

El maravilloso mundo de los protozoarios.

The marvelous world the protozoa

E. López-Ochoterena y G. Serrano-Limón *

* Facultad de Ciencias, UNAM. Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito exterior s/n, Ciudad Universitaria. México, DF. 04510. e-mail: gserranol@hotmail.com

RESUMEN

En este trabajo se presenta la reseña de un tercer libro que estaba preparando con el Dr. López Ochoterena quien tuvo la idea, propuso el contenido y sugirió las ilustraciones. Este libro complementa la trilogía de otros dos textos publicados en 1996 y 1997 respectivamente por la Sociedad Mexicana de Historia Natural, gracias al apoyo del Dr. Raúl Gío: el Diccionario de Protozoología y el Manual de Técnicas Protozoológicas.

El libro pretende introducir al lector en el mundo de los protozoarios presentando sus características, morfología, fisiología, ecología y taxonomía así como resaltar su importancia. Contribuirá a difundir los conocimientos sobre el grupo resultando útil no sólo para los estudiantes de Biología, sino para todas aquellas personas interesadas en el conocimiento científico.

Palabras clave: Protozoarios, Protistas, generalidades, morfofisiología

ABSTRACT

This book is the third one Dr. López Ochoterena and I were working on; he had the idea, proposed the contents and suggested the illustrations. This work «finishes» the trilogy with the other two published in 1996 and 1997 by the Mexican Society of Natural History thanks to the support of Dr. Raúl Gío: «Protozoology Dictionary» and «Handbook of Protozoological techniques».

The book pretends to introduce the reader to the protozoan world presenting the protozoarian characteristics, their morphology, physiology, ecology and taxonomy, as well as to emphasize the importance of their study. It will contribute to diffuse the knowledge about the group, being helpful not only for biology students but also for anyone interested in scientific knowledge.

Key words: Protozoa, Protists, generalities, morphophysiology

INTRODUCCIÓN

«Esto se hizo para mí, entre todas las maravillas que he descubierto en la naturaleza, la más maravillosa de todas, y debo decir por mi parte, que no había visto antes nada más agradable que estas miles de criaturas vivas en una gota de agua, moviéndose entre unos y otros, cada una de ellas teniendo su propio movimiento» (Leeuwenhoek, 1675).

Los protozoarios son organismos que fueron conocidos por el hombre hace apenas un poco más de 300 años; la Protozoología es la rama de la Biología que se encarga del estudio de los protozoarios, estos pequeños «animálculos» como los llamó Leeuwenhoek, su descubridor en el año de 1676 (Dobell, C., 1962).

Anthony van Leeuwenhoek, holandés, tallador de lentes, era fabricante y vendedor de telas en Delft, fabricó sus «microscopios» con los que logró aumentos hasta de 270 X. Como hombre adinerado, fabricó muchos de plata, otros de oro y la mayoría de bronce, los cuales, a su muerte, fueron fundidos por su hija María y vendidos por peso.

La carta número 18 que van Leeuwenhoek envió a Henry Oldenbrug, secretario de la Royal Society de Londres, el 9 de octubre de 1676, puede considerarse como el acta de nacimiento de la Protozoología. En ese documento hace referencia a sus «animálculos», como él llamó a esos pequeños organismos.

En esa comunicación hace referencia a que examinó nueve diferentes tipos de líquidos, utilizando una o varias muestras y haciendo en cada caso un número variable de observaciones. En esta importante comunicación el autor hace una descripción detallada de *Vorticella*, protozooario ciliado sésil, con forma de campana invertida y con un pedúnculo largo, con el que se fija al sustrato (López-Ochoterena, E., 2003)

Durante 50 años, entre 1673 y 1723, van Leeuwenhoek escribió más de doscientas cartas, ocasionalmente ilustradas y dirigidas, la mayoría a la Royal Society.

Es importante mencionar, dentro de la historia de esta ciencia, a Ernest Haeckel, un distinguido zoólogo alemán de fines del siglo XIX, quien estudió y diferenció a todas las especies de radiolarios marinos que recolectó en sus viajes en el buque Challenger. A Haeckel se debe que la Teoría de la Evolución, propuesta por Darwin en su libro publicado en 1859, haya sido aceptada en el mundo científico de esa época.

En México el estudio de los protozoarios se inició también en el siglo XIX, con los trabajos publicados en el año de 1841 por el gran micrógrafo alemán C.G. Ehrenberg, uno de los más eminentes protozoólogos europeos. Dicho autor estudió y describió, por primera vez para la ciencia, alrededor de 25 especies de foraminíferos y testáceos de muestras que le enviaba su hermano Karl, quien fuera un vendedor trashumante de libros.

Posteriormente, existen algunas otras referencias publicadas en el siglo XIX, como el primer trabajo hecho en México y publicado en la Gaceta Médica de México en el año de 1884 y cuyo autor fue Francisco Altamirano, quien tituló su estudio Microzoología, aunque este autor, no describió ninguna especie.

En el siglo XX, los pioneros en el estudio de los protozoarios de vida libre de México fueron el profesor Isaac Ochoterena, la maestra Elia Bravo, el doctor Enrique Beltrán y Demetrio Sokoloff, científico ruso quien vivió en México algunos años. Sus trabajos fueron publicados en las décadas de los años 20 y 30 en la Revista Mexicana de Biología y la Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural.

La primera publicación sobre protozoarios de vida libre de México del Dr. Eucario López Ochoterena, fundador del Laboratorio de Protozoología de la Facultad de Ciencias de la UNAM, en 1964, apareció en el número

6 de la revista Acta Zoológica Mexicana, en el año de 1962, siendo el primero de una serie sobre Protozoarios Ciliados de México en la cual, han aparecido a la fecha, 35 artículos. Dicho trabajo trata de una relación de parasitismo entre dos especies de protozoarios ciliados, fenómeno biológico localizado en aguas dulces del Valle de México.

Hasta el año de 2003, el Doctor López publicó más de 120 artículos sobre protozoología. Lo mismo se refieren a la descripción de especies nuevas para la ciencia, como al análisis de las condiciones ecológicas en que viven en ciertas condiciones particulares, determinadas especies. También se han estudiado algunas características morfológicas que pueden dar luz en ciertas relaciones filogenéticas, particularmente en el grupo de los protozoarios ciliados.

Actualmente existen en México muy pocos protozoólogos, pero en el mundo entero, esta ciencia es muy conocida, la atracción que ejercen los protozoarios en la gente que los llega a conocer es muy grande. Basta observar una simple gota de lluvia bajo el microscopio, para descubrir un mundo maravilloso de vida que se mueve, alimenta, crece, reproduce y muere en unas cuantas horas.

QUÉ SON LOS PROTOZOARIOS?

El término Protozoa fue creado por Goldfuss en 1818, el autor lo utilizó para designar a los zoófitos inferiores de la clasificación de Cuvier (Goldfuss, G.A., 1820) Posteriormente, Von Siebold, en 1846 lo delimitó, aplicando el criterio de unicelularidad, con el que se le ha empleado desde entonces.

La idea fue eliminar a los organismos que originalmente se describieron juntos (nematodos, anélidos, rotíferos, vegetales diversos) dejando el nombre creado por Goldfuss sólo para los animales unicelulares «inferiores».

Pocos grupos zoológicos pueden definirse de modo adecuado de tal manera que la diagnosis convenga a todos los individuos que abarca y no pueda aplicarse a otros. En los protozoarios, esta situación llega al máximo.

Al grupo de los protozoarios lo podemos definir de muchas maneras, la más sencilla es la de considerarlos como organismos animales unicelulares, de hecho, el nombre «protozooario», significa «primeros animales»,

pero esto de ser animales o protistas, está todavía en discusión, y se tendría que recurrir a definir qué es un animal, y qué es un protista para que hubiera un acuerdo, discusión parecida a la que se suscitó en el siglo X, sobre la celularidad o acelularidad de los protozoarios (Corliss, 1957). Animales o protistas, su única mutua relación es su organización sobre el plan general de la célula que durante muchos años fueron considerados como animales ilógicamente pequeños, simples y de una sola célula, pero de una gran belleza.

Por tanto, consideraremos a los protozoarios como organismos unicelulares del Reino Protista, eucariontes, microscópicos y que habitan en cualquier sitio en donde haya agua, humedad o algún medio líquido como la sangre o el intestino de casi cualquier animal. Por la dificultad de definir al grupo, Jahan ha dicho que los protozoarios son «organismos más o menos animales, más o menos microscópicos y más o menos unicelulares», esta definición un tanto humorista se debe a que los protozoarios constituyen un grupo heterogéneo de organismos cuyo carácter que los unifica es solamente la unicelularidad (Jahan *et al*, 1980).

CARACTERES GENERALES

Siendo los protozoarios un grupo heterogéneo tan extenso y variado, es difícil mencionar características fundamentales que convengan a todos. La mayoría de los autores que se ha dedicado a estudiarlos, están de acuerdo en que el cuerpo de todos los protozoarios está formado de una masa de citoplasma rodeada de una membrana, en cuyo interior se encuentran uno o varios cuerpos que contienen cromatina y son capaces de formar cromosomas, equivalentes a los núcleos de las células de los metazoarios, con formaciones membranosas como el retículo endoplásmico, aparato de Golgi, las mitocondrias y las vacuolas. Por estas características, los protozoarios son entonces organismos eucariontes que han evolucionado en sentido celular.

HABITAT, FORMA, TAMAÑO, COLOR

De acuerdo con su hábitat, se pueden considerar varios grupos importantes de protozoarios: las especies de vida libre, que incluyen a las especies marinas, a las que viven en agua dulce y a las edafícolas; aquéllas asociadas con otros organismos, que incluirán a los parásitos humanos y a los protozoarios asociados a cualquier otro *phylum*, también están los de importancia veterinaria, las especies simbioses de termitas, las que viven en la

panza de los rumiantes, y sobre todo, como se menciona arriba a las 25 o más especies que viven como parásitos o comensales en el hombre.

En relación a su forma, la diversidad es enorme aunque la mayoría de los protozoarios son esféricos. Los hay en forma de campana como las vorticellas, de trompeta como *Stentor*, de foco como *Giardia*, de lombriz como *Gregarina*, de estrella como los Radiolarios, de caracol como los Foraminíferos, o de formas indefinidas como las amibas, en fin, de muchísimas formas que tienen que ver con su hábitat.

El tamaño de los protozoarios se determina con micras, esto es, se necesita forzosamente un microscopio para verlos, y esto los hace más interesantes. Los protozoarios más pequeños miden dos o tres micras y los más grandes hasta más de unos milímetros de diámetro y su tamaño, también tiene relación con el lugar en donde viven.

El color también varía mucho, hay especies verdes porque tienen clorofila, o porque albergan algas en simbiosis, aunque la mayoría son transparentes. Llamen nuestra atención las especies doradas como los testáceos de Xochimilco del género *Arcella*, los tonos rojizos de los plasmodios y amibas parásitas, así como el género *Haematococcus* que vive en la nieve, otros brillan y forman luces iridiscentes de azul, rosa y amarillo.

NUMERO DE ESPECIES

Actualmente, se han descrito alrededor de 80,000 especies de protozoarios, de las cuales la mitad son fósiles y 11,000 son parásitos. Dentro de las especies vivientes se incluyen 12,000 sarcodarios de vida libre, cerca de 5,000 foraminíferos y 300 especies parásitas. Se han considerado alrededor de 6,000 flagelados de vida libre y 2,000 asociados. Se incluyen cerca de 7,000 especies de esporozoarios, todos parásitos y alrededor de 8,000 formas ciliadas, incluidas 3,000 especies parásitas. Se considera que existe otro tanto de especies por descubrir y por estudiar.

En general, las poblaciones son abundantes debido a la rapidez con que se reproducen, por ejemplo, hay miles de protozoarios en el suelo, cientos de miles en el intestino de las termitas, millones en el rumen de los bovinos, billones en una modesta placa de plancton que flota en el mar y trillones en la corriente sanguínea de

una persona infectada con malaria (Corliss, 1991). Además, se adaptan de manera admirable en su morfología y nutrición a los cambios del ambiente, así, una amiba como *Naegleria*, segrega un quiste resistente cuando el agua se seca, es una amiba desnuda en suelos húmedos, y produce flagelos cuando abunda el agua (Curds, C.R. y G. Ogden, 1978).

MÉTODOS DE ESTUDIO

Para el mejor conocimiento de algunas especies de protozoarios, se han diseñado diversas técnicas de microscopía, que van desde las más sencillas como observar una gota de agua al microscopio, hasta las complejas técnicas de microscopía electrónica. Muchas técnicas básicas siguen vigentes para el estudio de los protozoarios como son:

La técnica de campo claro, utilizada para la mayoría de las observaciones a partir de Leeuwenhoek, en 1674.

La técnica de campo oscuro, utilizada por primera vez por R. Hooke, en 1635.

La técnica de luz polarizada, ligada al estudio de los minerales.

La de diafragma de luz oblicua utilizando rayos marginales.

La técnica de contraste de fases desarrollada por Zernike, en 1934.

La de contraste de fases de color, resultado de los estudios de Heine en 1943.

La técnica de microflash electrónico utilizada para inmovilizar a organismos en movimiento y que se puede adaptar a cualquier otra técnica (López-Ochoterena y Serrano-Limón, 1997).

Cualquiera que sea la técnica utilizada, los protozoarios requieren de una preparación para poder ser observados y estudiados. En general, es fácil obtener muestras de agua de cualquier depósito para poder observar bajo el microscopio una gran diversidad de especies. Las diversas técnicas para estudiarlos se inician con su observación microscópica, y dependiendo de los grupos a estudiar, los protozoarios deberán cultivarse, fijarse, teñirse y montarse de acuerdo con la especie que se trate. Las técnicas de impregnación argéntica así como las de microscopía electrónica proporcionan excelentes resultados en el estudio de los protozoarios.

RECOLECTA

La amplia distribución de los protozoarios en la naturaleza facilita obtener una gran variedad de especies para su estudio. La recolecta de protozoarios depende del grupo que se desea estudiar. Las técnicas de recolección para los protozoarios de vida libre, se han dividido en tres grandes grupos de acuerdo a su hábitat: los que viven en aguas dulces, los que se encuentran en aguas marinas, y los que habitan en el suelo.

Los protozoarios de vida libre que viven en aguas dulces pueden encontrarse en un simple charco de agua de lluvia acumulada en cualquier sitio, en lagos, lagunas, ríos, aguas termales, manantiales, nieve o aguas glaciares.

Los depósitos de agua con poco movimiento, materia orgánica y vegetación flotante o sumergida, proporcionan abundantes especies. Basta desplazar un frasco de boca ancha sobre la superficie del agua para recolectar un buen número de protozoarios.

Las poblaciones de protozoarios pueden variar grandemente de un sitio a otro, apenas a unos cuantos metros de distancia, por lo que conviene tomar varias muestras alrededor de un determinado lugar.

Su diversidad y abundancia dependen de ciertas condiciones ecológicas como son la abundancia o escasez de alimento, la composición química del agua, temperatura, pH, cantidad de oxígeno y de bióxido de carbono disueltos, grado y tipo de contaminación del agua, y hasta la hora del día en que se realice la recolecta. Su distribución vertical también varía, de tal manera que podemos encontrar protozoarios en la superficie del agua, en las paredes de los lagos o arroyos, o en el fondo.

La técnica general de recolecta de protozoarios dulceacuícolas y marinos, como arriba se menciona, consiste en desplazar sobre la superficie del agua un frasco de vidrio y permitir la entrada de materia orgánica flotante que puede albergar a muchos organismos. Es conveniente llenar los frascos a la mitad de su capacidad para que se mantengan con aire y dejar las muestras reposar durante unas horas para que las especies se distribuyan naturalmente en los contenedores. También es conveniente utilizar redes de plancton para recolectar abundantes cantidades de individuos.

Si se desea estudiar especies asociadas, se deberán llevar al laboratorio los hospederos que las albergan, como por ejemplo ranas del género *Hyla* para observar opalinas, lombrices de tierra para observar gregarinas, termitas para observar hypermastiginos, y en general, cualquier invertebrado que puede alojar en el tubo digestivo, en la piel o en la sangre algunas de las muchas especies que viven como comensales, parásitos o simbioses.

Para obtener protozoarios parásitos del hombre, es necesario aplicar técnicas especializadas para el procesamiento de las muestras como son los métodos coproparasitoscópicos para la observación de quistes de *Entamoeba histolytica* o de *Giardia*.

IMPORTANCIA

Hay muchas razones para estudiar a los protozoarios, actualmente la mayoría son estudiados por su importancia médica ya que muchas especies son parásitas del hombre causando graves enfermedades. 350 millones de personas en China son picadas cada año por el mosquito que transmite la malaria, sin contar que un cuarto de la población mundial es continuamente infectada de tripanosomiasis, leishmaniasis, toxoplasmosis o disentería amibiana. Los humanos sirven de hospederos a más de 30 especies de protozoarios simbioses, además de que algunas amibas que usualmente viven en el suelo pueden causar meningoencefalitis.

Los animales domésticos también se ven atacados por algunas especies de protozoarios así como los animales silvestres. Otros infectan el ganado, aves de corral, criaderos de peces y otros organismos que son fuentes de alimento para el hombre, como los coccidios de pollos y pavos, sin contar las muertes de miles de peces por la marea roja que producen algunos dinoflagelados.

Sin embargo, considerando su gran número y distribución, estos maravillosos animales son prácticamente inofensivos, más bien, deben considerarse como benéficos ya que muchos son una parte básica de la gran red trófica al ser productores primarios y alimento a su vez, de muchas especies marinas que se alimentan de plancton. Muchos ciliados se utilizan en el tratamiento de aguas residuales ya que son voraces comedores de bacterias. Radiolarios y Foraminíferos contribuyen a la formación del sedimento marino, fueron formadores de roca, y muchos se utilizan en paleontología como fósiles índice. La importancia

biológica de muchas especies es actualmente una herramienta indispensable para la biología molecular, sin contar con aquellas especies de ciliados que viven en la panza de los rumiantes y que les son indispensables para degradar la celulosa de la que se alimentan.

Como modelos celulares se utilizan en investigación biomédica y aún como agentes para el control biológico contra ciertos insectos vectores de importantes enfermedades. Su velocidad de reproducción, su tamaño, su abundancia y facilidad de obtención, su adaptabilidad fisiológica, la facilidad de cultivo así como su similitud estructural y funcional con las células de organismos multicelulares los hacen material valioso para el avance de la ciencia.

MORFOFISIOLOGÍA

Los protozoarios como células son tan o más complejos que la célula de un metazoario, célula y organismo es equivalente, ya que son capaces de realizar todas las funciones que realiza un organismo multicelular gracias a la diversidad de orgánulos que contienen en su citoplasma.

Para su estudio es conveniente empezar por las cubiertas extracelulares, las estructuras membranosas y fibrosas los orgánulos que contienen así como la función que desempeña cada uno.

En este capítulo del libro se caracterizarán los organoides celulares así como los procesos metabólicos de la nutrición, autotrofia, heterotrofia, captura del alimento, producción de energía, osmorregulación, crecimiento y reproducción, los procesos sexuales y asexuales, así como algunos ciclos de vida representativos. Se mencionará la respuesta a diversos estímulos, la bioluminiscencia y la regeneración, así como el movimiento.

ECOLOGÍA

Los protozoarios son seres cosmopolitas que se encuentran en todos los medios en donde exista humedad, aunque hay especies que prefieren nichos o microhábitats dentro de los grandes ecosistemas. Las formas de vida libre se encuentran en todos los tipos de agua: en fosas, reservorios, corrientes, ríos, lagos, lagunas, arroyos, nieve, hielo, aguas termales, estuarios, pantanos, ciénegas, arenas litorales, en el suelo, en los líquenes y hasta en albercas y tinacos.

Los quistes pueden ser transportados por el viento y colonizar cualquier hábitat.

Las especies parásitas o simbioses están tan diseminadas como sus congéneres de vida libre, ya que ocurren en donde se encuentran sus hospederos. Se puede decir que no hay ningún metazoario que esté libre de alguna especie de protozooario, todas las cavidades y sistemas de órganos de vertebrados o invertebrados son sitios potenciales donde pueden vivir los protozoarios. La mayoría invade el celoma, el tracto digestivo o el sistema circulatorio. Unas especies son francamente patógenas, otras son comensales o simbioses o simplemente viven sobre sus hospederos sobre los que son transportados. Pocos protozoarios sirven como hospederos a otros protistas y algunos pueden alojar virus y bacterias en su citoplasma.

TAXONOMÍA

CLASIFICACIÓN

La manera más simple y rápida de agrupar a los protozoarios es observando su manera de moverse. La locomoción la llevan a cabo mediante flagelos, cilios, seudópodos o simple flexión del cuerpo. Así, la primera clasificación que puede hacerse de estos organismos es con base a su orgánulo de locomoción. Pero como hay especies que presentan simultáneamente flagelos y seudópodos deben tomarse en cuenta también los ciclos de vida, el tipo de núcleo y el tipo de reproducción. El hábitat, aunque importante para ubicar algunas especies, no es carácter taxonómico.

La clasificación propuesta por Lee *et al* en 1985 sigue utilizándose hasta la fecha, instrumento que agrupa a los protozoarios en 6 phyla: Sarcomastigophora, Labyrinthomorpha, Apicomplexa, Microspora, Myxozoa y Ciliophora.

Aunque tradicionalmente los Protozoarios se han clasificado en grupos según su modo de locomoción, tipos de reproducción y modos de nutrición, agrupando a los protozoarios en flagelados, sarcodinos, esporozoarios y ciliados, en la actualidad este esquema ya no puede seguirse ya que ahora se encuentran disponibles modos más sofisticados para estudiar a estos organismos generalmente unicelulares y microscópicos.

Estudios de la ultraestructura y de la biología molecular de numerosas especies de protozoarios han producido datos de importancia para el mejor conocimiento de

las relaciones filogenéticas de muchos grupos morfológica y genéticamente diversos. Se hace necesario, dice Corliss (1994) la producción de nuevos sistemas de clasificación, él propone un esquema «interino», construido junto con líneas tradicionales pero que a su vez incorpora datos recientes sobre la ultraestructura y biología molecular de los protozoarios.

Corliss propone la categoría de Reino para el anterior subreino Protozoa, el que a su vez queda incluido dentro del gran grupo de los Eucariontes. Así, el Reino Protozoa queda integrado por 14 Phyla: PERCOLOZOA, PARABASALA, EUGLENOZOA, OPALOOZOA, MYCETOZOA, CHOANOZOA, DINOZOA, CILIOPHORA, APICOMPLEXA, RHIZOPODA, HELIOZOA, RADIOZOA, MYXOOZOA y ACETOSPORA.

EVOLUCION Y RELACIONES FILOGENÉTICAS.

Las interrelaciones evolutivas entre los protozoarios y otros protistas continúan desafiando nuestra comprensión. Las afinidades filogenéticas entre los grupos son causa de especulación. Recientemente, por los métodos de la biología molecular como la secuenciación del DNA, se obtienen datos sobre los enigmas del pasado, pero es prematuro presentar un árbol filogenético confiable (Corliss). Los protistas se sitúan entre los reinos de los procariontes por un lado, y por otro en el de los eucariontes.

La variedad y diversidad de protozoarios que ahora existen y el amplio rango de ambientes en los que viven hablan de su facilidad para adaptarse y sobrevivir en las más difíciles condiciones, hay formas que han permanecido sin cambio por milenios, su supervivencia es impresionante.

El estudio de la historia evolutiva de los protozoarios se resiente por la escasez de restos fósiles, sólo las formas que poseen exoesqueletos han dejado importante registro fósil como son los foraminíferos, radiolarios y tintínidos. La filogenia de algunas formas parásitas puede reconstruirse a partir de los fósiles de sus hospedadores (Fernández-Galiano, 1990). Las relaciones continúan siendo confusas, pero en general se acepta que los protozoarios constituyen un grupo polifilético, los cambios evolutivos son convergentes para algunos grupos y divergentes para otros por lo que es difícil determinar si partes similares son resultado de convergencia o son el reflejo de su parentesco por lo que las relaciones filogenéticas que pueden describirse hasta ahora, continúan siendo hipotéticas.

LITERATURA CITADA

- Corliss, 1994. An Iterin Uilitarian («user-friendly») Hierarchical Clssification and Characterization of the Protists. *Acta Protozoológica* 33: 1-51
- Curds, C.R., and C.G., Ogden. 1978. Form and Function IV: Protozoa en: *Essays in Microbiology*. The Gresham Press, London.
- Dobell, C., 1962. *Antony van Leewuenheck and His «Little Animals»*. New York Dover Publications.
- Fernández-Galiano, D., 1990. *Filogenia de los Protozoarios* (Manuscrito).
- Goldfuss, G.A., 1820. *Handbunch der Zoologie*. Vol. 1. Nürberg
- Jahan, T.L., E.C. Bovee, and F.F. Jahan. 1979. *How to know the Protozoa*. Second Ed. W.C. Brown Co. Pub. Dubuque, Iowa.
- Lee, J.J., Shhutner, E.C Bovee. (Eds.) 1985. *An illustrated guide to the Protozoa*. Society of Protozoologists. Lawrence Kansas. 629pp.
- López-Ochoterena, E. Y G. Serrano-Limón, 1997 *Manual de Técnicas Protozoológicas*. Sociedad Mexicana de Historia Natural A.C. México D.F.
- López-Ochoterena, E. 2003. *Forjadores de la Ciencia*. Coordinación de la Investigación Científica, UNAM.