



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

# POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Facultad de Ciencias

DIVERSIDAD DE PROTOZOOS  
CILIADOS EN CINCO BIOTOPOS DE  
CUEVAS DE MÉXICO

# TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE  
**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
(SISTEMÁTICA)**

P R E S E N T A

ITZEL SIGALA REGALADO

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: Dra. Rosaura Mayén Estrada

COMITÉ TUTOR: Dr. Fernando Álvarez Noguera  
Dr. Alfonso Lugo Vázquez

MÉXICO, D.F.

SEPTIEMBRE, 2011



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
FACULTAD DE CIENCIAS  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

OFICIO FCIE/DEP/402/11

ASUNTO: Oficio de Jurado

Dr. Isidro Ávila Martínez  
Director General de Administración Escolar, UNAM  
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **6 de junio de 2011** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (SISTEMÁTICA)** del (la) alumno (a) **SIGALA REGALADO ITZEL** con número de cuenta **300010181** con la tesis titulada "**Diversidad de protozoos ciliados en cinco biotopos de cuevas de México**", realizada bajo la dirección del (la) **DRA. ROSAURA MÁYEN ESTRADA**:

Presidente: DR. VÍCTOR MANUEL LUNA PABELLO  
Vocal: DRA. ELIZABETH ORTEGA MAYAGOITIA  
Secretario: DR. FERNANDO ÁLVAREZ NOGUERA  
Suplente: DR. FERNANDO NUNO DIAS MARQUES SIMOES  
Suplente: DR. ALFONSO LUGO VÁZQUEZ

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

**Atentamente**  
"POR MI RAZA HABLÁRA EL ESPÍRITU"  
Cd. Universitaria, D.F., a 25 de julio de 2011

*María del Coro Arizmendi*  
Dra. María del Coro Arizmendi Arriaga  
Coordinadora del Programa

MCAA/MJFM/ASR/grf\*



## AGRADECIMIENTOS

Agradezco primeramente al Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

A CONACYT, por el apoyo económico brindado durante toda la maestría.

Al Programa de Apoyos para Estudios de Posgrado, por el apoyo económico que me otorgó para asistir al VI Congreso de la Federación Espeleológica de América Latina y el Caribe, realizado en la ciudad de Matanzas, Cuba.

Agradezco profundamente el apoyo recibido por los miembros de mi comité tutorial, al Dr. Fernando Álvarez por su apoyo con la identificación de los crustáceos y al Dr. Alfonso Lugo por sus aportaciones en la parte ecológica. A ambos les agradezco por todos sus comentarios y sugerencias que enriquecieron mucho mi trabajo.

Y mi mayor agradecimiento a mi tutora principal, Dra. Rosaura Mayén, por brindarme todo su apoyo y guía en el trabajo taxonómico de los ciliados.

Agradezco además a toda mi familia y amigos, por todo el apoyo brindado.

# CONTENIDO

RESUMEN/ABSTRACT .....	1
INTRODUCCIÓN	
Las cuevas y la bioespeleología .....	3
Los ciliados como parte del grupo de los Protistas .....	5
Protozoos y su presencia en las cuevas .....	11
Sistema basibionte - epibionte .....	12
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	16
OBJETIVOS .....	16
HIPÓTESIS .....	17
METODOLOGÍA	
Trabajo en campo .....	18
Trabajo en laboratorio .....	19
Estadísticos .....	20
Grupos tróficos .....	20
ÁREA DE ESTUDIO .....	21
Cueva de La Joya	
<i>Situación geográfica</i> .....	22
<i>Descripción</i> .....	22
Grutas de Karmidas	
<i>Situación geográfica</i> .....	25
<i>Descripción</i> .....	26
Grutas de Huarimio	
<i>Situación geográfica</i> .....	26

<i>Descripción</i> .....	27
Grutas de Tziranda	
<i>Situación geográfica</i> .....	31
<i>Descripción</i> .....	31
Grutas de Galicia	
<i>Situación geográfica</i> .....	32
<i>Descripción</i> .....	34
Recolectas .....	36
RESULTADOS	
Ciliados de VIDA LIBRE .....	38
Ubicación taxonómica de las especies de ciliados de vida libre .....	38
Condiciones ambientales y riqueza específica registrada dentro de cada cueva	
<i>Cueva La Joya</i> .....	70
<i>Grutas de Karmidas</i> .....	72
<i>Grutas de Huarimio</i> .....	75
<i>Grutas de Tziranda</i> .....	76
<i>Grutas de Galicia</i> .....	78
Comparación de la diversidad de ciliados de vida libre registrados en todas las cuevas .....	81
<i>Mismos biotopos, diferentes cuevas</i> .....	83
<i>Condiciones ambientales y diversidad</i> .....	83
<i>Misma época del año, diferentes cuevas</i> .....	91
<i>Comparación global</i> .....	92
Ciliados EPIBIONTES .....	97
Ubicación taxonómica de las especies de ciliados epibiontes .....	97
Ubicación taxonómica de las especies de invertebrados basibiontes .....	98
Riqueza específica registrada dentro de cada cueva	

<i>Cueva La Joya</i> .....	103
<i>Grutas de Karmidas</i> .....	104
<i>Grutas de Huarimio</i> .....	104
<i>Grutas de Tziranda</i> .....	104
<i>Grutas de Galicia</i> .....	104
Comparación de la diversidad de ciliados epibiontes .....	105
Ecología .....	106
DISCUSIÓN .....	107
CONCLUSIONES .....	120
BIBLIOGRAFÍA .....	122

## ANEXOS

Anexo A. Muestras recolectadas en cada cueva

Anexo B. Condiciones ambientales de cada cueva

Anexo C. Distribución de las especies a lo largo de las cuevas

**RESUMEN**

El presente estudio tuvo el objetivo de registrar y comparar la diversidad de especies de ciliados en cinco cuevas de cuatro estados de la República Mexicana; La Joya (Guerrero), Grutas de Karmidas (Puebla), Grutas de Huarimio y Tziranda (Michoacán) y Grutas de Galicia (Veracruz). Dentro de cada cueva se muestrearon diferentes biotopos: agua, suelo, guano, musgo, y se consideró como un quinto biotopo a los invertebrados acuáticos. Se realizaron dos recolectas en época de secas y una en lluvias en cada cueva a lo largo del año 2009 (a excepción de Huarimio donde sólo se recolectó una vez y Tziranda donde hubo dos recolectas). Las muestras obtenidas se colocaron en frascos de vidrio estériles y tubos Falcon con una infusión estéril de chícharo. Los invertebrados se mantuvieron vivos hasta el laboratorio; los que no sobrevivieron se fijaron en alcohol al 70%. Se registraron algunas condiciones ambientales (temperatura, humedad y concentración de CO<sub>2</sub>) en cada punto de muestreo. En el laboratorio se realizaron cultivos con un coctel de infusiones (maíz, paja y arroz) y con el medio artificial Chalkley. Las muestras se observaron periódicamente al microscopio óptico. Para los ciliados epibiontes se disectaron los invertebrados recolectados y se observaron al microscopio óptico cada una de sus partes. Se realizó el registro morfométrico, gráfico y fotomicrográfico de todas las especies. Para la identificación de los ciliados de vida libre y epibiontes se utilizaron colorantes vitales y se elaboraron preparaciones permanentes con técnicas de tinción e impregnación argéntica. Se aplicaron índices de similitud (Jaccard) y de diversidad de Whittaker (para diversidad beta). Se registraron en total 51 especies de ciliados de vida libre, de los cuales 31 se registraron en La Joya, 16 en Karmidas, cinco en Huarimio, 18 en Tziranda y 15 en Galicia. En La Joya y Huarimio la mayor riqueza se registró en el guano, en Karmidas y Galicia el biotopo más diverso fue el musgo, mientras que en Tziranda fue el agua. La recolecta con mayor riqueza fue la realizada en octubre-noviembre para La Joya, Tziranda y Galicia. En Karmidas la recolecta más diversa fue la de junio. Las cuevas que resultaron ser más similares en cuanto a su composición específica fueron Karmidas y Galicia con 0.28 de similitud. Dos especies de ciliados se encontraron distribuidas en las cinco cuevas, ambas pertenecientes al género *Colpoda*. Se registraron cuatro ciliados epibiontes, cada uno adherido a un basibionte particular. De todas las especies registradas, nueve son nuevos registros en cuevas de México. Dos de estas especies tampoco se habían registrado en México en el medio epígeo. *Colpoda ecaudata* se registró previamente en cuevas pero no se ha encontrado en el medio epígeo. Este es el primer registro dentro de cuevas de todas las especies de epibiontes, y el primer registro para México de la especie *Pyxicola pusilla*. Se concluye que hay especies que poseen las características adecuadas para adaptarse y sobrevivir en varios biotopos de cuevas, por lo que más allá de la ubicación geográfica y la distancia a la que se encuentren una cueva de la otra, compartirán un conjunto de especies de ciliados.

**ABSTRACT**

This study aimed to record and compare the diversity of species of ciliates in five caves in four states of Mexico, La Joya (Guerrero), Caves of Karmidas (Puebla), Caves of Tziranda and Huarimo (Michoacán) and Caves Galicia (Veracruz). Within each cave different biotopes were sampled water, soil, manure, moss, and was considered as a fifth biotope aquatic invertebrates. Two samples were conducted during the dry season and rainy one in every cave during the year 2009 (with exception of Huarimio where only one field trip was done, and two for Tziranda). The collected samples were placed in sterile glass flasks and Falcon tubes with a sterile infusion pea. The invertebrates were kept alive until to laboratory, but those who did not survive were fixed in 70% alcohol. Some environmental conditions (temperature, humidity and CO<sub>2</sub> concentration) at each sampling point were recorded. In the laboratory, cultures were performed with a cocktail of herbal teas (corn, straw and rice) and the artificial environment Chalkley. The samples were periodically observed with light microscopy. For ciliate epibionts collected invertebrates were dissected and each one body parts also were observed. Morphometric data, graphic and photomicrographic details for all species was performed. For the identification of free-living ciliate epibionts we used vital and some supravital stains to reveal specific characteristics. Jaccard similarity index was applied and also diversity index of Whittaker (for beta diversity). A total of 51 species of free-living ciliates were found, from which 31 were observed in La Joya, 16 in Karmidas, five in Huarimio, 18 in Tziranda, and 15 in Galicia. In Huarimo and La Joya the richest biotope was guano, in Karmidas and Galicia the biotope most diverse was moss, while in Tziranda was water. The collection with the greatest wealth was held in October- November for La Joya, Tziranda and Galicia. In Karmidas wealth resulted both in June. The caves that were more similar in their species composition were Karmidas and Galicia with 0.28 similarity value. Two species of genus *Colpoda* were found distributed in the five caves. Four epibiont species ciliates were recorded, which were attached to a particular basibiont. Of all these species recorded, nine are new records in caves in Mexico. Two of these species have not been recorded in Mexico in the epigeal middle. *Colpoda ecaudata* previously registered in caves but not found in the middle epigeal. This is the first record in caves of all ciliate species of epibionts, and the first record for Mexico of *Pyxicola pusilla*. We conclude that there is a set of species that possess the right characteristics to adapt and survive in various habitats of caves, so that beyond the geographic location and distance to find a cave to another, share a set of species of ciliates.

## **INTRODUCCIÓN**

### **Las cuevas y la bioespeleología**

Desde el punto de vista espeleológico México es uno de los países más interesantes del mundo, ya que en casi todos los estados de la República existen cuevas disímboles en cuanto a tamaño, origen y constitución. Se calcula que existen más de 7000 cavernas en el país (Hoffmann *et al.*, 1986). Por su origen se pueden dividir en volcánicas (formadas durante los escurrimientos de lava) o cársticas (formadas cuando el agua disuelve las rocas calizas a lo largo de las fracturas, formando canales de drenaje y conductos subterráneos). Estas últimas son las más importantes en número y dimensiones. Hace 65 millones de años, durante el periodo Cretácico, la mayor parte de nuestro país se encontraba sumergido bajo el mar, formando una serie de cuencas profundas y plataformas limitadas por arrecifes de rudistas (bivalvos). Así, en prácticamente todo el territorio nacional se depositaron sedimentos (hasta en varios kilómetros de espesor) asociados a esta gran cadena de arrecifes, formados principalmente por carbonato de calcio procedente de las conchas de los rudistas, otros moluscos y organismos marinos. A principios del Terciario estos sedimentos, transformados en roca caliza, fueron plegados y rotos para formar las Sierras que actualmente observamos. Desde que las rocas calizas estuvieron expuestas a la erosión subaérea, el agua ha empezado a disolver y erosionar para trazar su cauce subterráneo (Espinasa, 1994).

En cuanto a sus características ambientales se pueden clasificar por su temperatura (templadas y tropicales), humedad, cantidad de agua que pueden contener, si son completamente secas o con ríos subterráneos, o si el agua es dulce, marina o son anquihalinas (que presentan una zona de encuentro e interacción de las aguas epicontinentales dulces y las marinas saladas) (Mejía-Ortiz, 2008).

Estas formaciones geológicas han sido aprovechadas por el hombre en numerosas ocasiones y de manera muy diversa durante el curso de su historia evolutiva. Su conocimiento es muy antiguo, incluso anterior a la conquista. Los aztecas les llamaban "ozotl" que significa cueva o gruta en náhuatl (Siméon, 1988). Para los pueblos

prehispánicos, la cueva simbolizaba el vientre de la Madre Tierra, una representación simbólica del útero-vagina de donde nacen todos los hombres y a donde van a morir. También son referidas como lugares de origen mítico de algunos dioses y entidades cosmogónicas. Por ejemplo la luna, según los mexicas, tuvo su origen en una cueva al ser creado el Quinto Sol; el cielo mismo fue creado en una gruta al juntarse los dioses Tezcatlipoca y Ehecatl, en el centro de la tierra. En las grutas habitaban seres poderosos como el rayo, el meteoro y el torbellino. Las cuevas podían ser la entrada al Inframundo, recintos funerarios, lugares de habitación, almacén de cosechas, puntos de vigilancia, refugios de emergencia, fuentes de agua, lugares de culto a los dioses, causantes de enfermedades, lugar para los rituales de transición o de curación y observatorios astronómicos, entre otros. Las refieren también como el corazón de la montaña o "Tepeyollotli". El primer uso que el hombre hizo de cuevas y túneles naturales fue el de habitación (Manzanilla, 1994; Palacios-Vargas, 2006).

En el aspecto ecológico, las cuevas tienen un importante papel en el ciclo hidrológico, ya que gran parte del agua dulce contenida en nuestro planeta se encuentra en el subsuelo y formando los mantos acuíferos subterráneos (Mejía-Ortiz, 2008). Además son refugio de diversos animales como mamíferos, aves, reptiles y artrópodos. Pero un número enorme de animales, más bien de pequeño tamaño, se han adaptado a vivir permanentemente en las cuevas constituyendo la verdadera fauna cavernícola, muy poco conocida. Los animales que la forman son en su mayoría de hábitos terrestres; sin embargo, cuando en el interior de la caverna existen depósitos o corrientes de agua, puede haber también diversos animales acuáticos, como peces, crustáceos y otros.

Las cuevas no representan por sí mismas ecosistemas aislados, sino que forman parte de los mismos, ya que la energía, casi en su totalidad proviene del exterior. Las hojas, ramas y suelo que lleva el viento a las cuevas o son arrastradas por corrientes de agua, constituyen una de las fuentes alimenticias más importantes. La otra fuente de igual provecho la provee el guano de los murciélagos (Hoffmann *et al.*, 1986). Es así que dentro de una cueva podemos caracterizar distintos biotopos (sustratos donde puede habitar una especie) como el agua, suelo, guano, musgo y animales (vertebrados e invertebrados) que aportarán diferentes nutrientes a las especies que viven en ellos (o dentro, como en el caso de algunos parásitos).

Al estudio científico de la vida cavernícola se le ha llamado bioespeleología (Hoffmann *et al.*, 1986). La primera expedición científica realizada en México para reunir información sobre la fauna de las cuevas la llevó a cabo Bilimek en 1867, quien describió 11 especies de artrópodos dentro de las grutas de Cacahuamilpa en el estado de Guerrero (Palacios-Vargas, 2006).

Para caracterizar a los organismos de cuevas se han hecho diferentes clasificaciones, una de las más utilizadas es la clasificación Racovitza, que incluye tres categorías: troglobios (*troglos* = cueva, *bios* = vida) que son formas adaptadas a vivir dentro de grutas y cuevas, restringidas a ellas; troglófilos (*troglos* = cueva, *filos* = amigo) que son animales que gustan de vivir en cuevas, pero que no presentan ninguna modificación y pueden ocupar otros medios biológicos, y troglóxenos (*troglos* = cueva, *xenos* = ajeno) que son organismos ajenos a las cuevas y que accidentalmente penetran a ellas (Hoffmann *et al.*, 1986). Otra clasificación fue propuesta por Christiansen (1962) quien considera cuatro categorías: troglóxeno (con la misma definición de la clasificación Racovitza), epigeomorfos (organismos que viven y se reproducen dentro de las grutas pero no muestran cambios morfológicos con respecto a la vida cavernícola, son oportunistas), ambimorfos (organismos que muestran algunas adaptaciones a la vida cavernícola, pero conservan la mayor parte de las características de los animales epigeos) y troglomorfo (animales en los que la mayor parte del cuerpo está modificada para la vida cavernícola).

A su vez los organismos acuáticos que viven en las cuevas pueden ser clasificados en estigobios, es decir, los animales altamente especializados que viven todo su ciclo de vida en aguas subterráneas; estigófilos, ubicados en aguas superficiales así como en aguas subterráneas, pero sin adaptaciones evidentes para la vida subterránea y los estigóxenos, organismos que aparecen sólo en raras ocasiones en aguas subterráneas (Mejía-Ortiz, 2008).

### **Los ciliados como parte del grupo de los Protistas**

Los protistas dominaron la vida en la Tierra hace aproximadamente  $1.5 \times 10^9$  años y han claramente continuado su evolución (Sleigh, 1979). Whittaker (1969) propuso un

sistema de división de los organismos en cinco Reinos, donde el Reino Protista agrupaba a organismos eucariontes, unicelulares o coloniales-unicelulares, incluyendo a protozoos, algas y hongos mucilaginosos. Posteriormente Margullis y Schwartz (1985) siguieron el sistema de clasificación en cinco reinos, pero retomando el término de Protoctista acuñado por Copeland (Scamardella, 1999) para denominar al mismo conjunto de organismos considerados como protistas por Whittaker (1969).

Actualmente se ha reconocido la artificialidad del grupo de los protistas, por lo que se han propuesto varios esquemas de clasificación como el de Corliss (2004) en el que se eleva a los protozoos al estatus de Reino. En esta propuesta, Corliss tiene como objetivo ofrecer una clasificación amigable, útil y comprensible para diferentes especialistas y biólogos en general; para su elaboración incorporó líneas taxonómicas tradicionales pero también datos ultraestructurales y moleculares (principalmente la secuencia del ARN ribosomal de algunos organismos), aunque algunos taxa conservan su carácter de parafiléticos y polifiléticos. Los Reinos de organismos eucariontes que engloba en el Dominio Eucarya (propuesto por Woese *et al.*, 1990) son Archezoa, Protozoa, Chromista, Plantae, Fungi y Animalia.

Los protozoos fueron descubiertos por Antonius van Leeuwenhoek en el siglo XVII, quien describió varios protozoos de vida libre y parásitos, asignándoles el nombre de "animáculos" por su tamaño y movimiento. A partir de 1674, este microscopista holandés envía las primeras observaciones del género *Euglena* a la Royal Society of London y dos años más tarde inicia la descripción de varias especies de protozoos, principalmente de agua dulce (Aladro-Lubel, 2006; Corliss, 2002a). En 1820 el naturalista alemán, Georg A. Goldfuss, introdujo el término Protozoa (primeros animales, del griego *proto*= primero y *zoon*= animal) a la literatura científica como una clase de organismos dentro del Reino Animal.

Corliss (1994) caracteriza el Reino Protozoa como organismos en general unicelulares, a veces plasmodiales o coloniales, fagotróficos, sin color ni pared celular en el estado trófico. Presentan muy diversas formas, desde alargados, reniformes, piriformes, estrellados, entre otras. El reino incluye especies fotosintetizadoras (algunas mixotróficas) que típicamente poseen cloroplastos citosólicos con tilacoides, sin almidón y usualmente rodeados de tres membranas. En general presentan mitocondrias tubulares, o bien, hidrogenosomas, cuerpos de Golgi y peroxisomas. Su movimiento es por medio de

flagelos, cilios o pseudópodos. Si presentan mastigonemas en los flagelos nunca son rígidos ni tubulares. La mayoría son de tamaño microscópico. Muchos son de vida libre y otros son simbiosis. El cálculo aproximado de protozoos fue de 83,000 especies contemporáneas y fósiles (Corliss, 2002b).

Los ciliados están entre los cinco grupos mayores de protistas en términos del número de especies (Corliss, 2004). Existen más de 8,000 especies de ciliados que incluyen formas de vida libre, cerca de 200 especies fósiles y 3,000 simbióticas (Lynn, 2008). Los ciliados están agrupados en el Phylum Ciliophora (Reino Protozoa, según Corliss 1994) e integran un grupo natural aislado de otros protistas por un número de características especializadas de su película y núcleo.

Los ciliados varían en forma y tamaño. Hay especies pedunculadas y coloniales que tienen formas inusuales, pero en general las formas son esféricas, cónicas y cilíndricas, que pueden ser aplanadas dorsoventralmente. La forma del cuerpo es relativamente permanente dado que la corteza está apoyada en un citoesqueleto complejo con microtúbulos y microfilamentos. Los ciliados varían también en tamaño, van desde los 10  $\mu\text{m}$  en las formas más pequeñas, hasta 4,500  $\mu\text{m}$  en las formas alargadas y contráctiles.

Una de las características por las cuales se distinguen es por la presencia de cilios, variables en número y arreglo. Los cilios son derivados de cinetosomas con tres microfibrillas o asociados fibrilares (la fibrilla cinetodesmal, la cinta microtubular posciliar, y la cinta microtubular transversal), y se encuentran acomodados en hileras llamadas cinetias. Los miles de cilios en la superficie celular, son coordinados por un acoplamiento hidrodinámico que se manifiesta en las ondas metacrónicas que se observan pasando a lo largo de la superficie celular. El axonema ciliar tiene una estructura de microtúbulos 9 + 2 y se une a la membrana ciliar. La mayor fuerza del batido ciliar deriva de la activación de los nueve dobletes microtubulares periféricos, manejados por motores de dineína y ATP (Lynn, 2008).

Ha habido una gran evolución en el patrón de ciliatura, que refleja la diversidad ecológica dentro del Phylum. Los cilios pueden formar estructuras somáticas compuestas más complejas, como los cirros, que son conjuntos de muchos cilios que actúan como una unidad, sin tener una membrana especial que los envuelva, y se presentan en grupos como los hipotricos.

En muchas especies los cilios especializados para la alimentación (la ciliatura oral) que suelen encontrarse alrededor del citostoma, pueden estar también agrupados en estructuras compuestas. En general la organización oral tiene un conjunto de policinetias adorales o membranelas en el lado izquierdo de la región oral. En la Clase Prostomatea, la evidencia ultraestructural sugiere que estas policinetias se desarrollaron de un primordio paroral que migró y rodeó la región del citostoma. Para las Clases Litostomatea y Phyllopharyngea, se ha propuesto que la ciliatura oral "original" se ha perdido y las dicinetias orales que ahora vemos, han derivado de la "oralización" de las cinetias somáticas (Lynn, 2008).

Otro arreglo que pueden formar los cilios orales, es la zona adoral de membranelas, que consiste en tres o más policinetias acomodadas en series a lo largo del lado izquierdo de la región oral. Este arreglo ha evolucionado por convergencia en diferentes grupos de ciliados (como heterotricos y espirotricos). Otro posible arreglo es la membrana paroral, en la cual los cilios forman una membrana tipo ondulante y que se observa en la Clase Oligohymenophorea (Lynn, 2008).

Los ciliados se caracterizan también por ser heterocariontes y poseer dos tipos de núcleo. El macronúcleo es más grande y en general se encuentra en menor número (aunque puede ser sencillo, como en tintínidos, tener dos nódulos, como en algunos hipotricos, o en espirotricos pueden tener hasta una docena), es altamente poliploide y es el encargado de coordinar las funciones somáticas. El micronúcleo es más pequeño, se encuentra en mayor número y suele ser diploide, es el encargado de las funciones sexuales (Lynn, 2008; Sleigh, 1979).

La vacuola contráctil osmoregulatoria de los ciliados es de las más elaboradas y organizadas dentro de los protistas, incluye estas complejas vesículas y canales, que completan un ciclo con las fases de sístole y diástole. La mitocondria es también un organelo prominente, típicamente de varios micrómetros de largo y una de ancho, que se encuentra distribuida en la corteza de los ciliados, por debajo de las crestas corticales y en asociación cercana al epiplasma. También cerca de la corteza, justo debajo de la membrana plasmática se ubican los alveolos corticales, que son vesículas o sacos delimitados por una membrana.

En la corteza somática pueden presentar una variedad de extrusomas, ligados a la membrana y que son sintetizados por el sistema del retículo endoplásmico - aparato de

Golgi. Estos extrusomas son transportados a la corteza celular y estimulados por cambios iónicos para fusionarse con la membrana plasmática. Su función consiste en la protección y en la captura de presas. Existen diferentes tipos, tales como los mucocistos, tricocistos y toxicistos (Lynn, 2008).

En la región oral se encuentra el citostoma, que es la apertura por la cual entra el alimento. Puede estar abierta directamente al exterior o estar hundido en una depresión o cavidad oral de algún tipo (como el atrio o vestíbulo). El alimento es procesado dentro de vacuolas alimenticias, donde se lleva a cabo la digestión. Los ciliados son heterótrofos, presentan un amplio intervalo de hábitos alimenticios. Pueden alimentarse de partículas en suspensión, bacterias, algas unicelulares e incluso otros ciliados.

Dentro de los ciliados podemos encontrar dos formas de vida, los libres nadadores y los sésiles; éstos últimos poseen estructuras que se adhieren a diferentes sustratos, por ejemplo el pedúnculo, el cual puede ser contráctil conteniendo un espasmonema, con proteínas especiales que le confieren esta propiedad, o ser no contráctiles. Estas estructuras de adhesión se encuentran en grupos como los conotricos, suctores y peritricos. Dentro de los peritricos se pueden presentar además diferentes niveles de organización, como son los individuos solitarios, las pseudocolonias y los coloniales (Lynn, 2008).

El ciclo de vida incluye un ciclo asexual durante el cual ocurre el crecimiento y división celular y un ciclo sexual donde ocurre el intercambio de material genético entre los conjugantes. Otra característica propia de los ciliados es que realizan un proceso sexual conocido como conjugación, en la cual las células parentales se fusionan temporalmente para intercambiar el núcleo gamético. Tienen un plano de división ecuatorial en la fisión binaria homotetogénica (Lynn, 2008; Sleight, 1979).

Una variación adaptativa involucra la presencia o ausencia del ciclo criptobiótico (durante el cual el organismo forma un quiste resistente) y relacionado a éste, diferencias en la sobrevivencia de las etapas de no-enquistamiento. Las formas de los quistes son diversas, estimuladas por una variedad de condiciones para el enquistamiento y exquistamiento, y un complejo conjunto de cambios fisiológicos, por ejemplo, el "disparo" por los genes de expresión, acompañando del desarrollo del estado criptobiótico (Gutiérrez *et al.*, 1990; Lynn, 2008).

Otras estructuras extracelulares que se presentan en grupos como los tintínidos, foliculínidos y peritricos, son las lorigas. Estas estructuras envuelven la célula, tienen una apertura anterior, y generalmente se adhieren al sustrato por el extremo antapical. Pueden ser calcáreas o estar compuestas por algunas secreciones de proteínas y mucopolisacáridos, incluyendo quitina, pseudoquitina o tectina. También pueden incorporar diversos materiales como granos de arena, frústulas de diatomeas y cocolitos, entre otros (Lynn, 2008).

Los ciliados están distribuidos en una diversidad de hábitats. Se encuentran en los océanos de todo el mundo, en el plancton, en las costas, en sedimentos someros y profundos, e incluso en el hielo (Alekperov *et al.*, 2006; Vallesi *et al.*, 2010). Se encuentran también en una variedad de cuerpos de agua dulce, estanques, ríos, arroyos, lagunas hipersalinas y lagos (Esteban y Finlay, 2003; Finlay *et al.*, 1996; Foissner, 1999; Kreutz y Foissner, 2006). Colonizan ambientes semi-terrestres estableciéndose en musgo (Mieczan, 2009; Vd'áčny y Tirjaková, 2006). Pueden ser también encontrados en el líquido que se acumula en las hojas de las plantas, como en el caso de las bromelias (Durán, 2010). A pesar de esto, algunos autores consideran que la riqueza de especies globales de ciliados es relativamente baja (Finlay *et al.*, 1998).

Ocupan una gran variedad de nichos ecológicos. Sirven como puente en las redes tróficas y son considerados los fagótrofos más abundantes en la biosfera y junto con los flagelados (y en menor medida las amibas), fungen como los mayores mediadores del reciclaje de nutrientes en los ecosistemas (Corliss, 2002b; Lynn, 2008). La composición y diversidad de especies de ciliados han sido usadas como bioindicadores del estado de los ecosistemas (Lynn, 2008). Los ciliados bacterívoros son particularmente importantes en las plantas de tratamiento de agua porque mantienen la calidad del efluente, pueden reducir diez veces la densidad de bacterias por medio de su alimentación (Decamp y Warren, 1998; Lynn, 2008).

## Protozoos y su presencia en las cuevas

Las investigaciones bioespeleológicas se han enfocado a estudiar la gran diversidad de la fauna cavernícola, pero los trabajos acerca de protozoos han sido escasos, a pesar de la importancia ecológica de estas especies.

La colonización de una cueva por protozoos es a través de corrientes de agua, aire o por la intermediación de otras especies (e incluso por el hombre) y pueden ingresar como quistes o como trofozoítos (Golemansky y Bonnet, 1994). Sin embargo, según algunos autores, no hay ningún troglobio estricto, lo que se basa en que los registros de protozoos cavernícolas han sido documentados también en ambientes terrestres y acuáticos epígeos, además de la falta de particularidades adaptativas morfológicas, biológicas y ecológicas en relación con su vida dentro del biotopo subterráneo; es por esto que más bien son considerados como epigeomorfos (Golemansky y Bonnet, 1994; Hoffmann *et al.*, 1986).

En México se tienen registros de varios taxa de protozoos en cuevas de San Luis Potosí y Guerrero, que corresponden a ocho especies de flagelados, tres de amibas desnudas y cuatro de amibas testadas, 14 especies de ciliados y una especie de heliozoo (Osorio-Tafall, 1943; Hoffmann *et al.*, 1986). Más recientemente, Sigala-Regalado y Mayén-Estrada (2008) registraron 10 especies, seis de ciliados, dos de amibas desnudas, una de amiba testada y un heliozoo dentro del Sistema Xalltégoxtli I, Puebla. En la cueva de los Riscos, Querétaro se registraron 44 especies de protozoos (siete géneros de flagelados, 20 especies de ciliados, ocho géneros de amibas desnudas y ocho de testadas, y una especie de heliozoo) distribuidos en diferentes sustratos (Sigala-Regalado, 2008; Sigala-Regalado *et al.*, en prensa).

Los géneros de ciliados de vida libre y sésiles que han sido registrados en cuevas de Europa y Asia (Yugoslavia, Checoslovaquia, Francia) y América del Norte (Estados Unidos), tanto de agua dulce como anquihalinas, son *Chilodonella*, *Paramecium*, *Cyclidium*, *Glaucoma*, *Colpoda*, *Halteria*, *Stylonychia*, *Oxytricha*, *Euplotes*, *Spirostomum* y *Vorticella*, encontrados en diferentes biotopos como agua, suelo, guano y musgo (Golemansky y Bonnet, 1994; Hill *et al.*, 1986).

### **Sistema basibionte - epibionte**

La epibiosis es una asociación facultativa en la que participan el epibionte (organismo que crece adherido a una superficie viva y si se presenta un intercambio trófico es facultativo) y el basibionte (organismo que funciona como sustrato, que es hospedero del epibionte). Es una interacción típicamente acuática, aunque se ha encontrado ocasionalmente en ambientes terrestres, en donde generalmente se restringe a climas húmedos y a algunos organismos epibiontes resistentes adaptados a enfrentarse a la falta de agua y nutrientes (Wahl, 1989).

El establecimiento de un epibionte sobre un sustrato responde a propiedades de la superficie como rugosidad, grado de humedad, color, exudados de los primeros colonizadores o del basibionte, y condiciones ambientales como los niveles de irradiación o microhidrodinámicas. Esta interacción brinda ventajas al epibionte como la dispersión y la posibilidad de expansión geográfica, un incremento en el abastecimiento de nutrientes y protección contra la depredación. Por otro lado, las desventajas serían, la ontogenia y cambios de comportamiento del basibionte (Fernandez-Leborans, 2009).

Los basibiontes se pueden beneficiar de la presencia de sus epibiontes por efectos como el camuflaje óptico y químico, limpieza, reducción de la fricción, protección contra la desecación e irradiación perjudicial, o defensa asociativa. En contraste, esta asociación puede ser desventajosa al restringir la movilidad del basibionte, afectar el crecimiento y la muda, incrementar su peso, decrecer su flexibilidad y afectar el funcionamiento de varios órganos (ojos, branquias, apéndices). Pueden también causar un incremento en el riesgo de depredación y bloquear el acceso a la luz y a moléculas disueltas. El epibionte y basibionte pueden también competir por comida (Fernandez-Leborans, 2009; Wahl y Mark, 1999).

De acuerdo a Wahl y Mark (1999) la mayoría de los epibiontes exhiben baja especificidad hacia el sustrato, por lo que pueden colonizar una gran variedad de ellos, como animales acuáticos, tales como crustáceos y chinches (Lindley, 1978; Mariño-Pérez *et al.*, 2010; Mayén-Estrada y Aladro-Lubel, 1998), algas y plantas sumergidas, entre otros.

Los crustáceos son un grupo de animales mandibulados que, como todos los artrópodos, presentan su cuerpo revestido de un exoesqueleto quitinoso, con depósitos

calcáreos, propiciando en algunos taxa, el endurecimiento del caparazón. El cuerpo presenta tres tagmas, un cefalón o cabeza, un tórax y un abdomen. Presentan apéndices locomotores caminadores (pereiópodos) y nadadores (pleópodos). En general tienen dos pares de apéndices prebucales que forman el primer y segundo par de antenas y numerosos pares de apéndices posbucales (mandíbulas, maxilulas y maxilas) (Brusca y Brusca, 2003; Vázquez-García y Villalobos, 1987).

Uno de los órdenes de crustáceos más comunes en muchos ambientes acuáticos son los decápodos, donde se incluyen los cangrejos, jaibas, camarones y acociles. Presentan tres pares de maxilípedos dejando cinco pares de pereiópodos unirramios y funcionales o débiles birramios (de ahí el nombre, Decapoda). Uno o más pares de los pereiópodos anteriores presentan quelas (Brusca y Brusca, 2003).

De las siete familias que integran los decápodos dulceacuícolas mexicanos, la Pseudothelphusidae resalta como la de mayor riqueza específica, con 57 especies, seguida de la Cambaridae con 55. Casi todas las especies de pseudotelfúsidos reconocidas hasta ahora (96%) son endémicas de nuestro país, las cuales se han distribuido siguiendo un patrón estrictamente neotropical, aunque algunas de ellas se han extendido por la vertiente occidental (Villalobos-Hiriart y Álvarez, 2008).

En México se conocen hasta ahora 53 especies neárticas de acociles de la familia Cambaridae, pertenecientes a dos géneros: *Procambarus*, albergando 43, y *Cambarellus*, con nueve especies (Rodríguez-Almaraz y Muñiz-Martínez, 2008). Las especies mexicanas de acociles se localizan principalmente en la vertiente del Golfo de México, pero algunas especies son habitantes de ambientes dulceacuícolas del occidente de México (Rodríguez-Almaraz y Muñiz-Martínez, 2008).

Los isópodos no presentan caparazón y se caracterizan por tener el primer toracómero fusionado con la cabeza y siete pares de pereiópodos unirramios. Los pereiópodos son birramios y pueden estar modificados como ambulatorios, prensiles o natatorios (Brusca y Brusca, 2003). El suborden Oniscidea incluye alrededor de 5 000 especies que han invadido la tierra, debido principalmente a su desarrollo directo, forma aplanada, capacidades osmoregulatorias, cutícula engrosada y pseudotráqueas para el intercambio gaseoso.

Después de los arácnidos, los crustáceos ocupan el segundo lugar en cuanto a riqueza específica y diversidad dentro de cuevas en México (Reddell, 1981) y son los

organismos dominantes en los ecosistemas acuáticos subterráneos (Brusca y Brusca, 2003). Se han registrado organismos de las clases Ostracoda, Branchiopoda, Maxillopoda (subclases Branchiura y Copepoda), y Malacostraca (en particular en el Orden Decapoda y en la familia Mysidae, dentro del Orden Mysida) que incluyen especies troglobias (Reddell, 1981; Martin y Davis, 2001).

Dentro del Orden Decapoda, los miembros de la familia Pseudothelphusidae se han registrado en cuevas de Sonora, Veracruz y Chiapas (Reddell, 1981), habiendo un registro de la especie *Pseudothelphusa mexicana* en la Cueva La Joya (localidad tipo) Taxco Guerrero y en Valle de Bravo (Nanchititla, municipio de Tejupilco) en el Estado de México (Álvarez-Noguera, 1987; Villalobos-Hiriart y Álvarez, 2008). De la familia Cambaridae existen registros en cuevas de Chiapas, San Luis Potosí, Hidalgo, Puebla, Oaxaca y Veracruz (Reddell, 1981). Se ha registrado la presencia de la especie *Procambarus (Villalobosus) cuetzalanae* en la Cueva de Tasalolpan (localidad tipo), río Tecuantepec a 5km de Cuetzalan, Puebla (López-Mejía, 2008).

Representantes del Orden Isopoda también han sido encontrados en cuevas. Se han registrado isópodos de la familia Trichoniscidae en cuevas de Chiapas, San Luis Potosí, Nuevo León, Tamaulipas, Veracruz (en cuevas cerca de Córdoba y Orizaba) y Yucatán (Reddell, 1981).

El grupo más numeroso dentro del Phylum Arthropoda es el subphylum Hexapoda, que comprende a los insectos, colémbolos, proturos y dipluros. Se caracterizan por poseer tres tagmas, la cabeza, el tórax y el abdomen. Presentan tres pares de patas torácicas, un par de antenas, tres juegos de partes bucales (mandíbulas, maxilas y labium), y un sistema aéreo de intercambio de gases compuesto por tráqueas y espiráculos. Son fundamentalmente terrestres, aunque algunos grupos han invadido secundariamente el ambiente acuático, por medio de adaptaciones y modificaciones a su sistema de respiración y su comportamiento (Brusca y Brusca, 2003).

Los insectos son el grupo de artrópodos cavernícolas que más ha sido estudiado en todo el mundo. De México se han citado alrededor de 760 especies, principalmente de los órdenes Collembola, Diplura, Dictyoptera, Orthoptera y Coleoptera (Hoffmann *et al.*, 1986).

De los dipluros se han citado en México 11 especies de las familias Campodeidae, Japygidae y Parajapygidae. Algunos son depredadores, pero la mayoría se alimentan de

detritus. Son presa de una gran cantidad de artrópodos. En cuanto al Orden Hemiptera se han citado unas 63 especies de chinches agrupadas en 25 familias, pero muchas de ellas son de las entradas de las grutas y cenotes. Los escarabajos, agrupados en el Orden Coleoptera, son los insectos mejor representados en los medios cavernícolas de todo el mundo. En la República Mexicana se han citado cerca de 270 especies, pertenecientes a 51 familias diferentes. Las más importantes por su diversidad dentro de las grutas son la Carabidae, Histeridae, Leiodidae, Scarabaeidae, Staphylinidae y Tenebrionidae (Hoffmann *et al.*, 1986).

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En México se han desarrollado estudios de protozoos en cuerpos de agua dulce, marina, suelos e inclusive en plantas de tratamiento de agua, sin embargo sus registros en el ambiente subterráneo son escasos, a pesar del gran número de cuevas que existen en el país. Siendo los ciliados una parte elemental dentro de la red trófica, su estudio es de importancia ecológica y los resultados obtenidos podrían utilizarse a futuro para proyectos de conservación.

## **OBJETIVOS**

General:

Contribuir al conocimiento de las especies de ciliados que habitan en cuevas de distintos estados de la República Mexicana.

Particulares:

- Identificar, registrar y comparar las especies de ciliados que habitan en cinco biotopos de cuevas de México
- Caracterizar las comunidades de ciliados de cada biotopo (agua, suelo, guano, musgo e invertebrados acuáticos)
- Comparar la riqueza específica, diversidad alfa y beta de las poblaciones de ciliados en las diferentes cuevas
- Medir algunas variables ambientales como temperatura, humedad y CO<sub>2</sub> para conocer el medio donde viven los ciliados

## **HIPÓTESIS**

Dado que los ciliados son organismos que han logrado colonizar prácticamente todos los ambientes (tanto acuáticos como terrestres) es de esperarse que se encuentren también dentro del ambiente cavernícola, a pesar de las restricciones ambientales que éstos presentan, como la falta permanente de luz y la reducida cantidad de nutrientes.

En cuanto a los diferentes biotopos estudiados, se espera encontrar algunas especies en común entre ellos, pero siendo mayor el número de especies exclusivas para cada sustrato, ya que habrá una diferencia al menos en la cantidad de humedad y luz que harán que cada biotopo funcione como un microhábitat diferente. Es por esto que se espera que el musgo presente la mayor diversidad de especies, ya que sólo puede crecer en una zona iluminada y por sí mismo podrá proveer suficientes nutrientes.

Por la gran distancia geográfica que separa a las cuevas estudiadas, se espera que su composición específica sea diferente.

## METODOLOGÍA

### Trabajo en campo

Se realizaron recolectas para cubrir dos temporadas climáticas (secas y lluvias) a lo largo de un año en cinco cuevas: La Joya (Guerrero), Grutas de Karmidas (Puebla), Grutas de Huarimio (Michoacán), Grutas de Tziranda (Michoacán) y Grutas de Galicia (Veracruz).

*Ciliados de vida libre.* En cada cueva se tomaron muestras de agua, suelo, guano y musgo (que corresponden a los diferentes biotopos) con cucharas pequeñas de metal estériles y pinzas, las cuales se colocaron en frascos de vidrio estériles con capacidad de 50 ml. Además se recolectaron 2 ml de muestra de cada biotopo en tubos Falcon de 15 ml, que contenían 10 ml de infusión de chícharo previamente preparada y esterilizada. En cada zona donde se recolectó un biotopo se registraron los factores fisico-químicos ambientales como la temperatura, humedad y concentración de CO<sub>2</sub> con un calibrador atmosférico TSI IAC-CALC. Para el caso del agua se midió además el pH (tiras indicadoras), la concentración de O<sub>2</sub> disuelto y la temperatura (oxímetro YSI 55). Para prevenir una infección por el hongo guanobio *Histoplasma capsulatum*, todo el tiempo que se permaneció dentro de las cuevas se portaron mascarillas industriales (Milter ® 3M 8210 N59).

En cada una de las recolectas se procuró obtener todos los biotopos, sin embargo no en todas las cuevas fue posible. Para el agua y suelo se tomó muestra de la zona más profunda a la que se tuvo acceso. En las cuevas más grandes se tomaron además algunas muestras extra de las zonas que se consideraron más representativas. El musgo se obtuvo de la zona de penumbra. Para recolectar el guano se seleccionó el lugar con mayor abundancia y con apariencia más fresca.

*Ciliados epibiontes.* En cada cueva se recolectaron con redes para acuario los invertebrados acuáticos observados a lo largo de la recolecta, teniendo cuidado de no afectar las poblaciones. Los isópodos fueron recolectados con pinceles. Los coleópteros terrestres se recolectaron manualmente. Los animales se colocaron en frascos de vidrio de diversas capacidades y fueron trasladados vivos al laboratorio; se dejaron los frascos

abiertos, con un poco de sustrato y agua. Los ejemplares que no sobrevivieron se fijaron inmediatamente en alcohol etílico al 70%.

### **Trabajo en laboratorio**

*Ciliados de vida libre.* Se tomó parte de la muestra original de cada biotopo y se cultivó en cajas de cultivo de tejidos con una mezcla (coctel) de infusiones naturales (maíz, arroz y paja) y en cajas de Petri con medio artificial (Chalkley) (Lee y Bovee, 1985). Las muestras originales fueron mantenidas únicamente con agua destilada hervida. Todas las muestras (a excepción del musgo) se mantuvieron en total obscuridad dentro de una estufa a 25° C. Los cultivos y muestras originales fueron revisados periódicamente al microscopio óptico, así como las preparaciones permanentes realizadas. En algunos casos se utilizó bicloruro de magnesio para reducir el movimiento de los organismos y poder observar mejor sus estructuras. De las especies encontradas se realizó el registro gráfico, morfométrico y microfotográfico. Se elaboraron preparaciones permanentes con la técnica argéntica de Klein (Kudo, 1971) y la de protargol (Silva-Neto, 2000). Adicionalmente se montaron con bálsamo de Canadá las preparaciones temporales de gotas teñidas con tinciones vitales como verde de metilo, que se dejaron secar, se enjuagaron con agua destilada para eliminar el colorante residual y se dejaron nuevamente secar para su posterior montaje.

*Ciliados epibiontes.* Se realizó el sacrificio y la disección de los invertebrados al microscopio estereoscópico, manteniendo el organismo en agua destilada. Se revisaron diferentes estructuras del cuerpo tanto externas (pleópodos, pereiópodos, urópodos y estructuras bucales) para crustáceos, (patas y aparato bucal) para insectos, así como internas (las branquias de crustáceos). Cada región corporal separada se observó al microscopio óptico en un portaobjetos excavado, con una gota de agua para mantener vivos a los ciliados epibiontes. Se realizó el registro gráfico, morfométrico y fotomicrográfico de las especies. Cada estructura que presentó epibiontes fue conservada en tubos eppendorf con alcohol al 70% para la posterior realización de técnicas micrográficas como hematoxilina de Harris (Kudo, 1971), carbonato de plata piridinada (Fernández-Galiano, 1976), Chatton y Lwoff (1930) y Protargol (Foissner, 1991).

Todas las preparaciones permanentes realizadas se catalogaron e incorporaron a la colección del Laboratorio de Protozoología de la Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.

Para la identificación de los protozoos se consultó a Berger (1999), Borror y Hill (1995), Corliss (1979), Curds (1975), Foissner (1993), Foissner *et al.* (1991, 1992, 1994, 2002), Kahl (1930-1935), Lee *et al.* (2000), Lynn (2008), Matthes y Guhl (1973), Matthes *et al.* (1988), Trueba (1978), Warren (1986) y Wu y Curds (1979).

### **Estadísticos**

Se calculó el coeficiente de Jaccard, basado en datos de presencia-ausencia para medir el grado de similitud de las comunidades de protozoos entre los biotopos y entre cuevas. Para la comparación de la dispersión y simetría de los datos de las condiciones ambientales entre biotopos se utilizaron diagramas de cajas (PAWS Statistics 18). Para estimar la diversidad beta entre las cuevas estudiadas se utilizaron los índices de Whittaker y de Harrison *et al.* (Hammer *et al.*, 2001; Magurran, 2006; Past.Ink Software).

### **Grupos tróficos**

Se realizó una categorización de todas las especies de ciliados registradas, dentro de diferentes grupos tróficos, de acuerdo a la propuesta de Lynn (2008). Los ciliados se clasificaron en:

- bacterívoros, que se alimentan exclusivamente de bacterias
- bacterívoros-detritívoros, que ingieren bacterias y detritos
- bacterívoros-carnívoros, que pueden alimentarse tanto de bacterias como de otros protozoos
- omnívoros, que ingieren detritos, algas, bacterias y protozoos.

## ÁREA DE ESTUDIO

Las cuevas se encuentran localizadas en cuatro estados de la República Mexicana: Puebla (Grutas de Karmidas, municipio de Zapotitlán de Méndez), Veracruz (Grutas de Galicia, municipio de Ixtaczoquitlán), Guerrero (Cueva La Joya, municipio de Taxco) y Michoacán (Grutas de Huarimio, municipio de Huetamo y Grutas de Tziranda, municipio de Ciudad Hidalgo) (Fig. 1).



**Figura 1.** Ubicación geográfica de las cuevas estudiadas.

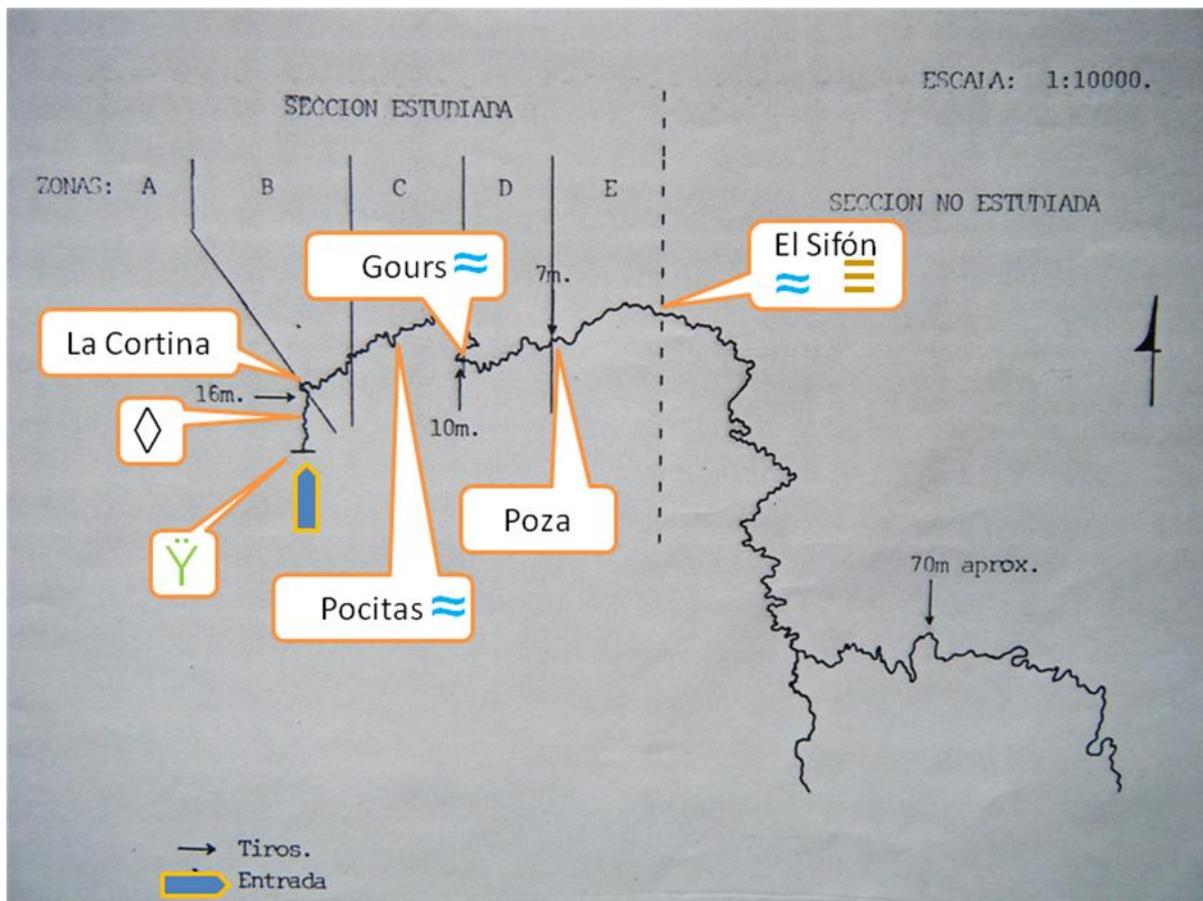
## **Cueva La Joya.**

**Situación geográfica.** El municipio de Taxco de Alarcón se localiza a 1,752 msnm, al norte de la capital del estado de Guerrero, entre los paralelos de 18°23' y 18°48', de latitud norte y entre los 99°30' y 99°47' de longitud oeste, respecto al meridiano de Greenwich (SEGOB, 2009).

La configuración del suelo del municipio de Taxco presenta tres tipos de relieve: zonas accidentadas, zonas semiplanas y zonas planas; las primeras representan el 75% de la superficie municipal, las segundas el 20% y el 5% las terceras. Las elevaciones de las zonas accidentadas varían entre 1,500 y 2,300 msnm, en tanto que el de las zonas planas y semiplanas se ubican entre 1,000 a 1,500 m. Las corrientes hidrológicas se componen básicamente de los ríos de Taxco y Temixco; los arroyos Tecapulco, Granados, San Juan, Plan de Campos, las Huertas y Acatlán; existe una laguna grande que es intermitente; tiene una pequeña presa llamada San Marcos y un bordo de abrevadero. El clima predominante registrado en todo el municipio es cálido-subhúmedo, siendo subhúmedo-semicálido en las zonas montañosas. La temperatura promedio anual registrada es de 18°C en la zona montañosa y mayor a 20 °C en zonas planas, los meses más calurosos son marzo, abril y mayo y el más frío es diciembre. La vegetación que cubre y predomina en el municipio es la selva baja caducifolia, caracterizada por el cambio de follaje en la temporada de secas, siendo las principales especies *Lysiloma*, *Bahamensis* y *Xotermani*; también se presentan bosques de pino y encino compuestos por diferentes especies. Con relación a la fauna aún subsisten variadas y delicadas especies como el venado, águila, gavián, iguana, conejo, tejón, mapache, culebra, víbora de cascabel, zorrillo, lagartija, rata, alacrán, paloma, pájaros, zopilote, armadillo, tórtola, entre otras (SEGOB, 2009).

**Descripción.** Dentro de este municipio, a diez minutos de la ciudad de Taxco se encuentra la comunidad de San Gregorio, camino a la cual se ubica la cueva de La Joya (Fig. 1) dentro de las coordenadas 18° 35' 885" N y 99° 33' 652" O, a 1 716 msnm (GPS). Esta cueva es utilizada para prácticas de espeleología debido a que tiene varios tiros para los cuales se requiere equipo especial para descender. Para entrar se desciende primero un tiro de aproximadamente 5 metros. Se continúa avanzando por un derrumbe rocoso casi horizontal hasta llegar unos metros adelante a un siguiente tiro de aproximadamente 15 metros, conocido como la Cortina, por el cual baja una pequeña cascada que forma al

final un pequeño gours (cuerpo de agua en el interior de una cueva) de agua permanente. Se continúa avanzando sobre el cauce del río que sale del gours hasta un siguiente tiro de aproximadamente diez metros, debajo del cual se encuentra otra poza de agua permanente más pequeña. Se puede continuar por el túnel hasta llegar a un tiro de aproximadamente siete metros. Una vez abajo se puede continuar caminando hasta llegar a una zona llamada "El Sifón", donde hay que sumergirse y pasar por un túnel estrecho inundado para continuar (Fig. 2-3).



**Figura 2.** Zonificación y localización de los biotopos estudiados en la cueva de La Joya (Mapa esquemático. Tomado de Morales-Malacara y Vázquez, 1984).

SIMBOLOGÍA    Entrada    Agua    Suelo    Guano    Musgo



**AGUA**

**\*El Sifón**

Cuerpo de agua estancada de aprox. 30 cm de largo y 10 a 20 cm de profundidad.



**\*Gours**

Cuerpo de agua debajo de una cascada y que continua en un río, con aprox. 3 metros de largo y 50 cm de profundidad.



**\*Pocitas**

Pequeños charcos de agua de escurrimiento formados sobre roca, de aprox. 30 cm de largo y 10 cm de profundidad.



**SUELO**

**\*El Sifón**

Suelo al lado del cuerpo de agua. El suelo estaba húmedo y poco compacto.



**GUANO**

**\*Charco Zona de Entrada**

Guano de murciélago encontrado cerca de la entrada, formando pequeñas acumulaciones, seco y en algunas ocasiones con hongos.



**MUSGO**

**\*Entrada**

Musgo sobre rocas de la entrada, previas al primer tiro.



**Figura 3.** Descripción de las zonas de recolecta para cada biotopo en la cueva La Joya.

## **Grutas de Karmidas**

**Situación geográfica.** Zapotitlán de Méndez se localiza en la parte Norte del Estado de Puebla, sus coordenadas geográficas son los paralelos 19° 58' 10" y 20° 01' 36" de latitud Norte y los meridianos 97° 38' 36" y 97° 44' 24" de longitud Occidental (SEGOB, 2009).

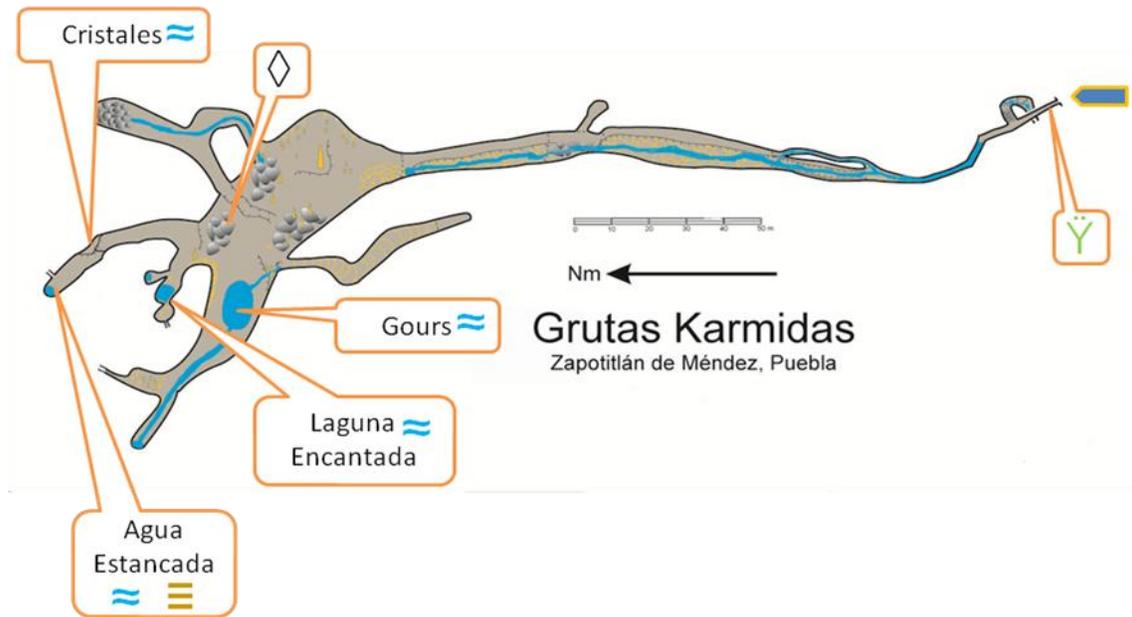
El municipio pertenece a dos regiones morfológicas: la porción central y septentrional, al declive del Golfo y la porción meridional a la Sierra Norte. La Sierra Norte o Sierra de Puebla está formada por Sierras más o menos individuales paralelas y comprimidas las unas contra las otras y que suelen formar grandes o pequeñas altiplanicies intermontañas que aparecen frecuentemente escalonadas hacia la costa; el declive del Golfo es el septentrional de la Sierra Norte hacia la llanura costera del Golfo de México y se caracteriza por sus numerosas chimeneas volcánicas y lomas aisladas. La principal característica orográfica que presenta es la planicie intermontañosa que se localiza en la parte central, en una franja que va de Oeste a Este; presenta una altura de 800 msnm y muestra un declive Oeste a Este, asentándose en ella las poblaciones de Zapotitlán y Nanacatlán. De la planicie hacia el Norte, el relieve asciende abruptamente aunque de manera regular, hasta culminar en una Sierra formada por los cerros X'cantamán, Maxuhuachihua y Natzu, alcanzando más de 1.400 msnm. De la planicie hacia el Sur, el relieve asciende aunque no tan bruscamente, hasta culminar en sierra y conjuntos montañosos, localizados en municipios aledaños. El municipio pertenece a la vertiente septentrional del Estado de Puebla formada por las distintas cuencas parciales de los ríos que desembocan en el Golfo de México y se caracteriza por sus ríos jóvenes e impetuosos con una gran cantidad de caídas. Se localiza dentro de la cuenca del río Tecolutla y es cruzado por el río Zempoala que recorre de Este a Oeste la población, recibiendo a su paso numerosos arroyos intermitentes, provenientes de las sierras meridionales y septentrionales, destacando el arroyo que nace en las estribaciones del cerro Natzu. El municipio se localiza en la transición de los climas templados de la Sierra Norte y los cálidos del declive de Golfo; presenta un solo clima: semicálido subhúmedo con lluvias todo el año. El municipio ha perdido la mayor parte de su vegetación original, sólo la conserva al suroeste y al oeste, donde se localiza un área reducida de bosques mesofilos de montaña, predominando las especies alíes, liquidámbar, ayacahuite, cedro y

ocote. En cuanto a la fauna existen zorras, tejones, mapaches, onza (felino), puerco espín y tlacuache, variedad de reptiles y aves canoras y algunos animales en extinción por el exceso de caza como el tigrillo y temazate (SEGOB, 2009).

**Descripción.** Las Grutas de Karmidas es una cueva turística que se encuentra dentro de un terreno particular perteneciente al Sr. Ernesto Karmidas (de donde toma su nombre) (Fig. 1). Para llegar a la cueva sólo se deben subir unos 20 metros por las faldas de un cerro, al pie del cual está la comunidad de Zapotitlán de Méndez. La cueva se encuentra entre las coordenadas 20° 00' 17.98" N y 97° 42' 54.24" O, a 680 msnm (Google Earth, 2010). La entrada es por un túnel estrecho, pero a través del cual se puede caminar. En las paredes se pueden observar crecimientos algales y de musgo. El sustrato por el que se avanza es suelo arenoso. Aproximadamente cinco metros adelante se encuentra inundado hasta casi 40 cm de altura. A partir de ésta zona la cueva está en total oscuridad y presenta una ligera pendiente ascendente. Más adelante se abre la cueva y se llega a una serie de salones amplios, al lado de los cuales circula el agua formando un pequeño riachuelo. Llegando al salón más amplio se pueden observar diversas formaciones (espeleotemas) y ahí se estanca el agua formando una pequeña poza con sustrato rocoso. Si se continúa subiendo por un derrumbe rocoso ubicado a la derecha, se llega hasta otra poza un poco más profunda conocida como la "Laguna Encantada". De la laguna aún se puede subir un poco más hasta llegar a una zona donde se cierra la cueva y donde se pueden observar varias columnas, además de una pequeña poza de agua estancada (Fig. 4-5).

## **Grutas de Huarimio**

**Situación geográfica.** Huetamo se localiza al sureste del Estado de Michoacán, en las coordenadas 18° 38' de latitud norte y 100° 54' de longitud oeste, a una altura de 280 msnm. Limita al norte con Carácuaro y Tiquicheo, al este con San Lucas, al sur con el Estado de Guerrero y al oeste con Churumuco y Turicato. Su distancia a la capital del Estado es de 210 km (SEGOB, 2009).



**Figura 4.** Zonificación y localización de los biotopos estudiados en la cueva de Karmidas. (Mapa esquemático. Realizado por Espino Del Castillo y Espinasa-Pereña, 2008).

SIMBOLOGÍA     Entrada     Agua     Suelo     Guano     Musgo

El relieve lo constituyen estribaciones meridionales del sistema volcánico transversal y la depresión del Balsas, cerros de Turitzio, Mesa, Laguna de Dolores y Zacanguirete. Su hidrografía se constituye por los ríos Balsas y Carácuaro, arroyos de San Jerónimo, Quetzería, Seco, Turitzio, Urapa, Cutzio y Grande, presa El Pejo y los manantiales de aguas frías el Chihuejo, Cahuero y Zapote. Su clima es tropical y seco estepario con lluvias en verano. Tiene una precipitación pluvial anual de 975.5 mm y temperaturas que oscilan de 20.8 a 37.1 °C. En el municipio dominan los bosques tropicales espinosos con huisache, teche, cardón, amole, viejito, cuéramo y tepemezquite. Su fauna la conforman principalmente huilota, codorniz, paloma, pichón, congucha, chica, aves primavera, calandria, perico, urraca, tordo, pez bagre, mojarra y carpa (SEGOB, 2009).

**Descripción.** Las grutas son tres pequeñas oquedades que se anuncian como turísticas aunque son muy poco visitadas, su atractivo es la presencia de pinturas rupestres (una serie de manos y algunos dibujos de hombres y animales). Se encuentran en la punta de un cerro al cual se puede subir sin dificultad aunque la pendiente es

**AGUA**

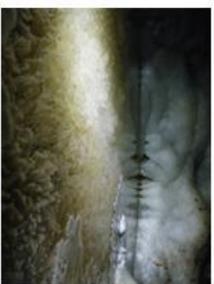
\*Gours  
Cuerpo de agua con corriente muy lenta, forma parte del río. Tiene aprox. 3 metros de largo y 20 cm de profundidad.



\* Laguna Encantada  
Cuerpo de agua sin corriente con aporte de agua de un riachuelo. Tiene aprox. 5 metros de largo y un metro de profundidad.



\* Agua Cristales  
Pequeño charco de agua formado por escurrimientos sobre la roca, está en proceso de cristalización formando cristales de aragonita en el fondo y superficie.



\* Agua Profunda  
Pequeño cuerpo de agua estancada de aprox. un metro de largo y 40 cm de profundidad.



**SUELO**  
\* Junto a Agua Profunda  
Sustrato lodoso.



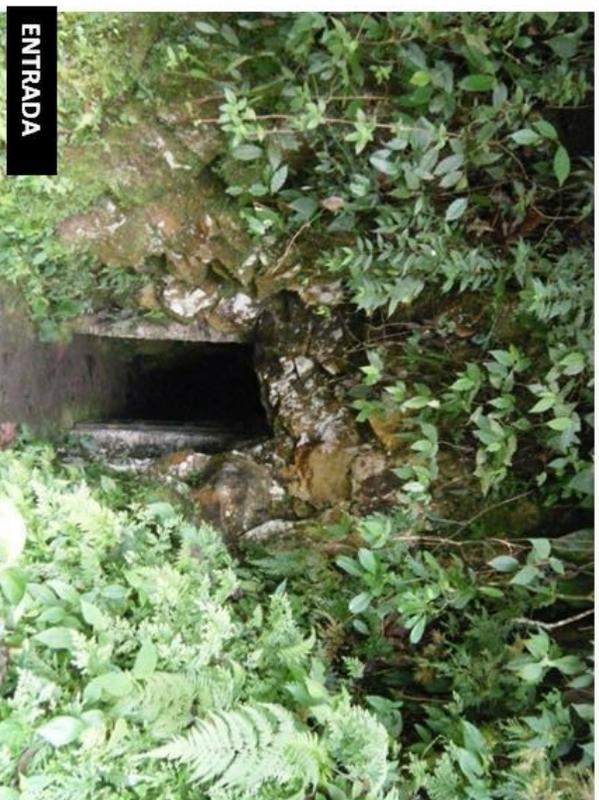
**GUANO**

\*Salón amplio  
Guano de murciélago, en general seco y formando pequeñas acumulaciones.



**MUSGO**

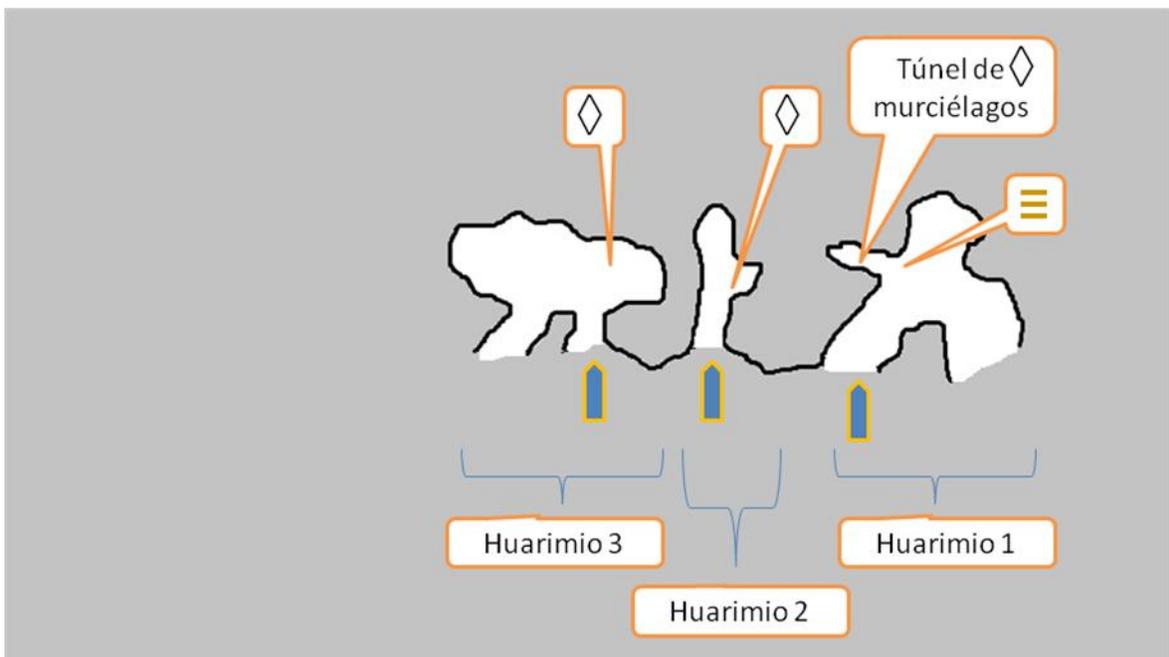
\* Entrada  
Musgo y pequeñas plantas sobre rocas de la entrada.



**ENTRADA**

Figura 5. Descripción de las zonas de recolecta para cada biotopo en las Grutas de Karmidas.

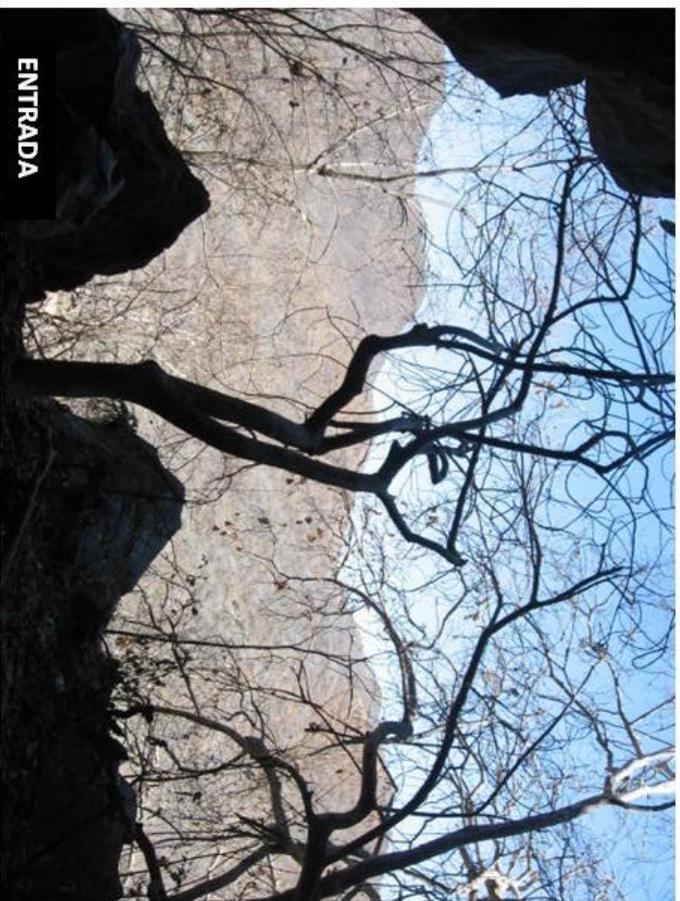
bastante inclinada. En la base del cerro está la comunidad de La Parota, muy cercana a Huetamo, Michoacán (Fig.1). Las cuevas se ubican entre las coordenadas 18° 39' 35.42" N y 100° 52' 46.11" O, a 357 msnm (Google Earth, 2010). La primera cavidad a la que se llega (denominada aquí como Huarimio 1) está prácticamente toda en penumbra, tiene dos grandes entradas y un par de salones, el sustrato es suelo arenoso. También se puede observar guano en gran cantidad. Sólo hay un túnel estrecho por el que se puede entrar gateando dirigido hacia abajo, en el cual se encuentra una pequeña colonia de murciélagos. Ésta es la única zona en total oscuridad. Saliendo de la cueva se caminan alrededor de veinte metros rodeando el cerro para llegar a la segunda cavidad. Para acceder a ella se tiene que escalar una pared rocosa de aproximadamente dos metros. Una vez ahí se camina un poco y se llega a una zona de completa oscuridad. Sólo hay un salón, en el suelo se puede encontrar guano en abundante cantidad y en el techo se observan algunos murciélagos. Al salir se camina nuevamente hacia la misma dirección para encontrar la última cavidad que tiene dos entradas amplias y de fácil acceso. Se conforma por cuatro grandes salones, dos de los cuales se encuentran en penumbra y dos en completa oscuridad. El suelo es arenoso y casi no se observa guano (Fig. 6-7).



**Figura 6.** Zonificación y localización de los biotopos estudiados en la cueva de Huarimio.

(Mapa esquemático sin proporciones reales).

SIMBOLOGÍA    Entrada    Agua    Suelo    Guano    Musgo



**SUELO**

\*Huarimio 1, junto al túnel de murciélagos

**GUANO**

\*Huarimio 1, túnel de murciélagos  
Guano de murciélagos, encontrado ya seco y formando grandes acumulaciones.



## GUANO

\*Huarimio 2  
Guano de murciélagos, encontrado ya seco y formando grandes acumulaciones.



\*Huarimio 3  
Guano de murciélagos, fue muy escaso y se encontró ya seco.



Figura 7. Descripción de las zonas de recolecta para cada biotopo en las Grutas de Huarimio.

## **Grutas de Tziranda**

**Situación geográfica.** El municipio de Ciudad Hidalgo se ubica al noroeste del Estado de Michoacán, en las coordenadas 19° 42' de latitud norte y 100° 33' de longitud oeste, a una altura de 2,040 msnm. Limita al norte con Queréndaro, Zinapécuaro y Maravatío, al este con Irimbo, Tuxpan y Jungapeo, al sur con Tuzantla y Tiquicheo, y al oeste con Tzitzio, Queréndaro, Indaparapeo y Charo. Su distancia a la capital del Estado es de 104 km (SEGOB, 2009).

El relieve lo conforman el sistema volcánico transversal, sierra de Mil Cumbres y los cerros Del Fraile, Azul, San Andrés, Ventero, Guangoche y Blanco. Su hidrografía la constituyen los ríos Agostitlán, Chaparro, Zarco y Grande, las presas de Sabaneta, Pucato y Mata de Pinos. El clima es templado con lluvias en verano al sur del Estado y con lluvias todo el año al norte. Tiene una precipitación pluvial anual de 1,810.2 mm y temperaturas que oscilan de 4.1 a 18.4 °C. El municipio tiene bosque mixto con aile, encino y sauce y bosque de coníferas con pino. Su fauna la conforman el coyote, zorro, zorrillo, tlacuache, liebre, conejo, mapache, armadillo, pato y torcaz (SEGOB, 2009).

**Descripción.** Esta cueva se encuentra dentro de una comunidad llamada Las Grutas (Fig.1) y se ubican al pie de un cerro entre las coordenadas 19° 38' 24.01" N y 100° 30' 06.97" O, a 1856 msnm (Google Earth, 2010). La cueva se conforma por dos secciones. Para llegar a la entrada han acondicionado escaleras de roca que conducen hasta una puerta metálica. Esta sección de la cueva es un túnel muy corto y corresponde a la zona turística. La otra entrada no tiene reja pero está cerrada al turismo y lleva hacia otro túnel. Se desciende a través de una escalera mal colocada de madera, unas rocas y una rampa hasta llegar a la zona de completa oscuridad. Unos metros adelante se abre un salón pequeño, en el cual se encuentra una colonia muy grande de murciélagos de distintas especies, pero que sólo se observa en cierta época del año debido a que son migratorias. La capa de guano en el suelo y rocas puede superar los 20 cm. Más adelante se vuelve a cerrar el túnel, convirtiéndose en un espacio estrecho en el cual ya no se puede ir de pie, sino agachado. A lo largo de todo este túnel corre sobre las rocas un pequeño río, hasta donde la cueva se cierra (Fig. 8-9).



**Figura 8.** Zonificación y localización de los biotopos estudiados en las Grutas de Tziranda.

(Mapa esquemático sin proporciones reales).

SIMBOLOGÍA     Entrada     Agua     Suelo     Guano     Musgo

### Grutas de Galicia.

**Situación geográfica.** Ixtaczoquitlán se encuentra ubicado en la zona centro del estado de Veracruz, en las coordenadas 18° 51´ de latitud norte y 97° 04´ de longitud oeste, a una altura de 1186 msnm. Limita al norte con Atzacán y Fortín, al este con Córdoba, Coetzala, Fortín, Naranjal, al sur con Omealca, Magdalena, Tequila y San Andrés Tenejapan y al oeste con Rafael Delgado, Orizaba y Mariano Escobedo. Su distancia aproximada al sur de la capital del estado por carretera es de 180 km (SEGOB, 2009).

El municipio se encuentra ubicado en la zona central montañosa del Estado, sobre las estribaciones orientales. Sus principales cerros son el Escámela, Chicahuaxtla, Buena Vista y Cuautlapan. Se encuentra regado por una red de arroyos que bajan de la montaña y vierten sus aguas en el río Blanco. Dentro de los principales arroyos se encuentran los de Campo Chico, La Cotorra, Capoluca y Tuxpanguillo. El río Blanco, junto con los arroyos mencionados, forman la Cascada de Tuxpango. Existen además los ríos Zonzo, Tendido,



**ENTRADA**

### AGUA

#### \* Río

Río subterráneo de poca corriente, en general de aprox. 50 cm de ancho y profundidad variable de entre 10 y 30 cm.



#### \* Agua Estancada

Pequeño cuerpo de agua de aprox. un metro de largo y 15 cm de profundidad, con agua estancada.



### SUELO

\* Junto al río  
Sustrato lodoso.



### GUANO

#### \* Salón de murciélagos

Guano de diferentes especies de murciélagos migratorios, con hábitos diversos (insectívoros, frugívoros, polinívoros y hematófagos).



Figura 9. Descripción de las zonas de recolecta para cada biotopo en las Grutas de Tziranda.

Escamela y Cuautlapan. Su clima es templado-húmedo-regular con una temperatura promedio de 18 °C., su precipitación pluvial media anual es de 1,800 mm. Los ecosistemas que coexisten en el municipio son los de selva mediana subperennifolia y secundaria, donde se desarrolla una fauna compuesta por poblaciones de conejos, tlacuaches, armadillos, ardillas, aves y reptiles (coralillos) (SEGOB, 2009).

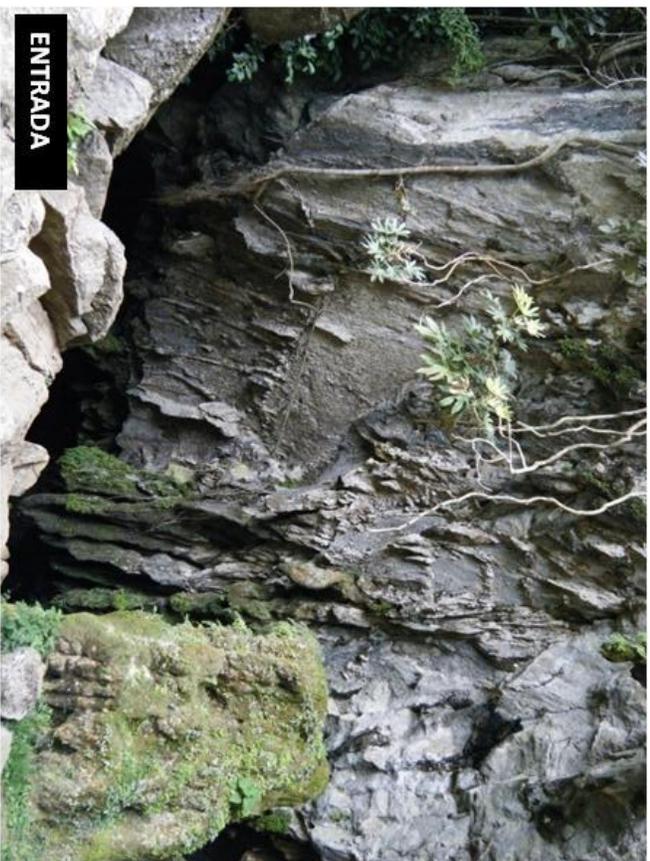
**Descripción.** Las Grutas de Galicia se encuentran adelante de la población llamada Cuesta del Mexicano (Fig. 1), en las coordenadas 18° 47.862´N y 96° 59.540´ O, a 810 msnm (Coordenadas de GPS; Altitud Google Earth, 2010). Para llegar a la entrada de las Grutas hay que cruzar por terrenos privados donde se siembra chayote. La entrada de la cueva es por una pequeña oquedad. Dependiendo de la estación del año en la que se visite, puede estar inundada desde esa zona; en época de secas el agua se encuentra mucho más adentro. La cueva es un túnel por el cual se camina con dificultad debido a que el suelo es una capa profunda de lodo, de hasta 30 cm. A mitad del recorrido se encuentra una poza temporal y profunda, de aproximadamente 3 metros. Se puede rodear por un lado para continuar el camino, hasta un segundo cuerpo de agua menos profundo (30-40 cm) pero permanente. Hasta ese punto son aproximadamente 150 m. La cueva continúa a través de un túnel y un salón más amplio (Fig. 10-11).



**Figura 10.** Zonificación y localización de los biotopos estudiados en las Grutas de Galicia.

(Mapa esquemático sin proporciones reales).

SIMBOLOGÍA    Entrada    Agua    Suelo    Guano    Musgo



**AGUA**

\*Gours  
Cuerpo de agua estancada, formada por las inundaciones periódicas y alimentado por escurrimientos.

**SUELO**

\* Junto al gours  
Sustrato lodoso.



**GUANO**

\*Charco  
Guano fresco de murciélago que forma un charco permanente.



**MUSGO**

\* Entrada  
Musgo y pequeñas plantas sobre rocas de la entrada.



Figura 11. Descripción de las zonas de recolecta para cada biotopo en las Grutas de Galicia.

## **Recolectas**

Se realizaron tres recolectas para el caso de las cuevas de La Joya, Karmidas y Galicia. Para el caso de las cuevas de Michoacán se hizo una recolecta en Huarimio y dos en Tziranda (Tabla 1). El cambio de cueva en el estado de Michoacán correspondió a cuestiones de seguridad, dado que en la zona se intensificaron los conflictos por narcotráfico.

En la primera recolecta (marzo) realizada en la cueva La Joya no se pudo recolectar guano debido a su escasez y grado de resequeidad. El musgo no se encontró en la zona interna de la cueva por lo que en esta recolecta tampoco se muestreó. En las siguientes dos recolectas (junio y octubre) se muestreó este biotopo de una roca de la entrada. El agua se recolectó al menos en dos diferentes zonas, siendo constante a lo largo de todo el estudio la muestra de la zona denominada El Sifón, mismo punto del que se tomó el suelo. Se recolectaron chinches y escarabajos acuáticos del cuerpo de agua ubicado en La Cortina. En el gours siguiente sólo se encontraron escarabajos. Los cangrejos se recolectaron de la zona del Sifón y en diferentes partes del túnel (Fig. 3).

En las Grutas de Karmidas se pudieron recolectar todos los sustratos debido a su constante disponibilidad. La muestra de agua se obtuvo de diferentes cuerpos, todos permanentes. El suelo se tomó de la zona más interna y el guano se recolectó de pequeños montículos ubicados en el salón más amplio. El musgo se recolectó de la zona de la entrada. En distintas zonas del río y en el gours se recolectaron acociles (Fig. 5).

En las Grutas de Huarimio solamente se recolectó suelo y guano, éste último se obtuvo sin ningún problema por la gran cantidad acumulada, sin embargo se encontró muy seco debido a que no era época de lluvias. Por esta misma razón no fue factible recolectar agua y musgo. Los coleópteros recolectados se encontraron sobre el guano de Huarimio 2 (Fig. 7).

En el caso de las grutas de Tziranda se recolectaron todos los biotopos, el agua y suelo se tomaron del punto más interno donde se cierra la cueva; una muestra de agua se recolectó de una zona del río que presentaba mucha corriente y otra muestra se recolectó en otra zona donde el agua se encontró estancada. El guano se tomó de la zona en la que se agrupa la gran mayoría de murciélagos; en la primera recolecta el guano era muy

fresco debido al gran número de murciélagos, en la segunda recolecta la abundancia de guano fue menor debido a la migración de los mismos. Se obtuvieron isópodos del suelo y hojarasca recolectados en la rampa de la entrada (Fig. 9).

En las grutas de Galicia se pudieron obtener todos los biotopos; el agua y suelo se tomaron de la zona más interna a la que se tuvo acceso, el guano se recolectó de un charco formado a unos metros de la entrada de la cueva, pero ya en una zona de completa oscuridad. El musgo se tomó también en un punto cercano a la entrada, en una zona iluminada. Todos los isópodos se recolectaron cerca del primer cuerpo de agua. Cerca del gours muestreado se encontraron tisanuros y dipluros (Fig. 11).

**Tabla 1.** Fecha de las recolectas realizadas en el año 2009 y biotopos muestreados en cada cueva.

CUEVA	FECHA DE RECOLECTA				
La Joya	1 marzo ≈ ≡ ♁	6 junio ≈ ≡ ◇ Ÿ ♁	24 octubre ≈ ≡ ◇ Ÿ ♁		
Karmidas	15 marzo ≈ ≡ ◇ Ÿ ♁	21 junio ≈ ≡ ◇ Ÿ ♁	10 octubre ≈ ≡ ◇ Ÿ ♁		
Huarimio	4 abril ≡ ◇	-	-		
Tziranda	-	30 julio ≈ ≡ ◇	8 noviembre ≈ ≡ ◇ ♁		
Galicia	26 abril ≈ ≡ ◇ Ÿ ♁	22 agosto ≈ ≡ ◇ Ÿ ♁	21 noviembre ≈ ≡ ◇ Ÿ ♁		
SIMBOLOGÍA:	≈ Agua	≡ Suelo	◇ Guano	Ÿ Musgo	♁ Invertebrados

## RESULTADOS

### Ciliados de VIDA LIBRE

En total se registraron 51 especies de ciliados de vida libre distribuidas en 7 clases, 21 familias y 16 géneros. De estos registros, 23 ciliados se identificaron hasta el nivel de especie (Fig. 12.1 - 12.16). Debido a que no se pudieron registrar todas sus características diagnósticas, siete ciliados se identificaron hasta género, 17 pudieron ser determinados hasta familia, cuatro se incluyeron en dos órdenes, y otros siete quedaron como ciliados (Fig. 12.17 - 12.20).

De las especies registradas, nueve son nuevos registros en cuevas de México\* (*Colpoda cucullus*, *C. maupasi*, *Cyclidium glaucoma*, *Dexiostoma campylum*, *Euplotoides patella*, *Euplotopsis gracilis*, *Gonostomum affine*, *Paramecium calkinsi* y *Pseudomicrothorax agilis*), dos de ellas no se han encontrado tampoco en el medio epígeo en México\*\* (*Euplotopsis gracilis* y *Pseudomicrothorax agilis*). *Colpoda ecaudata* se había registrado previamente en cuevas pero no se ha encontrado en el medio epígeo (Aladro-Lubel *et al.*, 2006; Durán-Ramírez, 2010; Hoffmann *et al.*, 1986; Osorio-Tafall, 1943 y Sigala-Regalado, 2008). A continuación se muestra su ubicación taxonómica.

#### Ubicación taxonómica de las especies de ciliados de vida libre

Clasificación de ciliados (Lynn, 2008)

Dominio Eucarya Woese *et al.*, 1990

Reino Protozoa Goldfuss, 1818

Phylum Ciliophora Doflein, 1901

Subphylum Intramacronucleata Lynn, 1996

Clase Spirotrichea Bütschli, 1889

Subclase Hypotrichia Stein, 1859

Orden Euplotida Small y Lynn, 1985

Suborden Euplotina Small y Lynn, 1985

Familia Aspidiscidae Ehrenberg, 1830

Género *Aspidisca* Ehrenberg, 1830

***Aspidisca* sp.**

Familia Euplotidae Ehrenberg, 1838

Género *Euplotoides* Borror y Hill, 1995

\* ***Euplotoides patella*** (Müller, 1773)

Género *Euplotopsis* Borror y Hill, 1995

\*\* ***Euplotopsis gracilis*** (Kahl, 1932)

Subclase Stichotrichia Small y Lynn, 1985

Orden Sporadotrichida Fauré-Fremiet, 1961

Familia Halteriidae Claparède y Lachmann, 1858

Género *Halteria* Dujardin, 1841

***Halteria* sp.**

Familia Oxytrichidae Ehrenberg, 1830

Familia Trachelostylidae Small y Lynn, 1985

Género *Gonostomum* Sterki, 1878

\* ***Gonostomum affine*** (Stein, 1859)

Orden Urostylida Jankowski, 1979

Familia Pseudokeronopsidae Borror y Wicklow, 1983

Familia Urostylidae Bütschli, 1889

Clase Litostomatea Small y Lynn, 1981

Subclase Haptoria Corliss, 1974

Orden Haptorida Corliss, 1974

Familia Spathidiidae Kahl in Doflein y Reichenow, 1929

Orden Cyclotrichiida Jankowski, 1980 *incertae sedis*

Familia Mesodiniidae Jankowski, 1980

Clase Phyllopharyngea de Puytorac *et al.*, 1974

Subclase Cyrtophoria Fauré-Fremiet in Corliss, 1956

Orden Chlamydodontida Deroux, 1976

Familia Chilodonellidae Deroux, 1970

Clase Nassophorea Small y Lynn, 1981

Orden Microthoracida Jankowski, 1967

Familia Leptopharyngidae Kahl, 1926

Género *Leptopharynx* Mermod, 1914

***Leptopharynx costatus*** Mermod, 1914

Género *Pseudomicrothorax* Mermod, 1914

\*\* ***Pseudomicrothorax agilis*** Mermod, 1914

Familia Microthoracidae Wrzesniowski, 1870

Género *Drepanomonas* Fresenius, 1858

***Drepanomonas revoluta*** Penard, 1922

Clase Colpodea Small y Lynn, 1981

Orden Colpodida de Puytorac *et al.*, 1974

Familia Colpodidae Bory de St. Vincent, 1826

Género *Colpoda* O.F. Müller, 1773

\* ***Colpoda maupasi*** Enriques, 1908

***Colpoda ecaudata*** (Liebmann, 1936)

***Colpoda inflata*** (Stokes, 1884)

\* ***Colpoda cucullus*** (Müller, 1773)

Orden Cyrtolophosidida Foissner, 1978

Familia Platyophryidae de Puytorac, Pérez-Paniagua y Pérez-Silva, 1979

Género *Platyophrya* Kahl, 1926

***Platyophrya sp.***

Clase Prostomatea Schewiakoff, 1896

Orden Prorodontida Corliss, 1974

Familia Colepidae Ehrenberg, 1838

Género *Coleps* Nitzsch, 1827

***Coleps hirtus*** (Müller, 1786)

Clase Oligohymenophorea de Puytorac *et al.*, 1974

Subclase Peniculia Fauré-Fremiet en Corliss, 1956

Orden Peniculida Fauré-Fremiet en Corliss, 1956

Familia Parameciidae Dujardin, 1840

Género *Paramecium* O.F. Müller, 1773

***Paramecium aurelia*** - Complejo

\* ***Paramecium calkinsi*** Woodruff, 1921

Subclase Scuticociliatia Small, 1967

Orden Philasterida Small, 1967

Familia Cinetochilidae Perty, 1852

Orden Pleuronematida Fauré-Fremiet en Corliss, 1956

Familia Cyclidiidae Ehrenberg, 1838

Género *Cyclidium* O.F. Müller, 1773

\* ***Cyclidium glaucoma*** Müller, 1773

***Cyclidium* sp.**

Subclase Hymenostomatia Delage y Hérouard, 1896

Orden Tetrahymenida Fauré-Fremiet en Corliss, 1956

Familia Tetrahymenidae Corliss, 1952

Género *Tetrahymena* Furgason, 1940

***Tetrahymena pyriformis*** - Complejo

Familia Turaniellidae Didier, 1971

Género *Dexiostoma* Jankowski, 1967

\* ***Dexiostoma campylum*** (Stokes, 1886)

Subclase Peritrichia Stein, 1859

Orden Sessilida Kahl, 1933

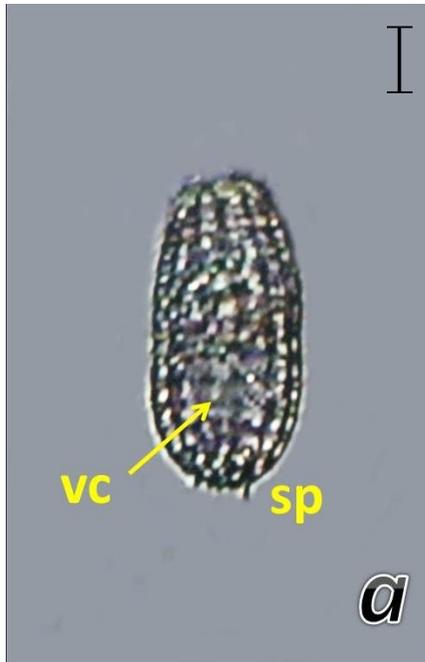
Familia Vorticellidae Ehrenberg, 1838

Género *Vorticella* Linnaeus, 1767

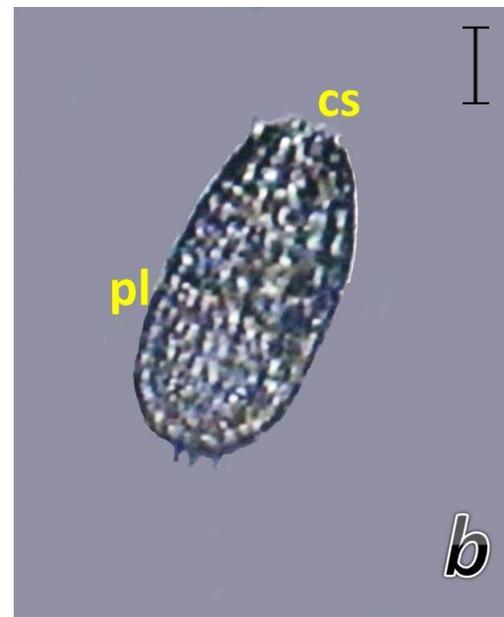
***Vorticella* sp.1**

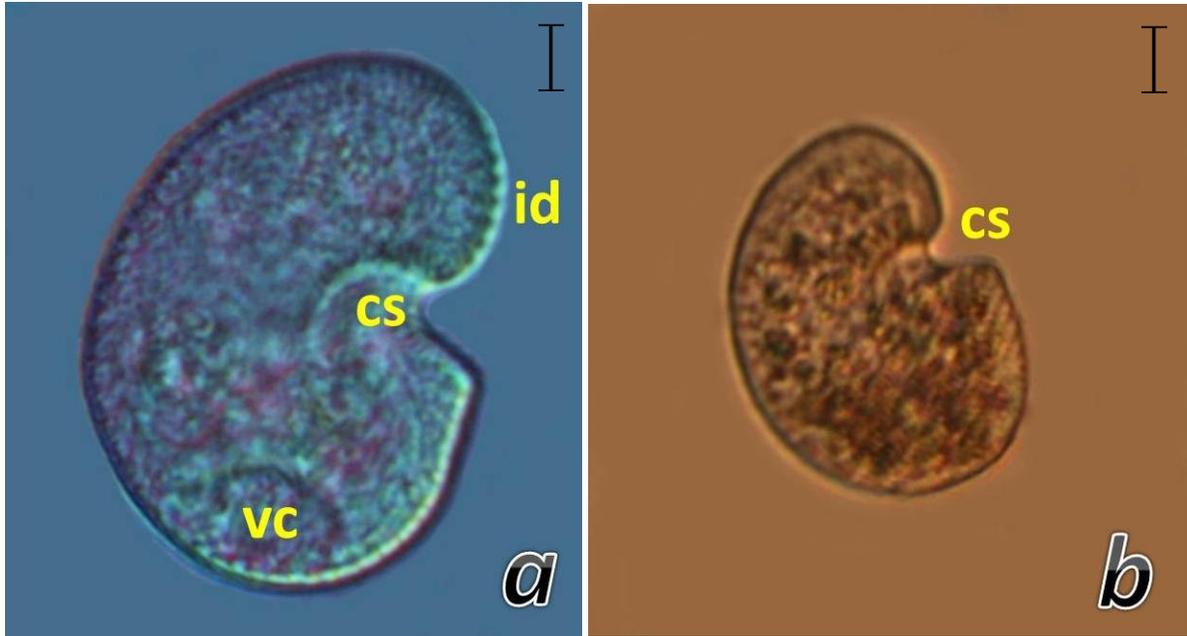
***Vorticella* sp.2**

***Vorticella* sp.3**

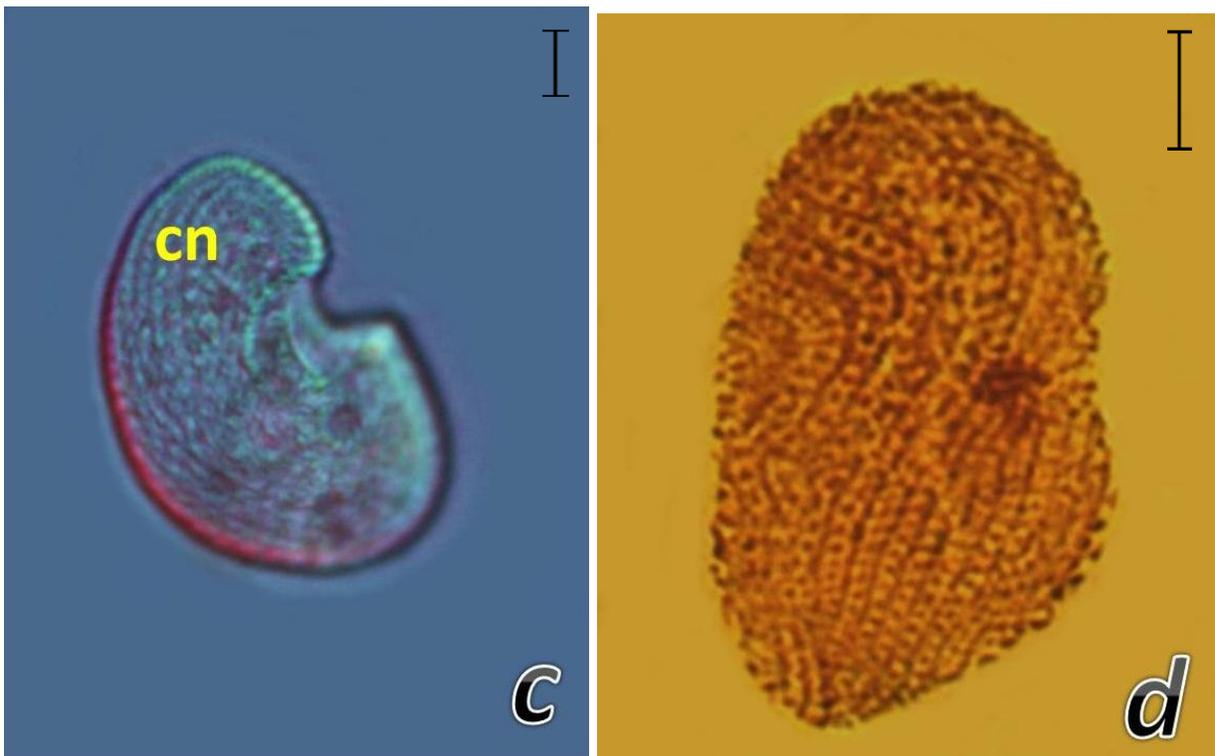


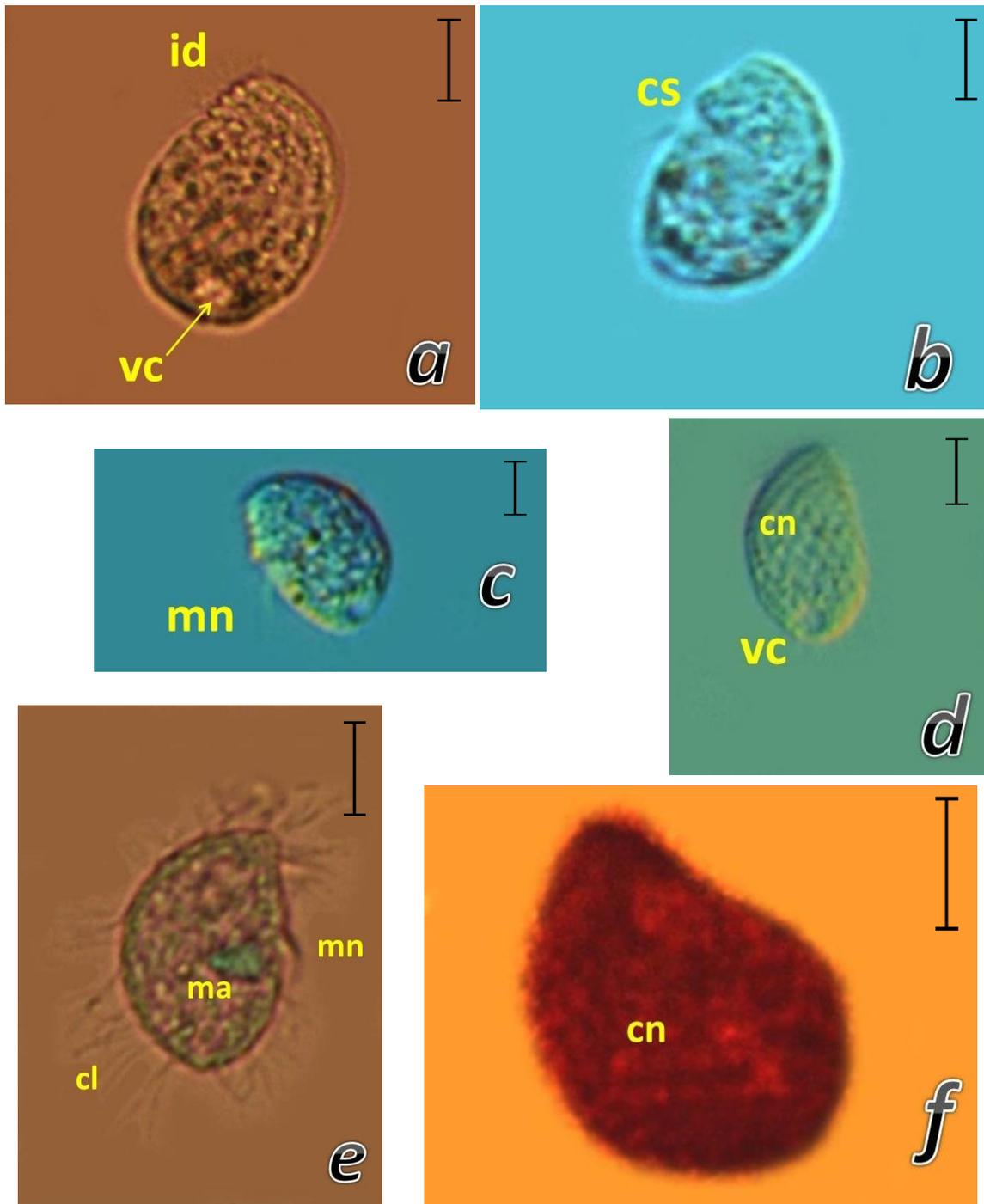
**Figura 12.1.** *Coleps hirtus*, **a-b**, en vivo, iluminación de campo claro. Esta especie presenta placas ectoplasmáticas (*pl*) y cuatro espinas posteriores (*sp*). El macronúcleo es globular y central. La vacuola contráctil (*vc*) es posterior y el citostoma (*cs*) es anterior. Midió en vivo 36.4  $\mu\text{m}$  de largo por 19.6  $\mu\text{m}$  de ancho. Esta especie sólo se registró en la cueva de La Joya. Barra de referencia 10  $\mu\text{m}$ .



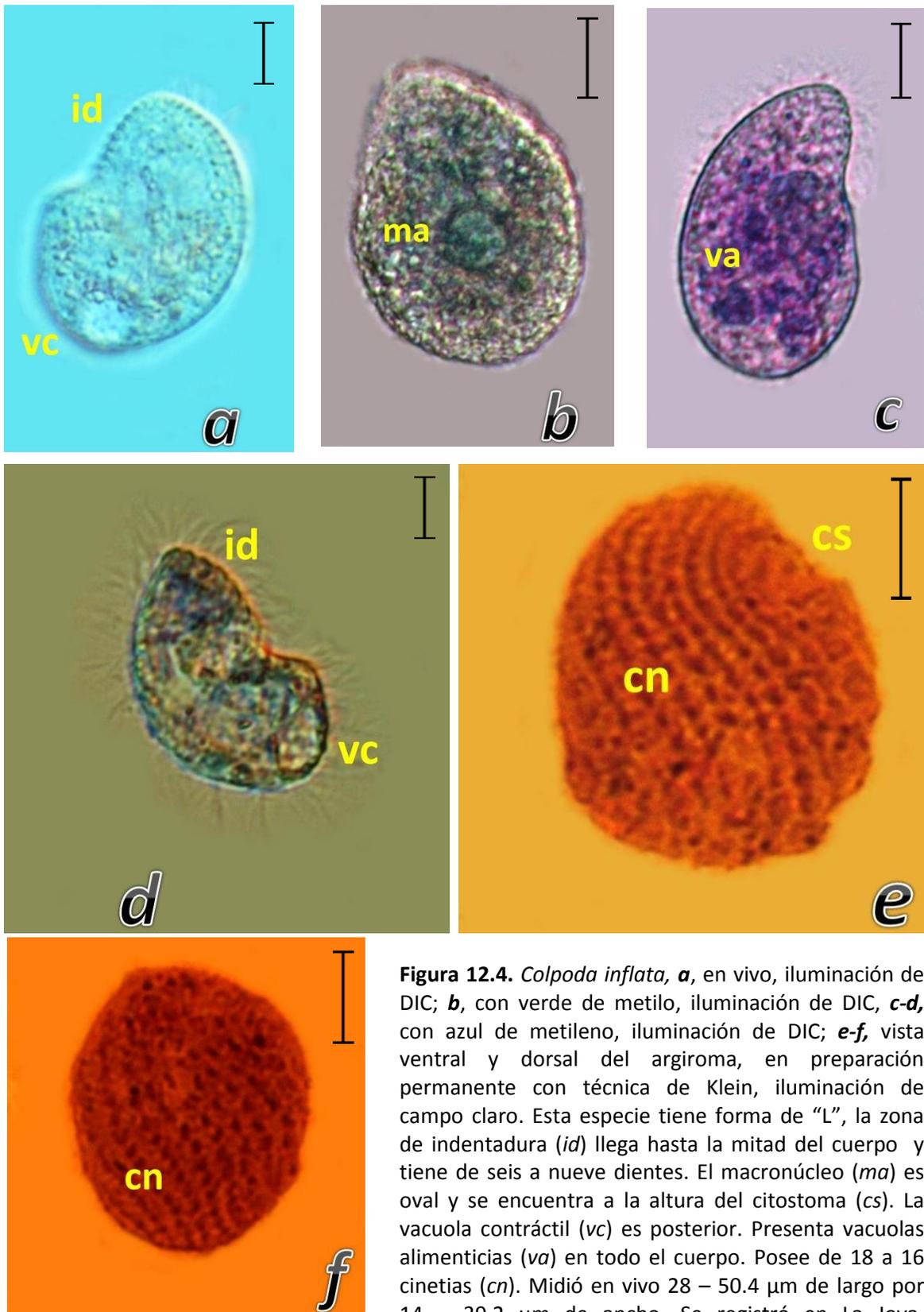


**Figura 12.2.** *Colpoda cucullus*, **a-c**, en vivo, iluminación de DIC; **d**, argiroma en preparación permanente con técnica de Klein, iluminación de campo claro. Esta especie es reniforme y posee una zona de indentación (*id*) que llega hasta la mitad del cuerpo con 9 – 10 dientes. Tiene un amplio vestíbulo que conduce al citostoma (*cs*). La vacuola contráctil (*vc*) es posterior y su macronúcleo es esférico y central. Posee de 24 a 26 cinetias (*cn*). Midió en vivo 43.2 – 82.8 µm de largo por 28 – 50.4 µm de ancho. Se registró en La Joya y en Karmidas. Barra de referencia 10 µm.

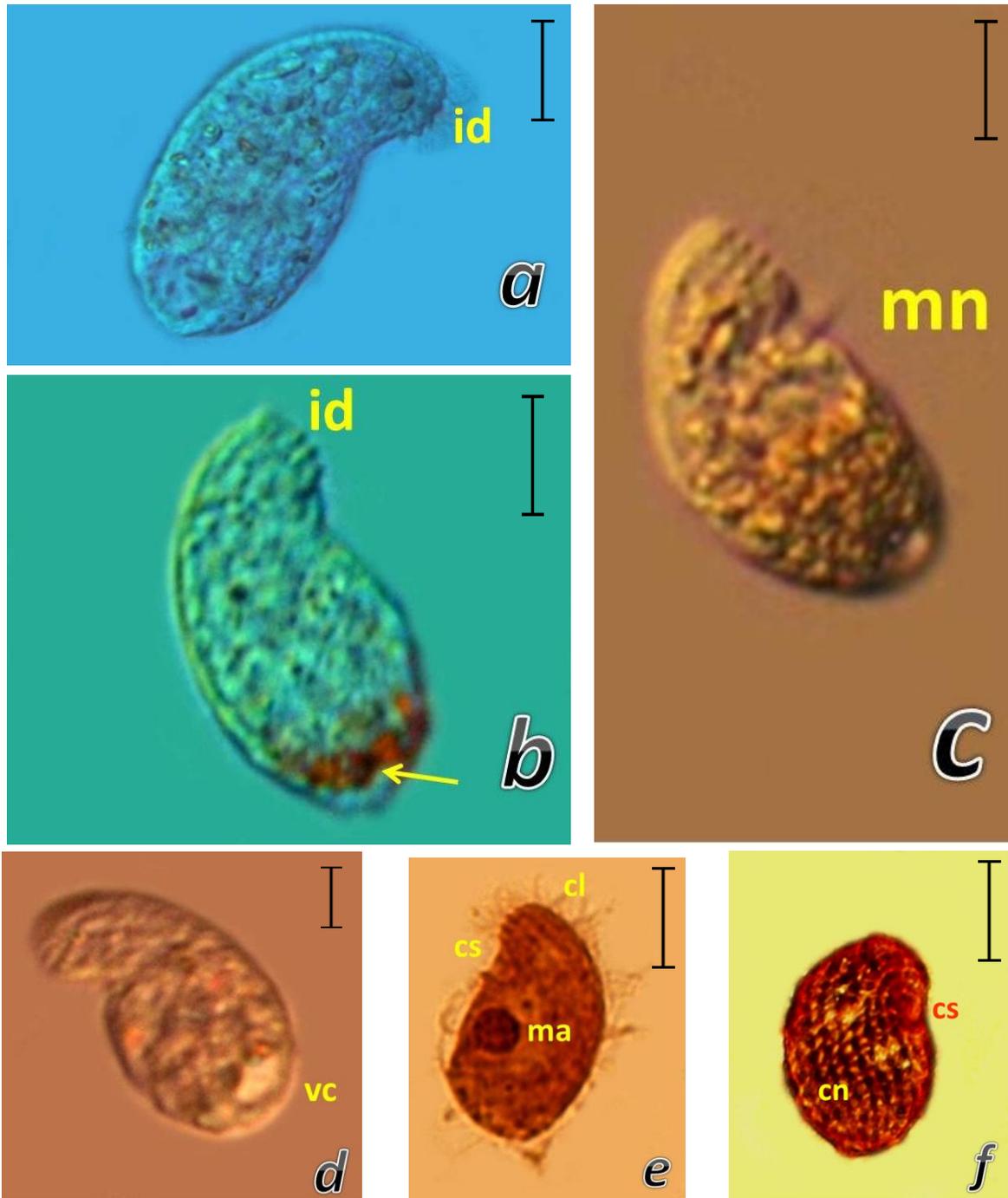




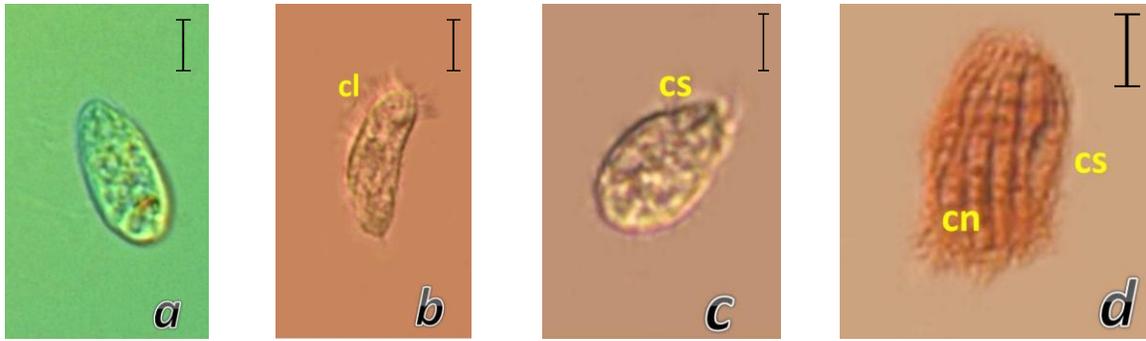
**Figura 12.3** *Colpoda ecaudata*, **a-d**, en vivo, **a**, iluminación de contraste de fases, **b-d**, DIC; **e**, con verde de metilo, iluminación de DIC; **f**, preparación permanente con técnica de Klein, iluminación de campo claro. Esta especie es reniforme, posee cilios (*cl*) distribuidos uniformemente en todo el cuerpo y tiene una zona de indentación (*id*) hasta la mitad del cuerpo con cinco dientes. Tiene un vestíbulo pequeño al final del cual se encuentra el citostoma (*cs*). Presenta en la zona oral policinetias formando una membranela (*mn*). El macronúcleo (*ma*) es oval y central, la vacuola contráctil (*vc*) es posterior. Posee 12 cinetias (*cn*) oblicuas. Midió en vivo 11.2 - 33.6 µm de largo por 8.4 - 22.4 µm de ancho. Esta especie se encontró en todas las cuevas. Barra de referencia 10 µm.



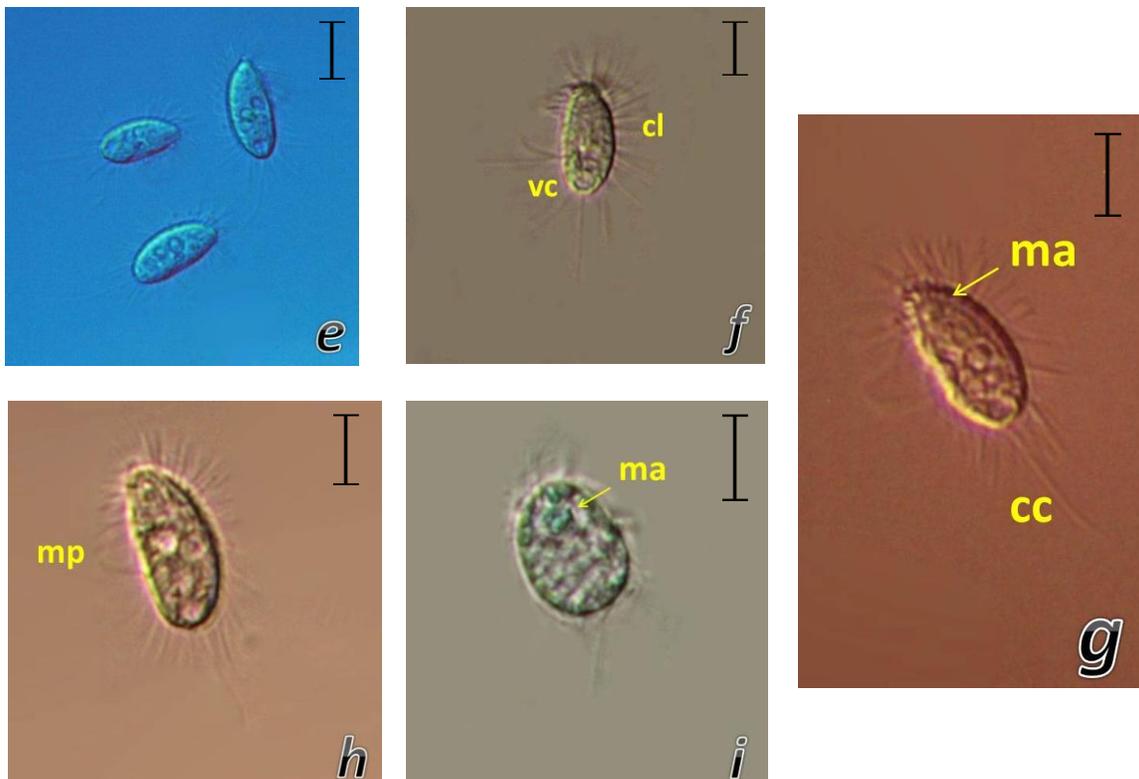
**Figura 12.4.** *Colpoda inflata*, **a**, en vivo, iluminación de DIC; **b**, con verde de metilo, iluminación de DIC, **c-d**, con azul de metileno, iluminación de DIC; **e-f**, vista ventral y dorsal del argiroma, en preparación permanente con técnica de Klein, iluminación de campo claro. Esta especie tiene forma de “L”, la zona de indentadura (*id*) llega hasta la mitad del cuerpo y tiene de seis a nueve dientes. El macronúcleo (*ma*) es oval y se encuentra a la altura del citostoma (*cs*). La vacuola contráctil (*vc*) es posterior. Presenta vacuolas alimenticias (*va*) en todo el cuerpo. Posee de 18 a 16 cinetias (*cn*). Midió en vivo 28 – 50.4 µm de largo por 14 – 39.2 µm de ancho. Se registró en La Joya, Karmidas y Galicia. Barra de referencia 10 µm.



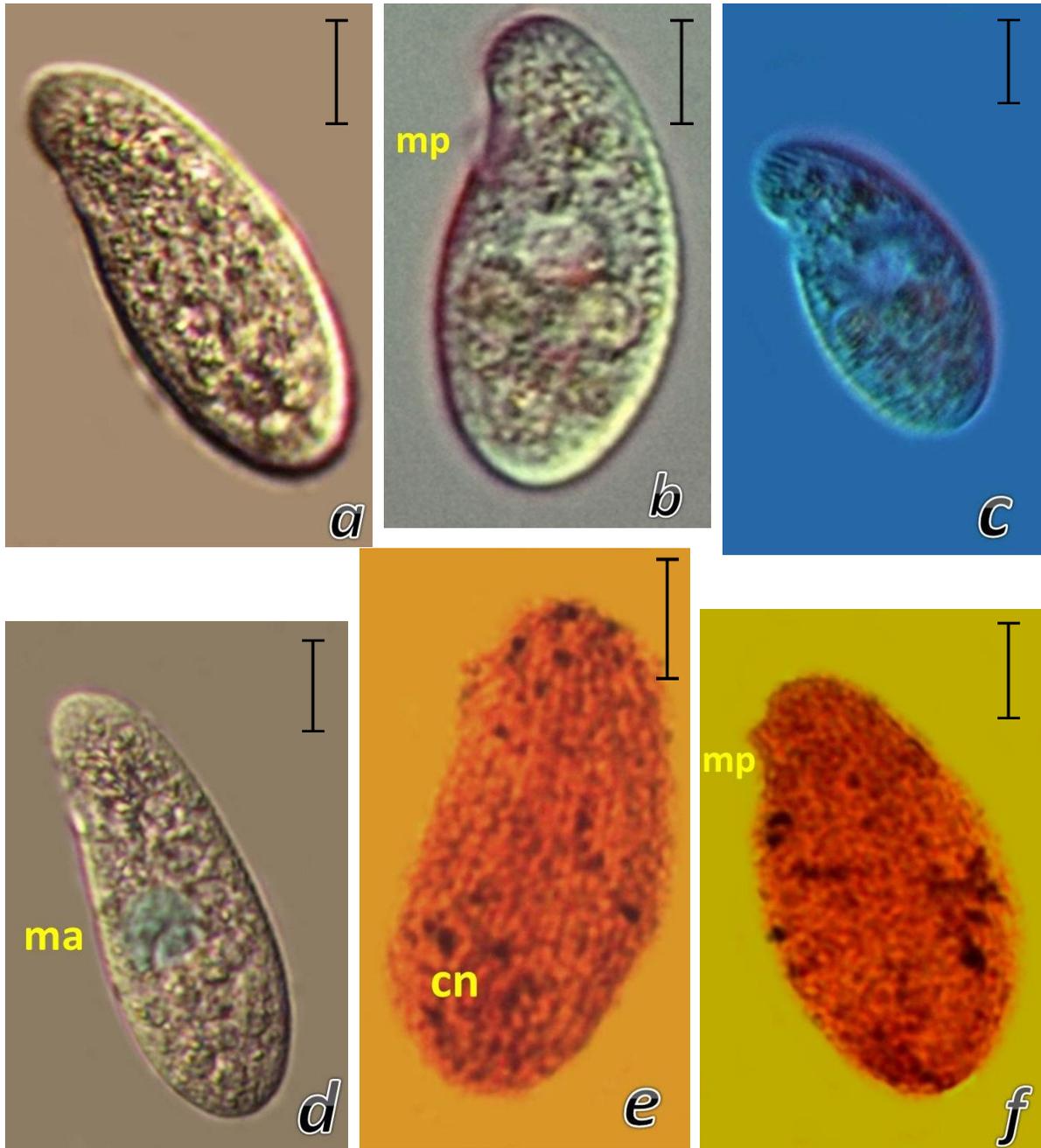
**Figura 12.5.** *Colpoda maupasi*, **a-d**, en vivo, iluminación de DIC; **e-f**, preparación permanente con técnica de Klein, iluminación de campo claro. Esta especie es reniforme, la zona de indentación (*id*) abarca un tercio del cuerpo y posee de 4 a 5 dientes. El vestíbulo del citostoma (*cs*) puede ser pronunciado. Presenta polincinetias orales arregladas como membranelas (*mn*). El macronúcleo (*ma*) es esférico y central, la vacuola contráctil (*vc*) es posterior. Algunos ejemplares pueden presentar inclusiones doradas (flecha). Posee de 12 a 14 cinetias (*cn*) oblicuas. Midió en vivo 16.2 – 56 µm de largo por 10.8 – 32.4 µm de ancho y en preparación 24 – 32 µm de largo por 14 – 24 µm de ancho; el diámetro del macronúcleo fue de 6.6 µm. Esta especie se encontró en todas las cuevas. Barra de referencia 10 µm.



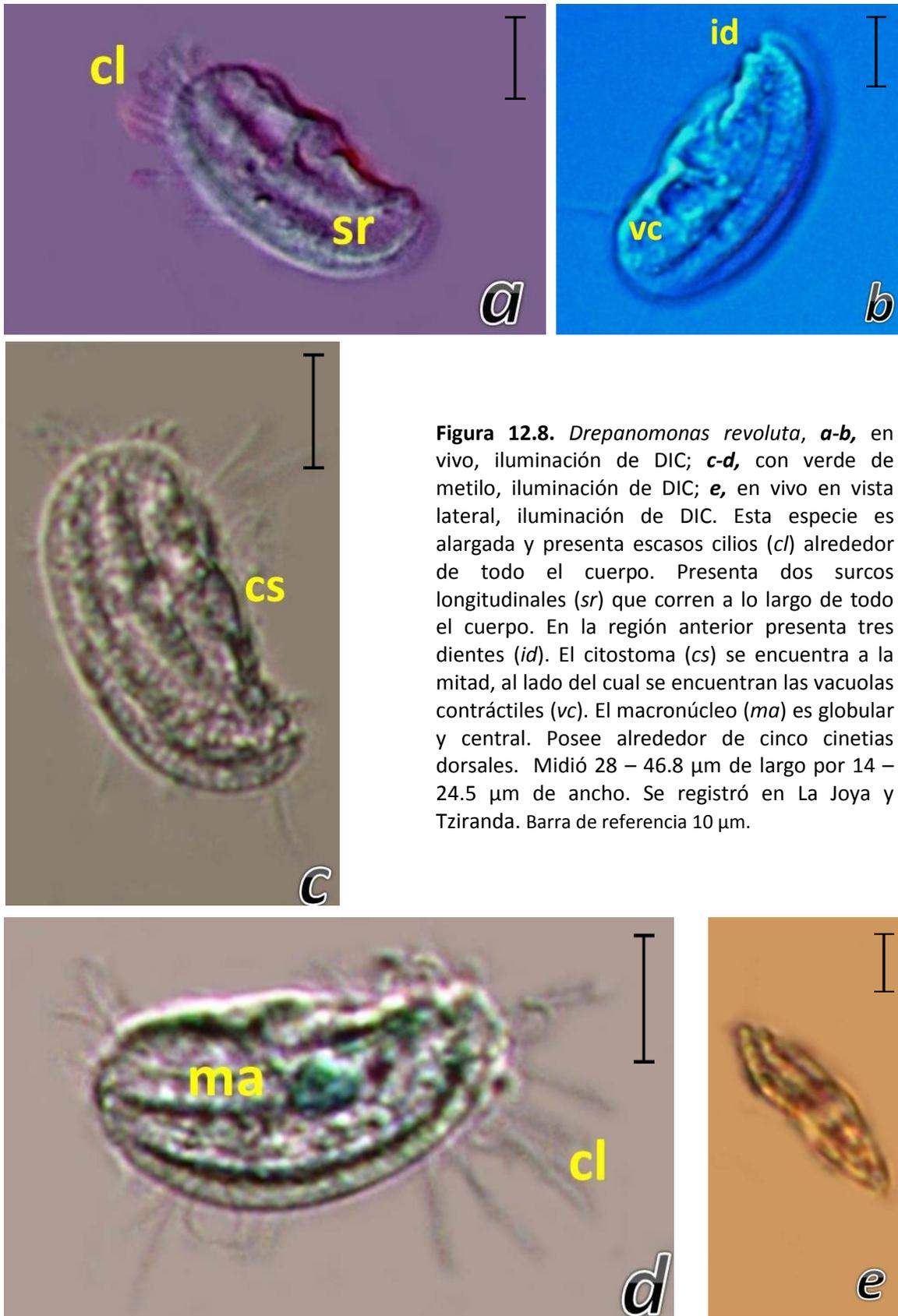
**Figura 12.6.** *Cyclidium glaucoma*, **a-c**, en vivo, iluminación de DIC; **d**, preparación permanente con técnica de Klein, iluminación de campo claro. Esta especie posee ciliatura (*cl*) uniforme en todo el cuerpo, con un cilio caudal más largo. Posee una membrana paroral (*mp*) que se extiende desde el extremo anterior hasta la mitad, cerca de donde se encuentra el citostoma (*cs*). El macronúcleo (*ma*) está situado en el tercio anterior del cuerpo. Presenta 10 cinetias (*cn*). Midió en vivo 14 – 19.6  $\mu\text{m}$  de largo por 5.6 – 11.2  $\mu\text{m}$  de ancho. Se observó en La Joya, Karmidas y Tziranda. Barra de referencia 5  $\mu\text{m}$ .



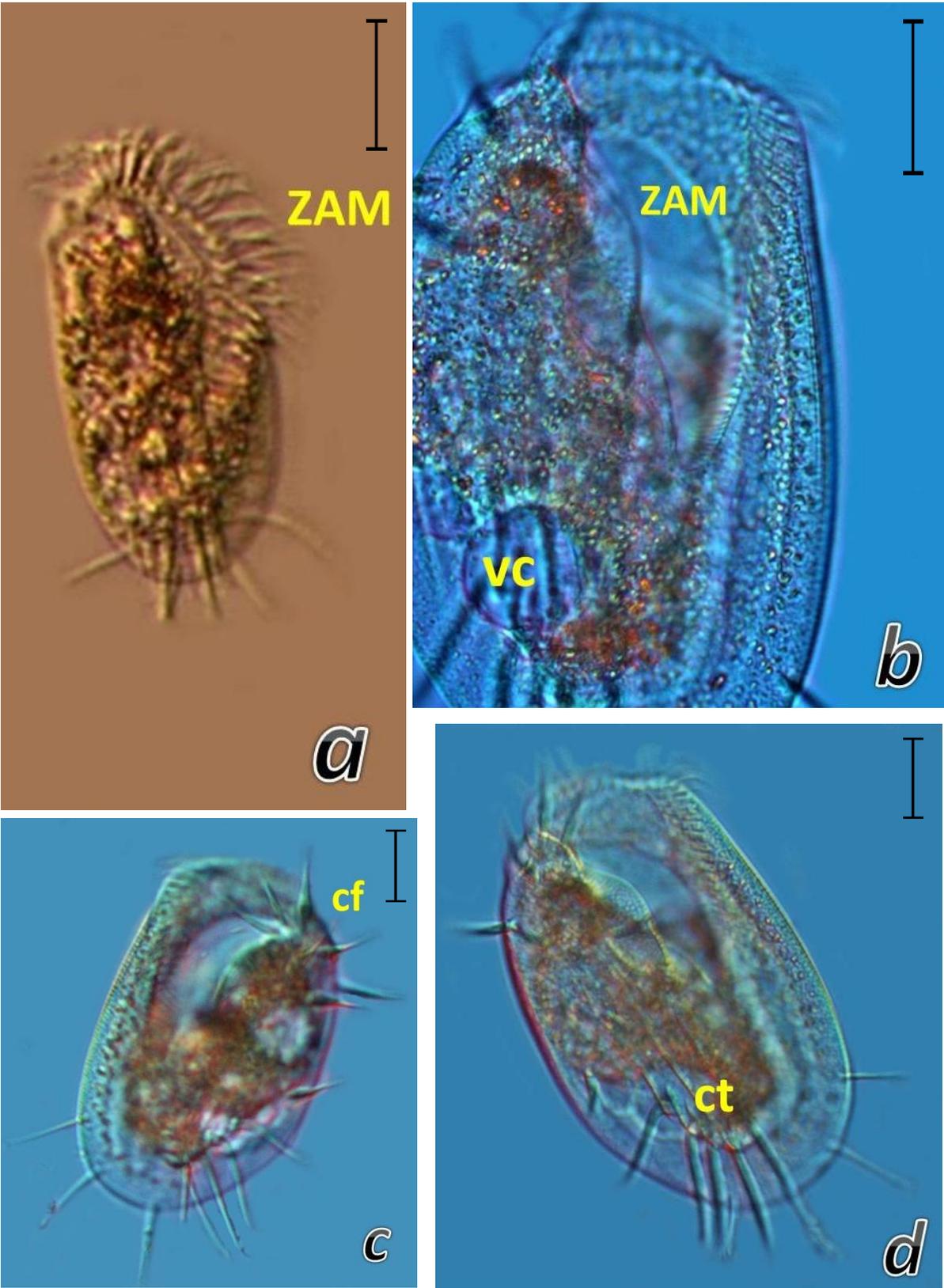
*Cyclidium* sp., **e-h**, en vivo, iluminación de DIC; **i**, con verde de metilo, iluminación de DIC. Esta especie también presenta cilios (*cl*) largos alrededor del cuerpo y uno caudal (*cc*). La membrana paroral (*mp*) es más larga y abarca  $\frac{3}{4}$  partes del cuerpo. Tiene una protuberancia en la región anterior, por debajo de la cual se ubica el macronúcleo (*ma*). La vacuola contráctil (*vc*) es posterior. Midió en vivo de 17.5 – 28  $\mu\text{m}$  de largo por 5.6 – 17.5  $\mu\text{m}$  de ancho. Se registró en todas las cuevas menos en Huarimio. Barra de referencia 10  $\mu\text{m}$ .

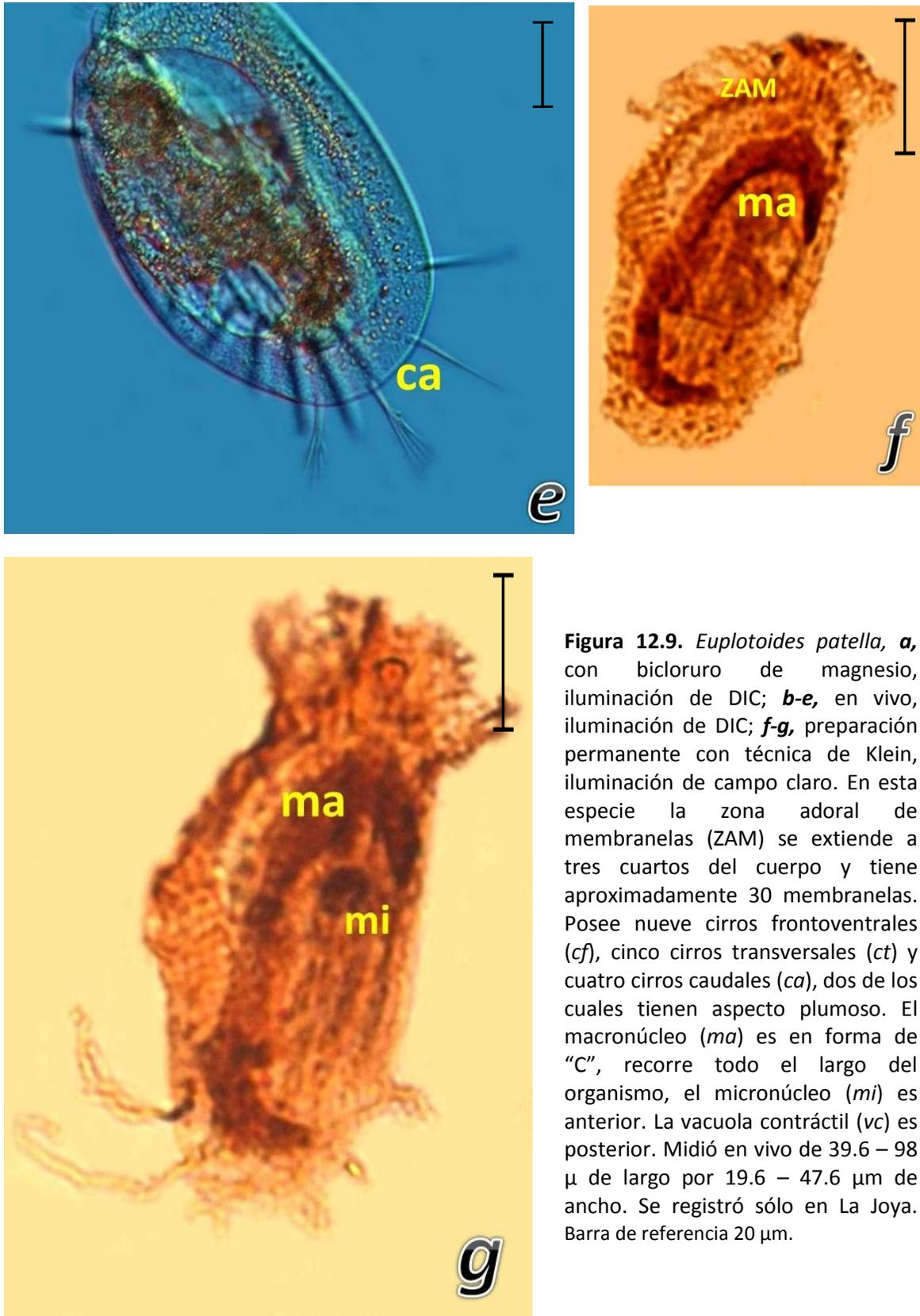


**Figura 12.7.** *Dextrostoma campylum*, **a-c**, en vivo, iluminación de DIC; **d**, con verde de metilo, iluminación de campo claro; **e-f**, preparación permanente con técnica de Klein. Esta especie presenta una membrana paroral (*mp*) en la región oral, ubicada en el primer tercio del organismo. El macronúcleo (*ma*) es globular y central. Posee alrededor de 25 cinetias (*cn*). Midió en vivo 42 – 56 µm de largo por 16.8 µm de ancho. Esta especie sólo se registró en La Joya. Barra de referencia 10 µm.

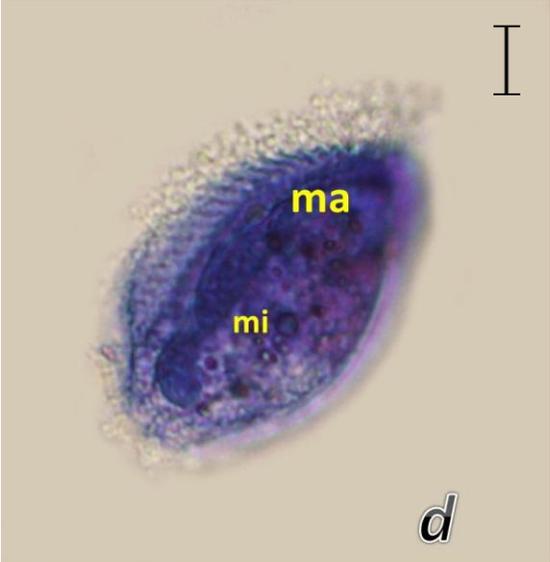
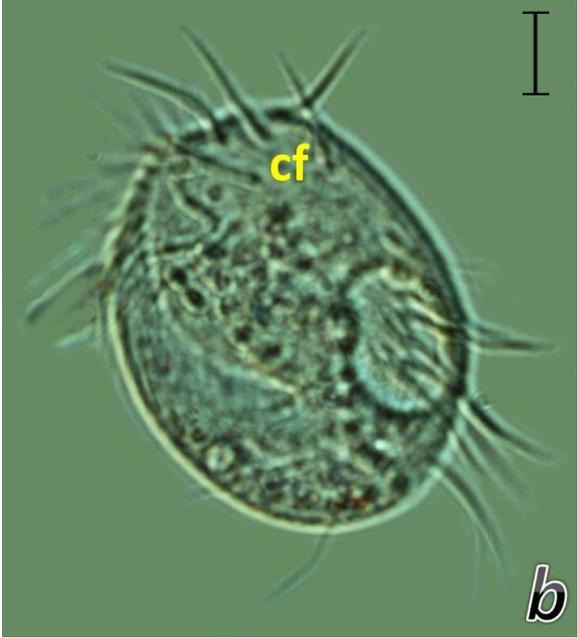
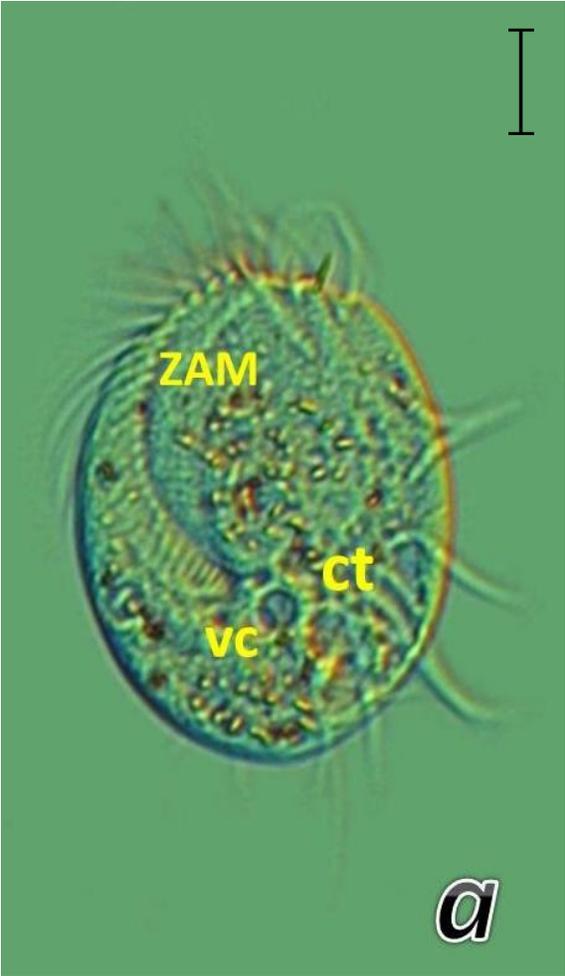


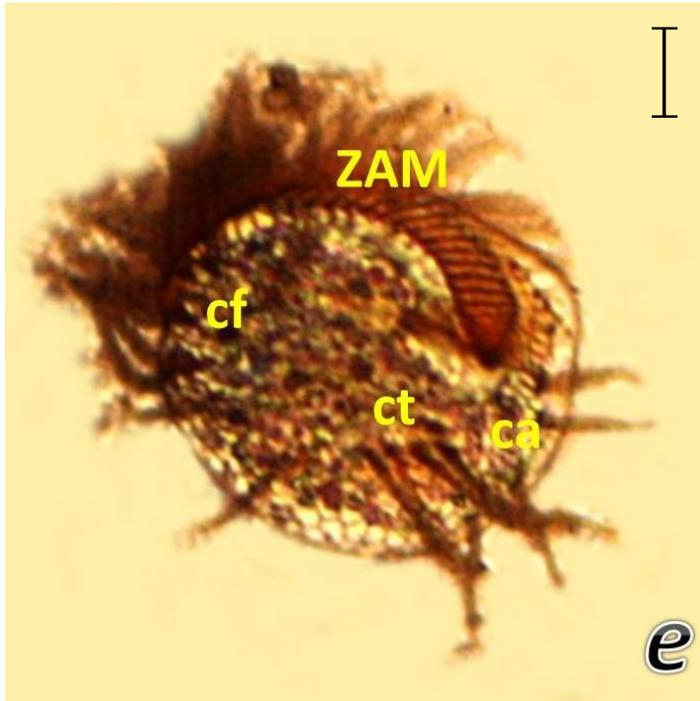
**Figura 12.8.** *Drepanomonas revoluta*, **a-b**, en vivo, iluminación de DIC; **c-d**, con verde de metilo, iluminación de DIC; **e**, en vivo en vista lateral, iluminación de DIC. Esta especie es alargada y presenta escasos cilios (*cl*) alrededor de todo el cuerpo. Presenta dos surcos longitudinales (*sr*) que corren a lo largo de todo el cuerpo. En la región anterior presenta tres dientes (*id*). El citostoma (*cs*) se encuentra a la mitad, al lado del cual se encuentran las vacuolas contráctiles (*vc*). El macronúcleo (*ma*) es globular y central. Posee alrededor de cinco cinetias dorsales. Midió 28 – 46.8  $\mu\text{m}$  de largo por 14 – 24.5  $\mu\text{m}$  de ancho. Se registró en La Joya y Tziranda. Barra de referencia 10  $\mu\text{m}$ .





**Figura 12.9.** *Euplotoides patella*, **a**, con bicloruro de magnesio, iluminación de DIC; **b-e**, en vivo, iluminación de DIC; **f-g**, preparación permanente con técnica de Klein, iluminación de campo claro. En esta especie la zona adoral de membranelas (ZAM) se extiende a tres cuartos del cuerpo y tiene aproximadamente 30 membranelas. Posee nueve cirros frontoventrales (*cf*), cinco cirros transversales (*ct*) y cuatro cirros caudales (*ca*), dos de los cuales tienen aspecto plumoso. El macronúcleo (*ma*) es en forma de "C", recorre todo el largo del organismo, el micronúcleo (*mi*) es anterior. La vacuola contráctil (*vc*) es posterior. Midió en vivo de 39.6 – 98  $\mu$  de largo por 19.6 – 47.6  $\mu$  de ancho. Se registró sólo en La Joya. Barra de referencia 20  $\mu$ m.

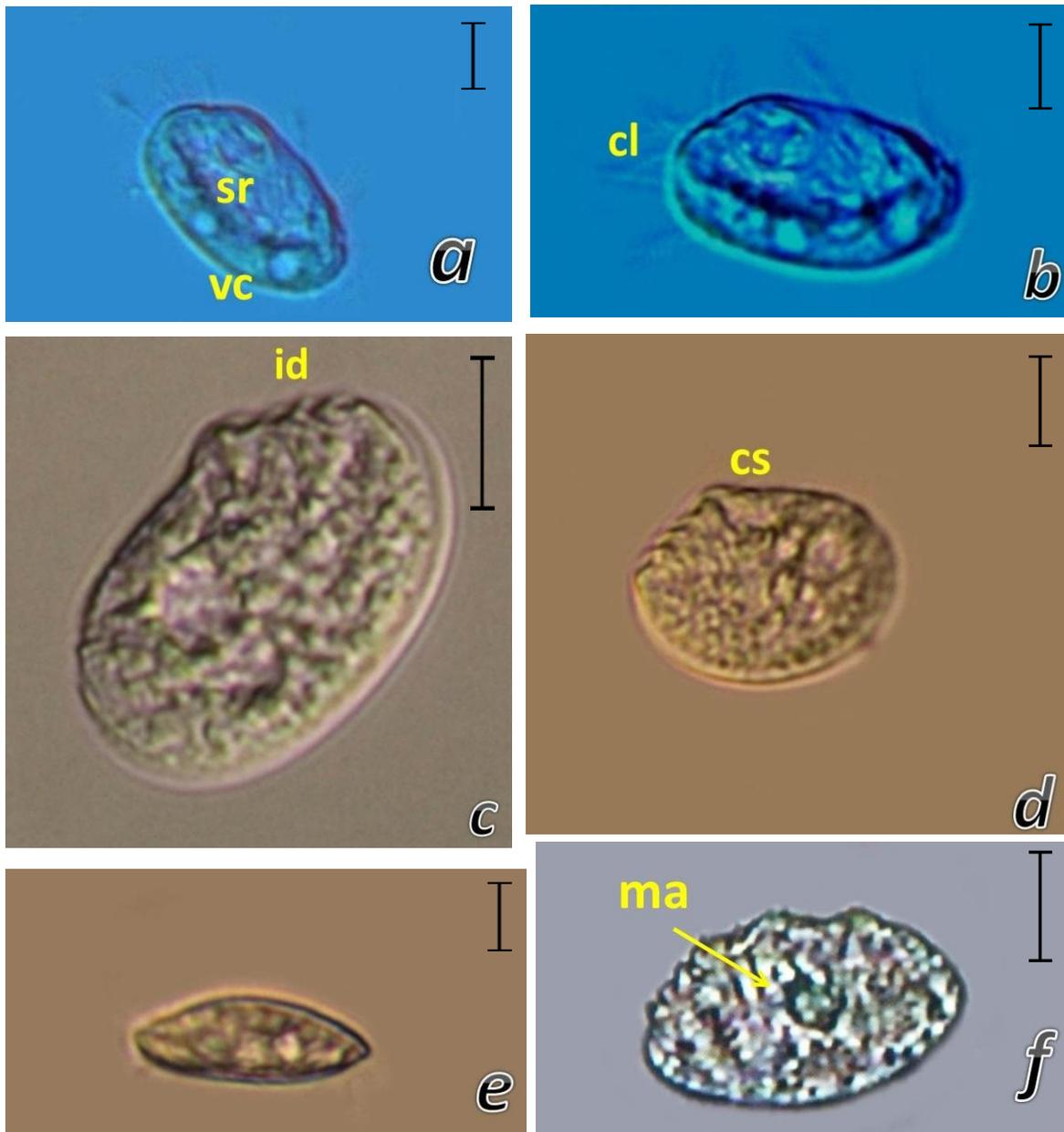




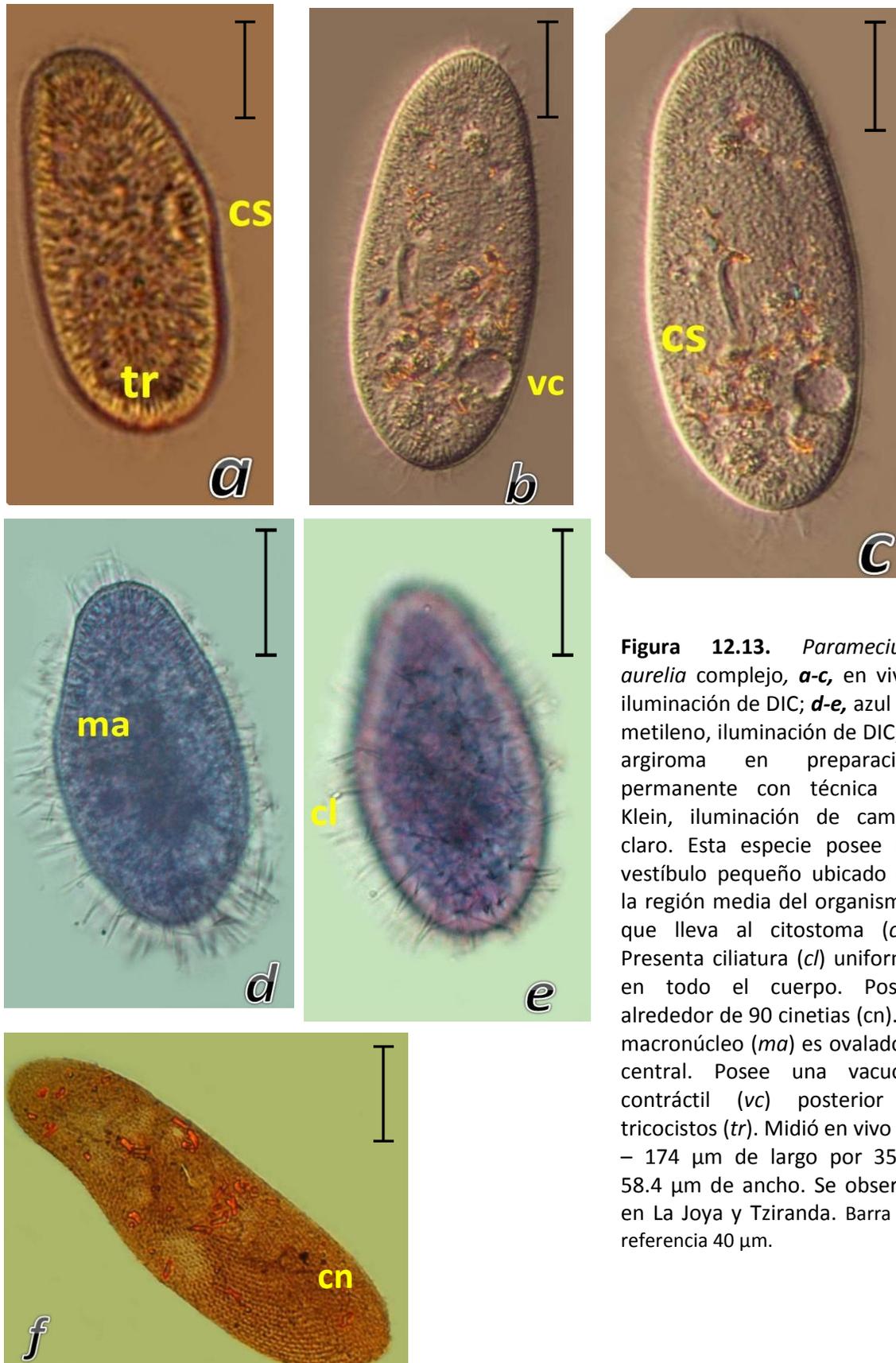
**Figura 12.10.** *Euplotopsis gracilis*, **a-b**, en vivo, iluminación de DIC; **c**, con verde de metilo, iluminación de DIC; **d**, preparación permanente con técnica de hematoxilina de Harris, iluminación de DIC; **e-f**, membranelas y argiroma en preparación permanente con técnica de Klein, **e**, iluminación de DIC, **f**, de campo claro. Zona adoral de membranelas (ZAM) a dos tercios del largo del organismo, con aproximadamente 25 membranelas. Posee nueve cirros frontoventrales (*cf*), cinco cirros transversales (*ct*) y cuatro caudales (*ca*). En la región dorsal presenta de cuatro a cinco estrías gruesas. El macronúcleo (*ma*) es en forma de "C" y recorre todo el largo del organismo, el micronúcleo (*mi*) está en la región media. La vacuola contráctil (*vc*) es posterior. Midió en vivo de 42 – 58  $\mu\text{m}$  de largo por 33.6 – 42  $\mu\text{m}$  de ancho. Se registró sólo en las grutas de Karmidas. Barra de referencia 10  $\mu\text{m}$ .



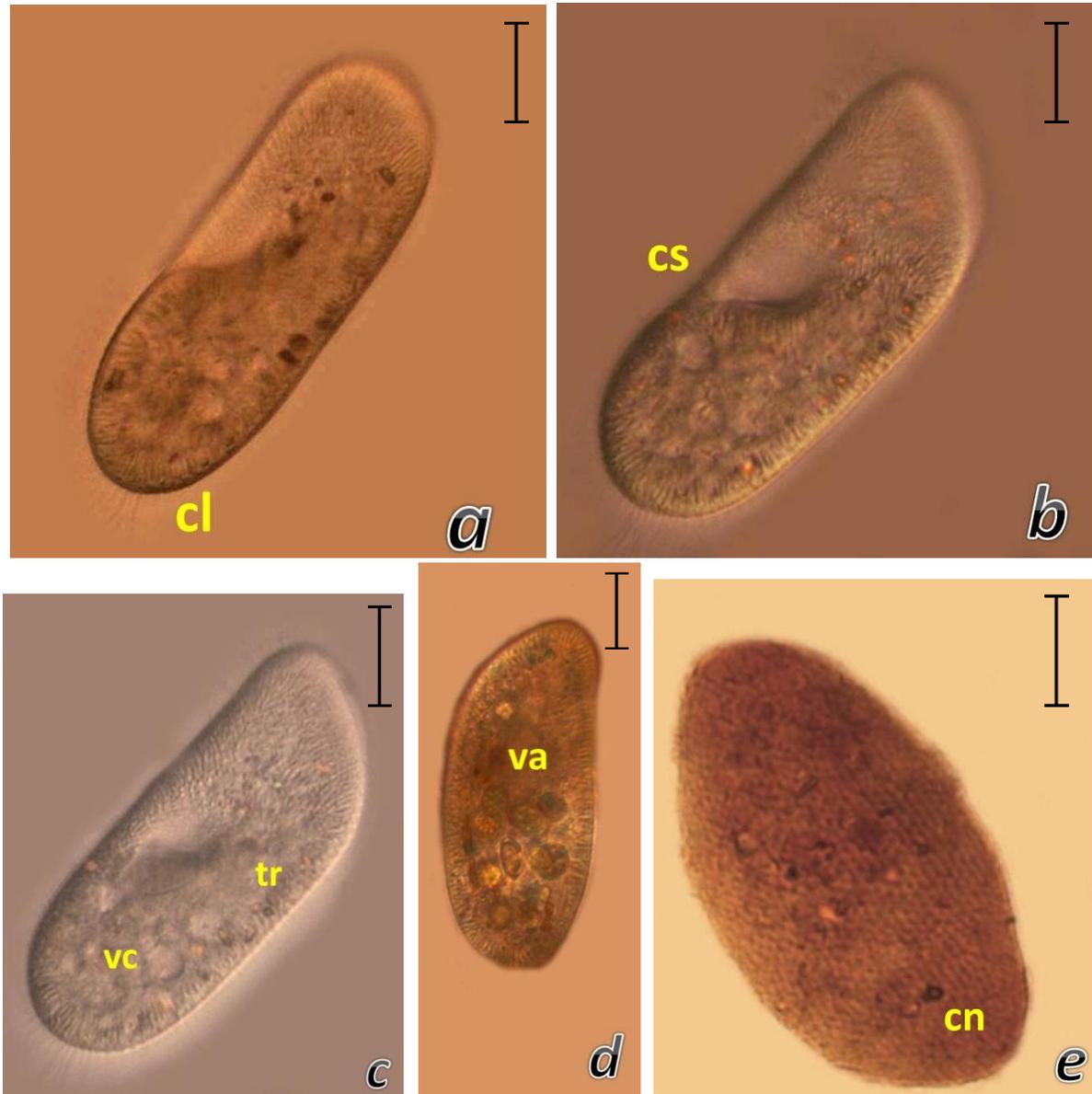
**Figura 12.11.** *Gonostomum affine*, **a, d**, en vivo, iluminación de DIC; **b**, con verde de metilo, iluminación de DIC; **c**, con bicloruro de magnesio, iluminación de DIC. La zona adoral de membranelas (ZAM) abarca hasta la mitad del organismo. Presenta una hilera de cirros izquierda y una derecha, tres cirros frontoventrales (*cf*), tres frontales (*fr*) y uno bucal. Tiene dos macronúcleos (*ma*) ovoides y centrales. Midió en vivo 49.2 – 98  $\mu\text{m}$  de largo por 16.4 – 31.5  $\mu\text{m}$  de ancho. Se encontró únicamente en las grutas de Tziranda. Barra de referencia 20  $\mu\text{m}$ .



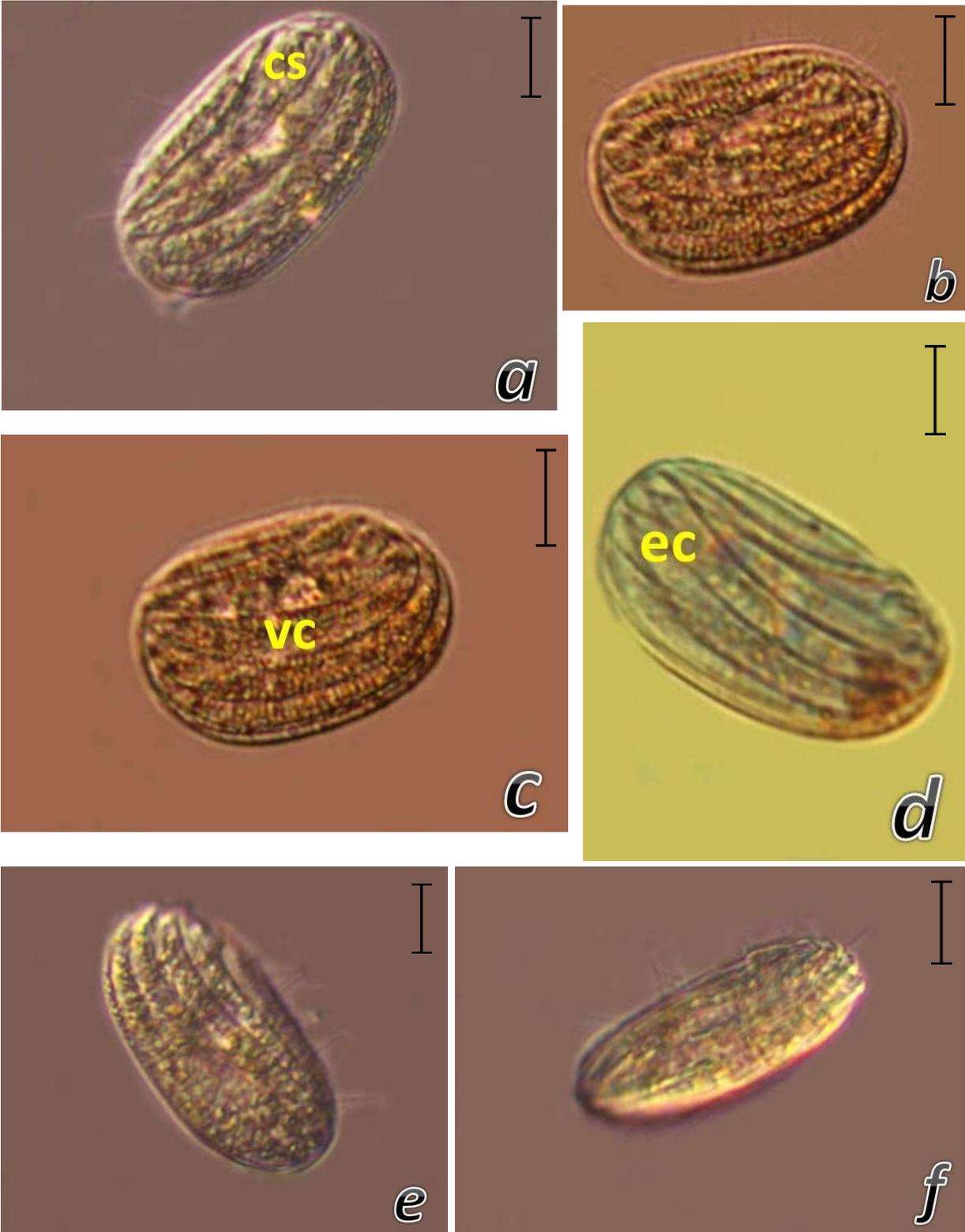
**Figura 12.12.** *Leptopharynx costatus*, **a-d**, en vivo, iluminación de DIC; **e**, en vivo en vista lateral, iluminación de DIC; **f**, con verde de metilo, iluminación de campo claro. Esta especie presenta cilios (*cl*) largos y escasos alrededor de todo el cuerpo. Tiene un surco longitudinal (*sr*) que recorre todo el cuerpo. El citostoma (*cs*) se encuentra en la región media y presenta un conjunto de microtúbulos en forma de canastilla. En la región anterior tiene de tres a cuatro dientes (*id*). Presenta varias vacuolas contráctiles (*vc*) cerca de la región posterior. El macronúcleo (*ma*) es esférico y central. Midió en vivo 22.4 – 30.8 µm de largo por 14 – 22.4 µm de ancho. Se registró en La Joya y Karmidas. Barra de referencia 10 µm.

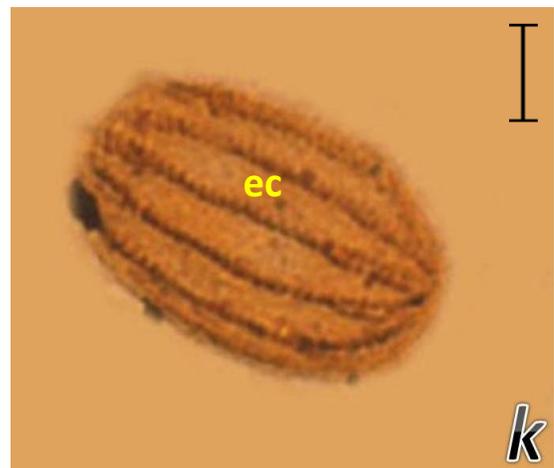
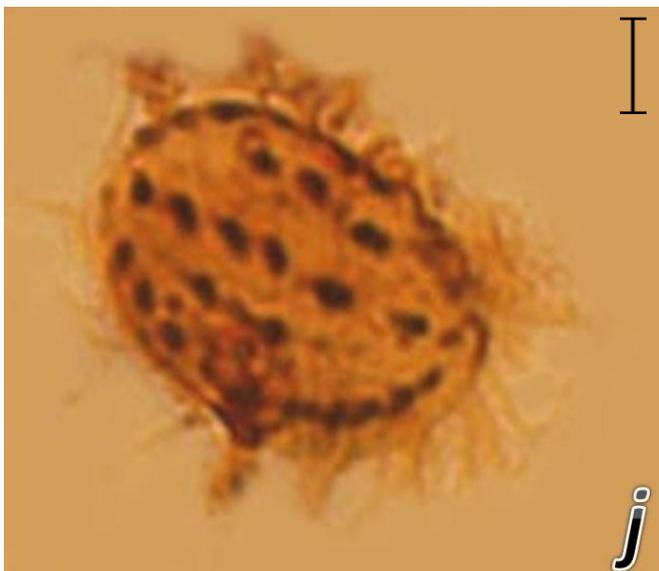
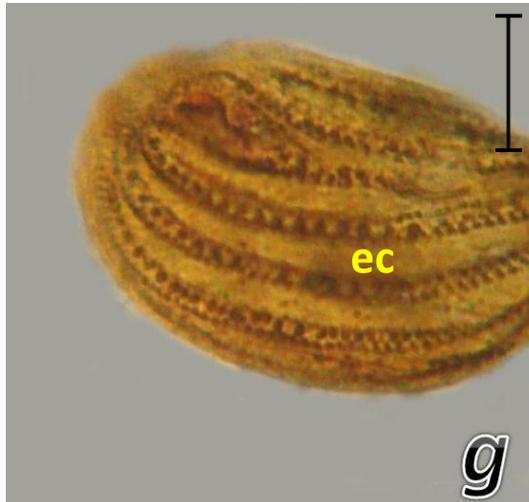


**Figura 12.13.** *Paramecium aurelia* complejo, **a-c**, en vivo, iluminación de DIC; **d-e**, azul de metileno, iluminación de DIC; **f**, argiroma en preparación permanente con técnica de Klein, iluminación de campo claro. Esta especie posee un vestíbulo pequeño ubicado en la región media del organismo, que lleva al citostoma (cs). Presenta ciliatura (cl) uniforme en todo el cuerpo. Posee alrededor de 90 cinetias (cn). El macronúcleo (ma) es ovalado y central. Posee una vacuola contráctil (vc) posterior y tricocistos (tr). Midió en vivo 77 – 174  $\mu\text{m}$  de largo por 35 – 58.4  $\mu\text{m}$  de ancho. Se observó en La Joya y Tziranda. Barra de referencia 40  $\mu\text{m}$ .

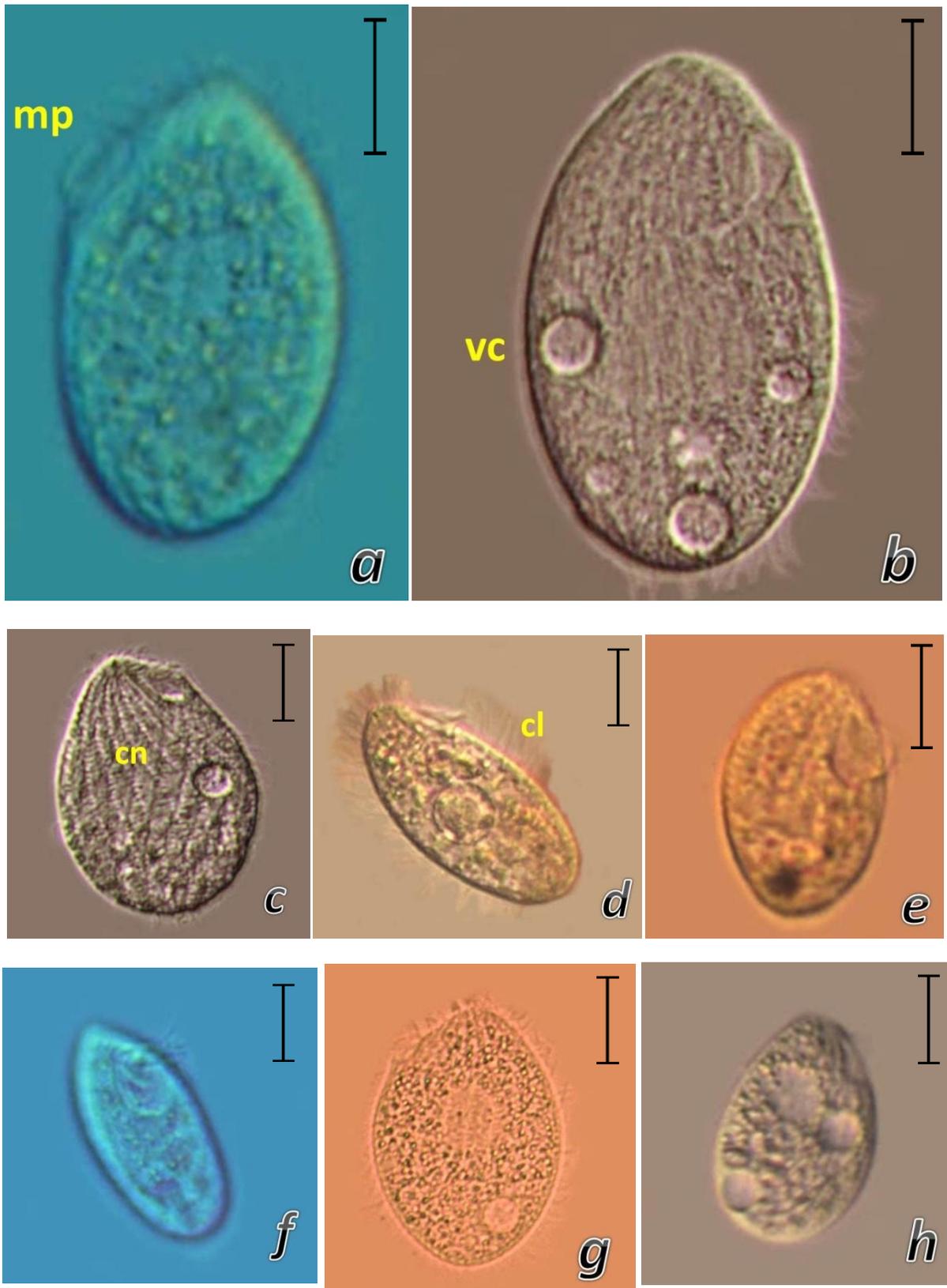


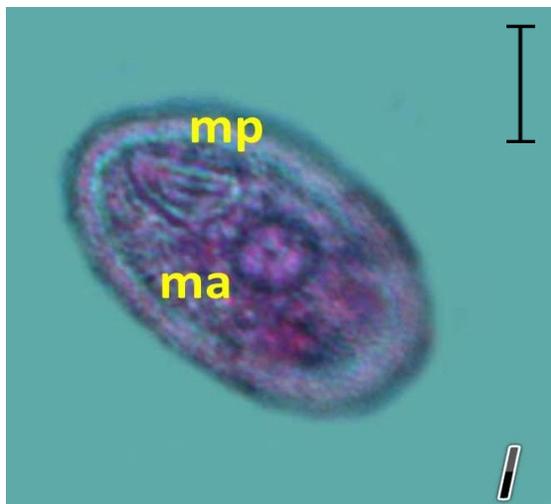
**Figura 12.14.** *Paramecium calkinsi*, **a-d**, en vivo, iluminación de DIC; **e**, preparación permanente con técnica de Klein, iluminación de campo claro. El extremo anterior está truncado en diagonal, el citostoma (*cs*) se encuentra en la región media, al final de un gran vestíbulo. Presenta cilios abundantes y tricocistos (*tr*) distribuidos uniformemente en todo el cuerpo. Los cilios (*cl*) posteriores son un poco más largos. Las vacuolas contráctiles (*vc*) son posteriores, se pueden encontrar además abundantes vacuolas alimenticias (*va*) en su interior. Posee alrededor de 70 cinetias (*cn*). Midió en vivo 98  $\mu\text{m}$  de largo por 33.6  $\mu\text{m}$  de ancho. Se observó en La Joya y Galicia. Barra de referencia 20  $\mu\text{m}$ .



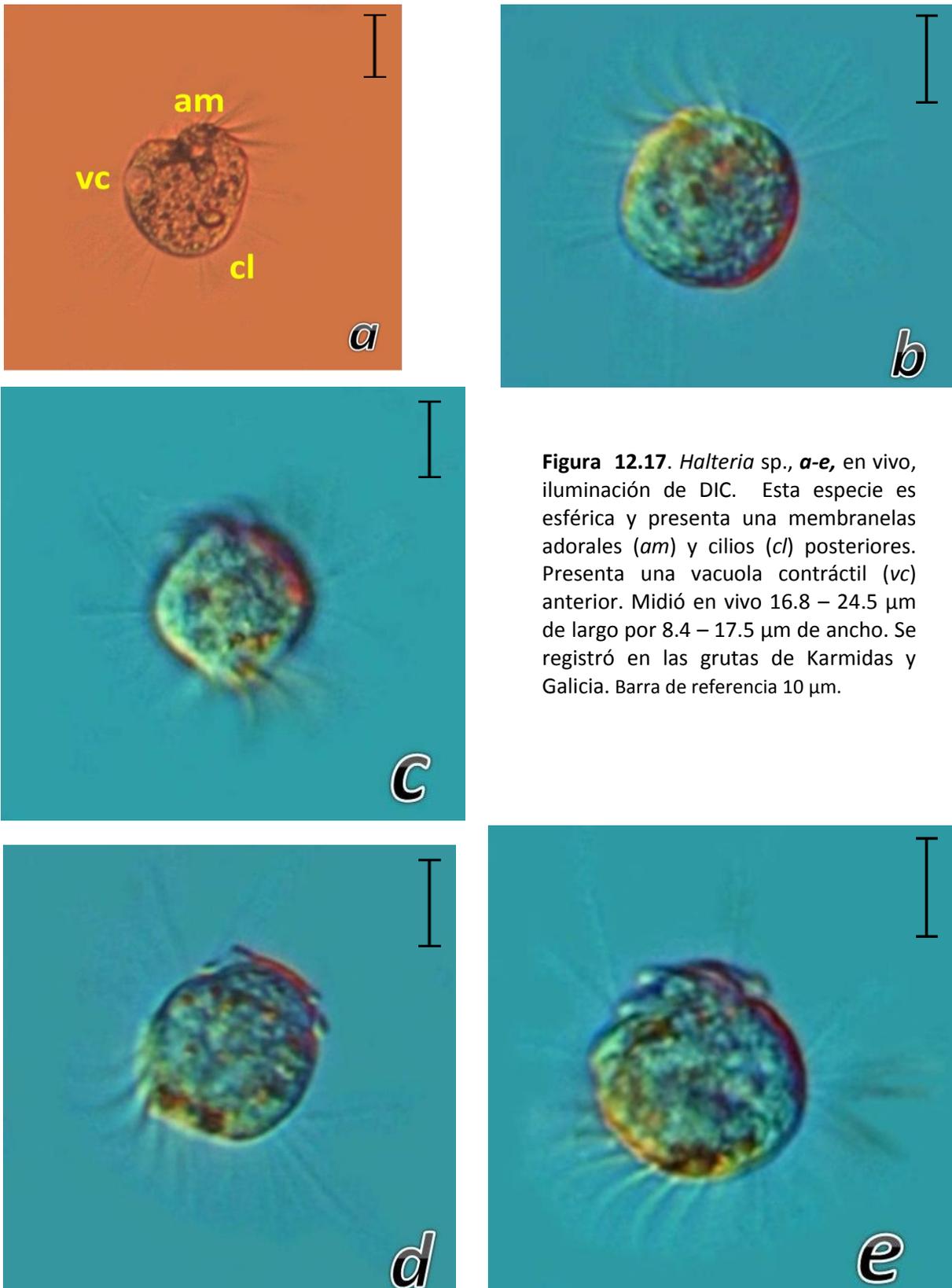


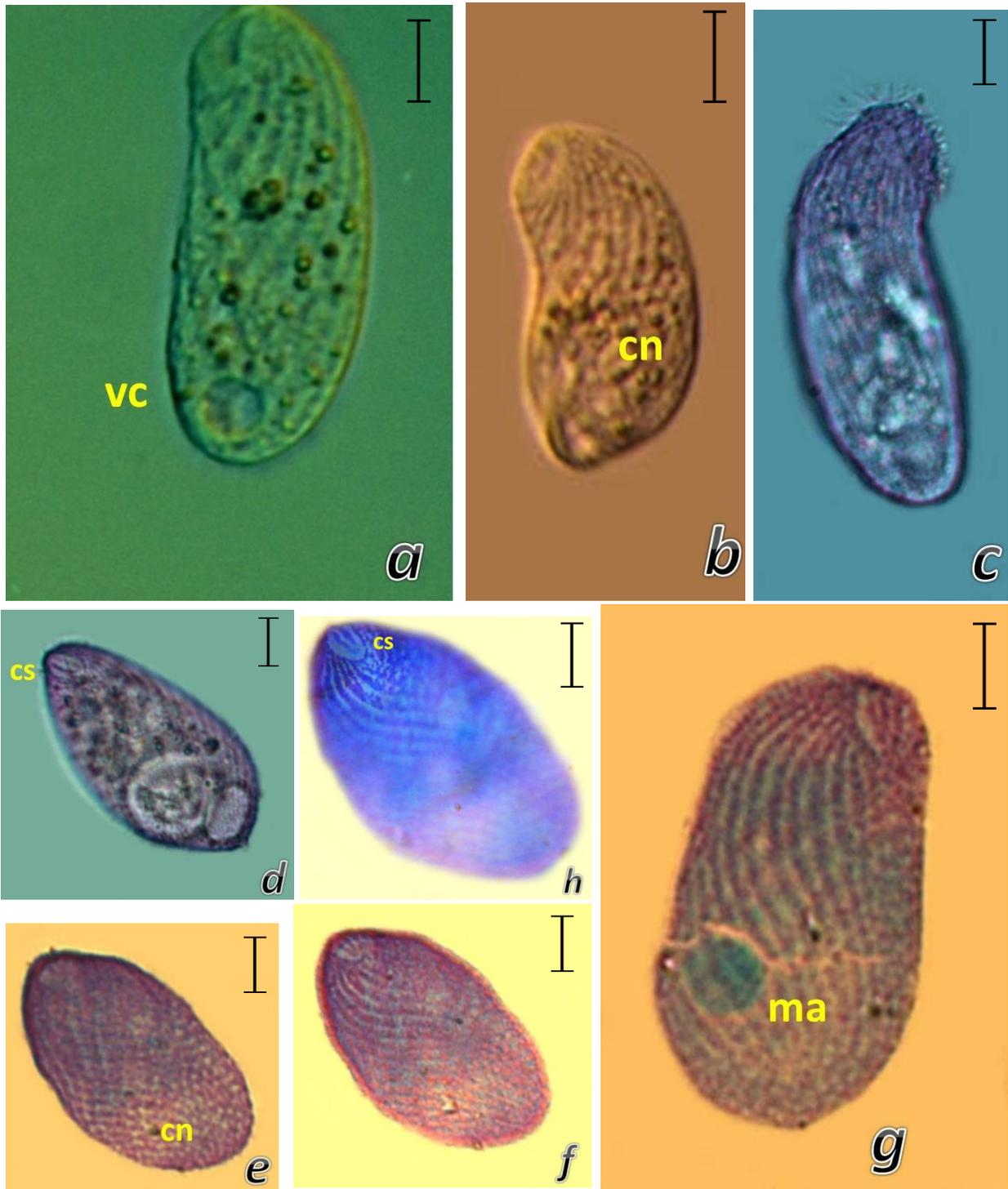
**Figura 12.15.** *Pseudomicrothorax agilis*, **a-d**, en vivo, iluminación de DIC; **e-f**, en vivo en vista dorsal, iluminación de DIC; **g-k**, argioma en preparación permanente con técnica de Klein, iluminación de campo claro. Esta especie es ovalada, con cilios (*cl*) distribuidos uniformemente en todo el organismo. Presenta estrías corticales (*ec*) longitudinales muy marcadas. El citostoma (*cs*) es anterior y lateral, con microtúbulos en forma de una canastilla. Presenta una vacuola contráctil (*vc*) media. Midió en vivo de 35 – 42  $\mu\text{m}$  de largo por 17.5 – 28  $\mu\text{m}$  de ancho. Se registró en las grutas de Karmidas y Galicia. Barra de referencia 10  $\mu\text{m}$ .



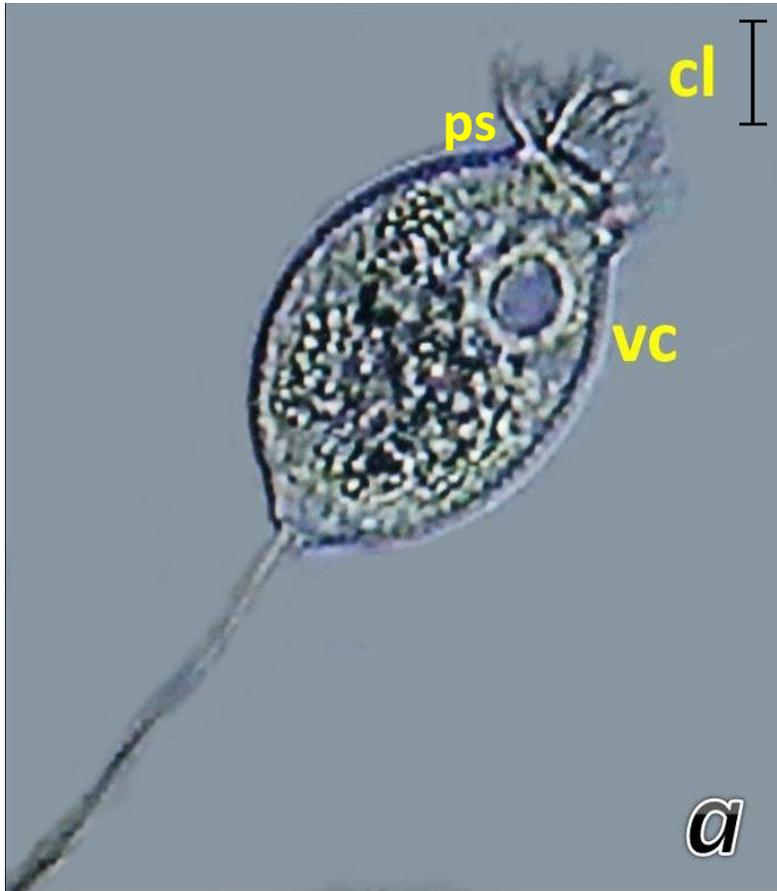


**Figura 12.16.** *Tetrahymena pyriformis* complejo, **a-k**, en vivo, iluminación de DIC; **l-m**, con azul de metileno, iluminación de DIC. Esta especie es piriforme con cilios (*cl*) distribuidos uniformemente en todo el cuerpo. El citostoma se encuentra en el tercio anterior, presenta un sistema de policinetias orales, formando tres membranelas y una membrana paroral (*mp*). La amplitud del citostoma y su ubicación más apical o central puede variar ligeramente. El macronúcleo (*ma*) es esférico, las vacuolas contráctiles (*vc*) son posteriores. Se pueden formar vacuolas alimenticias (*va*) abundantes. Posee de 15 a 20 cinetias (*cn*). Midió en vivo 16 – 54  $\mu\text{m}$  de largo por 10.8 – 22  $\mu\text{m}$  de ancho. El macronúcleo midió 5.6  $\mu\text{m}$  de diámetro. Se presentó en todas las cuevas excepto en las grutas de Huarimio. Barra de referencia 10  $\mu\text{m}$ .

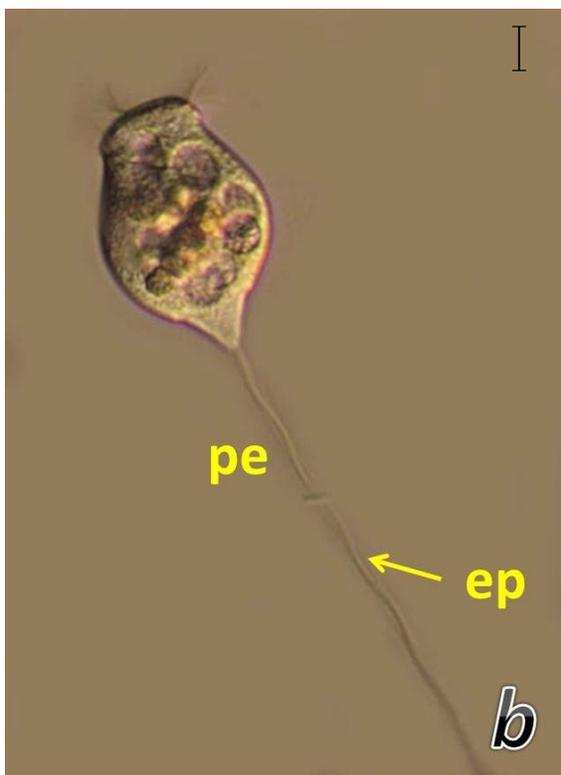




**Figura 12.18.** *Platyophrya* sp., **a-b**, en vivo, iluminación de DIC; **c-d**, con azul de metileno, iluminación de DIC; **e-h**, con azul de metileno, iluminación de campo claro . Esta especie es alargada, con el extremo anterior trunco. El citostoma (cs) se encuentra en el extremo anterior y presenta polincetias orales que forman una membrana paroral inconspicua. El macronúcleo (ma) es oval y central, la vacuola contráctil (vc) es posterior. Posee entre 28 y 42 cinetias (cn) oblicuas. Midió en vivo de 42 – 78.4 µm de largo por 19.6 – 33.6 µm de ancho. Únicamente se observó esta especie en la cueva de La Joya. Barra de referencia 10 µm.

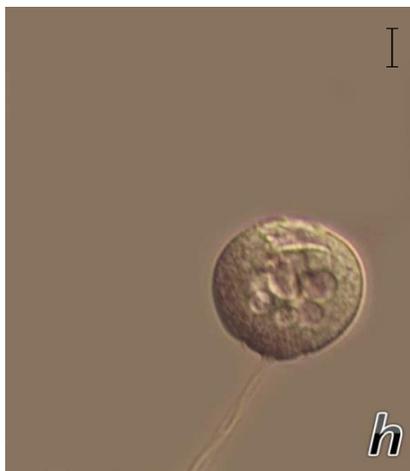


**Figura 12.19.** *Vorticella* sp.1, **a**, en vivo, iluminación de campo claro. Este género se caracteriza por poseer cilios (*cl*) únicamente alrededor del peristoma (*ps*). La vacuola contráctil (*vc*) en esta especie se encuentra a un tercio del zooide. El zooide midió en vivo 39.2  $\mu$ m de largo por 28  $\mu$ m de ancho en la parte media del zooide y 11.2  $\mu$ m en el peristoma. El pedúnculo midió 56  $\mu$ m. Se observó únicamente en las grutas de Huarimio. Barra de referencia 10  $\mu$ m.

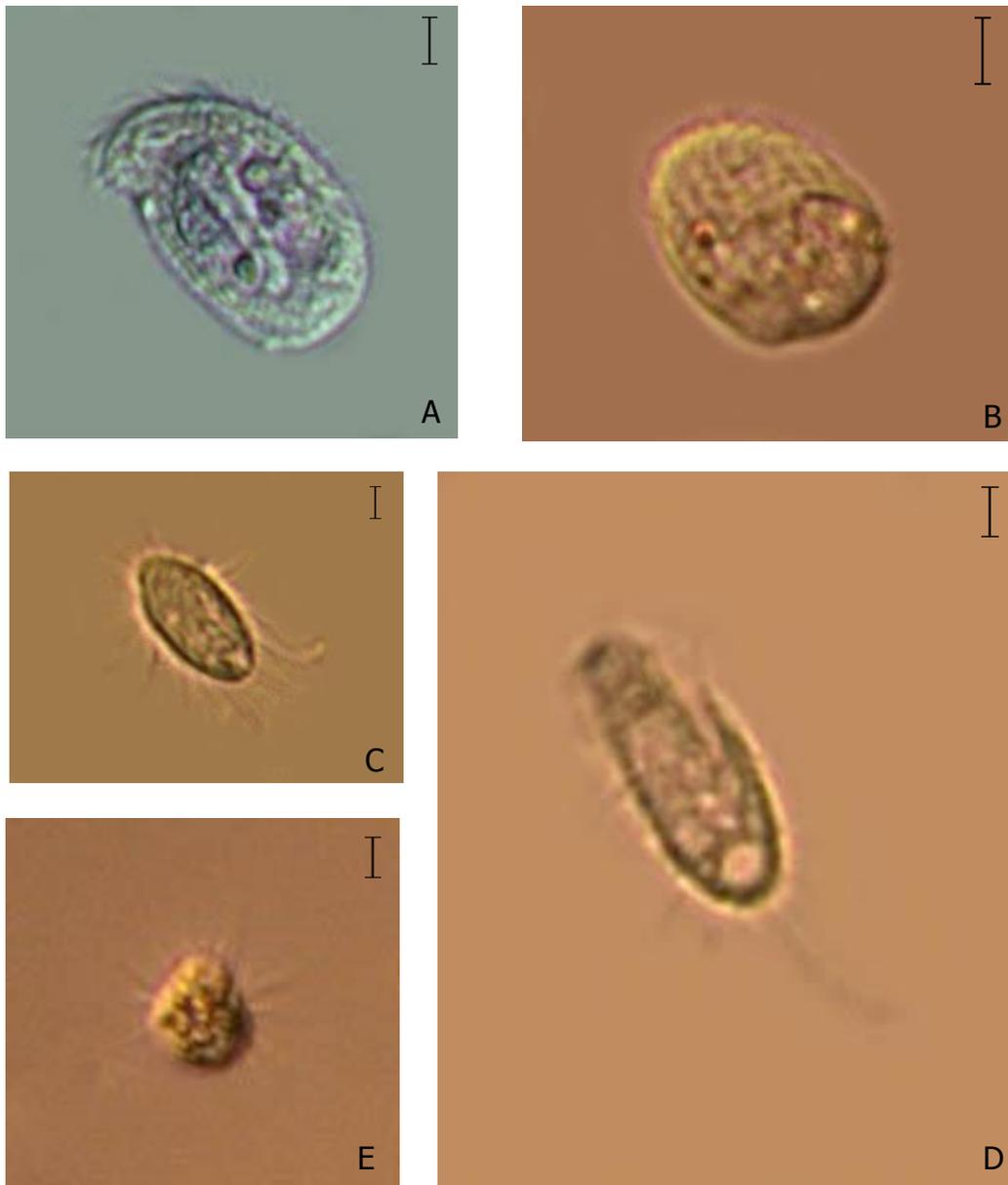




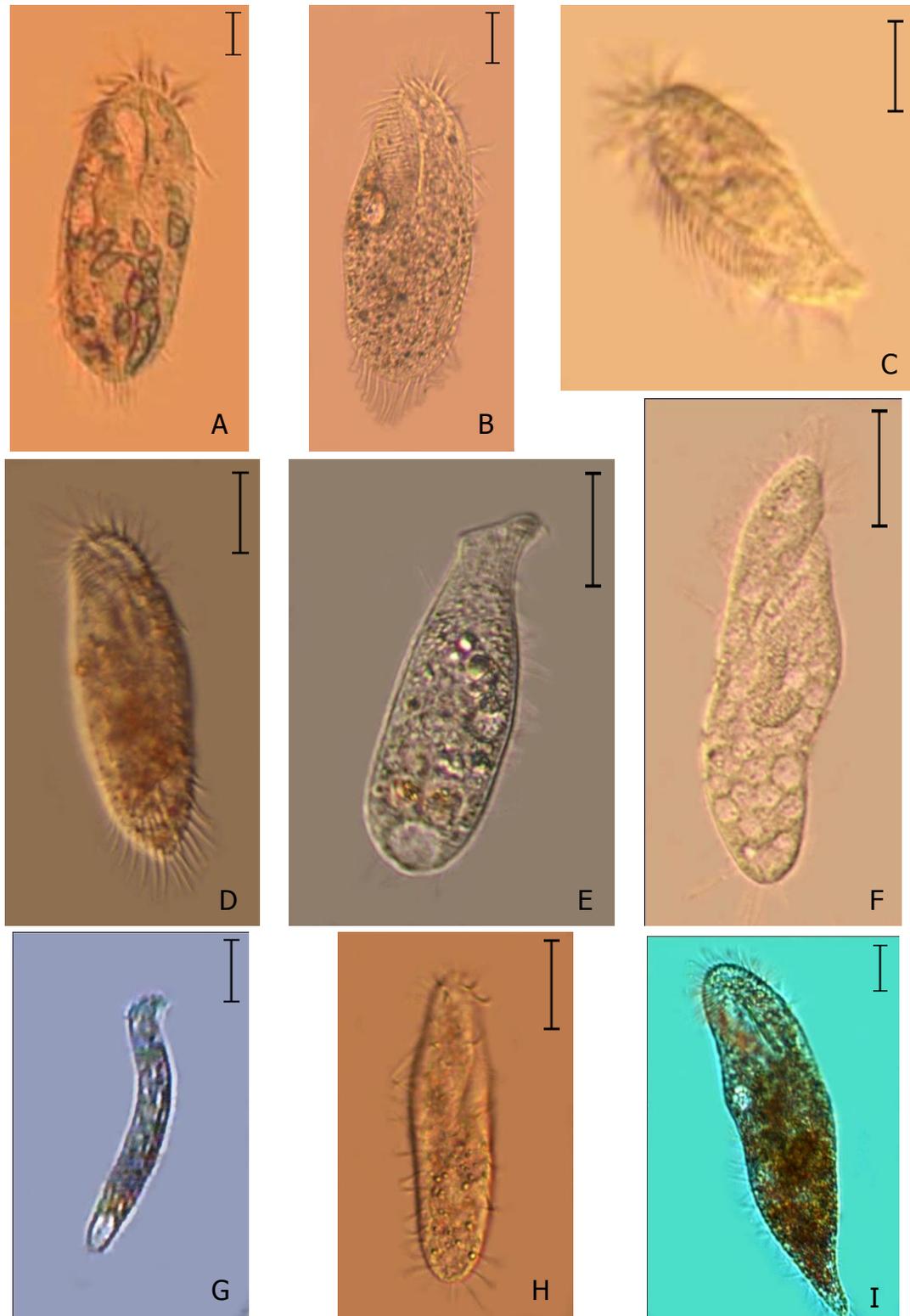
*Vorticella* sp.2 **b-g**, en vivo, iluminación de DIC; **h**, en vivo, contraída, iluminación de DIC. Presenta un pedúnculo (*pe*) contráctil, propiedad que le es conferida por el espasmonema (*ep*) que se encuentra en su interior. En esta especie se observa el infundíbulo (*in*) que termina en la vacuola contráctil (*vc*) a un tercio del zooide. También presenta un disco epistomal (*de*) ligeramente elevado. Su película es estriada (*st*). Se pueden observar numerosas vacuolas alimenticias (*va*) en su interior. El zooide midió en vivo 64.4  $\mu\text{m}$  de largo por 39.2  $\mu\text{m}$  de ancho en la parte media del zooide y 19.6  $\mu\text{m}$  en el peristoma. El pedúnculo midió 154  $\mu\text{m}$ . Esta especie se registró en las grutas de Tziranda. Barra de referencia 10  $\mu\text{m}$ .



*Vorticella* sp.3, **i**, en vivo, iluminación de DIC. El zooide se encuentra contraído pero se observa el macronúcleo (*ma*) de esta especie, que es transversal en forma de herradura. El zooide midió en vivo 17.5 – 25  $\mu\text{m}$  de largo por 17.5  $\mu\text{m}$  de ancho en la parte media del zooide. Esta especie se observó en La Joya y Karmidas. Barra de referencia 10  $\mu\text{m}$ .



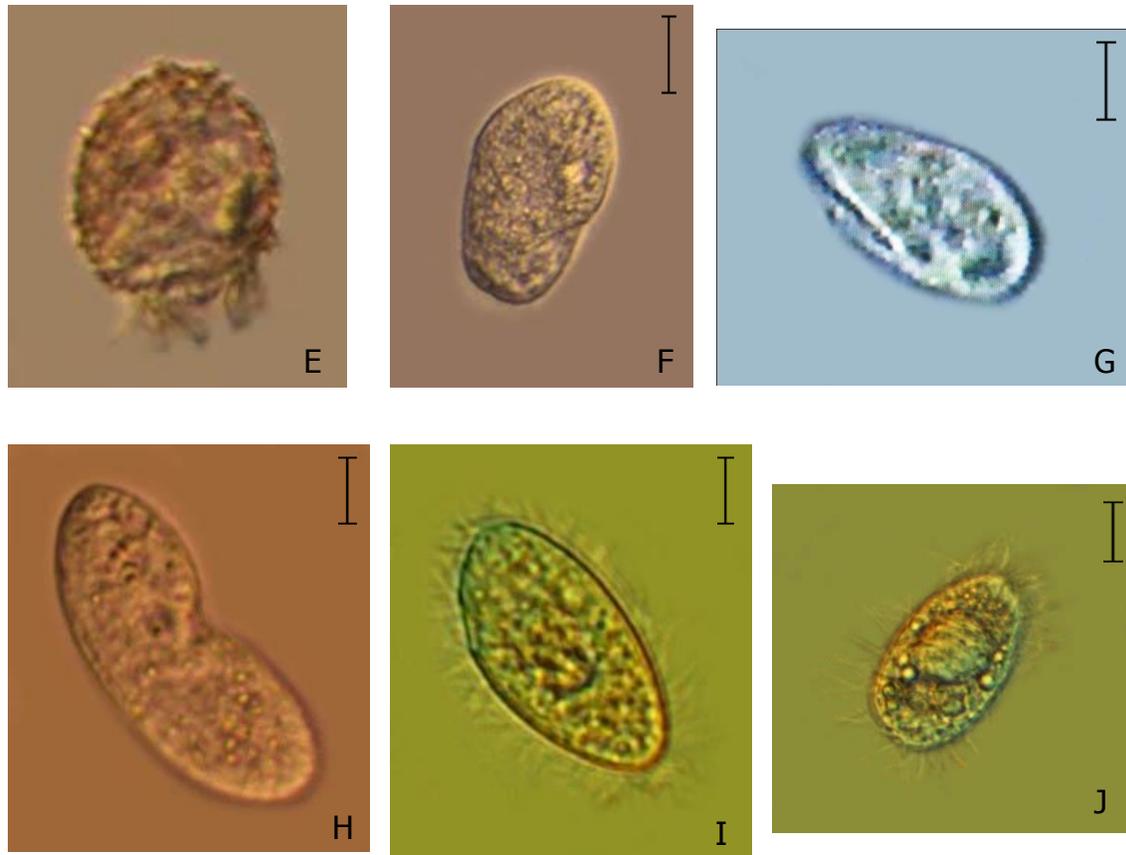
**Figura 12.20. A-E.** En vivo, iluminación de contraste de fases. **A**, Chilodonellidae sp.1. Ciliado con engrosamiento izquierdo, macronúcleo oval y central, aparente estructura oral en forma de cono; **B**, Cinetochilidae sp.1. Citostoma superior, estrías, cilios caudales más largos; **C**, Cyclidiidae sp.1. Piriforme, cilios muy largos, membrana paroral; **D**, Cyclidiidae sp.2. Membrana paroral hasta la mitad del cuerpo, cilio caudal largo; **E**, Mesodiniidae sp.1. Cilios dirigidos anterior y posteriormente. Barra de referencia 5  $\mu\text{m}$ .



**Figura 12.21. A-I.** En vivo, iluminación de contraste de fases. **A**, Oxytrichidae sp.1. Zona Adoral de Membranelas (ZAM) a 1/3 del cuerpo, hilera de cirro izquierda, derecha y media que se juntan, aprox. 6 cirros transversales, 4-5 frontoventrales, 2 macronúcleos centrales; **B**, Oxytrichidae sp.2. ZAM casi hasta la mitad, una hilera de cirros izq., der.,

una central en zig-zag, prob. 4 cirros transversales y 6-7 caudales, 5 frontoventrales; **C**, Oxytrichidae sp.3. ZAM hasta abajo, 1-2 hileras medias, región posterior trunca, cirros frontales y caudales; **D**, Pseudokeronopsidae sp.1. ZAM a 1/3, hilera izq., der. y media que se juntan abajo, 3 cirros frontales, 5 transversales, 2 macronúcleos ovalados; **E**, Spathidiidae sp.1. Extremo anterior trunco diagonalmente, borde anterior, vacuola contráctil posterior; **F**, Spathidiidae sp.2. Membranelas a más de 1/3, cuerpo plástico, macronúcleo alargado casi en forma de "U", cilios caudales; **G**, Spathidiidae sp.3. Alargado, región anterior adelgazada, vacuola posterior; **H**, Trachelostylidae sp.1. ZAM casi hasta la mitad, hilera lateral izq. y der. con pocos cirros, se juntan abajo, sin cirros transversales, 7 frontoventrales; **I**, Urostylidae sp.1. Con región posterior adelgazada, ZAM a 1/3, dos hileras de cilios laterales, hilera media diagonal, 3 cirros frontoventrales, 2 macronúcleos ovalados y centrales. Barra de referencia 20  $\mu\text{m}$ .



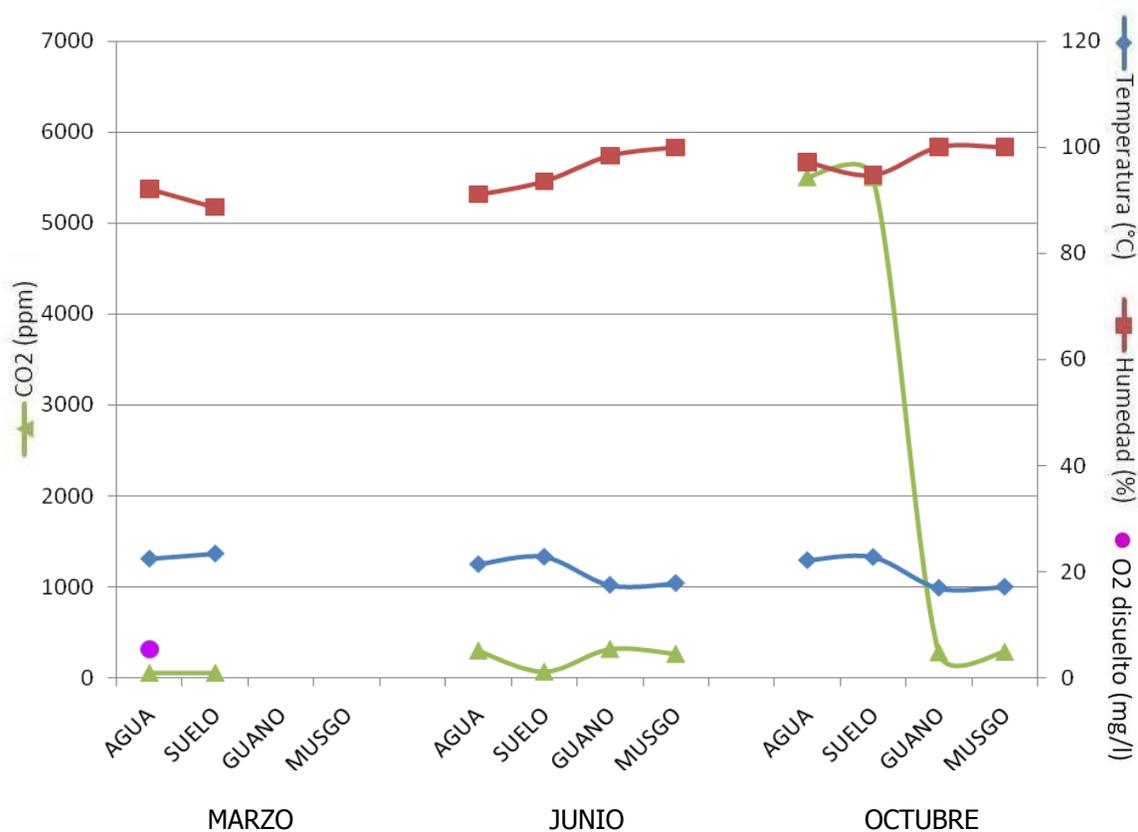


**Figura 12.22. A-J.** En vivo, iluminación de contraste de fases. **A**, Sporadotrichida sp.1. ZAM a  $1/3$ , hilera izquierda y derecha hasta abajo, 2-4 cirros caudales, aprox. 8 frontoventrales; **B**, Urostylida sp.2. ZAM a  $1/3$ , 3 hileras medias, 2 izq. y una derecha, 2 macronúcleos centrales, 5 cirros transversales y 7 frontoventrales; **C**, Urostylida sp.3. ZAM a  $3/4$ , hilera izq. y derecha que se unen hasta abajo, 12 cirros frontales, 4 transversales, 2 macronúcleos ovalados centrales; **D**, Ciliophora sp.1. ZAM a  $1/3$ , hilera izq. y der. que se juntan abajo, 6-7 cirros transversales; **E**, Ciliophora sp.2. Aparente estructura rígida, cilios posteriores; **F**, Ciliophora sp.3. Vestíbulo en medio de la célula dirigido posteriormente; **G**, Ciliophora sp.4. Piriforme, membrana paroral a  $3/4$  del cuerpo; **H**, Ciliophora sp.5. Largo, con una hendidura en medio del cuerpo, pocas cinetias; **I**, Ciliophora sp.6. Truncado anteriormente, citostoma anterior, vacuola posterior; **J**, Ciliophora sp.7. Vacuola posterior, cilios más prominentes en la región anterior, macronúcleo oval y central. Barra de referencia 10  $\mu\text{m}$ .

**Condiciones ambientales y riqueza específica registrada dentro de cada cueva**

**Cueva La Joya**

*Datos ambientales.* Los valores de las condiciones ambientales se muestran en la figura 13; en el caso del agua, se promediaron los valores ambientales y los tomados directamente del agua en cada punto de muestreo. A lo largo de la cueva y las recolectas, los valores de humedad y temperatura fueron constantes, mientras que la concentración de CO<sub>2</sub> ambiental tuvo una amplia variación. En la primera recolecta el oxígeno disuelto tuvo un valor de 5.33 mg/l. El pH de los diferentes cuerpos de agua muestreados varió entre 7 y 7.5.



**Figura 13.** Datos ambientales en los puntos de muestreo en la cueva La Joya.

*Riqueza específica.* Se revisaron 18 muestras de agua (seis originales y 12 en cultivo), 12 de suelo (tres originales y nueve en cultivo), ocho de guano (2 originales y seis en cultivo) y ocho de musgo (2 originales y seis en cultivo) (Anexo A).

**Tabla 2.** Especies de ciliados de vida libre registrados en la cueva La Joya.

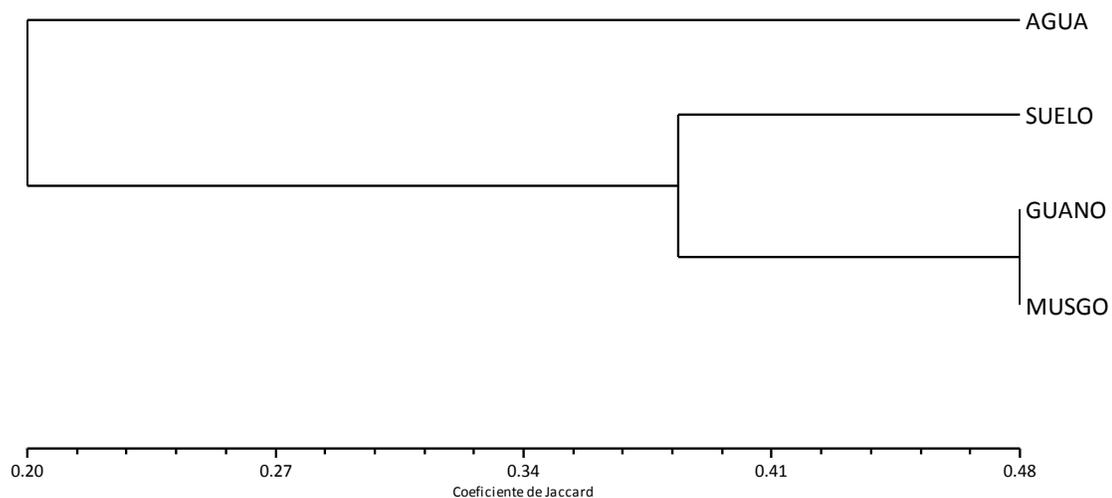
ESPECIES / BIOTOPO	MES DE RECOLECTA											
	Marzo		Junio				Octubre					
	a	s	a	s	g	m	a	s	g	m		
1 <i>Coleps hirtus</i>			X									
2 <i>Colpoda cucullus</i>						X			X			
3 <i>Colpoda ecaudata</i>					X	X					X	
4 <i>Colpoda inflata</i>		X							X		X	
5 <i>Colpoda maupasi</i>	X	X				X			X		X	
6 <i>Cyclidium glaucoma</i>			X									
7 <i>Dexiostoma campylum</i>										X		
8 <i>Drepanomonas revoluta</i>				X						X		
9 <i>Euplotoides patella</i>			X	X					X			
10 <i>Leptopharynx costatus</i>				X		X			X		X	
11 <i>Paramecium aurelia</i>				X								
12 <i>Paramecium calkinsi</i>				X								
13 <i>Tetrahymena pyriformis</i>			X	X		X			X	X	X	
14 <i>Aspidisca</i> sp.			X									
15 <i>Cyclidium</i> sp.		X	X	X				X		X		
16 <i>Platyophrya</i> sp.						X				X		
17 <i>Vorticella</i> sp.3				X		X				X	X	
18 Chilodonellidae gen. sp.1											X	
19 Cinetochilidae gen. sp.1				X				X			X	
20 Cyclidiidae gen. sp.1				X					X			
21 Cyclidiidae gen. sp.2				X						X		
22 Leptopharyngidae gen. sp.1	X											
23 Mesodiniidae gen. sp.1								X	X			
24 Oxytrichidae gen. sp.1										X		
25 Spathidiidae gen. sp.1						X		X		X		
26 Sporadotrichida sp.1										X		
27 Urostylida sp.1					X	X			X			
28 Ciliophora sp.1						X			X			
29 Ciliophora sp.2								X				
30 Ciliophora sp.3									X	X		
31 Ciliophora sp.4					X					X		

a- agua, s-suelo, g-guano, m-musgo

En total se registraron 31 especies, el biotopo que presentó mayor número de especies fue el guano con 18, y el de menor riqueza específica fue el agua con 12. El mes en el que se registró la mayor riqueza fue octubre (Tabla 2).

Dos especies (*Colpoda maupasi* y *Tetrahymena pyriformis*) se registraron en todos los biotopos. En contraparte se registraron cinco especies exclusivas del agua, tres del suelo, cuatro del guano y una del musgo. En cuanto a las recolectas, se registró una riqueza muy semejante entre los meses de junio y octubre. *Colpoda maupasi* estuvo presente en todos los meses muestreados, junto con *Cyclidium* sp.

Al aplicar a los datos el coeficiente de Jaccard, se obtuvo que los biotopos que compartieron un mayor número de especies fueron el guano y musgo, resultando estar agrupados con 0.48 de similitud (Fig. 14).



**Figura 14.** Dendrograma de similitud con el coeficiente de Jaccard aplicado a los biotopos de La Joya.

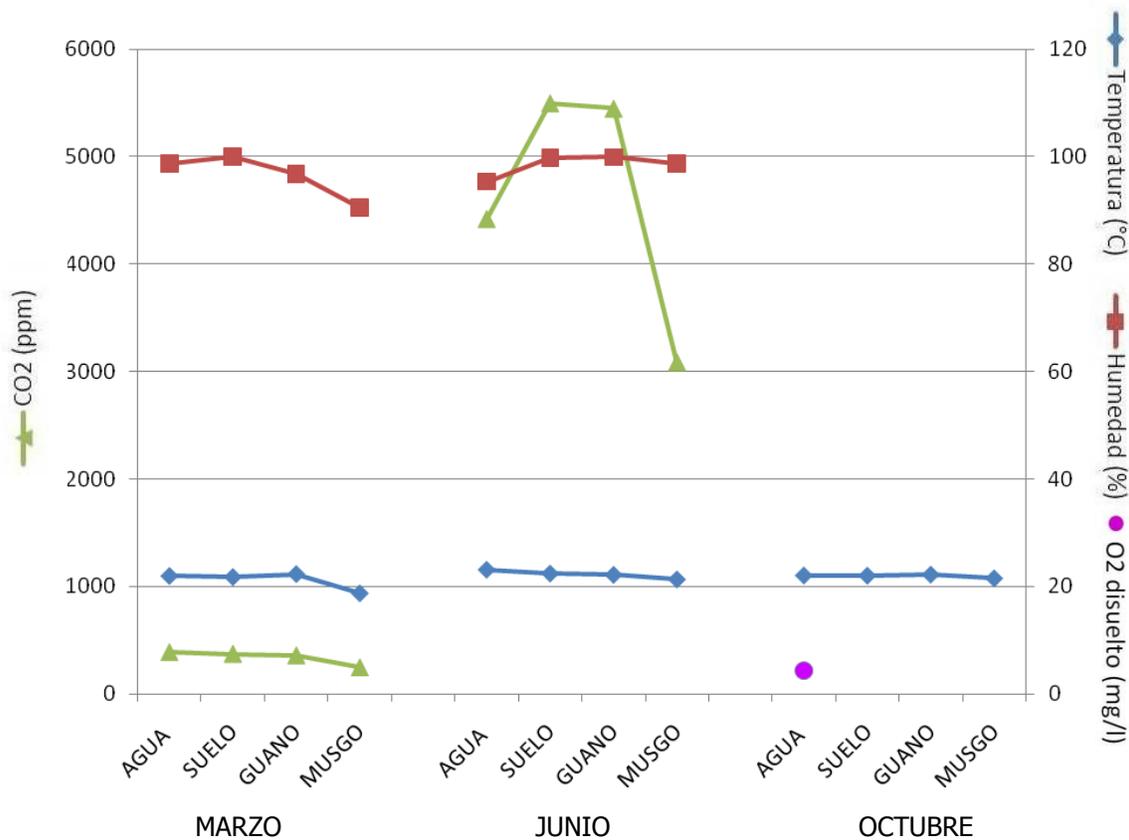
### ***Grutas de Karmidas***

*Datos ambientales.* En la figura 15 se puede observar la variación de las condiciones ambientales registradas en esta cueva. En la recolecta de octubre no se pudieron medir los datos de humedad y CO<sub>2</sub>. Se puede notar que los valores de temperatura y humedad permanecieron constantes en todos los puntos de muestreo y a lo largo de las recolectas, mientras que la concentración CO<sub>2</sub> fue muy similar en toda la

cueva, pero varió en las diferentes recolectas. En la última recolecta se midió la cantidad de oxígeno disuelto, resultando valores entre 3.47 y 5.07 mg/l. En la recolecta de junio se tomó el pH de dos de los cuerpos de agua muestreados, siendo en ambos de siete.

*Riqueza específica.* Se revisaron 23 muestras de agua (siete originales y 16 en cultivo), 12 de suelo (tres originales y nueve en cultivo), nueve de guano (dos originales y siete en cultivo) y 12 de musgo (tres originales y nueve en cultivo) (Anexo A).

En total se registraron en esta cueva 16 especies de ciliados de vida libre (Tabla 3), siendo el musgo el biotopo que tuvo el número mayor de ciliados (15 especies), muy por arriba del resto de los demás biotopos. El mes en el que se registró la mayor riqueza fue junio con 13 especies.



**Figura 15.** Datos ambientales en los puntos de muestreo en las Grutas de Karmidas.

Los ciliados *Colpoda maupasi* y *Tetrahymena pyriformis* se registraron en todos los biotopos muestreados. Todos los biotopos compartieron especies, a excepción del musgo, donde se registraron ocho especies que no estuvieron en ningún otro biotopo. En cuanto a las recolectas, *T. pyriformis* junto con una morfoespecie de la familia

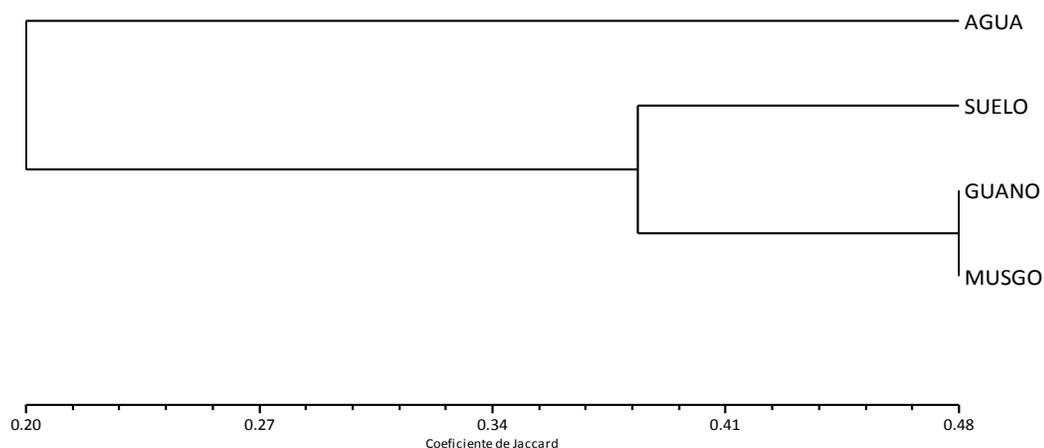
Oxytrichidae se registraron en todas las recolectas. En el mes de junio se registraron seis géneros que no se presentaron en las otras dos recolectas.

Se calculó el coeficiente de Jaccard para la similitud entre biotopos, de lo cual resultó que el agua y musgo comparten un valor de similitud de 0.48 (Fig. 16).

**Tabla 3.** Especies de ciliados de vida libre registrados en las Grutas de Karmidas.

ESPECIES/BIOTOPO	MES DE RECOLECTA											
	Marzo				Junio				Octubre			
	a	s	g	m	a	s	g	m	a	s	g	m
1 <i>Colpoda cucullus</i>		X	X					X				
2 <i>Colpoda ecaudata</i>	X			X	X							
3 <i>Colpoda inflata</i>					X	X		X		X		
4 <i>Colpoda maupasi</i>			X	X	X	X						
5 <i>Cyclidium glaucoma</i>				X								X
6 <i>Euplotopsis gracilis</i>								X				
7 <i>Leptopharynx costatus</i>								X				
8 <i>Pseudomicrothorax agilis</i>								X				
9 <i>Tetrahymena pyriformis</i>	X	X	X	X	X	X		X	X	X		
10 <i>Cyclidium sp.</i>			X									X
11 <i>Halteria sp.</i>								X				
12 <i>Vorticella sp.3</i>								X				
13 <i>Cyclidiidae gen. sp.1</i>								X				X
14 <i>Leptopharyngidae gen. sp.2</i>			X							X		
15 <i>Oxytrichidae gen. sp.2</i>		X	X					X		X		X
16 <i>Urostylidae gen. sp.1</i>								X				

a- agua, s-suelo, g-guano, m-musgo



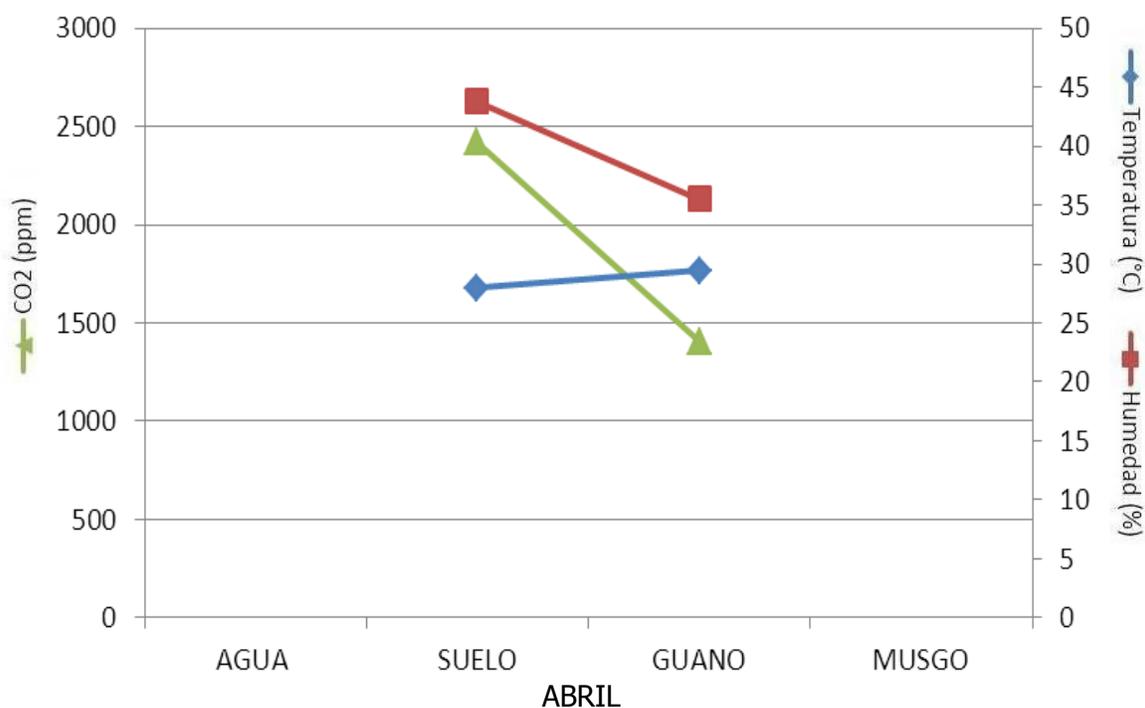
**Figura 16.** Dendrograma de similitud con el coeficiente de Jaccard aplicado a los biotopos de Karmidas.

### Grutas de Huarimio

*Datos ambientales.* En esta cueva sólo se realizó una recolecta, los datos ambientales se muestran en la figura 17. Los datos para el guano son un promedio de las medidas tomadas en los tres puntos de muestreo de este biotopo. Como se puede observar en la gráfica, los valores de temperatura se mantuvieron constantes en toda la cueva, mientras que los niveles de humedad y CO<sub>2</sub> ambiental estuvieron en un intervalo más amplio entre las diferentes zonas.

*Riqueza específica.* Se revisaron cuatro muestras de suelo (una original y tres en cultivo) y ocho de guano (tres originales y cinco en cultivo) (Anexo A).

En total se registraron cinco especies de ciliados dentro de esta cueva. De los dos biotopos muestreados el guano fue el que presentó mayor riqueza específica (Tabla 4). Ambos compartieron una especie.



**Figura 17.** Datos ambientales en los puntos de muestreo de cada biotopo en las Grutas de Huarimio (recolecta única).

**Tabla 4.** Especies de ciliados de vida libre registrados en las Grutas de Huarimio.

ESPECIES/BIOTOPO	MES DE RECOLECTA	
	Abril	
	s	g
1 <i>Colpoda ecaudata</i>		X
2 <i>Colpoda maupasi</i>		X
3 <i>Vorticella</i> sp.1		X
4 Trachelostylidae gen. sp.1	X	
5 Ciliophora sp.5	X	X

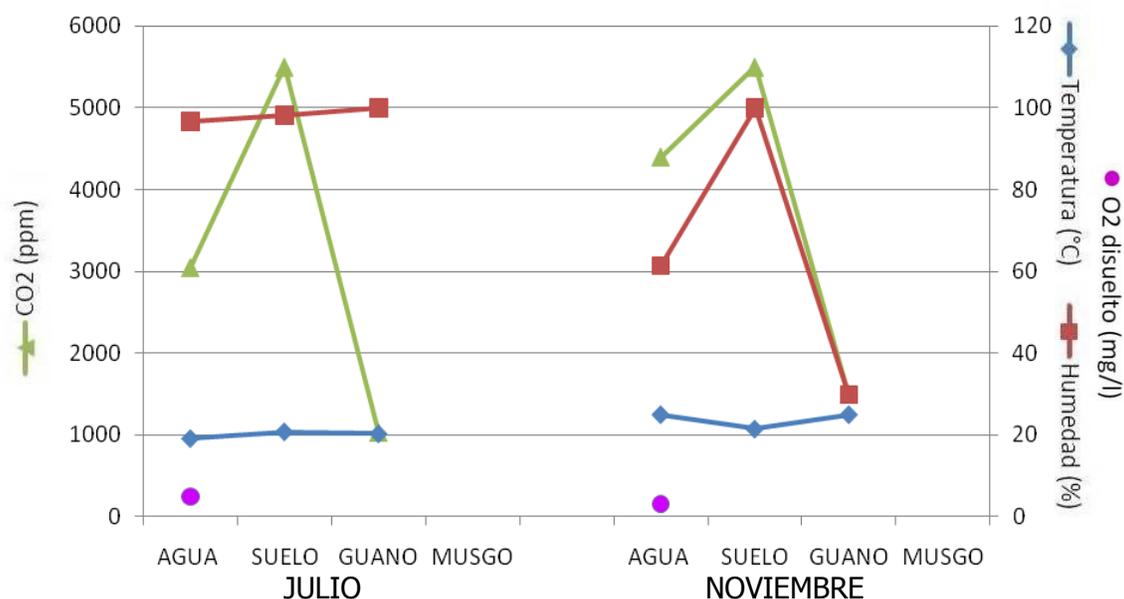
s-suelo, g-guano

### **Grutas de Tziranda**

*Datos ambientales.* Para esta cueva se realizaron dos recolectas, los datos ambientales se muestran en la figura 18. En la primera recolecta los valores de temperatura y humedad mostraron poca variación en toda la cueva, mientras que la concentración de CO<sub>2</sub> varió entre 1000 y 5500 ppm. En la segunda recolecta la temperatura fue estable, siendo la humedad y el CO<sub>2</sub> los factores que más variaron en todos los puntos de muestreo. En las dos recolectas la temperatura fue muy similar, mientras que la humedad y los niveles de concentración de CO<sub>2</sub> variaron mucho. En las dos recolectas se midió el oxígeno disuelto del agua, que presentó valores desde 2.14 hasta 5.29. Se tomó en ambas salidas el pH del agua, presentando valores entre 6.5 y 7.5.

*Riqueza específica.* Se revisaron 15 muestras de agua (cuatro originales y 11 en cultivo), ocho de suelo (dos originales y seis en cultivo) y ocho de guano (dos originales y seis en cultivo) (Anexo A).

Dentro de esta cueva se registraron en total 18 especies de ciliados de vida libre; el biotopo con mayor riqueza de ciliados fue el agua, con 14 especies, habiendo una diferencia importante con el suelo y guano donde se identificaron solamente tres y cinco especies, respectivamente (Tabla 5). En ambas recolectas se registró casi el mismo número de especies.

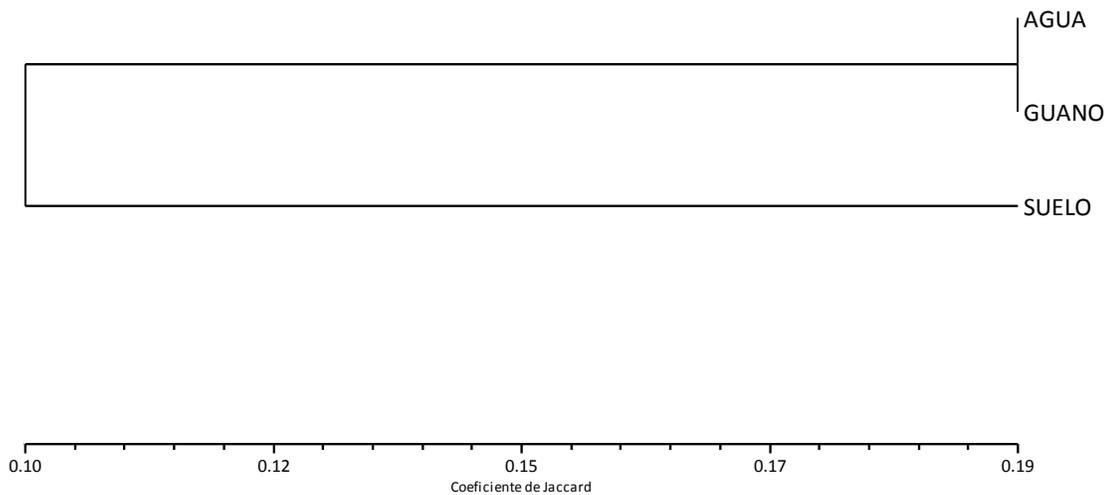


**Figura 18.** Datos ambientales en los puntos de muestreo de cada biotopo en las Grutas de Tziranda.

**Tabla 5.** Especies de ciliados de vida libre registrados en las Grutas de Tziranda.

ESPECIES/BIOTOPO	MES DE RECOLECTA					
	Julio			Noviembre		
	a	s	g	a	s	g
1 <i>Colpoda ecaudata</i>	X					
2 <i>Colpoda maupasi</i>	X		X			
3 <i>Cyclidium glaucoma</i>				X		
4 <i>Gonostomum affine</i>			X			
5 <i>Paramecium aurelia</i>				X		
6 <i>Tetrahymena pyriformis</i>	X	X	X	X	X	
7 <i>Aspidisca</i> sp.		X				
8 <i>Cyclidium</i> sp.	X			X		
9 <i>Vorticella</i> sp.2				X		
10 <i>Cinetochilidae</i> gen. sp.1	X			X		
11 <i>Euplotidae</i> gen. sp.1				X		
12 <i>Mesodiniidae</i> gen. sp.1	X					
13 <i>Oxytrichidae</i> gen. sp.3						X
14 <i>Spathidiidae</i> gen. sp.2		X				
15 <i>Urostylida</i> sp.2				X		
16 <i>Ciliophora</i> sp.3	X					
17 <i>Ciliophora</i> sp.6				X		X
18 <i>Ciliophora</i> sp.7				X		

a- agua, s-suelo, g-guano



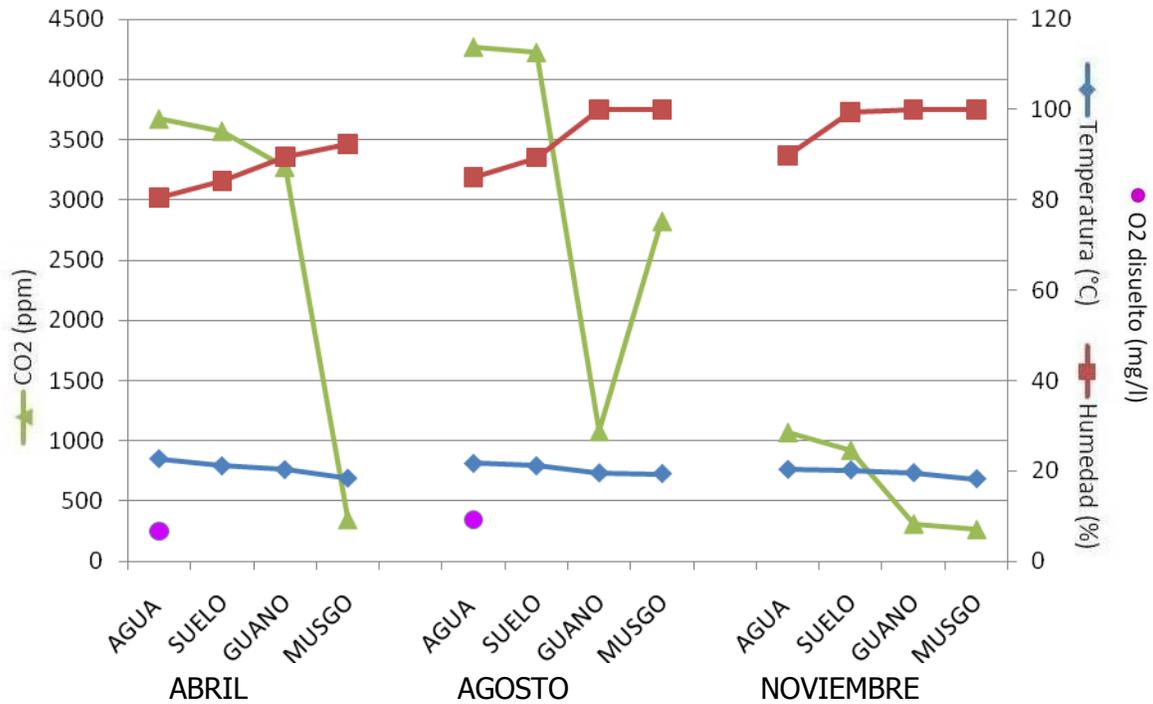
**Figura 19.** Dendrograma de similitud con el coeficiente de Jaccard aplicado a los biotopos de Tziranda.

Al calcular el coeficiente de Jaccard para los tres biotopos recolectados en esta cueva, se observó que el grado de similitud entre las muestras es muy bajo (0.19) y agrupa al agua y guano (Fig. 19).

### ***Grutas de Galicia***

*Datos ambientales.* Los datos ambientales de todas las recolectas se muestran en la figura 20. Lo que podemos observar en la gráfica es que los valores de temperatura estuvieron en un intervalo estrecho y los de humedad permanecen constantes en todos los puntos de muestreo y a lo largo de todo el estudio. Por otro lado la concentración de CO<sub>2</sub> varió entre las recolectas y dentro de la cueva, siendo siempre más alta en los puntos donde se muestreó agua y suelo. En las dos primeras recolectas se pudo medir el oxígeno disuelto del agua, que varió entre 6.65 y 10.67 mg/l. El pH estuvo entre 7 y 7.5.

*Riqueza específica.* Se revisaron 12 muestras de agua (tres originales y nueve en cultivo), 12 de suelo, 12 de guano y 12 de musgo (tres originales y nueve en cultivo de cada biotopo) (Anexo A).



**Figura 20.** Datos ambientales en los puntos de muestreo de cada biotopo en las Grutas de Galicia.

En esta cueva se registraron en total 15 especies de ciliados de vida libre. El musgo fue el biotopo con mayor riqueza (13 especies). El biotopo que no presentó ninguna especie fue el guano, a pesar de que se muestreó en las tres recolectas. Todas las recolectas presentaron valores similares de riqueza, siendo la tercera la más alta con nueve especies (Tabla 6).

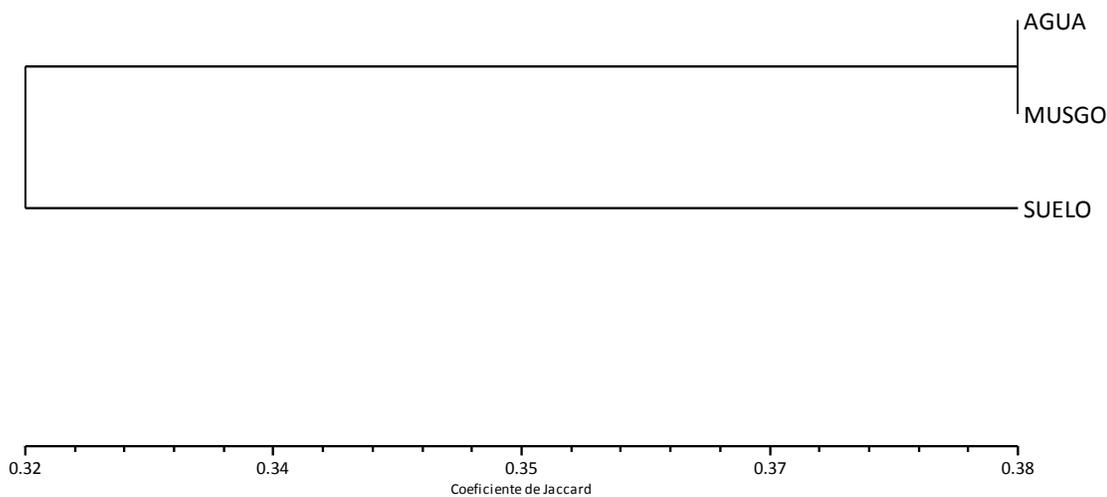
Tres especies (*Colpoda ecaudata*, *C. inflata* y *Tetrahymena pyriformis*) se encontraron en todos los biotopos, mientras que siete se encontraron únicamente en el musgo. De igual forma, tres especies se registraron en todas las recolectas (*C. inflata*, *T. pyriformis* y una especie de la familia Pseudokeronopsidae). Adicionalmente se registraron algunas especies exclusivas para cada recolecta, siendo mayor el número (cinco) para la recolecta de noviembre.

Al aplicar el coeficiente de similitud de Jaccard a los datos de los biotopos, se obtuvo que el agua y el musgo presentan 0.38 de similitud (Fig. 21).

**Tabla 6.** Especies de ciliados de vida libre registrados en las Grutas de Galicia.

ESPECIES/BIOTOPO	MES DE RECOLECTA											
	Abril				Agosto				Noviembre			
	a	s	g	m	a	s	g	m	a	s	g	m
1 <i>Colpoda ecaudata</i>					X	X		X	X	X		
2 <i>Colpoda inflata</i>	X	X		X		X		X		X		
3 <i>Colpoda maupasi</i>				X		X		X				
4 <i>Drepanomonas revoluta</i>					X			X				
5 <i>Paramecium calkinsi</i>												X
6 <i>Pseudomicrothorax agilis</i>				X								
7 <i>Tetrahymena pyriformis</i>	X	X			X	X		X	X	X		X
8 <i>Aspidisca</i> sp.												X
9 <i>Cyclidium</i> sp.												X
10 <i>Halteria</i> sp.				X	X			X				
11 Chilodonellidae gen. sp.1												X
12 Cyclidiidae gen. sp.2												X
13 Pseudokeronopsidae gen. sp.1				X				X				X
14 Spathidiidae gen. sp.3		X										
15 Urostylida sp.3						X						

Simbología: a- agua, s-suelo, g-guano, m-musgo



**Figura 21.** Dendrograma de similitud con el coeficiente de Jaccard aplicado a los biotopos de Galicia.

### Comparación de la diversidad de ciliados de vida libre registrados en todas las cuevas

De las 51 especies de ciliados de vida libre que se registraron en total, 31 especies se observaron en la cueva La Joya, 16 en Karmidas, cinco en Huarimio, 18 en Tziranda y 15 en Galicia (Tabla 7). La Joya fue la cueva que más especies presentó, mientras que Huarimio fue la que tuvo el número más bajo de registros.

**Tabla 7.** Especies de ciliados identificadas en cada una de las cuevas.

ESPECIES	CUEVA				
	LA JOYA	KARMIDAS	HUARIMIO	TZIRANDA	GALICIA
1 <i>Coleps hirtus</i>	x				
2 <i>Colpoda cucullus*</i>	x	x			
3 <i>Colpoda ecaudata</i>	x	x	x	x	x
4 <i>Colpoda inflata</i>	x	x			x
5 <i>Colpoda maupasi*</i>	x	x	x	x	x
6 <i>Cyclidium glaucoma*</i>	x	x		x	
7 <i>Dexiostoma campylum*</i>	x				
8 <i>Drepanomonas revoluta</i>	x				x
9 <i>Euplotoides patella*</i>	x				
10 <i>Euplotopsis gracilis**</i>		x			
11 <i>Gonostomum affine*</i>				x	
12 <i>Leptopharynx costatus</i>	x	x			
13 <i>Paramecium aurelia</i>	x			x	
14 <i>Paramecium calkinsi*</i>	x				x
15 <i>Pseudomicrothorax agilis**</i>		x			x
16 <i>Tetrahymena pyriformis</i>	x	x		x	x
17 <i>Aspidisca</i> sp.	x			x	x
18 <i>Cyclidium</i> sp.	x	x		x	x
19 <i>Halteria</i> sp.		x			x
20 <i>Platyophrya</i> sp.	x				
21 <i>Vorticella</i> sp.1			x		
22 <i>Vorticella</i> sp.2				x	
23 <i>Vorticella</i> sp.3	x	x			
24 <i>Chilodonellidae</i> gen. sp.1	x				x
25 <i>Cinetochilidae</i> gen. sp.1	x			x	
26 <i>Cyclidiidae</i> gen. sp.1	x	x			
27 <i>Cyclidiidae</i> gen. sp.2	x				x
28 <i>Euplotidae</i> gen. sp.1				x	
29 <i>Leptopharyngidae</i> gen. sp.1	x				
30 <i>Leptopharyngidae</i> gen. sp.2		x			
31 <i>Mesodiniidae</i> gen. sp.1	x			x	
32 <i>Oxytrichidae</i> gen. sp.1	x				
33 <i>Oxytrichidae</i> gen. sp.2		x			
34 <i>Oxytrichidae</i> gen. sp.3				x	
35 <i>Pseudokeronopsidae</i> gen. sp.1					x

ESPECIES	CUEVA				
	LA JOYA	KARMIDAS	HUARIMIO	TZIRANDA	GALICIA
37 Spathidiidae gen. sp.2				x	
38 Spathidiidae gen. sp.3					x
39 Trachelostylidae gen. sp.1			x		
40 Urostylidae gen. sp.1		x			
41 Sporadotrichida sp.1	x				
42 Urostylida sp.1	x				
43 Urostylida sp.2				x	
44 Urostylida sp.3					x
45 Ciliophora sp.1	x				
46 Ciliophora sp.2	x				
47 Ciliophora sp.3	x			x	
48 Ciliophora sp.4	x				
49 Ciliophora sp.5					x
50 Ciliophora sp.6				x	
51 Ciliophora sp.7				x	

\* Especies registradas por primera vez dentro de una cueva en México

\*\* Especies registradas por primera vez en México

A los datos globales se les aplicó el coeficiente de Jaccard (Fig. 22) y se obtuvo que las cuevas con el mayor valor fueron Karmidas y Galicia, con 0.28. Este valor de similitud tan bajo muestra que las cuevas son muy diferentes en su composición específica. Adicionalmente se calculó el coeficiente de Whittaker para obtener la diversidad beta, cuyo valor fue de 2 y el coeficiente de Harrison *et al.*, cuyo valor fue de 0.5. Ambos índices apoyan esta especificidad de especies para cada cueva.

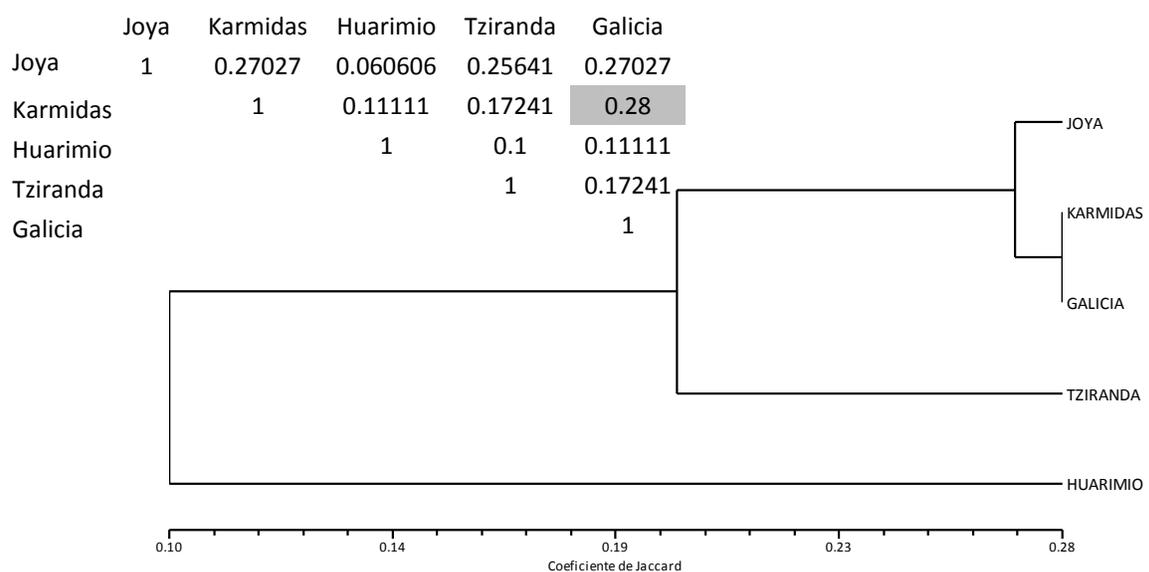


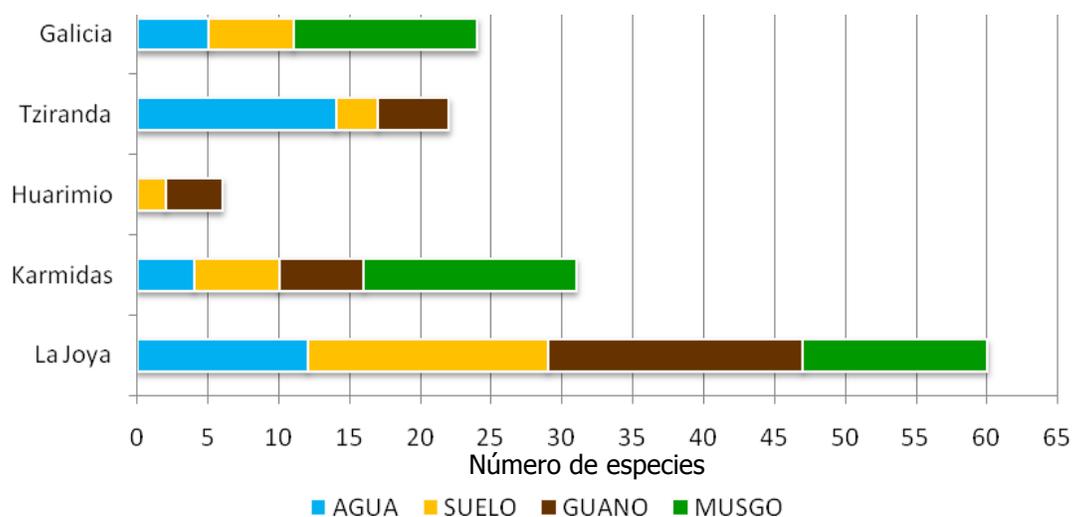
Figura 22. Dendrograma de similitud con el coeficiente de Jaccard aplicado a todas las cuevas.

**Mismos biotopos, diferentes cuevas**

Se realizó una comparación de las especies registradas en cada uno de los biotopos de todas las cuevas (Tabla 8). Para esta comparación se unieron los registros de todas las recolectas.

Para cada cueva fue diferente el biotopo que presentó la mayor riqueza específica. Para el caso de Karmidas y Galicia el musgo fue el biotopo con más especies, mientras que para el caso de La Joya y Huarimio fue el guano; en Tziranda fue el agua (Fig. 23).

En cuanto al biotopo menos diverso, no se observó algún patrón general, pues para cada cueva fue diferente el biotopo que tuvo el menor número de ciliados.



**Figura 23.** Comparación de la riqueza específica de los biotopos muestreados en cada cueva.

**Condiciones ambientales y diversidad**

Para hacer una comparación entre las condiciones ambientales medidas (temperatura, humedad y concentración de CO<sub>2</sub>) entre todas las cuevas, se realizaron diagramas de cajas (Figs. 24 - 27) para los distintos biotopos muestreados. Dado que el pH y oxígeno disuelto sólo se midieron para el agua, no se incorporaron a este análisis. El tamaño de las cajas refleja la variación estacional.

**Tabla 8.** Registro comparativo de las especies de ciliados registrados en los biotopos de las cuevas estudiadas.

ESPECIE/CUEVA	BIOTOPO																			
	AGUA					SUELO					GUANO					MUSGO				
	J	K	H	T	G	J	K	H	T	G	J	K	H	T	G	J	K	H	T	G
1 <i>Colpoda cucullus</i>							X				X	X				X	X			
2 <i>Colpoda ecaudata</i>		X		X						X	X		X			X	X			X
3 <i>Colpoda inflata</i>		X			X	X	X			X	X					X	X			X
4 <i>Colpoda maupasi</i>	X	X		X		X	X			X	X	X	X	X		X	X			X
5 <i>Cyclidium glaucoma</i>	X			X																X
6 <i>Dexiostoma campylum</i>											X									
7 <i>Drepanomonas revoluta</i>					X	X					X									X
8 <i>Euplotoides patella</i>	X					X														
9 <i>Euplotopsis gracilis</i>																				X
10 <i>Gonostomum affine</i>															X					
11 <i>Leptopharynx costatus</i>						X					X					X	X			
12 <i>Paramecium aurelia</i>				X		X														
13 <i>Paramecium calkinsi</i>						X														X
14 <i>Pseudomicrothorax agilis</i>											X									X
15 <i>Tetrahymena pyriformis</i>	X	X		X	X	X	X		X	X		X		X		X	X			X
16 <i>Aspidisca</i> sp.	X								X											X
17 <i>Coleps</i> sp.	X																			
18 <i>Cyclidium</i> sp.	X			X		X					X	X								X
19 <i>Halteria</i> sp.					X															X
20 <i>Platyophrya</i> sp.											X					X				
21 <i>Vorticella</i> sp. 1														X						
22 <i>Vorticella</i> sp. 2				X																
23 <i>Vorticella</i> sp. 3						X					X					X	X			
24 Chilodonellidae gen. sp.1																X				X

25	Cinetochilidae gen. sp.1	X	X	X				X
26	Cyclidiidae gen. sp.1			X				X
27	Cyclidiidae gen. sp.2			X		X		X
28	Euplotidae gen. sp.1		X					
29	Leptopharyngidae gen. sp.1	X						
30	Leptopharyngidae gen. sp.2				X		X	
31	Mesodiniidae gen. sp.1		X	X				
32	Oxytrichidae gen. sp.1	X				X		
33	Oxytrichidae gen. sp.2				X		X	X
34	Oxytrichidae gen. sp.3							X
35	Pseudokeronopsidae gen. sp.1							X
36	Spathidiidae gen. sp.1	X				X		X
37	Spathidiidae gen. sp.2				X			
38	Spathidiidae gen. sp.3						X	
39	Trachelostylidae gen. sp.1				X			
40	Urostylidae gen. sp.1							X
41	Sporadotrichida sp.1					X		
42	Urostylida sp.1			X		X		X
43	Urostylida sp.2		X					
44	Urostylida sp.3						X	
45	Ciliophora sp.1			X				X
46	Ciliophora sp.2	X						
47	Ciliophora sp.3		X	X		X		
48	Ciliophora sp.4		X			X		X
49	Ciliophora sp.5				X		X	
50	Ciliophora sp.6							
51	Ciliophora sp.7		X					

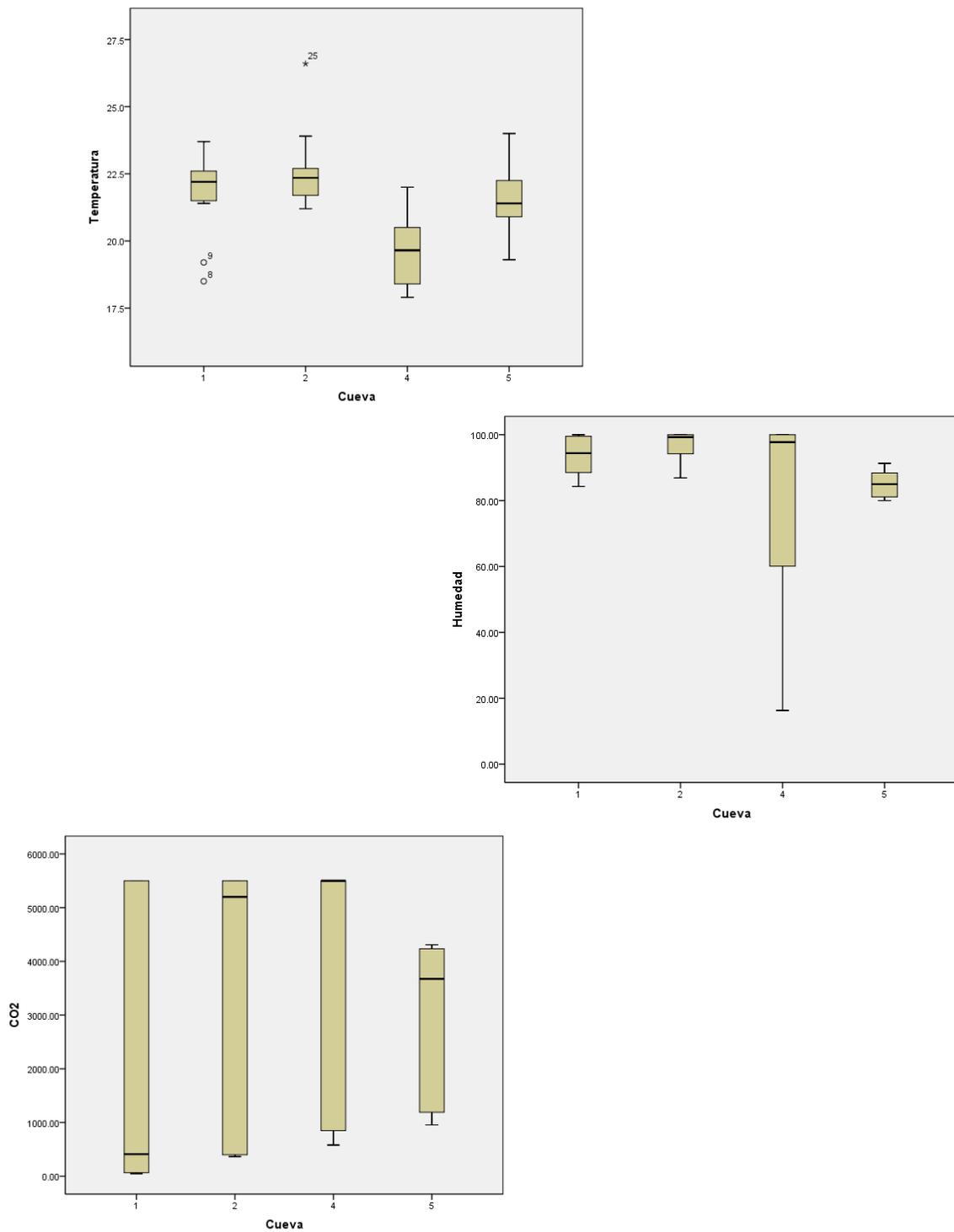
J- La Joya; K- Karmidas; H- Huarimio; T-Tziranda; G- Galicia

Para el agua (Fig. 24), se promediaron los datos tomados directamente del biotopo y los ambientales. Se observa que la temperatura en general fue muy similar en todas las cuevas (entre 18 y 23 °C), presentando las grutas de Tziranda los valores más bajos. La humedad está en casi todos los casos por arriba del 80%, siendo mucho más baja en el caso de Tziranda (20–30%). Inversamente, esta es una de las cuevas que presentó mayor número de ciliados en agua (14 especies). Los niveles de concentración de CO<sub>2</sub> se presentaron en intervalos muy amplios reflejando fuertes cambios estacionales (desde 50 hasta 5500 ppm). Se abarcan casi los mismos valores en todas las cuevas, a excepción de las grutas de Galicia donde el intervalo fue más estrecho (entre 1000 y 4300 ppm).

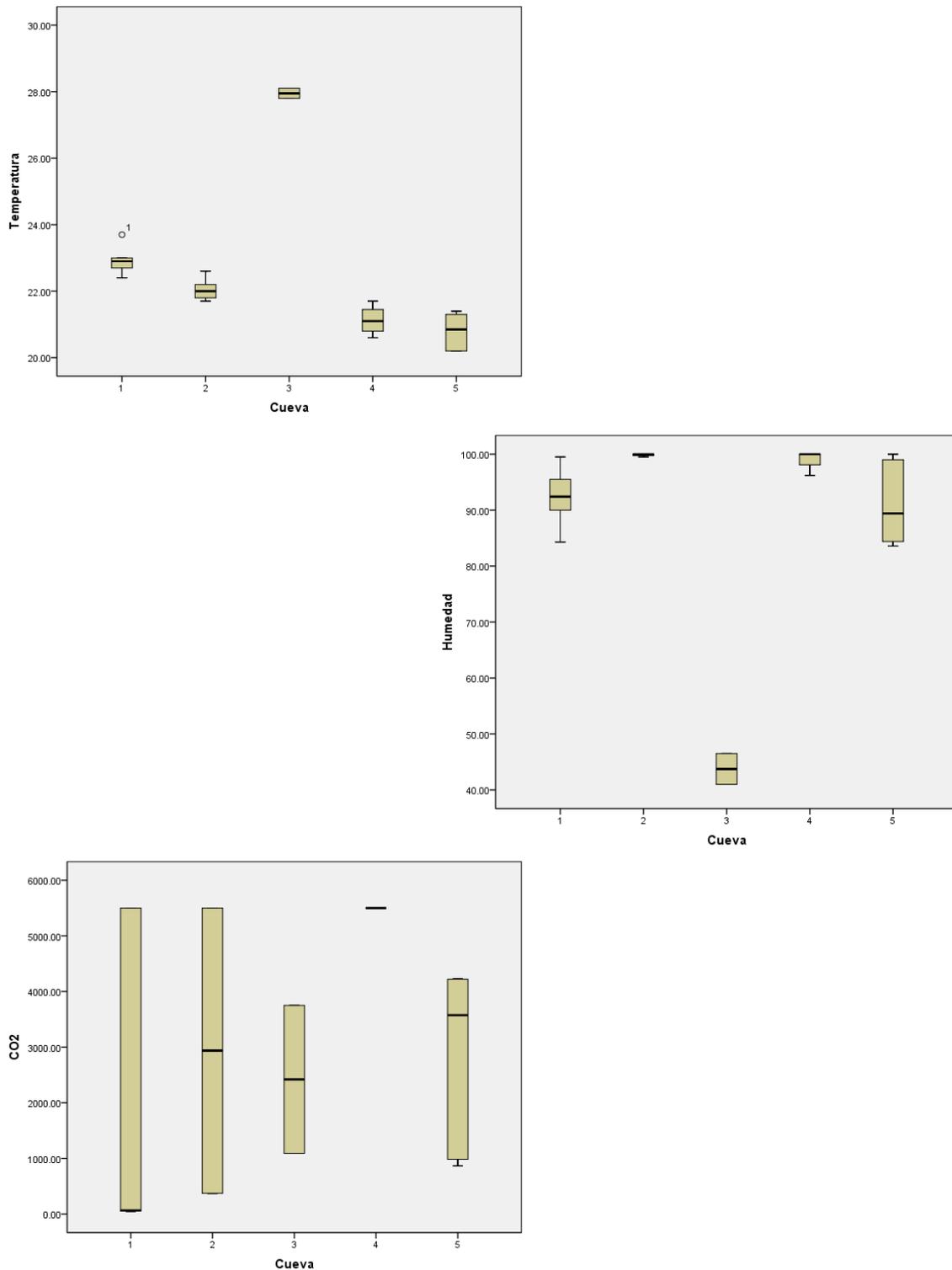
Los valores de las condiciones ambientales en los sitios de muestreo del suelo fueron diferentes para cada cueva (Fig. 25), resaltando en particular los valores de temperatura (cerca de 30 °C) y humedad (40%) de las grutas de Huarimio. La concentración de CO<sub>2</sub> fue particularmente alta en el caso de las grutas de Tziranda (5500 ppm), aunque se presentó nuevamente una variación estacional muy amplia en todas las cuevas.

Las condiciones ambientales registradas en las zonas donde se muestreó guano, mostraron aún mayor variación entre las cuevas (Fig. 26). La temperatura en La Joya, Karmidas y Galicia prácticamente no presentó variaciones estacionales, mientras que en Huarimio y Tziranda (las dos cuevas correspondientes al estado de Michoacán) se observaron cambios estacionales y las temperaturas más altas (de más de 35 °C en Tziranda). En el caso de la humedad, las cuevas de Michoacán son las que mostraron mayor variación estacional, y en este caso, tuvieron los valores más bajos de humedad (27 % en Huarimio). Los niveles de CO<sub>2</sub> presentaron amplia variación estacional en todas las cuevas, a excepción de La Joya donde los valores fueron muy similares en todas las recolectas.

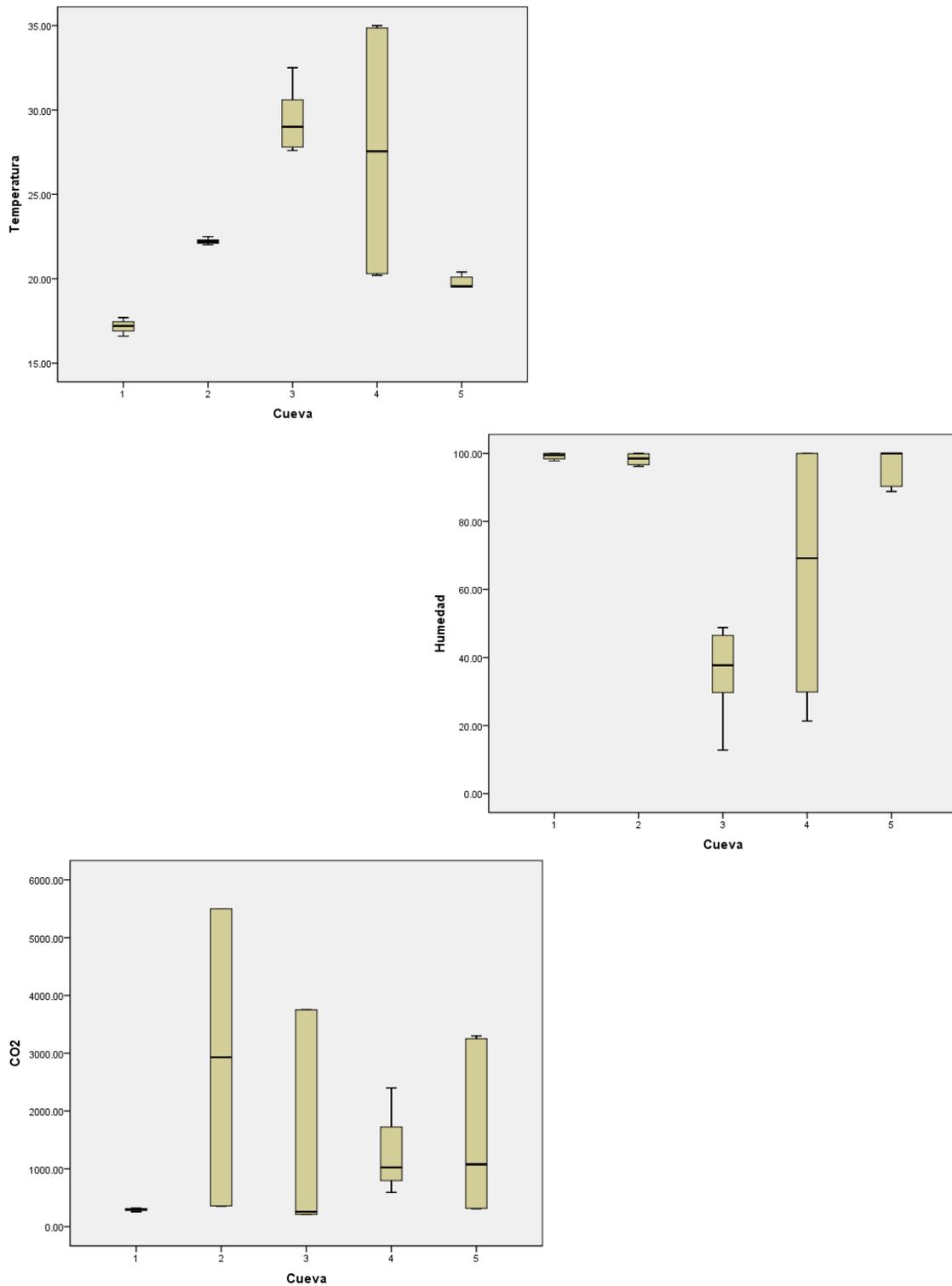
El musgo se recolectó sólo de tres cuevas, La Joya, Karmidas y Galicia (Fig. 27). Todas presentaron diferentes valores de temperatura, siendo más bajos en La Joya (17°C), pero presentando mayor variación estacional en Karmidas (aproximadamente de 3°C). De igual forma en La Joya hubo poca variación, siendo la humedad en general del 100%, mientras que en Karmidas hubo más variaciones tanto en humedad como en los niveles de CO<sub>2</sub>. A pesar de todas estas variaciones el musgo de Karmidas fue en el que mayor número de ciliados se registró.



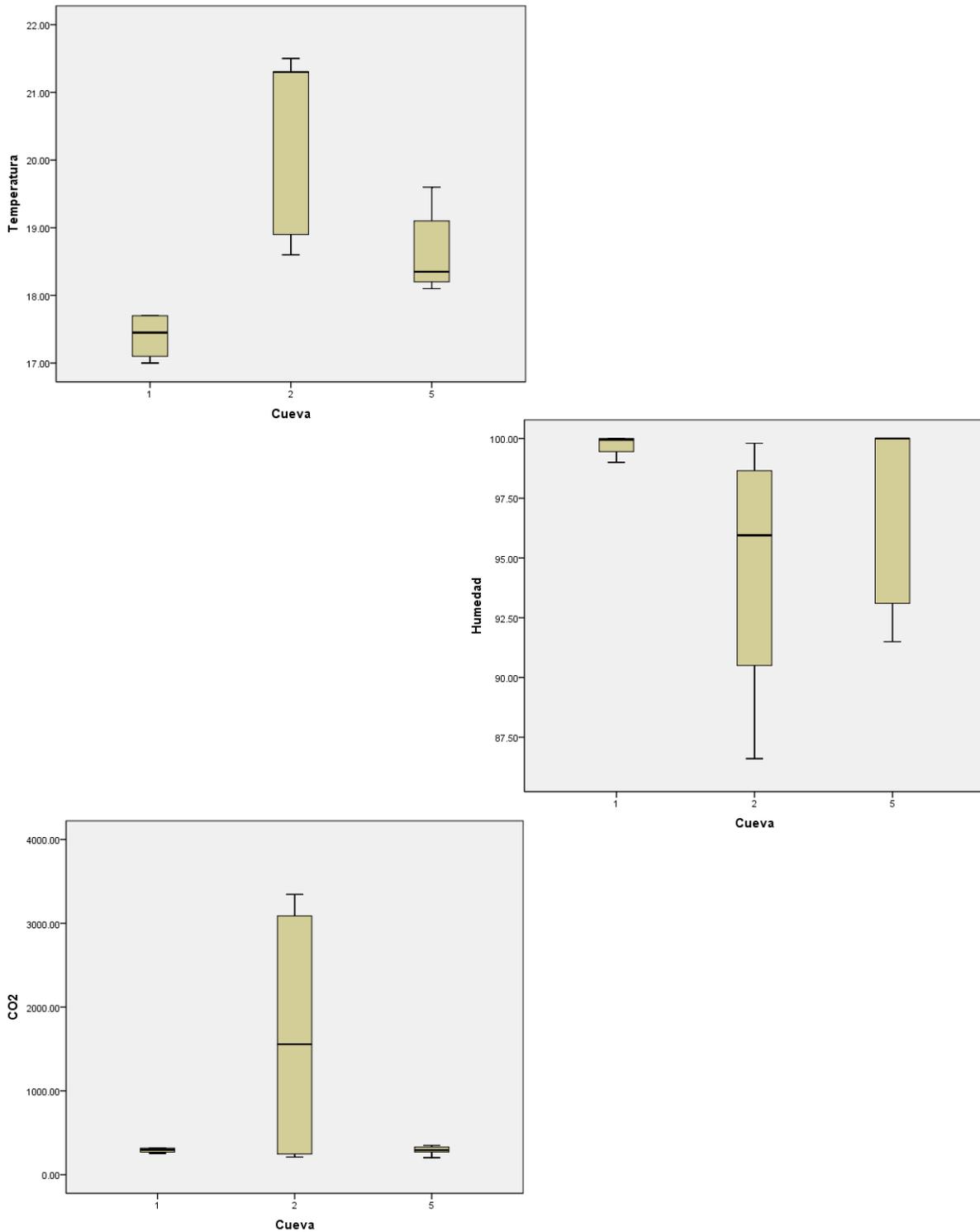
**Figura 24.** Comparación de las condiciones ambientales y directas medidas en cada cueva en los puntos de muestreo de AGUA. La temperatura está dada en grados Centígrados, la humedad en porcentaje y la concentración de CO<sub>2</sub> en partes por millón. *Cuevas:* **1-** La Joya, **2-** Karmidas, **4-** Tziranda, **5-** Galicia.



**Figura 25.** Comparación de las condiciones ambientales medidas en cada cueva en los puntos de muestreo de SUELO. La temperatura está dada en grados Centígrados, la humedad en porcentaje y la concentración de CO<sub>2</sub> en partes por millón. *Cuevas:* **1-** La Joya, **2-** Karmidas, **3-** Huarimio, **4-** Tziranda, **5-** Galicia.



**Figura 26.** Comparación de las condiciones ambientales medidas en cada cueva en los puntos de muestreo de GUANO. La temperatura está dada en grados Centígrados, la humedad en porcentaje y la concentración de CO<sub>2</sub> en partes por millón. *Cuevas:* **1-** La Joya, **2-** Karmidas, **3-** Huarimio, **4-** Tziranda, **5-** Galicia.



**Figura 27.** Comparación de las condiciones ambientales medidas en cada cueva en los puntos de muestreo de MUSGO. La temperatura está dada en grados Centígrados, la humedad en porcentaje y la concentración de CO<sub>2</sub> en partes por millón. *Cuevas:* **1-** La Joya, **2-** Karmidas, **5-** Galicia.

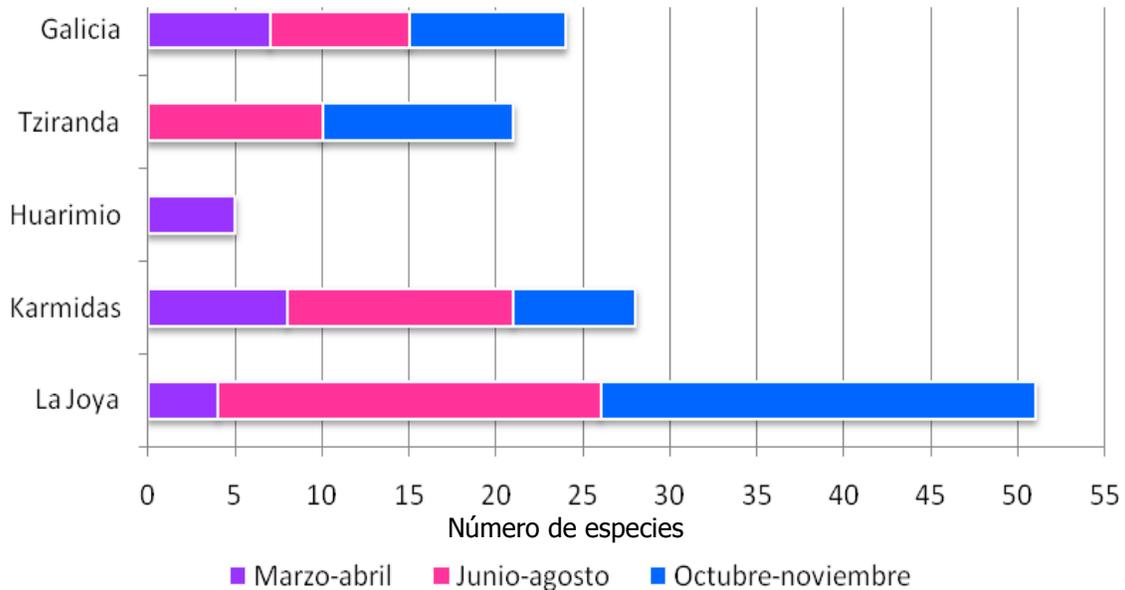
### ***Misma época del año, diferentes cuevas***

Se realizó también una comparación entre los ciliados registrados en todas las recolectas, sin considerar el biotopo en el cual se encontraron las especies (Tabla 9).

La primera recolecta correspondió a los meses de secas frías. La segunda recolecta corresponde al período de lluvias. La tercer recolecta fue en temporada de secas cálidas. De esta forma el período con mayor riqueza en todas las cuevas fue el de lluvias.

Se puede observar que en La Joya, Tziranda y Galicia la recolecta en la que hubo mayor riqueza específica fue la correspondiente a los meses de octubre a noviembre, aunque la diferencia con la segunda recolecta fue muy pequeña (Fig. 28). Sólo en el caso de Karmidas se observa mayor riqueza en la recolecta de junio – agosto.

En todos los casos la recolecta con menor riqueza fue la realizada entre marzo y abril.



**Figura 28.** Comparación del número de especies en cada recolecta de todas las cuevas.

## ***Comparación global***

Para comparar la variación de los ciliados registrados en los biotopos a lo largo del estudio, se realizó la figura 29. Se puede observar que cada cueva presenta su propia dinámica, dentro de la cual, todos los biotopos muestran en general coincidencia.

Sin embargo para comprender mejor la dinámica de las especies registradas en todos los biotopos, se realizó la figura 30, en la cual se muestra el recambio de las especies a lo largo del estudio.

En el caso de La Joya se observa que en tres biotopos (agua, suelo y guano) muy pocas (de una a tres) de las especies que fueron registradas en una recolecta, se volvieron a registrar en la siguiente. Sólo en el musgo se mantuvieron presentes de una recolecta a otra la mitad de las especies.

En Karmidas se presentó en el agua, suelo y musgo una especie en común para las tres recolectas. En el suelo y musgo hubo además algunas especies que se encontraron en común en la segunda y tercera recolecta.

En el agua y suelo de Tziranda se encontraron pocas especies repetidas en las dos recolectas realizadas en esta cueva, mientras que el guano no presentó ni una en común.

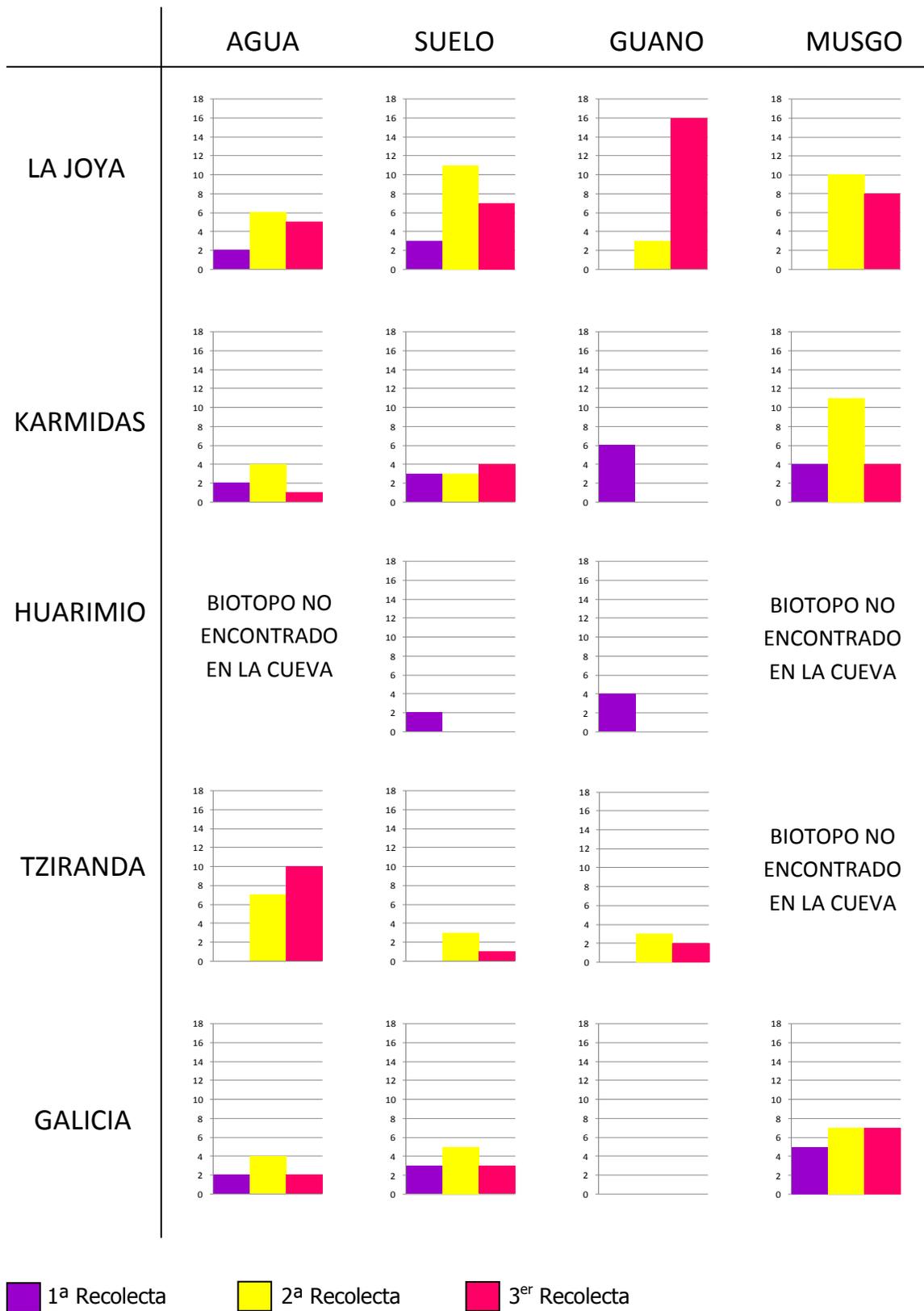
En las grutas de Galicia fue donde hubo un mayor número de especies que permanecieron a lo largo de todo el estudio tanto en el agua, suelo y musgo.

**Tabla 9.** Registro comparativo de las especies de ciliados registrados en las recolectas de las cuevas estudiadas en el año 2009.

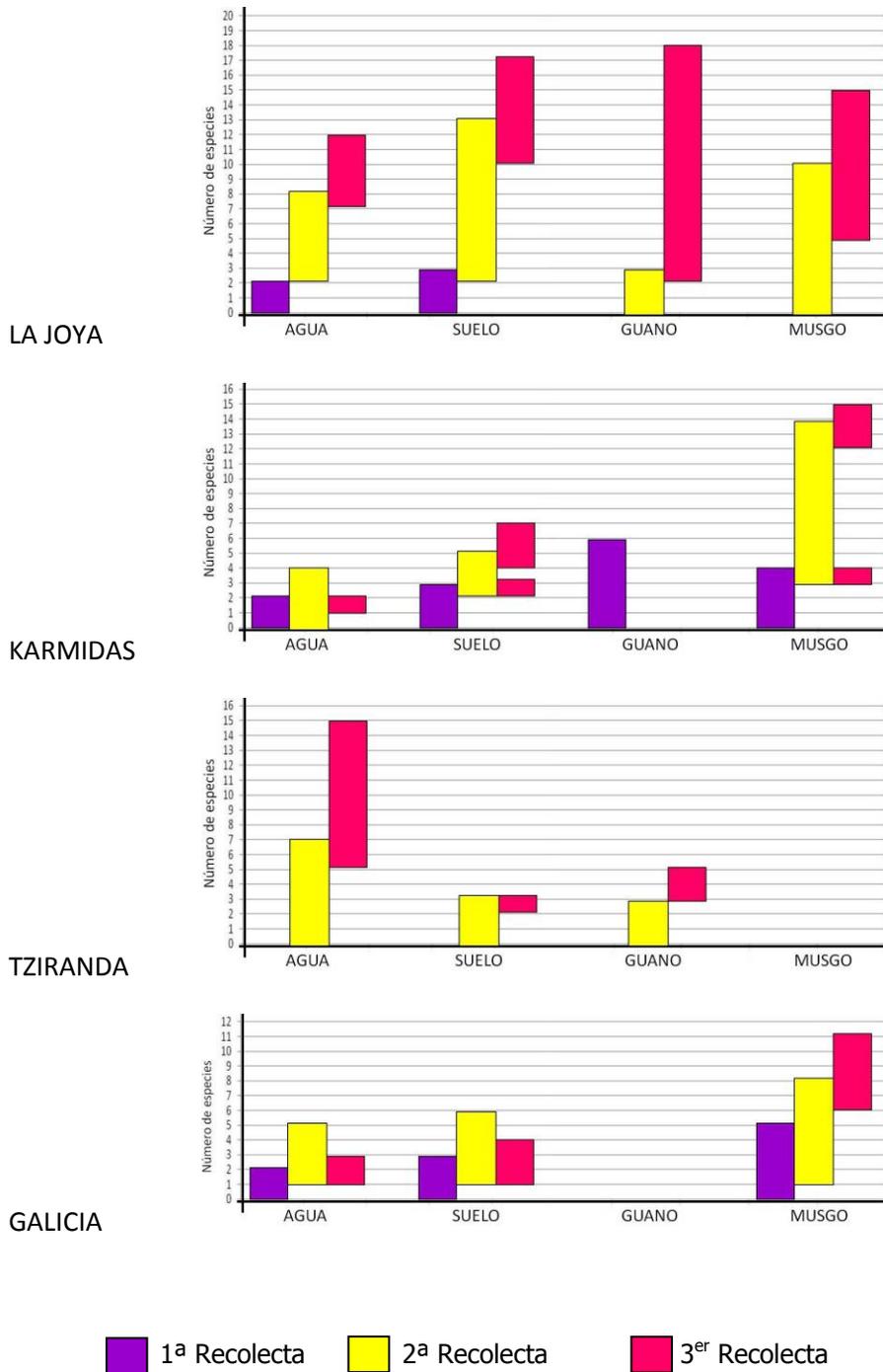
ESPECIE/CUEVA	RECOLECTA														
	MARZO - ABRIL					JUNIO - AGOSTO					OCTUBRE - NOVIEMBRE				
	J	K	H	T	G	J	K	H	T	G	J	K	H	T	G
1 <i>Colpoda cucullus</i>		X				X	X				X				
2 <i>Colpoda ecaudata</i>		X	X			X	X		X	X	X				X
3 <i>Colpoda inflata</i>	X				X		X			X	X	X			X
4 <i>Colpoda maupasi</i>	X	X	X		X	X		X	X		X				
5 <i>Cyclidium glaucoma</i>		X				X						X		X	
6 <i>Dexiostoma campylum</i>											X				
7 <i>Drepanomonas revoluta</i>						X				X	X				
8 <i>Euplotoides patella</i>						X					X				
9 <i>Euplotopsis gracilis</i>							X								
10 <i>Gonostomum affine</i>									X						
11 <i>Leptopharynx costatus</i>						X	X				X				
12 <i>Paramecium aurelia</i>						X									X
13 <i>Paramecium calkinsi</i>						X									X
14 <i>Pseudomicrothorax agilis</i>					X		X								
15 <i>Tetrahymena pyriformis</i>		X			X	X	X		X	X	X	X		X	X
16 <i>Aspidisca</i> sp.						X			X						X
17 <i>Coleps</i> sp.						X									
18 <i>Cyclidium</i> sp.	X	X				X			X		X	X		X	X
19 <i>Halteria</i> sp.					X		X			X					
20 <i>Platyophrya</i> sp.						X					X				
21 <i>Vorticella</i> sp. 1			X												
22 <i>Vorticella</i> sp. 2														X	
23 <i>Vorticella</i> sp. 3						X	X				X				
24 Chilodonellidae gen. sp.1											X				

25	Cinetochilidae gen. sp.1			X		X		X
26	Cyclidiidae gen. sp.1		X			X	X	
27	Cyclidiidae gen. sp.2			X		X		
28	Euplotidae gen. sp.1							X
29	Leptopharyngidae gen. sp.1	X						
30	Leptopharyngidae gen. sp.2		X				X	
31	Mesodiniidae gen. sp.1				X	X		
32	Oxytrichidae gen. sp.1					X		
33	Oxytrichidae gen. sp.2		X		X		X	
34	Oxytrichidae gen. sp.3							X
35	Pseudokeronopsidae gen. sp.1			X		X		X
36	Spathidiidae gen. sp.1			X			X	
37	Spathidiidae gen. sp.2				X			
38	Spathidiidae gen. sp.3			X				
39	Trachelostylidae gen. sp.1		X					
40	Urostylidae gen. sp.1				X		X	
41	Sporadotrichida sp.1						X	
42	Urostylida sp.1			X			X	
43	Urostylida sp.2							X
44	Urostylida sp.3					X		
45	Ciliophora sp.1			X			X	
46	Ciliophora sp.2						X	
47	Ciliophora sp.3				X		X	
48	Ciliophora sp.4			X			X	X
49	Ciliophora sp.5		X					
50	Ciliophora sp.6							X
51	Ciliophora sp.7							X

J- La Joya; K- Karmidas; H- Huarimio; T-Tziranda; G- Galicia



**Figura 29.** Número de especies registradas por biotopo en cada recolecta.



**Figura 30.** Recambio de especies dentro de cada biotopo a lo largo de las recolectas en Karmidas. El tamaño de las barras representa el número total de especies registradas en cada recolecta. El traslape de las barras corresponde al número de especies que se mantuvieron en común en las recolectas.

## Ciliados EPIBIONTES

Se identificaron cuatro especies de ciliados epibiontes incluidos en tres subclases, suctores, apostomatidos y peritricos (Fig. 31), sobre cuatro especies de invertebrados crustáceos e insectos basibiontes (Fig. 32), cuya ubicación taxonómica se muestra a continuación.

Este es el primer registro dentro de cuevas de todas las especies de epibiontes, y el primer registro para México de la especie *Pyxicola pusilla*.

### Ubicación taxonómica de las especies de ciliados epibiontes

Clasificación de ciliados (Lynn, 2008)

Dominio Eucarya Woese *et al.*, 1990

Reino Protozoa Goldfuss, 1818

Phylum Ciliophora Doflein, 1901

Subphylum Intramacronucleata Lynn, 1996

Clase Phyllopharyngea de Puytorac *et al.*, 1974

Subclase Suctoria Claparède y Lachmann, 1858

Orden Evaginogenida Jankowski, 1978

Familia Discophryidae Collin, 1912

Género *Discophrya* Lachmann, 1859

***Discophrya elongata*** (Claparède y Lachmann 1858 – 1859)

Clase Oligohymenophorea de Puytorac *et al.*, 1974

Subclase Apostomatia Chatton y Lwoff, 1928

Orden Pilisuctorida Jankowski, 1966

Familia Conidophryidae Kirby, 1941

Género *Conidophrys* Chatton y Lwoff, 1934

***Conidophrys pilisuctor*** Chatton y Lwoff, 1934

Subclase Peritrichia Stein, 1859

Orden Sessilida Kahl, 1933

Familia Epistylididae Kahl, 1933

Género *Epistylis* Ehrenberg, 1830

***Epistylis cambari*** Kellicott, 1885

Familia Vaginicolidae de Fromentel, 1874

Género *Pyxicola* Kent, 1882

***Pyxicola pusilla*** (Wrześniowsky, 1866)

### Ubicación taxonómica de las especies de invertebrados basibiontes

Clasificación de los crustáceos (Martin y Davis, 2001)

Dominio Eucarya Woese *et al.*, 1990

Reino Animalia Linnaeus, 1758

Phylum Arthropoda Latreille, 1829

Subphylum Crustacea Brünnich, 1772

Clase Malacostraca Latreille, 1802

Subclase Eumalacostraca Grobben, 1892

Superorden Peracarida Calman, 1904

Orden Isopoda Latreille, 1817

Suborden Oniscidea Latreille, 1802

Infraorden Ligiamorpha Vandel, 1943

Sección Synocheta Legrand, 1946

Superfamilia Trichoniscoidea Sars, 1899

Familia **Trichoniscidae** Sars, 1899

Género *Brackenridgia*

***Brackenridgia villalobosi*** (Rioja, 1950)

Superorden Eucarida Calman, 1904

Orden Decapoda Latreille, 1802

Suborden Pleocyemata Burkenroad, 1963

Infraorden Brachyura Latreille, 1802

Sección Eubrachyura de Saint Laurent, 1980

Subsección Raninoida de Haan, 1839

Superfamilia Pseudothelphusoidea Ortmann, 1893

Familia Pseudothelphusidae Ortmann, 1893

Género *Pseudothelphusa* De Saussure, 1857

***Pseudothelphusa mexicana*** Álvarez, 1987

Infraorden Astacidea Latreille, 1802

Superfamilia Astacoidea Latreille, 1802

Familia Cambaridae Hobbs, 1942

Género *Procambarus* Ortmann, 1905

Subgénero *Procambarus (Villalobosus)* Hobbs, 1942

***Procambarus (Villalobosus) cuetzalanae*** Hobbs, 1982

Clasificación de los insectos (ITIS, 2011)

Dominio Eucarya Woese *et al.*, 1990

Reino Animalia Linnaeus, 1758

Phylum Arthropoda Latreille, 1829

Subphylum Hexapoda Latreille, 1825

Clase Entognatha Stummner-Traunfels, 1891

Orden Diplura Börner, 1904

Suborden Rhabdura Cook, 1896

Superfamilia Campodeoidea Lubbock, 1873

Familia Campodeidae Lubbock 1873

Género ***Campodea*** s. str.

Clase Insecta Linnaeus, 1758

Subclase Pterygota Lang, 1888

Infraclase Palaeoptera Martynov, 1923

Orden Odonata Fabricius, 1793

Suborden **Zygoptera** Selys, 1854

Infraclase Neoptera Martynov, 1923

Orden Hemiptera Linnaeus, 1758

Suborden Heteroptera Latreille, 1810

Infraorden Nepomorpha Popov, 1968

Superfamilia Notonectoidea Latreille, 1802

Familia Notonectidae (Leach, 1815)

Subfamilia Notonectinae Latreille, 1802

Tribu Notonectini Latreille, 1802

Género *Notonecta* Linnaeus, 1758

***Notonecta sp.***

Infraorden Gerromorpha Popov, 1971

Superfamilia Gerroidea Leach, 1815

Familia Vellidae Amyot y Serville, 1843

Subfamilia Rhagoveliinae China and Usinger, 1949

Género *Rhagovelia* Mayr, 1865

***Rhagovelia sp.***

Familia Belostomatidae Leach, 1815

Orden Coleoptera Linnaeus, 1758

Suborden Adephaga Schellenberg, 1806

Familia Dytiscidae Leach, 1815

Subfamilia Hydroporinae Aubé, 1836

Tribu Bidessini Sharp, 1880

Género *Neobidessus* Young, 1967

***Neobidessus sp.***

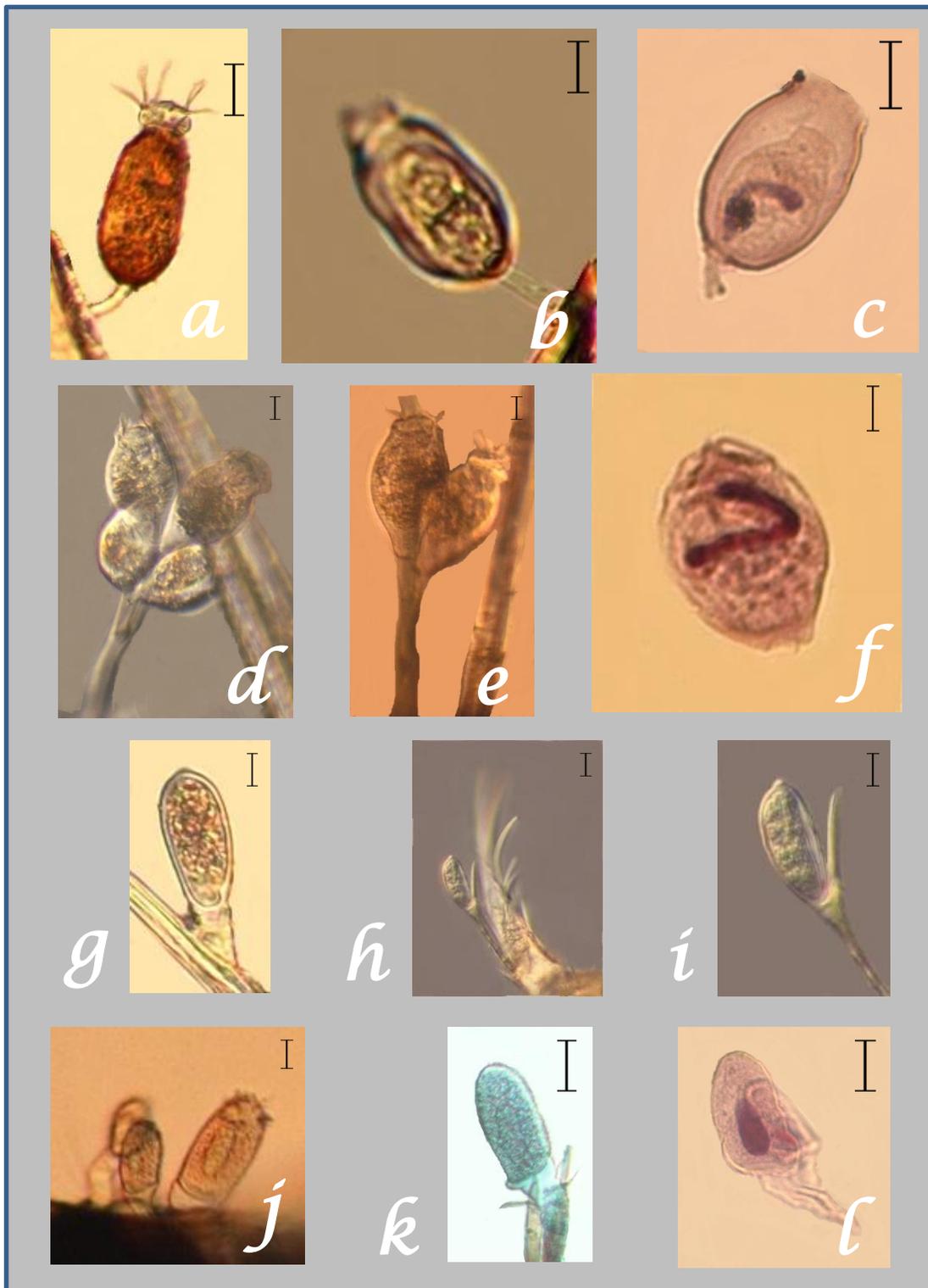


Figura 31. Fotomicrografías de los ciliados epibiontes registrados en todas las cuevas. **a-c**, *Pyxicola pusilla*, **a-b**, contraste de fases, **a**, en vivo, **b**, fijado en alcohol, **c**, teñido con hematoxilina, campo claro; **d-f**, *Epistylis cambari*, **d-e**, en vivo, contraste de fases, **f**, teñido con hematoxilina, campo claro; **g-i**, *Conidophrys pilisuctor*, fijado en alcohol, contraste de fases; **j-l**, *Discophrya elongata*, campo claro, **j-k**, con verde de metilo, **l**, teñido con hematoxilina. Barra de referencia 10  $\mu$ m.



Figura 32. Fotomicrografías de los invertebrados basibiontes recolectados en todas las cuevas. En microscopio estereoscópico. **a-b**, *Pseudothelphusa mexicana*, **a**, vista dorsal, **b**, branquia con epibiontes impregnada con carbonato de plata; **c-e**, *Procambarus cuetzalanae*, **c**, vista lateral, **d**, branquias, **e**, aparato bucal con epibiontes; **f-g**, *Notonecta* sp., **f**, vista lateral, **g**, vista ventral; **h**, *Campodea* sp., vista ventral; **i-k**, Coleoptera, vista ventral y dorsal; **l-m**, *Brackenridgia villalobosi*, **l**, vista dorsal, **m**, vista ventral.

### Riqueza específica registrada dentro de cada cueva

#### Cueva La Joya

Se encontraron cinco especies de invertebrados recolectados en el cuerpo de agua de la Cortina, el gours y en algunas partes del río (Fig. 2). Se identificaron dos taxa de ciliados epibiontes adheridos a cangrejos (*Pseudothelphusa mexicana*) y chinches acuáticas (*Notonecta* sp.) (Tabla 10). De los cinco cangrejos recolectados (tres en marzo y dos en junio) tres presentaron epibiontes. De las dos chinches acuáticas recolectadas en marzo, sólo en una se encontraron epibiontes. En ninguna de las cinco chinches semi-acuáticas recolectadas, pertenecientes al género *Rhagovelia* (cuatro de marzo y una de junio), se encontraron epibiontes.

En los cangrejos el apéndice que constantemente presentó epibiontes fueron las branquias, mientras que en el caso de las chinches acuáticas sólo se ubicaron en las patas.

**Tabla 10.** Especies de ciliados epibiontes registrados en la cueva La Joya.

	Sexo	Fecha de recolecta	Partes bucales	Branquias	Pleópodos
<i>Pseudothelphusa mexicana</i>	♀	marzo	<i>Pyxicola pusilla</i>	<i>Pyxicola pusilla</i>	<i>Pyxicola pusilla</i>
	♀	marzo	-	<i>Pyxicola pusilla</i>	-
	♂	junio	-	<i>Pyxicola pusilla</i>	-
		Fecha de recolecta	Patas		
<i>Notonecta</i> sp.		marzo	<i>Discophrya elongata</i>		

### **Grutas de Karmidas**

A pesar de que esta cueva es cruzada por un río y tiene varios cuerpos de agua, el número de invertebrados acuáticos que se recolectaron fue muy bajo, muy probablemente debido a que es turística.

Se recolectaron cuatro acociles de la especie *Procambarus (Villalobosus) cuetzalanae*, tres de los ejemplares corresponden a las recolectas de marzo y octubre. De estos ejemplares sólo uno de los recolectados en marzo tuvo epibiontes en las partes bucales, pertenecientes a la especie *Epistylis cambari*.

### **Grutas de Huarimio**

Por la época del año en que se visitó esta cueva, no se pudo encontrar ningún cuerpo de agua. Se recolectaron solamente dos coleópteros terrestres que se encontraban sobre las acumulaciones de guano. Se revisaron y no se encontraron epibiontes.

### **Grutas de Tziranda**

En esta cueva no se encontraron invertebrados acuáticos, sin embargo en muestras de suelo y hojarasca procesadas en el laboratorio, se encontraron isópodos terrestres, en los cuales no se encontraron epibiontes.

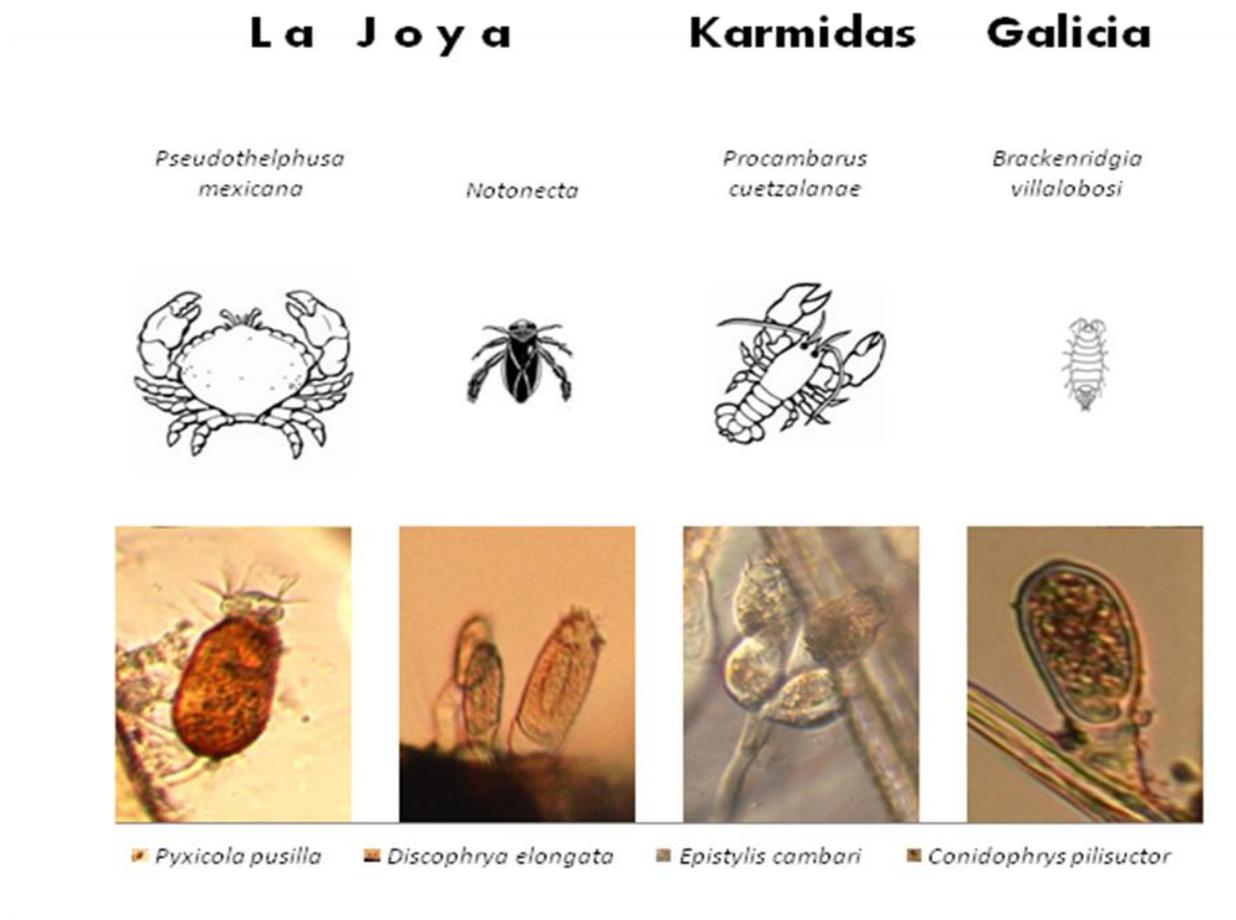
### **Grutas de Galicia**

Dentro de esta cueva se recolectaron diez isópodos terrestres de la especie *Brackenridgia villalobosi* sobre el lodo, cuatro en el mes de abril y seis en agosto. Debido a la fragilidad de los organismos, todas las revisiones se realizaron con material fijado. De

los individuos recolectados, tres presentaron apostomátidos de la especie *Conidophrys pilisuctor* en los pereiópodos (uno de la recolecta de abril y dos de agosto).

### Comparación de la diversidad de ciliados epibiontes

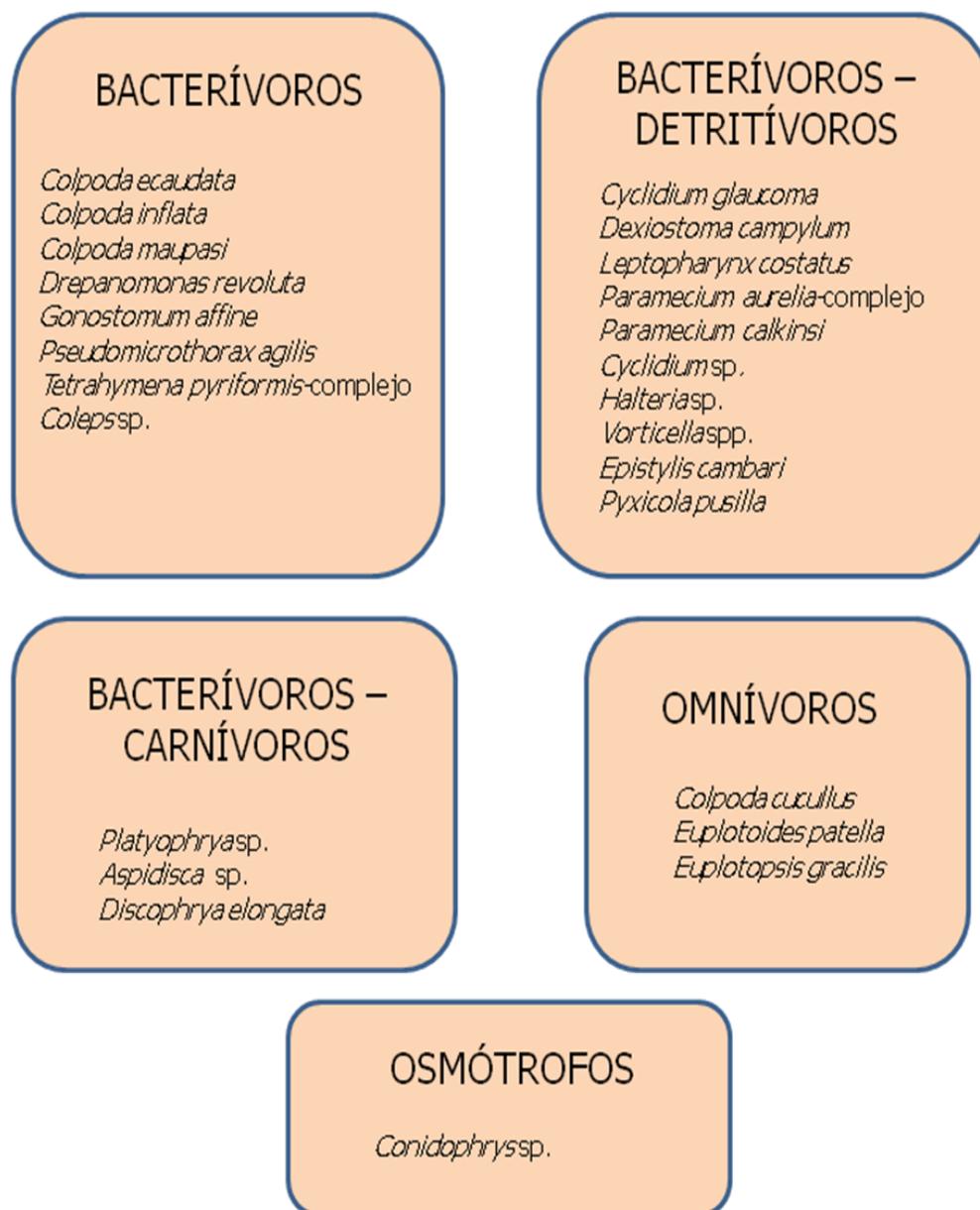
Como se puede apreciar en la figura 40, los ciliados epibiontes encontrados en los diferentes basibiontes fueron específicos para cada uno, incluso aquéllos basibiontes que pertenecían a una misma cueva, no compartieron ciliados.



**Figura 40.** Epibiontes presentes en cada basibionte.

## Ecología

Con base en la bibliografía se integraron en los diferentes grupos tróficos las especies de ciliados de vida libre registradas (Fig. 41). Dado que la información se trabajó a nivel de género, se excluyeron las que se identificaron sólo hasta familia o niveles superiores. Lo que podemos observar es que hay una fuerte predominancia de los hábitos bacterívoros. No se encontró ninguna especie con asociación a organismos autótrofos.



**Figura 41.** Grupos tróficos de las especies de ciliados registradas en todas las cuevas.

## DISCUSIÓN

Las cuevas pueden considerarse ambientes limitantes, por la ausencia de luz y la escasez de recursos. En contraparte, pueden también presentar ventajas, al proveer de un ambiente constante y húmedo (Hoffmann *et al.*, 1986), ideal para algunos organismos que requieren sobre todo de este segundo factor, como es el caso de los protozoos.

En este estudio se consideraron tres variables que podrían determinar la presencia de ciertas especies de ciliados. Se consideró el factor geográfico, por lo que se escogieron cuevas en diferentes estados del país y que además estuvieran dentro de ambientes diferentes. También se consideró el factor espacial, por lo que se tomaron muestras de diferentes biotopos. Y finalmente se consideró un factor más que es el temporal, por lo que se muestreó a lo largo del año para tener representadas las épocas de lluvias y secas.

### *Ciliados identificados*

Para la identificación de los ciliados se utilizaron claves taxonómicas especializadas y diferentes métodos de tinción e impregnación. Para obtener todas las características necesarias para su determinación, es necesario tener un gran número de individuos. Cuando se muestrean cuerpos de agua epigeos es suficiente con tomar una cantidad suficiente de muestra para mantener las poblaciones de ciliados pues al existir organismos autótrofos, permiten que siga habiendo alimento para su desarrollo. Sin embargo, cuando se toman muestras de cuevas es muy complicado obtener un número suficiente de organismos para su identificación. Por esta razón, además de tomar las muestras originales (que fueron mantenidas sólo con agua destilada) se decidió utilizar diferentes medios de cultivo. Dado que los medios utilizados pueden favorecer el crecimiento de algunas especies y ser desfavorables para otras, se realizaron tres réplicas con diferentes cultivos por cada muestra original. Se eligieron para dichas réplicas un cultivo natural sencillo (infusión de chícharo), un cultivo natural mezclado (infusión de arroz, paja y maíz) y un cultivo artificial (Chalkley). Todos son considerados como polixénicos y a lo largo del estudio se observó que favorecieron el desarrollo de diferentes especies de ciliados. En algunos casos estos ciliados no fueron observados en la muestra original, mientras que en otros aparecieron ciliados en la muestra original que no fueron registrados en los cultivos. Sin embargo se considera que, al integrar los resultados de los tres cultivos y la muestra

original, se obtuvo una visión bastante completa de los organismos presentes en las muestras. La reserva que quedaría aún, es si los ciliados observados en los cultivos se encontraban en forma trófica en la cueva, o sólo como quistes que lograron exquistar gracias a las condiciones proporcionadas por los medios de cultivo.

A pesar de los esfuerzos realizados, hubo un gran número de especies observadas de las cuales no se logró aumentar su abundancia, razón por la cual sólo se pudieron asignar a algunas categorías taxonómicas superiores.

Todo lo anterior refleja la baja abundancia que presentan las poblaciones de ciliados dentro de las cuevas, resultado quizá de las restricciones ambientales como la falta de luz que repercute en la falta de productores primarios y, por tanto, de alimento para los ciliados heterótrofos registrados.

#### *Diversidad de ciliados dentro y entre biotopos de una misma cueva*

Considerando las especies de vida libre, para el caso de la cueva La Joya se encontró que la diferencia en riqueza entre los biotopos no fue muy grande, pues todos presentaron una riqueza específica similar (entre 12 y 18 especies). El biotopo más diverso fue el guano, quedando el musgo en tercer lugar. Esto llama la atención pues se esperaría que el musgo, como un biotopo que está expuesto a luz y que puede albergar organismos autótrofos (y serlo en sí mismo), podría sustentar un mayor número de especies. Sin embargo, debe considerarse que está más fácilmente expuesto a la desecación, lo que limita el establecimiento de especies de ciliados. En el caso de esta cueva, el guano fungió como un mejor medio físico para el desarrollo de los ciliados y probablemente con mayor aporte de alimento. Este biotopo fue recolectado de una zona específica de la cueva donde llega a acumularse y se encuentra en general fresco.

Cabe resaltar que en esta cueva se recolectaron muestras de agua de diferentes zonas, pues el túnel es muy largo y existen diferentes cuerpos de agua que se pensaba podían mantener poblaciones de ciliados (los datos por zona específica de muestreo se muestran en el Anexo C). A pesar de que el número de muestras de agua revisadas fue superior al de los demás biotopos, fue el sustrato en el que se registró menor riqueza específica. Esto podría deberse a que el agua de La Joya se encuentra en forma de riachuelos y pequeñas pozas, que a pesar de parecer estancadas, podrían estar

constantemente en recambio por la corriente del río que las alimenta, transportando a las especies de ciliados río abajo y dejando sólo a los que se logran adaptar a la corriente.

En el caso de las grutas de Karmidas, se obtuvo lo planteado inicialmente respecto a los biotopos muestreados, pues el musgo presentó una riqueza específica mucho mayor que los demás sustratos (se registraron 15 especies en musgo y de cuatro a seis en los demás biotopos). Las condiciones naturales de esta cueva, parecerían brindar buenas condiciones al menos para los organismos que viven en agua, pues presenta una gran variación de micro-ambientes acuáticos (agua estancada, con poca corriente, con mucha corriente, estanques de diferentes dimensiones). A pesar de esto, y de que en esta cueva también se revisaron muestras de diferentes cuerpos de agua, la riqueza específica de este biotopo fue la más baja. En este caso, además de la corriente del agua, lo que podría afectar las poblaciones de ciliados en agua y suelo es la constante presencia humana, pues es una cueva turística que en algunas ocasiones recibe un gran número de visitantes. Para el caso del guano la baja diversidad puede ser atribuida a que había pocas acumulaciones de este sustrato, que más bien se encontraba como pequeños manchones dispersos y que además dificultaron su muestreo.

Para el caso de las grutas de Huarimio, las condiciones fueron las más disímiles al resto de las cuevas estudiadas, pues poseían grandes entradas, que si bien proveían de luz a zonas más internas de la cueva, también evitaban que se generara una atmósfera constante y sobre todo, no se conservaba la humedad. Por el mes en que se recolectó (previo a lluvias) no se encontraron cuerpos de agua, ni había infiltraciones o escurrimientos. Aunque estas temperaturas cálidas pudieran haber sido un factor que favorecería el crecimiento de las poblaciones de ciliados, en este caso ocasionaron más bien que tanto el suelo como el guano se encontraran muy secos. Esto a su vez ocasionó que la diversidad de ciliados fuera muy baja, en particular en el suelo.

En cuanto a los biotopos muestreados en las grutas de Tziranda, el agua resultó tener el mayor número de especies de ciliados. En esta cueva se muestrearon dos puntos para este biotopo, el primero fue un cuerpo de agua estancado, mientras que el segundo se tomó de la parte final del río, previo a donde se cierra la cueva. Aunque se encontraron ciliados en ambas zonas, el mayor número de registros lo presenta el cuerpo de agua estancada. En particular en esta cueva, se hubiera esperado mayor diversidad en las muestras de guano de la primera recolecta, pues éste se encontraba en grandes

acumulaciones y fresco. Esta cueva alberga a más de 20 especies de murciélagos, muchos de ellos migratorios, que pueden formar grandes colonias. Para la segunda recolecta la abundancia de murciélagos, y por tanto de guano había decrecido mucho. Esta falta de aporte constante de guano fresco pudo ocasionar que en general este biotopo presentara una riqueza específica muy baja.

En las grutas de Galicia hubo una gran variación entre los biotopos, que al igual que en Karmidas correspondió a lo esperado, pues el musgo fue el biotopo con mayor riqueza específica. El suelo y agua presentaron menos de la mitad de las especies observadas en el musgo. En parte puede corresponder a que el musgo se encuentra aún en una zona de luz. Probablemente el número tan bajo de especies encontradas en agua, corresponde a que el lugar donde se tomó la muestra era una poza estancada y que parecería tener más aporte por las infiltraciones que por la corriente de algún riachuelo formado al menos en la época de lluvias. Por otra parte el suelo está muy húmedo y forma a lo largo de toda la cueva túneles de lodo. Esta consistencia podría no favorecer la presencia de ciliados, pues los espacios entre las partículas del suelo serían muy pequeños. A pesar de ello, en el suelo se registró una riqueza de ciliados un poco mayor incluso que el agua.

#### *Variación de la diversidad de ciliados a lo largo del estudio en una misma cueva*

Si se observa el número de especies registrada a lo largo de las tres recolectas para cada biotopo (Fig. 29), podemos notar que para La Joya, el agua, suelo y musgo presentan un patrón similar, donde el mayor número de registros de ciliados se obtuvo en el mes de junio. Sólo en el guano, se registraron el mayor número de especies en la tercer recolecta. La recolecta de junio coincidió con el inicio de las lluvias, lo que probablemente permitió el ingreso de alimento para los ciliados, lo que les permitió desarrollarse, sin ser arrastrados pues aún no aumentaba tanto la precipitación y por tanto la corriente del río. En el caso del guano, la zona donde se muestreó no forma parte del caudal principal del río, por lo que más que las lluvias, el factor que pudo haber determinado que hubiera mucho más ciliados en la última recolecta fue la mayor presencia de murciélagos, que mantuvieron una cantidad constante y fresca de guano.

En Karmidas la diversidad registrada en cada biotopo no presenta una diferencia muy marcada entre las recolectas, salvo el musgo, en el cual hay una mayor riqueza

específica en el mes de junio. En este mes hubo un aumento en las lluvias, lo que pudo ocasionar que el musgo creciera más y mantuviera una cantidad de humedad mayor entre sus hojas y raíces, permitiendo así el desarrollo de los ciliados asociados a él.

En Tziranda encontramos también dos biotopos que presentan un comportamiento similar, pues en el suelo y guano la recolecta de julio tuvo mayor riqueza específica que la de noviembre. Este aumento corresponde al aumento de la temporada de lluvias. Por su parte en el agua se observó lo contrario, mayor diversidad en noviembre, considerada ya como época de secas. Estos valores pueden corresponder a que el suelo y guano sufren más los fenómenos de la desecación, mientras que el agua podrá bajar sus niveles, pero mantiene el líquido necesario para que habiten ahí los ciliados.

En las grutas de Galicia también se observa un patrón en todos los biotopos (menos el guano que nunca presentó ciliados) donde la recolecta correspondiente a lluvias (agosto) es cuando se presenta mayor número de ciliados. Como se mencionó previamente, en esta cueva no se presenta un río con mucho caudal, sino cuerpos de agua estancada más bien alimentados por infiltraciones. Las lluvias pueden aumentar significativamente los niveles de agua dentro de la cueva, inundando parte de los túneles, pero sin crear corriente. Esto pudo favorecer que en ese momento donde hay mayor aporte de alimento del medio exterior, aumentaran las poblaciones de ciliados.

#### *Comparación de la diversidad observada en cada biotopo de diferentes cuevas*

Al hacer el análisis en cada cueva para identificar el biotopo más óptimo para sustentar una mayor diversidad de ciliados, podemos notar que dependiendo de la cueva que se trate el resultado fue diferente (guano en La Joya y Huarimio; musgo en Karmidas y Galicia; agua en Tziranda). Por tanto habrá diferentes factores ambientales ( $CO_2$ , temperatura, humedad) que sumados a las propiedades propias del sustrato determinarán la riqueza de ciliados ahí encontrada. En el caso del agua, estas propiedades pueden responder a si el cuerpo de agua era léntico o lóxico, permanente o temporal, o incluso el sustrato, que en algunos casos eran arenas y en otros era directamente la roca. Para el suelo debe considerarse el tipo y tamaño de las partículas que lo componían, además del grado de humedad y compactación. En el guano las diferencias se debieron al tipo de alimentación del murciélago del cual provenía, pues se encontraron dentro de las cuevas especies frugívoras, insectívoras, polinívoras y hematófagas. El musgo correspondió a

diferentes asociaciones de este grupo de plantas con helechos e incluso algas. Es por esto que no se puede generalizar y determinar que algún biotopo en particular fue el mejor para el crecimiento de los ciliados, pues en todos existió el mínimo de condiciones requeridas por estos organismos.

#### *Relación de la diversidad con las condiciones ambientales medidas*

Durante el estudio se midieron tres condiciones ambientales para cada zona de muestreo: la temperatura, humedad y concentración de CO<sub>2</sub>. Además para el agua se midieron directamente el pH, la temperatura y oxígeno disuelto. Juntando los datos de todas las recolectas, se pueden observar las variaciones de estos factores ambientales.

Al relacionar los valores de las condiciones ambientales registradas en cada cueva, se observó que en los puntos donde se muestreó el agua, la mayor variación correspondió a la humedad atmosférica; en las grutas de Tziranda presentó un comportamiento inverso al esperado, pues a menor humedad ambiental se registró un mayor número de ciliados (siete especies). En todas las cuevas el CO<sub>2</sub> tuvo valores dentro de amplios intervalos, lo cual pudo influir en la baja riqueza específica que en general se presentó en el agua.

En lo que respecta a las muestras de suelo, las condiciones extremas de temperatura y humedad en Huarimio (30 °C y 40 % respectivamente) y las altas concentraciones de CO<sub>2</sub> en Tziranda (5500 ppm) pudieron haber influido en la disminución de la diversidad registrada en este biotopo (dos especies en Huarimio y una en Tziranda).

En las zonas de muestreo del guano se observó que la concentración de CO<sub>2</sub> fluctuó mucho estacionalmente en todas las cuevas, excepto en La Joya. Al parecer esta estabilidad estacional en La Joya favoreció que se registrara en el guano de esa cueva el mayor número de ciliados. Por el contrario, en el guano de las cuevas de Michoacán hubo muy pocos ciliados. En el guano de las grutas de Galicia no se encontraron ciliados, a pesar de que los niveles de CO<sub>2</sub> fueron bajos.

El musgo respondió inversamente a las variaciones estacionales, pues al comparar los valores de temperatura, humedad y concentración de CO<sub>2</sub> de los sitios de cada cueva donde se recolectó este biotopo, resultó que en la cueva que mayor variación presentó para las tres variables (Karmidas) hubo una mayor riqueza específica (15 especies).

En Galicia las altas concentraciones de CO<sub>2</sub> en la zona más interna, pudieron causar que el agua y el suelo muestreados ahí, tuvieran baja riqueza específica.

El CO<sub>2</sub> es un componente del aire que se encuentra habitualmente en niveles entre 300 y 400 ppm, pudiendo alcanzar en zonas urbanas valores de hasta 550 ppm. Es un asfixiante simple, por desplazamiento del oxígeno y necesita concentraciones elevadas para manifestar sus efectos. Cuando los niveles de dióxido de carbono exceden de 800 a 1,200 ppm en las áreas interiores, muchas personas pueden comenzar a experimentar incomodidad, dolores de cabeza, cansancio y problemas respiratorios, dependiendo de la concentración y de la duración de la exposición. Sin embargo se han detectado en áreas cerradas concentraciones de hasta 3,000 ppm (Mendivil y del Campo, 2006). No está clara la tolerancia que pueden tener diferentes animales a este gas, pero en particular el efecto que el CO<sub>2</sub> podría tener sobre los ciliados es indirecto, pues al disolverse en el agua genera una baja en el pH (Cole *et al.*, 1994).

Dentro de cuevas se han encontrado valores de CO<sub>2</sub> que van desde 0.1% hasta 4.9% (1,000 – 49,000 ppm) en cuevas de Mallorca (España) (Ginés *et al.*, 1987). En ese estudio se observó la distribución de este gas a lo largo de la cueva de Les Rodes, cuyos valores fueron variables a lo largo de la cueva, pero con un claro patrón estacional, con lo que proponen que algunos ritmos climáticos exteriores lleguen a manifestarse al interior de las cuevas. Los autores proponen diferentes posibles fuentes de este gas, siendo más importante la difusión de CO<sub>2</sub> proveniente de las grietas que rodean las cuevas, que incluso la actividad biológica. En otros estudios dentro de cuevas, se han reportado que a grandes profundidades, temperaturas de 20 - 23 °C y humedad de 80 – 100%, los valores pueden ser tan altos como de 60,000 ppm (Benavente *et al.*, 2007).

Es muy baja la probabilidad de que los valores tan altos (5,000 ppm) medidos en el presente estudio con el calibrador atmosférico hayan sido causados por un error del aparato. A pesar de que los participantes de las recolectas no sentimos algún efecto claro derivado de los altos niveles de este gas, en recolectas subsecuentes se deberá tomar en cuenta alguna medida preventiva de seguridad.

Los valores observados para las tres variables medidas variaron entre las diferentes zonas de las cuevas, así como entre las cuevas entre sí. Con las medidas realizadas no se observa una clara relación entre las medidas ambientales tomadas y la diversidad de ciliados encontrada. Hace falta medir con mayor frecuencia estas condiciones ambientales para determinar si tienen un efecto directo sobre esta diversidad.

*Comparación de la diversidad observada a lo largo del estudio en todas las cuevas*

Para esta comparación se juntaron los registros de todos los ciliados encontrados en todos los biotopos en cada recolecta, para ver la variación estacional global dentro de la cueva. Cabe resaltar que hacerlo, la recolecta que resulta con mayor número de ciliados cambia a lo que se observó analizando por separado cada biotopo.

En Galicia, Karmidas y La Joya, se registró una mayor riqueza específica en el segundo muestreo, correspondiente a los meses de junio a agosto. Este período coincidió al inicio del período de lluvias, menos en Galicia donde ya estaba a mediados de este período. Las lluvias pudieron ser el factor que generó esta alza en las poblaciones, pues comenzaba a aumentar la cantidad de agua y humedad externa, pero sin aún llegar a generar grandes corrientes, que desestabilizan las poblaciones de protozoos. Según lo reportado para otras cuevas, si bien la lluvia puede incorporar nutrientes, puede también ocasionar que las poblaciones de protozoos sean "lavadas", y aunque a su vez esto puede favorecer el ingreso a la cueva de otras especies, las poblaciones tardan en restablecerse (Morales-Malacara, com. pers.). Lo esperado por tanto sería que en la tercera recolecta bajara drásticamente la diversidad de ciliados, pero lo que se observó en casi en todas las cuevas es que la diversidad permaneció casi igual que en la segunda recolecta. Probablemente la morfología de estas cuevas permite la entrada del agua de lluvia en pequeños afluentes que quedan estancados al interior, permitiendo que se asienten y mantengan las comunidades de ciliados. Además se debe mantener presente que esta entrada de agua podría favorecer a biotopos como el suelo y guano, mientras que a los ciliados encontrados en agua podría perjudicarlos al generar este efecto de "lavado" por el aumento de la corriente de los cuerpos de agua donde habitan.

*Diversidad beta*

En lo que corresponde al total de los ciliados registrados en cada cueva, hubo una gran diferencia. La cueva que tuvo el mayor número de registros fue La Joya (con 31 especies) mientras que Huarimio fue la que menor riqueza específica presentó (con 5 especies). Sólo dos especies (*Colpoda ecaudata* y *C. maupasi*) se registraron en todas las cuevas. Se encontraron también dos especies (*Tetrahymena pyriformis* y *Cyclidium* sp.) que se encuentran en todas las cuevas a excepción de Huarimio. Dos especies más (*Colpoda inflata* y *Cyclidium glaucoma*), se encuentran en tres de las cuevas estudiadas.

Las cuevas que compartieron mayor número de especies fueron La Joya y Karmidas (10 especies), aunque las que son más similares de acuerdo al índice de Jaccard fueron Karmidas y Galicia, con un índice de 0.28, que en realidad nos muestra que la similitud es muy baja. En contraparte el número de especies que se registraron únicamente en una cueva varió desde tres (Huarimio) hasta 12 (La Joya). Esto lleva a pensar, que existe un conjunto de especies que pueden ser consideradas comunes en las cuevas, sin importar su ubicación geográfica. Las características que dichas especies tendrían serían su amplia distribución, formación de quistes y plasticidad para vivir en un medio sin luz.

En el presente estudio se encontraron varias de estas especies, que si bien no estaban en todas las cuevas, fueron compartidas por al menos un par de ellas. Estas especies se han adaptado a las condiciones que ofrece una cueva, sin importar el ecosistema circundante (ya que las cuevas se encontraban rodeadas de muy diferentes tipos de vegetación), o lo distante que se encuentran una cueva de la otra (las cuevas muestreadas pertenecen a tres regiones biogeográficas distintas, la Sierra Madre Oriental, el Eje Volcánico y la depresión del Balsas).

#### *Registros previos y nuevos registros*

Las especies que se encontraron en común en todas las cuevas fueron dos pertenecientes al género *Colpoda*, el cual ha sido registrado como un género con gran vagilidad por su exitosa formación de quistes (Lynn, 2008). Sin embargo, resalta el caso de *Colpoda ecaudata*, pues no existe ningún registro de esta especie en el medio epígeo. La otra especie que se encontró en todas las cuevas, *C. maupasi*, fue registrada previamente en una cueva de Querétaro (Sigala-Regalado, 2008) y tiene dos registros en el medio epígeo, uno en suelo (Puebla) y otro en agua de tanques de bromelias (Veracruz) (García-Pérez, 2001 y Durán-Ramírez, 2010, respectivamente).

Del resto de las especies que se registraron en alguna cueva, *Coleps hirtus*, registrado en La Joya, y *Paramecium aurelia* – complejo, registrado en La Joya y Tziranda, sólo han sido encontradas en cuerpos de agua dulce de Puebla, Edo. de México y D.F. (González-Labastida, 1995; Lugo-Vázquez, 1993; Lugo *et al.*, 1998; Luna-Pabello *et al.*, 1996 y Sánchez-Rodríguez, 1994). *Drepanomonas revoluta*, *Gonostomum affine* y *Leptopharynx costatus*, fueron observadas recientemente en los tanques de agua de bromelias en Veracruz (Durán-Ramírez, 2010).

*Colpoda inflata* y *C. cucullus* son especies que se han registrado tanto en suelo (García-Pérez, 2001) como en el agua de bromelias (Durán-Ramírez, 2010). Esta segunda especie además se registró en el Río la Magdalena, D.F. (Nomdedeu y López-Ochoterena, 1988) y en arena de playa de la Reserva de la Biósfera de Mapimí, Durango (Rico-Ferrat *et al.*, 1987). *Euplotoides patella* es una especie que se ha registrado tanto en agua dulce, en un estanque de estabilización, Edo. de México (Sánchez-Rodríguez, 1994), lagos La Preciosa y Quechulac, Puebla (Lugo-Vázquez, 1993), como en cuerpos de agua hiposalina, en Atexcac, Puebla (Lugo-Vázquez, 1993 y Lugo *et al.*, 1998).

*Cyclidium glaucoma* también es una especie que se ha registrado en todo tipo de sustratos, incluyendo agua dulce en Campeche (Madrado-Garibay y López-Ochoterena, 1986), lagos Aljojuca, Quechulac, La Preciosa y Tecuitlapa, Puebla (Lugo-Vázquez, 1993), en el Río la Magdalena (Nomdedeu y López-Ochoterena, 1988) y en el lago de Chapultepec, D.F. (González-Labastida, 1995 y Lugo *et al.*, 1998); en agua hiposalina de los lagos Alchichica y Atexcac, Puebla (Lugo-Vázquez, 1993 y Lugo *et al.*, 1998), suelo de un bosque en Tamaulipas (Rico-Ferrat, 1990); agua de los tanques de bromelias en Veracruz (Durán-Ramírez, 2010); estanques de estabilización en el Edo. de México (Ibarra-Hernández, 1992; Sánchez-Rodríguez, 1994 y Rivera *et al.*, 1988) e incluso en el drenaje doméstico del D.F. (Castro-Gutiérrez, 1985; Luna-Pabello *et al.*, 1996 y Rico-Ferrat y López-Ochoterena, 1986). *Paramecium calkinsi* se registró en ambientes marinos en Veracruz (Aladro-Lubel *et al.*, 1990).

Siete de las especies encontradas en las cuevas de este estudio (*Colpoda cucullus*, *C. inflata*, *Cyclidium glaucoma*, *Dexiostoma campylum*, *Euplotoides patella*, *Paramecium aurelia* - complejo y *Tetrahymena pyriformis* - complejo) se han registrado previamente en reactores de biodiscos y tanques de estabilización de plantas de tratamiento de agua (Castro-Gutiérrez, 1985; Ibarra-Hernández, 1992; Luna-Pabello *et al.*, 1996; Rivera *et al.*, 1988 y Sánchez-Rodríguez, 1994).

Todos estos registros previos y los de este trabajo, nos permiten afirmar que las especies que colonizan las cuevas, son capaces de sobrevivir en este ambiente porque toleran amplios intervalos de factores fisicoquímicos, por ejemplo salinidad, humedad, e incluso que pueden llegar a ser indicadoras de la calidad del agua.

Los registros previos corresponden a datos de los estados de Puebla, Tabasco, Veracruz, D.F., Estado de México, Campeche, Durango y Tamaulipas (Aladro-Lubel *et al.*,

2006). Ninguna de las especies encontradas en La Joya ha sido registrada previamente en el medio epígeo en el estado de Guerrero. De igual forma, todas las especies de Huarimio y Tziranda son nuevos registros para Michoacán. Cinco de las especies registradas en las Grutas de Karmidas (*Colpoda ecaudata*, *Euplotopsis gracilis*, *Leptopharynx costatus*, *Pseudomicrothorax agilis* y *Tetrahymena pyriformis*) son nuevos registros para Puebla. *Pseudomicrothorax agilis* y *Tetrahymena pyriformis* son especies registradas en las grutas de Galicia y que no se habían encontrado previamente en el estado de Veracruz. En cuanto a las provincias biogeográficas en México, designadas por la CONABIO (1997), la cueva de La Joya y las grutas de Huarimio se encuentran dentro de la Depresión del Balsas. Las 13 especies registradas en ambas cuevas, son nuevos registros para esa provincia. Las grutas de Karmidas y Galicia, se ubican en la provincia de la Sierra Madre Oriental, para la cual las especies *Colpoda ecaudata*, *Pseudomicrothorax agilis* (ambas presentes en las dos cuevas) y *Euplotopsis gracilis* (registrada sólo en Karmidas), son nuevos registros para la provincia. La ubicación de las grutas de Tziranda corresponde a la provincia del Eje Volcánico, dentro del cual es la primera vez que se registran las especies *Colpoda ecaudata* y *Paramecium aurelia*.

Hacen falta aún muchos estudios para poder completar los registros de todas estas especies, tanto en el medio epígeo como dentro de cuevas.

Las especies observadas en las cuevas estudiadas y que no se han documentado como epígeas en México, no pueden ser catalogadas como propias o endémicas de cuevas, pues además de la falta de estudios, existe un debate acerca de si los protozoos son cosmopolitas (Fenchel y Finlay, 2003 y Finlay *et al.*, 1998) o presentan algún grado de endemismo (Foissner, 2008). Lo que es evidente con los datos obtenidos, es que las especies presentes en cuevas son las que pueden tolerar intervalos amplios de temperatura, humedad, concentración de CO<sub>2</sub> y calidad del agua.

### *Grupos tróficos*

Además de los factores ambientales, otra de las limitantes para el crecimiento de las poblaciones de protozoos es el alimento disponible, que en general dentro de una cueva es escaso, razón por la cual la diversidad de ciliados puede verse reducida. Considerando los grupos tróficos en los que se incluyen las especies identificadas en este trabajo, se observa que la mayoría tiene a las bacterias como parte de su dieta, que en el

caso de La Joya y Tziranda, debieron haber estado presentes es una concentración adecuada para sustentar a las comunidades de ciliados, a pesar de la ausencia de producción primaria.

Relacionado además con sus hábitos alimenticios, es importante señalar que algunas de las especies registradas en estas cuevas, han sido observadas y categorizadas (Curds, 1969) como alfa y beta mesosaprobias (*Euplotoides patella* y *Paramecium aurelia*) y polisaprobias (*Colpoda cucullus*, *C. inflata*, *Dexiostoma campylum* y *Tetrahymena pyriformis*). Esta categorización, ligada a la cantidad de materia orgánica y relacionada con aguas de baja calidad, confirma que las especies factibles a encontrar dentro de cuevas, serán las que toleren intervalos amplios de condiciones ambientales limitantes.

La presencia de los ciliados en las cuevas será de gran importancia ecológica, pues al ser consumidores primarios favorecen la transferencia de nutrientes a través de la cadena alimenticia, ya que son el alimento de animales invertebrados pequeños. Esto resulta más importante aún si se considera que en general el medio acuático cavernícola se caracteriza por poseer una baja concentración de materia orgánica de utilidad alimenticia, que genera sea habitado por poca fauna (Hoffmann *et al.*, 1986).

#### *Ciliados epibiontes*

En cuanto a los ciliados epibiontes identificados, resalta que aún en los animales recolectados dentro de la misma cueva, e incluso en un mismo cuerpo de agua, la presencia de los ciliados epibiontes ocurrió de forma diferencial y específica para cada basibionte. De esta forma, *Pyxicola pusilla* se encontró únicamente sobre *Pseudothelphusa mexicana* en La Joya; *Discophrya elongata* estuvo asociado únicamente sobre la chinche acuática del género *Notonecta*, recolectada en esta misma cueva. El registro de *P. pusilla* corresponde al primero para México, mientras que *D. elongata* fue registrado previamente sobre chinches acuáticas epígeas de este mismo género y en otros géneros como *Corisella* y *Ranatra* (Mariño-Pérez, 2009; Mariño-Pérez y Mayén-Estrada, 2009 y Mariño-Pérez *et al.*, 2011). *Conidophrys pilisuctor* es una especie con alto grado de especificidad, registrada en particular sobre crustáceos como isópodos, anfípodos y decápodos marinos, así como anfípodos dulceacuícolas (Mayén-Estrada y Aladro-Lubel, 2004). De igual forma, la especie *Epistylis cambari* se ha registrado en México tanto en agua dulce sobre el acocil *Procambarus clarkii* en Nuevo León (Molina-Garza, 1989), como en la laguna salobre de

Mandinga, Veracruz, sobre un hidrozoo (López-Ochoterena y Madrazo-Garibay, 1989). Se observa entonces que la presencia de estos ciliados, estará determinada por la de su respectivo basibionte.

De los epibiontes observados, *Pyxicola pusilla* se registró adherida a tres diferentes partes del cuerpo de los cangrejos recolectados en La Joya, mostrando una preferencia por las branquias. Probablemente esto corresponda al mayor aporte de oxígeno y a la mayor protección que le brindará la parte del caparazón que recubre esta estructura. Esta especie se adhiere al sustrato por medio de un pedúnculo que le permite permanecer adherida. Las otras dos partes del cuerpo en las que se registró (partes bucales y pleópodos) son también estructuras que la protegen y evitan la fricción con el medio exterior que pudiera desprenderla.

En *Conidophrys pilisuctor* también se puede notar una preferencia hacia una zona en particular del basibionte el cual se encontró en las setas de los isópodos de las grutas de Galicia. En particular se encontró en las setas cercanas al último artejo de los pereiópodos, quedando de esta forma muy expuesto. La forma en la que este ciliado logra resistir la fricción con el medio, es incrustándose en la seta, pues no posee un pedúnculo para fijación. En estudios más amplios (Mayén-Estrada y Aladro-Lubel, 1994) se ha observado que si el ciliado simbiote obtiene su alimento (la hemolinfa en el caso de *Conidophrys pilisuctor*) a través de cualquier seta, no pareciera haber alguna ventaja al estar localizado en alguna seta de alguna región del cuerpo en particular, por tanto, su presencia diferencial en el caso de anfípodos, puede ser causada por variaciones físico-químicas a través del año o por el comportamiento del basibionte, que además podría explicar también la ausencia del ciliado en algunas muestras. Puede estar ocurriendo algo similar en el caso de los isópodos de esta cueva, donde las variables ambientales sean las que determinen el lugar donde se asentará el epibionte.

Faltan aún estudios sobre la epibiosis, y en particular el estudio de esta relación dentro del ambiente cavernícola es muy interesante, ya que queda en el aire la pregunta de si estos organismos tuvieron un ingreso juntos a la cueva, o la relación se estableció una vez que ambos penetraron a este ambiente. De la mano de esto, otra discusión aún no terminada es acerca de las posibles ventajas o desventajas que proporciona el epibionte a su basibionte (Fernandez-Leborans, 2009; Wahl y Mark, 1999).

## Conclusiones

Realizar el registro e identificación completa de los ciliados que viven dentro de una cueva, puede ser un trabajo complicado, pues en general se ha observado que la abundancia de estos organismos suele ser muy baja. La realización de cultivos con medios naturales y artificiales puede ser una buena herramienta, aunque probablemente lo que se requiere además es aumentar el tamaño de la muestra, a pesar de la dificultad técnica que ello conlleva en el muestreo dentro de cuevas.

Dentro de una cueva, los ciliados de vida libre pueden encontrarse en diferentes biotopos, tales como el agua, suelo, guano y musgo. Cada biotopo podrá tener diferentes características que permitirán que se desarrolle una comunidad particular de ciliados, que puede ser similar. Algunas especies de ciliados como las del género *Colpoda*, *Cyclidium* y *Tetrahymena*, pueden encontrarse en todos los biotopos, pues se conocen bien como especies con amplios intervalos de tolerancia a diferentes condiciones ambientales. En contraparte se registraron especies en un solo biotopo, probablemente debido a su especificidad hacia algún tipo de nutriente, como puede ser el caso de las especies presentes en el musgo. Adicionalmente se encontró que al comparar un mismo biotopo entre las diferentes cuevas, su composición específica cambiaba. Por tanto se puede concluir que cada biotopo funcionará como un microambiente dentro de una misma cueva, y que, como en cada cueva las condiciones ambientales serán diferentes, no se puede generalizar para todas cuál sería el biotopo que más diversidad de ciliados sustenta, pues esto será particular para cada cueva.

Las corrientes y escurrimientos generados por las lluvias, determinarán de manera importante la diversidad registrada dentro de la cueva, sin embargo cada biotopo responderá de forma diferente a esta variación estacional. Ya que aunque cada uno podrá mostrar una dinámica diferente, para los ciliados de cuerpos de agua podrán ser perjudiciales al aumentar la corriente, mientras que a los ciliados de musgo podrá beneficiar el aumento de humedad. Sin embargo esto lo determinará la topología de la cueva estudiada.

De las características ambientales medidas, no se encontró ninguna relación clara entre ellas y la diversidad de ciliados, por lo que no se puede descartar que algún otro factor ambiental no medido afectara las especies presentes en la cueva.

Se debe de considerar que los ciliados que se pueden encontrar dentro de las cuevas, son principalmente los que han sido arrastrados desde el exterior. Sin embargo, las especies que podrán prosperar en su interior son las que toleran intervalos más amplios de condiciones ambientales, tales como temperatura, humedad, CO<sub>2</sub>, baja calidad del agua, escasez de materia orgánica y alimento en general, y sobre todo, un ambiente totalmente desprovisto de luz. Todas estas condiciones, disminuirán la diversidad que podremos encontrar dentro de una cueva con respecto a cuerpos de agua epígeos.

Esta constante colonización de la cueva por ciliados epígeos, podrá resultar en que las especies registradas dentro de la cueva correspondan a las que se encuentren en el ecosistema que la circunda. Sin embargo, hacen falta más estudios comparativos con los ciliados encontrados en los alrededores de la cueva y los que se encuentran adentro. En contraparte hay un pequeño conjunto de especies que probablemente por su ubicuidad, se registraron en común en las cuevas, sin importar su ubicación geográfica y la gran distancia a la que se encontraban unas de otras.

Dado que no se observó ninguna característica morfológica que pudiera considerarse como adaptación al medio cavernícola, no se puede categorizar aún ninguna especie como troglobia. Sin embargo existe un conjunto de especies de ciliados tolerantes a las condiciones ambientales que predominan en una cueva y pueden ser restrictivas para otras especies.

Los ciliados registrados como epibiontes de los diferentes insectos y crustáceos recolectados, coinciden con una cierta especificidad hacia su basibionte como la observada en crustáceos epígeos, aunque su presencia dentro de las cuevas nos genera más cuestiones por resolver respecto a su historia evolutiva, entrada y adaptación al medio cavernícola.

Hacen falta más estudios taxonómicos y ecológicos para poder conocer y entender más acerca de este importante grupo de organismos, que juegan un papel fundamental dentro de las redes tróficas de los ecosistemas subterráneos.

**Bibliografía**

- Aladro-Lubel, M. A. 2006. *Principales clasificaciones de los Protozoos*. Las prensas de ciencias, UNAM, México. 90 pp.
- Aladro-Lubel, M.A., M.M.E Martínez y R. Mayén-Estrada. 1990. *Manual de ciliados psamófilos marinos y salobres de México*. Cuadernos 9, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. 168 pp.
- Aladro-Lubel, M. A., R. Mayén-Estrada y M. Reyes-Santos. 2006. Registro actualizado de los Ciliados. Listados Faunísticos de México. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. 97 pp.
- Alekperov, I., E. Buskey y N. Snegovaya. 2006. New and little known free-living ciliates from the plankton of the Caspian Sea. *Protistology*, 4(3): 195-201.
- Alvarez-Noguera, F. 1987. *Pseudothelphusa mexicana*, a new freshwater crab from the state of Guerrero, Mexico (Brachyura: Pseudothelphusidae). *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 100(1): 1-3.
- Anderson, O. 1987. *Comparative Protozoology. Ecology. Physiology. Life History*. Springer-Verlag. New York. 482 pp.
- Bamforth, S.S. 1985. Ecology of Protozoa. En: Lee, J.J., E.C. Bovee y S.H. Hutner (eds.). *An illustrated guide to the Protozoa*. Allen Press, Lawrence, Kansas. pp. 8-15.
- Benavente, J., Vadillo, I., Carrasco, F. y Liñán, C. 2007. Distribución vertical del contenido en CO<sub>2</sub> en la zona no saturada de un karst mediterráneo (Nerja, España): resultados preliminares. *Geogaceta*, 41: 23 -26.
- Berger, H. 1999. *Monograph of the Oxytrichidae (Ciliophora, Hypotrichia)*. Kluwer Academic Publishers, Monographiae biologicae, Vol. 78, Dordrecht. 1079 pp.
- Borror, A.C. y B.F. Hill. 1995. The order Euplotida (Ciliophora): Taxonomy, with division of *Euplotes* into several genera. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 42(5): 457-466.
- Brusca, R.C. y G.J. Brusca. 2003. *Invertebrates*. Sinauer Associates, Sunderland. 938 pp.
- Castro-Gutiérrez, F. 1985. Estudio de los protozoos en un sistema de biodiscos en la planta de tratamiento de aguas residuales de Copilco C.U. Tesis Profesional ENEP. Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, 98 p.

- Castro-Ortiz, L.P. 2004. Evaluación de la toxicidad de lixiviados de recorte de perforación sobre el ciliado edafícola *Colpoda cucullus*. Tesis maestría Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. 90 p.
- Chatton, E. y A. Lwoff. 1930. Imprégnation par diffusion argentine de l'infanciliature des ciliés marins et d'eau douce, après fixation cytologique et sans dessiccation. *Comptes Rendus des Séances et Mémoires de la Société de Biologie*, 104: 834-836.
- Christiansen, K. 1962. Proposition pour la classification des animaux cavernicoles. *Spelunca*, 4 (2): 76-78.
- Cole, J.J., F.N. Caraco, W.G. Kling, K.T. Kratz. 1994. Carbon dioxide supersaturation in the surface waters of lakes. *Science*, 265 (5178): 1568-1570.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, CONABIO. 1997. Provincias biogeográficas de México.  
[http://www.conabio.gob.mx/informacion/metadatos/gis/rbiog4mgw.xml?\\_httpcache=yes&\\_xsl=/db/metadatos/xsl/fgdc\\_html.xsl&\\_indent=no](http://www.conabio.gob.mx/informacion/metadatos/gis/rbiog4mgw.xml?_httpcache=yes&_xsl=/db/metadatos/xsl/fgdc_html.xsl&_indent=no).
- Corliss, J.O. 1979. *The ciliated Protozoa. Characterization, classification and guide to the literature*. Pergamon Press, Oxford. 455 pp.
- Corliss, J.O. 1994. An interim utilitarian hierarchical classification and characterization of the Protists. *Acta Protozoologica*, 33: 1-51.
- Corliss, J.O. 2002a. A salute to Antony van Leeuwenhoek of Delft, most versatile century founding father of Protistology. *Protist*, 153: 177-190.
- Corliss, J.O. 2002b. Biodiversity and biocomplexity of the Protists and an overview of their significant roles in maintenance of our biosphere. *Acta Protozoologica*, 41: 199-219.
- Corliss, J.O. 2004. Why the world needs protists!. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 51(1): 8-22.
- Curds C.R. 1969. *An Illustrated Key to the British Freshwater Ciliated Protozoa Commonly Found in Activated Sludge*. Water Pollution Research Technical Paper No 12. Londres. 59 pp.
- Curds, C.R. 1975. A guide to the species of the genus *Euplotes* (Hypotrichida, Ciliata). *Bulletin of the British Museum (Natural History)*, 28(1): 3-61.
- Decamp, O. y A. Warren. 1998. Bacterivory in ciliates isolated from constructed wetlands (reed beds) used for wastewater treatment. *Water Research*, 32 (7): 1989-1996.

- Durán-Ramírez, C.A. 2010. Microorganismos asociados a *Tillandsia heterophylla* E. Morren (Bromeliaceae) en tres ambientes contrastantes del centro de Veracruz, México. Tesis Maestría, Instituto de Ecología, 162 pp.
- Espinasa, P.R. 1994. Origen y distribución de las cavernas de México. *Ciencias*, 36: 45-49.
- Esteban, G.F. y B. Finlay. 2003. Cryptic freshwater ciliates in a hypersaline lagoon. *Protist*, 154 (3-4): 411-418
- Fenchel, T. y B.J. Finlay, 2003. Is microbial diversity fundamentally different from biodiversity of larger animals and plants? *European Journal of Protistology*, 39: 486-490.
- Finlay, B.J., S.C. Maberly y G.F. Esteban. 1996. Spectacular abundance of ciliates in anoxic pond water: contribution of symbiont photosynthesis to host respiratory oxygen requirements. *FEMS Microbiology Ecology*, 20: 229-235.
- Finlay, B.J., G.F. Esteban y T. Fenchel. 1998. Protozoan diversity: Converging estimates of global number of free-living ciliate species. *Protist*, 149: 29-37.
- Fernández-Galiano, D. 1976. Silver impregnation of Ciliated Protozoa: procedure yielding good results with the pyridinated silver carbonate method. *Transactions of the American Microscopical Society*, 95: 557-600.
- Fernandez-Leborans, G. 2009. A review of recently described epibioses of ciliate Protozoa on Crustacea. *Crustaceana*, 82 (2): 167-189.
- Foissner, W. 1991. Basic light and scanning electron microscopic methods for taxonomic studies of ciliated protozoa. *European Journal of Protistology*, 27: 313-330.
- Foissner, W. 1993. *Colpodea (Ciliophora)*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. 798 pp.
- Foissner, W. 1999. Soil protozoa as bioindicators: pros and cons, methods, diversity, representative examples. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 74 (1-3):95-112.
- Foissner, W. 2008. Protist diversity and distribution: some basic considerations. *Biodiversity and Conservation*, 17: 235-242.
- Foissner, W., S. Agatha y H. Berger. 2002. Soil ciliates (Protozoa, Ciliophora) from Namibia (Southwest Africa), with emphasis on two contrasting environments, the Etosha Region and the Namib Desert. *Denisia*, 5: 1-1459.
- Foissner, W., H. Berger y F. Kohmann. 1992. *Taxonomische und ökologische revision der Ciliaten des saprobiensystems. Band II. Peritrichia, Heterotrichida, Odontostomatida*. Informationsberichte des Bayer, Landesamtes für Wasserwirtschaft. Heft 5/92. 502 pp.
- Foissner, W., H. Berger y F. Kohmann. 1994. *Taxonomische und ökologische revision der*

- Ciliaten des saprobiensystems. Band III. Hymenostomata, Prostomatida, Nassulida.* Informationsberichte des Bayer, Landesamtes für Wasserwirtschaft. Heft I/94. 548 pp.
- Foissner, W., H. Blatterer, H. Berger y F. Kohmann. 1991. *Taxonomische und ökologische revision der Ciliaten des saprobiensystems. Band I. Cyrtophorida, Oligotrichida, Hypotrichida, Colpodea.* Informationsberichte des Bayer, Landesamtes für Wasserwirtschaft. Heft 1/91. 478 pp.
- García-Pérez, L.M. 2001. Cantidad de bacterias y protozoarios en islas de recursos de un suelo conservado y uno degradado en Zapotitlán de las Salinas, Puebla. Tesis Profesional ENEP. Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. 72 p.
- Ginés, A., J. Hernández, J. Ginés y A. Pol. 1987. Observaciones sobre la concentración de dióxido de carbono en la atmósfera de la cova de Les Rodes (Pollença, Mallorca). *Endins*, 13: 27-38.
- Golemansky, V. y L. Bonnet. 1994. *Protozoa.* En: Juberthie, C. y V. Decu (eds.) *Encyclopaedia Bioespeologica.* Société de Biospéologie, Francia. pp. 23-33.
- González-Labastida, M.E. 1995. Estudio de la variación espacial y temporal de los ciliados planctónicos de los lagos de Chapultepec, D.F. Tesis Profesional ENEP. Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. 56 p.
- Google Earth. 2010. <http://www.google.es/intl/es/earth/index.html>
- Gutiérrez, J.C., A. Martín-González y T. Matsusaka. 1990. Towards a generalized model of encystment (cryptobiosis) in ciliates: a review and a hypothesis. *BioSystems*, 24: 17-24.
- Hammer, Ø., D.A.T. Harper y P. D. Ryan. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4 (1): 1-9.
- Herrera, T. y M. Ulloa. 1998. *El reino de los hongos. Micología básica y aplicada.* Fondo de Cultura Económica, México. 552 pp.
- Hill, E.F., E.B. Small y T.M. Illife. 1986. *Euplotes iliffei* n. sp.: A new species of *Euplotes* (Ciliophora, Hypotrichida) for the marine caves of Bermuda. *Journal of the Washington Academy of Sciences*, 76(4): 244-249.
- Hoffmann, A., V. J. G. Palacios y J. B. Morales-Malacara. 1986. *Manual de Bioespeleología.* UNAM, México. 274 pp.
- Ibarra-Hernández, M.E. 1992. Análisis protozoológico (protozoarios ciliados libre-nadadores) en una laguna de estabilización facultativa. Tesis Profesional ENEP. Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México, 95 p.

- IBM® SPSS® Statistics Standar 18. <http://www.spss.com/software/statistics/>.
- Integrated Taxonomic Information System. <http://www.itis.gov/index.html>.
- Kahl, A. 1930-1935. *Urtiere oder Protozoa. I. Wimpertiere oder Ciliata (Infusoria) eine Bearbeitung der freilebenden und ectocommensalen Infusorien der Erde, unter Ausschluss der marinen Tintinnidae*. En: Dahl, F. (Ed.). Die Tierwelt Deutschlands, G. Fischer, Jena. Teil 18, 21, 25, 30.
- Kreutz, M. y W. Foissner. 2006. The sphagnum ponds of Simmelried in Germany: a biodiversity hot-spot for microscopic organisms. *Protozoological Monographs*, 3: 1-288.
- Kudo, R.R. 1971. *Protozoology*. Charles C. Thomas Pub., Springfield, Illinois. 1174 pp.
- Lee, R.E. 2008. *Phycology*. Cambridge University Press, Cambridge. 547 pp.
- Lee, J.J., S. H. Hutner y E. C. Bovee. 1985. *An illustrated guide to the Protozoa*. Allen Press, Lawrence, Kansas. 629 pp.
- Lee, J. J., G. F. Leedale y P. Bradbury. 2000. *An illustrated guide to the Protozoa*. Vol. 1 y 2. Allen Press, Lawrence, Kansas. 1432 pp.
- Lindley, J.A. 1978. Continuous plankton records: the occurrence of apostome ciliates (Protozoa) on Euphausiacea in the North Atlantic Ocean and North Sea. *Marine Biology*, 46: 131-136.
- López-Mejía, M. 2008. Sistemática de los acociles de México. En: Álvarez, F. y G.A. Rodríguez-Almaraz (eds.). *Crustáceos de México, estado actual de su conocimiento*. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey. pp. 115-166.
- López-Ochoterena, E. y M. Madrazo-Garibay. 1989. Protozoarios ciliados de México. XXXIII. Estudio biológico de algunas especies de las subclases Suctoria y Peritrichia asociadas al hidrozooario *Cordylophora caspia* (Pallas) en la Laguna de Mandinga, Veracruz. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural*, 40: 65-69.
- Lugo-Vázquez, A. 1993. Estudio de las comunidades litorales de protozoarios en seis lagos cráter del estado de Puebla, mediante el método de colonización de sustratos artificiales. Tesis Maestría Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, 76 p.
- Lugo, A., M.R. Sánchez, M.E. González y J. Alcocer. 1988. Temporal patterns of planktonic ciliates abundance in three eutrophic urban lakes. *Verhandlungen Internationale Vereinigung Limnologie*, 26: 1626-1630.
- Lugo, A., J. Alcocer, M.R. Sánchez y E. Escobar. 1998. Littoral protozoan assemblages from two Mexican hyposaline lakes. *Hydrobiologia*, 381: 9-13.

- Luna-Pabello, V.M., M.A. Aladro-Lubel y C. Durán de Bazúa. 1996. Biomonitoring of wastewaters in treatment plants using ciliates. *Journal of Industrial Microbiology*, 17: 62-68.
- Lynn, D.H. 2008. *The Ciliated Protozoa. Characterization, Classification, and Guide to the Literature*. Springer Science, Guelph. 605 pp.
- Madrazo-Garibay, M. y E. López-Ochoterena. 1986. Protozoarios ciliados de México. XXXVIII. Características morfológicas y taxonómicas de veinticinco especies de la Laguna Pom, Campeche, México. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México*, 13: 29-38.
- Magurran, A. E. 2006. *Measuring biological diversity*. Blackwell Publishing, Oxford. 256 pp.
- Margulis, L. y K.V. Schwartz. 1985. *Cinco reinos. Guía ilustrada de los phyla de la vida en la Tierra*. Editorial Labor, Barcelona. 335 pp.
- Manzanilla, L. 1994. Las cuevas en el mundo mesoamericano. *Ciencias*, 36: 58-66.
- Mariño-Pérez, R. 2009. Estudio taxonómico de los ciliados epibiontes de hemípteros acuáticos de la laguna de Tecocomulco, Hidalgo, México. Tesis maestría, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Mariño-Pérez, R. y R. Mayén-Estrada. 2009. Epibiotic relationship between two species of suctorians (Protozoa: Suctoria) and *Corisella edulis* (Heteroptera: Corixidae). *Aquatic Insects*, 31(3): 235-246.
- Mariño-Pérez, R., I. Dovgal y R. Mayén-Estrada. 2011. New records of suctorians (Ciliophora: Suctoria) as epibionts of aquatic true bugs (Hemiptera: Prosorrhyncha: Nepomorpha) from two regions: Mexico and Eastern Europe. *Zootaxa*, 2798: 48-60.
- Mariño-Pérez, R., R. Mayén-Estrada e I.V. Dovgal. 2010. *Periacineta mexicana* n. sp. (Ciliophora, Suctoria, Discophryida), epizoic on mexican backswimmers of the genus *Buenoa* (Insecta, Hemiptera, Notonectidae). *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 57(5): 435-443.
- Martin, J. W. y Davis, G.E. 2001. *An updated classification of the Recent Crustacea*. Natural History Museum of Los Angeles County, Science Series 39, Los Angeles. 124 pp.
- Matthes, D. y W. Guhl. 1973. Sesiile ciliaten der flusskrebese. *Protistologica*, 9 (4): 459 – 470.
- Matthes, D., W. Guhl y G. Haider. 1988. *Suctoria und Urceolariidae (Peritricha)*. Gustav Fischer Verlag, Protozoenfauna Band 7/1, Stuttgart. 309 pp.
- Mayén-Estrada, R. y M.A. Aladro-Lubel. 1998. Tres especies de suctores (Protozoa: Ciliophora) ectosimbiontes del acocil *Cambarellus patzcuarensis*. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoología*, 69(1): 1-12.

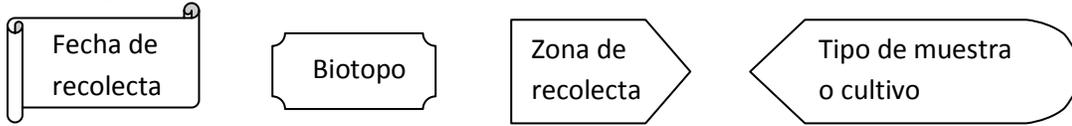
- Mayén-Estrada, R. y M.A. Aladro-Lubel. 2004. First record of *Conidophrys pilisuctor* (Ciliophora: Pilisuctorida) as ectosymbiont of *Hyallela azteca* from Mexico. *Hydrobiologia*, 529: 19-26.
- Mejía-Ortiz, L.M. 2008. Adaptaciones de los crustáceos a la vida subterránea. En: Álvarez, F. y G.A. Rodríguez-Almaraz (eds.). *Crustáceos de México, estado actual de su conocimiento*. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey. pp. 419-458.
- Mendivil, M.A. y del Campo, D.V.J. 2006. Calidad del aire interior en los Centros de Educación Infantil del País Vasco. *El Instalador*, 427: 34 – 42.
- Mieczan, T. 2009. Ciliates in *Sphagnum* peatlands: vertical micro-distribution, and relationships of species assemblages with environmental parameters. *Zoological Studies*, 48 (1): 33-48.
- Molina-Garza, Z. J. 1989. Ciliados epibiontes (Protozoa) en *Procambarus clarkii* (Crustacea: Cambaridae) procedentes del centro de investigación y producción acuícola Salinillas, Municipio de Anáhuac, Nuevo León. Tesis Profesional Universidad Autónoma de Nuevo León. 50 p.
- Nomdedeu, O.V. y E. López-Ochoterena. 1988. Protozoarios ciliados de México XXXII. Estudio ecológico de algunas especies para estimar el grado de contaminación del Río la Magdalena, México, D.F. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología*, Universidad Nacional Autónoma de México, 15 (1): 229-236.
- Osorio-Tafall, B.F. 1943. Observaciones sobre la fauna acuática de las cuevas de la región de Valles, San Luis Potosí (México). *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural*, 4(1-2): 43-71.
- Palacios-Vargas, J.G. 2006. Quelques actualités sur la biospéléologie de Mexique. *Mundos Subterráneos*, 17:1-16.
- Palaeontological Statistics Software®. <http://folk.uio.no/ohammer/past/>
- Reddell, J. R. 1981. A review of the cavernicole fauna of Mexico, Guatemala and Belize. *Bulletin of the Texas Memorial Museum*, 27: 69-70.
- Rico-Ferrat, G. 1990. Identificación de los protozoarios que habitan en la hojarasca de un bosque mesófilo en Gómez Farías, Tamaulipas, México. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural*, 41: 33-36.
- Rico-Ferrat, G. y E. López-Ochoterena. 1986. Protozoarios ciliados de México XXIII. Frecuencia de algunas especies que habitan en el drenaje doméstico (Complemento). *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural*, 38: 77-79.

- Rico-Ferrat, G., G. Vilchis-Canales y E. López-Ochoterena. 1987. Los protozoarios del suelo en la Reserva de la Biósfera de Mapimí, Durango. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural*, 39: 21-26.
- Rivera, F., F. Castro, G. Moreno, A. Lugo, E. Gallegos y M. Norouzian. 1988. Protozoa of a rotating biological contactor treatment plant in Mexico. *Water, Air and Soil Pollution*, 42: 281-301.
- Rodríguez-Almaraz, G.A. y R. Muñiz-Martínez. 2008. Conocimiento de los acociles y langostinos del noreste de México: amenazas y propuestas de conservación. En: Álvarez, F. y G.A. Rodríguez-Almaraz (eds.). *Crustáceos de México, estado actual de su conocimiento*. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey. pp. 419-458.
- Sánchez-Rodríguez, M.R. 1994. Colonización de sustratos artificiales por protozoos ciliados como un método de evaluación de la eficiencia de depuración de estanques de estabilización. Tesis doctorado Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. 126 p.
- Scamardella, J.M. 1999. Not plants or animals: a brief history of the origin of Kingdoms Protozoa, Protista and Protoctista. *International Microbiology*, 2: 207-216.
- SEGOB. 2009. *Enciclopedia de los municipios de México*. [http://www.desdelocal.gob.mx/wb/ELOCAL/ELOC\\_Enciclopedia](http://www.desdelocal.gob.mx/wb/ELOCAL/ELOC_Enciclopedia)
- Sigala-Regalado, I. 2008. Registro protozoológico en cinco biotopos de la cueva de los Riscos, Querétaro, México. Tesis Profesional, Facultad de Ciencias, UNAM, México. 110 pp.
- Sigala-Regalado, I. y R. Mayén-Estrada. 2008. Diversidad y aspectos ecológicos de protozoos en el Sistema Xalltégoxtli I, Puebla, México. *Mundos Subterráneos*, 18-19:1-7.
- Sigala-Regalado, I., R. Mayén-Estrada y J.B., Morales-Malacara. Spatial and temporal distribution of protozoa at Los Riscos cave, Querétaro, México. *Journal of Cave and Karst Studies*. *En prensa*.
- Silva-Neto, I.D. 2000. Improvement of silver impregnation technique (Protargol) to obtain morphological features of protists ciliates, flagellates and opalينات. *Revista Brasileira de Biologia*, 60 (3): 451-459.
- Siméon, R. 1988. *Diccionario de la lengua náhuatl o mexicana*. Editorial Siglo Veintiuno XXI, México. 783 pp.
- Sleigh, M. 1979. *Biología de los protozoos*. H. Blume Ed., Madrid. 400 pp.

- Trueba, F.J. 1978. A taxonomic revision of the peritrich ciliate genus *Pyxicola*. *Beaufortia, Series of miscellaneous publications, Institute of taxonomic zoology (Zoological Museum)*, 341 (27): 219- 243.
- Wahl, M. 1989. Marine epibiosis. I. Fouling and antifouling: some basic aspects. *Marine Ecology Progress Series*, 58: 175-189.
- Wahl, M. y O. Mark. 1999. The predominantly facultative nature of epibiosis: experimental and observational evidence. *Marine Ecology Progress Series*, 187: 59-66.
- Warren, A. 1986. A revision of the genus *Vorticella* (Ciliophora: Peritrichida). *Bulletin of the British Museum of Natural History (Zoology)*, 50(1): 1-57.
- Whittaker, R.H. 1969. New concepts of kingdoms of organisms. *Science*, 163: 150-160.
- Woese, C.R., Kandler, O. y Wheelis, M. L. 1990. Towards a natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87: 4576-4579.
- Wu, C.H.I. y R.C. Curds. 1979. A guide to the species of the genus *Aspidisca*. *Bulletin of the British Museum (Natural History). Zoology*, 36(1): 1-34.
- Vallesi, A., C. Alimenti, G. Di Giuseppe, F. Dini, B. Pedrini, K. Wüthrich y P. Lupori. 2010. The water-born protein pheromones of the polar protozoan ciliate, *Euplotes nobilii*. Coding genes and molecular structures. *Polar Science*, 4(2): 237-244.
- Vázquez-García, L. y A. Villalobos. 1987. *Zoología del Phylum Arthropoda*. Nueva Editorial Interamericana, México. 381 pp.
- Vd'áčný, P. y E. Tirjaková. 2006. First records of soil ciliates (Protozoa, Ciliophora) from classes Prostomea, Nassophorea, Spirotrichea, and Colpodea in Slovakia. *Biologia Bratislava, Section Zoology*, 61 (5): 509-516.
- Villalobos-Hiriart, J.L. y F. Álvarez. 2008. Los cangrejos de agua dulce de la familia Pseudothelphusidae (Decapoda: Brachyura: Eubrachyura) de México, con un apéndice de las especies citadas para América hasta 2006. En: Álvarez, F. y G.A. Rodríguez-Almaraz (eds.). *Crustáceos de México, estado actual de su conocimiento*. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey. pp. 239-300.

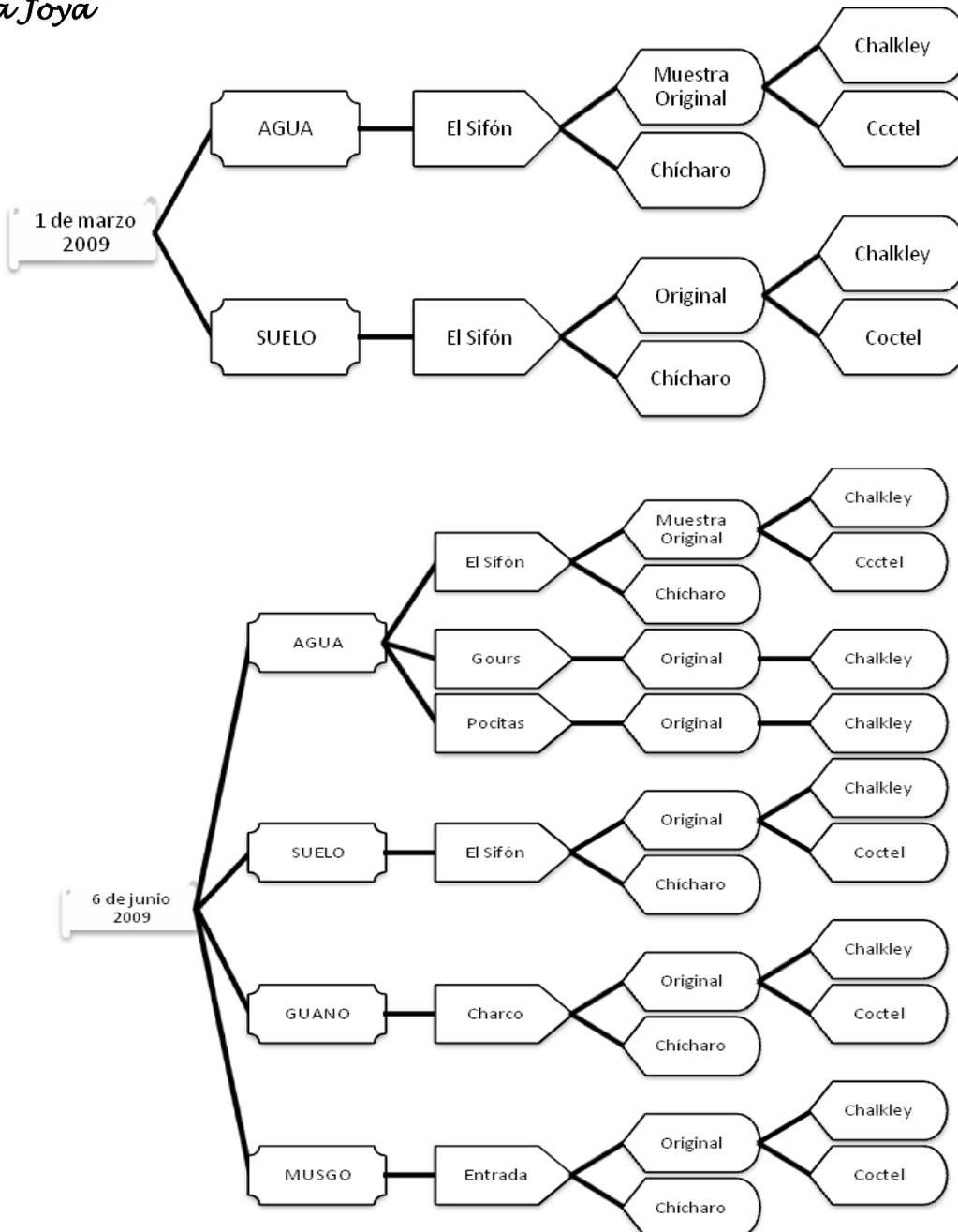
# ANEXO A. Muestras recolectadas en cada cueva.

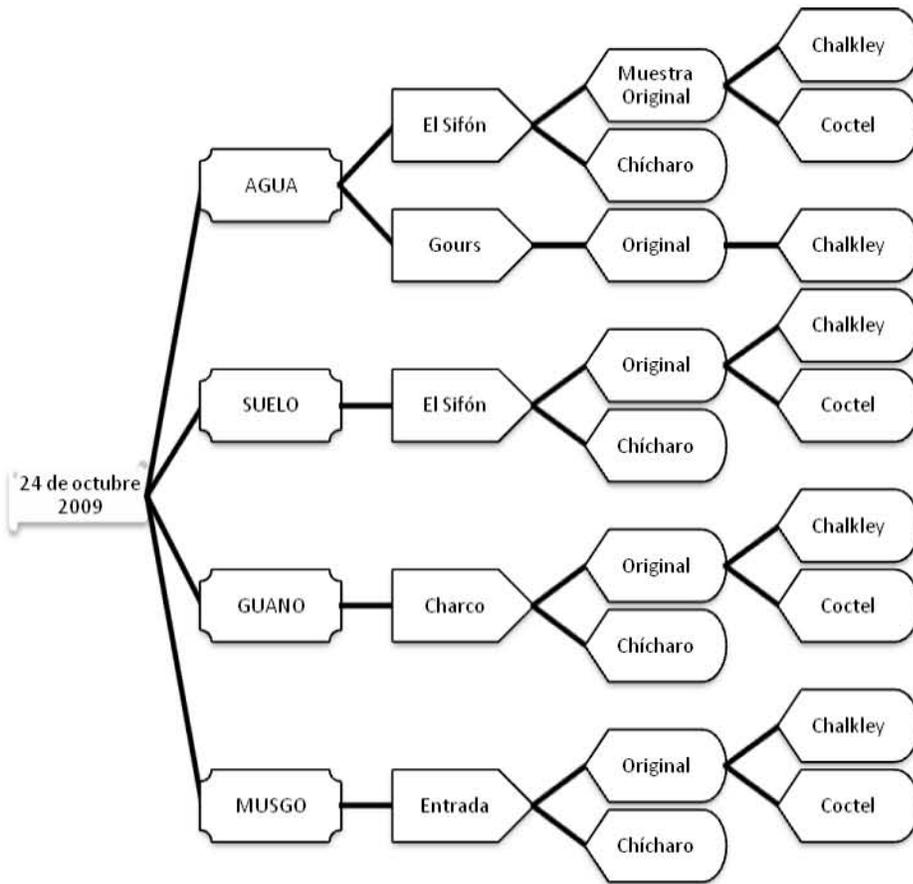
Simbología:



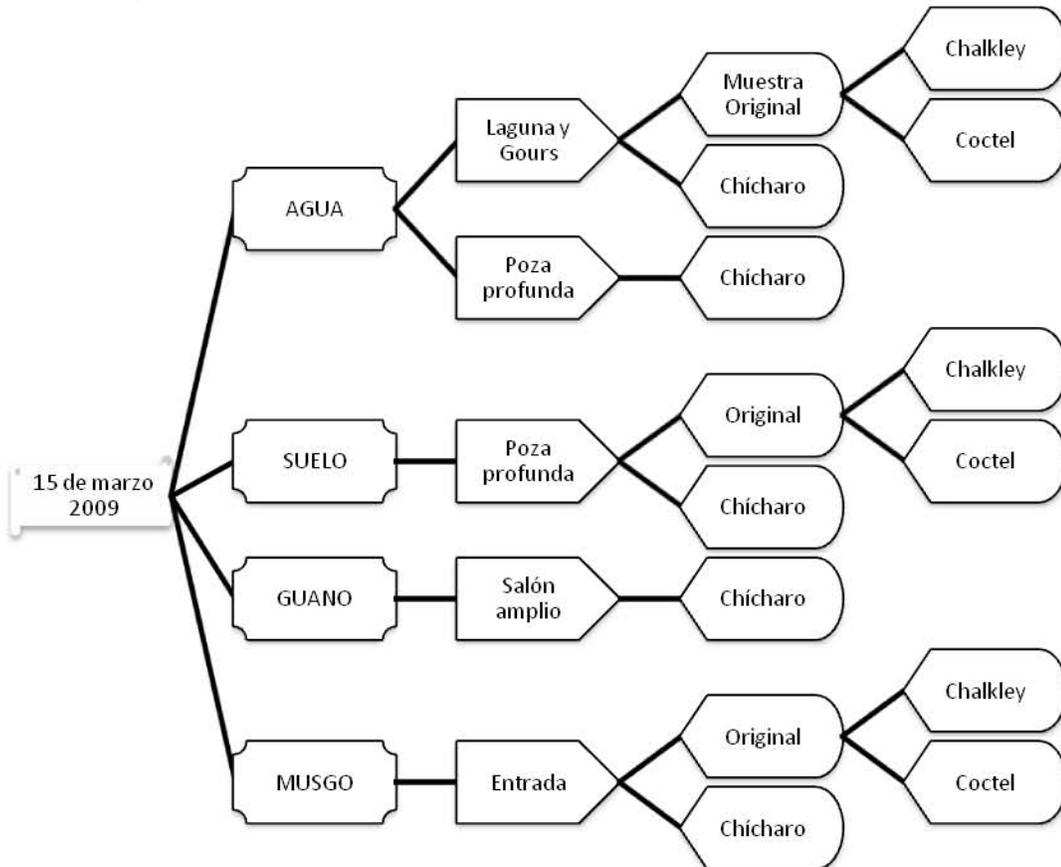
NOTA: La penúltima columna del esquema corresponde a las muestras tomadas en campo. La última columna corresponde a los cultivos realizados en el laboratorio.

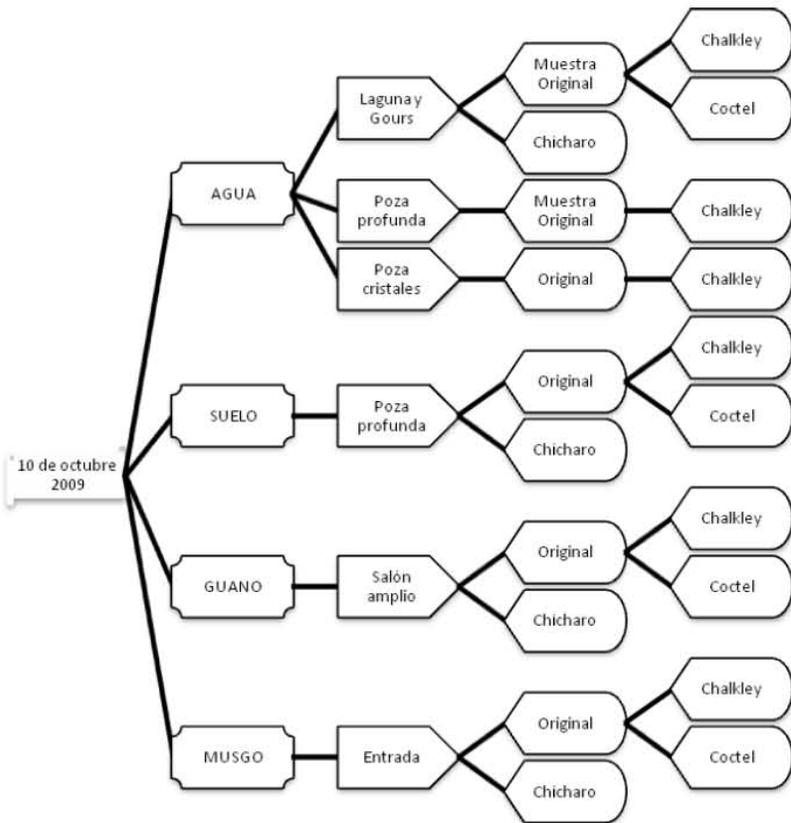
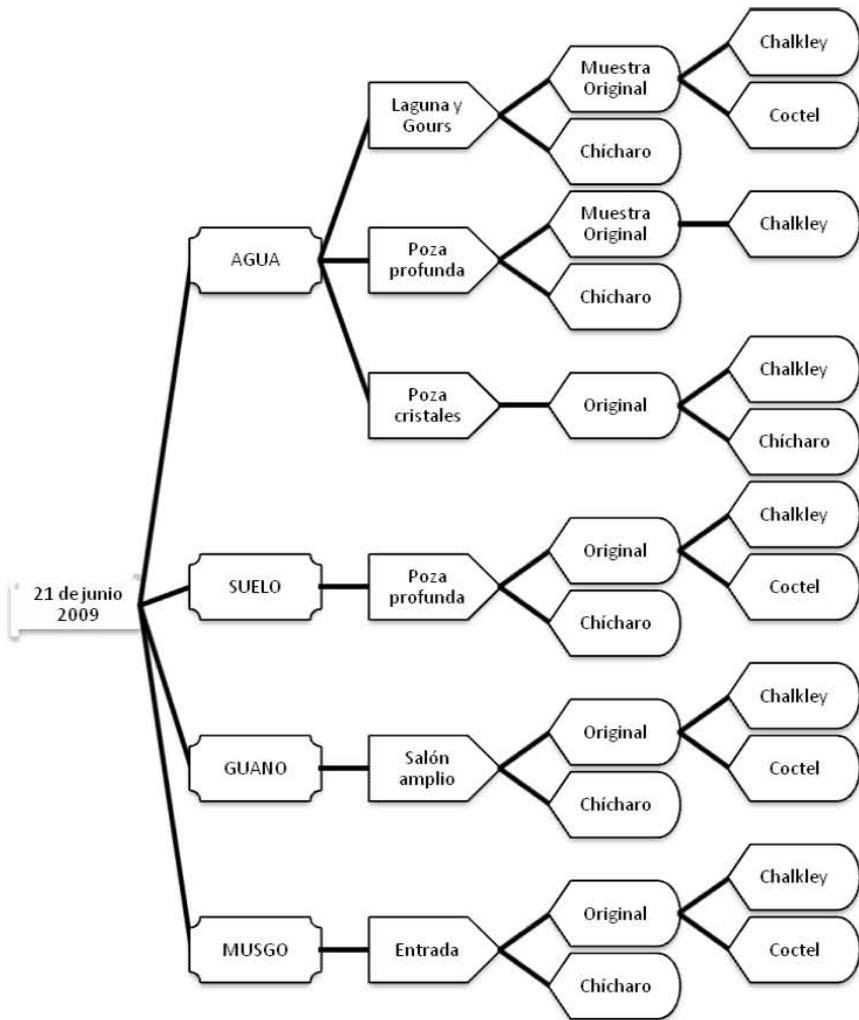
## La Joya



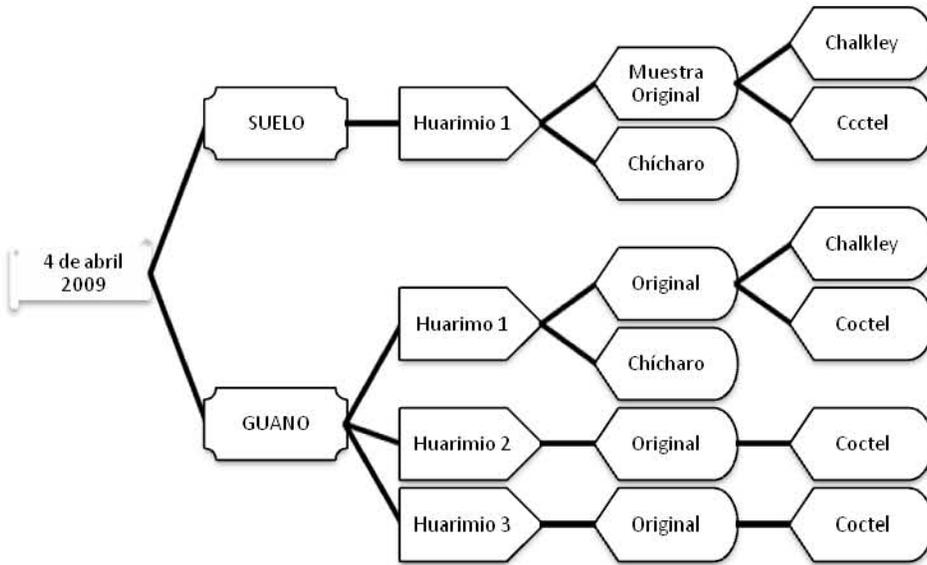


*Karmidas*

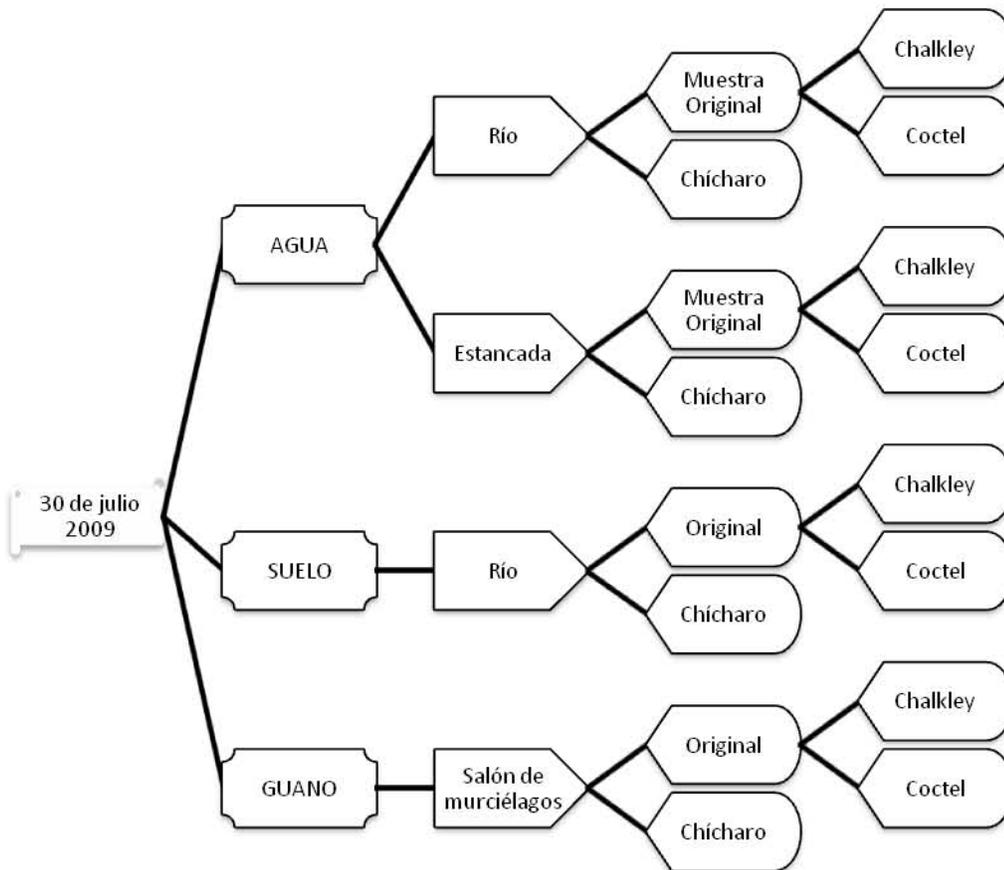


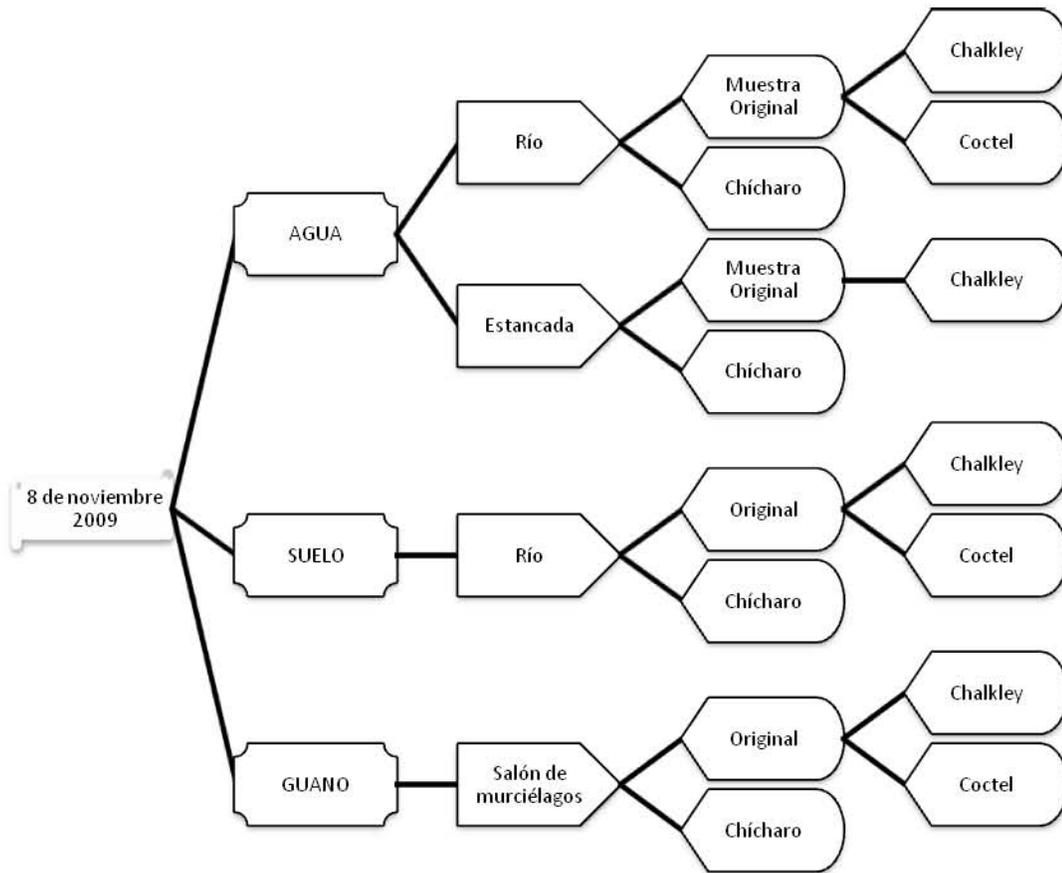


Huarimio

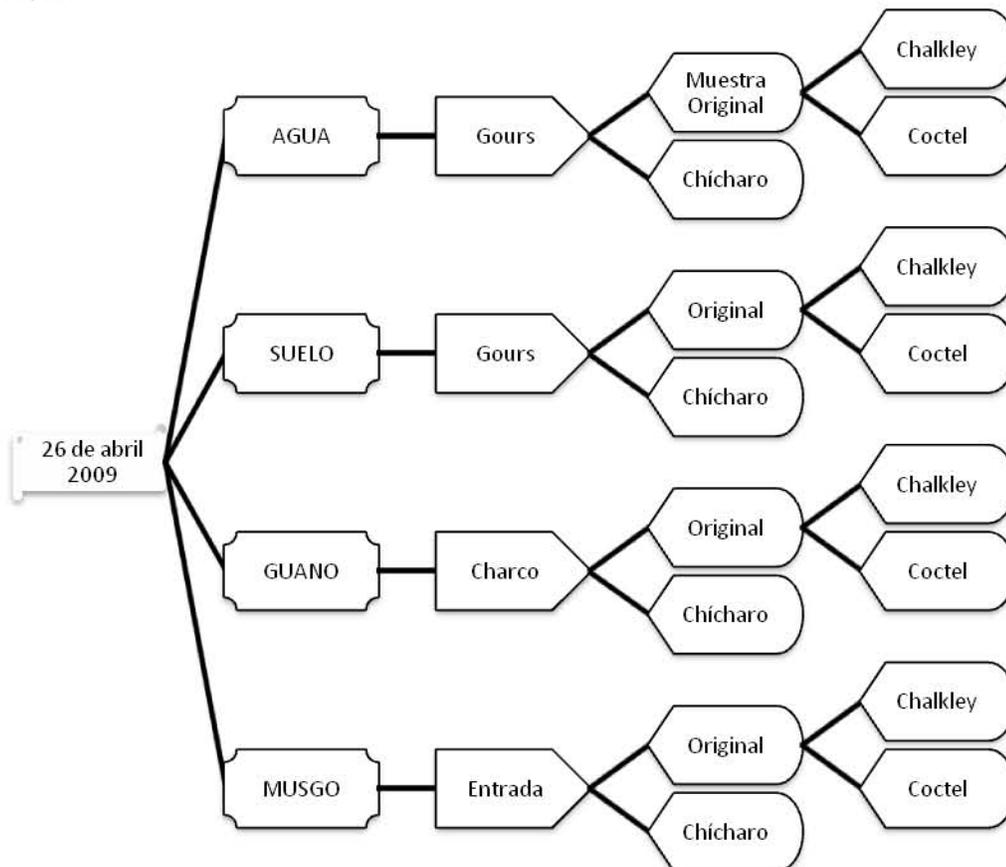


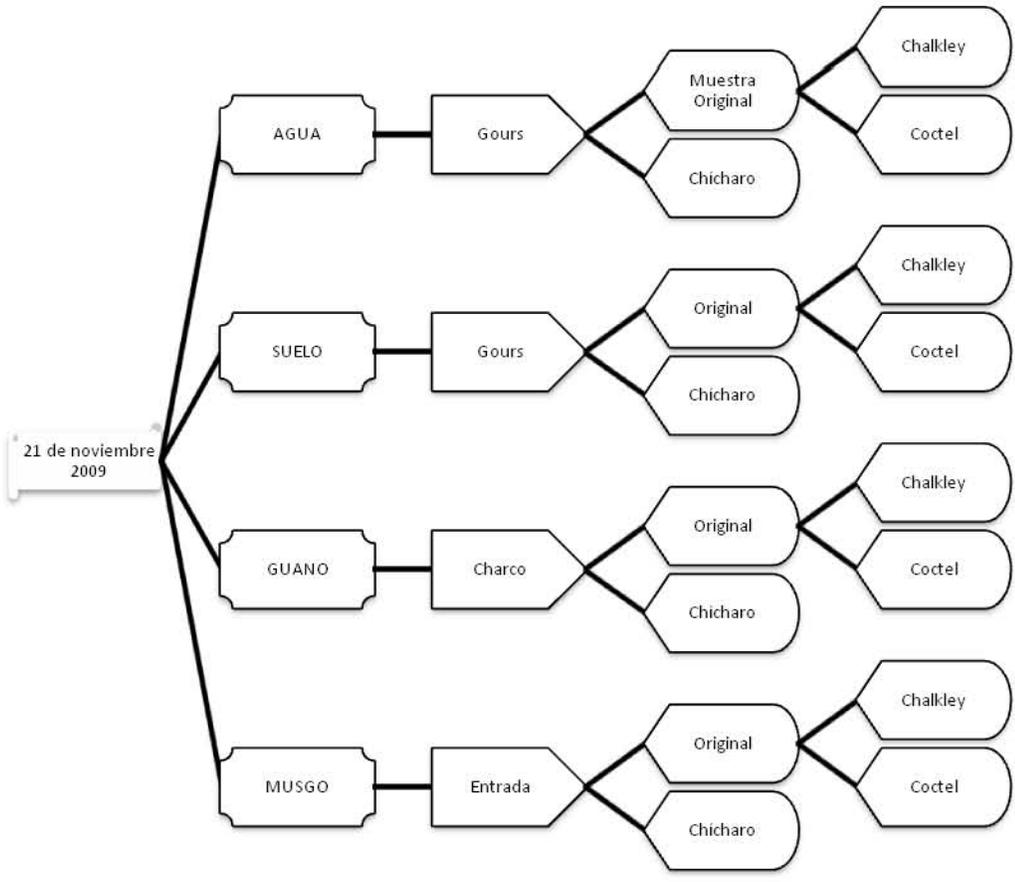
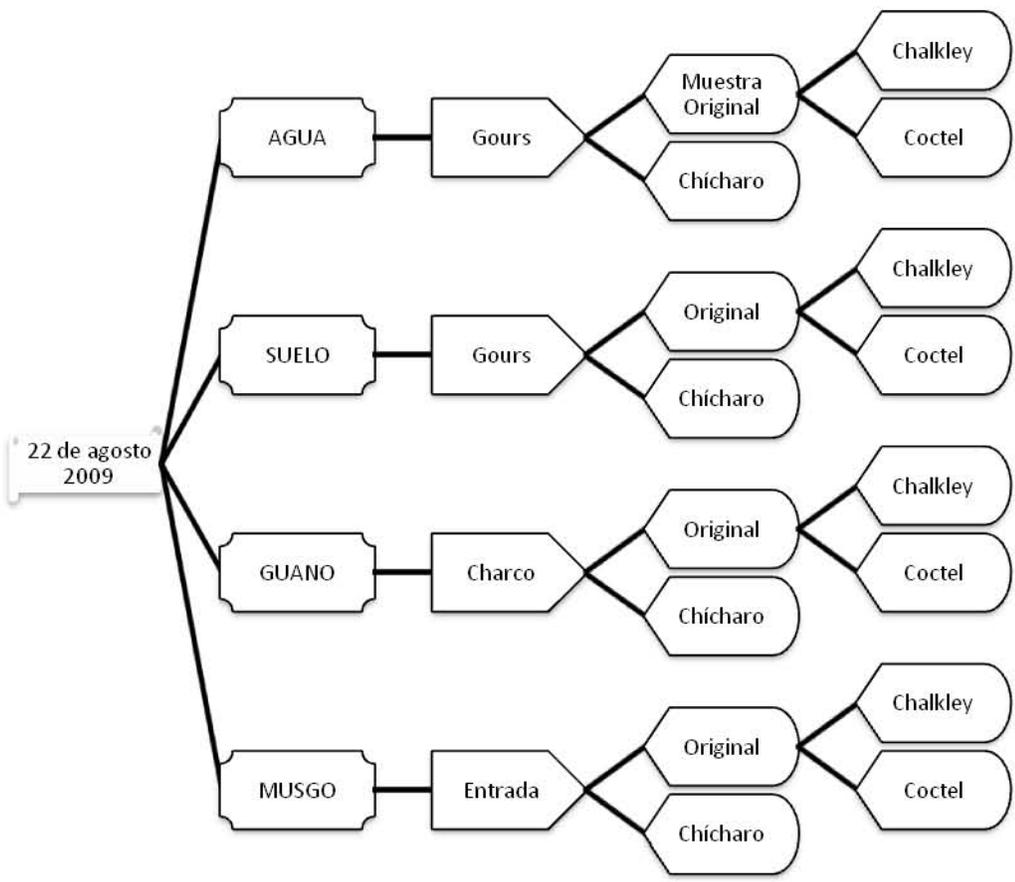
Tziranda





*Galicia*





## ANEXO B. Condiciones ambientales de cada cueva

### La Joya

	1° RECOLECTA 1 de marzo		2° RECOLECTA 6 de junio						3° RECOLECTA 24 de octubre				
<b>Zona de recolecta</b>	El Sifón	El Sifón	El Sifon	El Sifón	Gours	Pocitas	Charco	Entrada	El Sifon	El Sifón	Gours	Charco	Entrada
<b>Hora de medición</b>	20:32	20:32	14:07	14:07	15:40	17:00	18:00	19:40	-	-	-	-	17:15
<b>Temperatura*</b>	<b>AMBIENTAL</b> 23.7 °C		22.8 °C	22.8 °C	22.2 °C	18.5 °C	17.2 °C	17.7 °C	22.4 °C	22.4 °C	22 °C	17.2 °C	17 °C
<b>Humedad*</b>	84.30%	84.30%	95.50%	95.50%	95.50%	93.30%	97.80%	99.90%	90.00%	90.00%	100.00%	100.00%	100.00%
<b>CO<sub>2</sub>*</b>	53.8 ppm	53.8 ppm	69.7 ppm	69.7 ppm	470 ppm	351 ppm	309 ppm	287 ppm	SOBRE PASA	SOBRE PASA	SOBRE PASA	296 ppm	312 ppm
	<b>BIOTOPO</b>												
<b>Temperatura*</b>	Agua	Suelo	Agua	Suelo	Agua	Agua	Guano	Musgo	Agua	Suelo	Agua	Guano	Musgo
<b>Humedad*</b>	21.4 °C	23 °C	22.8 °C	22.7 °C	22.6 °C	19.2 °C	17.7 °C	17.9 °C	22.5 °C	23 °C	21.5 °C	16.6 °C	17.2 °C
<b>CO<sub>2</sub>*</b>	100%	93.10%	87%	91.70%	91%	84.40%	99%	100%	99%	99.50%	100%	100%	100%
<b>pH</b>	48.4 ppm	48.6 ppm	62.4 ppm	61.3 ppm	470 ppm	351 ppm	319 ppm	235 ppm	SOBRE PASA	SOBRE PASA	SOBRE PASA	260 ppm	254 ppm
<b>O2 disuelto**</b>	7	-	7	-	-	-	-	-	7.5	-	7	-	-
<b>Temperatura**</b>	5.33 m/l	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	22.1 °C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

\* Medición con calibrador atmosférico

\*\* Medición con oxímetro

# Karmidas

	1° RECOLECTA 15 de marzo					2° RECOLECTA 21 de junio					
Zona de recolecta	Laguna – gours	Poza profunda	Junto a poza profunda	Sobre piedra junto al gours	Rocas- entrada	Laguna – gours	Poza Profunda	Cristales	Junto a poza profunda	Salón amplio	Rocas- entrada
Hora de medición	8:19 – 8:35	08:25	08:25	08:35	07:50	-	10:20	10:13	10:20	10:32	10:48
<b>Temperatura*</b>	<b>AMBIENTAL</b>										
	21.4 °C - 22.5 °C	21.7 °C	21.7 °C	22.5 °C	18.6 °C	22.5 °C - 22.7 °C	22.2 °C	22.6 °C	22.2 °C	22 °C	21.3 °C
	99% - 96.2%	100.0%	100.0%	96.2%	94.4%	94.2% - 90.9%	99.5%	100.0%	99.5%	100.0%	97.5%
<b>Humedad*</b>	400 – 364 ppm	370 ppm	370 ppm	364 ppm	283 ppm	5290 - 5190 ppm	SOBRE PASA	SOBRE PASA	SOBRE PASA	SOBRE PASA	2830 ppm
<b>CO<sub>2</sub>*</b>	<b>BIOTOPO</b>										
	Agua	Agua	Suelo	Guano	Musgo	Agua	Agua	Agua	Suelo	Guano	Musgo
<b>Temperatura*</b>	21.6 °C - 22.7 °C	21.8 °C	21.8 °C	22.1 °C	18.9 °C	22.7 °C - 22.9 °C	26.6 °C	22.6 °C	22.6 °C	22.3 °C	21.3 °C
<b>Humedad*</b>	100% - 97%	100%	100%	97.20%	86.60%	91.9% - 86.9%	99.50%	100%	100%	99.80%	99.80%
<b>CO<sub>2</sub>*</b>	403 – 370 ppm	430 ppm	375 ppm	355 ppm	210 ppm	5232 - 5210 ppm	SOBRE PASA	SOBRE PASA	SOBRE PASA	5498 ppm	3345 ppm
<b>pH</b>						7					

\* Medición con calibrador atmosférico

	<b>3° RECOLECTA</b>					
	<b>10 de octubre</b>					
<b>Zona de recolecta</b>	Laguna – gours	Poza Profunda	Cristales	Junto a poza profunda	Salón amplio	Rocas- entrada
<b>Hora de medición</b>	-	12:54	12:30	12:45	13:38	15:52
<b>AMBIENTAL</b>						
<b>Temperatura*</b>	22 °C - 22.5 °C	22 °C	23.9 °C	22 °C	22.2 °C	21.5 °C
<b>Humedad*</b>						
<b>CO<sub>2</sub>*</b>	4.9mg/l - 5.19 mg/l	5.66 mg/l	4.5 mg/l	5.66 mg/l	5.54 mg/l	5.35 mg/l
<b>BIOTOPO</b>						
	Agua	Agua	Agua	Suelo	Guano	Musgo
<b>Temperatura*</b>	-	-	-	-	-	-
<b>Humedad*</b>	-	-	-	-	-	-
<b>CO<sub>2</sub>*</b>	-	-	-	-	-	-
<b>pH</b>	-	7	7	-	-	-
<b>O2 disuelto**</b>	3.47 mg/l - 4.67 mg/l	5.07 mg/l	4.05 mg/l	-	-	-
<b>Temperatura**</b>	21.3°C - 21.6°C	21.2 °C	21.8 °C	-	-	-

\* Medición con calibrador atmosférico

\*\* Medición con oxímetro

## Huarimio

	1° RECOLECTA 4 de abril			
<b>Zona de recolecta</b>	Huarimio 1 al lado del túnel de murciélagos	Huarimio 1 en el túnel de murciélagos	Huarimio 2	Huarimio 3
<b>Hora de medición</b>	15:31	15:31	14:30	15:00
	<b>AMBIENTAL</b>			
<b>Temperatura*</b>	27.8 °C	27.8 °C	30.6 °C	27.6 °C
<b>Humedad*</b>	46.50%	46.50%	12.80%	40.90%
<b>CO<sub>2</sub>*</b>	3750 ppm	3750 ppm	296 ppm	211 ppm
	<b>BIOTOPO</b>			
	Suelo	Guano	Guano	Guano
<b>Temperatura*</b>	28.1 °C	27.9 °C	32.5 °C	30.1 °C
<b>Humedad*</b>	41%	48.8%	29.70%	34.50%
<b>CO<sub>2</sub>*</b>	1091 ppm	3750 ppm	220 ppm	212 ppm

\* Medición con calibrador atmosférico

# Tziranda

	2° RECOLECTA 30 de julio				3° RECOLECTA 8 de noviembre			
<b>Zona de recolecta</b>	Río	Río	Salón de murciélagos	Estancada	Río	Río	Salón de murciélagos	Estancada
<b>Hora de medición</b>	10:06	10:20	10:45	11:15	14:40	14:40	15:56	16:17
	<b>AMBIENTAL</b>							
<b>Temperatura*</b>	20 °C	21 °C	20.2 °C	18.3 °C	21.7 °C	21.7 °C	SOBRE PASA	SOBRE PASA
<b>Humedad*</b>	96.20%	96.20%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	21.30%	16.30%
<b>CO<sub>2</sub>*</b>	SOBRE PASA	SOBRE PASA	1000 ppm	580 ppm	SOBRE PASA	SOBRE PASA	2400 ppm	1100 ppm
	<b>BIOTOPO</b>							
	Agua	Suelo	Guano	Agua	Agua	Suelo	Guano	Agua
<b>Temperatura*</b>	19.8 °C	20.6 °C	20.4 °C	18.4 °C	22 °C	21.2 °C	34.7 °C	SOBRE PASA
<b>Humedad*</b>	90.2%	100.00%	100%	100.00%	99.3%	100.00%	38.4%	30.00%
<b>CO<sub>2</sub>*</b>	SOBRE PASA	SOBRE PASA	1049 ppm	598 ppm	SOBRE PASA	SOBRE PASA	592 ppm	SOBRE PASA
<b>pH</b>	7			6.5	7.5			7.5
<b>O<sub>2</sub> disuelto**</b>	5.26 - 5.29 mg/l			4.36 - 4.79 mg/l	1.53 mg/l			2.94 m/l
<b>Temperatura **</b>	20.5 °C			17.9 °C	19.5 °C			19.4 °C

\* Medición con calibrador atmosférico

\*\* Medición con oxímetro

*Galicia*

	1° RECOLECTA 26 de abril				2° RECOLECTA 22 de agosto				3° RECOLECTA 21 de noviembre			
<b>Zona de recolecta</b>	Gours	Antes del gours	Charco	Rocas entrada	Gours	Al lado del gours	Charco	Rocas entrada	Gours	Al lado del gours	Charco	Rocas entrada
<b>Hora de medición Entre 12 y 16 hrs</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15:10	15:28
	<b>AMBIENTAL</b>											
<b>Temperatura*</b>	22.6 °C	21.3 °C	20.4 °C	18.1 °C	21.4 °C	21.4 °C	19.5 °C	19.6 °C	19.3 °C	20.2 °C	19.5 °C	18.2 °C
<b>Humedad*</b>	81.10%	84.8%	88.80%	91.50%	87.30%	87.30%	100.00%	100.00%	91.30%	99.00%	100.00%	100.00%
<b>CO<sub>2</sub>*</b>	3680 ppm	3560 ppm	3300 ppm	-	4235 ppm	4235 ppm	1176 ppm	294 ppm	955 ppm	867 ppm	317 ppm	330 ppm
	<b>BIOTOPO</b>											
	Agua	Suelo	Guano	Musgo	Agua	Suelo	Guano	Musgo	Agua	Suelo	Guano	Musgo
<b>Temperatura*</b>	24 °C	20.9 °C	20.1 °C	18.5 °C	21.9 °C	20.8 °C	19.5 °C	19.1 °C	21.3 °C	20.2 °C	19.6 °C	18.2 °C
<b>Humedad*</b>	80%	83.6%	90.30%	93.10%	82.7%	91.50%	100.00%	100%	88.40%	100.00%	100.00%	100%
<b>CO<sub>2</sub>*</b>	3670 ppm	3589 ppm	3250 ppm	350 ppm	4310 ppm	4219 ppm	982 ppm	271 ppm	1190 ppm	985 ppm	310 ppm	203 ppm
<b>pH</b>	7				7				7.5			
<b>O2 disuelto**</b>	6.65 mg/l				7.87-10.67							
<b>Temperatura **</b>	20.5 °C											

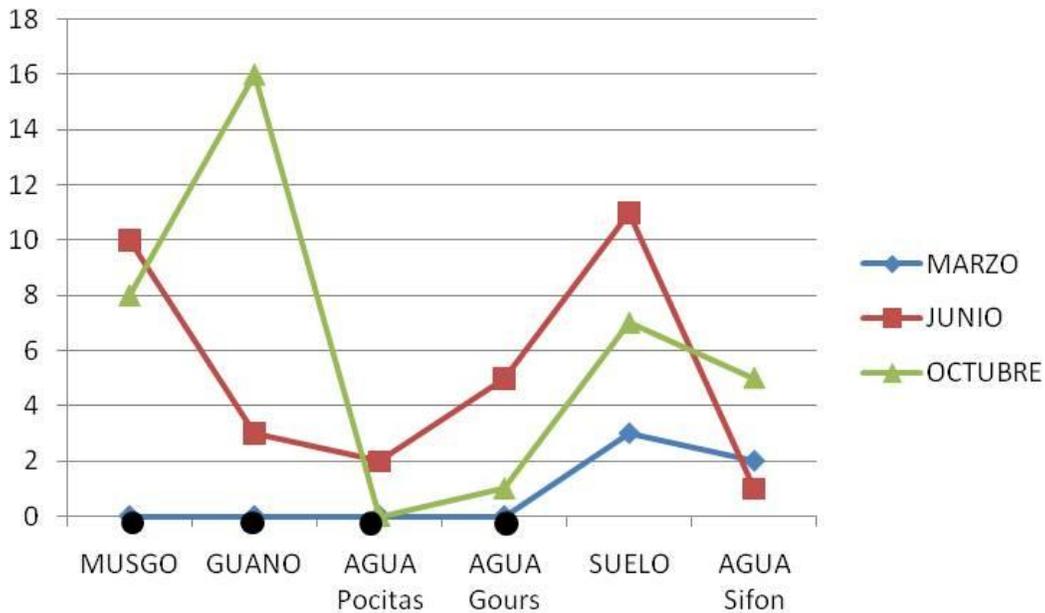
\* Medición con calibrador atmosférico

\*\* Medición con oxímetro

## ANEXO C. Distribución de las especies a lo largo de las cuevas.

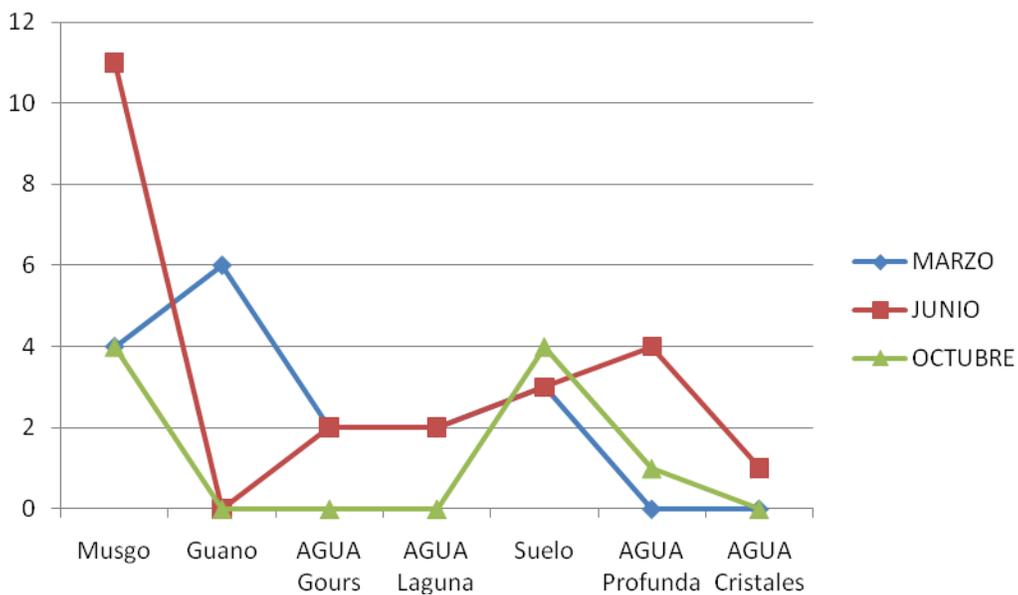
En las gráficas se muestra el número de especies registradas en cada punto específico de muestreo a lo largo de las cuevas. El orden de los biotopos corresponde a su ubicación dentro de la cueva (a la derecha se muestra el biotopo de la entrada y hasta la izquierda el biotopo muestreado en la zona más profunda de la cueva).

### La Joya

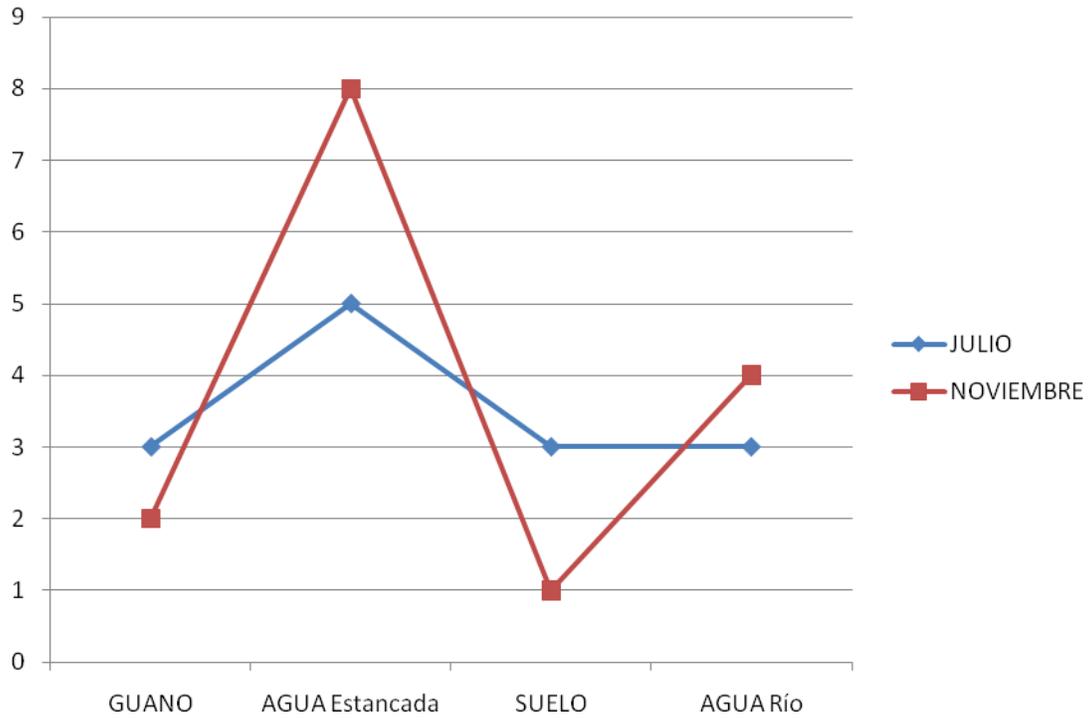


Los puntos negros representan los biotopos que no fueron muestreados en esa recolecta.

### Karmidas



### Tziranda



### Galicia

