

Cultivo de protozoarios ciliados de vida libre a partir de muestras de agua del Lago de Maracaibo

Julio César Marín, Neil Rincón, Laugeny Díaz-Borrego, Ever Morales

Universidad del Zulia, Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Civil, Departamento de Ingeniería Sanitaria y Ambiental (DISA), estado Zulia, Venezuela.

jmarin@fing.luz.edu.ve

Universidad del Zulia, Facultad Experimental de Ciencias, Departamento de Biología, Laboratorio de Microorganismos Fotosintéticos, estado Zulia, Venezuela.

Resumen

El cultivo de protozoarios ciliados de vida libre a nivel de laboratorio es una tarea minuciosa y compleja, puesto que muchas veces los individuos no se adaptan a las condiciones impuestas, además de requerir una supervisión constante para no perder la cepa “semilla” por condiciones adversas dentro del cultivo. En el presente trabajo se describe una metodología práctica, sencilla y económica para el cultivo de protozoarios ciliados de vida libre, a partir de muestras de agua superficial del Lago de Maracaibo, estableciendo los criterios de aislamiento e identificación taxonómica para obtener cultivos mono específicos. Para ello, se cuantificó la densidad de los protozoarios presentes (cámara *Sedgwick-Rafter*), así como los parámetros: temperatura, pH, potencial red ox, salinidad, conductividad eléctrica y oxígeno disuelto (sonda multiparamétrica). La identificación taxonómica se realizó aplicando claves taxonómicas convencionales. La densidad de los protozoarios ciliados estuvo entre $1,98 \times 10^5$ y $2,60 \times 10^6$ cél/L, con una densidad relativa de 82,3% para el género *Uronema*, de 12,4% para *Euplotes* y de 5,3% para *Loxodes*. La metodología propuesta permite obtener cultivos mono específicos de protozoarios ciliados de vida libre a partir de muestras de agua del Lago de Maracaibo y ecosistemas similares, mediante la alimentación con una infusión de hojuelas de avena para promover la proliferación microbiana. Estos cultivos pueden emplearse de manera práctica para realizar estudios moleculares, celulares, eco toxicológico u otros que se requieran.

Palabras clave: Cultivo mono específico; identificación taxonómica; infusión nutritiva; Lago de Maracaibo; Protozoo.

Cultivation of free-living ciliated protozoa from Water samples of lake Maracaibo

Abstract

The cultivation of free-living ciliated protozoan at the laboratory conditions is a complex and thorough labor, since individuals often do not adapt to the conditions imposed, as well as requiring constant monitoring to avoid losing the "seed" strain due to adverse conditions within the culture. The present work describes a practical, simple and economical methodology for the cultivation of free-living ciliated protozoan from surface water samples of Lake Maracaibo, establishing the criteria of isolation and taxonomic identification to obtain mono specific cultures. For this purpose, the density of the present protozoan was quantified (Sedgwick-Rafter chamber) as well as the parameters: temperature, pH, red ox potential, salinity, electrical conductivity and dissolved oxygen (multiparameter probe). The taxonomic identification was done applying conventional taxonomic keys. The density of the ciliated protozoan in the water samples was between 1.98×10^5 and 2.60×10^6 cells/L, with a relative density of 82.3% for the genus *Uronema*, 12.4% for *Euplotes* and 5, 3% for *Loxodes*. The proposed methodology allows obtaining mono specific cultures of free-living ciliated protozoan from water samples of Lake Maracaibo and similar ecosystems, by feeding with an infusion of oat flakes to promote microbial proliferation. These cultures can be practically used for molecular, cellular, eco toxicological or other studies required.

Keywords: Lake Maracaibo; mono specific culture; nutritive infusion; Protozoa; taxonomic identification.

Introducción

El reino Protozoo incluye organismos eucariotas unicelulares, carentes de pared celular, de metabolismo autótrofo, heterótrofo o mixótrofo, que contiene dos subreinos: Sarcomastigota y Biciliata. El subreino Sarcomastigota presenta los phyla Amoebozoa (amebas) y Choanozoa, mientras que el Biciliata tiene los infrareinos Rizaria (phyla Cercozoa, Foraminifera y Radiozoa), Excavata (phyla Loukozoa, Percolozoa, Euglenozoa, Metamonada, Parabasalia y Anaeromonadea) y Alveolata (phyla Ciliophora, Apusozoa y Heliozoa) (Aladro-Lubel, 2006; Cavalier-Smith, 2004). Las dos terceras partes de las aproximadamente 8000 especies de ciliados conocidas (phylum Ciliophora), son de vida libre, el resto son simbióticas.

Los ciliados de vida libre constituyen un grupo cosmopolita, con amplia distribución mundial en cualquier hábitat con agua y recursos alimentarios. Los ciliados son muy comunes en el plancton y en el bentos de aguas dulces y salobres, al igual que en el

suelo y en ambientes extremos, tales como las aguas termales y las aguas heladas de los polos (Aladro y col., 2009; Lynn, 2001).

Los protozoarios desempeñan un rol importante en las redes tróficas microbianas, en los llamados bucles microbianos (*loop microbiano*) de los ecosistemas acuáticos (Fenchel, 2008) y representan un eslabón entre los componentes de la cadena trófica microbiana y la cadena trófica clásica (Premke y Arndt, 2000). La dinámica del bucle microbiano ha sido poco estudiada en los ecosistemas acuáticos tropicales, como en el caso del Lago de Maracaibo, particularmente en los niveles tróficos de bacterias y sus depredadores naturales. Las bacterias planctónicas usan la materia orgánica disuelta de su entorno, siendo depredadas por ciliados y flagelados, que a su vez son alimento de macro invertebrados zooplanctónicos.

La cadena trófica bacterias ciliados flagelados, puede consumir aproximadamente el 60-70% de la producción primaria en la columna de agua, pudiéndose considerar como una red trófica paralela a la convencional de “pastoreo” que se da entre fitoplancton, zooplancton y peces (El-Serehy y col., 2012; Faure y col., 2010). De esta manera, los protozoarios actúan como intermediarios en la mineralización y en el reciclaje de los nutrientes esenciales, siendo propuestos como bio-indicadores de calidad de agua y de toxicidad para compuestos xenobióticos (Henglong y col., 2016; Qing-Hua y col., 2008).

El cultivo de protozoarios ciliados de vida libre a nivel de laboratorio es una tarea minuciosa y compleja, porque muchas veces los individuos no se adaptan a las condiciones impuestas, además de requerir una supervisión constante para no perder la cepa “semilla” por condiciones adversas dentro del cultivo. Es por ello que, en el presente trabajo se describe una metodología práctica, sencilla y económica para el cultivo de protozoarios ciliados de vida libre, a partir de muestras de agua superficial del Lago de Maracaibo, estableciendo los criterios de aislamiento e identificación taxonómica, con la finalidad de producir cultivos mono específicos para estudios moleculares, celulares, eco toxicológicos u otros que se requieran.

Área de estudio

El Lago de Maracaibo es un estuario parcialmente mezclado e hipereutrófico ubicado al occidente de Venezuela, estado Zulia, entre los 70°30' y 73°24' de longitud Oeste, y los 09°00' y 10°30' de latitud Norte. Está conectado al Golfo de Venezuela por un estrecho de 55 Km de longitud en el borde Norte del mismo, y alimentado por unos 135 ríos, de los cuales los más importantes son el Catatumbo, Chama, Santa Ana y Escalante. El lago tiene 13210 Km² de área superficial y 95923 Km² de área de drenaje, siendo uno de los más antiguos en la Tierra. Posee una altitud de 3 msnm, una profundidad máxima de 34 m y 1485,2 Km de línea de costa (de Bautista, 1997; Marín-Leal y col., 2017; Parra-Pardi, 1979). En este estuario se desarrolla una intensa actividad de extracción y transporte de petróleo desde inicios del siglo XX.

Muestras

Se colectaron muestras superficiales de zooplancton con ayuda de una malla cónica (150 µm) en la Costa Occidental del estrecho del Lago de Maracaibo, en el sitio del Parque Vereda del Lago, con las siguientes coordenadas geográficas: 10°40'10,57" N y 71°35'25,14" W. Estas muestras fueron dispuestas en envases de vidrio estériles de 350 mL y trasladadas al laboratorio en una cava con hielo. Paralelamente, se fijaron alícuotas de las muestras (100 mL) con formalina al 2%, las cuales fueron contenidas en envases plásticos de 250 mL previamente desinfectados, para determinar la densidad de protozoarios ciliados (Figura 1).

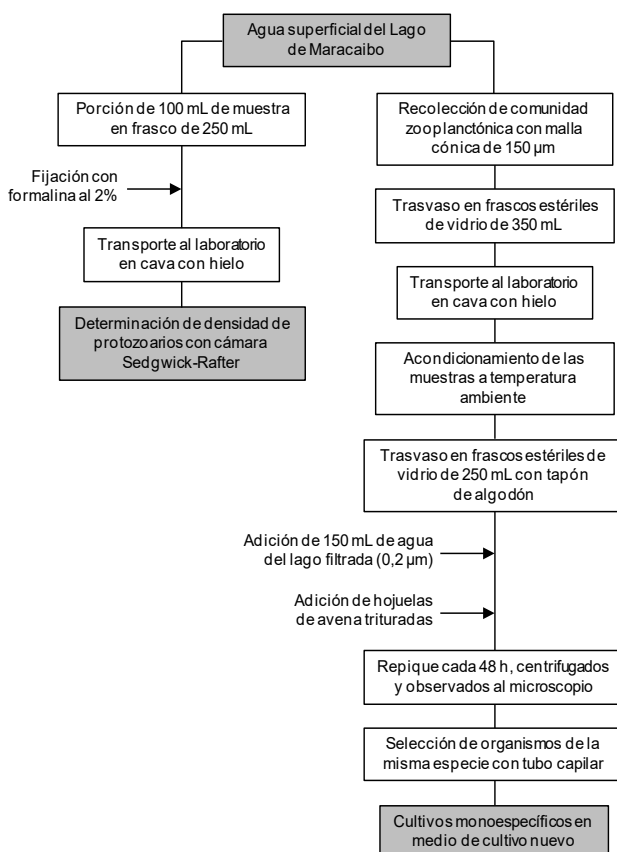


Figura 1. Metodología para aislamiento y cultivo de protozoarios ciliados de vida libre a partir de muestras de agua superficial del Lago de Maracaibo.

En el agua superficial del sitio de muestreo se determinaron *in situ* los siguientes parámetros: temperatura, pH, potencial red ox, salinidad, conductividad eléctrica y oxígeno disuelto, usando una sonda multiparamétrica (Thermo Scientific, modelo Orion 5 Star, USA).

Aislamiento y cultivo de protozoarios ciliados

Para la cuantificación de los protozoarios ciliados se colocó una gota de las muestras fijadas con formalina sobre una cámara Sedgwick-Rafter (Nro. 1801-A10), estimando el número de células por mL con ayuda de un microscopio de campo claro. Para los cultivos se emplearon frascos de vidrio estériles de 250 mL con tapón de algodón, agua del sitio de muestreo previamente filtrada (filtros Millipore de 0,2 μm de tamaño de poro) y la muestra de zooplancton colectada (Figura 1).

En la Tabla 1 se presentan las estrategias de cultivo ensayadas durante este estudio. El medio de cultivo estuvo conformado por 125 mL de agua del lago filtrada y una pizca de suplemento alimenticio (hojuelas de avena trituradas con las yemas de los dedos, granos de trigo y arroz cocido); para formar una infusión y promover el crecimiento microbiano para la alimentación de los protozoarios (Fried y col., 2002). En cuanto a la iluminación se probaron condiciones de oscuridad completa, iluminación moderada cerca de una ventana y alta radiación cerca de lámparas fluorescentes. La aireación fue otra de las variables consideradas, manteniendo cultivos sin agitación, con agitación manual dos veces al día y aireación mecánica con una bomba de pecera.

Tabla 1. Estrategias de cultivo para protozoarios ciliados de vida libre aislados de muestras de agua del Lago de Maracaibo.

Condición		Estrategias	
Suplemento	Avena	Trigo	Arroz
Iluminación	Oscuridad	Moderada	Alta
Aireación	Sin agitación	Agitación manual	Bombeo mecánico

Los cultivos microbianos fueron repicados cada 48 h, centrifugados (500 rpm) y observados al microscopio óptico (100X) para seleccionar individuos de la misma especie, con ayuda de un tubo capilar. Estos individuos fueron sembrados en medio de cultivo nuevo, hasta obtener un cultivo mono específico de ciliados (Narayanan y col., 2007). La temperatura media de cultivo fue de $30,5 \pm 1,5^\circ\text{C}$.

Identificación taxonómica de protozoarios ciliados

Alícuotas de las muestras de zooplancton y de los cultivos de protozoarios ciliados fueron visualizadas bajo el microscopio de campo claro con objetivo de 10X, con el fin de realizar la medición de los especímenes y con 40X para la identificación taxonómica,

la cual se hizo por medio de claves taxonómicas (Aladro y col., 1990; Da Silva y col., 2013; Lynn, 2008), empleando técnicas de tinción convencionales para detallar las estructuras internas y externas. Inicialmente, los especímenes se tiñeron con lugol, para observar la localización y el número de cirros en diferentes regiones, morfología, localización del citostoma, de la vacuola contráctil y, posteriormente, se tiñeron con safranina y verde de metilo, para detallar la morfología y ubicación de los núcleos (Foissner y Berger, 1996; Lynn, 2008).

Análisis estadístico de datos

Se utilizó el programa IBM SPSS Statistics Ver. 20 para realizar un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, con la finalidad de determinar las diferencias significativas de las variables fisicoquímicas del agua entre los muestreos ($n=6$). Antes de realizar el ANOVA se comprobaron, tanto la homogeneidad de las varianzas (Test de Bartlett), como la distribución normal de los residuos (Test de Kolmogorov-Smirnov).

Resultados y discusión

Caracterización fisicoquímica de agua superficial del Lago de Maracaibo

En la Tabla 2 se presentan los valores medios de la caracterización fisicoquímica realizada al agua superficial del Lago de Maracaibo durante los muestreos, en el sitio Parque Vereda del Lago. No se observaron diferencias significativas ($p>0,05$) de los parámetros entre las muestras, lo que indica la escasa variabilidad de las condiciones ambientales en el sistema durante el periodo de estudio.

Los valores de temperatura, pH, potencial red ox, salinidad, conductividad eléctrica y oxígeno disuelto encontrados, fueron usados como referencia para el desarrollo de los cultivos de protozoarios ciliados en el laboratorio, a partir de las mismas muestras de agua. De manera general, la caracterización fisicoquímica de las muestras de agua superficial, se corresponde con datos reportados para esta misma zona de estudio (Rodríguez, 2000; Marín-Leal y col., 2017).

Tabla 2. Media aritmética (X) y desviación estándar (DE) para los parámetros fisicoquímicos analizados en muestras de agua superficial del Lago de Maracaibo, sitio Parque Vereda del Lago ($n=6$).

Parámetro	X±DE
Temperatura (°C)	30,6±1,1
pH	7,69±0,63
Potencial red ox (mV)	-80,84±7,74
Salinidad (mg/L)	1701,3±331,2
Conductividad eléctrica (μS/cm)	3471,7±676,8
Oxígeno disuelto (mg/L)	3,94±0,15

Identificación taxonómica de protozoarios ciliados

Los protozoarios ciliados aislados y cultivados fueron clasificados en el dominio Eucariota, reino Protozoo, subreino Biciliata, infrareino Alveolata, phylum Ciliophora y dos subphyla: Intramacronucleata y Postciliodesmatophora (Figura 2). Del subphylum Intramacronucleata se observaron dos clases: Oligohymenophorea y Spirotrichea. De la clase Oligohymenophorea, subclase Scuticociliata, orden Philasterida, familia Uronematidae, se identificó el género *Uronema*.

De la clase Spirotrichea, subclase Hypotricha, orden Euplotidae, suborden Euplotina, Familia Euplotidae, se identificó el género *Euplotes*. Igualmente, del subphylum Postciliodesmatophora, clase Karyorelictea, subclase Hypotricha, orden Loxodida, familia Loxodidae, se identificó el género *Loxodes* (Aladro y col., 1990; Da Silva y col., 2013; Lynn, 2008).

El género más abundante identificado en las muestras de agua fue *Uronema* (Figura 2A), un ciliado que por las técnicas de tinción con lugol se observó con morfología oval a ovoide, alargado, ligeramente aplanado, peristoma inconspicuo, con el borde derecho ciliado. El citostoma se mostró sobre el lado ventral, cerca del borde izquierdo, en la mitad anterior, con una membrana pequeña en forma de lengua. La citofaringe no fue claramente distinguida. Se evidenció un macronúcleo de forma esférica y central, así como una vacuola contráctil terminal.

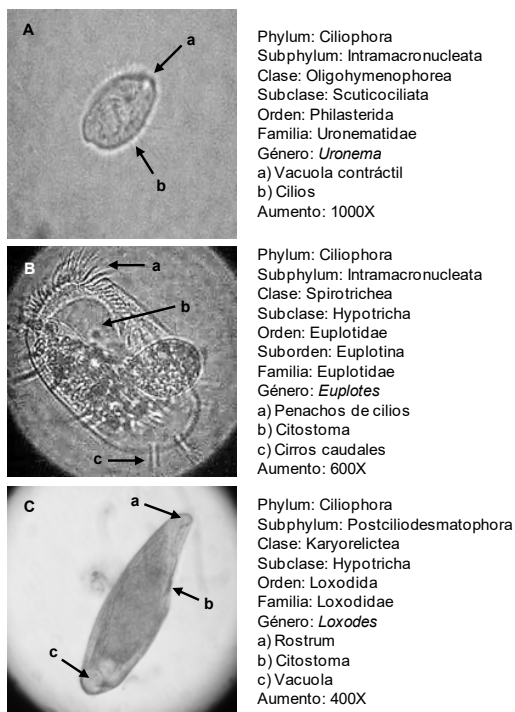


Figura 2. Micrografías de protozoarios ciliados aislados y cultivados a partir de muestras de agua superficial del Lago de Maracaibo. A) *Uronema* sp., B) *Euplotes* sp., C) *Loxodes* sp.

Los especímenes tuvieron una longitud entre 30 y 50 μm (Aladro y col. 1990, Foissner 1999, Hickman y col. 2006, Kudo 1985, Lynn 2008). *Uronema* sp. es típico de aguas corrientes y estancadas, principalmente planctónico, aunque también se localiza en el bentos. En ocasiones forma parte del perifiton (comunidades adheridas a superficies sumergidas) y en comunidad con otros animales (Krebs, 1985; Wetzel, 2001).

En lagos eutróficos ha sido identificado como uno de los protozoarios ciliados más abundantes, superando el 50% en lagos subtropicales y mostrando gran capacidad competitiva (Zingel, 1999). Dupontt (2003) y Rincón y col. (2007) reportaron la especie *Uronema nigricans* como dominante en la zona litoral del Lago de Maracaibo, aseverando que la abundancia de protozoarios en las costas, puede estar relacionada con la presencia de fitoplancton y nanoflagelados.

En las muestras de agua superficial del Lago de Maracaibo, la segunda población más abundante de protozoarios ciliados correspondió al género *Euplotes* (Figura 2B), cuyas células se observaron de forma ovoide inflexible, con la superficie ventral

aplanada y la dorsal convexa, arrugados longitudinalmente, con el peristoma triangular y ancho, la parte frontal de la zona adoral se encontró en un surco plano, con nueve o más cirros frontales ventrales; cinco anales y cuatro caudales esparcidos. Se detalló un macronúcleo en forma de banda, un micronúcleo y una vacuola contráctil posterior (Aladro y col., 1990; Foissner, 1999; Hickman y col., 2006; Kudo, 1985; Lynn, 2008).

Se ha reportado que *Euplotes* sp. habita en aguas dulces y también en aguas saladas. Este género es definido como un protozooario ciliado reptante, incluido en el grupo de los hipotricos. Presenta un número abundante de cirros, los cuales utiliza para la natación y también “caminar” sobre los sustratos (Aladro y col., 1990; Foissner, 1999; Hickman y col., 2006; Kudo, 1985; Lynn, 2008). *Euplotes* sp. ha sido identificado en el lago salino tropical Achichica (México), como un importante consumidor de picoplankton autotrófico (Peřtová y col., 2008). En el caso del Lago de Maracaibo, fue reportado por primera vez por Rincón y col. (2007) resaltando la importancia de su estudio en ambientes tropicales

La tercera población de protozoarios ciliados más representativos en las muestras del Lago de Maracaibo, la conformó el género *Loxodes* (Figura 2C), lo que constituye su primer reporte para este estuario tropical. Estos individuos presentaron un tamaño entre 150-250µm, con un extremo curvado en forma de pico en su parte anterior, ranura bucal en el lado cóncavo del cuerpo comprimido lateralmente, con cilios sólo en el lado derecho. No tienen vacuola contráctil ni ningún otro método visible de osmorregulación, su aparato de Golgi está inusualmente bien desarrollado para su división, su superficie celular está cubierta con una membrana unida con gránulos que contienen un pigmento amarillo-marrón, gran parte del interior de la célula son inclusiones minerales y están situados en posiciones específicas a lo largo del borde dorsal de la célula (Bick, 1972; Foissner, 1995).

La presencia de *Loxodes* ha sido reportada en el lago somero eutrófico Monte Alegre (Brasil) (Gomes y Godinho, 2003), en un lago de agua dulce del parque Zhongshan (China) (Xu y col., 2015), en estanques naturales en la región de Chieti (Italia) (Buhonanno y col., 2005), en el sedimento de un pequeño lago de Escocia (Reino Unido) (Esteban y col., 2001), entre otros ecosistemas. Este microorganismo es característico de ambientes con baja concentración de oxígeno disuelto y se alimenta principalmente de micro algas, pero suele ingerir también rotíferos, amebas y bacterias fotosintéticas coloniales (Aleya y col., 1992; Fenchel, 1987; Foissner, 1995).

En cuanto a los protozoarios ciliados de vida libre presentes en el Lago de Maracaibo, las nuevas técnicas de identificación y clasificación basadas en el análisis filogenético de ARNr (Cavalier-Smith, 2004; Corliss, 2001; Lynn, 2012; Xu y col., 2015), permitirán conocer la existencia de las especies y subespecies que conforman parte del bucle microbiano de este ecosistema tropical.

Aislamiento y cultivo de protozoarios ciliados

En las muestras de agua superficial del Lago de Maracaibo se cuantificaron densidades de protozoarios ciliados entre $1,98 \times 10^5$ y $2,60 \times 10^6$ cél/L, con una densidad relativa de 82,3% para la familia Uronematidae, de 12,4% para la familia Euplotidae y de 5,3% para la familia Loxodidae. Estos valores son comparables a los reportados por Rincón y col. (2007) para zonas litorales y pelágicas del Lago de Maracaibo, cuyas densidades estuvieron entre $1,25 \times 10^5$ y $2,90 \times 10^5$ cél/L. No obstante, estos autores no reportan hallazgos de la familia Loxodidae, pero indican la presencia del género *Oxitricha* de la familia Oxitrichidae, el cual no fue aislado en el presente estudio.

En el ambiente acuático, los protozoarios son consumidores voraces de una amplia gama de microorganismos (fagotrofia) y probablemente, representando un importante poder de control sobre el tamaño y la actividad de las poblaciones microbianas (Esteban y col. 2015, Foissner 1995). Es por ello que, resulta complejo su cultivo a nivel de laboratorio para propósitos específicos. En tal sentido, se han propuesto una serie de formulaciones específicas, complejas o comerciales, como: medio SMB-III (Miyake, 1981), medio nutritivo (Phelps y Fernández, 1960), infusión de Wedler (Wedler, 1998), medio lechuga inoculado con bacterias (Buonanno y col., 2005), medio, hay soluciones con antibióticos, infusiones de plantas, extractos de suelos, soluciones de sales inorgánicas (Esteban y col., 2015; Phelps y Fernández, 1960; Wedler, 1998; WSNE, 2005), entre otras. A la par, se han propuesto procedimientos de cultivo complicados basados en la conformación de microambientes con agua y materiales (*e.g.* suelo, rocas, arena, etc.) de la zona de muestreo (Cortez, 2010). El uso de infusiones a partir de granos de trigo o de arroz, paja, alfalfa, musgo, etc., también ha sido aplicado como estrategia de alimentación sencilla en condiciones de laboratorio (Cortez, 2010; Wedler, 1998; WSNE, 2005).

De las estrategias de cultivo probadas en este estudio para protozoarios ciliados de vida libre del Lago de Maracaibo, la que presentó mejores resultados con respecto a la supervivencia y número de organismos vivos tuvo las siguientes condiciones: medio de cultivo conformado por agua del lago filtrada y hojuelas de avena trituradas, luz moderada, agitación manual tres veces al día y recambio a medio de cultivo nuevo cada 48 h. El monitoreo continuo durante los ensayos de: temperatura, pH, potencial redox, salinidad, conductividad eléctrica y oxígeno disuelto, de acuerdo con los valores obtenidos en las muestras colectadas en el lago, permitió el mantenimiento de las condiciones fisicoquímicas dentro de las observadas en el lago (Tabla 2), realizando recambios del medio de cultivo cuando se observaron alteraciones de los mismos.

Bajo las condiciones de cultivo descritas en este estudio, se logró la estimulación de la proliferación microbiana en los recipientes de cultivo, sirviendo de alimento para los protozoarios, los cuales se observaron de buen tamaño y con buena actividad motriz. Los cultivos mono específicos obtenidos resultan útiles para el desarrollo de estudios moleculares, celulares, eco toxicológico y otros.

Conclusiones

Las variables fisicoquímicas del agua superficial del Lago de Maracaibo: temperatura, pH, potencial red ox, salinidad, conductividad eléctrica y oxígeno disuelto, mostraron poca variabilidad en el sitio de estudio, con valores semejantes a los reportados en la literatura. De los protozoarios identificados, el género *Uronema* se presentó en mayor proporción (82,3%), seguido de *Euplotes* (12,4%) y *Loxodes* (5,3%).

Se lograron obtener cultivos mono específicos de protozoarios ciliados de vida libre a partir de muestras de agua del Lago de Maracaibo, en condiciones de laboratorio, mediante la alimentación con una infusión de hojuelas de avena para promover la proliferación microbiana. La metodología propuesta resulta práctica y sencilla, pudiendo aplicarse para el cultivo de este grupo de microorganismos en otros ecosistemas similares.

Referencias bibliográficas

- Aladro-Lubel M. A. (2006). Principales clasificaciones de los protozoarios. México, D. F.: Universidad Nacional Autónoma de México. p.p. 90.
- Aleya L., Hartmann H. y Devaux J. (1992). Evidence for the contribution of ciliates to denitrification in a eutrophic lake. *European Journal of Protistology* 28(3),316-321.
- Bick H. (1972). Ciliated Protozoa. Geneva: World Health Organization. p.p. 198.
- Buonanno F., Saltalamacchia P. y Miyake A. (2005). Defence function of pigmentocysts in the karyorelictid ciliate *Loxodes striatus*. *European Journal of Protistology* 41, 151-158.
- Cavalier-Smith T. (2004). Only six kingdoms of life. *Proceeding of the Royal Society B: Biological Sciences* 271, 1251-1262.
- Corliss J. (2001). Protozoan taxonomy and systematics. *Encyclopedia of Life Sciences*. New Jersey: Nature Publishing Group. p.p. 227.
- Cortez C. (2010). Guía para el estudio de los protistas de vida libre: protozoos. Tesis de grado. México, D. F.: Universidad Nacional Autónoma de México. p.p. 71.
- Da Silva T., do Nascimento B. y da Silva-Neto I. (2013). Phylogenetic study of class Armophorea (Alveolata, Ciliophora) based on 18S-rDNA data. *Genetics and Molecular Biology* 36(4), 571-585.
- De Bautista S., Bernard M., Romero M., Troncone F., Segovia S. y Paredes J. (1999). Impacto ambiental de las descargas de mercurio en el canal de navegación del Lago de Maracaibo. *Rev. Téc. Ing. Univ. Zulia* 22(1), 42-50.
- Dupontt J. (2003). Depredación bacteriana por protozoarios presentes en muestras de agua procedentes del Lago de Maracaibo. Tesis de Maestría. Universidad del Zulia. Maracaibo, p.p. 80.

El-Serehy H., Al-Rasheid K. y Shafik H. (2012). Microbial loop populations: Their abundances and trophodynamics in the Gulf of Aqaba, Red Sea Turkish. *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 12, 565-573.

Esteban G., Finlay B., Charubhun N. y Charubhun B. (2001). On the geographic distribution of *Loxodes rex* (Protozoa, Ciliophora) and other alleged endemic species of ciliates. *J. Zool.* 255, 139-143.

Esteban G., Finlay B. y Warren A. (2015). Free-living Protozoa. Chapter 7. En: Thorp and Covich's: *Freshwater Invertebrates*. (p.p. 113-132). Elsevier Inc. UK.

Faure V., Pinazo C., Pascal T. y Jacquet S. (2010). Modeling the spatial and temporal variability of the SW lagoon of New Caledonia I: a new biogeochemical model based on microbial loop recycling. *Marine Pollution Bulletin* 61(7-12), 465-479.

Fenchel T. (1987). *Ecology of Protozoa. The biology of free-living phagotrophic Protists*. Berlin: Springer. p.p.197.

Fenchel T. (2008). The microbial loop—25 years later. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 366(1-2), 99-103.

Foissner W. (1995). Tropical protozoan diversity: 80 ciliate species (protozoa, ciliophora) in a soil sample from a tropical dry forest of Costa Rica, with descriptions of four new genera and seven new species. *Arch. Protistenkd.* 145, 37-79

Foissner W. (1999). Protist diversity: estimates of the near-imponderable. *Protist* 150(4), 363-368.

Foissner W. y Berger H. (1996). A user-friendly guide to the ciliates (Protozoa, Ciliophora) commonly used by hydrobiologists as bioindicators in rivers, lakes, and waste waters, with notes on their ecology. *Freshwater Biology* 35(2), 375-482.

Fried J., Ludwig W., Psenner R. y Heinz K. (2002). Improvement of ciliate identification: a new protocol for fluorescence *in situ* hybridization (FISH) in combination with silver stain techniques. *System. Appl. Microbiol.* 25, 555-571.

Gomes E. y Godinho M. (2003). Structure of the protozoan plankton community in a tropical shallow and eutrophic lake in Brazil. *Acta Oecologica* 24, S153-S161.

Henglong X., Yong J. y Guangjian X. (2016). Identifying functional species pool of planktonic protozoa for discriminating water quality status in marine ecosystems. *Ecological Indicators* 62, 306-311.

Hickman C., Roberts L., Larson A., l'Anson H. y Eisenhour D. (2006). *Zoología*. Decimotercera edición. Madrid: McGraw-Hill Interamericana S. A. p.p 1010.

Krebs C. (1985). *Ecología general*. 2da. Edición. Instituto Ecológico de Recursos Animales. Universidad de Columbia Británica. México, D. F.: Editorial Harla. p.p. 753.

- Kudo R. (1985). Protozoología. México, D. F.: Editorial Continental. p.p. 905.
- Lynn D. (2001). Ciliophora (documento en línea). Encyclopedia of Life Sciences. Nature Publishing Group. Disponible en: <http://www.els.net>
- Lynn D. (2008). The ciliated Protozoa. Third edition. New York: Springer Science and Business Media B.V. p.p. 580.
- Lynn D. (2012). Ciliophora (document en línea) John Wiley & Sons, Ltd. Chichester. Disponible en: <http://www.els.net>
- Marín-Leal J., Carrasquero-Ferrer S., Pire-Sierra M. y Behling E. (2017). Dynamics of priority pollutants and adequacy of wastewater treatments in the Lake Maracaibo basin (Venezuela). Chapter 29. En: Araújo C. y Shinn C. (Editors): Ecotoxicology in Latin America. (p.p. 560-572). Nova Science Publishers. New York.
- Miyake A. (1981). Cell interaction by gamones in Blepharisma. En: O'Day D. H. y Horgen P. A. (Editors): Sexual interaction in eukaryotic microbes (p.p. 106-129). Academic Press. New York.
- Narayanan M., Priya M., Haridas A. y Manilal V. (2007). Isolation and culturing of a most common anaerobic ciliate, *Metopus* sp. Anaerobe 13(1), 14-20.
- Parra-Pardi G. (1979). Estudio integral sobre la contaminación del Lago de Maracaibo y sus afluentes. Parte II. Caracas: Ministerio del Ambiente y de los Recursos Naturales Renovables (MARNR). p.p. 225.
- Peštová D., Miroslav M. y Martínez M. (2008). Ciliates and their picophytoplankton-feeding activity in a high-altitude warm-monomictic saline lake. European Journal of Protistology 44, 13-25.
- Phepls A. y Fernández B. (1960). A simple method for obtaining Protozoa in pure culture. Rev. Biol. Trop. 8(2), 263-269.
- Premke K. y Arndt H. (2000). Predation on heterotrophic flagellates by protist: food selectivity determined using a live-staining technique. Arch. Hydrobiol. 150(1), 17-28.
- Qing-Hua C., Run-Lin X., Nora F., Siu G. y Paul K. (2008). Use of ciliates (Protozoa: Ciliophora) as bioindicator to assess sediment quality of two constructed mangrove sewage treatment belts in Southern China. Marine Pollution Bulletin 57(6-12), 689-694.
- Rincón N., Dupontt J. y Díaz-Borrego L. (2007). Bacterias y protozoarios ciliados de muestras de agua de la costa oriental del Lago de Maracaibo. Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas 41(3), 309-322.
- Rodríguez G. (2000). El sistema de Maracaibo biología y ambiente. Caracas: Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC). p.p. 241.

Wedler E. (1998). Introducción a la acuicultura. Bogotá: Santa Marta, Corpamag. p.p. 354.

Wetzel R. (2001). Limnology lake and river ecosystems. Third edition. New York: Academic press. p.p. 488.

WSNE. (2005). Working with Protozoa (document en línea). VWR. Disponible en: https://media.vwr.com/emdocs/docs/scied/Working_with_Protozoa.pdf

Xu Y., Pan H., Miao M., Hu X., Al-Farraj S., Al-Rasheid K. y Song W. (2015). Morphology and phylogeny of two species of *Loxodes* (Ciliophora, Karyorelictea), with description of a new subspecies, *Loxodes striatus orientalis* subsp. n. Journal of Eukaryotic Microbiology 62, 206-216.

Zingel P. (1999). Pelagic ciliated protozoa in a shallow eutrophic lake: community structure and seasonal dynamics. Arch. Hydrobiol. 146 (4), 495-511.



UNIVERSIDAD
DEL ZULIA

 **mpacto** *Científico*

Revista Arbitrada Venezolana
del Núcleo LUZ-Costa Oriental del Lago

Vol. 12. N°1 _____

*Esta revista fue editada en formato digital y publicada
en junio de 2017, por el **Fondo Editorial Serbiluz,**
Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela*

www.luz.edu.ve
www.serbi.luz.edu.ve
produccioncientifica.luz.edu.ve