, during the wet season, bare soils were only colonized by generalist species with particular traits that allowed them to survive (but not to establish permanent populations) in these harsh soils.

It has recently been shown that protist composition also responds to changes in soil moisture, especially regarding larger protists, which quickly disappear with decreasing soil moisture content (Geisen et al. 2014). Most Amoebozoa and Rhizaria follow this pattern; in contrast, *Heterolobosea* does not seem affected by seasonal changes and can be found both under bare soils and canopies in any season. *Heterolobosea* includes several thermophilic species and seems phylogenetically well adapted to extreme heat, as is the case for some marine species and soil organisms (Dobson et al. 1997; De Jonckheere et al. 2011a, b). They are known to respond quickly to rain pulses by explosive growth

<i>Tetramitus enterica</i> (Teen); (Page) Brown & De Jonckheere, 1999	Discoba; Heterolobosea	Eruptive	1	1	3	2	3	1	2	3	2	2	0	1	0	3	0	1	0	1
Heterolobosea 2 (Het2)	Discoba; Heterolobosea	Eruptive	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
<i>Vahlkampfu inornata</i> (Vain); Page, 1967	Discoba; Heterolobosea	Eruptive	2	0	2	0	1	0	2	0	3	0	2	1	2	1	0	0	0	0
Heterolobosea 3 (Het3)	Discoba; Heterolobosea	Eruptive	1	0	2	0	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Heterolobosea 4 (Het4)	Discoba; Heterolobosea	Eruptive	2	0	1	0	1	0	1	0	2	0	3	0	1	0	0	0	0	0
<i>Parvahlkampfu ushana</i> (Paus); Page, 1974	Discoba; Heterolobosea	Eruptive	2	0	1	0	1	1	1	0	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0
Filose 2 (Fül2)	ND	ND	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
<i>Senamoeba placida</i> (Stpl); Smirnov et al., 2007	Amoebozoa; Thecamoebida	Lingulate	0	1	0	1	0	3	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	1
<i>Vannella platypodia</i> (Vapl); Glaeser, 1912; Page, 1976	Amoebozoa; Vannellida	Fan-shaped	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1

episodes (Bass and Bischoff 2001). This strategy seems well suited to desert soils, and these organisms are commonly found in these environments (Ekelund and Romm 1994, Foster and Dormaar 1991, Bass and Bischoff 2001). Heterolobosea seem therefore to be very competitive in desert environments and to have well-adapted year-round resident populations in deserts (Bass and Bischoff 2001). This idea is supported by the observation that protists with Heterolobosean morphology (i.e., eruptive amoebae) have been recorded in several hot deserts across several continents (Robinson et al. 2002, Mayzlish-Gati and Steinberger 2007, Dumac et al. 2016).

Because Heterolobosea is the group that is more diverse in this desert, we suggest that heat positively selects for it against other protists in desert soils, but experiments and additional studies are needed to explore this idea. However, we suggest that these protists can withstand adverse desert conditions by entering a dormant life stage (i.e., cysts), while their other life states help them to survive during active stages in the dry and heat of desert conditions. Additionally, although many soil protists are capable of producing cysts, these structures have different morphological, physiological and persistence parameters and resist different adverse conditions (Geisen et al. 2018); thus, the cysts of Heterolobosea could be more resistant than the other soil protists. The exact identity of these Heterolobosea still remains to be determined, as this group contains many forms that cannot be distinguished by morphology alone (Anderson et al. 2011, Harding et al. 2013, Geisen et al. 2015). Molecular makers should be helpful to analyze the identities and diversity of this important protist group in future research.

CONCLUDING REMARKS

In strong agreement with previous studies, our study showed that in deserts, soil beneath shrubs exhibit richer soil protist communities than bare soils. This is very likely because shrubs provide shelter and other conditions that promote the development of soil amoeboid protists.

We also found that the species were distributed homogeneously during the wet season; however, the less resistant species died or their populations decreased considerably in the bare soil during the dry season, but

Table 4. Correlation (CCA) between protist amoeboid species and soil properties matrix during wet season (P values based on 999 permutation. * = $P < 0.05$).

Soil property	CA1	CA2	r2	Pr (> r)
Moisture	-0.69778	-0.71631	0.0973	0.313
Sand	0.94794	-0.31844	0.024	0.738
Silt	-0.68819	-0.72553	0.0514	0.508
Clay	-0.13104	0.99138	0.2244	0.067
Electrical conductivity	0.01926	0.99981	0.3154	0.015 *
pH	0.17476	-0.98461	0.2409	0.039 *
Organic matter	-0.85677	-0.5157	0.1798	0.099
Ortophosphates	-0.4224	-0.90641	0.198	0.095

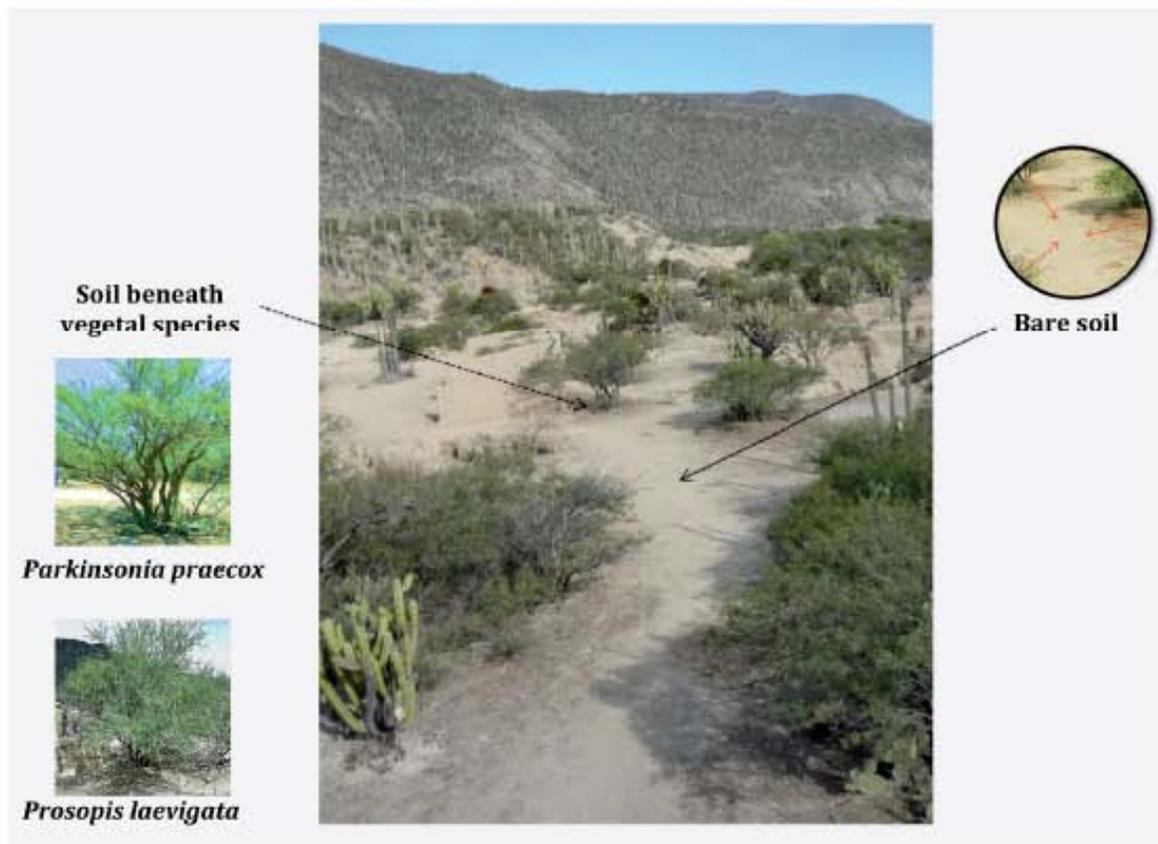


Figure 1. Study area, showing vegetation patches in the desert of Tehuacán, Puebla, Mexico. In addition, the analyzed microhabitats are shown: *Pr. laevigata*, *Pa. praecox* and bare soil.

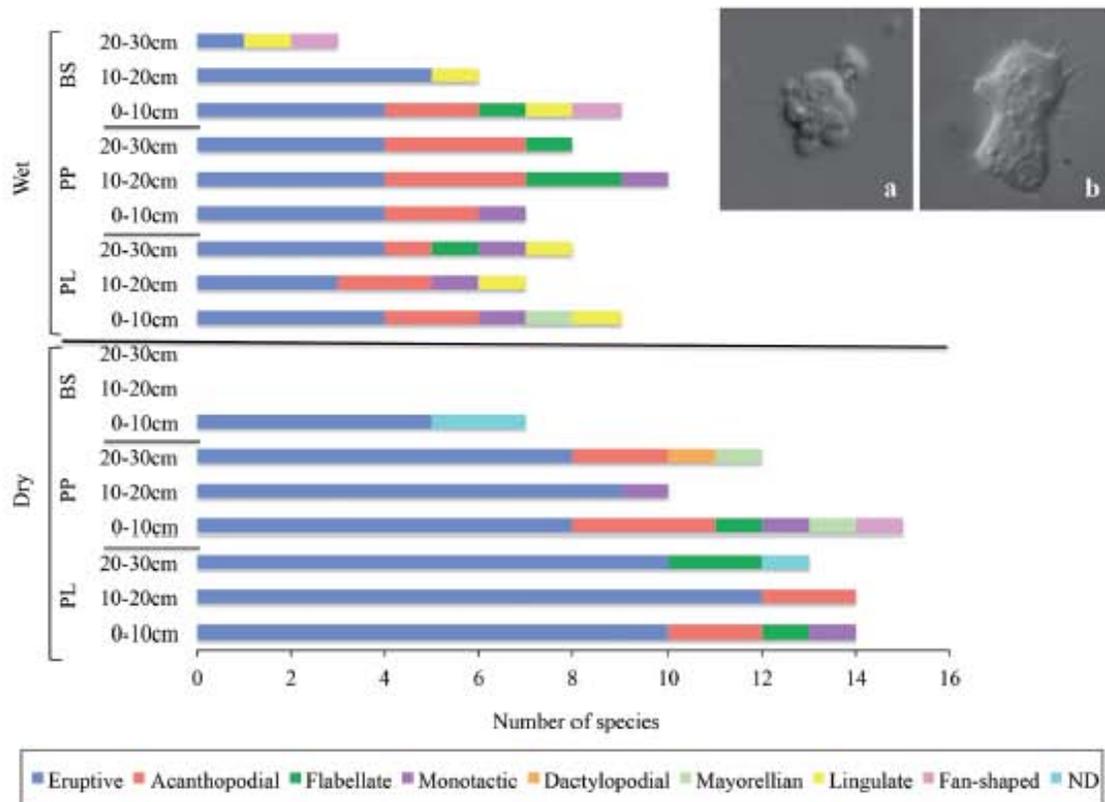


Figure 2. Cumulative richness plots of amoeboid protists present under *Pr. laevigata* (PL), *Pa. praecox* (PP) and bare soil (BS) during dry and wet seasons at 0–30 cm. a) eruptive pseudopods, and b) acanthopodial pseudopods. ND: not determined.

they persisted under two desert shrubs that we investigated, which acted as refugia.

Finally, we remark that thermophilic Heterolobosea can withstand adverse conditions (i.e., heat and low moisture) during all seasons and probably constitute the resident population of heterotrophic protists in many deserts. Given the essential role played by small heterotrophic protists in soils, Heterolobosea are most likely to constitute keystone organisms in arid ecosystems.

Acknowledgments. Horacio Pérez Juárez is a doctoral student from Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) and received fellowship 408467/262505 from CONACYT. The present manuscript constitutes a partial fulfillment of the Graduate Program.

The authors are grateful for the funds provided by the UNAM-DGAPA-PAPIIT-IN217112 project (Structuring of microbial com-

munities in soil of legumes, cacti, and biological crusts in Zapotitlán Salinas, Puebla), to the project PAPCA-UNAM-2013-2014 (Dinámica espacial de la comunidad de amebas desnudas de vida libre del suelo bajo *Pr. laevigata* y *Pa. praecox* en una terraza degradada de Zapotitlán Salinas, Puebla), to CONACYT (No. 272601) and the Swiss National Fund (grant No. SNF 31003A_163254 to EL). L.D.F. is supported by projects FONDECYT (No. 11170927) and UBO/VRIP (No. 170201). We also thank Jesús Bazán Cuenca, Isabel Antonio and Abbid Hernández for their technical assistance in the physical and chemical analysis. We also thank Tobias Portillo, Jesús Pérez Juárez and Marco Gudiño for their assistance in the figure renditions and to Humberto Macías Cuellar and all participants of IN217112 and PAPCA-UNAM-2013-2014 projects by their support in the field. We thank Alicia Valadez, Enrique Gonzalez, Eric Hernández, Miriam Nieves, Ulises Magaña and Oswaldo Partida for their assistance in the laboratory work and in the culture of microorganisms. We also wish to express our thanks to the authorities of the Zapotitlán Salinas and in particular to Mr. Pacheco, Puebla, for his permission and help provided in the field.

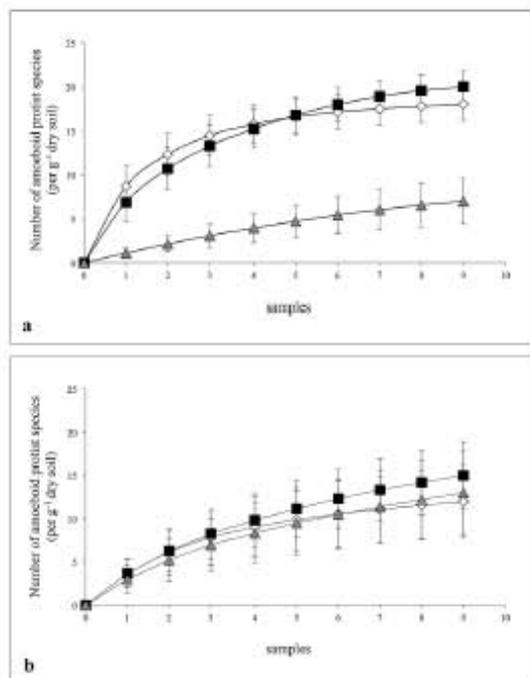


Figure 3. Rarefaction curves of number of species of amoeboid protists by different microhabitats: *Pr. laevigata* (diamonds), *Pa. praecox* (squares), and bare soil (triangles) in a) dry and b) wet season (error bars are 95% CI).

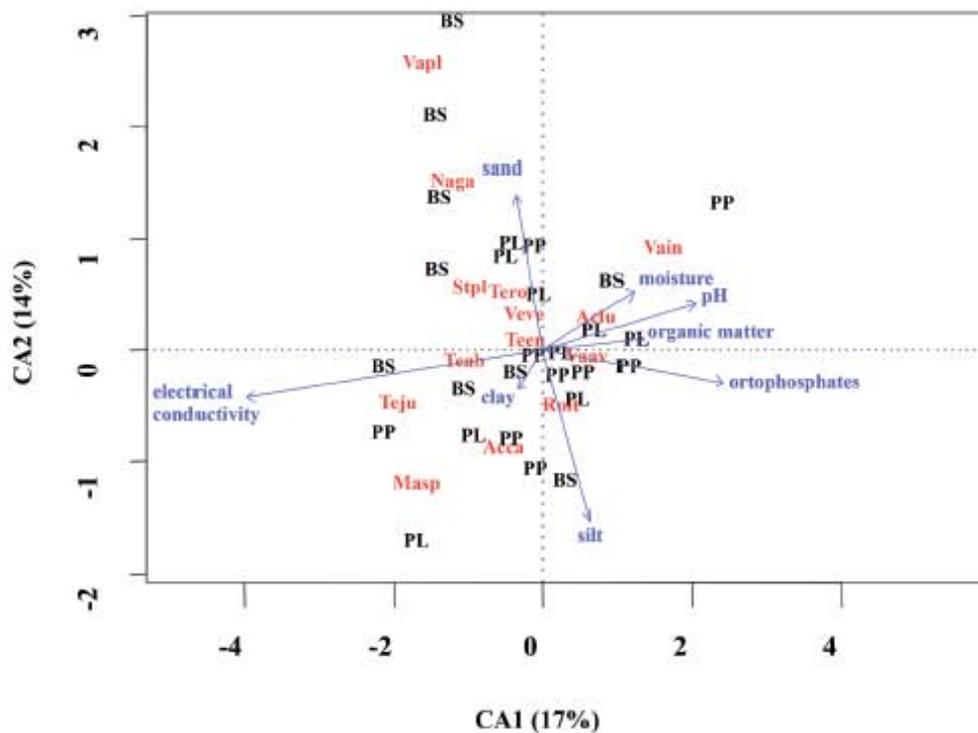


Figure 4. Relationship between amoeboid protist richness and soil parameters during the wet season in three microhabitats by CCA: PL: *Pr. laevigata*, PP: *Pa. praecox*, and BS: bare soil. The names and abbreviations of the amoeboid protist species can be found in table 3.

Finally, we thank the anonymous reviewers for their helpful comments and suggestions to improve the manuscript. The manuscript was written during a sabbatical leave of LEE while at the University of Minnesota, Department of Plant and Microbial Biology, in Peter Tiffin's laboratory, with support of the program PASPA-DGAPA, UNAM. We highly appreciate the design of graphical material for this paper by Maria de Lourdes Alonso for work on Figs. 1, 2, 3 and 4 of this manuscript.

REFERENCES

- Adl S. M., Simpson A. G., Lane C. E., Lukeš J., Bass D., Bowser S. S., Brown M. W., Burki F., Dunthorn M., Hampl V., Heiss A., Hoppenrath M., Lara E., Le Gall L., Lynn D. H., McManus H., Mitchell A. D. E., Mozley-Stanridge S. E., Parfrey L. W., Pawlowski J., Rueckert S., Shadwick L., Schoch C. L., Smirnov A., Spiegel F. W. (2012) The revised classification of eukaryotes. *J. Eukaryot. Microbiol.* 59: 429–514
- Adl S. M., Bass D., Lane C. E., Lukeš J., Schoch C. L., Smirnov A., Agatha S., Berney C., Brown M. W., Burki F., Cardenas P., Cepicka I., Chistyakova L., del Campo J., Dunthorn M., Edvarsen B., Eglit Y., Guillou L., Hampl V., Heiss A. A., Hoppenrath M., James T. Y., Karpov S., Kim E., Kolisko M., Kudryavtsev A., Lahr D.J.G., Lara E., Le Gall L., Lynn D. H., Mann D. G., Massana R., Mitchell A. D. E., Morrow C., Soo, J., Pawlowski J., Powell M. J., Richter D. J., Rueckert S., Shadwick L., Shimanov S., Spiegel F. W., Torruella G., Youssef N., Zlatogursky V., Zhang Q. (2018) Revisions to the classification, nomenclature, and diversity of eukaryotes. *J. Eukaryot. Microbiol.* <https://doi.org/10.1111/jeu.12691>
- Anderson O. R. (2000) Abundance of terrestrial gymnamoebae at a northeastern U. S. site: A four-year study, including the El Niño winter of 1997–1998. *J. Eukaryot. Microbiol.* 47: 148–155
- Anderson O. R., Wang W. E. N., Faucher S. P., Bi K., Shuman H. A. (2011) A new heterolobosean amoeba *Solumitrus palustris* n. g., n. sp. isolated from freshwater marsh soil. *J. Eukaryot. Microbiol.* 58: 60–67
- Austin A.T., Yehdjian L., Stark J.M., Belnap J., Porporato A., Norton U., Ravetta D.A., Schaeffer S.M. (2004) Water pulses and biogeochemical cycles in arid and semiarid ecosystems. *Oecologia* 141: 221–235
- Avis T.J., Gravel V., Antoun H., Tweddell R. (2008) Multifaceted beneficial effects of rhizosphere microorganisms on plant health and productivity. *Soil Biol. Biochem.* 40: 1733–1740
- Bamforth S. S. (1963) Limnetic protozoa of southeastern Louisiana. *Proc. Louisiana Acad. Sci.* 26: 120–134
- Bamforth S. S. (2008) Protozoa of biological soil crusts of a cool desert in Utah. *J. Arid Environ.* 72: 722–729
- Barnes G., Rodríguez S., Shmueli I., Steinberger Y. (2009) Vertical distribution of a soil microbial community as affected by plant ecophysiological adaptation in a desert system. *Microbiol. Ecol.* 57: 36–49
- Bass P., Bischoff P. J. (2001) Seasonal variability in abundance and diversity of soil Gymnamoebae along a short transect in South-eastern USA. *J. Eukaryot. Microbiol.* 48: 475–479
- Bates R. G. (1954) *Electrometric pH Determinations*. John Wiley & Sons, Inc.
- Bouyoucos G. J. (1962) Hydrometer method improved for making particle size analyses of soils. *Agron. J.* 54: 464–465
- Bonkowski M. (2004) Protozoa and plant growth: the microbial loop in soil revisited. *New Phytologist.* 162: 617–631
- Braschi I., Ciavatta C., Giovannini C., Gessa C. (2003) Combined effect of water and organic matter on phosphorus availability in calcareous soils. *Nut Cycl Agroecosys.* 67: 67–74
- Brown S., De Jonckheere J. F. (1999) A reevaluation of the amoeba genus *Vahlkampfia* based on SSUrDNA sequences. *Eur. J. Protistol.* 35: 49–54
- Cajuste L. J. (1986) El fósforo aprovechable en los suelos. Cuadernos de Edafología. Vol. 6 Centro de Edafología, Colegio de Postgraduados, México
- Colwell R. K. (2013) EstimateS: Statistical estimation of richness and shared species from samples. Version 9
- Dávila P., Arizmendi M. D. C., Valiente-Banuet A., Villaseñor J. L., Casas A., Lira R. (2002) Biological diversity in the Tehuacán-Cuicatlan Valley, Mexico. *Biodivers. Conserv.* 11: 421–442
- De Jonckheere J. F., Baumgartner M., Eberhardt S., Opperdoes F. R., Stetter K. O. (2011a) *Oramoeba fumarolia* gen. nov., sp. nov., a new marine heterolobosean amoeboid flagellate growing at 54 degrees C. *Eur. J. Protistol.* 47: 16–23
- De Jonckheere J. F., Murase J., Opperdoes F. R. (2011b) A new thermophilic heterolobosean amoeba, *Fumarolamoeba ceborucoi*, gen. nov., sp. nov., isolated near a fumarole at a volcano in Mexico. *Acta Protozool.* 50: 41–48
- Dobson P. J., Robinson B. S., Rowan-Kelly B. (1997) New thermophilic *Naegleria* species (Heterolobosea: Vahlkampfiidae) from Australia and Asia: Allozyme, morphometric and physiological characterisation. *Acta Protozool.* 36: 261–271
- Dumack K., Koller R., Weber B., Bonkowski M. (2016) Estimated abundance and diversity of heterotrophic protists in South African biocrusts. *S. Afr. J. Sci.* 112: 56–60
- Ekelund F., Ronn R., (1994) Notes on protozoa in agricultural soil with emphasis on heterotrophic flagellates and naked amoebae and their ecology. *FEMS Microbiol. Rev.* 15: 321–353
- Fahrni J. F., Bolívar I., Berney C., Nasonova E., Smirnov A., Pawlowski J. (2003) Phylogeny of lobose amoebae based on actin and small-subunit ribosomal RNA genes. *Mol. Biol. Evol.* 20: 1881–1886
- Fernández L. D. (2015) Source–sink dynamics shapes the spatial distribution of soil protists in an arid shrubland of northern Chile. *J. Arid Environ.* 113: 121–125
- Foissner W. (2011) Dispersal of protist: the role of cyst and human introduction. In *Biogeography of Microscopic Organisms: is Everything Small Everywhere?* Fontaneto D., ed. Systematics Association and Cambridge University Press, Cambridge, UK. pp 61–87
- Foster R. C., Dormaar J. F. (1991) Bacteria-grazing amoebae in situ in the rhizosphere. *Biol. Fertil. Soils* 11: 83–87
- Geisen S., Fiore-Donno A. M., Walochnik J., Bonkowski M. (2014) Acanthamoeba everywhere: high diversity of *Acanthamoeba* in soils. *Parasitol. Res.* 113: 3151–3158
- Geisen S., Bonkowski M., Zhang J., De Jonckheere J. F. (2015). Heterogeneity in the genus *Allovalkampfia* and the description of the new genus *Parafumarolamoeba* (Vahlkampfiidae; Heterolobosea). *Eur. J. Protistol.* 51: 335–349
- Geisen S., Koller R., Hunninghaus M., Dumack K., Urich T., Bonkowski M. (2016) The soil food web revisited: Diverse and widespread mycophagous soil protists. *Soil Biol. Biochem.* 94: 10–18
- Geisen S., Mitchell E. A. D., Wilkinson D. M., Adl S., Bonkowski M., Brown M. W., Fiore-Donno A. M., Heger T. J., Jassey V. E. J., Krashevskaya V., Lahr D. J. G., Marcisz K., Mulot M., Payne R., Singer D., Anderson O. R., Charman D. J., Ekelund F., Griffiths B. S., Ronn R., Smirnov A., Bass D., Belbahri

- L., Berney C., Blandenier Q., Chatzinotas A., Clarholm M., Dunthorn M., Feest A., Fernández L. D., Foissner W., Fournier B., Gentekaki E., Hájek M., Helder J., Jousset A., Koller R., Kumar S., La Terza A., Lamentowicz M., Mazei Y., Santos S. S., Seppely C. V. W., Spiegel F. W., Walochnik J., Winding A., Lara E. (2017) Soil protistology rebooted: 30 fundamental questions to start with. *Soil Biol. Biochem.* **111**: 94–103
- Geisen S., Mitchell E. A., Adl S., Bonkowski M., Dunthorn M., Ekelund F., Fernández L. D., Jousset A., Krashevska V., Singer D., Spiegel F. W., Walochnik J., Lara E. (2018) Soil protists: a fertile frontier in soil biology research. *FEMS Microbiol. Rev.* **42**: 293–323 doi:10.1093/femsre/fuy006
- Griffiths B.S., Bonkowski M., Roy J., Ritz K. (2001) Functional stability, substrate utilisation and biological indicators of soils following environmental impacts. *Appl. Soil Ecol.* **16**: 49–61
- Lanzán A., Epelde L., Blanco F., Martín I., Artetxe U., Garbisu C. (2016) Multi-targeted metagenetic analysis of the influence of climate and environmental parameters on soil microbial communities along an elevational gradient. *Sci. rep.* **6**: 28257
- Li C., Li Y., Ma J. (2011) Spatial heterogeneity of soil chemical properties at fine scale induced by *Haloxylon ammodendron* (Chenopodiaceae) plants in a sandy desert. *Ecol. Res.* **26**: 385–394
- Li J., Lin J., Pei C., Lai K., Jeffries T. C., Tang G. (2018) Variation of soil bacterial communities along a chronosequence of Eucalyptus plantation. *PeerJ*, **6**, e5648
- López-Galindo F., Muñoz-Iniestra D., Hernández-Moreno M., Soler-Aburto A., Castillo-López M. D. C., Hernández-Arzate I. (2003) Análisis integral de la toposecuencia y su influencia en la distribución de la vegetación y la degradación del suelo en la subcuena de Zapotitlán Salinas, Puebla. *B. Soc. Geol. Mex.* **56**: 19–41
- Mayzlish-Gati E., Steinberger Y. (2007) Ameba community dynamics and diversity in a desert ecosystem. *Biol. Fertil. Soils.* **43**: 357–366
- Medina H., García J., Nuñez D. (2007) El método del hidrómetro: base teórica para su empleo en la determinación de la distribución del tamaño de partículas de suelo. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias* **16**: 19–24
- Oksanen J., Blanchet F. G., Kindt R., Legendre P., Minchin P. R., O'hara R. B., Oksanen M. J. (2013) Package 'vegan'. Community ecology package, version, 2.9.
- Olsen R. S., Cole V. C., Wantanabe F. S., Dean L. A. (1954) Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. United State Department of Agriculture, Washington, DC
- Ortiz V. B., Ortiz A. (1980) Edafología, 3rd ed. Universidad Autónoma Chapingo, México
- Osorio-Beristain O., Valiente-Banuet A., Dávila P., Medina R. (1996) Types of vegetation and β diversity at the Valle de Zapotitlán de las Salinas, Puebla, Mexico. *Bot. Sci.* **59**: 35–58
- Page F. C. (1976) Illustrated key to freshwater and soil amoebae. *Freshwater Biol. Ass. Ambleside*
- Page F. C. (1988) A new key to freshwater and soil gymnamoebae: with instructions for culture. *Freshwater Biol. Ass. Ambleside*
- Pawlowski J., Burki F. (2009) Untangling the phylogeny of amoeboid protists. *J. Eukaryot. Microbiol.* **56**: 16–25
- Pérez-Juárez H., Serrano-Vázquez A., Kosakyan A., Mitchell E. A., Aguilar V. M. R., Lahr D. J. G., Hernández M. M. M., Macías C. H., Eguarte L. E., Lara E. (2017) *Quadrulella texcalense* sp. nov. from a Mexican desert: an unexpected new environment for hyalospheniid testate amoebae. *Eur. J. Protistol.* **61**: 253–264
- Pugnaire F. I., Armas C., Valladares F. (2004) Soil as a mediator in plant-plant interaction in a semi-arid community. *J. Veg. Sci.* **15**: 85–92
- Robinson B. S., Bamforth S. S., Dobson P. J. (2002) Density and diversity of protozoa in some arid Australian soils. *J. Eukaryot. Microbiol.* **49**: 449–453
- Rodríguez-Zaragoza S., Steinberger Y. (2004) Seasonal dynamics of amoebae in the root canopy of *Zygophyllum dumosum* in the Negev Desert, Israel. *Pedobiologia* **48**: 277–281
- Rodríguez-Zaragoza S., Mayzlish E., Steinberger Y. (2005a) Vertical distribution of the free-living amoeba population in soil under desert shrubs in the Negev desert, Israel. *Appl. Environ. Microbiol.* **71**: 2053–2060
- Rodríguez-Zaragoza S., Mayzlish E., Steinberger Y. (2005b) Seasonal changes in free-living amoeba species in the root canopy of *Zygophyllum dumosum* in the Negev Desert, Israel. *Microb. Ecol.* **49**: 134–141
- Shen C., Liang W., Shi Y., Lin X., Zhang H., Wu X., Xie G., Chain P., Grogan P., Chu H. (2014) Contrasting elevational diversity patterns between eukaryotic soil microbes and plants. *Ecology* **95**: 3190–3202
- Seppely C. V., Singer D., Dumack K., Fournier B., Belbahri L., Mitchell E. A., Lara E. (2017) Distribution patterns of soil microbial eukaryotes suggests widespread algivory by phagotrophic protists as an alternative pathway for nutrient cycling. *Soil Biol. Biochem.* **112**: 68–76
- Serrano-Vázquez A., Rodríguez-Zaragoza S., Pérez-Juárez H., Bazán-Cuenca J., Rivera-Aguilar V. M., Durán A. 2013. Physical and chemical variations of the soil under two desert shrubs in Tehuacan, Mexico. *Soil Sci.* **178**: 87–103
- Snimov A. V., Brown S. (2004) Guide to the methods of study and identification of soil Gymnamoebae. *Protistology* **3**: 148–190
- Stewart J. W. B., Tiessen H. (1987) Dynamics of soil organic phosphorus. *Biogeochemistry* **4**: 41–60
- Sylvain Z. A., Wall, D. H. (2011) Linking soil biodiversity and vegetation: Implications for a changing planet. *Am. J. Bot.* **98**: 517–527
- Tunesi S., Poggi V., Gessa C. (1999) Phosphate adsorption and precipitation in calcareous soils: The role of calcium ions in solution and carbonate minerals. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* **53**: 219–227
- Valiente-Banuet A., Casas A., Alcántara A., Dávila P., Flores-Hernández N., del Coro Arizmendi M., Ramírez J.O., (2000) The vegetation of the Valley of Tehuacan-Cuicatlan. *Bot. Sci.* **67**: 25–74
- Villasenor J. L., Davila P., Chiang F. (1990) Fitogeografía del valle de Tehuacán-Cuicatlan. (Phytogeography of the Tehuacan-Cuicatlan valley). *Bot. Soc. Bot. Mex.* **50**: 135–149
- Walkley A., Black I. A. (1934) An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil sci.* **37**: 29–8
- Whitford W. G. (2002) Ecology of desert systems. Academic Press, London, UK
- Willard H. H., Merritt L. L., Dean J. A. (1958). Instrumental Methods of Analysis, 3rd ed. Van Nostrand, Princeton, USA

Received on 19th September, 2018; revised on 22nd November, 2018; accepted on 18th December, 2018

CAPITULO 4:

***Quadrullella texcalense* SP. NOV. FROM A MEXICAN DESERT: AN UNEXPECTED NEW ENVIRONMENT FOR HYALOSPHEIID TESTATE AMOEBAE**

Pérez-Juárez H, Serrano-Vázquez A, Kosakyan A, Mitchell EAD, Rivera VM, Lahr DGJ, Hernández MM, Macías M, Eguiarte LE, Lara E. *Quadrullella texcalense* sp. nov. from a Mexican desert: An unexpected new environment for hyalospheniid testate amoebae. European Journal of Protistology. 2017; 61:253–264.

RESUMEN

Quadrullella (Amoebozoa, Arcellinida, Hyalospheniidae) es un género de tecameba con una morfología inconfundible ya que secreta placas con forma cuadrada muy características, que le sirven para reforzar la concha. Son conocidas principalmente por habitar pantanos, humedales y hábitats de agua dulce, pero nunca han sido documentados en los desiertos. En este trabajo describimos una nueva especie, *Quadrullella texcalense*, que fue encontrada en costras biológicas del suelo en el desierto intertropical de Tehuacán (estado de Puebla, México). *Quadrullella texcalense* se encontró sólo a altitudes entre 2140 y 2221 m.a.s.l., junto con los géneros de briofitas *Pseudocrossidium*, *Weissia*, *Bryum*, *Didymodon*, *Neohyophyla* y *Aloina*. El suelo que habita esta especie es extremadamente seco (humedad gravimétrica de 1.97-2.6%), lo que contrasta fuertemente con los reportes previos para el género *Quadrullella*. Se secuenció el gen citocromo oxidasa I (COI) de trece células aisladas y los resultados obtenidos, a pesar de que mostraron una importante variabilidad morfológica, tuvieron la misma secuencia de *barcoding* del COI. *Quadrullella texcalense* se incluyó en un árbol que contenía otros Hyalospheniidae, una especie de Sudáfrica recién analizada para el *barcoding*, *Q. elegans*. *Quadrullella texcalense* inequívocamente se encuentra dentro del género *Quadrullella* en un clado compacto, pero con una rama larga, lo que sugiere una evolución acelerada tal vez debido a una transición hacia un nuevo entorno.

PALABRAS CLAVE: Adaptación; costras biológicas del suelo; protistas; Reserva de la Biosfera de Tehuacán; amebas tecadas.



Available online at www.sciencedirect.com

ScienceDirect

European Journal of Protistology 61 (2017) 253–264

European Journal of
PROTISTOLOGY

www.elsevier.com/locate/ejop

Quadrullella texcalense sp. nov. from a Mexican desert: An unexpected new environment for hyalospheniid testate amoebae

Horacio Pérez-Juárez^{a,*}, Angélica Serrano-Vázquez^c, Anush Kosakyan^{d,e},
Edward A.D. Mitchell^{b,f}, Víctor M. Rivera Aguilar^g, Daniel J.G. Lahr^d,
Mayra M. Hernández Moreno^g, Humberto Macías Cuellar^h, Luis E. Eguiarte^g, Enrique Lara^{b,h,*}

^aFacultad de Estudios Superiores, Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. De los Barrios #1, Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México, C.P. 54090, Mexico

^bLaboratory of Soil Biodiversity, University of Neuchâtel, Rue Emile Argand 11, CH-2000 Neuchâtel, Switzerland

^cUnidad de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Dr. Balmis No. 148, Col. Doctores, Ciudad de México, C.P. 06726, Mexico

^dDepartment of Zoology, Institute of Biosciences, University of São Paulo, Rua do Matão, Travessa 14, 101, Cidade, São Paulo, SP, 05588-090, Brazil

^eBiology Center (Institute of Parasitology), Czech Academy of Sciences, Branisovska 31, 370 05, Ceske Budejovice, Czech Republic

^fBotanical Garden of Neuchâtel, Chemin du Perthuis-du-Sault 58, CH-2000 Neuchâtel, Switzerland

^gDepartamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior junto al Jardín Botánico, C.U., Coyoacán, Ciudad de México, C.P. 04510, Mexico

^hReal Jardín Botánico, CSIC, Plaza de Murillo, 2, E-28014 Madrid, Spain

Received 16 March 2017; received in revised form 27 June 2017; accepted 28 June 2017

Available online 17 July 2017

Abstract

Quadrullella (Amoebozoa, Arcellinida, Hyalospheniidae) is a genus of testate amoebae with unmistakable morphology, which secretes characteristic square plates to reinforce the test. They are mainly known from fens and freshwater habitats and have never been documented in deserts. We describe a new species, *Quadrullella texcalense*, from biological soil crusts in the intertropical desert of Tehuacán (state of Puebla, Mexico). *Quadrullella texcalense* occurred only at altitudes between 2140 and 2221 m.a.s.l., together with the bryophyte genera *Pseudocrossidium*, *Weissia*, *Bryum*, *Didymodon*, *Neohyophyla* and *Aloina*. The soil was extremely dry (moisture of 1.97–2.6%), which contrasts sharply with previous reports for the *Quadrullella* genus. Single cell mitochondrial cytochrome oxidase I (COI) barcoding of thirteen isolated cells showed an important morphological variability despite having all the same COI barcode sequence. *Quadrullella texcalense* was placed in a tree containing other Hyalospheniidae, including a newly barcoded South African species, *Q. elegans*. *Q. texcalense* unambiguously branched within genus *Quadrullella* in a compact clade but with a long branch, suggesting accelerated evolution due to a transition towards a new environment and/or under-sampling.

© 2017 Elsevier GmbH. All rights reserved.

Keywords: Adaptation; Biological soil crust desert; Protist; Tehuacán-Cuicatlan Biosphere Reserve; Testate amoebae

*Corresponding authors at: Laboratory of Soil Biodiversity, University of Neuchâtel, Rue Emile Argand 11, CH-2000 Neuchâtel, Switzerland.

E-mail addresses: danzan13@hotmail.com (H. Pérez-Juárez), enrique.lara@unine.ch (E. Lara).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejop.2017.06.008>

0932-4739/© 2017 Elsevier GmbH. All rights reserved.

Introduction

Hyalospheniidae is arguably the best studied family of arcellinid testate amoebae. Arcellinida have been shown to be very sensitive to subtle environmental change (Marcisz et al. 2014) and hence, are commonly used as bioindicators, especially in peatlands for example in monitoring global climatic change (Turner and Swindles 2012). Additionally, due to their characteristics and to the good conservation of their tests in peat and sediments, they are commonly used in paleoecological studies (Charman 2001; Elliott et al. 2012; Mitchell et al. 2008). Because of their relatively conspicuous morphologies, they represent also a useful model group in for studying microbial biogeography (Heger et al. 2013; Lara et al. 2011; Smith et al. 2008; Wilkinson 2001). Testate amoebae in general, and hyalospheniids in particular, are associated with humid microsites and slow decomposing organic material, which means that they are common and diverse in *Sphagnum* and other mosses, and to a lesser extent, leaf litter (Beyens and Meisterfeld 2002). In mires and bogs, they constitute a large part (typically 10–30%) of the microbial biomass (Gilbert et al. 1998).

Recent molecular and detailed morphometric analyses have shown that hyalospheniid diversity was systematically underestimated. Indeed, many morphospecies were shown to comprise several genetically divergent taxonomic units that could be discriminated through subtle details in their morphology (Kosakyan et al. 2012, 2013; Singer et al. 2015). In addition, there is a clear geographic bias to our knowledge of testate amoebae diversity, as they are far better studied in northern temperate regions than in the rest of the world (Smith and Wilkinson 2007). It is therefore likely that many new species are awaiting discovery in other regions of the world and especially in the tropics, where they should be more diverse (Lara et al., 2016). Genus *Quadrullella* illustrates well the general situation: until recently, only one single species (*Q. symmetrica*) had been reported from mid- to high-latitude locations in the Northern Hemisphere. These organisms are usually found in fens, in wet *Sphagnum* and other bryophytes; it is thus generally believed to being restricted to constantly moist environments (Charman and Warner 1997; Múzei et al. 2009). A recent study revealed that, in these regions as well, diversity had been overlooked (Kosakyan et al. 2016). The few studies carried out in the tropical zone and/or southern hemisphere on *Quadrullella* revealed the existence of a greater diversity of species (Gauthier-Lièvre 1957; Van Oye 1949; Vucetich 1983), a result that has been confirmed with molecular methods (Kosakyan et al. 2016).

The majority of studies on the ecology of testate amoebae focus on mires and fresh water environments, and secondarily on forests litter. By contrast, arid environments remain almost unexplored, with only a handful of studies based exclusively on morphological identifications (Bamforth 2008; Fernández 2015; Robinson et al. 2002). These studies showed generally a low diversity, and, to our knowledge no *Quadrullella* was

ever reported from such environments. However, there is a considerable diversity of arid environments and at least some have a sufficient availability of water to sustain a diverse plant and animal life — and thus most likely also diverse communities of soil protists. We studied the diversity of testate amoebae in the Tehuacán intertropical desert in Mexico. The climatic conditions of this desert, unlike the deserts previously studied for testate amoebae (i.e. Utah, Atacama and Australia, respectively), sustain a high biological diversity (Dávila et al. 2002); key factors that seem to play a role are its high thermic stability throughout the year (García 1981) and weather predictability with precipitations mostly occurring between June and October (López-Galindo et al. 2003). Notably, this desert hosts eleven amphibian species (Cansaco 1996), an unusually high number for an arid region. Based on this observation, we supposed that other water-loving organisms could be found in the Tehuacán intertropical desert, including micro-organisms such as testate amoebae. A microscopic survey of biological soil crusts from Cerro Marrubio, in the intertropical desert of Tehuacán (State of Puebla, Mexico) revealed not only the presence of an abundant and diverse community of testate amoebae, but also the surprising presence of an unknown species of *Quadrullella* in samples. In this study, we characterized this species based on morphological and molecular data.

Material and Methods

Area of study

The present study was conducted in the Cerro Marrubio ("Marrubio Hill"), located within the farming belt of San Antonio Texcala, in the state of Puebla, Mexico (Fig. 1). The territory of San Antonio Texcala has a mountainous relief. San Antonio Texcala is made up mostly of thinly stratified grey shale with mica. This geological formation is dated to the early Cretaceous Period of about 145–66 million years ago (Dávalos-Álvarez et al. 2007). This zone is located in the central region of Mexico between 18° 21' 48" and 18° 26' 32" N and 97° 25' 32" and 97° 29' 58" W, in the Biosphere Reserve of Tehuacán, Puebla (Dávila et al. 2002). Tehuacán is an intertropical desert formed by the effect of the rain shadow of the Sierra Madre Oriental. The median annual rainfall is 400 mm, and almost all precipitations happen during short periods of heavy rainfall with a high evapotranspiration rate (Valiente-Banuet et al. 2006). The predominant vegetation is columnar Cactaceae and shrubs in patches, together with large expanses of soil devoid of vegetation and covered by biological soil crusts (BSC) (Riviera-Aguilar et al. 2006; Serrano-Vázquez et al. 2013). BSC are composed of microscopic (cyanobacteria, algae, fungi, and bacteria) and macroscopic (lichens, mosses) poikilohydric organisms that occur on or within the top few centimeters of the soil surface (Belnap et al. 2016).

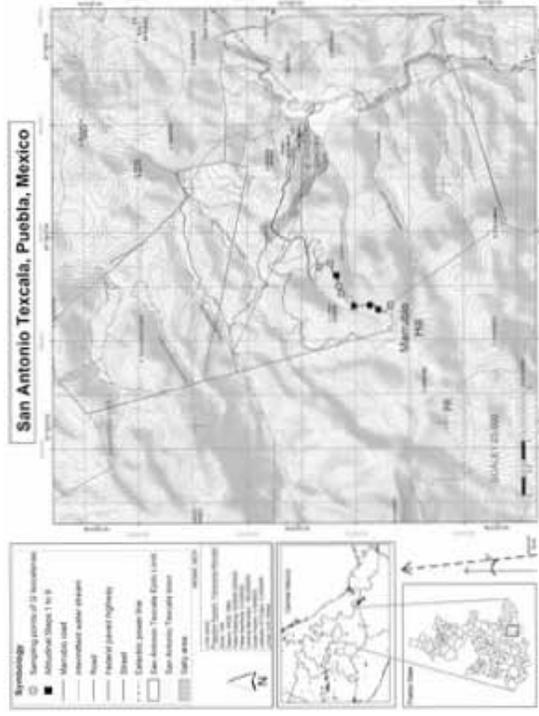


Fig. 1. Location map of study area, showing the transect on the north-eastern hillside with nine altitudinal steps sampled. *Presence of *Quadrulella texcalensis*.

Sampling and characterisation of the habitat

Sampling was done in August 2014, on the north-eastern slope of the Cerro Marrubio, which has a steep slope that goes from 2030 to 2360 m a.s.l. (Fig. 1) divided into nine altitudinal steps (Step 1, 2030 m a.s.l.; Step 2, 2070 m a.s.l.; Step 3, 2140 m a.s.l.; Step 4, 2190 m a.s.l.; Step 5, 2220 m a.s.l.; Step 6, 2250 m a.s.l.; Step 7, 2300 m a.s.l.; Step 8, 2330 m a.s.l.; Step 9, 2360 m a.s.l.). Samples of 5 × 5 cm were taken out of the BSC, which was dominated by moss. At each site (on each step) samples were taken in triplicate.

On the altitudinal step where *Q. texcalensis* was found, the mosses forming the BSC were identified by microscopic observation based on their morphology, using semi-permanent preparations with histological cuts of each sample collected. Photographs were taken using an Olympus DP-12 digital camera mounted upon an Olympus BX-51 microscope with differential interference contrast (DIC). For identification, we used specialized keys for bryophytes, including Graustein et al. (2001), Sharp et al. (1995), Zander (1979) and Zander and Eckel (1993). Dried soil crust samples were deposited at the Facultad de Estudios Superiores, Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

At each of the altitudinal steps, soil samples were collected from beneath the biological soil crust using stainless steel corers (10 cm in diameter). The samples were stored in self-sealing bags, deposited in a camp cooler to avoid overheating, and stored at 4 °C until being processed. Soil moisture content was determined by the gravimetric method (weighing sam-

ples before and after drying them at 110 °C for 72 h; Ortiz and Ortiz, 1980). pH was determined in a 1:2.5 soil solution in distilled water using a Conductronic pH120, pH Electrode BA17; Boco, Hamburg, Germany (Bates 1954; Willard et al. 1958). The percentage of organic matter was measured using humid combustion (Walkley and Black, 1934).

Microscopic observation and isolation of *Quadrulella* specimens for barcoding

Three subsamples, taken from each sample of moss of the BSC, were placed in polystyrene plates with six wells each, adding 5 mL of distilled water to each well. The plates were maintained at room temperature during six days and subsequently observed under an inverted microscope. Testate amoebae were identified using several keys and illustrated studies (Bonnet 1975; Clarke 2003; Defflamire 1929; Mizel and Tayganov 2006; Ogden 1983). We identified active amoebae from genus *Quadrulella* which we isolated using a Pasteur pipette with a thinned point and documented using an Olympus IX 81 inverted microscope. We also isolated a single individual specimen of *Quadrulella elegans* Gauthier-Liévre 1954 from wet *Sphagnum* mosses collected in Welgevonden Game Park, South Africa to expand the taxonomic sampling of the phylogenetic tree. More details about the sampling site were given in Kossakyan et al. (2016).

Table 1. Morphometric characteristics of *Quadrullella texcalense*. Measurements in μm . SD: Standard deviation; CV: Coefficient of variation in %; Min: minimum; Max: maximum.

	n	Mean (μm)	Median (μm)	SD (μm)	CV (μm)	Min (μm)	Max (μm)
Test length	21	112.95	116	8.17	7.23	97	126
Test width	21	59.57	60	4.27	7.17	53	68
Pseudostome width	21	28.05	28	2.29	8.17	24	32
Size of plates	6	5.5	4.8	1.07	22.60	3.3	6.5

Molecular analysis

DNA was extracted from each live isolated cell ($n=13$ for *Q. texcalense* and $n=1$ for *Q. elegans*), using the guanidine thiocyanate protocol described by Chornycynski and Sacchi (1987) and modified by Kosakyan et al. (2013). The DNA obtained was utilized as a template to amplify the COI gene by means of PCR. The primers used were Arcelcox 1F (Gomaa et al. 2012) and HCO (Folmer et al. 1994). We used the same PCR protocol as previously described (Kosakyan et al. 2012, 2016) for both *Q. texcalense* and *Q. elegans*.

The amplicons were sequenced using a BigDye 197 Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (Applied Biosystems) and an ABI-3130XL DNA sequencer with 48 capillaries (Applied Biosystems). The sequences of COI were deposited in the GenBank under number BankIt2035524 *Quadrullella.texcalense.COI.partial* MF581577.

Phylogenetic analysis

The COI sequences obtained ($n=9$ for *Q. texcalense* and $n=1$ for *Q. elegans*) were utilized to carry out the phylogenetic analysis based on a fragment of approximately 560 pb. For the construction of the phylogenetic tree, 102 additional distinct COI sequences of genera *Quadrullella*, *Longinebela*, *Certesella*, *Gibbocarina*, *Mrabella*, *Cornutheca*, *Hyalosphenia*, *Planocarina*, *Nebela*, *Padaungiella*, and *Alocodera* retrieved from Gene Bank were used. All sequences were aligned manually using the software BioEdit (Hall 1999). We then ran an IQ-Tree analysis version 1.4.3 (Nguyen et al. 2015) by Maximum likelihood. Node robustness was evaluated with bootstrapping (1000 replicates). Analyses were computed on the IQ-Tree portal <http://www.cibiv.at/software/iqtree/>. Model parameters were estimated over the duration of the tree search. Genera *Alocodera* and *Padaungiella* were used as outgroup (Lara et al. 2008).

Results

Quadrullella texcalense sp. nov. Pérez-Juárez, Serrano-Vázquez and Lara.

The test (shell) of *Q. texcalense* is piriform, with a rounded posterior end (posterior 1/3 of the tests), sides converging

towards the aperture (pseudostome) either straight, slightly convex or slightly concave (Fig. 2), laterally compressed and transparent. The test is composed of square endogenous plates that range in size between 3.3 and 6.5 μm in a single cell, generally arranged in an orderly fashion although some may be irregularly arranged. The aperture is curved (convex), oval-shaped in frontal view, with the typical organic rim considered as a synapomorphy of the family Hyalospheniidae (Fig. 2; Kosakyan et al. 2012). Test dimensions based on 21 individuals: length = 97–126 μm , width = 53–68 μm , aperture width = 24–32 μm (Table 1).

Diagnosis

Quadrullella texcalense exceeds most other species in size (Table 2), with the exception of *Q. scutellata* and *Q. quadrigera*, from which it differs on the base of its more regular plates. The size of its plates and its general piriform shape reminds of the much smaller *Q. variabilis*. The dimensions of other members of genus *Quadrullella* are given in Table 2 for comparison.

Type locality and habitat

Quadrullella texcalense was found and isolated from the BSC samples taken from steps 1 (at 2030 m a.s.l.), 2 (at 2070 m a.s.l.), 4 (at 2190 m a.s.l.), 5 (at 2220 m a.s.l.), and 9 (at 2360 m a.s.l.) from Cerro Marrubio in San Antonio Texcala, Puebla State, Mexico (Fig. 3). The Northeast side of Cerro Marrubio presents a slope of 10°–22°. Rocks are sedimentary (limestones and conglomerates) and present evidence of water erosion.

Soil type

Lithic Leptosols were found in all steps, along the transect. These type of soil is typically calcareous, very shallow, and extremely gravelly and stony, with continuous rock starting within 10 cm of the soil surface. Accordingly, pH was moderately basic and varied very little, ranging between 7.77 and 8.0. Organic matter content ranged between 12.9 and 22.4% (Table 3).

Plant associations

The vegetation gradient begins with the presence of a Cardonal of *Mitrocereus fulviceps* on the lower slope, from steps

Table 2. Summary of the morphology of known species of *Quadrifella*. Measurements in μm and shapes in plan views. Data for species other than *Quadrifella texcalense* are from: (1) Gautier-Lièvre, 1953; (2) Van Oye, 1956; (3) Kosakyan, 2016; (4) Deffandre, 1936; (5) Wailes, 1912.

Species	General shape of the test	Length [μm]	Breadth (B) [μm]	Pseudostome shape and width [μm]	Square plates size [μm]	Notes on the square plates	Habitat
<i>Q. texcalense</i>	Piriform	97–126	53–68	24–32, curved	3.3–6.5	Regularly arranged	Desert soil crust
<i>Q. elegans</i> ¹	Elongated-clayiform	90–110	45–50	18–20, linear or curved	About 4–6	More regular on the neck	<i>Sphagnum</i> mosses, aquatic mosses in a marshy stream.
<i>Q. elongata</i> ²	Elongated narrow-piriform, with elongated neck	65	22	11, slightly curved	N.A.	Regularly arranged	Mosses (3800 m)
<i>Q. madibai</i> ³	Elongated piriform	87–91	37–42	21–23, curved	(5)6–9(11)	Regularly arranged, getting larger towards the posterior end	Mosses
<i>Q. quadrifera</i> ⁴	Ovoid or slightly piriform	100–150 (174)	60–100 (120)	25–30, mostly linear	N.A.	Often interspersed with round, circular or elliptic elements, which are juxtaposed and rarely overlapping	Mosses
<i>Q. stellata</i> ⁵	Piriform	120–135	74–90	24–30, with an irregular margin	N.A.	Arranged in irregular rows	<i>Sphagnum</i> and other wet mosses
<i>Q. symmetrica</i> s. str. ⁵	Ovoid or piriform	72–85	40–46	20–23, curved	(4)5–10(12)	Regularly arranged, getting larger towards the posterior end	<i>Sphagnum</i> and other wet mosses in fens, water streams in rainforests also in humus
<i>Q. tropica</i> ⁵	Piriform	74–93	45–60	20–30, curved	N.A.	Regular near pseudostom and gradually getting diagonally arranged towards posterior end	Mosses, humus
<i>Q. variabilis</i> ⁵	Variable (from ovoid piriform to elongated piriform)	66–69 (96)	35–40.5 (45)	17–18.5, curved	(3)4–7(9)	Regularly arranged, getting larger towards the posterior end	<i>Sphagnum</i> mosses, green mosses and water streams

Table 3. Description of the different steps where *Quadrullella texcalense* was found. M = percentage of soil moisture, OM = percentage of soil organic matter. Steps 1, 2, 3, 4, 5 and 9 correspond to elevations of 2030, 2070, 2190, 2220 and 2360 meters above sea level, respectively.

Step	Moss species of BSC	Habitat description	M% (\pm SD)	pH (\pm SD)	OM% (\pm SD)
1	<i>Pseudocrossidium replicatum</i> (Tayl.) Zand., <i>Weissia jamaicensis</i> (Mitt.) Grout., <i>Bryum argenteum</i> Hedw.	Presence of bushes, succulent plants, agave and copal, accompanied by grasses and calcareous rock. The soil has a dark colour with abundant small roots, superficial stoniness (with stones of approx. 1 cm in diameter).	2.02 \pm 0.3	7.97 \pm 0.10	16.02 \pm 7.85
2	<i>Neohylophyla sprengelii</i> var. <i>stomatodontia</i> (Card.) Zand., <i>Pseudocrossidium replicatum</i> (Tayl.) Zand., <i>Weissia jamaicensis</i> (Mitt.) Grout., <i>Bryum argenteum</i> Hedw.	An area of surface runoff under <i>Prosopis laevigata</i> bushes, with the presence of ferns and agaves in decomposition. The shallow soil is dark in colour, with the presence of grasses, abundant roots, and nodules. Extreme stoniness of the soil is accompanied by sedimentary rock.	2.43 \pm 0.48	7.82 \pm 0.41	14.50 \pm 1.89
4	<i>Didymodon rigidulus</i> var. <i>gracilis</i> (Hook. And Grev.) Zand., <i>Pseudocrossidium replicatum</i> (Tayl.) Zand., <i>Weissia jamaicensis</i> (Mitt.) Grout.	Presence of rocks with vegetation dominated by grasses and herbaceous plants, with some agavoideae. The soil is shallow with a dark colour. The biological soil crust is mainly composed of moss.	2.16 \pm 0.72	8.0 \pm 0.15	14.01 \pm 4.13
5	<i>Alouina humatus</i> (C. Muell.) Broth., <i>Didymodon rigidulus</i> var. <i>gracilis</i> (Hook. And Grev.) Zand., <i>Pseudocrossidium replicatum</i> (Tayl.) Zand., <i>Bryum argenteum</i> Hedw.	Presence of sedimentary rock and highly stony soil with a dark colour and little structure. There are ferns, lichens, herbaceous plants, small roots and horse faeces. At this elevation only a small quantity of biological soil crust could be found.	1.97 \pm 0.85	8.0 \pm 0.17	12.92 \pm 1.44
9	<i>Didymodon rigidulus</i> var. <i>gracilis</i> (Hook. And Grev.) Zand., <i>Weissia jamaicensis</i> (Mitt.) Grout., <i>Bryum argenteum</i> Hedw.	Scarce presence of rocks with very abundant vegetation, including bushes and cassavas. The biological soil crust contains a great quantity of cyanobacteria. The soil is brown with a fine texture, forming aggregates and abundant fine roots. Ant colonies and galleries were found.	2.6 \pm 0.16	7.77 \pm 0.08	22.42 \pm 10.21



Fig. 2. Light microscopic photographs of different barcoded specimens of *Quadrella texcalense* from the Cerro Marrubio, San Antonio Texcala, Puebla, Mexico, (600× magnification). Scale bar is 20 μm.

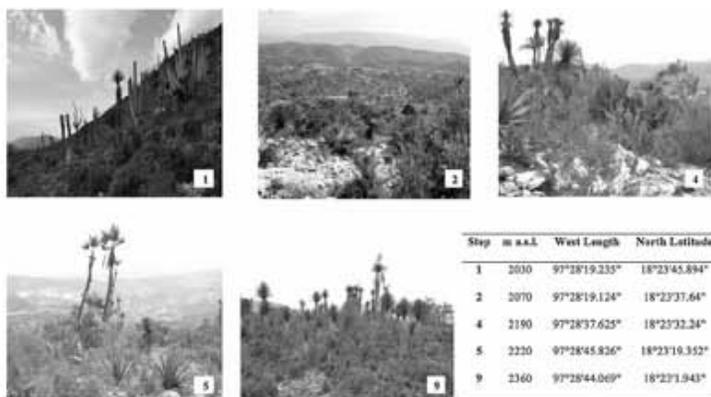


Fig. 3. Photographs showing the general characteristics of the locality where *Q. texcalense* was found, as well as the geographical location of the sites where it was isolated.

1 and 2. In the middle part of the slope, (steps 4 and 5) was found a crasi-rosulifolium scrubland of *Dasyllirion serratifolium* with presence of *Mitrocereus fulviceps*. On step 9, the top of the Cerro Marrubio hosts a *Gochnathia hypoleuca* scrubland with *Yucca periculosa*. Typification of the associations was based on Valiente-Banuet et al. (2009).

Bryophyte species

The samples of BSC where *Q. texcalense* was found were dominated by the mosses *Pseudocrossidium replicatum* (Tayl.) Zand., *Weissia jamaicensis* (Mitt.) Grout., *Bryum argenteum* Hedw., *Didymodon rigidulus gracilis* (Hook. And Grev.) Zand., *Neohyophyla sprengelii* var. *stomatodonta* (Card.) Zand., and *Aloina hamulus* (C. Muell.) Broth. These

bryophytes grew on soils whose humidity was as low as 1.97–2.6%.

Accompanying testate amoebae species

Testate amoebae species co-occurring with *Q. texcalense* include: *Centropyxis aenophila*, *Centropyxis platystoma*, *Cyclopyxis eurystoma*, *Cyclopyxis kahli* and an unidentified small species from genus *Euglypha* (Table 4). *Bullinularia gracilis* was also (more rarely) encountered (Table 4). All these organisms have been already described in different soils, including arid zones in South- and North-America.

Type material

One permanent preparation containing cells embedded in Euparal synthetic resin of the test of *Q. texcalense* was deposited at the Museo de Historia Natural, Secretaría del Medio Ambiente, Mexico City, Mexico (reference number: MHN-2757). The dried mosses in which *Q. texcalense* have been found are conserved in the Laboratorio de Ecología Microbiana, in the Unidad de Biotecnología y Prototipos, Facultad de Estudios Superiores, Iztacala of the Universidad Nacional Autónoma de México at Iztacala in Mexico City (reference numbers vmra-cbs115 to 119).

The sequences of the COI gene of *Q. texcalense* (560 pb) were deposited in the GenBank (reference number to be provided upon acceptance of the manuscript). The new scientific name: *Quadrullella texcalense* was registered in ZooBank (zoobank.org) under the code urn: lsid:zoobank.org:pub:22CBF523-07AD-44EB-9876-64ABC258C85D.

Etymology

The name *Quadrullella texcalense* was assigned as a tribute to the inhabitants of San Antonio Texcala. Texcala means “place where water springs from rock” in Nahuatl (the ancient indigenous language of this region). According to the oral tradition of the locality, this word refers to the “onyx waterfall”, located on the cliff that is one of the main sites of extraction of onyx. In this place, there is a natural spring of salt water that feeds the salt evaporation ponds in the same area.

Sequences and phylogenetic position of *Q. texcalense* and *Q. elegans*

The nine sequences retrieved from single cells of *Q. texcalense* appeared as perfectly identical after manual edition based on the pherograms. They branched together with *Q. variabilis*, a similar but smaller species described from Europe (Kosakyan et al. 2016). However, the sequences from *Q. texcalense* were supported by a relatively long branch, which influences probably the topology of the whole tree

(Fig. 4). *Quadrullella elegans* branched at the base of a clade formed by both *Q. symmetrica* and *Q. madibai*, another African species (Kosakyan et al. 2016).

Our phylogenetic analysis did not support the monophyly of genus *Quadrullella*, as it did not support the inclusion of *Q. quadrigera*. However, the non-inclusion of this species was also weakly supported by bootstrap values, suggesting that this position may change as well with the addition of more sequences. Similar results had been obtained in a previous study on the genus (Kosakyan et al. 2016), where the inclusion of *Q. quadrigera* obtained low support as well.

Discussion

The phylogenetic position of *Q. texcalense* (and *Q. elegans* as well) within their genus appeared unresolved. Morphologically, the genus is consistent, with tests presenting similar sizes and outlines, and plates. In contrast, *Mrabella subcarinata*, a species with square plates similar to *Quadrullella* branched robustly with genus *Gibbocarina* with whom it shared the typical hollow keel, and very large size (Kosakyan et al. 2016). In contrast, the general shape of *Q. texcalense* and the size of its scales reminds of *Q. variabilis*, with which it branches, although with a weak support (<70%; Fig. 2). Therefore, we believe that the inclusion of *Q. texcalense* and *Q. elegans* within genus *Quadrullella* is most likely to be correct. Longer sequences, and/or additional markers such as NAD9/7 (Blanchard et al. 2017) should provide clarifications on the possible monophyly of genus *Quadrullella*, and on relationships within the genus. On the other hand, SSU rRNA, the most common barcoding gene used in protists (Pawlowski et al. 2012) is likely not to be variable enough to resolve relationships within a single genus of Hyalospheniidae (Lara et al. 2008).

The finding of *Q. texcalense* in a desert environment stands in contradiction with previous knowledge on the ecology of the genus. Indeed, *Quadrullella* species are considered as characteristic of humid to aquatic environments (Kosakyan et al. 2016). In peatlands, they are considered as indicators for low water table depth (i.e. wet) microsites (Amesbury et al. 2016), and are reported as intolerant of drier conditions (Charman and Warner 1992, 1997). The genus has been also reported from floodplains (Rakhileeva 2002), springs (Bonny and Jones 2003) and mineral rich fens (Grell 1953; Lamentowicz et al. 2011). To our knowledge, this is the first record of this genus from arid zones. Curiously, *Q. texcalense* is one of the largest species of the genus, and a large biovolume is a trait considered to be linked to wet environments (Fournier et al. 2012).

Quadrullella texcalense was found to be closely associated to mosses of the family Pottiaceae. These plants are capable of surviving in shallow substrates with little water, as these plants have structures called filidia that enable them to avoid desiccation. They can absorb water from air and dew (thus creating more humid microhabitats), activate mecha-

genus *Quadrullella* is certainly genuine, although not supported by high bootstrap values. Indeed, its general shape and the size of its scales reminds of *Q. variabilis*, with which it branches, although with a weak support (<70%; Fig. 2).

The origin of *Q. texcalense* may lie in the particular geological history of the region. Indeed, it was primitively a marine habitat which turned into a series of lacustrine basins formed during the Cenozoic Era, probably surrounded by wetlands (Sánchez and Duarte 1980). During the Pleistocene, the Tehuacán Valley and the surrounding mountains were cooler and moister than nowadays (McNeish et al. 1972), where members of the genus *Quadrullella* are likely to have thrived in their typical environments. The transition to the current arid climate regime occurred relatively recently, during the Holocene (McNeish et al. 1972). We suggest that *Q. texcalense* may be a relic of the Pleistocene that has adapted progressively to face drought. The Tehuacán-Cuicatlán Biosphere Reserve, where Cerro Marrubio is located, hosts a rich fauna, and 365 endemic species of plants (Dávila et al. 2002). It is believed that thermic stability, as well as weather predictability, is a key factor for the development of this biodiversity hotspot (García 1981; Osorio-Beristain et al. 1996). The absence of fast and unexpected drying of the BSC might also have facilitated the adaptation of *Q. texcalense*. In any case, the existence of *Q. texcalense* demonstrates an instance where a hotspot for macroscopic diversity and endemism can also host unusual micro-organisms and should hopefully be an incentive to conduct similar exploratory studies in other under-studied regions and habitats of the World.

Acknowledgements

The present manuscript is present in partial fulfillment towards Horacio Pérez Juárez doctoral degree in the program "Doctorado en Ciencias Biomédicas, de la Universidad Nacional Autónoma de México". The authors are grateful for the funds provided by the UNAM-DGAPA-PAPIIT-IN219914 project, to the UNAM-CONACyT for the grant CVU 408467, and also to the Swiss NSF grant no. 310003_A163254/1. We also wish to express our thanks to the authorities of the "Núcleo Agrario" of San Antonio Texcala, Puebla, for the permission and help provided in the field and to Dr. Piet-Louis Grundling for guiding one of us (EM) to the sampling site in South-Africa. We would like to thank to Dr. Cecilia Ximénez and M. in Sci. Liliana Rojas for your assistance in the preservation of the *Q. texcalense* specimens. Finally, we thank to the anonymous reviewers for their helpful comments and suggestions to improve the manuscript for its final revision.

References

Amesbury, M.J., Swindles, G.T., Bobrov, A., Charman, D.J., Holden, J., Lamentowicz, M., Mallon, G., Mazei, Y., Mitchell,

- E.A.D., Payne, R.J., Roland, T.P., Turner, T.E., Warner, B.G., 2016. Development of a new pan-European testate amoeba transfer function for reconstructing peatland palaeohydrology. *Quat. Sci. Rev.* 152, 132–151.
- Bamforth, S.S., 2008. Protozoa of biological soil crusts of a cool desert in Utah. *J. Arid. Environ.* 72, 722–729.
- Bates, R.G., 1954. *Electrometric pH Determinations*. John Wiley and Sons, Inc. New York.
- Beyens, L., Meisterfeld, R., 2002. Protozoa: testate amoebae. In: Last, W.M., Smol, J.P. (Eds.), *Tracking Environmental Change Using Lake Sediments*. Springer, Netherlands, pp. 121–153.
- Belnap, J., Weber, B., Büdel, B., 2016. Biological soil crusts as an organizing principle in drylands. In: Weber, B., Büdel, B., Belnap, J. (Eds.), *Biological Soil Crusts: An Organizing Principle in Drylands*. Springer International Publishing, Switzerland, pp. 3–13.
- Blandinier, Q., Lara, E., Mitchell, E.A.D., Alcantara, D.M.C., Siemensma, F.J., Todorov, M., Lahr, D.J.G., 2017. NAD9/NAD7 (mitochondrial nicotinamide adenine dinucleotide dehydrogenase gene)—a new "Holy Grail" phylogenetic and DNA-barcoding marker for Arcellinida (Amoebozoa)? *Eur. J. Protistol.* 58, 175–186.
- Bonnet, L., 1975. Types morphologiques, écologie et évolution de la thèque chez les thécamoebiens. *Protistologica* 11, 363–378.
- Bonny, S., Jones, B., 2003. Relict tufa at Miette Hot Springs, Jasper National Park, Alberta, Canada. *Can. J. Earth Sci.* 40, 1459–1481.
- Canseco, L.M., 1996. Estudio preliminar de la herpetofauna en la cañada de Cuicatlán y Cerro Piedra Larga, Oaxaca. Bachelor Thesis. Universidad Autónoma de Puebla, Mexico.
- Charman, D.J., 2001. Biostratigraphic and palaeoenvironmental applications of testate amoebae. *Quat. Sci. Rev.* 20, 1753–1764.
- Charman, D.J., Warner, B.G., 1992. Relationship between testate amoebae (Protozoa: Rhizopoda) and microenvironmental parameters on a forested peatland in northeastern Ontario. *Can. J. Zool.* 70, 2474–2482.
- Charman, D.J., Warner, B.G., 1997. The ecology of testate amoebae (Protozoa: Rhizopoda) in oceanic peatlands in Newfoundland, Canada: modelling hydrological relationships for palaeoenvironmental reconstruction. *Ecoscience*, 555–562.
- Chomczynski, P., Sacchi, N., 1987. Single-step method of RNA isolation by acid guanidium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.* 162, 156–159.
- Clarke, K.J., 2003. *Guide to the Identification of Soil Protozoa-testate amoebae*. Freshwater Biological Association, United Kingdom.
- Dávalos-Álvarez, O.G., Nieto-Samaniego, Á.F., Alaniz-Álvarez, S.A., Martínez-Hernández, E., Ramírez-Arriaga, E., 2007. Estratigrafía cenozoica de la región de Tehuacán y su relación con el sector norte de la falla de Oaxaca. *Rev. Mex. Cienc. Geol.* 24, 197–215.
- Davidova, R.D., 2008. A study of the moss testate amoebae (Protozoa: Testacea) of the Strandzha Natural Park (South-Eastern Bulgaria). *Acta Zool. Bulg.* 60, 23–30.
- Dávila, P., Arizmendi, M.C., Valiente-Banuet, A., Villaseñor, J., Casas, A., Lira, R., 2002. Biological diversity in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, México. *Biodivers. Conserv.* 11, 21–442.
- Deflandre, G., 1929. Le genre *Centropycis* Stein. *Ark. Protistenkd.* 67, 322–375.

- Elliott, S.M., Roe, H.M., Patterson, R.T., 2012. Testate amoebae as indicators of hydrosereal change: an 8500 year record from Mer Bleue Bog, eastern Ontario, Canada. *Quat. Int.* 268, 128–144.
- Fernández, L.D., 2015. Source-sink dynamics shapes the spatial distribution of soil protist in an arid shrubland of northern Chile. *J. Arid. Environ.* 113, 121–125.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., Vrijenhoek, R., 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 3, 294–299.
- Fournier, B., Malysheva, E., Mazei, Y., Moretti, M., Mitchell, E.A.D., 2012. Toward the use of testate amoeba functional traits as indicator of floodplain restoration success. *Eur. J. Soil Biol.* 49, 85–91.
- García, E., 1981. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen, 3rd ed. DR^o Instituto de Geografía-UNAM, México.
- Gauthier-Lièvre, L., 1957. Additions aux *Nebela* d'Afrique. *Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle de l'Afrique du Nord* 48, 494–523.
- Gilbert, D., Amblard, C., Bourdier, G., Francez, A.J., 1998. The microbial loop at the surface of a peatland: Structure, function, and impact of nutrient input. *Microb. Ecol.* 35, 83–93.
- Gomaa, F., Todorov, M., Heger, T.J., Mitchell, E.A., Lara, E., 2012. SSU rRNA phylogeny of Arcellinida (Amoebozoa) reveals that the largest Arcellinid genus, *Diffugia* Leclerc 1815, is not monophyletic. *Protist* 163, 389–399.
- Gradstein, S.R., Churchill, S.P., Salazar-Allen, N., Reimer-Drehwald, M.E., 2001. Guide to the Bryophytes of Tropical America. Botanical Garden Press, New York.
- Grell, K.G., 1953. *Protozoology*. Springer-Verlag, Berlin.
- Hall, T.A., 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/NT. *Nucleic Acids Symp. Ser.* 41, 95–98.
- Heger, T.J., Mitchell, E.A.D., Leander, B.S., 2013. Holarctic phylogeography of the testate amoeba *Hyalosphenia papilio* (Amoebozoa: Arcellinida) reveals extensive genetic diversity explained more by environment than dispersal limitation. *Mol. Ecol.* 22, 5172–5184.
- Kosakyan, A., Lahr, D.J.G., Mulot, M., Meisterfeld, R., Mitchell, E.A.D., Lara, E., 2016. Phylogenetic reconstruction based on *COI* reshuffles the taxonomy of hyalosphenid shelled (testate) amoebae and reveals the convoluted evolution of shell plate shapes. *Cladistics* 32, 606–623.
- Kosakyan, A., Gomaa, F., Mitchell, E.A., Heger, T.J., Lara, E., 2013. Using DNA-barcoding for sorting out protest species complexes: a case study of the *Nebela tincta-collaris-bohemica* group (Amoebozoa: Arcellinida, Hyalospheniidae). *Eur. J. Protistol.* 49, 222–237.
- Kosakyan, A., Heger, T.J., Leander, B.S., Todorov, M., Mitchell, E.A., Lara, E., 2012. *COI* barcoding of Nebelid testate amoebae (Amoebozoa: Arcellinida): extensive cryptic diversity and redefinition of the Hyalospheniidae. *Protist* 163, 415–434.
- Lamentowicz, L., Gabka, M., Rusinska, A., Sobczynski, T., Owsianny, P.M., Lamentowicz, M., 2011. Testate Amoeba (Arcellinida, Euglyphida) Ecology along a poor-rich gradient in fens of Western Poland. *Int. Rev. Hydrobiol.* 96, 356–380.
- Lara, E., Heger, T.J., Ekelund, F., Lamentowicz, M., Mitchell, E.A.D., 2008. Ribosomal RNA genes challenge the monophyly of the Hyalospheniidae (Amoebozoa: Arcellinida). *Protist* 159, 165–176.
- Lara, E., Heger, T.J., Schwibing, R., Mitchell, E.A.D., 2011. *COI* gene and ecological data suggest size-dependent high dispersal and low intra-specific diversity in free-living terrestrial protists (Euglyphida: *Assulina*). *J. Biogeogr.* 38, 640–650.
- Lara, E., Roussel-Delif, L., Fournier, B., Wilkinson, D.M., Mitchell, E.A.D., 2016. Soil microorganisms behave like macroscopic organisms: patterns in the global distribution of soil euglyphid testate amoebae. *J. Biogeogr.* 43, 520–532.
- López-Galindo, F., Muñoz-Iniestra, D., Hernández-Moreno, M., Soler-Aburto, A., Castillo-López, M.C., Hernández-Arzate, L., 2003. Análisis integral de la toposecuencia y su influencia en la distribución de la vegetación y la degradación del suelo en la subcuena de Zapotitlán Salinas, Puebla. *Bol. Soc. Geol. Mex.* 56, 19–41.
- Marcisz, K., Fournier, B., Gilbert, D., Lamentowicz, M., Mitchell, E.A.D., 2014. Response of Sphagnum peatland testate amoebae to a 1-year transplantation experiment along an artificial hydrological gradient. *Microb. Ecol.* 67, 810–815.
- Mazei, Y.A., Tsyganov, A.N., 2006. *Freshwater Testate Amoebae*. KMK Publishing, Moscow.
- Mazei, Y.A., Tsyganov, A.N., Bubnova, O.A., 2009. The species composition and community structure of testate amoebae in Sphagnum bogs of Northern Karelia (the White Sea Lowland). *Zoologicheskoy Zhurnal* 88, 771–782.
- McNeish, R.S., Peterson, F.A., Neely, J.A., 1972. The archaeological reconnaissance. In: McNeish, R.S. (Ed.), *The Prehistory of the Tehuacan Valley Vol. 5. Excavations and Reconnaissance*. University of Texas Press, Austin, TX, pp. 496–504.
- Mitchell, E.A., Charman, D.J., Warner, B.G., 2008. Testate amoebae analysis in ecological and paleoecological studies of wetlands: past, present and future. *Biodivers. Conserv.* 17, 2115–2137.
- Nguyen, L.T., Schmidt, H.A., von Haeseler, A., Minh, B.Q., 2015. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum likelihood phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 32, 268–274.
- Ogden, C.G., 1983. Observation on the systematics of the genus *Diffugia* in Britain (Rhizopoda protozoa). *Bull. Nat. Hist. Mus. Zool.* 44, 1–73.
- Ortiz, V.B., Ortiz, A., 1980. *Edafología*, 3rd ed. Universidad Autónoma Chapingo, México.
- Osorio-Beristain, O., Valiente-Banuet, A., Dávila, P., Medina, R., 1996. Tipos de vegetación y diversidad beta en el valle de Zapotitlán de las Salinas, Puebla, México. *B. Soc. Bot. Mex.* 59, 35–58.
- Pawlowski, J., Audic, S., Adl, S., Bass, D., Belbahri, L., Berney, C., Bowser, S.S., Cepicka, L., Decelle, J., Dunthorn, M., Fiore-Donno, A.M., Gile, G.H., Holzmann, M., Jahn, R., Jirko, M., Keeling, P.J., Kostka, M., Kudryavtsev, A., Larr, E., Lukes, J., Mann, D.G., Mitchell, E.A.D., Nitsche, F., Romeralo, M., Saunders, G.W., Simpson, A.G.B., Smirnov, A.V., Spouge, J.L., Stern, R.F., Stoeck, T., Zimmermann, J., Schindler, D., de Vargas, C., 2012. CBOL Protist Working Group: barcoding eukaryotic richness beyond the animal, plant, and fungal Kingdoms. *PLoS Biol.* 10, e1001419. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pbio.1001419>.
- Rakhleeva, A.A., 2002. Testaceans (Testacea, Protozoa) of tundra soils in Western Siberia (Surgut Polesye). *Biol. Bull. Russ. Acad. Sci.* 29, 618–627.
- Rivera-Aguilar, V., Montejano, G., Rodríguez-Zaragoza, S., Durán-Díaz, A., 2006. Distribution and composition of cyanobacteria

- mosses and lichens of the biological soil crusts of the Tehuacán Valley, Puebla, México. *J. Arid. Environ.* 67, 208–225.
- Robinson, B.S., Bamforth, S.S., Dobson, P.J., 2002. Density and diversity of protozoa in some arid Australian soils. *J. Eukaryot. Microbiol.* 49, 449–453.
- Sánchez, B.E.B., Duarte, J.B., 1980. Nerineidos (Mollusca-Gastropoda) del cretácico inferior de la región de San Juan Raya, Puebla. *Rev. Mex. Cienc. Geol.* 4, 46–55.
- Serrano-Vázquez, A., Rodríguez-Zaragoza, S., Pérez-Juárez, H., Bazán-Cuena, J., Rivera-Aguilar, V.M., Durán, Á., 2013. Physical and chemical variations of the soil under two desert shrubs in Tehuacan, Mexico. *Soil Sci.* 178, 87–103.
- Sharp, A.J., Crum, H., Eckel, P.M., 1995. The moss Flora of Mexico (Memoirs of the New York Botanical Garden), 117. *Botanische Jahrbücher*, pp. 569.
- Singer, D., Kosakyan, A., Pillonel, A., Mitchell, E.A., Lara, E., 2015. Eight species in the *Nebela collaris* complex: *Nebela gimbi* (Arcellinida, Hyalospheniidae), a new species described from a Swiss raised bog. *Eur. J. Protistol.* 51, 79–85.
- Smith, H.G., Bobrov, A., Lara, E., 2008. Diversity and biogeography of testate amoebae. *Biodivers. Conserv.* 17, 329–343.
- Smith, H.G., Wilkinson, D.M., 2007. Not all free-living microorganisms have cosmopolitan distributions — the case of *Nebela (Apodera) vas* Certes (Protozoa: Amebozoa: Arcellinida). *J. Biogeogr.* 34, 1822–1831.
- Turner, T.E., Swindles, G.T., 2012. Ecology of testate amoebae in moorland with a complex fire history: implications for ecosystem monitoring and sustainable land management. *Protist* 163, 844–855.
- Valiente-Banuet, A., Dávila, P., Casas, A., Arizmendi, M.C., Ortega-Ramírez, J., 2006. Diversidad biológica y desarrollo sustentable en la reserva de la biosfera Tehuacán Cuicatlán. In: Oyama, K. (Ed.), *Manejo, conservación y restauración de recursos naturales en México*. Universidad Nacional Autónoma de México, México, pp. 248–277.
- Valiente-Banuet, A., Solís, L., Dávila, P., Arizmendi, M.C., Silva, P.C., Ortega-Ramírez, J., Treviño, C.J., Rangel-Landa, S., Casas, A., 2009. Guía de la vegetación del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. UNAM, CONABIO, INAH, UAT. Fundación para la Reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán, México, 206 pp.
- Van Oye, P., 1949. Rhizopodes de Java. *Hydrobiologia* 28, 327–352.
- Vucetich, M.C., 1983. Contribución al conocimiento del género *Quadrulella* Coskerell, 1909 (Rhizopoda, Testaceolobosa) en la Argentina. *La Plata* 2, 526–532.
- Walkley, A., Black, I.A., 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37, 29–38.
- Willard, H.H., Merritt, L.L., Dean, J.A., 1958. *Instrumental Methods of Analysis*, 3rd ed. Van Nostrand, Princeton, USA.
- Wilkinson, D.M., 2001. What is the upper size limit for cosmopolitan distribution in free-living microorganisms? *J. Biogeogr.* 28, 285–291.
- Zander, R.H., 1979. Techniques for study of Pottiaceae. *Taxon* 28, 643–644.
- Zander, R.H., Eckel, P.M., 1993. *Genera of the Pottiaceae: Mosses of Harsh Environments*. Buffalo Society of Natural Sciences, Buffalo, New York.

Web references

- Glime, J.M., 2007. Bryophyte ecology, vol 1. Physiological ecology. Ebook sponsored by Michigan Technological University and the International Association of Bryologists. www.bryecol.mtu.edu.

CAPITULO 5
DISCUSIÓN GENERAL

Discusión general

En este trabajo se buscó generar una contribución al conocimiento de un grupo de protistas del suelo abundante, diverso y funcionalmente importante, que son los protistas amoeboides (Clarholm, 1985; Foissner, 1987; Ekelund and Rønn, 1994; Finlay, *et. al.*, 2002; Bonkowski, 2004; Bonkowski and Clarholm, 2012). Así, estudié a las amebas desnudas del Desierto de Tehuacán, Puebla usando un acercamiento morfológico (Pérez-Juárez, *et. al.*, 2018) y a las amebas tecadas a partir de un enfoque morfológico-molecular con la descripción de la nueva especie nombrada *Q. texcalense*, que inesperadamente se encontró en este ambiente árido (Pérez-Juárez, *et. al.*, 2017).

De manera particular, los datos obtenidos sobre amebas desnudas demostraron la variación que existe en el ensamblaje de las comunidades de amebas desnudas del suelo y el impacto que tienen sobre estas comunidades las leguminosas arbustivas *Prosopis laevigata* y *Parkinsonia praecox*, y el suelo desnudo en diferentes profundidades (0-10, 10-20 y 20-30 cm), así como factores edáficos (humedad, porcentaje de arenas, limos y arcillas pH, conductividad eléctrica, materia orgánica y fosfatos) en dos estaciones contrastantes (lluvia y sequía) en un desierto de la región central de México.

En este caso se trató de explorar tres predicciones:

- 1) Debido a que las plantas de desierto modifican las propiedades físicas y químicas del suelo y generan mayor “calidad” de hábitat para los microorganismos en comparación con el suelo desnudo, esperábamos encontrar mayor riqueza de amebas desnudas en el suelo bajo *Prosopis laevigata* y *Parkinsonia praecox* que en el suelo desnudo.

- 2) Debido a que la mayor actividad biológica y el mayor aporte de nutrientes en el suelo se da en los primeros centímetros de profundidad y al ser las amebas grandes depredadores en el suelo, esperábamos observar mayor número de especies en los primeros 10 centímetros de profundidad.
- 3) Debido a que en las zonas áridas el agua es el principal factor limitante para el desarrollo de los microorganismos, ya que impacta de manera directa sobre la disponibilidad de nutrientes en el suelo (permitiendo que sean solubles), esperábamos que el número de especies de amebas desnudas fuera mayor durante la temporada de lluvia.

Nuestros resultados confirman que las leguminosas *Prosopis laevigata* y *Parkinsonia praecox* son microhábitats propicios para el establecimiento de amebas desnudas. De manera general, esta mejor calidad de hábitat se ve reflejada en el número y composición de especies de amebas presentes en cada microhábitat y esta tendencia encontrada en nuestros resultados concuerda con lo reportado para otros desiertos de diferentes partes del mundo (Varga, 1936; Robinson, *et. al.*, 2002; Rodríguez-Zaragoza, *et. al.*, 2005; Mayzlish-Gati and Steinberger, 2007). Sin embargo, este fenómeno (la formación de microhábitats por las plantas) sólo ocurre durante la temporada de sequía, ya que cuando comparamos entre estaciones, durante las lluvias no se observan diferencias significativas entre las comunidades de amebas desnudas de los microhábitats formados por las especies vegetales y el suelo desnudo. Al comparar entre profundidades, durante la sequía solo se observan especies de amebas en el suelo desnudo en los primeros diez centímetros de profundidad, lo que puede estar relacionado con los nutrientes que son transportados a través del aire de

forma pasiva y depositados en la capa superficial del suelo, tal como lo sugieren Fernández-Parra, (2014) en el desierto hiperárido de Atacama, en Chile.

Por su parte las comunidades de amebas de ambas especies vegetales se mantienen estables durante la sequía en todas las profundidades, mostrando el efecto benéfico que tienen los arbustos de desierto sobre la comunidad de amebas. La sequía suele ser muy prolongada en las zonas áridas, donde el suelo desnudo se ve grandemente afectado al no contar con la protección de una especie vegetal, por tal motivo es más susceptible a la pérdida de agua y de nutrientes, que a su vez se encuentran en muchos casos insolubles, ya que la evaporación también provoca mayor concentración de sales en el suelo y un pH más alcalino (Stewart and Tiessen, 1987; Tunesi *et al.*, 1999; Serrano-Vázquez *et al.*, 2013). Esta asincronía en la disponibilidad de agua y nutrientes provocada por la estacionalidad afectó principalmente a la comunidad de amebas desnudas del suelo desprovisto de cobertura vegetal, mostrando una disminución drástica en el número de especies de amebas, mientras que en los microhábitat creados por ambas especies vegetales la comunidad se mantiene estable. Estos datos concuerdan con lo reportado por Rodríguez-Zaragoza, *et al.*, (2005) donde el efecto positivo de un arbusto (*Zygophyllum dumosum*) en el desierto del Negev sobre la comunidad de amebas desnudas fue considerable positiva, permitiendo una mayor riqueza de especies, en comparación con el suelo desnudo durante una estación seca.

En las zonas áridas, durante la temporada de lluvia, la humedad llega a todos lados, principalmente al suelo desnudo, provocando un dramático incremento en la actividad biológica y en la mineralización debido a la disponibilidad de agua y nutrientes, generando también condiciones más homogéneas en relación a la disponibilidad de nutrientes y a las

condiciones microambientales (Austin, *et. al.*, 2004). Sin embargo, a pesar de que hipotetizamos que iba a haber un incremento en el número de especies presentes durante esta estación, no encontramos diferencias significativas en el número de especies de amebas desnudas en el ciclo lluvia-sequía, observándose que la composición de la comunidad varió a través de las dos temporadas en un 20 %. Estos resultados indican que algunos organismos fueron específicos, ya sea de la temporada de sequía o de lluvia. Estas diferencias entre la composición de especies probablemente se deben a que las amebas desnudas poseen características que les permiten responder de manera diferencial a la humedad, dependiendo de su metabolismo y a las adaptaciones al ambiente (Pianka, 1970, Geisen *et al.*, 2014).

Las amebas desnudas que sólo se encontraron durante la sequía, basan su supervivencia a largo plazo con recursos limitados (Pianka, 1970), contrario a lo que sucede durante la lluvia, donde, las especies con crecimiento rápido emergen en respuesta a la humidificación, explotando rápidamente los recursos disponibles. En este trabajo nosotros encontramos que *Stachymoeba* y *Platyamoeba* se presentaron exclusivamente durante la lluvia. En un estudio realizado por Geisen, *et. al.*, (2014) reportaron que *Platyamoeba* tuvo una marcada preferencia por la humedad y sus poblaciones aumentaban rápidamente con la saturación de agua en el suelo y disminuían cuando la humedad se perdía. Aquellos organismos que sólo se encontraron en el suelo desnudo, se pueden llamar criptobióticos, y están distribuidos principalmente en la superficie del suelo, formando estructuras de resistencia (quistes durante la sequía, y responden rápidamente a eventos de lluvia (Singh, *et. al.*, 1989).

En este trabajo el ensamble de especies de protistas ameboides desnudos estuvo dominado por Heterolobosea y estos resultados coinciden con otros estudios realizados en algunos desiertos y zonas áridas del mundo (Brown, 1982), el valle McMurdo (Bamforth, *et. al.*, 2005) y en una región semiárida de Sudáfrica (Dumack, *et. al.*, 2016). Este clado está compuesto por amebas desnudas eruptivas que pueden transitar por estado flagelar bajo ciertas condiciones microambientales; además muchas especies de Heterolobosea poseen la capacidad de desarrollar quistes. Este grupo comprende además organismos considerados como extremófilos especialmente termófilos, debido a su capacidad de resistir los cambios de temperatura extremos (Pánek, 2012).

También se observó la presencia del género *Acanthamoeba*, que es un grupo que también posee características que les permiten sobrevivir a condiciones adversas y son competidores muy agresivos y voraces en relación a los nutrientes, en contraste con los otros microorganismos (Bass and Bischoff, 2001). Estos organismos tienen la capacidad de sobrevivir con pocos recursos y responder rápidamente a los pulsos de humedad. Además pueden relacionarse con una versatilidad metabólica que les permite alimentarse en pequeñas películas de agua y llegar a lugares donde otros microorganismos del mismo nivel trófico no pueden, lo que les permite alimentarse casi en cualquier medio, o sobrevivir gracias a la formación de quistes de resistencia (Page, 1991; Foster and Dormaar, 1991; Ekelund and Ronn, 1994; Young and Ritz, 2000). De manera general, en función del tipo de pseudópodos, los morfotipos más comunes fueron eruptivo y acantopodial, lo que coincide con trabajos realizados en otras zonas áridas (Ekelund and Ronn, 1994; Young and Ritz, 2000; Robinson, *et. al.*, 2002; Bischoff 2002; Bamforth, 2004; Bamforth, 2008).

En segunda instancia, la descripción de un organismo amoeboide tecado, de un grupo que había sido relacionado con ambientes con altos contenidos de humedad, en llanuras de inundación (Rakhleeva, 2002), manantiales (Bonny and Jones, 2003) y pantanos ricos en minerales (Grell, 1953; Lamentowicz, *et. al.*, 2011) y que nosotros reportamos en una zona árida abre una brecha para seguir explorando este tipo de ambientes, donde seguramente las amebas tecadas se han desarrollado y han evolucionado. Además permitiría complementar el conocimiento sobre su ecología, pues podría diferir con lo que se tenía contemplado para estos protistas amoeboides ya que se relacionaban con las turberas, donde son consideradas como indicadoras de micrositos de baja profundidad de la capa freática (Amesbury, *et. al.*, 2013), y se había informado también que no toleraban las condiciones más secas (Charman and Warner, 1992, Charman and Warner, 1997).

Además, las amebas tecadas hasta hace poco, habían sido descritas a partir de análisis morfológicos, pero con ayuda de herramientas moleculares ha salido a la luz la gran diversidad críptica existente (Kosakian, *et. al.*, 2012), y estas mismas herramientas nos han permitido describir una nueva especie del género *Quadrullella* que habita en musgos que forman parte de las costras biológicas del suelo del desierto de Tehuacán.

El nombre de *Quadrullella texcalense* fue asignado en consideración a los pobladores del lugar donde fueron aislados los organismos, San Antonio Texcala. Texcala proviene del Nahuatl, y significa “Lugar donde nace el agua de la piedra”, nombre que, de acuerdo con la tradición oral de la localidad, se refiere a la “cascada de ónix” que se encontraba en el peñasco en donde se ubica uno de los principales sitios de extracción de piedra del pueblo y en donde sale el agua salada que alimenta las salinas ubicadas en el mismo sitio.

La presencia de *Q. texcalense* en este desierto intertropical es muy interesante ya que este género, como se mencionó antes había sido encontrado únicamente en ambientes muy húmedos o acuáticos. Sin embargo, pueden existir diferentes explicaciones para comprender su presencia en este desierto intertropical. Por una parte, su presencia podría estar dictada por las condiciones micro ambientales que le brindan los musgos que forman las costras biológicas del suelo de la zona de estudio.

Los musgos de la familia Pottiaceae son capaces de sobrevivir en sustratos de poca profundidad y con poca agua, y que además tienen estructuras que les permiten evitar la desecación y absorben agua del rocío del aire activando los mecanismos de fotosíntesis por períodos muy cortos y exhiben un rápido retorno de actividad metabólica después del periodo de sequía prolongado (Glime, 2007). Estas condiciones permiten el desarrollo de comunidades de amebas que comprenden, típicamente, especies xerófilas como *Centropyxis aerophila*, *Euglypha rotunda* o *Trinema lineare* (Davidova, 2008) que son organismos que también encontramos en el desierto de Tehuacán coexistiendo con *Q. texcalense*. Estas especies que se encontraron también asociadas a *Q. texcalense*, particularmente en el Cerro Marrubio, sugiere que las condiciones ambientales en las que vive son parecidas a las que se encuentra en musgos que soportan también períodos de desecación.

Por lo tanto, se debe considerar a *Q. texcalense* como una especie de un género globalmente higrófilo que se adaptó a condiciones xerófilas. Desde luego, esto sugiere que su presencia se puede deber a un largo periodo de adaptación a través de los cambios geológicos que ha sufrido la zona. Esto es debido a que la mayoría de los investigadores

coinciden en que la historia del área remonta al Paleozoico Superior (aproximadamente hace 540 m. a.) (Ortega and Gutiérrez, 1978). Desde el final del Pensilvánico al Jurásico tardío, la zona se plegó y emergió para ser cubierta por mares. Con base en estos datos se deduce que el paleoambiente era de zonas pantanosas, con clima cálido y sin fuertes cambios estacionales (Barceló-Duarte, 1978). Durante el Periodo Terciario (aproximadamente hace 65 m. a.), ocurrieron eventos de vulcanismo, formándose una serie de cuencas lacustres. Hacia el final del Terciario Tardío se registró una falla contemporánea a las rocas volcánicas y durante el Cuaternario (aproximadamente hace 2. 50 m. a.) se presentaron procesos erosivos muy intensos (Barceló-Duarte, 1978). Como se observa existe evidencia de que la zona en algunos momentos estuvo inundada por agua dulce, donde pudieron haber habitado organismos acuáticos como *Quadrullella*, sin embargo, una vez fuera del agua, los organismos se debieron adaptar a las condiciones del medio. La posición basal de *Q. texcalense* con respecto a las demás especies del género puede sugerir que esta especie es muy antigua, lo que tendería a corroborar esta explicación. Sin embargo, es muy probable que la diversidad del género no se haya explorado aún, y faltan datos aún para averiguar la historia evolutiva de *Q. texcalense*.

Finalmente y tomando en cuenta la enorme diversidad de protistas del suelo (Foissner, 1987, Cavalier-Smith, 1998, Adl, *et. al.*, 2012, Bates, *et. al.*, 2013) y de la información limitada que se tiene sobre ellos, no resulta ilógico pensar que existe aún una gran cantidad de estos organismos que aún no han sido descrito y particularmente el desierto de Tehuacán podría ser una fuente inacabable de recursos para que tanto para amebas desnudas como amebas tecadas puedan desarrollarse y/o adaptarse.

A grandes rasgos, las evidencias generadas en esta tesis y en los trabajos derivados de ella nos hacen sospechar que la diversidad de especies en los desiertos particularmente en el desierto de Tehuacan puede ser enorme. Es claro que las especies reportadas en esta tesis representan solo un porcentaje de la diversidad global que de manera natural habita el suelo, sin embargo resulta importante el conocimiento generado en esta tesis como punto de partida para plantear nuevos proyectos pues a nuestro conocimiento no existen trabajos que usen herramientas de cultivo convencionales y moleculares de última generación, donde se explore la diversidad total en los desiertos y menos en un desierto con las características particulares que se dan en México, por lo que en un futuro haremos uso de ambas herramientas para tener una aproximación más cercana sobre la diversidad total en los suelos de este desierto.

Ademas es necesario considerar que los estudios de microeucariontes en los ambientes terrestres, particularmente en suelos de desierto, se encuentran en una etapa inicial de su desarrollo en comparación con los estudios sobre las bacterias y los hongos del suelo (Bruno, *et. al.*, 2003). Sin embargo, los microeucariontes parecen ser tan diversos como sus contrapartes procariontes, al menos en ciertos ambientes, pero la diversidad funcional de estos microorganismos sigue siendo difícil de evaluar (De Vargas, *et. al.*, 2015; Grossmann, *et. al.*, 2016; Blandenier, *et. al.*, 2017; Tice, *et. al.*, 2016; Seppey, *et. al.*, 2016; Yubuki, *et. al.*, 2009), por lo que el campo de estudio de sobre protistas amoeboides aún tiene un largo camino por recorrer.

CONCLUSIONES

1. Los patrones de diversidad de protistas del suelo exhiben una variación estacional entre las estaciones secas y húmedas.
2. Los suelos con vegetación pueden funcionar como refugios para los protistas ameboides durante las condiciones extremas de las estaciones secas.
3. Factores edáficos como la conductividad eléctrica y el pH tienen influencia sobre las comunidades de protistas amoeboides en el suelo del desierto de Tehuacán.
4. En este trabajo describimos una nueva especie, *Quadrullella texcalense*. La descripción de esta nueva especie en un desierto, resulta inédito para este género de amebas tecadas e incluso para el gran grupo de los Hialosfenidos, los cuales hasta antes de este reporte no habían sido descritos en desiertos.
5. El reporte de *Q. texcalense* permite sugerir que los cambios ambientales que afectan a las amebas tecadas pueden llevarlos a colonizar sitios inesperados o a adaptarse a situaciones adversas, pues nuestros resultados sugieren que *Q. texcalense* podría haber tenido una evolución acelerada, tal vez debido a una transición hacia un nuevo entorno.
6. Las características de los microhábitats, ya sea plantas vasculares o no vasculares, como las briofitas que forman las costras biológicas del suelo, nos permiten entender la presencia de protistas amoeboides en el suelo de zonas áridas.
7. Finalmente, los resultados obtenidos durante este estudio revelaron que la comunidad de protistas ameboides que habitan el desierto de Tehuacán es diversa y aún poco conocida.

PERSPECTIVAS

Debido a que en este trabajo se ha mostrado, con un ejemplo de poblaciones de amebas desnudas y uno de tecadas, que algunos taxones de protistas amoeboides pueden exhibir importantes adaptaciones para sobrevivir bajo condiciones de aridez, por lo que es indispensable realizar trabajos posteriores para determinar experimentalmente los rangos de crecimiento en condiciones microambientales específicas, donde los organismos termófilos podrían tener además impacto en la salud pública, con organismos potencialmente patógenos. Por otra parte es necesario comprobar la importancia de los protistas amoeboides en las redes tróficas del suelo de diferentes zonas áridas, ya sea de manera experimental, en micro y mesocosmos, o en análisis exploratorios in situ, ya que estos organismos pueden ser clave en los sistemas altamente sensibles a la degradación, como son los desiertos del mundo.

REFERENCIAS

- Adl, M. S., and Gupta, V. S., (2006). Protists in soil ecology and forest nutrient cycling. *Canadian Journal of Forest Research*, 36, 1805-1817.
- Adl, S. M., Simpson, A. G., Farmer, M. A., Andersen, R. A., Anderson, O. R., Barta, J. R., et. al. (2005). The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 52 (5), 399-451.
- Adl, S. M., Simpson, A. G., Lane, C. E., Lukeš, J., Bass, D., Bowser, S. S., ... and Heiss, A. (2012). The revised classification of eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 59 (5), 429-514.
- Alpei, J., Bonkowski, M., and Scheu, S. (1996). Protozoa, Nematoda and Lumbricidae in the rhizosphere of *Hordelymus europeus* (Poaceae): faunal interactions, response of microorganisms and effects on plant growth. *Oecologia*, 106 (1), 111-126.
- Amesbury, M. J., Mallon, G., Charman, D. J., Hughes, P. D. M., Booth, R. K., Daley, T. J., Garneau, M., (2013). Statistical testing of a new testate amoeba-based transfer function for water-table depth reconstruction on ombrotrophic peatlands in north-eastern Canada and Maine, United States. *Journal of Quaternary Science*, 28, 27-39.
- Anderson, O. R. (2000). Abundance of terrestrial gymnamoebae at a northeastern U. S. site: A four-year study, including the El Nino winter of 1997–1998. *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 47, 148-155.
- Anderson, O. R. (2002). Laboratory and field-based studies of abundances, small-scale patchiness, and diversity of gymnamoebae in soils of varying porosity and organic content: Evidence of microbiocoenoses. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 49, 17-23.

- Aoki, Y., Hoshino, M., Matsubara, T. (2007). Silica and testate amoebae in a soil under pineoak forest. *Geoderma*, 142, 29-35.
- Arakaki, M., Christin, P. A., Nyffeler, R., Lendel, A., Eggli, U., Ogburn, R. M., et. al. (2011). Contemporaneous and recent radiation of the world's major succulent plant lineages. *Proceeding of the National Academy of Sciences*, 108, 8379-8384.
- Austin, A. T., Yahdjian, L., Stark, J. M., Belnap, J., Porporato, A., Norton, U., ... and Schaeffer, S. M. (2004). Water pulses and biogeochemical cycles in arid and semiarid ecosystems. *Oecologia*, 141(2), 221-235.
- Awerintzew, S. (1906). Die Susswasserrhizopoden. Imperatorskago Sankt-Peterburgskago Obschestva Estestvoisptatelei Trud, 36, 1-351.
- Bamforth, S. S. (1980). Terrestrial protozoa. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 27(1), 33-36.
- Bamforth, S. S. (2004). Water film fauna of microbiotic crusts of a warm desert. *Journal of Arid Environments*, 56(3), 413-423.
- Bamforth, S. S., Wall, D. H., Virginia, R. A. (2005). Distribution and diversity of soil protozoa in the McMurdo Dry Valleys of Antarctica. *Polar Biology*, 28(10), 756-762.
- Bamforth, S. S. (2008). Protozoa of biological soil crusts of a cool desert in Utah. *Journal of Arid Environments*, 72(5), 722-729.
- Barceló-Duarte, J. (1978). Estratigrafía y petrografía del área de Tehuacán San Juan Raya, Estado de Puebla. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ingeniería, 143 pp.

- Bass, P., and Bischoff, P. J. (2001). Seasonal variability in abundance and diversity of soil gymnamoebae along a short transect in southeastern USA. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 48(4), 475-479.
- Bates, S. T., Clemente, J. C., Flores, G. E., Walters, W. A., Parfrey, L. W., Knight, R., Fierer, N. (2013). Global biogeography of highly diverse protistan communities in soil. *The ISME journal*, 7(3), 652-659.
- Bischoff, P. J. (2002). An analysis of the abundance, diversity and patchiness of terrestrial gymnamoebae in relation to soil depth and precipitation events following a drought in Southeastern USA. *Acta Protozoologica*, 41(2), 183-190.
- Blancas, J., Casas, A. Lira, R., Caballeros J. (2009). Traditional management and morphological patterns of *Myrtillocactus schenckii* (Cactaceae) in the Tehuacán Valley, Central Mexico. *Economic Botany*, 63, 375.
- Blandenier, Q., Lara, E., Mitchell, E. A., Alcantara, D. M., Siemensma, F. J., Todorov, M., Lahr, D. J. (2017). NAD9/NAD7 (mitochondrial nicotinamide adenine dinucleotide dehydrogenase gene) A new “Holy Grail” phylogenetic and DNA-barcoding marker for Arcellinida (Amoebozoa)?. *European Journal of Protistology*, 58, 175-186.
- Bonkowski, M. and M. Clarholm. (2012). Stimulation of plant growth through interactions of bacteria and protozoa: Testing the auxiliary microbial loop hypothesis. *Acta Protozool.* 51, 237-247.
- Bonkowski, M., Cheng, W., Griffiths, B. S., Alpehi, J., Scheu, S. (2000). Microbial-faunal interactions in the rhizosphere and effects on plant growth. *European Journal of Soil Biology*, 36(3), 135-147.

- Bonkowski, M., Jentschke, G., Scheu, S. (2001a). Contrasting effects of microbial partners in the rhizosphere: interactions between Norway Spruce seedlings (*Picea abies* Karst.), mycorrhiza (*Paxillus involutus* (Batsch) Fr.) and naked amoebae (Protozoa). *Applied Soil Ecology*, 18(3), 193-204.
- Bonkowski, M. (2004). Protozoa and plant growth: the microbial loop in soil revisited. *New Phytologist*, 162(3), 617-631.
- Bonny, S., and Jones, B., 2003. Relict tufa at Miette Hot Springs, Jasper National Park, Alberta, Canada. *Canadian Journal of Earth Science*, 40, 1459-1481.
- Brown, T. J., Cursons, R. T., and Keys, E. A. (1982). Amoebae from antarctic soil and water. *Applied and Environmental Microbiology*, 44(2), 491-493.
- Cash, J. and Hopkinson, J. (1905). The British freshwater Rhizopoda and Heliozoa, Ray Society publication 85, London. 151 pp.
- Cash, J., Hopkinson, J. (1909). The British freshwater Rhizopoda and Heliozoa, Ray Society publication 89, London. 166 pp.
- Cash J., Wailes, H. (1915). The British Freshwater Rhizopoda and Heliozoa Ray Society, London.
- Cash, J., Wailes, G. H., Hopkinson, J. (1905-1921). The British Freshwater Rhizopoda and Heliozoa Ray Society, London.
- Cavalier-Smith, T. (1998). A revised six-kingdom system of life. *Biological Reviews*, 73(3), 203-266.
- Cavalier-Smith, T. (2003). Protist phylogeny and the high-level classification of Protozoa. *European Journal of Protistology*, 39(4), 338-348.

- Clarholm, M. (1985). Interactions of bacteria, protozoa and plants leading to mineralization of soil nitrogen. *Soil Biology and Biochemistry*, 17(2), 181-187.
- Chardez, D. (1989), On the multiplication of *Centropyxis discoides* and the medium influence on the morphology of the test (Rhizopoda Testacea). *Acta Protozoologica*, 28, 31-34.
- Charman, D. J. (2001). Biostratigraphic and palaeoenvironmental applications of testate amoebae. *Quaternary Science Reviews*, 20, 1753-1764.
- Charman, D. J., and Warner, B. G. (1992). Relationship between testate amoebae (Protozoa: Rhizopoda) and microenvironmental parameters on a forested peatland in northeastern Ontario. *Canadian Journal of Zoology*, 70 (12), 2474-2482.
- Charman, D. J., and Warner, B. G. (1997). The ecology of testate amoebae (Protozoa: Rhizopoda) in oceanic peatlands in Newfoundland, Canada: modelling hydrological relationships for palaeoenvironmental reconstruction. *Ecoscience*, 4(4), 555-562.
- Darby, B. J., Housman, D. C., Zaki, A. M., Shamout, Y., Adl, S. M., Belnap, J., Neher, - D. A. (2006). Effects of altered temperature and precipitation on desert protozoa associated with biological soil crusts. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 53(6), 507-514.
- Darlington, P. J. (1957). *Zoogeography*. John Wiley: New York.
- Darbyshire, J. 1994. Soil Protozoa. CAB International, Wallingford.
- Darbyshire, J. F., and Greaves, M. P. (1973). Bacteria and protozoa in the rhizosphere. *Pest Management Science*, 4(3), 349-360.
- Davidova, R. D., 2008. A study of the moss testate amoebae (Protozoa: Testacea) of the Strandzha Natural Park (South-Eastern Bulgaria). *Acta Zoologica*, 60, 23-30.

Dávila, P., Arizmendi, M. D. C., Valiente-Banuet, A., Villaseñor, J. L., Casas, A., and Lira, R. (2002). Biological diversity in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico. *Biodiversity and Conservation*, 11(3), 421-442.

Deflandre, G. (1928). Le genre *Arcella* Ehrenberg. Morphologie-Biologie. Essai phylogénétique et systématique. *Archiv für Protistenkunde*, 64, 152-287.

Deflandre, G. (1953). Orders des Testaceolobosa (de Saedeleer, 1934), Testaceafilosa (de Saedeleer 1934), Thalamia (Haeckel, 1862) ou Thecamoebiens (Auct.) (Rhizopoda Testacea). Masson and Co., Paris. 97-148 pp.

De Jonckheere, J. F. (2004). Molecular definition and the ubiquity of species in the genus *Naegleria*. *Protist*, 155(1), 89-103.

Del Coro Arizmendi, M. and de los Monteros, A. E. (1996). Avifauna de los bosques de cactáceas columnares del valle de Tehuacan, Puebla. *Acta Zoologica Mexicana (nueva serie)*, 67, 25-46.

De Vargas, C., Audic, S., Henry, N., Decelle, J., Mahe, F., Logares, R.,... and Carmichael, M. (2015). Eukaryotic plankton diversity in the sunlit ocean. *Science*, 348, 1261605.

Dimmitt, M. M. (2000). Biomes and communities of the Sonora Desert región. A natural history of the Sonora Desert, 3-18.

Domonell, A., Brabender, M., Nitsche, F., Bonkowski, M., Arndt, H. (2013). Community structure of cultivable protists in different grassland and forest soils of Thuringia. *Pedobiologia*, 56(1), 1-7.

Douglas, H. (2012). Deserts. Online Etymology Dictionary.

- Dumack, K., Koller, R., Weber, B., Bonkowski, M. (2016). Estimated abundance and diversity of heterotrophic protists in South African biocrusts. *South African Journal of Science*, 112(7-8), 1-5.
- Ehrenberg, C. G. (1838) Die infusionstierchen als Vollkommene Organismen, Von LeopoldVoss. Verlag, Leipzig. 547pp.
- Ekelund, F., and Rønn, R. (1994). Notes on protozoa in agricultural soil with emphasis on heterotrophic flagellates and naked amoebae and their ecology. *FEMS Microbiology Reviews*, 15(4), 321-353.
- Elliott, S. M., Roe, H. M., and Patterson, R. T. (2012). Testate amoebae as indicators of hydroseral change: an 8500 year record from Mer Bleue Bog, eastern Ontario, Canada. *Quaternary International*, 268, 128-144.
- Esteban, G. Clarke, K., Olmo, J. Finlay, B. (2006). Soil Protozoa-An intensive study of population dynamics and community structure in an upland grassland. *Applied Soil Ecology*, 33, 137-151.
- Fernández, L. D. (2015). Source–sink dynamics shapes the spatial distribution of soil protists in an arid shrubland of northern Chile. *Journal of Arid Environments*, 113, 121-125.
- Finlay, B. J., Black, H. I., Brown, S., Clarke, K. J., Esteban, G. F., Hindle, R. M., ... and Vickerman, K. (2000). Estimating the growth potential of the soil protozoan community. *Protist*, 151(1), 69-80.
- Finlay, B. J. (2002). Global dispersal of free-living microbial eukaryote species. *Science* 296,1061-1063.

Foissner W. (1987). Soil Protozoa: fundamental problems, ecological significance, adaptation, in ciliates and testaceans, bioindicators, and guide to the literature. *Progress in protistology*, 2, 69-212.

Foster, R. C., and Dormaar, J. F. (1991). Bacteria-grazing amoebae in situ in the rhizosphere. *Biology and fertility of soils*, 11(2), 83-87.

Garner, W., and Steinberger, Y. (1989). A proposed mechanism for the formation of 'fertile islands' in the desert ecosystem. *Journal of arid Environments*, 16(3), 257-262.

Geisen, S. B., Jörg, R., Michael, B. (2014). Soil water availability strongly alters the community composition of soil protists. *Pedobiologia*, 57(4), 205-213.

Geisen, S., Tveit, A. T., Clark, I. M., Richter, A., Svenning, M. M., Bonkowski, M., Ulrich, T. (2015). Metatranscriptomic census of active protists in soils. *The ISME journal*, 9(10), 2178-2190.

Gilbert, D., Amblard, C., Bourdier, G., Francez, A. J. (1998a). The microbial loop at the surface of a peatland: structure, function, and impact of nutrient input. *Microbial ecology*, 35(1), 83-93.

Gilbert, D., Amblard, C., Bourdier, G., Francez, A. J. (1998b). Short-term effect of nitrogen enrichment on the microbial communities of a peatland. In *Oceans, Rivers and Lakes: Energy and Substance Transfers at Interfaces*. Springer Netherlands. pp. 111-119.

Glime, J. M. (2007). Bryophyte Ecology. Volume 1. Physiological Ecology. Ebook sponsored by Michigan Technological University and the International Association of Bryologists, 2007; 17-26.

- Golemansky, V. G. (1991). Thecamoebiens mesopsammiques (Rhizopoda: Arcellinida, Geomida and Monothalamida) du sublittoral marin de l'Atlantique dans la région de Roscoff (France). *Archiv für Protistenkunde*, 140:35.
- Golemansky, V. G. (1992) Thécamoebiens interstitiels (Rhizopoda: Arcellinida, Gromida et Monothalamida) du supralittoral français de l'Atlantique dans la région du Roscoff (Baie de Morlaix). *Acta Zoologica*, 45:3-13.
- Gonzales-Ruiz, T., Rodriguez-Zaragoza, S., Ferrera-Cerrato, R. (2008). Fertility islands around *Prosopis laevigata* and *Pachycereus hollianus* in the drylands of Zapotitlan Salinas, México. *Journal of Arid Environments*, 72, 1202-1212.
- Grell, K. G., 1953 protozoology. Springer-Verlag, Berlin.
- Griffiths, B. S., M. Bonkowski, G. Dobson, and S. Caul (1999) Changes in soil microbial community structure in the presence of microbial-feeding nematodes and protozoa. *Pedobiologia*, 43:297-304.
- Grossmann, L., Jensen, M., Heider, D., Jost, S., Glucksman, E., Hartikainen, H., Mahamdallie, S.S. Gardner, M., Hoffmann, D., Bass, D., Boening, J. (2016). Protistan community analysis: key finding of a large-scale molecular sampling. *The ISME Journal*. 10, 2269-2279.
- Grupa, V. V., and Roper, M. M. (1996). The importance of soil protozoa for the mineralisation of nitrogen in southern Australian soils. *Proceeding of Australia and New Zealand National Soil Conference*, 3, 91-92.
- Gutierrez J. R. and Whitford W. G. (1987). Chihuahua desert annuals: importance of water and nitrogen. *Ecology*. 68, 2032_2045.

Heger, T. J., Mitchell, E. A. D., Leander, B. S. (2013). Holarctic phylogeography of the testate amoeba *Hyalosphenia papilio* (Amoebozoa: Arcellinida) reveals extensive genetic diversity explained more by environment than dispersal limitation. *Molecular ecology*, 22(20), 5172-5184.

Hernandez, H. M. (2006). La vida en los desiertos mexicanos. Fondo de cultura economica. 0-200 p

Hernández, H. M. and Gómez-Hinostrosa, C. (2005). Cactus diversity and endemism in the Chihuahua Desert Region. Biodiversity, ecosystems and conservation in North Mexico, JL Carton, G. Ceballos and R. Felger (eds.). Oxford University Press, New York, 264-275.

Hoogenraad H. R., de Groot A. A. (1940). Zoetwatterrhizopoden en heliozoën, in: A. W. Sijthoff (Ed.), Fauna von Nederland.

Jentschke, G., Bonkowski, M., Godbold, D. L. Scheu, S. (1995). Soil protozoa and forest tree growth: non-nutritional effects and interaction with mycorrhizae. *Biology and Fertility of Soils*, 20(4), 263-269.

Jung, W. (1942). Illustrierte Thekamöben-Bestimmungstabellen. I. Die Systematik der Nebelinen. *Archiv für Protistenkunde* 95, 357-390.

Kuikman, P. J., Jansen, A. G., Van Veen, J. A., Zehnder, A. J. B. (1990). Protozoan predation and the turnover of soil organic carbon and nitrogen in the presence of plants. *Biology and fertility of soils*, 10(1), 22-28.

Kuikman, P. J., and Van Veen, J. A. (1989). The impact of protozoa on the availability of bacterial nitrogen to plants. *Biology and Fertility of Soils*, 8(1), 13-18.

- Lamentowicz, Ł., Gąbka, M., Rusińska, A., Sobczyński, T., Owsiany, P. M., Lamentowicz, M. (2011). Testate Amoeba (Arcellinida, Euglyphida) Ecology along a PoorRich Gradient in Fens of Western Poland. *International Review of Hydrobiology*, 96(4), 356-380.
- Leclerc, L. (1816). Note sur la Difflogie, nouveau genre de Polype amorph. *Memoris Museum of History Natural*. 2,474-478.
- Leidy, J. (1879). Freshwater Rhizopods of North America United States Geological Survey of the Territories, Washington.
- Levine, N. D., Corliss, J. O., Cox, F. E. G., Deroux, G., Grain, J., Honigberg, B. M., ... and Merinfeld, E. G. (1980). A newly revised classification of the protozoa. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 27(1), 37-58.
- López-Galindo, F., Muñoz, D., Hernández, M., Soler, A., Castillo, M. Hernández, I. 2003. Análisis integral de la toposecuencia y su influencia en la distribución de la vegetación y la degradación del suelo en la sub cuenca de Zapotitlán Salinas, Puebla. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana* tomo LVI. 1,19-41.
- Mayzlish-Gati, E., and Steinberger, Y. (2007). Ameba community dynamics and diversity in a desert ecosystem. *Biology and fertility of soils*, 43(3), 357-366.
- Mazei, Y. A., and Bubnova, O. A. (2009). Testate amoebae from Sphagnum biotopes of forested mires. *Zoologicheskii Zhurnal*, 88, 387-397.
- Meisterfeld, R. (2002a). Testate amoebae with filopodia, in: J. J. Lee, et al. (Eds.), *The illustrated guide to the protozoa*, Society of protozoologists, Lawrence, Kansas, USA. pp. 1054-1084.

- Meisterfeld, R. (2002b). Order Arcellinida Kent, 1880, in: J. J. Lee, et al. (Eds.), The illustrated guide to the protozoa, Society of protozoologists, Lawrence, Kansas, USA. pp. 827-860.
- Mitchell, E. A., Gilbert, D., Buttler, A., Amblard, C., Grosvernier, P., Gobat, J. M. (2003). Structure of microbial communities in Sphagnum peatland and effect of atmospheric carbón dioxide enrichment. *Microbial ecology*, 46, 187-199.
- Mitchell, E. A. D., Charman, D. J., Warner, B. G. (2008). Testate amoebae analysis in ecological and paleoecological studies of wetlands: past, present and future. *Biodiversity and Conservation*, 17(9), 2115-2137.
- Moreno-Calles, A. I. y Casas, A. (2008). Conservacion de biodiversidad y sustentabilidad en sistemas agroforestales de zonas áridas del valle de Tehuacán, México. *Zonas Áridas*, 12, 13-35.
- Mueller, T.G., Pusuluri, N.B., Mathias, K.K. Cornelius, P.L., Barnhisel, R.I. Shearer, S.A. 2004. Map Quality for Ordinary Kriging and Inverse Distance Weighted Interpolation. *Soil Science Society of America Journal*. 68(6):2042-2047.
- Nguyen-Viet, H., Bernard, N., Mitchell, E. A. D., Badot, P. M., Gilbert, D. (2008). Effect of lead pollution on testate amoebae communities living in Sphagnum fallax: an experimental study. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 69:130-138.
- Nikolaev, S. I., Mitchell, E. A., Petrov, N. B., Berney, C., Fahrni, J., and Pawlowski, J. (2005). The testate lobose amoebae (order Arcellinida Kent, 1880) finally find their home within Amoebozoa. *Protist*, 156(2), 191-202.

- Noy-Meyer, I. (1973). Desert ecosystem: environment and producers. *Annual review of ecology and systematics*, 4, 25-51.
- Ortega-Gutiérrez, F. (1978). Estratigrafía del Complejo Acatlán en la Mixteca baja, estados de Puebla y Oaxaca. *Boletín del Instituto de Geología*, 2, 2.
- Page, F. C. (1988). *A new key to freshwater and soil gymnamoebae: with instructions for culture*. Freshwater Biological Association.
- Page, F. C. and Siemensma, F.J. (1991). *Nackte rhizopoda and Heliozea*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. 297p.
- Pánek, T., and Čepička, I. (2012). Diversity of Heterolobosea. In *Genetic diversity in microorganisms*. InTech.
- Penard, E. (1890). Etudes sur les Rhizopodes d'eau douce. *Memoires de la Société de physique et d'histoire naturelle de Geneve* 31, 1-230.
- Penard, E. (1902). *Faune rhizopodique du bassin du Léman* Kündig, Genève.
- Pérez-Juárez, H., Serrano-Vázquez, A., Kosakyan, A., Mitchell, E. A., Aguilar, V. M. R., Lahr, D. J., Hernandez-Moreno, M. M., Macias-Cuellar, H., Eguiarte, L. E., Lara, E. (2017). *Quadrullella texcalense* sp. nov. from a Mexican desert: An unexpected new environment for hyalospheniid testate amoebae. *European Journal of Protistology*, 61, 253-264.
- Pérez-Juárez, H., Serrano-Vázquez, A., Lara, E., Ximénez, C., Godínez, H., Rodríguez-Zaragoza, S., Eguiarte, L. E., Hernández, M. M., Fernández, L. D., Rojas-Velázquez, L., Morán, P., Castillo, M, Rivera, V. M. (2018). Population dynamics of amoeboid protists in

a tropical desert: seasonal changes and effects of vegetation and soil conditions. *Acta Protozoologica* ,57-73.

Perroni-Ventura, Y., Montaña, C. García-Oliva, F. (2006). Relationship between soil nutrient availability and plant species richness in a tropical semi-arid environment. *Journal of Vegetation Science*. 17, 719-728.

Pianka, E. R. (1970). On r-and K-selection. *The American Naturalist*, 104(940), 592-597.

Pankhurst, C., Doube, B. M., Gupta, V. V. S. R. (1997). *Biological indicators of soil health*. Wallingford, UK: Cab International.

Paul, E. A., Clark, F. E. (1989). *Soil Microbiology and Biochemistry*, Academic Press, San Diego.

Rakhleeva, A. A. (2002). Testaceans (Testacea, Protozoa) of Taiga Soils in Western Siberia (Surgut Polesye). *Biology Bulletin of the Russian Academy of Sciences*, 29(6), 618-627.

Rojas-Martinez, A. E. and Valiente-Banuet, A. (1996). Análisis comparativo de la quiropterofauna del valle de Tehuacan-Cuicactlán, Puebla-Oaxaca.

Rodriguez-Zaragoza, S., Garcia S. (1997). Species richness and abundance of naked amebae in the rhizoplane of the desert plant *Escontria chiotilla* (cactaceae). *Journal of Microbiology*, 44 (2), 122-126.

Rodriguez-Zaragoza, S., Mayzlish, E., Steinberger, Y. (2005). Vertical distribution of the free-living amoeba population in soil under desert shrubs in the Negev desert, Israel. *Applied and environmental microbiology*, 71(4), 2053-2060.

Robinson, B. S., Bamforth, S. S., Dobson, P. J. (2002). Density and diversity of protozoa in some arid Australian soils. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 49(6), 449-453.

Saedeleer, H. (1934). Beitrag zur Kenntnis der Rhizopoden: morphologische und systematische Untersuchungen und ein Klassifikationsversuch. *Musée royal d'histoire naturelle de Belgique* 60:1-128.

Schönborn, W. (1992). Adaptive polymorphism in soil-inhabiting testate amoebae (Rhizopoda): Its importance for delimitation and evolution of asexual species. *Archiv für Protistenkunde*, 142:139-155.

Schröter, D., Wolters, V., De Ruiter, P. C. (2003). C and N mineralisation in the decomposer food webs of a European forest transect. *Oikos*, 102, 294-308.

Schuster, F. L. (2002). Cultivation of pathogenic and opportunistic free-living amoebae. *Clinic Microbiology Reviews*. 15, 342-354.

Sepey, C. C., Fournier, B., Szelecz, I., Singer, D., Mitchell, E. A., Lara, E. (2016). Response of forest soil euglyphid testate amoebae (Rhizaria: Cercozoa) to pig cadavers assessed by high-throughput sequencing. *International Journal of Legal Medicine*, 130, 551-562.

Serrano-Vázquez, A., Rodríguez-Zaragoza, S., Pérez-Juárez, H., Bazán-Cuenca, J., Rivera-Aguilar, V. M. Durán-Díaz, A. (2013). Physical and chemical variations of the soil under two desert shrubs in Tehuacan, Mexico. *Journal of Soil Science*.

Shreve, F. and Wiggins, I. L. (1964). Vegetation and flora of the Sonoran desert. Vol 591. Stanford University Press.

Siddiqui, R., and Khan, N. A. (2012). Biology and pathogenesis of *Acanthamoeba*. *Parasites & vectors*, 5 (1), 6.

- Singh, J. S., Raghubanshi, A. S., Singh, R. S., Srivastava, S. C., (1989). Microbial biomass act as a source of plant nutrients in dry tropical forest and savanna. *Nature*, 338, 499-500.
- Smirnov, A. V., and Brown, S. (2004). Guide to the methods of study and identification of soil gymnamoebae. *Protistology*, 3(3), 148-190.
- Smith, H. G., Wilkinson D. M. (2007). Not all free-living microorganisms have Cosmopolitan distributions – the case of *Nebela* (Apodera) vas Certes (Protozoa: Amoebozoa: Arcellinida). *Journal of Biogeography*, 34, 1822-1831.
- Steward, J. W. B., and Tiessen, H. (1987). Dynamics of soil organic phosphorus. *Biogeochemistry*, 4, 41-60.
- Sunagawa, S., Coelho, L. P., Chaffron, S., Kultima, J. R., Labadie, K., Salazar, G., Djahanschiri, B., Zeller, G., Mende, D. R., Alberti, A., Cornejo-Castillo, M., Costea, P. I., Cruaud, C., d'Ovidio, F., Engelen, S., Ferrera, I., Gasol, J., et. al. (2015). Structure and function of the global ocean microbiome. *Science*, 348(6237), 1261359.
- Tice, A. K., Silberman, J. D., Walthall, A. C., Le., K. N. D., Spiegel, F. W., Brown, M. W. (2016). Sorodiplophrys stercorea: another novel lineage of sorocarpic multicellularity. *The Journal of Eukaryot Microbiology*, 63, 623-8.
- Todorov, M. (2002). Morphology, biometry and ecology of *Nebela bigibbosa* Penard, 1890 (Protozoa: Rhizopoda). *Acta protozoologica*, 41(3), 237-244.
- Tunesi, S., Poggi, V., Gessa, C. (1999). Phosphate adsorption and precipitation in calcareous soil: The role of calcium ions in soilion and carbonate minerals. *Nutrients Cycle Agroecosystems*, 53, 219-227.

Turner, T. E., and Swindles, G. T. (2012). Ecology of testate amoebae in moorland with a complex fire history: implications for ecosystem monitoring and sustainable land management. *Protist*, 163(6), 844-855.

Valiente-Banuet, A., Casa, A., Alcántara, A., Dávila, P., Flores-Hernández, N., Arizmendi, M.C., Villaseñor, J.L., Ortega, J. (2000). La vegetación del valle de Tehuacán-- Cuicatlán. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 67, 24-27.

Varga, L. (1936). Protozoa from some Sahara soils and high plateaus of Algeria. *Annales of Institute Pasteur*, 56, 101-123.

Villaseñor, J., Dávila, P. and Chiang, F. (1990). Fitogeografía del valle de Tehuacán-Cuicatlán. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 50, 135-149.

Visvesvara, G. S., Schuster, F. L., and Martinez, A. J. (1993). *Balamuthia mandrillaris*, NG, N. Sp., agent of amebic meningoencephalitis in humans and other animals. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 40(4), 504-514.

Wailles, G. H. (1912). Freshwater Rhizopoda and Heliozoa from the States of New York, New Jersey, and Georgia, USA; with supplemental note on Seychelles species. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 32, 201-218.

Wallich, G. C. (1864), On the extent, and some of the principal causes, of structural variation among the Diffflugian Rhizopods. *Annals and Magazine of Natural History* 13, 215-245.

Wanner, M. (1999). A review on the variability of testate amoebae: Methodological approaches, environmental influences and taxonomical implications. *Acta Protozoologica*, 38, 15-29.

Wanner, M., Meisterfeld, R. (1994). Effects of some environmental factors on the Shell morphology of testate amoebae (Rhizopoda, Protozoa). *European Journal of Protistology*, 30, 191-195.

Wanner, M., Esser, S., Meisterfeld, R. (1994). Effects of light, temperature, fertilizers and pesticides on growth of the common freshwater and soil species *Cyclopyxis kahli* (Rhizopoda, Testacealobosia), interactions and adaptations. *Limnologica*, 24, 239-250.

Whitford, W.G., Freckman, D.W., Parker, L.W., Santos, P.F. and Steinberger, Y. (1983). The contributions of soil fauna to nutrient cycles in desert systems. In: Desert Systems, pp. 49-59, Proc. VIII Internat. Colloq. Soil Zoology. (Eds. Ph. Lebrun, H.M. Andre, A. Medts, C. Gregoire-Wibo and G. Wauthy. Dieu-Brichart Publ., Louvain-la-Neuve, Belgium.

Whitford, W. G. (2002). *Ecology of desert systems*. Academic Press.

Young, I. M., and Ritz, K. (2000). Tillage, habitat space and function of soil microbes. *Soil and Tillage Research*, 53(3), 201-213.

Yubuki, N., Edgcomb, V. P., Bernhard, J. M., Leander, B. S. (2009). Ultrastructure and molecular phylogeny of *Calkinsia aureus*: cellular identity of a novel clade of deep-sea euglenozoans with epibiotic bacteria. *BMC microbiology*, 9, 16.

Zwart, K. B., S. L. G. E. Burgers, J. Bloem, L. A. Bouwman, L. Brussaard, G. Lebbink, W. A. M. Didden, J. C. Y. Marinissen, M. J. Vreeken-Buijs, P. C. De Ruiter. (1994). Population dynamics in the belowground food webs in two different agricultural systems. *Agroforests Ecosystems Environments*, 51, 187-198.