



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES IZTACALA**



**“Efecto del combustóleo sobre la comunidad de
ciliados y flagelados de un suelo de cultivo en
Jalacingo, Ver.”**



T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
B I Ó L O G A
P R E S E N T A:
LAURA MONDRAGÓN CAMARILLO

DIRECTOR DE TESIS:
DR. SALVADOR RODRÍGUEZ ZARAGOZA

Los Reyes Iztacala, Edo. de México. Noviembre, 2007



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIAS

A mis padres,

Daniel y Margarita con amor y respeto por su apoyo incondicional, por la confianza y sobre todo por su cariño. A quienes les tengo admiración y les agradezco que estén a mi lado.

A mis hermanos,

Toño, Daniel, Belem, Adrián y Servando los quiero mucho, por los buenos momentos que hemos pasado y porque siempre se han interesado por las cosas que hago.

A mi abuelita,

Por que me ha ofrecido su apoyo incondicional y cariño a lo largo de mi vida.

A mis tíos,

Guadalupe, Ma. de Jesús, Ignacio y José por su cariño, apoyo incondicional y por que siempre cuento con ustedes.

A toda "la banda micro" que aunque es micro es muy grande, por haberme abierto las puertas del laboratorio y por hacerlo sentir como un verdadero hogar (Tere, Sandra, Candis, Horacio, Miguel, Alonso, Luigui, Joel, Elda y los profesores Salvador, Ramón y Víctor).

A mis amigos,

A todas aquellas personas que me ofrecieron su amistad durante las diferentes etapas de esta carrera, gracias por compartir momentos inolvidables juntos, por hacer más divertidas las clases, las practicas de campo, el laboratorio, y todo el tiempo que pasamos juntos en la escuela.

Por todas las experiencias que vivimos, en especial la de inscribir el equipo de “fucho” donde nos dimos cuenta qué es en realidad trabajar en equipo tanto las jugadoras como la “porra”, y aunque la mayoría no había pateado un balón en su vida siempre mostramos interés, dedicación y esfuerzo, con lo cual logramos y probamos por primera vez las mieles del éxito con el campeonato (jjjjAcantaster Campeón!!!! y dos veces) algo que no pudimos probar en el transcurso de la carrera. Gracias por esa etapa tan divertida y las risas incontables.

Adriana, Aglaé, Angeles, Argelia, Candis, Deisy, Ibette, Javier, Jorge, Luigui, Miguel (lucho), Reina, Sandra, Sergio (idolo juvenil de estas épocas), Sonia (la desmayadora), Tanya (bebetanzos), Tere, Viridiana, Yazmin (yahomin).

Al equipo de fútbol rápido femenino por permitirme integrarme, por darme la oportunidad de conocer más gente y por compartir tantos momentos chidos durante los partidos y en los campamentos de la muerte.

*.....dedicado a esos pequeños seres que nadie ve, pero que dominan al mundo
(sí, son los microorganismos)*

AGRADECIMIENTOS

Un especial agradecimiento al profesor Salvador Rodríguez Zaragoza por compartir conmigo lo más valioso: su amistad, confianza y conocimiento, por todo el apoyo y dedicación para la realización de este trabajo. Espero no haberlo desesperado durante los interrogatorios de *¿CUÁL ES LA PREGUNTA?*.

Al Dr. Ronal Ferrera Cerrato, por darme la oportunidad de colaborar en este proyecto.

A mis sinodales

Dr. Víctor Manuel Rivera Aguilar

M. en C. Daniel Muñoz Iniestra

M. en C. Francisco López Galindo

M. en C. María Guadalupe Oliva Martínez

Por sus oportunas observaciones que me sirvieron para mejorar este trabajo.

Tere, gracias por brindarme tu amistad y siempre mostrar interés en todo lo que hago, por la ayuda que me proporcionaste en este trabajo, por tus consejos para que me apurara a terminar la carrera y la tesis con esa franqueza tan sutil que te caracteriza.

Sandra, gracias por apoyarme en el desarrollo de este trabajo, por interesarte en los bichitos que observaba, por ser tan franca a tu muy especial manera, por todas las recomendaciones de “cómo se debe vivir una vida”, por hacerme reír sin ser mi bufón particular y sobre todo por tu amistad.

*En el principio sólo había agua, y después hubo contaminación, ciliados,
flagelados.....*

ÍNDICE

Resumen	
Introducción	1
Antecedentes	5
Justificación	6
Hipótesis	6
Objetivos	6
Materiales y métodos	7
• Zona de estudio	7
• Toma de muestras	8
Resultados	11
• Primer muestreo	11
○ Frecuencia de especies	14
○ Grupos tróficos	17
• Segundo muestreo	18
○ Frecuencia de especies	21
○ Grupos tróficos	24
Discusión	28
Conclusión	33
Bibliografía	34
Anexos	39

RESUMEN

La contaminación del suelo por hidrocarburos es un problema común debido a derrames accidentales o intencionales. La mayoría de estos compuestos orgánicos son tóxicos para los microorganismos. La tolerancia microbiana a la presencia de hidrocarburos induce la selectividad y la disminución de la diversidad. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del combustóleo sobre la riqueza de especies de ciliados y flagelados de un suelo de cultivo con combustóleo. Se realizó un muestreo compuesto de 0 a 15 cm de profundidad del suelo no contaminado y en la pluma de contaminación. Un año después se realizó un segundo muestreo. De estas muestras se trabajaron 30 sub-muestras de 10 g en cada suelo para calcular el volumen mínimo de suelo y poder comparar ambas comunidades de ciliados y flagelados. Con este método se obtuvo el 62% de las especies que teóricamente están presentes en la zona en el primer año. Los géneros *Loxodes*, *Ochromonas* y *Cercomonas*, tuvieron la mayor frecuencia de aparición. La riqueza de especies fue mayor en el suelo contaminado que en el suelo no contaminado. La mayoría de especies pertenece al grupo bacteriotrófico. En la curva de especies en el suelo no contaminado se distinguieron las especies raras de las comunes y dominantes y en el suelo contaminado solo hubo raras y comunes. En el segundo año obtuvimos el 70.6 % de las especies que están teóricamente. Los géneros *Oikomonas*, *Ochromonas* y *Rynchobodo* fueron los más frecuentemente. La riqueza de especies fue mayor en este muestreo y fue ligeramente mayor en el suelo contaminado que en el no contaminado. Como en el primer año, la mayoría de especies perteneció al grupo bacteriotrófico, pero encontramos más grupos tróficos. También como en el primer año, la curva de especies en el suelo no contaminado se distinguieron las especies raras de las comunes y dominantes y en el suelo contaminado solo hubo raras y comunes. Estos resultados sugieren que la contaminación puede modificar la estructura de la comunidad eliminando diferencialmente la abundancia de especies y simplifica la estructura trófica de la comunidad.

INTRODUCCIÓN

El suelo es un sistema complejo y dinámico, de este recurso depende la sobrevivencia de todos los seres que habitamos en la superficie terrestre (Narro, 1994). Este consiste de minerales, materia orgánica en varios estados de descomposición, agua y una atmósfera gaseosa. Es el sustento de donde las plantas obtienen soporte mecánico, muchos de sus nutrientes, y sirve de hábitat para una gran diversidad de microorganismos (Killham, 1994).

El suelo es muy complejo en su estructura y función debido a la forma en que se acoplan los componentes biológicos y minerales, los que en conjunto dan por resultado las diferentes regiones funcionales. La heterogeneidad y la estratificación del suelo hacen aún más difícil el estudio de los organismos que lo habitan y, por lo tanto, el conocimiento de los procesos biológicos que se llevan a cabo en él es limitado (Rodríguez-Zaragoza, 2005).

Los organismos del suelo se agrupan en mesofauna (pequeños invertebrados, tales como artrópodos, anélidos, nemátodos y moluscos), microfauna (protozoos, rotíferos y algunos nemátodos) y microflora (bacterias, hongos y algas) (Porta *et al.*, 1999). El papel ecológico de los microorganismos es muy importante, al intervenir en una gran cantidad de procesos edáficos, como es la degradación y síntesis de compuestos orgánicos (Porta *et al.* 1999). Además, la actividad microbiana es la fuerza motriz del reciclaje de nutrientes que ocurre en el suelo. La mayor parte del flujo energético y las transformaciones que sufren los diferentes nutrientes en la mayoría de los ecosistemas, proviene de la actividad microbiana (http://www.microbiologia.org.mx/microbiosenlinea/CAPITULO_02/). Las funciones de los microorganismos del suelo se ven reforzadas por sus interacciones y asociaciones en las redes tróficas. Donde un grupo de organismos utiliza los productos residuales del eslabón anterior, lo que hace

que dichas redes aprovechen mejor la energía contenida en la biomasa (Porta *et al.*, 1999).

Algunos microorganismos pueden degradar compuestos orgánicos y esta capacidad se utiliza en la degradación de contaminantes (http://www.microbiologia.org.mx/microbiosenlinea/CAPITULO_02/).

Otros organismos del suelo, como los gusanos enquitreidos, los colémbolos y microartrópodos son muy importantes para mantener la estructura del suelo, ya que facilitan la respiración microbiana, pero su impacto en el reciclaje de nutrientes es mínimo comparado con el de la microbiota. Estos organismos, junto con las lombrices de tierra, son los verdaderos ingenieros del sistema edáfico. Así los protozoos representan el punto de unión entre la microflora y la mesofauna del suelo (Rodríguez-Zaragoza, 2005) y por ello toma relevancia su papel como controladores de las poblaciones de microorganismos, porque de esta forma regulan los nutrientes del suelo, y participan indirectamente en la fertilización del mismo (Paul *et al.*, 1989).

Los protozoos son organismos eucariontes unicelulares, y los que habitan en el suelo viven en las películas de agua que están entre los poros (Porta *et al.*, 1999). Por su morfología general, se reconocen 5 grupos: ciliados, flagelados, amebas desnudas, amebas testadas y esporozoarios; esta división general no toma en cuenta la función que cumplen dichos grupos en el suelo (Rodríguez-Zaragoza, 2005). Su tamaño puede oscilar desde 2 μm (nanoflagelados) hasta más de 600 μm (algunas especies de *Sarcodina*). Los protozoos de vida libre encontrados en los suelos cultivables generalmente incluyen flagelados, amebas desnudas y ciliados. Los protozoos heterotróficos se encuentran, prácticamente, en todos los ecosistemas, esto se atribuye a su amplia capacidad de adaptación a las diferentes condiciones ambientales. No han sido descritos límites para la vida de los protozoos en relación con la temperatura, pH y presión osmótica del suelo, únicamente se delinea una amplia tolerancia a estas condiciones (Vargas,

1990). La mayor parte de los protozoos del suelo poseen la habilidad de formar quistes (estructuras de resistencia) para tolerar las condiciones de estrés hídrico (Vargas, 1990).

Sandon (1927) consideró la dieta de los protozoos como el factor ecológico principal que determina la composición y la distribución de los protozoos del suelo. Los protozoos muestran alguna especialización en sus hábitos alimenticios y son selectivos en el tipo de alimento que consumen (Cowling, 1994). Pratt y Cairns (1985) clasificaron los hábitos alimenticios de protozoos de agua dulce en seis grupos: fotosintéticos autótrofos, bacterívoros detritívoros, saprófitos, algívoros y omnívoros no selectivos. Todos estos grupos pueden encontrarse en el suelo. Esta clasificación podría adaptarse adicionando el grupo micófago (Coûteaux y Darbyshire, 1998). Un largo número de protozoos son bacteriotróficos, otros se pueden alimentar de bacterias y hongos. Sin embargo hay una gran variedad de microorganismos que son frecuentemente ingeridos. Por ejemplo, muchos ciliados del suelo se alimentan de bacterias, pero aproximadamente la mitad de las especies de presas conocidas son otros ciliados, flagelados o amebas. Otros estudios muestran que el crecimiento de los protozoos depende de su dieta y del tamaño de la misma. Los protozoos cambian sus preferencias alimenticias en respuesta a los cambios en las condiciones físicas del suelo y a la abundancia de sus presas (Cowling, 1994). Los protozoos son conocidos por ser selectivos en las especies de bacterias que ingieren y esto ha sido mostrado en el caso de varias especies de flagelados, ciliados, amebas y en ensamblajes naturales de protozoos marinos. Esta selección se basa en el tamaño de la célula (usualmente las células más largas son consumidas), la localización (si esta adherida o en suspensión), si son células solitarias o en agregados y además en la composición química de la célula, tales como el contenido de pigmentos o toxinas (Griffiths, 1994).

Los suelos muestran alteraciones en sus propiedades químicas, físicas y biológicas causadas por contaminantes, entre los que están los hidrocarburos

derivados del petróleo (Sangabriel *et al.*, 2006). La mayoría de estos compuestos orgánicos pueden ser tóxicos para los microorganismos; como resultado, hay una pérdida en la actividad bioquímica esencial para la función del suelo. La tolerancia microbiana a la presencia de hidrocarburos induce la selectividad y la disminución de la diversidad. Los microorganismos, tolerantes a este ambiente de estrés, utilizan mecanismos enzimáticos y fisiológicos especializados (Rivera-Cruz *et al.*, 2002). Generalmente los microorganismos que tienen la capacidad de degradar los compuestos de los contaminantes son las bacterias, sin embargo se ha observado que algunos protozoos toleran la toxicidad de estos compuestos y al ser controladores de poblaciones bacterianas, aceleran la degradación de estos contaminantes.

En México, los derrames de hidrocarburos en los cuerpos de agua y en el suelo son muy frecuentes; al mismo tiempo, el manejo inadecuado de los tanques de almacenamiento y de los accidentes en los vehículos que transportan hidrocarburos produciendo derrames que afectan negativamente las propiedades del suelo, lo que conlleva a que los cultivos no logren establecerse por la presencia del combustible. También, los microorganismos y en particular los protozoos del suelo pueden verse afectados por el contaminante. Por ello, el objetivo de este trabajo es correlacionar si un evento de contaminación con combustóleo en el municipio de Jalacingo Veracruz¹, disminuye la riqueza de especies de ciliados y flagelados en el suelo de una parcela utilizada para el cultivo.

¹ La PROFEPA realizó pruebas organolépticas, cuantificación y detección en cromatografía de gases con detector de ionización de flama. Detectó presencia de hidrocarburos totales superiores a los límites establecidos.

ANTECEDENTES

Existen diversos trabajos enfocados en protozoos de suelos y de aguas residuales como el de Kuperman *et al.*, (1998) donde se estudió un área contaminada con varias concentraciones de metales pesados. Los resultados muestran la cuantificación de la biomasa microbiana, la abundancia de poblaciones de protozoos y nemátodos del suelo. Utilizando técnicas geoestadísticas evaluaron la correlación de parámetros bióticos y abióticos y determinaron la distribución espacial de estos parámetros en el suelo, los cuales mostraron una correlación negativa entre la abundancia de nemátodos fungívoros y la biomasa fúngica, la abundancia de nemátodos bacterívoros y la biomasa bacteriana, y entre el número de protozoos y la biomasa microbiana en las porciones del sitio de estudio menos contaminados. Por otro lado, Zarda *et al.*, (1998) examinaron comunidades de bacterias y protozoos en tres puntos diferentes de un acuífero situado en una refinería, los análisis revelaron que las protobacterias de la subdivisión N (que incluyen muchas bacterias sulfato reductoras), eran el grupo predominante mientras que los nanoflagelados fueron el componente principal de la comunidad de protozoos. La concurrencia de bacterias y protozoos en asociación con altas concentraciones de hidrocarburos monoaromáticos, sugieren la implicación de interacciones tróficas en el proceso de biodegradación. Asimismo, Holubar *et al.*, (2000) trabajaron con protozoos, analizando la actividad de éstos en aguas residuales contaminadas con petróleo crudo y diferentes concentraciones salinas. Ningún tipo de protozoos sobrevivió a las aguas residuales salinas, mientras que con petróleo una de las dos comunidades cultivadas se desarrolló más que la otra. Por otra parte, Mattison y Haramaya (2000) establecieron un modelo de una cadena trófica para investigar la influencia del ramoneo de flagelados en bacterias (en un cultivo) que degradan tolueno. La tasa de tolueno consumido por *Pseudomonas sp.* sepa PS+ fue significativamente más alta en presencia del flagelado bacterívoro *Heteromita globosa*. Las conclusiones sugieren un papel potencial importante de los flagelados en los procesos de biorremediación. Por

último, Del Paño *et al.*, (2005) revisaron y analizaron la concentración de hidrocarburos en un estudio de microcosmos, donde la estructura de la comunidad en los suelos contaminados fue diferente de la del control. Los cambios en las estructura de la comunidad de los suelos dependieron de la cantidad del contaminante.

JUSTIFICACIÓN

Los hidrocarburos afectan las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, lo que hace que la productividad agrícola sea nula. Con esta contaminación hay un proceso de selección sobre los microorganismos donde solo estarán las especies resistentes, entre ellas algunas especies de protozoos, que son los que conectan el flujo de energía entre los grupos de microorganismos y participan en la mineralización de compuestos orgánicos incluyendo los hidrocarburos. Por ello, es necesario determinar cuáles son las especies resistentes para entender los procesos en los que participan, complementar y mejorar los resultados en la remediación de suelos contaminados por hidrocarburos.

HIPÓTESIS

- La riqueza de especies de ciliados y flagelados en un suelo de cultivo contaminado con combustóleo, será menor, que en el suelo de cultivo sin contaminar.

OBJETIVO GENERAL

- Evaluar el efecto del combustóleo sobre la riqueza de especies de ciliados y flagelados de un suelo de cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Zona de estudio

El municipio de Jalacingo está ubicado en la zona centro del estado de Veracruz, en las Coordenadas 19°48' N y 97°18' W, a una altitud de 1944 msnm (Fig.1). Limita al Norte con el municipio de Tlapacoyan; al Este con Atzalan y Altotonga; al Sur con Perote; al Oeste con el Estado de Puebla. Su distancia aproximada al Noroeste de la capital del estado es de 65 km por carretera. El clima del municipio es templado-húmedo con una temperatura promedio de 13.9 °C; la precipitación promedio anual es de 2,029.5 mm. El suelo es de tipo andosol, feozem y luvisol, el primero se ha formado a partir de ceniza volcánica, el segundo tiene una capa superficial rica en materia orgánica, es oscura y el tercero se caracteriza por su acumulación de arcilla en el subsuelo. El mayor porcentaje de esta superficie se utiliza en agricultura y ganadería (<http://www.emexico.gob.mx/work/EMM04/Veracruz/index.html>). La zona contaminada esta situada en el Ejido Orilla del Monte, en la parcela fríjol colorado propiedad del Sr. Antonio Pérez Rivas, con las coordenadas 19° 35' 16" latitud y 097° 21' 06" longitud; una altitud de 2410 msnm en la carretera pavimentada de los Húmeros a Perote, que colinda al Norte 98.64 m con la carretera pavimentada de los Húmeros, al Sureste 229.06 m con parcela 871, al Suroeste 97.15 m con el ejido Fríjol colorado, al noroeste 230 m con parcela 858. La zona se contamina hace aproximadamente 9 años con algún tipo de hidrocarburos, posteriormente 3 años después se contamina con combustóleo.

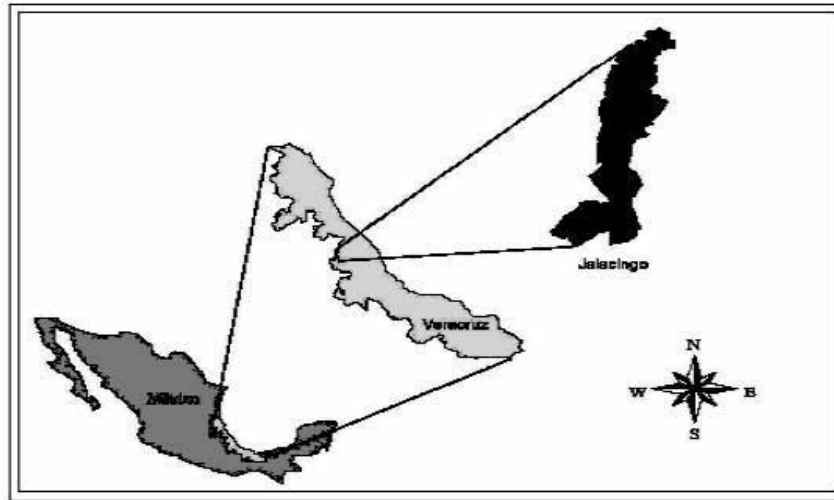


Fig. 1. Zona de estudio

Toma de muestras

Los muestreos se hicieron en Octubre de 2005 y Octubre de 2006. Se realizó un muestreo en zig-zag para lo cual se tomaron muestras de 6 puntos del sitio contaminado y 6 del no contaminado (Fig. 2), con una profundidad de 0 a 15 cm de la superficie, estas muestras se mezclaron y homogenizaron para así obtener una muestra compuesta de cada lugar, se depositaron en bolsas de polietileno autosellables, en las que se transportaron al laboratorio, donde se almacenaron a 4 °C (Margesin, 2005).

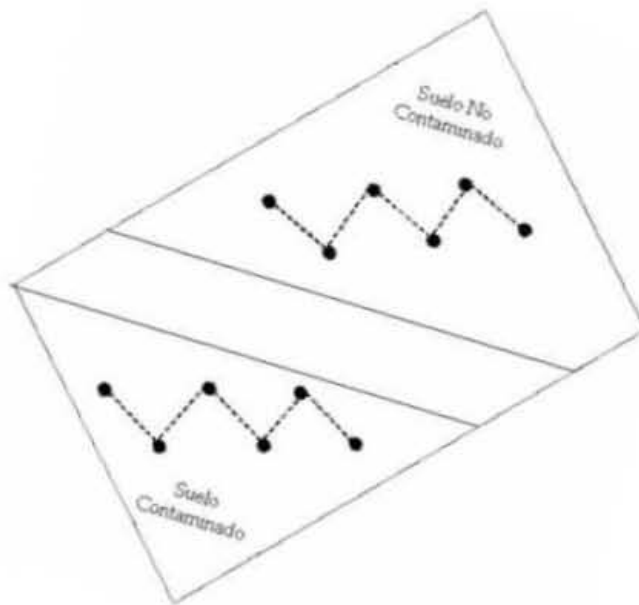


Fig. 2. Distribución de las muestras en la parcela

Extracto de suelo

Se preparó con 200 g de suelo libre de combustóleo (para que los organismos obtuvieran las condiciones normales para su crecimiento) al que se agregó y se homogenizó con 1 L de agua destilada, se colocó en baño María a 60°C durante 2 hrs, se filtró a una temperatura aproximada de 40°, posteriormente se esterilizó y refrigeró para su posterior uso.

Cultivo

En 10 cajas Petri por muestra (suelo contaminado y suelo sin contaminar) se colocaron 10 g de suelo, los cuales se humedecieron con extracto de suelo hasta llegar al 40% de su capacidad de campo, las muestras se incubaron a 27°C durante 3 días para que crecieran los organismos, pasado este tiempo se agregaron de 5 a 10 ml de extracto de suelo, con una servilleta de papel se filtró ejerciendo presión con un dedo para obtener a los ciliados y flagelados (método del suelo húmedo de Bamforth, 1992). Las muestras obtenidas se colocaron en tubos y se mantuvieron a temperatura ambiente durante tres

semanas que fue el periodo de observación. Todo este procedimiento se realizó 3 veces dando un total de 30 cajas por cada suelo.

Determinación

Se realizaron preparaciones de cada muestra para observarlas en el fotomicroscopio de contraste de fases, la determinación se realizó con base en la morfología de los ciliados y flagelados. Para la determinación se utilizaron las claves de Patterson, (1996); Lee *et al.*, (2000); y los artículos Myl'nikov *et al.*, (2004) y Karpov *et al.*, (2003). En algunos casos solo fue posible determinar a los organismos hasta el nivel de género y se les agrego sp. para indicar que es una especie de ese género, a los organismos que no se pudieron determinar a que familia pertenecen se señalaron como sp.

Análisis

Se utilizó el análisis de la curva de especies por el método de Sørensen con el programa PCord versión 4, para calcular la estimación del total del número de especies. Se analizó la similitud dentro de tratamientos y entre tratamientos mediante el índice de similitud de Sørensen (McCune y Meffard, 1994).

RESULTADOS

Primer muestreo

En total se encontraron 26 especies de ciliados y flagelados en el suelo (contaminado y no contaminado), las cuales pertenecen a 21 géneros y 16 familias. De estas especies, 18 sólo están en el suelo no contaminado y 12 sólo en el contaminado (Tabla 1).

Las especies observadas representan el 62.65% de la comunidad de ciliados y flagelados en el suelo de la parcela (parte contaminada y no contaminada), lo que significa que se observó a la mayor parte de las especies de la comunidad. La figura 3 indica que aunque se realizaran más submuestréos, el número de especies adicionales que se obtendrían es muy poco para justificar un mayor esfuerzo de muestreo, ya que para tener representado el 95% de toda la comunidad se necesitan hacer 80 submuestréos. Con ésto se puede afirmar que las especies no observadas de la comunidad son sumamente raras, por lo que el error de muestreo no fue el factor decisivo para haber obtenido solo el 62% de las especies de la comunidad.

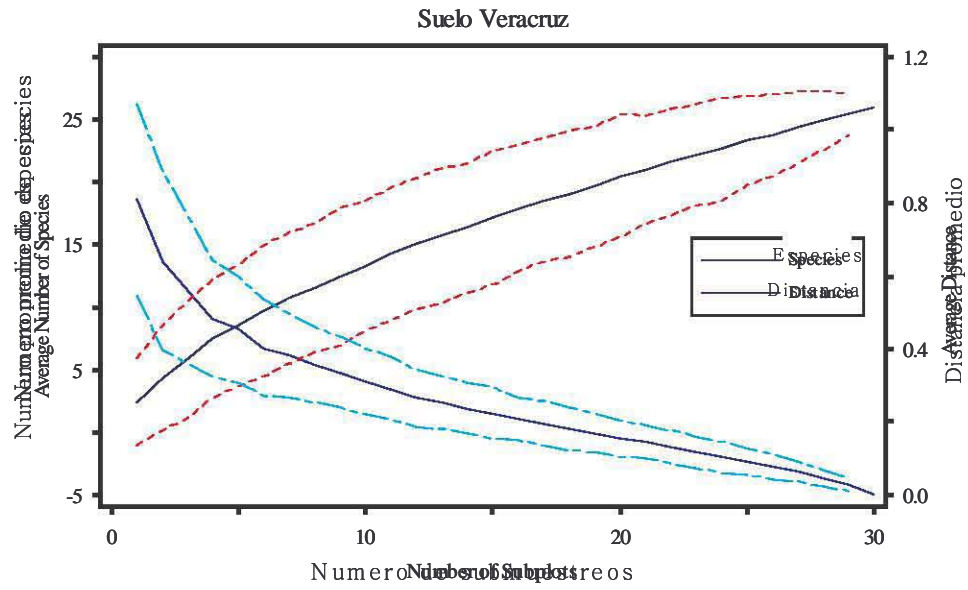


Fig. 3. Estimación del número total de especies del suelo contaminado y no contaminado del primer año

Tabla 1. Especies de ciliados y flagelados del suelo contaminado y no contaminado. Las familias a la que pertenecen las especies se encontraron en la clave Lee J.J et al. 2001(*), en los artículos Guillén A. G. 2003 (♦), Myl'nikov A. y S. Karpov 2004 (■) y la página de Intertet The Taxonomicon & Systema Naturae 2000 (URL:<http://www.taxonomy.nl>) (°).

FAMILIA	GÉNEROS	SUELO NO CONT.	SUELO CONT.
*Bodonidae	<i>Bodo sp</i>	+	+
*Bodonidae	<i>Bodo saltans</i>	+	+
*Cercomonadidae	<i>Cercomonas sp1</i>	+	+
Cercomonadidae	<i>Cercomonas sp2</i>	-	+
Cercomonadidae	<i>Cercomonas sp3</i>	-	+
*Toraniellidae	<i>Colpidium sp</i>	+	-
*Colpodidae	<i>Colpoda sp</i>	+	-
°Goniomonadidae	<i>Goniomonas truncata</i>	+	-
*Heteromitidae	<i>Heteromita sp</i>	+	-
*Peranemidae	<i>Heteronema sp</i>	-	+
*Hexamitidae	<i>Hexamita sp</i>	+	-
*Urostylidae	<i>Holosticha sp</i>	+	-
°Heteromitidae	<i>Katabia sp</i>	+	-
*Litonotidae	<i>Litonotus sp</i>	+	-
*Loxodidae	<i>Loxodes sp1</i>	+	+
Loxodidae	<i>Loxodes sp2</i>	+	-
Loxodidae	<i>Loxodes sp3</i>	-	+
*Anisonemidae	<i>Notosolenus sp</i>	+	-
*Ochromonadidae	<i>Ochromonas sp</i>	-	+
Ochromonadidae	<i>Oikomonas sp</i>	-	+
°Paraphysomonadaceae	<i>Paraphysomonas sp</i>	-	+
♦Astassidae	<i>Petalomonas sp</i>	-	+
■ Heteromitidae	<i>Proleptomonas sp</i>	+	-
*Bodonidae	<i>Rhynchomonas nasuta</i>	+	-
°Heteromitidae	<i>Sainourus sp</i>	+	-
*Oxytrichidae	<i>Tachisoma sp</i>	+	-

Frecuencia de especies

Las especies que se presentaron con una mayor frecuencia en el suelo de la parcela fueron *Loxodes sp1* y *Bodo sp* (**Fig. 4**). Las especies que se encontraron tanto en el suelo contaminado como en el no contaminado fueron *Bodo sp*, *Bodo saltans*, *Cercomonas sp1* y *Loxodes sp1*.

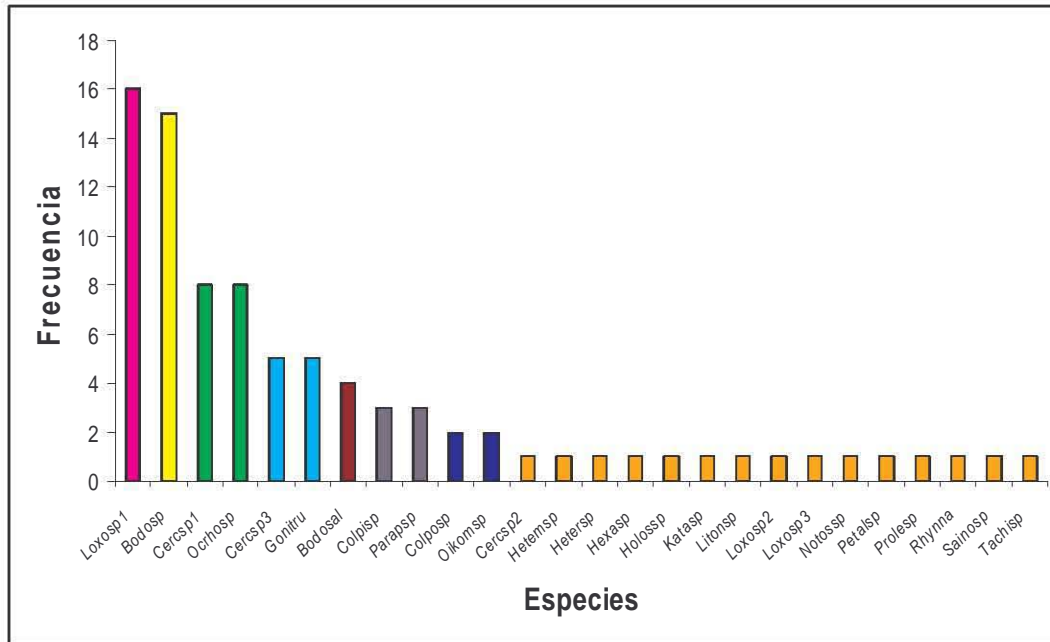


Fig. 4. Frecuencia de especies de ciliados y flagelados encontrados en la zona contaminada y no contaminada del suelo

En el suelo libre de combustóleo, la mayoría de especies se encontraron con poca frecuencia (una aparición), entre las cuales están *Notosolenues sp*, *Rhynchomonas nasuta*, *Tachisoma sp*; la especie que presentó la mayor frecuencia fue *Loxodes sp1*, seguido de *Bodo sp* (**Fig. 5a**); la figura muestra especies dominantes (10 frecuencias en adelante), comunes (de 4 a 9 frecuencias) y raras (hasta 3 frecuencias). En el suelo con combustóleo solo se presentaron especies comunes y raras (**Fig. 5b**), dentro de las cuales se encontraron *Ochromonas sp* y *Bodo sp* que fueron las que presentaron mayor frecuencia.

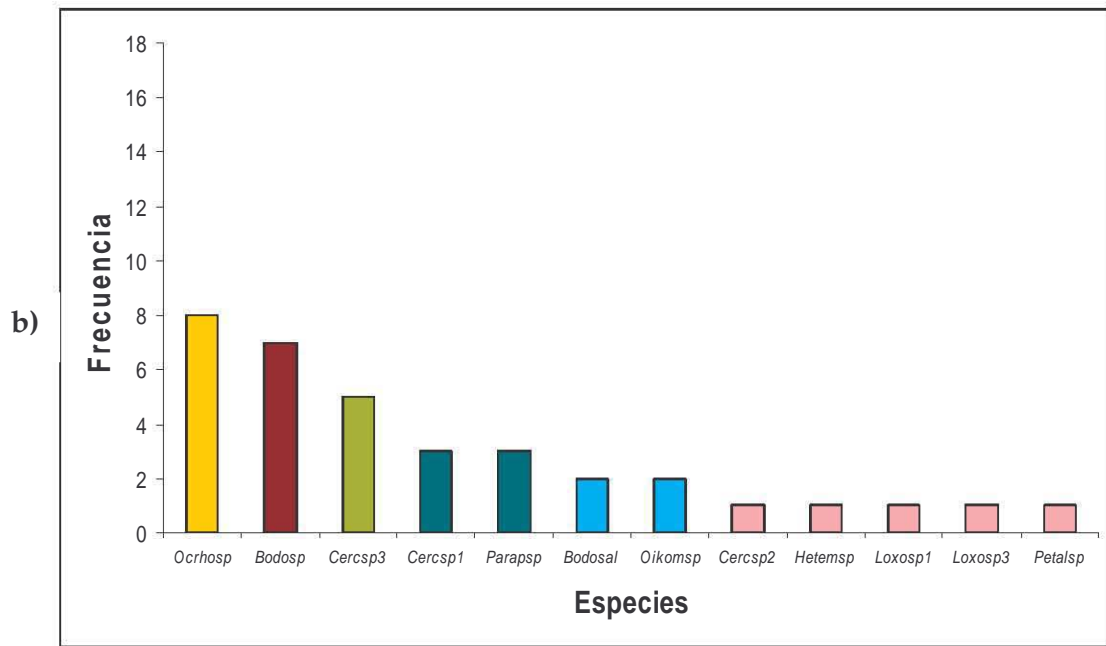
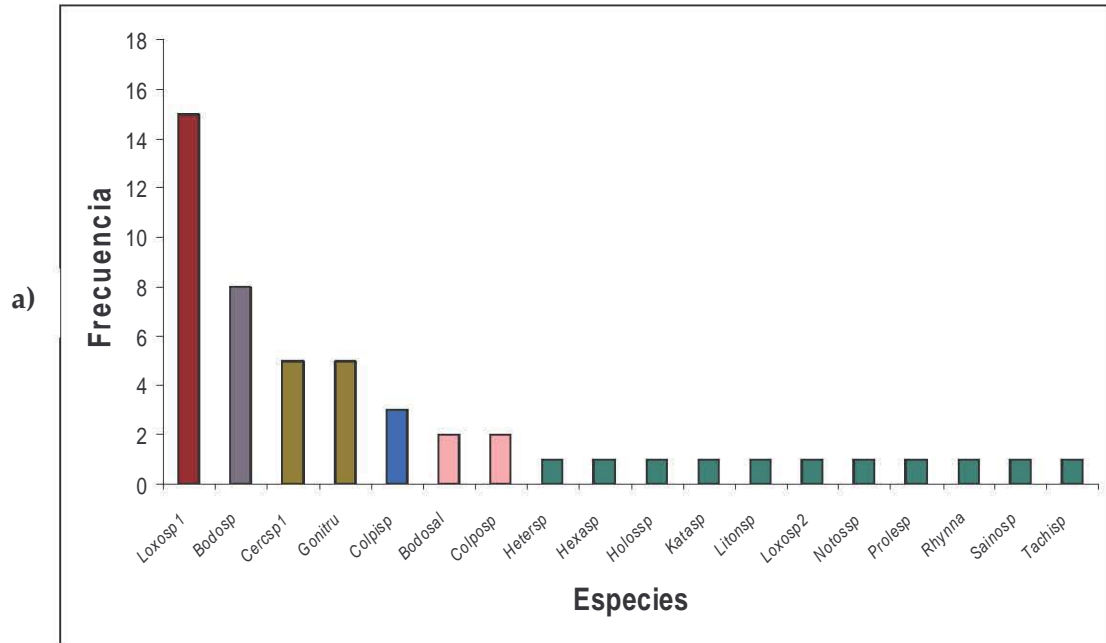


Fig. 5. Frecuencia de especies de ciliados y flagelados a) suelo no contaminado, b) suelo contaminado

Entre las especies que conforman la estructura de la comunidad en el suelo libre de combustóleo, *Loxodes sp1* se presenta como dominante, mientras que se vió desfavorecida en el suelo con combustóleo donde se presentó como rara; otra de las especies: *Bodo sp*, no fue afectada ni beneficiada con el evento de contaminación y en ambos suelos se presentó como común. En el caso de *Ochromonas sp* no se encontró en la parcela libre de combustóleo, mientras que en la parcela con combustóleo la encontramos como dominante (Fig. 6). En la comunidad de ambos suelos el grupo que predomina en frecuencia y riqueza de especies son los flagelados, ya que éste representa el 73% de toda la comunidad de protozoos.

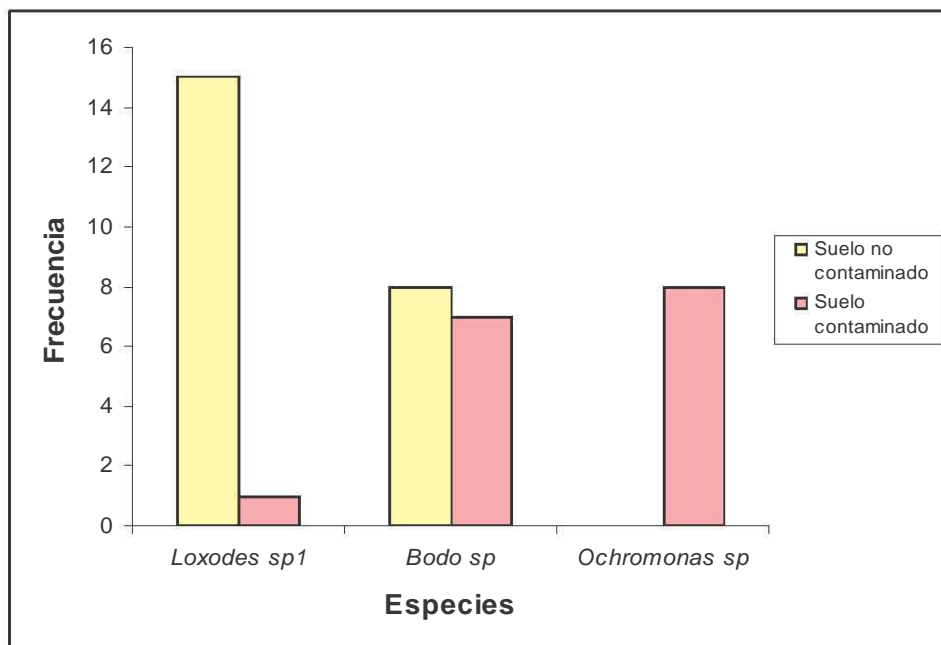


Fig. 6. Cambio de la frecuencia de especies de ciliados y flagelados del suelo contaminado y no contaminado

La similitud de especies entre el suelo contaminado y no contaminado fue de 15%.

Grupos tróficos

Las especies observadas pertenecen a tres grupos tróficos y predominan las que pertenecen al grupo bacteriotrófico, tanto en el suelo contaminado como en el no contaminado (Tabla 2).

Tabla 2. Grupos tróficos del primer muestreo

Grupo trófico	Suelo no contaminado	Suelo contaminado
Bacterotrófico	<i>Bodo sp</i> <i>Bodo saltans</i> <i>Cercomonas sp1</i> <i>Colpidium sp</i> <i>Colpoda sp</i> <i>Goniomonas truncata</i> <i>Heteromita sp</i> <i>Hexamita sp</i> <i>Holosticha sp</i> <i>Katabia sp</i> <i>Loxodes sp1</i> <i>Loxodes sp2</i> <i>Notosolenus sp</i> <i>Proleptomonas sp</i> <i>Rhynchomonas nasuta</i> <i>Sainouron sp</i> <i>Tachisoma sp</i>	<i>Bodo sp</i> <i>Bodo saltans</i> <i>Cercomonas sp1</i> <i>Cercomonas sp2</i> <i>Cercomonas sp3</i> <i>Heteronema sp</i> <i>Loxodes sp1</i> <i>Loxodes sp3</i> <i>Oikomonas sp</i> <i>Paraphysomonas sp</i> <i>Petalomonas sp</i>
Mixotrófico	-----	<i>Ochromonas sp</i>
Eucariotrófico	<i>Litonotus sp</i>	-----

Segundo muestreo

En el segundo muestreo se observaron más especies que en el primero por lo que las especies observadas representan el 70.6% del total de la comunidad de ciliados y flagelados (de las dos zonas contaminada y no contaminada) esto significa que hay un mayor porcentaje de la comunidad en el suelo de la parcela. La figura 7 muestra como a partir del submuestreo 25 la línea tiende a estancarse y aunque realizáramos más submuestreros, el número de especies que se observarían es muy poco, y para tener representada el 95% de toda la comunidad requieren un mínimo de 83 submuestreros. Con eso afirmamos que las especies que faltan para llegar al 95% de la comunidad se debe a la rareza de las mismas y no a un error de muestreo.

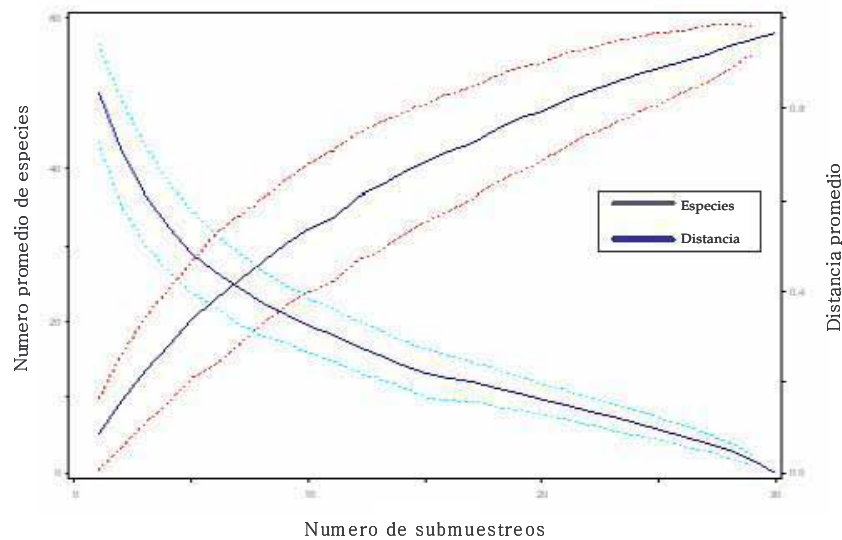


Fig. 7. Estimación del número total de especies del suelo contaminado y no contaminado del segundo año

Se encontraron en total 58 especies que conforman la comunidad de ciliados y flagelados en el suelo (zona contaminada y no contaminada), pertenecientes a 36 géneros y 21 familias, 5 especies están dentro de las denominadas flagelados heterotróficos de posición taxonómica incierta y 17 especies no identificadas. De los ciliados y flagelados 39 especies se encontraron en el suelo no contaminado

y 37 en el suelo contaminado. Cabe señalar que los flagelados representan el 93% de la riqueza de especies de la comunidad de todo el suelo (Tabla 3).

Tabla 3. Especies de ciliados y flagelados del suelo contaminado y no contaminado. Las familias a la que pertenecen las especies se encontraron en la clave Lee J.J et al. 2001(*), en los artículos Guillén A. G. 2003 (♦), Myl'nikov A. y S. Karpov 2004 (■), las páginas de Intertet The Taxonomicon & System Nature 2000 (URL:<http://www.taxonomy.nl>) (°), sección flagelados heterotróficos de la misma página (●) y Faunaflora 2006 (URL: <http://www.fauna.org.uk/>) (☼).

FAMILIA	GÉNERO	SUELO NO CONT.	SUELO CONT.
●	<i>Acinetactis sp</i>	-	+
*Pedinellaceae	<i>Actinomonas sp</i>	+	-
*Siluaniaceae	<i>Adriamonas sp</i>	+	+
°Thaumatomastigaceae	<i>Allas sp</i>	+	-
♦ Anisonemidae	<i>Anisonema sp</i>	+	-
*Bodonidae	<i>Bodo caudatus</i>	+	+
*Bodonidae	<i>Bodo saltans</i>	+	+
*Bodonidae	<i>Bodo sp</i>	+	+
■ Heteromitidae	<i>Bodomorpha sp</i>	-	+
●	<i>Bodopsis sp</i>	+	+
*Cercomonadidae	<i>Cercomonas sp1</i>	+	+
*Cercomonadidae	<i>Cercomonas sp2</i>	+	-
°Cryptomonadidae	<i>Chilomonas sp</i>	+	+
°Cryptomonadaceae	<i>Chroomonas sp</i>	+	-
*Colpodidae	<i>Colpoda sp</i>	-	+
*Colpodidae	<i>Colpoda maupasi</i>	-	+
☼ Paranemataceae	<i>Enthosiphon sp</i>	+	-
°Goniomonadidae	<i>Goniomonas sp</i>	+	-
° Cercomonadidae	<i>Helkesimastix sp</i>	-	+
*Chlamydomonadidae	<i>Heterochlamydomonas sp</i>	+	-
°Heteromitidae	<i>Heteromita sp</i>	+	+

Continuación de tabla 3.

*Loxodidae	<i>Loxodes sp</i>	-	+
●	<i>Macapella</i>	-	+
*Mastigamoebidae	<i>Mastigamoeba sp</i>	+	+
*Microthoracidae	<i>Microthorax sp</i>	-	+
*Codosigidae	<i>Monosiga sp</i>	+	+
°Ochromonadidae	<i>Ochromonas dánica</i>	+	-
*Ochromonadidae	<i>Ochromonas sp</i>	+	+
°Ochromonadidae	<i>Oikomonas sp</i>	+	+
*Bodonidae	<i>Parabodo sp</i>	-	+
●	<i>Paramonas sp</i>	+	-
°Paraphysomonadaceae	<i>Paraphysomonas sp</i>	+	+
◆Astasiidae	<i>Petalomonas sp</i>	+	-
●	<i>Petasaria sp</i>	-	+
°Phalansteriidae	<i>Phalansterium solitarium</i>	+	+
*Bodonidae	<i>Pleuromonas sp</i>	-	+
*Chlamydomonadidae	<i>Polytomella sp</i>	-	+
*Bodonidae	<i>Rynchobodo sp</i>	+	+
*Bodonidae	<i>Rynchomonas sp</i>	-	+
°Chromulinaceae	<i>Spumella sp</i>	+	+
☼Paranemataceae	<i>Urceolus sp</i>	+	-
Organismos no identificados			
(ver descripción anexo 1)			
	<i>Sp1</i>	+	-
	<i>Sp2</i>	+	-
	<i>Sp3</i>	+	-
	<i>Sp4</i>	+	-
	<i>Sp5</i>	+	+
	<i>Sp6</i>	+	-

Continuación de tabla 3.

<i>Sp7</i>	+	+
<i>Sp8</i>	+	-
<i>Sp9</i>	+	-
<i>Sp10</i>	+	-
<i>Sp11</i>	+	-
<i>Sp12</i>	-	+
<i>Sp13</i>	-	+
<i>Sp14</i>	-	+
<i>Sp15</i>	-	+
<i>Sp16</i>	-	+
<i>Sp17</i>	-	+

Frecuencia de especies

Ochromonas sp, *Oikomonas sp*, *Rynchobodo sp* y *Spumella sp* fueron las especies que se presentaron con mayor frecuencia en todo el suelo del segundo muestreo (Fig. 8).

En el suelo no contaminado poco más del 50% de las especies presentan poca frecuencia (una aparición), algunas de las cuales son *Anisomonas sp*, *Enthosiphon sp* y *Bodopsis sp*; la especie que más frecuente fue *Oikomonas sp* (Fig. 9a); la gráfica muestra que la estructura de la comunidad esta compuesta por el 87 % especies raras, 10% comunes y 3% de dominantes.

En el suelo contaminado la especie más frecuente fue *Rynchobodo sp* (Fig. 9b); igual que en el primer muestreo solo se presentaron especies comunes y en su mayoría raras, a diferencia del suelo no contaminado.

En este segundo año la similitud entre el suelo contaminado y no contaminado fue de 31 %.

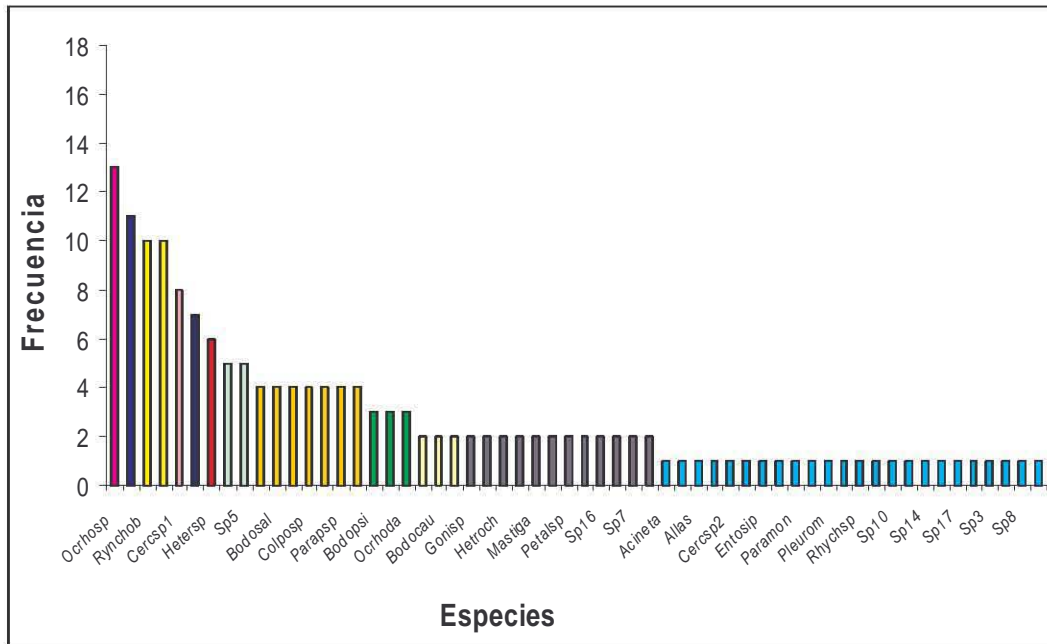


Fig. 8. Frecuencia de especies de ciliados y flagelados encontrados en la zona contaminada y no contaminada del suelo del segundo año

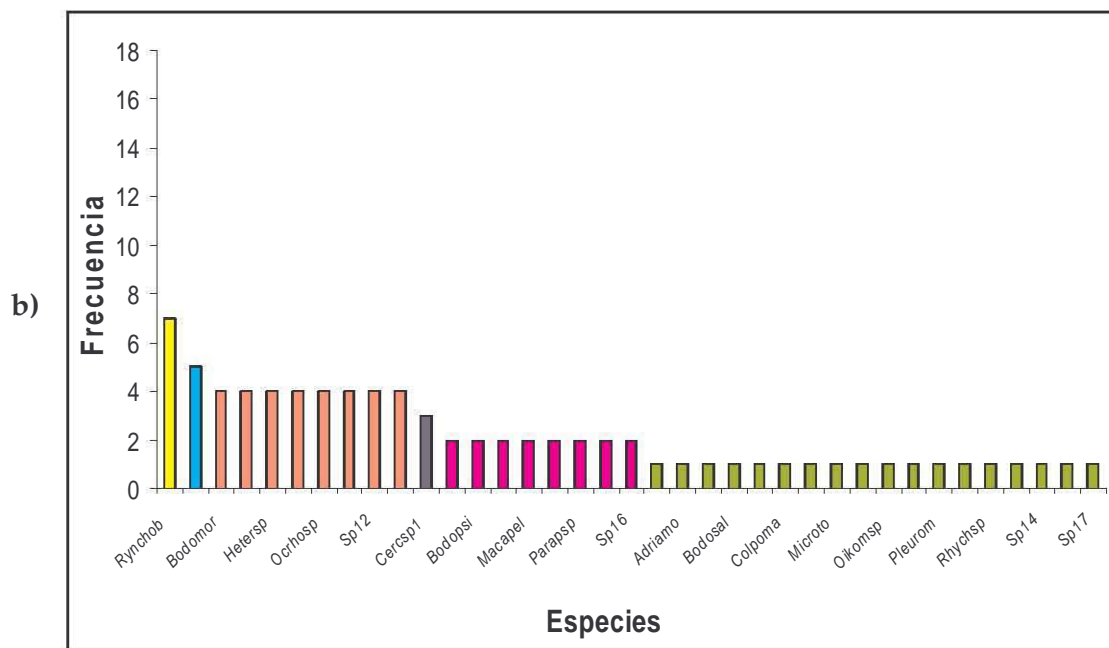
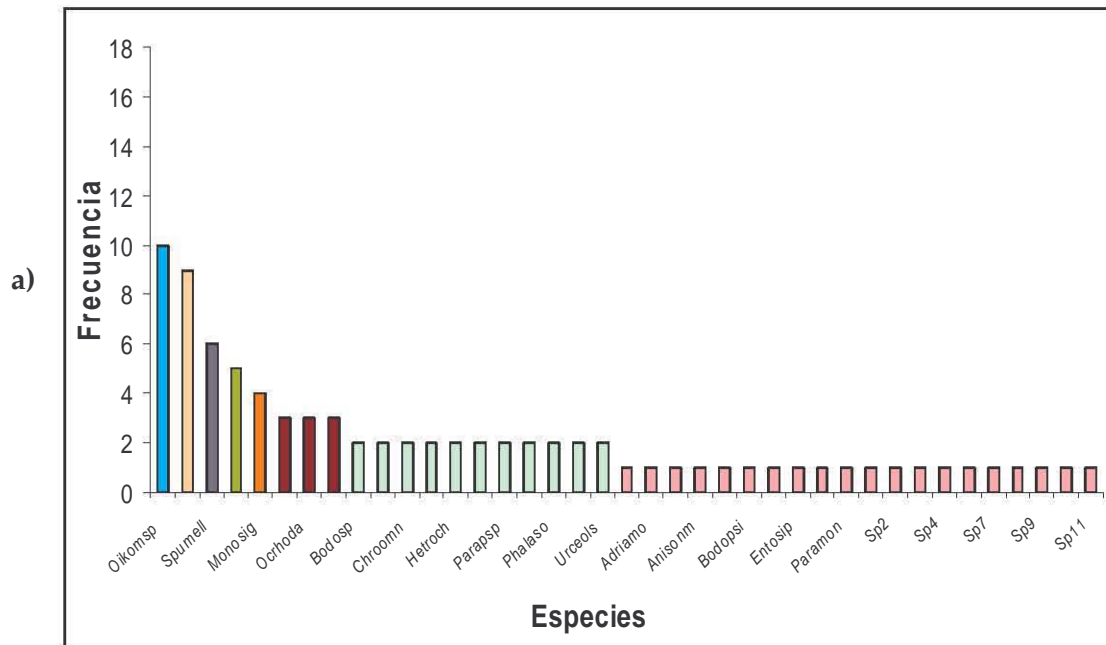


Fig. 9 Frecuencia de especies de ciliados y flagelados del segundo año **a)** suelo no contaminado, **b)** suelo contaminado

Grupos tróficos

En el segundo muestreo además de haber más especies, también se encontraron más grupos tróficos, pero la gran mayoría de las especies son bacteriotróficas en ambos suelos (Tabla 4).

Tabla. 4. Grupos tróficos del segundo año

Grupo trófico	Suelo no contaminado	Suelo contaminado
Autótrofo	<i>Heteroclamydomonas sp</i>	-----
	<i>Chroomonas sp</i>	-----
	<i>Sp1</i>	-----
	<i>Sp2</i>	-----
	<i>Sp3</i>	-----
	<i>Sp4</i>	-----
Bacterotrófico	<i>Actinomonas sp</i>	<i>Acinetactis sp</i>
	<i>Adriamonas sp</i>	<i>Adriamonas sp</i>
	<i>Allas sp</i>	<i>Bodo caudatus</i>
	<i>Anisonema sp</i>	<i>Bodo saltans</i>
	<i>Bodo caudatus</i>	<i>Bodo sp</i>
	<i>Bodo saltans</i>	<i>Bodomorpha sp</i>
	<i>Bodo sp</i>	<i>Bodopsis sp</i>
	<i>Bodopsis sp</i>	<i>Cercomonas sp1</i>
	<i>Cercomonas sp1</i>	<i>Chilomonas sp</i>
	<i>Cercomonas sp2</i>	<i>Colpoda mapasi</i>
	<i>Chilomonas sp</i>	<i>Colpoda sp</i>
	<i>Entosiphon sp</i>	<i>Helkesimastix sp</i>
	<i>Goniomonas sp</i>	<i>Heteromita sp</i>
	<i>Heteromita sp</i>	<i>Loxodes sp</i>
	<i>Mastigamoeba sp</i>	<i>Macapella sp</i>
	<i>Monosiga sp</i>	<i>Mastigamoeba sp</i>
	<i>Oikomonas sp</i>	<i>Microthorax sp</i>
	<i>Paramonas sp</i>	<i>Monosiga sp</i>
	<i>Paraphysomonas sp</i>	<i>Oikomonas sp</i>
	<i>Petalomonas sp</i>	<i>Parabodo sp</i>
<i>Phalasterium solitarium</i>	<i>Paraphysomonas sp</i>	

	<i>Rynchobodo sp</i> <i>sp5</i> <i>sp6</i> <i>sp7</i> <i>sp8</i> <i>sp9</i> <i>sp10</i> <i>sp11</i> <i>Spumella sp</i>	<i>Petasaria sp</i> <i>Phalansterium solitarium</i> <i>Pleuromonas sp</i> <i>Rynchobodo sp</i> <i>Rynchomonas sp</i> <i>sp5</i> <i>sp7</i> <i>sp12</i> <i>sp13</i> <i>sp14</i> <i>sp15</i> <i>sp16</i> <i>sp17</i> <i>Spumella sp</i>
Eucariotrófico	<i>Urceolus sp</i>	-----
Mixotrófico	<i>Ochromonas sp</i> <i>Ochromonas danica</i>	<i>Ochromonas sp</i>
Osmotrófico	-----	<i>Polytomella sp</i>

Comparando los dos muestreos, en el primer año la riqueza de especies fue menor (26 especies) que en el segundo, ya que la riqueza de especies incrementó más del doble (58 especies), además incrementó el número de grupos tróficos.

En el suelo no contaminado del primer año se tienen 18 especies y en el segundo año observamos 39 especies, apareciendo un poco más del 50% de especies. En la comunidad del primer año hay especies dominantes, comunes y raras, al igual que en el segundo año. La composición de la comunidad se parece poco de un año a otro (coinciden en 5 especies). Respecto a los grupos tróficos, son muy parecidos de un año a otro. En el primer año el 94% de especies de ciliados y flagelados pertenecen al grupo bacteriotrófico, y en el segundo año solo en un 78%, además se incrementó el número de grupos tróficos en el segundo año (Tabla 4).

Entre las especies que conforman la estructura de la comunidad, *Loxodes sp* se encuentra como dominante en el primer año y no fue observada en el segundo año; asimismo, la especie *Ochromonas sp* en el primer año no la observamos y en el segundo se presenta como común. También la comunidad de ciliados encontrada en el primer año, en el segundo año no fue observada.

En el suelo contaminado del primer año se observaron 12 especies y en el segundo año el número de especies observadas aumentó a 37 especies (hay 3 veces más de un año a otro). En la comunidad del primer año se tienen especies comunes y raras, al igual que en el segundo. En cuanto a los grupos tróficos en el primer año el 91% de las especies pertenecen al grupo bacteriotrófico y en el segundo año el 94% pertenece al mismo grupo (Fig.10).

Dentro de las especies que conforman la comunidad de suelo no contaminado en el segundo año, *Oikomonas sp* se presentó como dominante, en tanto que en el suelo contaminado se presentó como rara.

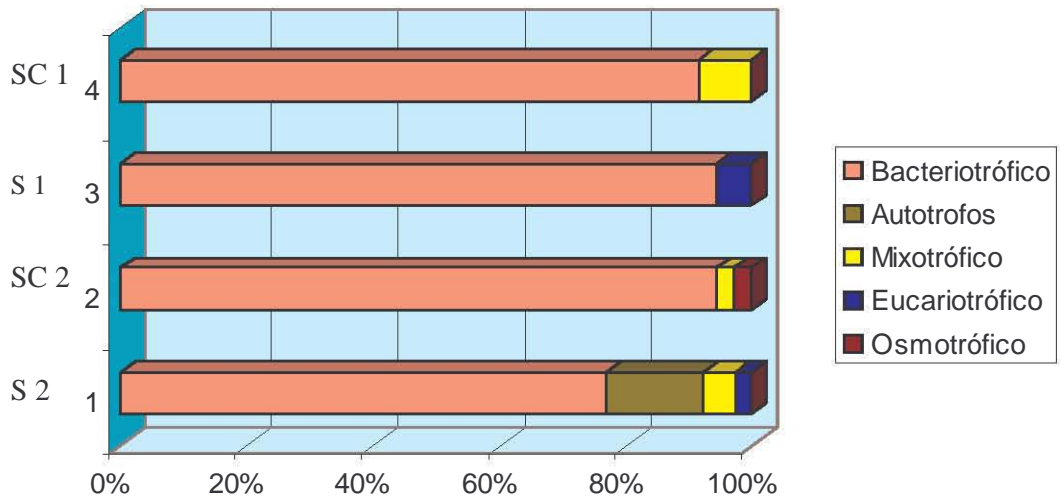


Fig. 10. Grupos tróficos de los dos años de muestreo. (SC 1) suelo contaminado del primer año, (S1) suelo no contaminado del primer año, (SC2) suelo contaminado del segundo año y (S2) suelo no contaminado del segundo año

DISCUSIÓN

Las comunidades de microorganismos en ecosistemas contaminados tienden a ser dominadas por aquellos organismos capaces de utilizar y/o de sobrevivir a los compuestos tóxicos. Como resultado, estas comunidades son menos diversas que aquellos sistemas no contaminados, aunque la diversidad también está influenciada por la complejidad de la mezcla de compuestos contaminantes y por el tiempo que las poblaciones han estado expuestas (http://www.microbiologia.org.mx/microbiosenlinea/CAPITULO_02/).

Existe una diferencia clara entre la estructura de la comunidad de protozoos de ambas zonas (con combustóleo y sin combustóleo), en el suelo sin contaminar hay un mayor número de especies, además de la existencia de especies dominantes, comunes y raras; mientras que en el suelo contaminado fue menor la riqueza de especies y sólo existen especies comunes y raras. Esto pudo ser consecuencia directa de la contaminación por combustóleo.

La contaminación perturba la estabilidad del sistema, ya que si hay cambios en la estructura de la comunidad, habrá cambios en las redes tróficas. En el primer año se observó que la comunidad estuvo dominada por ciliados bacteriotróficos, tales como *Loxodes sp1*, que fue la especie de mayor dominancia en el suelo no contaminado (Fig. 6), mientras que fue rara en el suelo contaminado. Seguramente la adición de combustóleo en el suelo propició una disminución en la abundancia de ciertas especies de bacterias que no toleran su toxicidad, las cuales servían de alimento para algunas especies bacterívoras de ciliados y flagelados provocando la disminución de las poblaciones de estos protozoos. Además el descenso de la humedad pudo afectar a esta especie, ya que el combustóleo transforma al suelo como hidrófobo y es más difícil la infiltración de agua (Jaramillo, 2006); la falta de ésta pudo provocar su disminución y por lo tanto la rareza de *Loxodes sp*. En la dinámica de la interacción bacterias-protozoos, el principal factor regulador de estas

poblaciones en el suelo es el agua. Pues, el contenido de humedad del suelo es el factor crítico que determina la capacidad migratoria de los protozoos entre los agregados del suelo (Darbyshire, 1994; Vargas, 1991). Así, la densidad bacteriana presente en el suelo es, aunado a la humedad, un factor importante que afecta el tamaño y distribución de la población de depredadores en el suelo (Vargas, 1991).

Varios estudios de suelos contaminados han encontrado una reducción en la riqueza de especies de bacterias después de ser expuestas a periodos largos ó cortos de contaminación orgánica (Joynt *et al.*, 2006). La reducción de la riqueza de especies en el suelo contaminado sugiere que el combustóleo funcionó como un factor de selección en la comunidad de protozoos.

El caso de *Ochromonas sp* merece analizarse porque pertenece al grupo Mixótrófico (es la capacidad de vivir como un productor primario y consumidor secundario o terciario por la ingestión y digestión de partículas orgánicas); esta especie no se encontró en el suelo no contaminado, mientras que en el suelo contaminado fue la más frecuente en el primer muestreo, posiblemente se encontraba como una especie críptica en el suelo no contaminado porque no tenía las condiciones necesarias para su desarrollo y el evento de contaminación la favoreció. Esto nos lleva a suponer que tiene una selectividad sobre las bacterias que toleran o degradan los hidrocarburos como el combustóleo, ya que esta especie se conoce como un depredador preferentemente de bacterias (Salcher *et al.*, 2005), principalmente del género *Pseudomonas* (Corno, 2006), el cual agrupa varias especies que tienen la capacidad de degradar hidrocarburos (Kilbane II, 2005; Mattison y Haramaya, 2000). En el segundo año, *Ochromonas sp* fue común en el suelo contaminado y no contaminado. Esto se debe a que la probabilidad de encontrar una especie radica en la abundancia de ésta. Pudo ser que en el momento del muestreo estuviera con un bajo número poblacional y por lo tanto fuese menor la probabilidad de ser muestreada, en comparación con el segundo año de

muestreo en el que sí la observamos. Lo que podría deberse a que en el primer año el espacio estaba ocupado y dominado por otras especies y en el segundo estas especies disminuyeron su población, por lo que *Ochromonas sp* pudo aprovechar el espacio no ocupado e incrementar su abundancia; y fuera más abundante; ya que la riqueza de especies puede cambiar espacial y temporalmente en respuesta a los cambios estacionales y de disponibilidad de recursos. Además, debido a su estrategia mixotrófica de vida, *Ochromonas sp* puede mantenerse con altas densidades poblacionales, porque ejerce depredación sobre las bacterias, incluso cuando hay pocas partículas disponibles de alimento. Las condiciones de luz, incrementan su capacidad para crecer fotosintéticamente, también son predominantemente bacterívoros fototróficos (Salcher *et al.*, 2005). Asimismo, la especie *Oikomonas sp*, no había sido observada en el suelo no contaminado del primer muestreo y en el segundo se encontró como dominante.

Los géneros *Cercomonas* y *Bodo* se registraron como comunes, tanto en el suelo contaminado como en el no contaminado en ambos muestreos. Esto concuerda con lo que ya ha sido observado de estos géneros, que junto con *Heteromita* son los más comunes, formando frecuentemente parte del 50% o más de toda la biomasa de protozoos en el suelo (Lara *et al.*, 2006).

Tanto en el primer muestreo como en el segundo y en ambos suelos (contaminado y no contaminado), la comunidad de flagelados es más abundante que la de ciliados, además la mayor parte de la comunidad pertenece al grupo bacteriotrófico, esto se debe a que en suelos dominados por bacterias predominan los flagelados y las amebas desnudas. En general, los suelos con alto contenido de arcillas contienen un número más alto de pequeños protozoos (flagelados y amebas desnudas). Así, mientras más granulares sean las partículas del suelo, el tamaño del poro aumenta y se encontrarán flagelados, amebas y ciliados de mayor tamaño (Ingham, 1999).

La mayoría de especies del suelo no contaminado se vieron afectadas por el combustóleo y las llevó a tener un número poblacional muy bajo por lo que no permitió su observación, e incluso pudieron haber desaparecido del sistema, lo que explicaría que la mayoría de especies que se encontraron fueron raras.

En el primer año se encontraron tres grupos tróficos en el suelo de cultivo (suelo contaminado y no contaminado) bacteriotrófico, eucariotrófico y mixotrófico. El suelo contaminado presentó el grupo bacteriotrófico y mixotrófico, mientras que en el suelo no contaminado, encontramos a los grupos bacteriotrófico y eucariotrófico. Esto sugiere una alteración en la red trófica del suelo con combustóleo, pues en el suelo contaminado no encontramos al ciliado que se alimenta de otros eucariontes. En el suelo contaminado domina el flagelado *Ochromonas sp* (mixotrófico), posiblemente por su nutrición versátil, debido a su capacidad como depredador de bacterias (Salcher *et al.*, 2005) y su tolerancia a ciertas sustancias tóxicas. Semple y Cain (1996) encontraron que una especie de este género tolera sustancias fenólicas y también tiene la capacidad de degradarlas.

En el segundo año los grupos tróficos aumentaron tanto en el suelo contaminado como en el no contaminado, siendo el grupo bacteriotrófico el dominante en ambos suelos, además que el grupo eucariotrófico nuevamente apareció en el suelo no contaminado, lo que sugiere que hay una alteración en el sistema contaminado que no permite el establecimiento de las especies que pertenecen a este grupo trófico.

La dominancia del gremio bacteriotrófico en el suelo contaminado apoya fuertemente la hipótesis de una mayor presencia de diferentes especies bacterianas degradadoras de hidrocarburos. En un primer momento la comunidad de bacterias se vería diezmada en número por efecto de la toxicidad del combustóleo y solo sobrevivirían las bacterias que fueran tolerantes o que pudiesen tomar como fuente de energía este compuesto.

Si se observa la tabla 2 y 4 las especies de protozoos bacteriotróficos aumentan de 11 en el primer año a 35 en el segundo año. Posiblemente las poblaciones bacterianas sobrevivientes aprovecharon el recurso y prosperaron aumentando la abundancia, y con ello aumentaron también el número de sus depredadores ciliados y flagelados (Fenchel, 1987; Ingham, 1999). En el caso del suelo no contaminado la dominancia del grupo bacteriotrófico se debe a que la gran mayoría de protozoos prefieren a las bacterias como principal alimento (Coûteaux y Darbyshire, 1998).

En cuanto a la similitud entre el suelo contaminado y no contaminado el primer año fue de 15%, lo que puede indicar que las especies de la comunidad de ciliados y flagelados no son tolerantes a la perturbación por el combustóleo. En el segundo año fueron similares en un 31%, lo que se atribuye al incremento en la riqueza de especies y a la posible adaptación de las especies a la perturbación por combustóleo.

En un primer momento el combustóleo disminuyó la riqueza de especies afectando a todos los niveles tróficos, ocasionando que el nicho quede desocupado y se tenga la posibilidad de ser aprovechado por las especies que son tolerantes y/o capaces de aprovechar el exceso de este compuesto orgánico. Como en el caso del grupo eucariotrófico, cuyo espacio fue ocupado por el grupo bacteriotrófico en el suelo contaminado.

La contaminación produjo una disminución en la riqueza microbiana en el suelo, la cual conduce a la disminución de las actividades bioquímicas esenciales para el funcionamiento del sistema edáfico. Sin embargo los efectos crónicos de la contaminación pueden llevar a un cambio en la composición de la comunidad microbiana del suelo, mediante la selección, intercambio de genes de especies que pueden contribuir a la adecuación de la comunidad a las condiciones generadas por el contaminante (Joynt *et al.*, 2006).

CONCLUSIÓN

En el primer año hay una disminución en la riqueza de especies de ciliados y flagelados en el suelo con combustóleo, lo que sugiere que este compuesto modifica la estructura de la comunidad eliminando, disminuyendo diferencialmente la abundancia de especies, lo que puede hacer disminuir la funcionalidad del suelo. En el segundo año, la riqueza de especies es similar en el suelo contaminado y en el no contaminado. El combustóleo al ser materia orgánica recalcitrante, es un recurso que no todas las especies de microorganismos pueden utilizar, alterando la estructura de la comunidad, seleccionando a los ciliados y flagelados que puedan aprovechar el recurso disponible con la posibilidad de tener un mayor número de individuos y una eficiencia superior para apropiarse de los recursos del suelo (Ives y Carpenter, 2007). Estos resultados sugieren que si analizamos solo la riqueza de especies, no se puede afirmar que son indicadoras de suelos contaminados, porque de un año a otro la riqueza de especies varía considerablemente, pero analizando los grupos tróficos nos damos cuenta que cambian entre el suelo contaminado y no contaminado, lo que nos indica que en futuras investigaciones hay que comprobar que este cambio se debe a la contaminación de suelo y no a las especies por sí mismas.

BIBLIOGRAFÍA

- ❖ Bamforth, S. (1992). Sampling enumerating soil protozoa. En: protocols in protozoology. Editado por Lee J. y A. Soldo. Allen Press, INC. Kansas, EUA. Pág. B-5.1- B-5.3.
- ❖ Corno, G. (2006). Effects of nutrient availability and *Ochromonas sp.* Predation on size and composition of a simplified aquatic bacterial community. *FEMS Microbial Ecology*, 58: 354-363.
- ❖ Coûteaux, M. y Darbyshire, J. (1998). Functional diversity amongst soil protozoa. *Applied Soil Ecology*, 10: 229-237.
- ❖ Cowling, A. (1994). Protozoan distribution and adaptation. Pp. 5-42 in Darbyshire J.F. (ed). *Soil protozoa*. Cab International, London. 209 pp.
- ❖ Del Paño, M., Morelli, I., Encelen, B., y Berthe-Corti, L. (2005). Effect of petrochemical sludge concentrations on microbial communities during soil bioremediation. *FEMS Microbiology Ecology*, 53: 305-316.
- ❖ Enciclopedia de los Municipios de México. Centro Nacional de Desarrollo Municipal, Gobierno del Estado de Veracruz. 2000. disponible en: <http://www.emexico.gob.mx/work/EMM04/Veracruz/index.html>
- ❖ Fenchel T. (1987). *Ecology of protozoa*. Science Tech, Inc. Madison, Wisconsin, USA. 197 pp.
- ❖ Guillén, G., Morales, E., y Severino, R. (2003). Adiciones a la fauna de protozoos de los Pantanos de Villa, Lima, Perú. *Rev. peru. biol.* 10(2): 175 – 182.

- ❖ Griffiths B.S. (1994). Soil nutrient flow. Pp. 65-92 in Darbyshire J.F. (ed). Soil protozoa. Cab International, London. 209 pp.
- ❖ Holubar, P., Grudke, T., Moser, A., Strenn, B. y Braun, R. (2000). Effects of bacterivorous ciliated protozoans on degradation efficiency of a petrochemical activated sludge process. *Wat. Res.*, 34: 2051-2060.
- ❖ Ingham, E. (1999). Soil protozoa. Pp. 1-3 in Tugel, A.J y A.M. Lewandowski. (ed). *Soil Biology Primer*. NRCS Soil Quality Institute, Ames, IA.
- ❖ Ives, A. y Carpenter, S. R. (2007). Stability and diversity of ecosystems. *Science*. 317.
- ❖ Jaramillo, D.F. (2006). Repelencia al agua en suelos: una síntesis. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.*, 30 (115) 215-232.
- ❖ Joynt, J., Bischoff, M., Turco, R., Konopka, A. y Nakatsu, C. (2006). Microbial community analysis of soil contaminated with lead, chromium and petroleum hydrocarbons. *Microbial Ecology*, 51: 209-219.
- ❖ Karpov, S., Flemming, E. y Moestrup, Ø. (2003). *Katabia gromovi* nov. gen., nov. sp. – a new soil flagellate with affinities to *Heteromita* (Cercomonadida). *Protistology*, 3 (1): 30-41.
- ❖ Kilbane II, J.J. (2005). Biotechnological upgrading of petroleum. Pp. 223-255 in Ollivier B. and M. Magot. (ed). *Petroleum Microbiology*. ASM PRESS, Wasington, D.C. 365 pp.
- ❖ Killham, K. (1994). *Soil ecology*. Press Syndicate of the University of Cambridge. England. 242 pp.

- ❖ Kuperman, R., Williams, G. y Parmelee, R. (1998). Spatial variability in the soil foodwebs in a contaminated grassland ecosystem. *Appl Soil Ecol*, 9:509–514.

- ❖ Lara, E., Berney, C., Ekelund, F., Harms, H. y Chatzinotas, A. (2007). Molecular comparasion of cultivable protozoa from a pristine and a polycyclic aromatic hydrocarbon polluted site. *Soil Biology and Biochemistry*, 39:139-148.

- ❖ Lee, J., Leedale, G. y Bradbury, P. (2000). *The Illustrated Guide to the Protozoa*. Allen Pres. INC., Laurence. USA. Ed: 2da. Vol. 1 (1-689) y Vol. 2 (690-1432) pp.

- ❖ Margesin, R., Schinner, F. y Zaos, T. (2005). *Manual of soil analysis monitoring and assessing soil bioremediation*. Springer. 366 pp.

- ❖ Mattison, R. y Haramaya, S. (2000). The predatory soil flagellate *Heteromita globosa* stimulates toluene biodegradaton by a *Pseudomonas sp.* *FEMS Microbiology Letters*, 194: 39-45.

- ❖ McCune, B., y Mefford, M. (1999). *PC-ORD. Multivariate analysis of ecological data, Version 4*. MjM software design, Gleneden Beach, Oregon, USA.

- ❖ Myl'nikov, A. y Karpov, S. (2004). Review of diversity and taxonomy of cercomonads. *Protystology*, 3 (4): 201-217.

- ❖ Narro, T. (1994). *Física de suelos*. Trillas. S. A. de C. V. México, D.F. 1995 pp.

- ❖ Patterson, D. (1996). *Free-Living Freshwater Protozoa*. University of New South Wales Press Ltd, Sydney. 223 pp.
- ❖ Pratt, J., Cairns, J. (1985). Functional groups in the protozoa: role in differing ecosystems. *J. Protozool.* 32: 415-423.
- ❖ Paul, E. y Clark, F. (1989). *Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press. Inc. San Diego California, USA. 275 pp.
- ❖ Porta, C., López-Acevedo, L., y Roquero, C. (1999). *Edafología para la agricultura y el medio ambiente*. Ed. Mundi Prensa, Madrid, España. 807 pp. Gráfica
- ❖ Rivera-Cruz, M., Ferrera-Cerrato, R., Volke, V., Vázquez, R. y Fernández, L. (2002). Adaptación y selección de microorganismos autóctonos en medios de cultivos enriquecidos con petróleo crudo. *Terra*, 20: 423-434.
- ❖ Rodríguez- Zaragoza, S. (2005). Protozoos del suelo. En: *Microbiología Agrícola hacia el siglo XXI*. Editado por Alarcón A. R. Ferrera-Cerrato. Colegio de posgraduados, Montecillo, Edo. de México. 249-267 pp.
- ❖ Salcher, M., Pernthaler, J., Psenner, R., y Posh, T. (2005). Succession of bacterial grazing defense mechanism against protistan predators in an experimental microbial community. *Aquatic Microbial Ecology*, 38: 215-229.
- ❖ Sandon, H. (1927). *The composition and distribution of the protozoan fauna of the soil*. Oliver and Boyd. London. 237pp.
- ❖ Sangabriel, W., Ferrera-Cerrato, R., Trejo, D., Mendoza, M., Cruz, S., López, C., Delgadillo, J. y Alarcón, A. (2006). Tolerancia y capacidad de

Fitorremediación de combustóleo en el suelo por seis especies vegetales.
Revista internacional de contaminación ambiental, 22(002): 63-73.

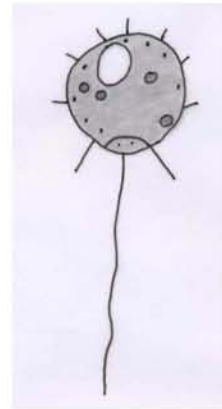
- ❖ Valderrama, B. y Téllez-Sosa, J. Microbiología del petróleo y sus derivados. Disponible en: http://www.microbiologia.org.mx/microbiosenlinea/CAPITULO_02/
- ❖ Vargas, R. (1990). Avances en microbiología de suelos: los protozoos y su importancia en la mineralización del nitrógeno. *Agronomía Costarricense*, 14(1): 121-134.
- ❖ Vargas, R. (1991). Efecto de diferentes regimenes de humedad en la migración del protozoo colpoda spp. entre agregados de suelo. *Agronomía Costarricense*, 15(1/2): 173-176.
- ❖ Zarda, B., Mattison, G., Hess, A., Hahn, D., Holhener, P. y Zeyer, J. (1998). Analysis of bacterial and protozoan communities in an aquifer contaminated with monoaromatic hydrocarbons. *FEMS Microbiology Ecology*, 27: 141-152.

ANEXO 1

Descripción de organismos no identificados del segundo año de muestreo.

Suelo no contaminado

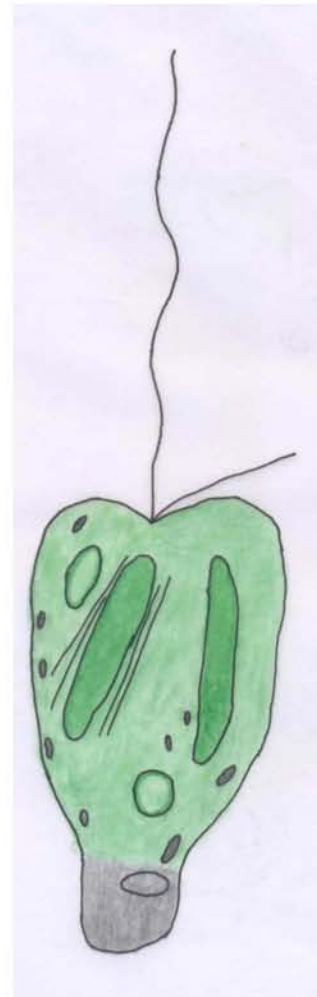
1. Flagelado de cuerpo esférico, sin color, el cuerpo esta fijo por lo que es poco móvil, se observan espinas o espículas alrededor del cuerpo, el flagelo emerge del centro de la parte posterior del cuerpo. Tamaño 5 μ m.



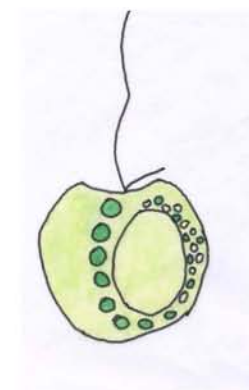
2. Flagelado de cuerpo esférico color verde, se observan unas esferas (aproximadamente 7), tiene dos flagelos desiguales que emergen del centro de la parte anterior de cuerpo. Tamaño 6 μ m.



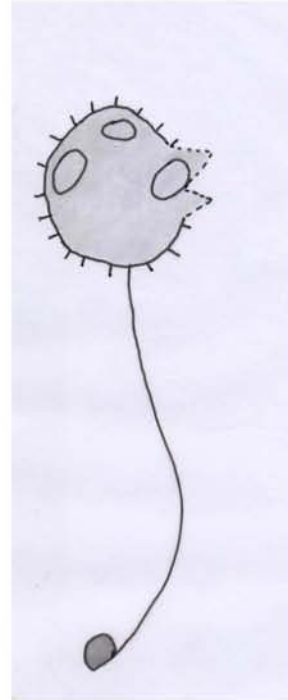
3. Flagelado con dos cloroplastos de cuerpo ovalado, célula metabólica por lo que se alarga, en la parte posterior del cuerpo tiene un extrusoma, tiene dos flagelos desiguales que emergen del centro de la parte anterior de cuerpo, el flagelo mas grande es muy activo. Tamaño $18\mu\text{m}$.



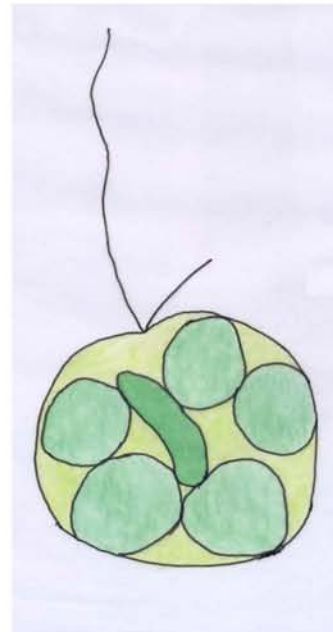
4. Flagelado con cuerpo esférico color verde poco activo, tiene una vacuola grande que ocupa la mayor parte del cuerpo, con dos flagelos desiguales que emergen del centro de la parte anterior del cuerpo. Tamaño $7\mu\text{m}$.



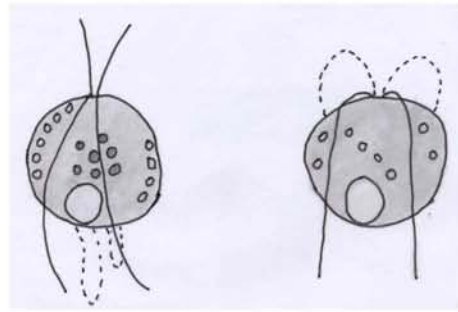
5. Flagelado sin color de cuerpo ovalado, célula metabólica, tiene extrusomas además de una vacuola contráctil, se observan espinas alrededor del cuerpo, tiene un solo flagelo que parte del centro de la parte posterior del cuerpo y tiene un engrosamiento en la parte final del flagelo. Tamaño 5 μm .



6. Flagelado de cuerpo ovoide, color verde con un cloroplasto alargado grande, dentro del cuerpo tiene 5 esferas grandes verdes, con dos flagelos desiguales que emergen del centro de la parte anterior del cuerpo. Tamaño 12 μm .



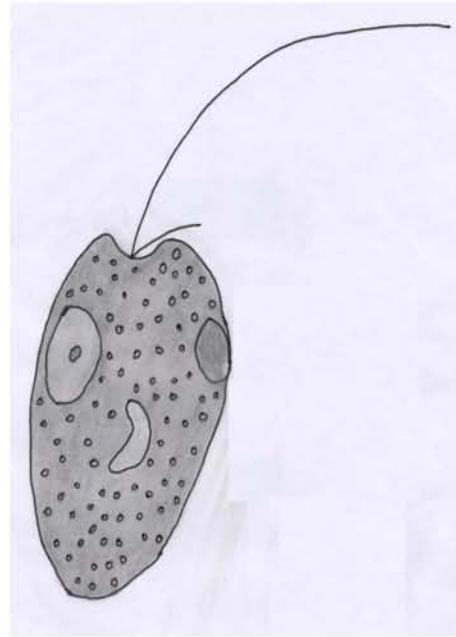
7. Flagelado de cuerpo esférico sin color, tiene una vacuola contráctil en la parte posterior del cuerpo, cuatro flagelos desiguales, dos son pequeños y salen para la parte superior, los otros dos son grandes están en la parte inferior, poco móvil solo se desplaza como un pulso. En la parte superior tiene extrusoma que parece globo, en otro organismo el extrusoma está en la parte inferior y son más alargados. Tamaño 6 μm .



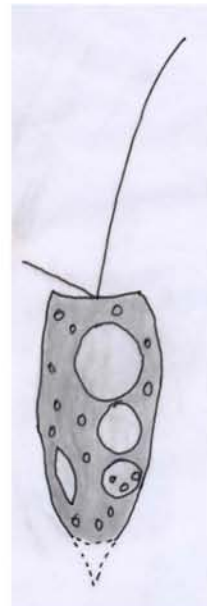
8. Flagelado sin color cuerpo alargado y ovalado, tiene una vacuola contráctil, con dos flagelos desiguales que parten del centro de la parte anterior del cuerpo, con extrusoma. Tamaño 10 μm .



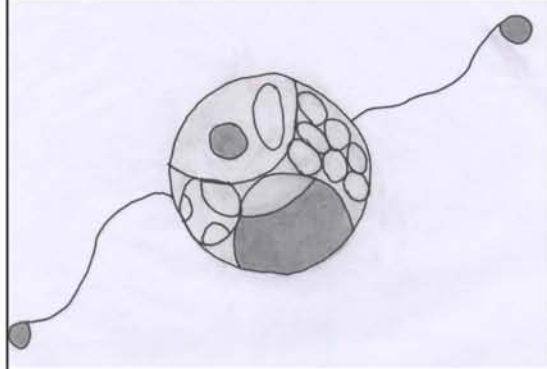
9. Flagelado sin color cuerpo ovalado, se desliza lentamente, dos flagelos desiguales, tiene un extrusoma en la parte superior en donde salen los flagelos. Tamaño 15 μm .



10. Flagelado sin color, con dos vacuolas contráctiles, cuerpo en forma ovalada y tiene un extrusoma que se alarga similar a un dedo, tiene dos flagelos desiguales que emergen de la parte anterior del cuerpo. Tamaño 10 μm .

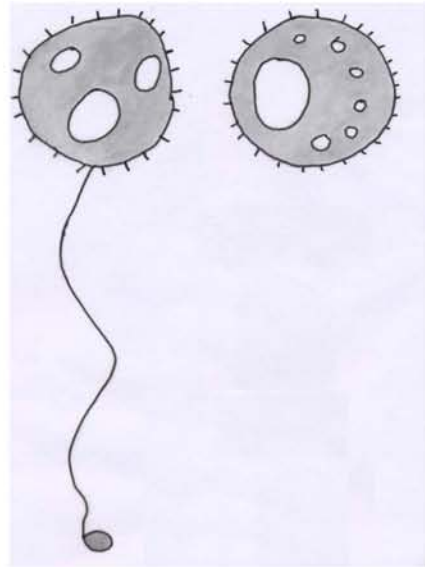


11. Biflagelado sin color, cuerpo totalmente redondo, se desliza poco, los flagelos posicionados opuestos lateralmente y tienen un engrosamiento al final de cada flagelos. Tamaño 10 μm .



Suelo Contaminado

12. Flagelado sin color, cuerpo esférico célula metabólica que puede deformarse a ovalada, con un solo flagelo que emerge de la parte posterior del cuerpo el cual tiene un movimiento muy rápido, además de tener un engrosamiento en la parte final. Tamaño 8 μm .



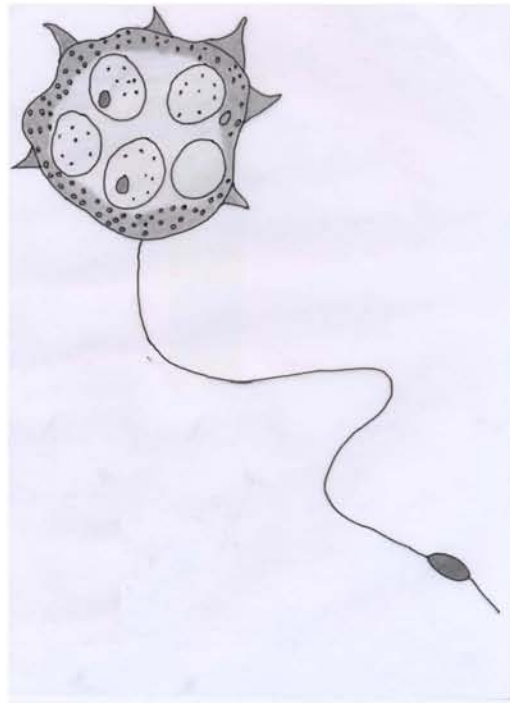
13. Flagelado sin color de cuerpo ovalado con una vacuola contráctil, tiene tres flagelos, dos de los cuales están insertados en el centro de la parte anterior y otro en el centro de la parte posterior del cuerpo con este se adhiere al sustrato (pedúnculo). Tamaño 10 μm .



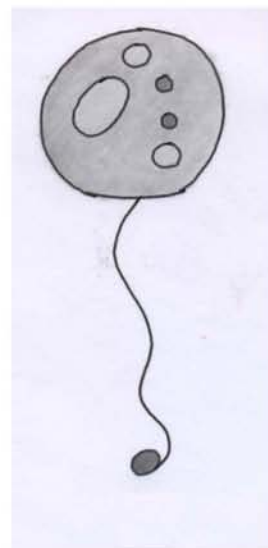
14. Flagelado sin color con una vacuola contráctil el cuerpo es ovalado rígido, dos flagelos desiguales, uno pequeño insertado en la parte anterior y otro grande situado en la parte posterior del cuerpo con este se adhiere al sustrato, cuando se suelta el flagelo se hace mas corto. Tamaño 6 μm .



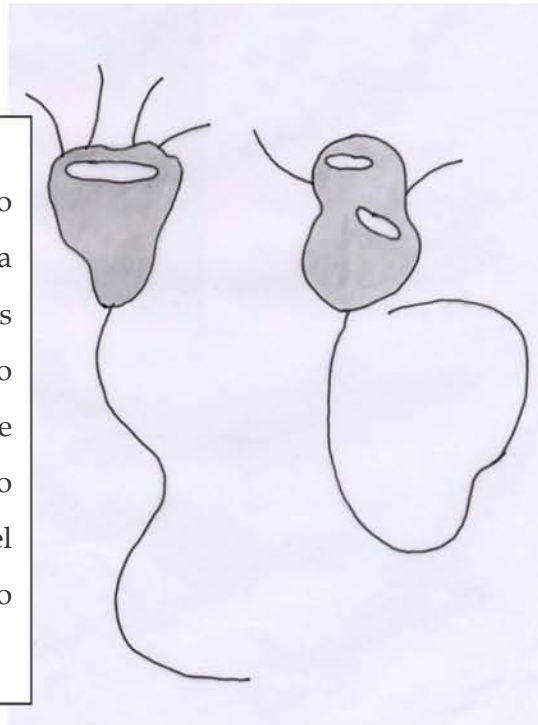
15. Flagelado sin color de cuerpo no rígido tipo ameboide con cinco vacuolas, dentro de una de estas se encuentra el núcleo, en el cuerpo tiene cuerpos pequeños alrededor, tiene protuberancias en forma de triángulos (parecieran ser extrusomas), con un solo flagelo largo (50 μ m) insertado en el centro de la parte inferior del cuerpo y tiene un engrosamiento casi al final, el movimiento del flagelo es lento. Tamaño 12 μ m.



16. Flagelado sin color de cuerpo esférico rígido, con una vacuola contráctil, con un solo flagelo que emerge del centro de la parte posterior del cuerpo y con un engrosamiento al final de este, el flagelo es corto. Tamaño 8 μ m.



17. Flagelado sin color cuerpo ameboide, célula metabólica con una vacuola, tiene cuatro flagelos pequeños en la parte superior del cuerpo pero cuando se mueve cambia y solo se observan dos, además tiene un flagelo grande situado en la parte posterior del cuerpo, se desliza lentamente. Tamaño $9\ \mu\text{m}$.



ANEXO 2

Frecuencia de especies del primer año

Suelo no contaminado

Especies	Abreviatura	Frecuencia
<i>Bodo saltans</i>	Bodosal	2
<i>Bodo sp</i>	Bodosp	8
<i>Cercomonas sp1</i>	Cercsp1	5
<i>Colpidium sp</i>	Colpisp	3
<i>Colpoda sp</i>	Colposp	2
<i>Goniomonas truncata</i>	Gonitru	5
<i>Heteromita sp</i>	Hetemsp	1
<i>Hexamita sp</i>	Hexasp	1
<i>Holosticha sp</i>	Holosp	1
<i>Katabia sp</i>	Katasp	1
<i>Litonotus sp</i>	Litonsp	1
<i>Loxodes sp1</i>	Loxosp1	15
<i>Loxodes sp2</i>	Loxosp2	1
<i>Notosolenus sp</i>	Notosp	1
<i>Proleptomonas sp</i>	Prolesp	1
<i>Rhynchomonas nasuta</i>	Rhynna	1
<i>Sainourus sp</i>	Sainosp	1
<i>Tachisoma sp</i>	Tachisp	1

Suelo contaminado

Especies	Abreviatura	Frecuencia
<i>Bodo saltans</i>	Bodosal	2
<i>Bodo sp</i>	Bodosp	7
<i>Cercomonas sp1</i>	Cercsp1	3
<i>Cercomonas sp2</i>	Cercsp2	1
<i>Cercomonas sp3</i>	Cercsp3	5
<i>Heteronema sp</i>	Hetersp	1
<i>Loxodes sp1</i>	Loxosp1	1
<i>Loxodes sp3</i>	Loxosp3	1
<i>Ocrhomonas sp</i>	Ochrhosp	8
<i>Oikomonas sp</i>	Oikomsp	2
<i>Paraphysomonas sp</i>	Parapsp	3
<i>Petalomonas sp</i>	Petalsp	1

Frecuencia de especies del segundo año

Suelo no contaminado

Especies	Abreviatura	Frecuencia
<i>Actinomonas sp</i>	Actinom	1
<i>Adriamonas sp</i>	Adriamo	1
<i>Allas sp</i>	Allas	1
<i>Anisonema sp</i>	Anisonm	1
<i>Bodo caudatus</i>	Bodocau	1
<i>Bodo saltans</i>	Bodosal	3
<i>Bodo sp</i>	Bodosp	2
<i>Bodopsis sp</i>	Bodopsi	1
<i>Cercomonas sp1</i>	Cercsp1	5
<i>Cercomonas sp2</i>	Cercsp2	1
<i>Chilomonas sp</i>	Chilomo	2
<i>Chroomonas sp</i>	Chroomn	2
<i>Entosiphon sp</i>	Entosip	1
<i>Goniomonas sp</i>	Gonisp	2
<i>Heterochlamydomonas sp</i>	Hetroch	2
<i>Heteromita sp</i>	Hetersp	2
<i>Mastigamoeba sp</i>	Mastiga	1
<i>Monosiga sp</i>	Monosig	4
<i>Ochromonas danica</i>	Ochroda	3
<i>Ochromonas sp</i>	Ochrosp	9
<i>Oikomonas sp</i>	Oikomsp	10
<i>Paramonas sp</i>	Paramon	1
<i>Paraphysomonas sp</i>	Parapsp	2
<i>Petalomonas sp</i>	Petalsp	2
<i>Phalasterium solitarium</i>	Phalaso	2
<i>Rynchobodo sp</i>	Rynchob	3
<i>sp1</i>	Sp1	1
<i>Sp2</i>	Sp2	1
<i>Sp3</i>	Sp3	1
<i>Sp4</i>	Sp4	1
<i>Sp5</i>	Sp5	1
<i>Sp6</i>	Sp6	2
<i>Sp7</i>	Sp7	1
<i>Sp8</i>	Sp8	1
<i>Sp9</i>	Sp9	1
<i>Sp10</i>	Sp10	1
<i>Sp11</i>	Sp11	1
<i>Spumella sp</i>	Spumell	6
<i>Urceolus sp</i>	Urceols	2

Suelo contaminado

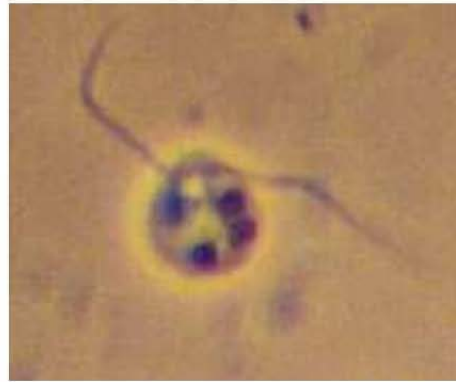
Especies	Abreviatura	Frecuencia
<i>Acinetactis sp</i>	Acineta	1
<i>Adriamonas sp</i>	Adriamo	1
<i>Bodo caudatus</i>	Bodocau	1
<i>Bodo saltans</i>	Bodosal	1
<i>Bodo sp</i>	Bodosp	2
<i>Bodomorpha sp</i>	Bodomor	4
<i>Bodopsis sp</i>	Bodopsi	2
<i>Cercomonas sp1</i>	Cercsp1	3
<i>Chilomonas sp</i>	Chilomo	1
<i>Colpoda mapasi</i>	Colpoma	1
<i>Colpoda sp</i>	Colposp	4
<i>Helkesimastix sp</i>	Helkesm	2
<i>Heteromita sp</i>	Hetersp	4
<i>Loxodes sp</i>	Loxops1	4
<i>Macapella sp</i>	Macapel	2
<i>Mastigamoeba sp</i>	Mastiga	1
<i>Microthorax sp</i>	Microto	1
<i>Monosiga sp</i>	Monosig	1
<i>Ochromonas sp</i>	Ochrhosp	4
<i>Oikomonas sp</i>	Oikomsp	1
<i>Parabodo sp</i>	Parabod	2
<i>Paraphysomonas sp</i>	Parapsp	2
<i>Petasaria sp</i>	Petasar	1
<i>Phalansterium solitarium</i>	Phalaso	5
<i>Pleuromonas sp</i>	Pleurom	1
<i>Polytomella sp</i>	Polytom	1
<i>Rynchobodo sp</i>	Rynchob	7
<i>Rynchomonas sp</i>	Rhychsp	1
<i>sp5</i>	Sp5	4
<i>sp7</i>	Sp7	1
<i>sp12</i>	Sp12	4
<i>sp13</i>	Sp13	2
<i>sp14</i>	Sp14	1
<i>sp15</i>	Sp15	1
<i>sp16</i>	Sp16	2
<i>sp17</i>	Sp17	1
<i>Spumella sp</i>	Spumell	4

ANEXO 3

Fotos de algunas especies de ciliados y flagelados. Microscopio de contraste de fases 40 y 100X.



Monosiga sp 100X



Heteromita sp 100X



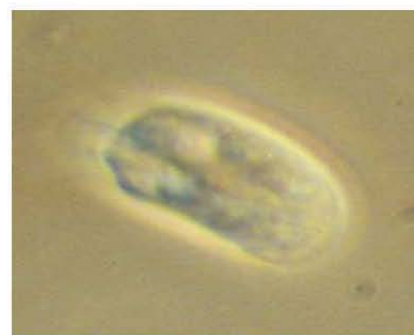
Loxodes sp 40X



Colpoda maupassi 40X



sp 17 100X



Microthorax sp 40x