

RIQUEZA DE ESPECIES DE AMEBAS DESNUDAS EN UN SUELO CONSERVADO Y UNO DEGRADADO EN ZAPOTITLÁN DE LAS SALINAS, PUEBLA

JOSÉ MAURICIO MARIANO HERRERA CUADRA

ASESOR: DR. SALVADOR RODRÍGUEZ ZARAGOZA

Laboratorio de Microbiología. Unidad de Biología, Tecnología y Prototipos. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México. Tlalnepantla, Estado de México. C.P. 54090, México

Entrega de Reporte: Octubre 8, 2001

RESUMEN. El suelo es un subsistema donde la actividad biológica y el reciclaje de nutrientes mantienen a los ecosistemas terrestres. Las amebas de vida libre (AVL) liberan los nutrientes fijados en las bacterias pero tienen especificidad en sus presas. Aunque las AVL están distribuidas mundialmente, la composición de especies de un sitio particular depende del entorno. En este estudio, se propuso determinar la riqueza de especies de amebas desnudas presentes en un suelo conservado y un suelo degradado de la subcuenca el Cutac en Zapotitlán de las Salinas, Puebla. En el suelo conservado se han identificado 6 especies de *Acanthamoeba*, una de *Vahlkampfia* y 2 de *Echinamoeba*; mientras que en el suelo degradado solo se han identificado 2 especies de *Acanthamoeba*, una de *Platyamoeba* y una de *Vahlkampfia*. A pesar de la tensión existente en los suelos de los ambientes semiáridos, estos proporcionan los microambientes necesarios para el desarrollo de diferentes especies de amebas desnudas.

PALABRAS CLAVE: Amebas de vida libre o AVL, ambientes semiáridos, subsistema edáfico.

INTRODUCCIÓN

El suelo es un subsistema altamente dinámico, en donde se lleva a cabo la actividad biológica y el ciclamiento de los nutrientes, manteniendo a los ecosistemas terrestres. Aun en el suelo seco de los desiertos, donde el agua no está disponible, la humedad relativa de la atmósfera del suelo es más alta que la del aire circundante, haciendo posible la sobrevivencia de esporas, quistes, y otras estructuras de resistencia por largos periodos de tiempo (6).

Las amebas de vida libre (AVL) habitan en una amplia gama de ambientes muy diversos, sin embargo su estudio es complejo, debido a su tamaño y la escala de los ecosistemas. Las AVL están distribuidas mundialmente, pero la composición de especies específicas de un sitio particular depende grandemente del entorno en el que éstas se encuentran, cómo arribaron, en qué estado fisiológico ingresaron, las condiciones físicas y químicas del terreno y, como depredadores, la calidad del alimento del terreno (6).

El esparcimiento de cualquier especie depende de su capacidad para sobrevivir bajo condiciones adversas. Las AVL han desarrollado dos estrategias principales: la primera es formando quistes y la segunda es produciendo pequeños y más numerosos organismos para la búsqueda de alimento. Lo último puede observarse en especies que no forman quistes, tales como algunas amebas de los géneros *Mayorella* y *Amoeba*, y permite a las especies el tomar ventaja del acumulamiento temporal de alimento en ambientes de mosaico. Sin embargo, estos organismos pueden perecer en un tiempo relativamente corto si no encuentran alimento. Las AVL formadoras de quistes pueden sobrevivir mayores periodos de

escasez de alimento, sin embargo, no pueden tomar ventaja de los ambientes de mosaico hasta que la cantidad de alimento sea suficiente para activar los procesos de exquistamiento (6).

Se ha pensado que las amebas desnudas (*Gymnamoeba*) juegan un rol menor, basándose en su cantidad en el suelo, la cual raramente sobrepasa de 2×10^5 amebas por metro cuadrado. Aunque tal vez representen hasta el 50% del número total de protozoarios en ambientes edáficos. El alto número de AVL en los sistemas terrestres, comparados con los acuáticos, puede ser explicado por algunas características amebianas, tales como su movimiento flexible en superficies particuladas, lo que les permite alimentarse de colonias bacterianas que crecen en los agregados del suelo. También, la carencia de estructuras rígidas les permite moverse y alimentarse en las pequeñas películas que rodean a los agregados del suelo, aun en los poros del suelo de $2 \mu\text{m}$ donde la mayoría de los flagelados y ciliados no buscan presa debido a su rigidez celular. Estas características hacen a las AVL los más importantes depredadores de bacterias en el suelo (6).

Los estudios microbiológicos del suelo han dedicado poca o ninguna atención a las amebas desnudas, a las interacciones entre ellas y con los hongos, bacterias y algas. Aun cuando las AVL no son los únicos depredadores en los suelos, estas han sido reconocidas como los controladores principales del crecimiento poblacional bacteriano, debido a su rápida respuesta a los incrementos bacterianos. Como un grupo, las AVL pueden alimentarse de bacterias, hongos, algas y otros protozoarios, incluyendo a otras amebas. Sin embargo, los estudios sobre amebas desnudas están mayormente enfocados al consumo de bacterias. Se ha reportado que las bacterias no pigmentadas pueden apoyar el crecimiento de las amebas, mientras algunas especies son utilizadas únicamente en casos de emergencia y las bacterias pigmentadas son usualmente inconsumibles, debido a la presencia de compuestos tóxicos para las amebas (7).

Los géneros de amebas desnudas que más se reportan en los estudios sobre protozoarios del suelo son: *Naegleria*, *Hartmannella*, *Vahlkampfia* y *Acanthamoeba*. Esto puede explicarse por la falta de énfasis en las AVL durante la primer mitad del siglo XX, y por el incremento de interés en las amebas patógenas para el ser humano, después del descubrimiento de la meningoencefalitis amebiana primaria. Su importancia ecológica puede haber sido menospreciada debido a la carencia de información sobre su diversidad, abundancia y preferencia de presas (7).

Las amebas están descritas como un grupo de organismos que ingieren células completas (principalmente bacterias) como su sustrato principal. Dependen de compuestos específicos presentes en sus especies presa como factores de crecimiento y requieren una dieta balanceada de aminoácidos y otras sustancias importantes. Sus sistemas de transporte y permeabilidad están bien desarrollados para sobrevivir en ambientes con fuentes reducidas de carbono y nitrógeno; usualmente tienen dietas muy flexibles (6).

Su potencialidad como bioindicadores es grande, ya que hay evidencias de que su distribución es afectada por las condiciones del suelo (8) y por la variación estacional (7).

JUSTIFICACIÓN

Las AVL se han estudiado principalmente debido a que en algunas ocasiones causan enfermedades humanas fatales. Desafortunadamente, la importancia ecológica de las AVL no ha sido estudiada adecuadamente. Los primeros estudios sobre su presencia demostraron que son organismos cosmopolitas, pero no se sabe realmente si las especies patógenas son capaces de desarrollarse en cualquier lugar en el ambiente, ni sus tamaños poblacionales en la naturaleza. La presencia de las AVL en la mayoría de los ambientes nos permite establecer su importancia ecológica como reguladores naturales del crecimiento poblacional bacteriano. Las primeras etapas de degradación del suelo son difíciles de detectar y, dada la sensibilidad de los microorganismos a los cambios ambientales, dicha degradación puede reflejarse en el número de organismos y/o diversidad de especies. Se necesitan estudios para reafirmar la importancia de este grupo de microorganismos como indicadores del estado de deterioro del suelo y, así, contribuir a planear estrategias sobre el manejo adecuado del suelo.

OBJETIVOS

Objetivo General.

Determinar la riqueza de especies de amebas desnudas presentes en un suelo conservado y uno degradado de la subcuenca el Cutac en Zapotitlán de las Salinas, Puebla.

Objetivos Particulares.

- Determinar las diferencias de especies entre ambos suelos.
- Correlacionar estas diferencias con las características de cada suelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del área de estudio.

La provincia florística del Valle de Tehuacán-Cuicatlán pertenece a la región xerofítica mexicana y se localiza en la parte sureste del estado de Puebla y noroeste de Oaxaca, entre los 17°39' y 18°53' de latitud norte y los 96°55' y 97°44' de longitud oeste, con una superficie aproximada de 10,000 km². Incluye varios valles, entre los que destacan Coxcatlán, Cuicatlán, Tehuacán, Tepelmeme y Zapotitlán, así como algunas barrancas y cañones como Morelos, Tomellín, Río Hondo, Río Grande y Río Salado, separados por numerosas serranías. Los principales límites orográficos del Valle son: al este y noreste la Sierra Madre oriental, llamada localmente Sierra de Zongolica, al norte la serranía de Tecamachalco y al sur la Sierra Juárez. En la región existe un clima semiárido, con temperatura alta y régimen de lluvias de verano. Las condiciones de aridez existentes se deben al efecto de sombra orográfica que produce la Sierra Madre oriental (Sierras de Juárez y Zongolica) y a la desecación paulatina de los mantos freáticos, principalmente en el Valle de Zapotitlán. Geológicamente, el Valle presenta afloramientos de diferentes edades y orígenes, por lo que la región es un mosaico heterogéneo de diferentes litologías que forman parte de la provincia geológica de Tlaxiaco. La zona centro-norte de Tehuacán presenta afloramientos del Cretácico Medio y la región centro-sureste de la zona, que comprende desde Tehuacán hasta la zona de Teotitlán del Camino, presenta afloramientos del Precámbrico, así como del Jurásico Inferior Marino. La franja comprendida por la Sierra de Juárez, que se encuentra al sur del valle de Tehuacán-Cuicatlán hasta Quiotepec, presenta afloramientos de rocas metamórficas del Paleozoico; en las partes más bajas afloran sedimentos del Terciario continental y del Cuaternario (4).

Muestreo del suelo.

Los dos sitios de muestreo (conservado y degradado) fueron seleccionados para el trabajo de tesis de Licenciatura de Luz María García Pérez, se localizan en la subcuenca el Cutac, la vegetación esta constituida por matorral espinoso en asociación con matorral crasicaule, el material geológico esta formado por conglomerados, lutitas y calizas, el suelo es un fluvisol calcárico. Zona degradada: Localizada en el Sistema fisiográfico Aluvión, en una terraza con exposición sur, coordenadas 18°19' 37" latitud norte y 97°27'12" longitud oeste, con pendiente de 39°. El suelo esta marcado con erosión. Zona conservada: Localizada en el sistema fisiográfico Zapotitlán, en la ladera de una loma, exposición sureste, coordenadas 18°19'41" latitud norte y 97°27'12" longitud oeste, con pendiente de 17°. Se hizo un muestreo en el mes de Abril del año 2000. En ambas zonas de muestreo se hizo un cuadrante de 10×10 m en un área de suelo desnudo, tomando las muestras a una profundidad de 10 cm con ayuda de una pala de jardinero, evitando áreas con costras microbióticas y se pusieron en bolsas de plástico con cierre hermético para transportarlas al laboratorio (5).

Aislamiento inicial de las AVL.

Se elaboró extracto de suelo (ES) (se mezclan 100 g de suelo en 1 litro de agua destilada, se calienta en baño maría por 2 horas a 70°C, después se filtra con papel periódico y se esteriliza por autoclave) para igualar las condiciones fisiológicas del suelo y poner a disposición de los microorganismos de la muestra todos los compuestos solubles en agua. Se colocó 1 g de cada muestra de suelo en 10 ml de ES, se agitó

en vortex y se dejó reposar por 1 hora, después se depositó el sobrenadante en una caja petri con agar no nutritivo (15 g de agar/litro de H₂O). Se inclinó la caja y se dejó reposar por 2 horas y después se le recogió el exceso de agua con una pipeta Pasteur. Se incubó por 3 días a temperatura ambiente, y se hicieron observaciones con ayuda de un microscopio invertido (Olympus CK2) a $\times 100$ y $\times 200$ aumentos, para determinar la presencia de amebas.

Observación microscópica de las amebas.

Con ayuda del microscopio invertido, se buscaron en las cajas zonas con gran afluencia de amebas, las cuales fueron marcadas con un plumón. Se prepararon varios portaobjetos con suspensiones de amebas, colocando 3 gotas de ES en el área marcada de cada caja y con ayuda de un asa de siembra se frotaba el agar, procurando separar las amebas del mismo; al final, con ayuda de la misma asa, se trasapaba la suspensión de amebas a los portaobjetos y se colocaba un cubreobjetos. Se dejaron reposar las muestras por 3 minutos, para que las amebas se adhirieran al portaobjetos y se almacenaron en una cámara húmeda hasta su revisión. Las laminas se revisaron en un microscopio de contraste de fase (Nikon Labophot-2 AFX-DX con una cámara Nikon FX-35 DX) a $\times 100$, $\times 400$ y $\times 1000$ aumentos, para la determinar el género o la especie de las amebas. Asimismo se tomaron fotografías y video de las muestras.

Separación de las amebas por género o especie.

Utilizando un capilar afilado con ayuda de un mechero, se recogió un solo quiste (seleccionándolo por su morfología) y se trasapó a una caja petri con agar ES (15 g de agar/litro de ES). De este modo se clonaron las cepas y se pudieron separar por género o especie las amebas. Los cultivos fueron resembrados en nuevas cajas aproximadamente cada 2 semanas, seleccionando rectángulos de agar con gran concentración de trofozoitos y/o quistes, para así mantenerlos en óptimas condiciones y poder continuar la identificación a nivel de especie.

RESULTADOS

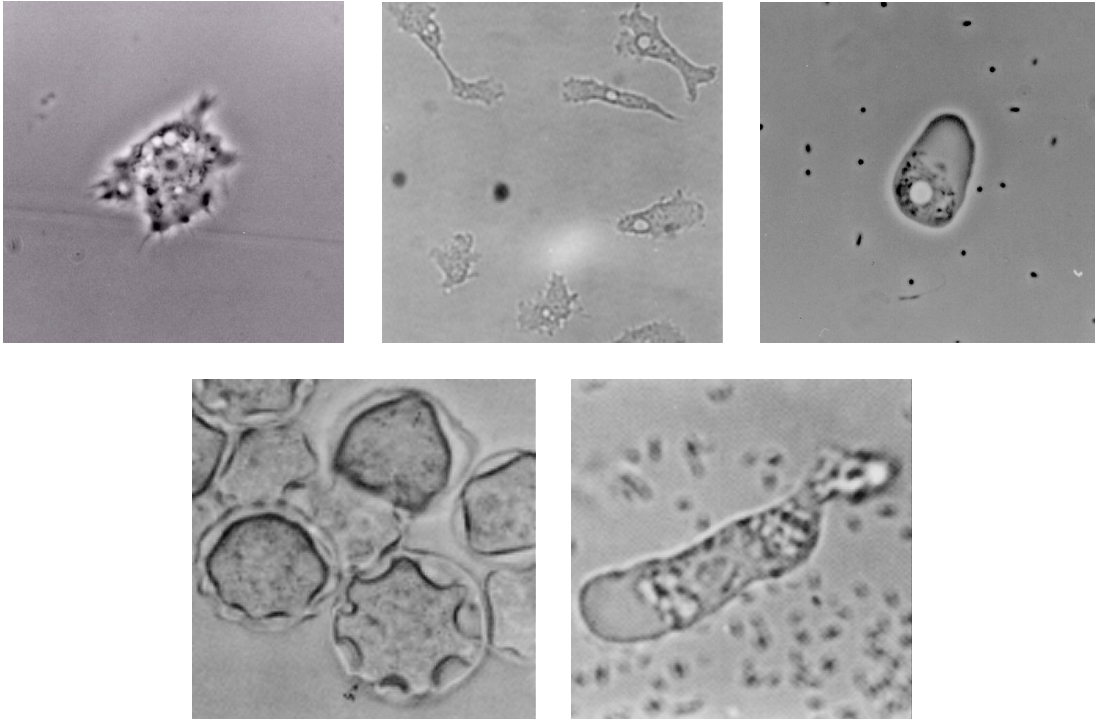
Determinación de las especies de AVL.

Se determinó la especie de algunas de las cepas clonadas utilizando la clave de Page (6). En las muestras de suelo conservado existió una mayor diversidad de especies de amebas desnudas, en comparación con las muestras de suelo degradado, donde hubo una menor diversidad de especies. Las especies encontradas se enlistan en la siguiente tabla:

Tabla 1. Especies de amebas desnudas encontradas en el suelo.

Suelo Desnudo Conservado (SDC)	Suelo Desnudo Degradado (SDD)
▪ <i>Acanthamoeba culbertsoni</i>	▪ <i>Acanthamoeba mauritaniensis</i>
▪ <i>Acanthamoeba lenticulata</i>	▪ <i>Acanthamoeba triangularis</i>
▪ <i>Acanthamoeba mauritaniensis</i>	▪ <i>Vahlkampfia avara</i>
▪ <i>Acanthamoeba triangularis</i>	▪ <i>Platyamoeba stenopodia</i>
▪ <i>Acanthamoeba hatchetti</i>	
▪ <i>Acanthamoeba castellanii</i>	
▪ <i>Vahlkampfia avara</i>	
▪ <i>Echinamoeba exundans</i>	
▪ <i>Echinamoeba silvestris</i>	

A continuación se muestran algunas fotografías de las especies encontradas en las diferentes muestras:



Figuras 1 a 5. En el sentido del reloj: *Acanthamoeba culbertsoni*, *Echinamoeba exundans*, *Platyamoeba stenopodia*, *Vahlkampfia avara* y *Acanthamoeba castellanii*.

DISCUSIÓN

La importancia del suelo es indiscutible, como base para el desarrollo de las plantas y como intermediario en los ciclos biogeoquímicos, procesos fundamentales para el mantenimiento de los ecosistemas terrestres. Las primeras etapas de degradación del suelo son difíciles de detectar y, dada la sensibilidad de los microorganismos a los cambios ambientales, dicha degradación puede reflejarse en el número de organismos y/o diversidad de especies.

Una de las funciones más importantes de los microorganismos es transformar estos nutrientes a formas disponibles para su absorción. Los residuos orgánicos en la superficie del suelo reducen el impacto de las gotas de lluvia y favorecen la infiltración lenta del agua. La escorrentía y la erosión se reducen, habiendo mayor cantidad de agua aprovechable para el mejor desarrollo de los microorganismos en general (7). La cantidad de materia orgánica se debe a la actividad de la microflora y microfauna del suelo.

En cuanto a las especies de amebas de vida libre, podemos decir que los miembros del género *Acanthamoeba* constituyen una alta proporción de la riqueza de especies, tanto en ambientes perturbados como no perturbados. El hecho de que exista una mayor diversidad de especies en las muestras de suelo conservado con respecto al suelo degradado, confirma el estado de deterioro del mismo y por lo tanto la dificultad a la que se enfrentan los microorganismos para establecerse y aprovechar los recursos. La riqueza de especies de amebas desnudas presentes en el suelo afirma que este grupo es un buen indicador del estado de conservación del suelo (8).

REFERENCIAS

1. **Rodríguez-Zaragoza, S.** 1994. Ecology of Free-Living Amoebae. *Critical Reviews in Microbiology*. 20, 225-241.
2. **Rodríguez-Zaragoza, S. y García, S.** 1997. Species Richness and Abundance of Naked Amebae in the Rhizoplane of the Desert Plant *Escontria chiotilla* (Cactaceae). *Journal of Eukaryotic Microbiology*. 44, 122-126.
3. **Rodríguez-Zaragoza, S.** 1999. Variación de la comunidad de amebas desnudas y de otros protozoarios en respuesta a la perturbación de un suelo forestal de encino-pino en Villa del Carbón, Edo. de México. Tesis de Doctorado. I.P.N. E.N.C.B. México.
4. **Reyes-Quintanar, C. K.** 2000. Estudio Microbiológico de la Rizosfera e Interrizosfera de *Neobuxbaumia tetetzo* y *Prosopis laevigata*. Tesis de Licenciatura. ENEP Iztacala.
5. **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 de Licenciatura. FES Iztacala.
6. **Page, F. C.** 1988. A New Key to Freshwater and Soil Gymnamoebae. Culture Collection of Algae and Protozoa. Freshwater Biological Association.
7. **Evans, R.** 1980. Soil Erosion. John Wiley and Sons Ltd. pp. 109-125.
8. **Foissner, W.** 1999. Soil protozoa as bioindicators: pros and cons, methods, diversity, representative examples. *Agriculture Ecosystems and Environment*. 74, 95-112.
9. **Lopez-Ochoterena, E.** 1997. Manual de Técnicas Protozoológicas. 1^{ra} Edición. Universidad Autónoma de Tlaxcala.