



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

DETERMINACIÓN DE LAS AMIBAS DE VIDA
LIBRE EN LOS POZOS DEL ACUÍFERO DE
CUERNAVACA, MORELOS.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A

BELTRÁN ORTIZ ADRIANA



DIRECTOR DE TESIS: M. EN C. ELIZABETH RAMÍREZ FLORES

MÉXICO, 2008.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Agradecimientos:

Quiero agradecerles a mis cinco personajes importantes en la obra de mi vida, mis guías en este andar, mis padres, Irene Ortiz y Luis Beltrán; mis hermanos Luis, Daniel y Gustavo, gracias por que están conmigo cuando los necesito, ser mis confidentes y mis verdugos favoritos.

Juana Ortiz, a ti te tengo que agradecer que también has estado conmigo, apoyándome, dándome consejos, siendo mi confidente en muchas cosas y principalmente aportando grandes cosas para esta, mi vida loca, a ti te tengo un cariño especial, gracias tía.

A la familia Beltrán y a la familia Ortiz, por que se preocupan por mí.

A mis profesores un agradecimiento especial y profundo, desde la que me enseñó a leer y a escribir, hasta mi asesora de tesis Elizabeth Ramírez, que me dio la oportunidad para poder culminar esta etapa, sin olvidar a todos a todos aquellos profesores de los cuales he recibido grandes consejos.

No puedo olvidar agradecerles muchísimo a Nely, Maribel, Fernando Ayala, Miguel, Martín, Janina, Marcos, Andrés, Edgar, Joab, Joel, Penélope, Juan Carlos, Híbrahim, America, Jukiko, Fernando Peralta, Alberto (Chema), Abraham, Alejandro, Eduardo, Vania, Violeta, Fausto, Miyarai, por que aprendí y entendí con todos esos momentos compartidos, que la vida es mucho más ligera de lo que parece, todo está en la manera en como lo veas y simplemente hay que gozar el trayecto con lo bueno o malo que se pueda presentar en el camino y tantas otras cosas, pero creo que no acabaría, simplemente Gracias.

Nely, no te he olvidado, contigo no aplíco el gracias por que "estuviste", sino el gracias por que "estas", por que hemos aprendido juntas que si se puede la amistad entre mujeres sin estarse demoliendo una a la otra. Gracias por compartir momentos de todos los colores y sabores, gracias simplemente por que seguimos en el camino, apoyandonos... tu sabes, no hay palabras para agradecer cuando hay una amistad de verdad, sino el simplemente estar ahí cuando necesitas de alguien.

Agradecimientos:

Por todas las facilidades brindadas para la realización de este trabajo y su participación en los muestreos les doy mi agradecimiento a:

Subgerencia de Explotación y Monitoreo Geohidrológico

Gerencia de Aguas Subterráneas

Comisión Nacional el Agua (CNA) y

Subdirección de Aguas Subterráneas

Dirección Técnica

Dirección General del Organismo de la cuenca del Río Balsas

CNA Cuernavaca.

Un especial agradecimiento a:

Ing. Fernando Lara Guerrero.

Ing. Pedro Soto Navarro.

Ing. Vicente Parra.

Ing. Alfonso García Sesento.

Ing. Felipe Nieto López.

Ing. Ramiro Pelayo Barajas.

Agradecimiento al programa

PAPCA 2006-2007 de la FES Iztacala

Por el apoyo económico brindado para la realización de esta tesis.

Dedicatorias

Dedicado a mi familia, por todo el esfuerzo y el sacrificio de muchas cosas, Irene y Luis, es para ustedes por que me han enseñado que todo se puede en esta vida si te esfuerzas lo suficiente, Wicho, Gus y Chicha esto va por los tres, por que se sacrificaron de alguna manera por mi, gracias por desvelarse conmigo y por ayudarme algunas veces a mis tareas aunque no entendieran nada. A ustedes cinco por que con todo lo contrastantes que somos, hoy entiendo que podemos hacer grandes cosas.

A Nely, por que esta de sobra decirte que eres mi otra neurona y que te quiero mucho, a Maricarmen, por que también eres parte crucial en mi vida y a Mireya, por tu amistad.

A mis amigos, a mi familia completa, a todos mis maestros, y por que no, a esas personas que se quedan un momento en la vida, por que nunca se les va a olvidar y por que dejaron una enseñanza en esta mujer.

ÍNDICE

1. Introducción.....	01
2. Marco teórico.....	03
2.1 Amibas de vida libre.....	03
2.2 Aguas subterráneas.....	06
2.3 Antecedentes.....	08
2.3.1 Amibas de vida libre.....	08
2.3.2 Acuífero de Cuernavaca, Morelos.	10
3. Justificación.....	12
4. Objetivos.	13
5. Área de estudio.....	14
6. Metodología.....	18
7. Resultados y discusión	22
7.1 Presencia de amibas de vida libre.....	22
7.2 Riqueza específica.....	23
7.3 Distribución espacial.....	28
7.4 Distribución temporal.....	31
7.5 Parámetros fisicoquímicos.....	34
7.6 Análisis estadístico.	36
8. Conclusiones.	41
9. Referencias bibliográficas.....	42

RESUMEN

El agua subterránea es considerada como una fuente inagotable debido a su disponibilidad y buena calidad, se había usado ampliamente para uso doméstico, industrial y agrícola, pero recientemente las circunstancias indican que el agua subterránea es muy vulnerable a la contaminación, donde pueden encontrarse desde sustancias sintéticas hasta organismos como bacterias, virus y protozoarios. Tal es el caso de las Amibas de Vida Libre (AVL) grupo de protozoarios cosmopolitas que son capaces de vivir en el medio ambiente y comportarse como parásitos en el ser humano. Se conocen cuatro géneros de importancia médica: *Acanthamoeba*, *Naegleria*, *Balamuthia* y *Sapinnea*. Por lo que el objetivo de la investigación fue: Detectar las amibas de vida libre en pozos del Acuífero de Cuernavaca, Morelos. Se realizaron 12 muestreos mensuales de 10 pozos del Acuífero de Cuernavaca, Morelos durante el periodo de Mayo del 2005 a Abril del 2006, los pozos son utilizados para suministro de agua potable y uso recreativo. Se colectaron muestras de 1000 ml por cada pozo y se midieron en el lugar los siguientes parámetros fisicoquímicos: temperatura, oxígeno disuelto y pH. En el laboratorio se concentraron por centrifugación volúmenes de 50, 10 y 1 ml de cada muestra y el sedimento se sembró en el medio Agar no nutritivo adicionada con la bacteria *Enterobacter aerogenes* (NNE), con cinco repeticiones cada una para realizar la cuantificación de las amibas por el método del número más probable (NMP). La identificación morfológica se realizó de acuerdo a la clave de Page, 1988. Se detectaron amibas en casi todos los pozos estudiados, aunque en bajas concentraciones. Se encontraron 19 especies pertenecientes a 14 géneros: *Hartmannella*, *Naegleria*, *Vannella*, *Vahlkampfia*, *Rosculus*, *Platyamoeba*, *Thecamoeba*, *Vexillifera*, *Nuclearia*, *Stachyamoeba*, *Echinamoeba*, *Guttulinopsis*, *Cochliopodium* y *Acanthamoeba*; siendo *Hartmannella* el que se presentó con mayor frecuencia con sus dos especies: *Hartmannella vermiformis* con el 24% y *H. cantabrigiensis* con el 13%. Las amibas tuvieron mayor presencia en los meses de mayo, junio y diciembre; mientras que en el mes de octubre no hubo presencia en ninguno de los pozos. Las AVL Se encontraron con mayor frecuencia en el pozo de Tezoyuca y del Hotel del Prado, a diferencia del pozo la Cañada, donde no se detectaron en ninguno de los muestreos; por lo tanto fue el pozo de mejor calidad amebológica. La mayor riqueza específica se presentó en los pozos Tabachines con 9 especies y Tezoyuca con 8 especies. El número más alto de AVL se encontró en el pozo Tabachines en el mes de junio con 54 NMP/100ml. Los niveles promedio de temperatura variaron de 18-23 °C, los de pH de 6-6.9 y los de oxígeno disuelto de 1.7-5.8 mg/L. Los parámetros fisicoquímicos no fueron obstáculo para la presencia de las amibas no patógenas, pero sí para las patógenas, porque estas proliferan mejor a temperaturas por arriba de los 30 °C. Solo en el pozo Tezoyuca se encontró una moderada relación directa con el oxígeno disuelto y el número de amibas.

1. INTRODUCCIÓN

El agua es esencial para la existencia de cualquier tipo de vida y juega un papel destacado en muchas actividades propias de los seres humanos, de la agricultura a la industria y del abastecimiento de agua potable a los usos recreativos. Dentro del ciclo hidrológico, las aguas subterráneas son fundamentales tanto como fuente de agua potable para la sociedad, como para el mantenimiento de muchos ecosistemas acuáticos (Llamas *et al.*, 2000).

El agua subterránea se encuentra debajo de la superficie de la tierra. Las reservas mayores de agua subterránea son llamadas acuíferos y se consideraba frecuentemente una fuente inagotable debido a su disponibilidad y buena calidad (Jiménez, 2001).

En general, el agua subterránea se utiliza ampliamente para uso doméstico, industrial y agrícola. Pero recientemente las circunstancias indican que el agua subterránea es muy vulnerable a la contaminación y a su desaparición. Se contamina cuando algunas sustancias tóxicas se disuelven en el agua superficial y son acarreadas o lixiviadas a acuíferos con el agua percolada. Así mismo pueden llegar a entrar tanto productos químico-orgánicos como algunas bacterias, virus y protozoarios (Llopis, 1970).

Tal es el caso de las Amibas de Vida Libre (AVL) patógenas, que son un grupo de protozoarios Rhizopodos del Orden Amoebida (*Acanthamoeba* y *Sappinia*) y Orden Schizopyrenida (*Naegleria* y *Balamuthia*). Reciben la denominación de anfizoicas, porque son capaces de vivir en el medio ambiente y actuar como parásitos en el ser humano. Se les puede encontrar en suelo, agua y aire (Galarza *et al.*, 2006). Los géneros amibianos que se conocía que podían ocasionar enfermedades en el hombre eran: *Acanthamoeba*, *Naegleria* y *Balamuthia*, pero recientemente se reportó un caso de infección cerebral por *Sappinia* (Schuster y Visvesvara, 2004a; Galarza *et al.*, 2006).

El ciclo de vida de las AVL presenta 2 fases: trofozoito y quiste, además de un estadio flagelar para *Naegleria*. Las AVL pueden atacar al sistema nervioso central produciendo

dos tipos de enfermedades características, infecciones oportunistas como Encefalitis Amibiana Granulomatosa (EAG) por *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris* y *Sappinia diploidea*, aunque en el caso de esta última no se forman granulomas (Gelman *et al.*, 2003); e infecciones no oportunistas como Meningoencefalitis amibiana primaria (MAP) por *Naegleria fowleri*. Además, *Acanthamoeba* y *Balamuthia* producen lesiones oculares como queratitis y úlceras corneales, así como lesiones primarias en piel (Schuster y Visvesvara, 2004a; Galarza *et al.*, 2006).

Las AVL presentan en general una distribución cosmopolita, se presentan en cuerpos de agua con temperatura por arriba de los 25 °C y aguas naturales de los trópicos y subtrópicos. Las especies patógenas son termotolerantes, aunque no todas las termotolerantes son patógenas. En los ecosistemas acuáticos desempeñan un papel muy importante en el mantenimiento del flujo de energía y el reciclado de los nutrientes. Su eficiencia en el uso de los recursos los convierte en un enlace fundamental entre los organismos desintegradores y aquellos pertenecientes a niveles tróficos superiores. Las AVL se encuentran en mayor proporción en la microcapa superficial, debido a la abundancia de nutrientes y al establecimiento de quistes aéreos y en menor proporción en los sedimentos (Bonilla *et al.*, 2004).

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Amibas de vida libre

2.1.1 *Naegleria*

Al género *Naegleria*, pertenece la especie patógena para el ser humano, *Naegleria fowleri* y es causante de la meningoencefalitis amibiana (MAP) primaria, enfermedad fulminante que ocurre en personas sanas que han tenido contacto con agua, que presenta como característica temperatura elevada y concentraciones insuficientes de cloro libre residual (Bonilla *et al.*, 2004; Schuster y Visvesvara, 2004a; Suárez, *et al.*, 2002).

Naegleria fowleri es un ameboflagelado termófilo, que tolera temperaturas de 40- 45°C. *N. fowleri* tiene tres estadios en su ciclo de vida: trofozoíto, quiste y temporalmente flagelado; el trofozoito mide de 10 a 20 µm de diámetro; es ancho y redondo y generalmente presenta un seudópodo en la parte anterior (lobópodo), el cual surge del citoplasma; contiene un núcleo principal con un nucleolo central denso; presenta numerosas vacuolas y mitocondrias; cuando el medio no es favorable se forma el quiste. El quiste es esférico y liso, mide de 7 a 12 µm de diámetro, tiene de dos a tres poros, y presenta baja resistencia a la desecación. Cuando una amiba está expuesta a agua destilada, puede transformarse temporalmente a un estado flagelado (IMSS, 2004).

La infección causada por *N. fowleri*, MAP, se presenta en individuos sanos, con el antecedente reciente de haber realizado actividades en el agua. Su principal hábitat es el agua de piscinas (termales), grifos, lagos (asociada a los meses de verano con temperaturas ambientales elevadas); la composición química del agua, temperatura, pH y la acumulación de materia orgánica favorecen la multiplicación de las amibas. Aunque 0.5 partes por millón (ppm) de cloro pueden matar a *N. fowleri*, la cloración insuficiente de las aguas de albercas permite sobrevivir a un número suficiente de amibas. Actualmente es insuficiente la información respecto de la respuesta inmunológica del

organismo a la infección por *N. fowleri*; probablemente esto se debe a que los pacientes fallecen antes o al mismo tiempo en que se producen los niveles de anticuerpos detectables. Actualmente no se sabe si existen factores genéticos de otra índole que predispongan a la MAP (IMSS, 2004).

2.1.2 *Acanthamoeba* spp.

Acanthamoeba es un protozooario causante de diversas infecciones en el ser humano principalmente en individuos inmunocompetente e inmunosuprimido; aunque se ha reportado como "biota normal" en individuos sanos (IMSS, 2004). Varias especies de este género pueden causar diversas infecciones en el ser humano, no sólo es causante de la encefalitis granulomatosa amibiana, sino también de infecciones oculares, principalmente en individuos usuarios de lentes de contacto (Bonilla, *et al.*, 2004; Schuster y Visvesvara, 2004a; Suárez *et al.*, 2002). También se han reportado casos de neumonitis y dermatitis causados por esta amiba (Schuster y Visvesvara, 2004b; Galarza *et al.*, 2006). La capacidad de formar quistes resistentes (en comparación a los quistes del género *Naegleria*) en condiciones desfavorables le facilita una amplia distribución, así como también la existencia de bacterias en su interior las cuales les sirven de alimento que les permite su desenquistamiento y adaptación al medio (Bonilla *et al.*, 2004).

El ciclo de vida de las diferentes especies de acanthamebas presenta una forma vegetativa o trofozoito y una forma quística o quiste. Los trofozoitos ameboides de las diferentes especies de *Acanthamoeba* son irregulares y presentan múltiples proyecciones pseudopodiales retráctiles, filamentosas o espinosas llamadas acantópodos. El tamaño de los trofozoitos varía de acuerdo a cada especie, con promedios de 20 a 40 μ . El citoplasma es abundante y tiene un aspecto granular y vacuolar; además tienen un núcleo claro, central y esférico con un prominente y denso nucleolo redondeado.

Las acanthamebas se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza, se han aislado de enfriadores de agua, filtros de acondicionadores de aire, agua de mar, agua de charcos, aguas residuales, lagunas, ríos, polvo, estaciones de

lavado ocular, incluso de la boca y de la nariz de individuos asintomáticos (Oddó, 2006).

2.1.3 *Balamuthia mandrillaris*

Otra especie es *Balamuthia mandrillaris*, amiba oportunista, cuyo nombre se debe a que fue aislada de mandriles. En 1990, Visvesvara la ubica dentro del grupo Leptomyxide, siendo reclasificada como *Balamuthia* en 1993. Esta amiba es causante de encefalitis granulomatosa y lesiones cutáneas, presentando una patología similar al género *Acanthamoeba*. Los casos que han sido reportados en América Latina (Perú, Argentina y México) están asociados con exposición a aguas de ríos.

El ciclo de vida de *B. mandrillaris* es probablemente semejante al de *Acanthamoeba* sp., al igual que el aspecto y el tamaño de los trofozoitos y quistes. Sin embargo, los trofozoitos, que miden de 15 a 60 μ , tienen un peculiar retículo endoplasmático acintado, y se desplazan lentamente mediante amplias proyecciones aplanadas, llamadas lamelipodios, a diferencia de las prolongaciones espinosas del género *Acanthamoeba*. Los quistes miden de 15 a 30 μ de diámetro y tienen una triple pared característica (Oddó, 2006).

Balamuthia mandrillaris no había sido aislada del medio ambiente, como *Naegleria* y *Acanthamoeba*, solamente se había recuperado de muestras de autopsia de humanos y animales infectados; empero recientemente se ha publicado el aislamiento de esta amiba de vida libre del ambiente en un entorno asociado a un caso de encefalitis (Oddó, 2006).

2.1.4 *Sappinia diploidea*

Sappinia diploidea se ha encontrado como otro causante de encefalitis. Solamente se ha reportado un caso de encefalitis, en donde no se observó

formación de granulomas como la encefalitis causada por *Acanthamoeba*. Anteriormente la amiba se había aislado del ambiente y de las heces de los seres humanos, alces, bisontes y ganado, pero nunca se le había implicado en una patología. Con el descubrimiento gradual de patógenos, se piensa que otros patógenos amibianos están esperando ser reconocidos por su capacidad para producir citopatología en tejido fino, esto puede indicar su potencial para causar enfermedad (Gelman *et al.*, 2003; Schuster y Visvesvara, 2004b; Galarza *et al.*, 2006).

2.2 Aguas subterráneas

Las fracciones de agua procedentes de glaciares, ríos o escorrentia de lluvias que penetra en las rocas de la litosfera, reciben el nombre de aguas subterráneas (Llopis, 1970). El agua subterránea se considera frecuentemente como una fuente inagotable debido a su disponibilidad y buena calidad. El agua subterránea puede a menudo extraerse por medio de pozos que se perforan y que se construyen en lugares deseados. Localizada en las profundidades debajo del suelo, está resguardada de los cambios de temperatura y protegida de la evaporación y es menos vulnerable a la contaminación, que es un riesgo constante del agua en la superficie (Price, 2003).

Las grandes reservas de agua subterránea se denominan acuíferos (Jiménez, 2001). En sentido estricto, acuífero es una formación geológica, la cual pueden aportar agua subterránea en cantidad y calidad económicamente asequibles. El acuífero es parte de una formación que contiene material saturado y material suficiente para proveer de cantidades significativas de agua a pozos y manantiales (Price, 2003).

Los tipos de acuíferos son: Los acuíferos colgados que se presentan por debajo del nivel freático una o más capas de material de baja conductividad hidráulica. Este tipo de acuífero no constituye una fuente de abastecimiento confiable para lapsos largos; a menudo sucede que la perforación de estos acuíferos o la profundización de pozos, traspasan la capa de baja

permeabilidad subyacente y ocasiona que el agua se escape al drenar por esta vía (Price, 2003).

En un acuífero no confinado o libre, la parte superior de la zona saturada –el nivel freático- está a la presión atmosférica. En un acuífero confinado, el espesor efectivo del acuífero se encuentra entre dos capas de permeabilidad, y en cualquier lugar la presión es mayor que la atmosférica (Price, 2003).

En los sedimentos de los ecosistemas acuáticos las comunidades microbianas catalizan procesos biogeoquímicos integrales en los flujos de carbono y en los ciclos de nutrientes (Jones y Mulholland, 2000). Las condiciones de vida en este conjunto de sistemas pueden ser muy diferentes. La fauna subterránea aparece más diferenciada y caracterizada cuando el origen del alimento está más profundo, entonces su densidad es definida por el suministro del mismo; a su vez este aporte puede tener un efecto negativo, pues si hay mucha materia orgánica, se desarrollan bacterias y la concentración de oxígeno disminuye (Margalef, 1983).

El pH del agua subterránea se presenta entre 7 y 8 en una solución neutra que varía con la temperatura la cual va de 7°C a 25°C (Price, 2003).

Uno de los aspectos físicos más importantes de la calidad del agua subterránea es su temperatura. El agua subterránea en los primeros metros de profundidad de la superficie terrestre experimenta fluctuaciones de temperatura; en las regiones templadas, la fluctuación disminuye con la profundidad y se manifiestan cambios insignificantes, a los 10 m. de profundidad la temperatura es aproximadamente igual a la temperatura anual del aire y es marcadamente constante. En México, en particular en la zona de la Sierra Madre Occidental y en las Cuencas Aluviales Centrales, existe un gradiente geotérmico de 31.4 a 39.3°C/km, el cual es considerado mayor en lugares de la Faja Transvolcánica Mexicana (Price, 2003).

En muchas ocasiones, el proceso de contaminación de las aguas subterráneas, se ve facilitado debido a la lenta circulación de las aguas, capacidad de

adsorción de los terrenos y el pequeño tamaño de los poros del suelo y puede tardar mucho en ponerse en evidencia. En consecuencia, existe dificultad acerca de la percepción de la contaminación e ignorancia sobre los riesgos de la contaminación.

De los recursos acuáticos existentes en México, el agua subterránea es una de las principales fuentes de abastecimiento de agua potable. En el Valle de México el 70 % de la población se abastece con agua extraída a través de pozos. De acuerdo con la Comisión Nacional del Agua hasta ahora se han identificado en México 459 acuíferos con más del 20% de sobreexplotación, la extracción promedio anual de éstos se calcula en 24 km³ la cual es a través de 140 mil aprovechamientos subterráneos. El mayor número de éstos se encuentran en el noroeste del país, sin embargo los que reciben una descarga significativa se localizan en el suroeste; de hecho a excepción de esta zona, existen problemas de disponibilidad debido a que las recargas son menores a las extracciones, esto se agrava aún más por el deterioro de su calidad, debido a la contaminación (Campos, 2007).

2.3 ANTECEDENTES

2.3.1 Amibas de vida libre.

Entre los estudios de amibas de vida libre realizados en aguas que se utilizan en diferentes actividades humanas, se pueden mencionar los siguientes:

Bonilla y colaboradores en el 2000, reportaron un estudio realizado en la zona de la Huasteca Potosina, México. En este estudio se tomaron muestras de 12 sitios utilizados para la natación localizados en albercas, cascadas y lagunas; durante las temporadas de secas y lluvias. Se obtuvo un total de 54 aislamientos amibianos en 9 de los 12 lugares muestreados, siendo los géneros *Naegleria* y *Acanthamoeba* los más frecuentes. Hubo un mayor número de aislamientos durante la temporada seca y además de que un 70%

de las amibas fueron aisladas de las albercas. Se presentaron 5 cepas de *Naegleria*, 4 de *Acanthamoeba* y 3 de *Hartmannella* que resultaron patógenas en ratones inoculados por vía intracerebral.

Suárez *et al.* en el 2002, determinaron la presencia del género *Acanthamoeba* en diversas fuentes de agua en la Ciudad de Ica, al sur de Lima, Perú. Las muestras analizadas fueron de una laguna, estanques para rehabilitación, pozos y cisternas y llegaron a la conclusión que la presencia del género *Acanthamoeba* era frecuente en fuentes de agua naturales en la ciudad de Ica, aunque es necesario realizar un estudio de mayor cobertura para confirmar esta situación.

Muñoz *et al.* en el 2003 realizaron muestreos en 8 piscinas de Santiago de Chile. Encontraron *Hartmannella vermiformes* (12.5%); *Vannella* sp. (9.4%); *Naegleria* (7.8) y *Acanthamoeba* (4.7%). Concluyendo así que las amibas más peligrosas para el hombre eran *Naegleria* y *Acanthamoeba*; y recomendando recirculación del agua de las piscinas así como una adecuada filtración de los sistemas. Cabe mencionar que la piscina más contaminada era abastecida con agua utilizada para riego proveniente de la cordillera.

Ávila *et al.* en el año 2006 determinaron la presencia de AVL además de la calidad microbiológica de las aguas de recreación del parque "Las Cocuizas", Macaray, Venezuela. Dentro de los estudios microbiológicos encontraron a *Naegleria fowleri*, evidenciando así que existe riesgo de contaminación por diversos microorganismos patógenos transmitidos por el agua y esto puede ser peligroso para los usuarios del parque.

De los pocos estudios realizados de las AVL en agua subterránea, se encuentran los siguientes:

Novarino *et al.* (1997), realizaron un estudio del agua subterránea del acuífero llamado El Cabo en el estado de Massachussets, E. U., concluyendo que en las comunidades protistas existentes en estas aguas predominaron los flagelados heterotróficos, pero también reportaron amibas desnudas

pertenecientes a los géneros, *Acanthamoeba*, *Hartmannella*, *Mayorella*, *Rosculus*, *Vahlkampfia*, *Vannella* y *Platyamoeba*.

Ramírez *et al.* (2001), en el acuífero del Valle del Mezquital, muestrearon en pozos dentro de la zona de irrigación con agua residual a diferentes profundidades para detectar la presencia de estos organismos. Encontrando que la mayor incidencia de las AVL fue en el mes de agosto, las amibas se presentaron con mayor frecuencia en el nivel superficial de los pozos de agua; siendo *Acanthamoeba* y *Hartmannella* los géneros que tuvieron mayor presencia.

Campos (2007) reportó un estudio acerca de la distribución temporal de AVL en dos manantiales del acuífero de Cuernavaca, donde encontró que los géneros *Hartmannella* y *Vahlkampfia* fueron los que tuvieron mayor incidencia, reportando el mayor número de aislamientos amibianos en los meses de noviembre, marzo y abril.

2.3.2 Acuífero de Cuernavaca, Morelos:

Durante las últimas dos décadas el acuífero de Cuernavaca se ha visto sometido a un acelerado desarrollo urbano, industrial y de servicios, así como actividades que han generado importantes demandas de agua. A fines de la década de los '70 y principios de los '80 se elaboraron y se ejecutaron estudios para un mejor conocimiento geohidrológico, con el objetivo principal de determinar su funcionamiento hidráulico y disponibilidad de agua subterránea y con base en ello establecer normas y criterios para un manejo racional del acuífero (CNA, 2002).

En años recientes y debido al creciente desarrollo, los usuarios del área industrial y de servicios ya establecidos están solicitando incrementos de agua como complemento al aumento de producción o la diversificación de sus servicios. Caso contrario al desarrollo urbano e industrial ha sido la disminución de las actividades agrícolas, debido principalmente a que las zonas urbanas

compiten por espacio con las primeras, generando un cambio progresivo del uso de suelo y como consecuencia del uso del agua. Entre las actividades agrícolas que se han desarrollado se encuentra la creciente instalación de viveros o invernaderos, que progresivamente contribuyen con la demanda de agua para riego de plantas de ornato para consumo de centros de población locales y mercados circunvecinos, aprovechando las bondades del clima del Valle de Cuernavaca (CNA, 2002).

Un aspecto importante es la continua degradación en la calidad del agua del acuífero de Cuernavaca debido a que se descargan aguas residuales domésticas y municipales sin tratamiento en arroyos y ríos, que debido a la alta vulnerabilidad de los materiales en que van circulando, infiltran y alteran la calidad del agua subterránea. En algunos pozos de la porción Sur del Valle de Cuernavaca se han identificado concentraciones de nitratos que superan los límites permisibles de acuerdo con las normas oficiales mexicanas establecidas (CNA, 2002).

3. JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades causadas por amibas de vida libre se podrían considerar de baja incidencia, en comparación con las enfermedades causadas por otros protozoos; pero destacan por la falta de un tratamiento efectivo, la amplia distribución y extrema virulencia de las AVL.

El interés en las AVL se ha incrementado en los últimos años, sin embargo, la mayor parte de los estudios se han enfocado principalmente al grupo de las especies patógenas para el hombre. El estudio de las AVL (patógenas y no patógenas) desde el punto de vista ecológico es sumamente escaso, ya que aunque se conoce de manera general su distribución en el ambiente y las condiciones ambientales en las que se pueden encontrar, es necesario realizar más estudios para identificar aspectos detallados de su relación con factores bióticos y abióticos en el ambiente y como las afectan.

Por otra parte, de todos los ambientes, la microbiología del agua subterránea es una de las menos estudiadas. Hasta hace relativamente poco tiempo se consideraba que la posibilidad de que ocurrieran procesos biológicos en el agua subterránea era muy baja y no significativa. Sin embargo, en las últimas décadas algunos estudios han reportado que los microorganismos existen en el agua subterránea profunda y que pueden realizar funciones importantes.

Específicamente se conoce poco de los aspectos microbiológicos de la contaminación que ocurre en este ambiente, en comparación con las aguas superficiales. El interés en las investigaciones de la microbiología del agua subterránea se ha incrementado por la creciente demanda de esta fuente, y como un factor de riesgo para la salud.

La presente investigación contribuirá al conocimiento de las poblaciones de las amibas de vida libre presentes en el agua subterránea. Y en segundo término se conocerá la calidad amebológica de los pozos monitoreados.

2. OBJETIVOS

General

Detectar las amibas de vida libre en 10 pozos del Acuífero de Cuernavaca, Morelos.

Particulares

1. Conocer la riqueza específica de las amibas de vida libre.
2. Determinar la distribución espacial y temporal de las amibas de vida libre.
3. Relacionar las amibas de vida libre presentes con los siguientes parámetros fisicoquímicos: pH, temperatura y oxígeno disuelto.

3. ÁREA DE ESTUDIO

La poligonal que define al acuífero de Cuernavaca se localiza entre las coordenadas geográficas de 18° 47' y 19° 07' de latitud Norte y los 99° 07' y 99° 25' de longitud Oeste del meridiano de Greenwich. El acuífero Cuernavaca colinda en la porción Norte con las Cuencas Hidrológicas del Valle de México y del río Lerma. Al Este y Sur colinda con los acuíferos de Cuautla-Yautepec y Zacatepec, respectivamente, ambos en el estado de Morelos. Al poniente colinda con la subcuenca del río Chalma del estado de México (Figura 1).

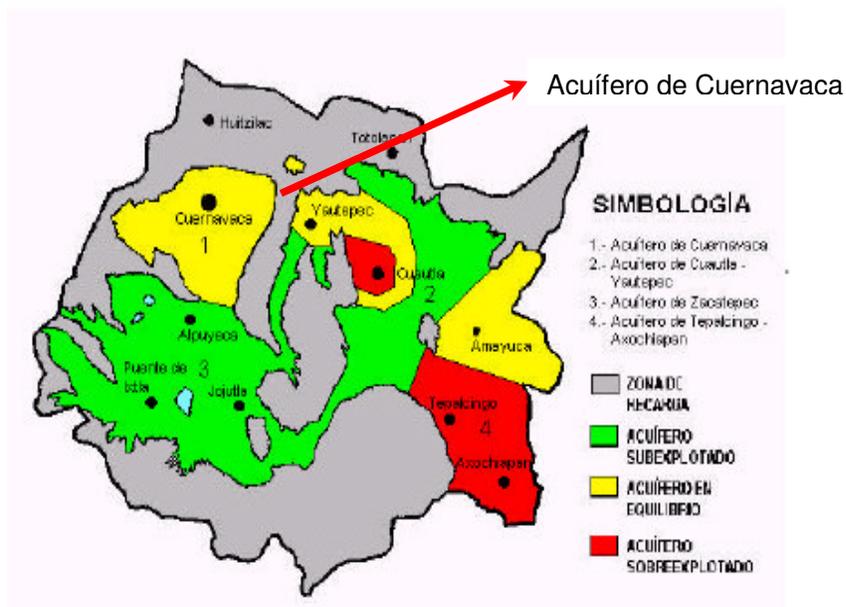


Figura 1. Aguas subterráneas del estado de Morelos

Municipios

Los municipios que se incluyen en la zona acuífera de Cuernavaca son: Huitzilac, Cuernavaca, Emiliano Zapata, Jiutepec, Temixco y la porción Norte del municipio de Xochitepec y poniente de los municipios de Tepoztlan y Yautepec, todos en el estado de Morelos. La zona Norte de la región hidrogeológica incluye parcialmente los municipios de San Pedro Atlapulco, Ocuilán de Arteaga y Chalma del estado de México y las delegaciones de Milpa Alta y Tlalpan del Distrito Federal.

La mayor población del estado de Morelos se concentra en la capital del estado y su zona conurbada, que incluye las cabeceras municipales de Jiutepec, Temixco y Emiliano Zapata. (CNA, 2002).

Clima

Los tipos de climas que se definen en el acuífero de Cuernavaca forman cinturones climáticos con orientación de Este a Oeste, los cuales son poco oscilantes a lo largo del año. Los climas semifrío y templado se localizan en la porción Norte del acuífero y el clima semicálido y cálido al centro y Sur del acuífero, respectivamente (CNA, 2002).

Temperatura

La temperatura varía según el tipo de clima que se presente a lo largo del acuífero, los climas semifríos presentan temperaturas de 5 a 12° C, el clima templado entre 12 y 18° C, el clima semicálido tiene temperaturas que fluctúan entre 18 y 22° C (CNA, 2002).

Precipitación

En la porción alta de la región hidrogeológica se genera una precipitación del orden de 1,100 a 1,500 mm anuales. En la porción central del valle se genera una precipitación pluvial del orden de los 950 a 1,100 mm anuales y en la porción Sur del valle la precipitación pluvial que se genera es del orden de los 850 a 950 mm anuales. En general, las lluvias que inciden sobre el acuífero Cuernavaca inician durante el mes de mayo y terminan a finales del mes de octubre (CNA, 2002).

Región hidrológica

El acuífero Cuernavaca se ubica en la región hidrológica del río Balsas, que incluye parcialmente a los estados de Jalisco, Michoacán, Guerrero, México, Oaxaca, Puebla Tlaxcala, Veracruz, Distrito Federal y la totalidad del estado de Morelos, a su vez esta región se divide en las subregiones del Alto, Medio y Bajo Balsas (Figura 2).

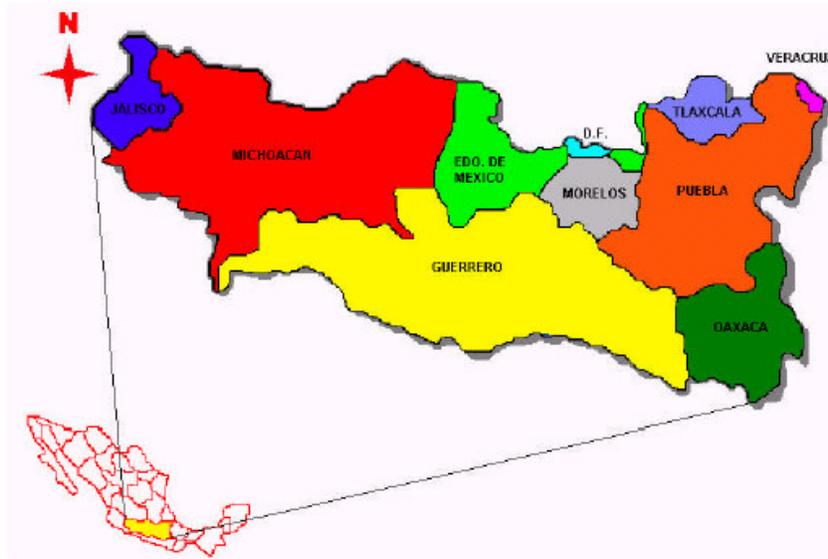


Figura 2. Estados que se incluyen en la región del Balsas.

Subregión

La subregión donde se localiza el acuífero Cuernavaca es la del Alto Balsas; ésta subregión incluye parcialmente a los estados de México, Oaxaca, Puebla, Tlaxcala, Veracruz, Distrito Federal y la totalidad del estado de Morelos. En la subregión del Alto Balsas a su vez se incluyen las cuencas de Amacuzac, Alto y Bajo Atoyac, Cuenca Cerrada de Oriental, Nexapa, Mixteco y Tlapaneco (CNA, 2002).

Cuenca

En la porción central de la cuenca del río Amacuzac se incluye el acuífero Cuernavaca; la superficie de drenaje de dicha cuenca es de 9,470 km² de los cuales 4,392 km² se localizan en Morelos. Las subcuencas que se incluyen en esta cuenca hidrográfica son: Chontalcuatlán, San Jerónimo, Chalma, Tembembe, Apatlaco, Yautepec y Cuautla (CNA, 2002).

Geología

La columna estratigráfica en el acuífero Cuernavaca se representa por 13 tipos de unidades de roca, las cuales abarcan del período Cretácico Inferior (110 millones de años) al Reciente; en la columna se observan rocas ígneas

intrusivas y extrusivas y grandes afloramientos de rocas sedimentarias marinas y continentales (CNA, 2002).

6. METODOLOGÍA

Trabajo de campo:

Muestreos

Se realizaron 12 muestreos mensuales en 10 pozos: Ojo de agua, Tezoyuca, Zapata, Texcal, CIVAC, Tabachines, Herradura, Universidad, H. Prado y Cañada, localizados en el Acuífero de Cuernavaca, Morelos, los cuales son pozos que están en uso y son utilizados como suministro de agua potable y recreativo.



Fotografía 1: Pozo Ojo de agua



Fotografía 2: Pozo Tezoyuca



Fotografía 3: Pozo Zapata



Fotografía 4: Pozo Texcal



Fotografía 5: Pozo CIVAC



Fotografía 8: Pozo Universidad



Fotografía 6: Pozo Tabachines



Fotografía 9: Pozo H. Prado



Fotografía 7: Pozo Herradura



Fotografía 10: Pozo Cañada

El material utilizado tanto para la toma de muestras, como para el análisis en el laboratorio se esterilizó previamente en autoclave a 15 libras de presión durante 15 minutos. Se colectaron las muestras de agua en botellas de plástico de 1000 ml. Para la toma de la muestra en cada pozo, simplemente se abrió una válvula, debido a que estos pozos ya están en uso y por lo tanto están entubados. Las muestras se tomaron antes del dosificador de cloro.

Se realizó *in situ* la medición de los siguientes parámetros físicos y químicos: pH (potenciómetro), Temperatura (termómetro) y Oxígeno disuelto (OXIMETRO YSI MOD 51B). Las muestras de agua se trasladaron a temperatura ambiente al laboratorio para su procesamiento.

Trabajo de laboratorio:

Cultivo.

Se concentraron tres volúmenes diferentes de muestra (50ml, 10ml y 1ml), utilizando una centrifuga (BECKMAN- MODELO TJ-6) a 3000 r.p.m., durante 15 minutos, se desechó el sobrenadante y el sedimento se inoculó en cajas petri de tres divisiones con el medio agar no nutritivo adicionado con *Enterobacter aerogenes* (NNE) muerta por calor, la cual sirve como fuente de alimento para las amibas.

Cuantificación

Para la cuantificación de las amibas se utilizó una modificación del Número Mas Probable (NMP) (Gudiño, 2003.), para ello se sembraron los volúmenes concentrados (descritos en el párrafo anterior) de 50, 10 y 1 ml con cinco repeticiones en las cajas con división triple. Se detectaron los cultivos positivos y negativos para el crecimiento de las amibas y con los resultados obtenidos se consultaron las tablas del NMP (CIECCA, 1985).

Incubación

Para el desarrollo de las amibas, las placas se incubaron a una temperatura de 25° C y para detectar el crecimiento se revisó a partir de los 7 días con un invertoscopio Carl Zeiss a 10X y 20X.

Identificación

De las cajas sembradas se realizaron preparaciones en fresco utilizando medio Ringer para hacer un lavado y un ligero raspado en el agar con un asa de siembra, de esta suspensión se tomó una gota y se colocó en la superficie del portaobjetos para su observación en el microscopio de contraste de fases (Carl Zeiss) a 40X y 100X. La determinación del género y especie se realizó mediante el uso de la clave de Page (1988), basándose en la morfología de los trofozoitos y de los quistes de las amibas (Medina, 2006).

Estadística

Para el análisis estadístico se utilizó el análisis de Coeficiente de Correlación de Pearson para encontrar la correlación de los parámetros fisicoquímicos con la presencia de amibas (Durán *et al.*, 2003).

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Presencia de las AVL.

En la tabla 1, podemos observar que en 9 de los 10 pozos muestreados se encontraron amibas, el pozo en el cual no se detectaron AVL en ninguno de los muestreos fue Cañada. De los pozos donde hubo presencia de amibas, Tezoyuca y Hotel del Prado fueron los pozos en los que se detectaron amibas en más meses (6) y en Texcal, CIVAC y Universidad solamente se encontraron en un mes.

Con respecto a los meses en que se detectaron AVL en los pozos, se observó que en mayo, agosto y diciembre tuvieron presencia en más pozos (4); en julio, febrero y marzo se presentaron solamente en un pozo y en octubre no se detectaron en ninguno.

La baja presencia de AVL en el acuífero de Cuernavaca, se pudo deber a que la contaminación orgánica presente en el acuífero se encuentra todavía en niveles bajos (García, 2007; Monroy, 2007; Rubio, 2007), comparado con lo que se observó en el acuífero del Valle del Mezquital, en donde se detectó una importante contaminación orgánica, que pudo favorecer la mayor presencia de amibas (Ramírez *et al.*, 2001).

	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr
Ojo de agua	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-
Tezoyuca	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-
Zapata	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Texcal	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CIVAC	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Tabachines	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+
Herradura	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+
Universidad	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
H. Prado	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+
Cañada	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabla 1. Presencia y ausencia de Amibas de Vida Libre en los pozos del acuífero de Cuernavaca. Mayo 2005 a Abril 2006.

7.2 Riqueza específica.

En la tabla 2 se muestran las 19 especies pertenecientes a 14 géneros, encontradas durante el periodo de muestro de Mayo del 2005 a Abril del 2006 en los 10 pozos estudiados.

Género	Especie
<i>Acanthamoeba</i>	<i>polyphaga</i>
<i>Cochliopodium</i>	<i>actinophorum</i>
<i>Echinamoeba</i>	<i>exundans</i>
	<i>silvestris</i>
<i>Guttulinopsis</i>	<i>nívea</i>
<i>Hartmannella</i>	<i>vermiformis</i>
	<i>cantabrigiensis</i>
<i>Naegleria</i>	<i>sp.</i>

<i>Nuclearia</i>	<i>sp.</i>
<i>Platyamoeba</i>	<i>placida</i>
<i>Rosculus</i>	<i>ithacus</i>
<i>Stachyamoeba</i>	<i>lipophara</i>
<i>Thecamoeba</i>	<i>quadrilineata</i>
<i>Vahlkampfia</i>	<i>avara</i>
<i>Vannella</i>	<i>cirrifera</i>
	<i>lata</i>
	<i>simplex</i>
<i>Vexillifera</i>	<i>bacillipedes</i>
	<i>sp.</i>

Tabla 2: Amibas identificadas en el Acuífero de Cuernavaca, Morelos.

La mayor riqueza se presentó en el pozo de Tabachines con 9 especies (*Vannella cirrifera*, *Vannella lata*, *Vannella simplex*, *Thecamoeba quadrilineata*, *Vexillifera bacillipedes*, *Hartmannella vermiformis*, *Echinamoeba silvestris*, *Echinamoeba exundans* y *Nuclearia sp.*), la cual se concentró principalmente en el mes de junio; le siguió Tezoyuca con 8 especies (*Hartmannella vermiformis*, *Naegleria sp.*, *Platyamoeba placida*, *Vannella cirrifera*, *Stachyamoeba lipophara*, *Cochliopodium actinophorum*, *Guttulinopsis nivea* y *Hartmannella cantabrigiensis*), que estuvieron distribuidas en la mayoría de los meses.

En 5 de los pozos estudiados se detectó una riqueza específica baja (1 a 3 especies), siendo los pozos de Texcal y Universidad los que presentaron una sola especie, *Naegleria sp.* y *A. polyphaga* respectivamente (Tabla 3 y 4).

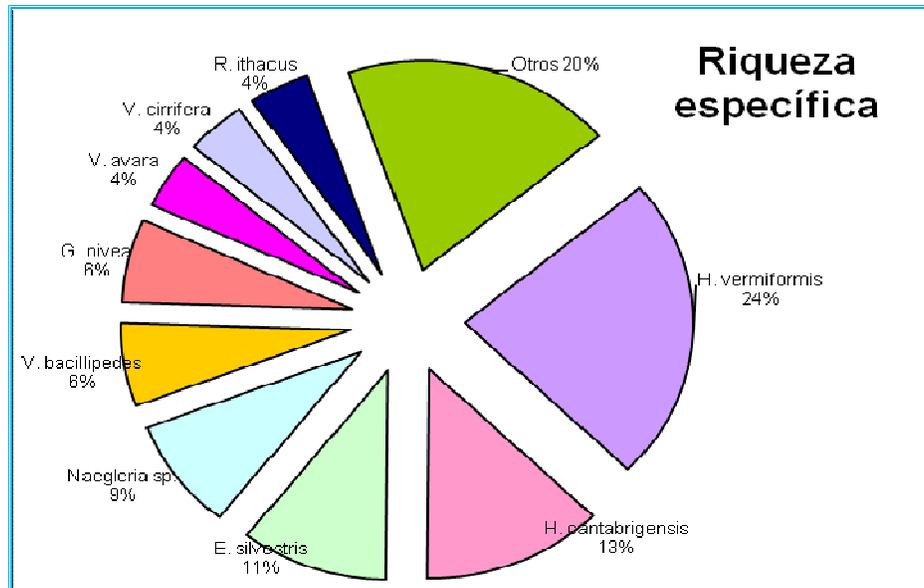
Mes	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic
Localidad								
Ojo de Agua	Ausencia	<i>Naegleria</i> sp <i>R. ithacus</i>	Ausencia	<i>H. cantabrigiensis</i> <i>E. silvestris</i>	<i>G. nivea</i>	Ausencia	<i>V. bacillipedes</i>	Ausencia
Tezoyuca	<i>H. vermiformis</i> <i>Naegleria</i> sp.	<i>P. placida</i> <i>V. cirrifera</i>	<i>Naegleria</i> sp <i>S. lipophara</i>	Ausencia	<i>H. vermiformis</i>	Ausencia	Ausencia	<i>C. actinophorum</i> <i>G. nivea</i>
Zapata	<i>H. vermiformis</i>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	<i>V. bacillipedes</i> <i>H. vermiformis</i> <i>R. ithacus</i>	Ausencia
Texcal	<i>Naegleria</i> sp	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
CIVAC	Ausencia	Ausencia	Ausencia	<i>H. cantabrigiensis</i> <i>E. silvestris</i>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Tabachines	Ausencia	<i>V. cirrifera</i> <i>T. quadrilineata</i> <i>V. lata</i> <i>V. simplex</i> <i>V. bacillipedes</i> <i>Nuclearia</i> sp	Ausencia	<i>H. vermiformis</i> <i>E. silvestris</i>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	<i>E. exundans</i>
Herradura	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	<i>E. silvestris</i>	Ausencia	Ausencia	<i>V. bacillipedes</i>
Universidad	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
H. Prado	<i>H. vermiformis</i> <i>V. avara</i>	Ausencia	Ausencia	<i>H. vermiformis</i>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	<i>G. nivea</i> <i>H. vermiformis</i>
Cañada	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Tabla 3. Riqueza específica de Amibas de Vida Libre en los pozos del acuífero de Cuernavaca. Mayo a Diciembre de 2005.

Mes	Ene	Feb	Mar	Abr
Localidad				
Ojo de agua	<i>H. cantabrigiensis</i>	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Tezoyuca	<i>H. cantabrigiensis</i>	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Zapata	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Texcal	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
CIVAC	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Tabachines	Ausencia	Ausencia	Ausencia	<i>H. vermiformis</i>
Herradura	Ausencia	Ausencia	Ausencia	<i>H. vermiformis</i>
Universidad	Ausencia	<i>A. polyphaga</i>	Ausencia	Ausencia
H. prado	<i>H. cantabrigiensis</i> <i>V. avara</i>	Ausencia	<i>H. cantabrigiensis</i> <i>H. vermiformis</i>	<i>E. silvestris</i>
Cañada	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Tabla 4. Riqueza específica de Amibas de Vida Libre en los pozos del acuífero de Cuernavaca. Enero a Abril 2006.

Se encontraron 19 especies pertenecientes a 14 géneros: *Hartmannella*, *Naegleria*, *Vannella*, *Vahlkampfia*, *Rosculus*, *Platyamoeba*, *Thecamoeba*, *Vexillifera*, *Nuclearia*, *Stachyamoeba*, *Echinamoeba*, *Guttulinopsis*, *Cochliopodium* y *Acanthamoeba*; siendo el género *Hartmannella* el que se presentó con mayor frecuencia con 2 de sus especies: *Hartmannella vermiformis* con el 24% y *H. cantabrigiensis* con el 13% (Gráfica 1). En esta gráfica se contemplaron en el apartado de “otras”, las amibas que se presentaron en un porcentaje menor al 3% y juntas hacen el 20% de las amibas totales; éstas fueron: *Thecamoeba quadrilineata*, *Vannella lata*, *Vannella simplex*, *Stachyamoeba lipophara*, *Nuclearia sp.*, *Platyamoeba placida*, *Cochliopodium actinophorum*, *Echinamoeba exundans* y *Acanthamoeba polyphaga*.



Grafica 1. Riqueza específica de AVL del acuífero de Cuernavaca, Morelos.

Es importante mencionar que *Hartmannella vermiformis* se ha encontrado asociada a algunos padecimientos. Centeno *et al.* (1996), la reportaron en un caso de infección cerebral en humanos y Solarte *et al.* (2006), la asociaron a algunos problemas oftalmológicos; aunque en ambos casos no se pudo comprobar su participación como el agente causante de las infecciones.

En el acuífero hubo presencia de dos de los géneros amibianos reportados como patógenos: *Acanthamoeba* y *Naegleria*; sin embargo se encontraron en porcentajes muy bajos, 3% y 9% respectivamente. En el caso de *Naegleria* probablemente la especie encontrada fue *N. gruberi* (por las características de su quiste) (Page, 1988), que no ha sido reportada como patógena y en el caso de *Acanthamoeba*, la especie que se aisló fue *A. polyphaga*, que no fue patógena cuando se inoculó en ratones (Comunicación personal Elizabeth Ramírez); por lo que su presencia no representó peligro para la salud de los usuarios.

Comparando con el estudio de Campos (2007), realizado en dos manantiales de este acuífero, se encontró que *Hartmannella* se presentó en un porcentaje similar (manantial El Túnel 27% y manantial Las Fuentes 21%) y también

coincidieron en la presencia de los géneros *Naegleria*, *Vannella*, *Vahlkampfia*, *Rosculus*, y *Platyamoeba*.

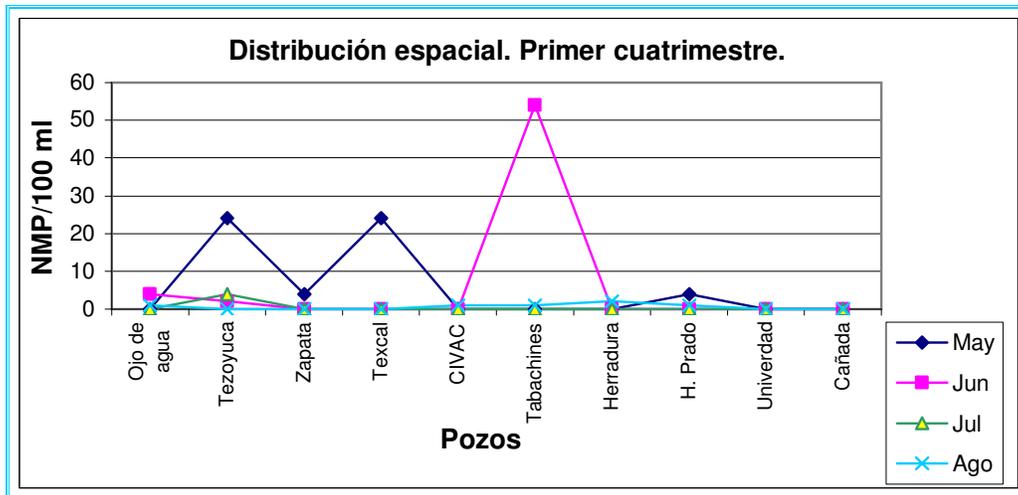
Los géneros *Hartmannella*, *Vexillifera*, *Platyamoeba*, *Echinamoeba*, *Vannella*, *Vahlkampfia* y *Acanthamoeba*, también fueron detectados en el acuífero del Valle del Mezquital; pero *Acanthamoeba*, se encontró en un porcentaje mayor (67.3%) (Ramírez *et al.*, 2001).

De acuerdo a lo referido en el trabajo elaborado por Novarino (1997) de los protistas encontrados en las aguas subterráneas, las amibas que coincidieron con este trabajo fueron *Hartmannella*, *Vahlkampfia*, *Vannella* y *Platyamoeba*.

7.3 Distribución espacial.

Para poder apreciar con detalle la distribución de las AVL en cada uno de los pozos estudiados, ésta se presenta por cuatrimestres (Gráficas 2 a 4).

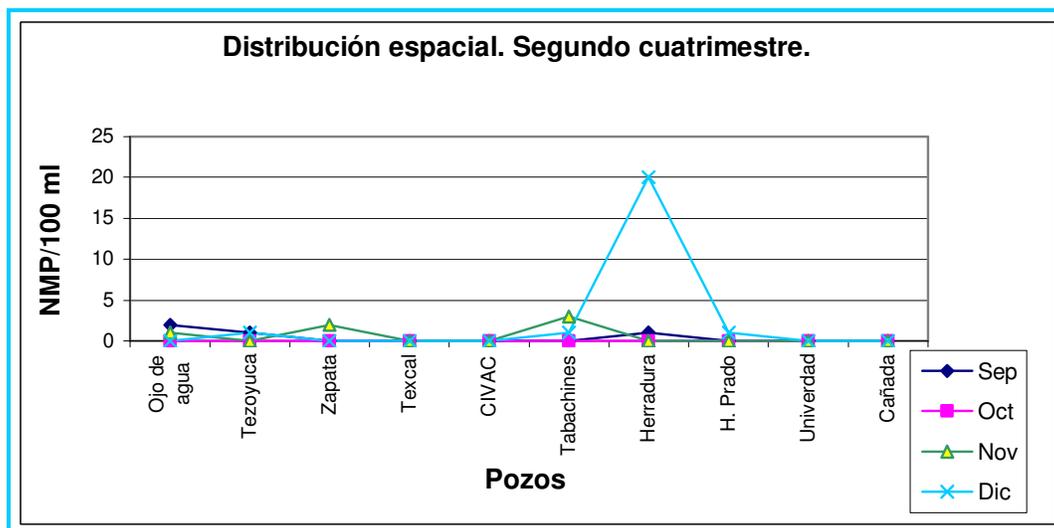
En la gráfica 2, se puede observar que en el primer cuatrimestre del período de estudio (mayo a agosto de 2005), el pozo que tuvo un mayor número de amibas fue Tabachines en el mes de junio con 54 NMP/100ml, esto posiblemente se debió a una contaminación puntual, porque en los demás meses, el número fue bajo o estuvieron ausentes; le siguieron Tezoyuca y Texcal, ambos con 24 NMP/100ml en mayo y los demás pozos se mantuvieron por debajo de los 5 NMP/100ml.



Gráfica 2. Distribución espacial de las AVL en los pozos del acuífero de Cuernavaca, en el primer cuatrimestre de estudio (mayo a agosto de 2005).

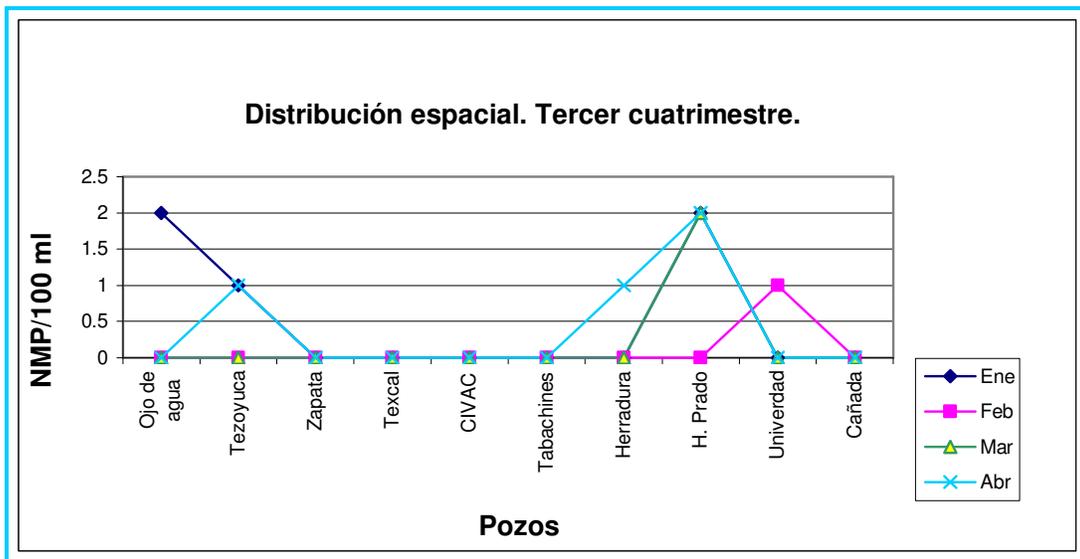
En la gráfica 3 se observa que en el segundo cuatrimestre (septiembre a diciembre de 2006) las mayoría de los pozos se mantuvieron por debajo de los 5 NMP/100ml,

el único pozo que presentó un incremento por encima de este valor fue Herradura en el mes de Diciembre, esto posiblemente se debió a una contaminación puntual, semejante a lo que sucedió en Tabachines.



Gráfica 3. Distribución espacial de las AVL en los pozos del acuífero de Cuernavaca, en el segundo cuatrimestre de estudio (septiembre a diciembre de 2005).

En la gráfica 4 se puede observar que en el tercer cuatrimestre (enero a abril de 2006), el número de amibas fue muy bajo de 0 a 2 NMP/100ml, alcanzando el valor máximo en Ojo de Agua en enero y Hotel del Prado en marzo y abril. Los demás pozos presentaron valores de 0 NMP/100ml en la mayoría de los meses.

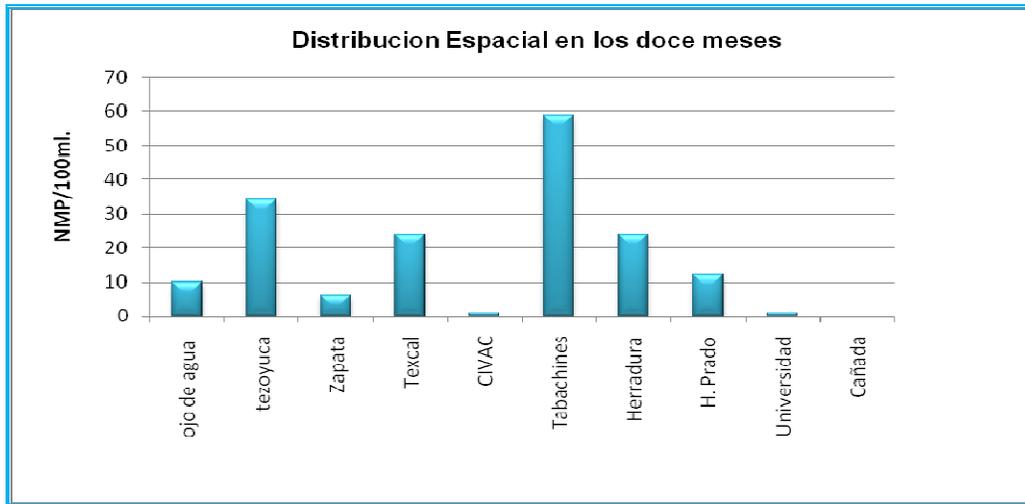


Gráfica 4. Distribución espacial de las AVL en los pozos del acuífero de Cuernavaca, en el tercer cuatrimestre de estudio (enero a abril de 2006).

En la gráfica 5 se presenta la distribución espacial general de las AVL, que se obtuvo analizando el número total de amibas en cada pozo durante los doce meses de estudio. Los números totales de AVL encontrados en los pozos, se pueden considerar bajos (0-59 NMP/100ml), el valor más alto se encontró en el pozo Tabachines y los más bajos en CIVAC y Universidad; en Cañada estuvieron ausentes durante todo el período de muestreo, por lo tanto fue el pozo de mejor calidad con respecto a las amibas.

Las bajas concentraciones amibianas encontradas en los pozos estudiados, coincidieron con las reportadas en 2 manantiales del mismo acuífero (5 y 6 NMP/100ml), reportado por Campos en 2007; pero contrastan con lo reportado

en acuífero del Valle del Mezquital, donde los números fueron más altos (Ramírez *et al.*, 2001).

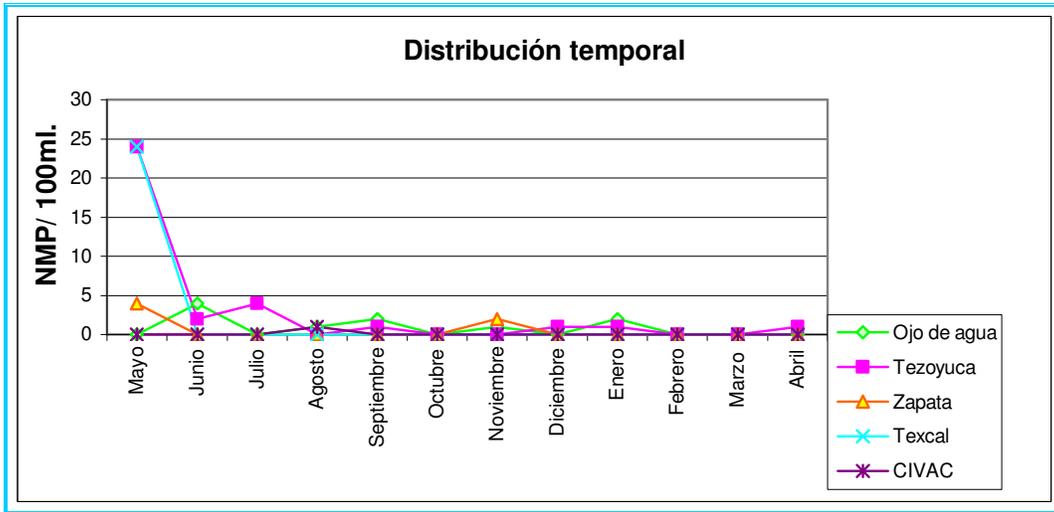


Gráfica 5. Distribución espacial general de AVL en el acuífero de Cuernavaca, Morelos, durante los doce meses de estudio.

7.4 Distribución temporal.

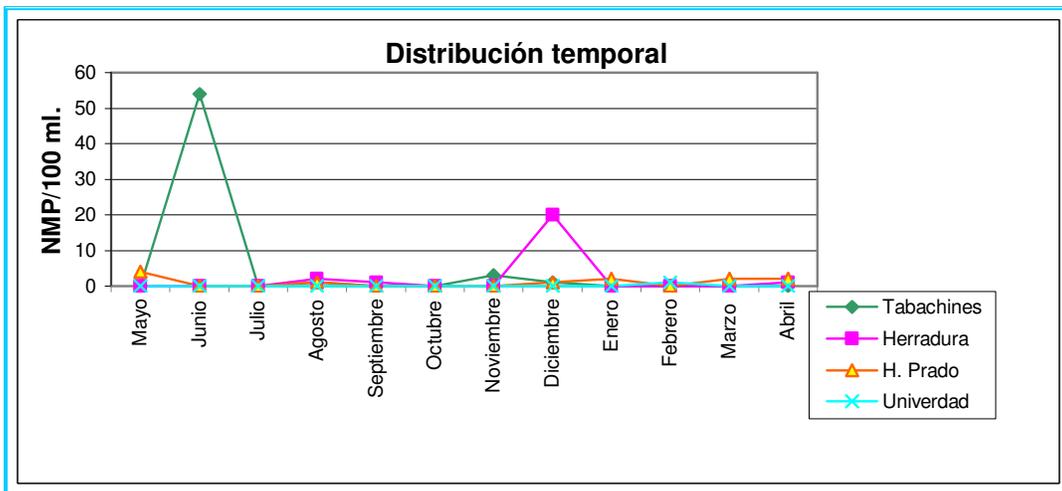
En la gráfica 6 se muestra la distribución temporal de las AVL en los primeros cinco pozos. En general, se puede observar que la distribución de las amibas presentó un comportamiento muy semejante en estos pozos, presentándose ligeros incrementos y descensos durante casi todo el período de estudio, dentro de un corto intervalo. Solamente en mayo se observó un incremento importante de AVL, en los pozos Tezoyuca y Texcal (24 NMP/100 ml).

Con respecto al pozo Tezoyuca, el incremento que se observó en el mes de mayo, probablemente se debió al aumento de sólidos suspendidos en el agua del pozo, aportados por las descargas de aguas residuales (Monroy, 2007). Mientras que en Texcal, se pudo deber a la contaminación bacteriana, que aunque baja, se presentó en este pozo (García, 2007).



Gráfica 6. Distribución temporal de AVL en los primeros cinco pozos estudiados del acuífero de Cuernavaca, Morelos.

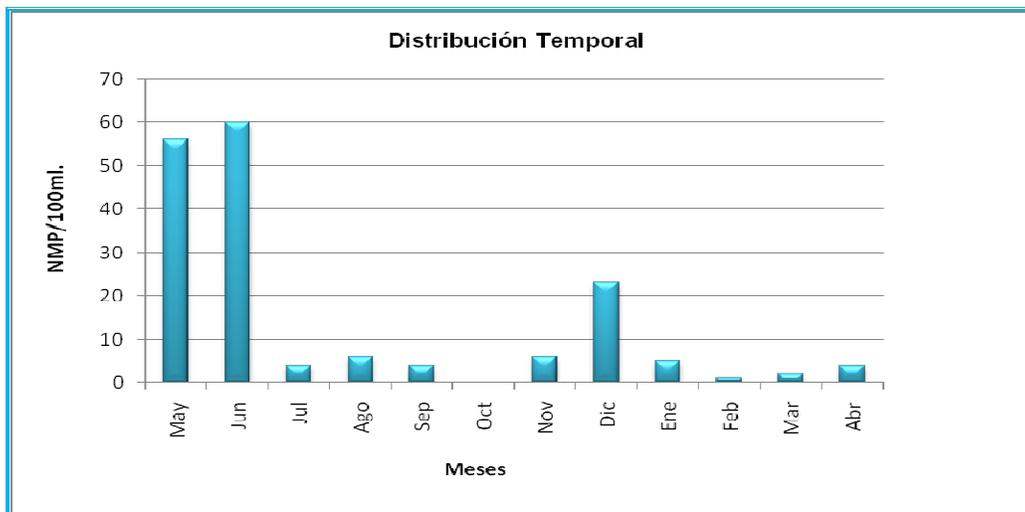
En la gráfica 7 se presenta la distribución temporal de las AVL en los cinco pozos restantes. Se observó que la distribución fue heterogénea entre estos pozos; destacándose un incremento en el mes de junio en el pozo Tabachines y otro en el mes de diciembre en el pozo Herradura, que como ya se menciona anteriormente, se pudieron deber a contaminaciones puntuales aisladas.



Gráfica 7. Distribución temporal de AVL en los restantes pozos estudiados del acuífero de Cuernavaca, Morelos.

En general, los valores de AVL encontrados en el acuífero a lo largo del período de estudio se pueden considerar bajos, como se observa en la gráfica 8. El número total de AVL más alto se presentó en los meses de mayo y junio (56 y 60 NMP/100ml respectivamente), mientras que en febrero se encontró el número mas bajo (1 NMP/100ml) y en octubre fue cero. En los demás meses las AVL se mantuvieron por debajo de los 10 NMP/100ml. Como ya se había mencionado anteriormente estos aumentos son posiblemente dados por contaminaciones puntuales.

En el trabajo realizado en los manantiales del acuífero de Cuernavaca (Campos, 2007), también se presentó en el mes de mayo el mayor número de amibas (6 NMP 100ml), aunque estuvo muy por debajo a lo encontrado en este estudio.



Gráfica 8. Distribución temporal de AVL en todos los pozos del acuífero de Cuernavaca, Morelos.

7.5 Parámetros fisicoquímicos.

En la gráfica 9 se muestra el comportamiento de los parámetros fisicoquímicos durante el periodo de estudio. La temperatura mostró muy poca variación durante los doce meses; los valores promedio de temperatura variaron entre 19.4 - 20.4 °C.

El pH se mantuvo prácticamente en la neutralidad y fue muy constante durante todo el periodo de estudio, el intervalo promedio fue de 6.5 - 6.9.

El parámetro que presentó más variación fue el oxígeno disuelto, el valor mínimo fue de 2.1 mg/L y se encontró en los meses de septiembre y octubre; el valor máximo fue de 4.8 mg/L y se presentó en los meses de mayo, diciembre y marzo.

Los valores de pH y oxígeno disuelto que se reportan como favorables para la presencia de AVL son, pH cercano a la neutralidad y concentraciones de oxígeno mínimas de 1.0 mg/L, estas condiciones se presentaron en los pozos, por lo que no fueron impedimento para la presencia de estas amibas (Bonilla *et al.*, 2004).

En cuanto a la temperatura, el intervalo encontrado (19.4 - 20.4°C), no favoreció la presencia de las amibas patógenas, ya que son termófilas y prefieren temperaturas más altas (por arriba de 30° C); pero no fue obstáculo para la presencia de las amibas no patógenas, que pueden estar presentes a temperaturas menores (Bonilla *et al.*, 2004).

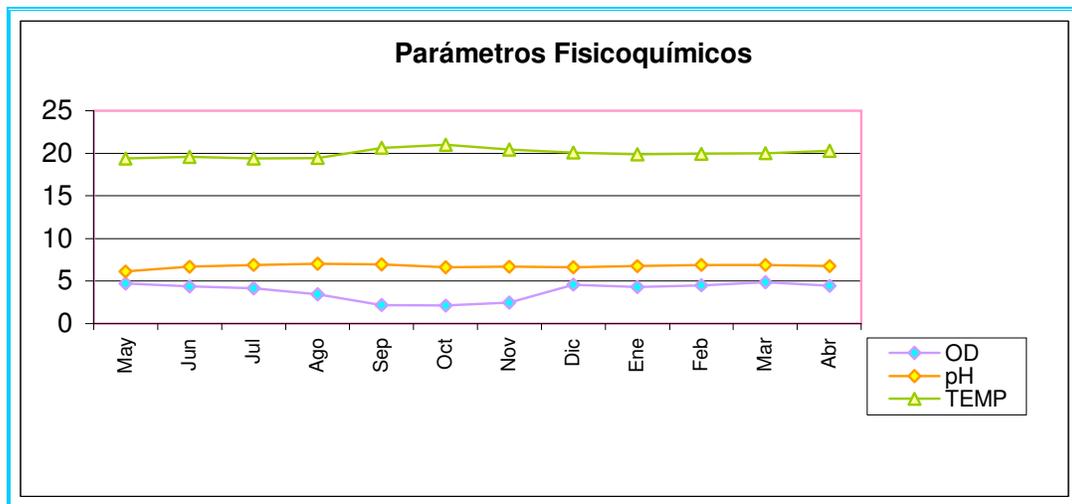
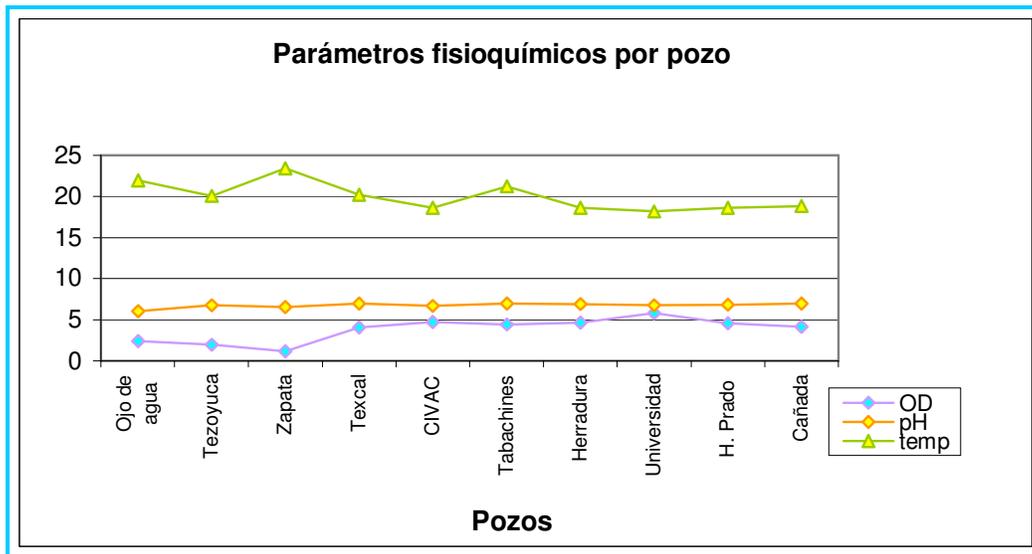


Gráfico 9. Parámetros fisicoquímicos de AVL a lo largo del período de estudio, en el Acuífero de Cuernavaca, Morelos.

Los parámetros fisicoquímicos por pozo pueden observarse en la gráfica 10. La temperatura presentó una ligera variación entre los pozos, el que presentó la temperatura promedio mas elevada fue Zapata con 23°C. Los niveles de pH estuvieron muy homogéneos entre los pozos y fueron muy estables. En el caso del oxígeno disuelto se observaron dos grupos, el primero formado por Ojo de agua, Tezoyuca y Zapata estuvieron en un intervalo de 1.7 – 2.3 mg/L, y el segundo grupo formado por los demás pozos estuvieron en un intervalo promedio de 4.1 – 5.8 mg/L.



Gráfica 10. Parámetros fisicoquímicos del acuífero de Cuernavaca, Morelos.

7.6 Análisis estadístico.

Es importante mencionar que el coeficiente de correlación es una medida de la asociación lineal entre las variables, los valores de correlación están entre -1 y +1. Si las variables están perfectamente asociadas, entonces el coeficiente de correlación será de 1 o -1, si por el contrario, las variables no están asociadas, entonces el coeficiente tendrá un valor cercano a cero (Duran *et al.*, 2003).

La tabla 5, sirve como una guía general para dar una interpretación de la magnitud del coeficiente de relación (Durán *et al.*, 2003).

Valor absoluto de R	Grado de Asociación
0.8-1.0	Fuerte
0.5-0.8	Moderada
0.2-0.5	Débil
0-0.2	Insignificante

Tabla 5: Factor de correlación

Con respecto al análisis de correlación de las AVL con los parámetros fisicoquímicos (tabla 6), es conveniente mencionar que a pesar de que se encontraron las siguientes relaciones:

- Moderada relación inversamente proporcional con la temperatura en el pozo CIVAC.
- Fuerte relación inversamente proporcional con el pH en los pozos de la Tezoyuca, Zapata y Herradura.
- Moderada relación directa con el oxígeno disuelto en el pozo Tezoyuca.

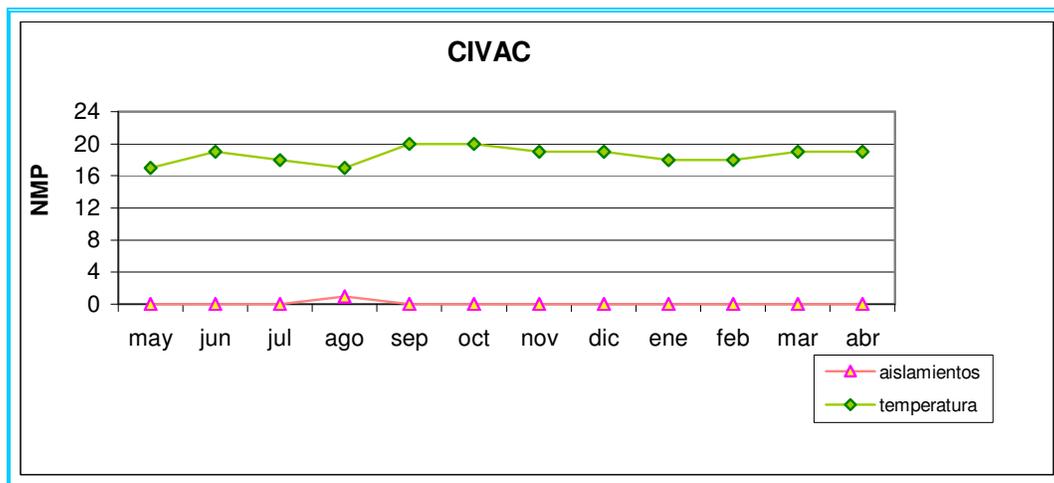
Las correlaciones con la temperatura y el pH, no son representativas por que se obtuvieron por pocos datos, en CIVAC (uno), Herradura (dos) y Zapata (cuatro), en los meses restantes el valor para las amibas fue cero (graficas 12 y 13). En el caso de Tezoyuca hubo más datos (seis), pero se puede decir que la correlación tampoco fue representativa por que el pH se mantuvo constante en casi todos los meses y la variación de las amibas fue mínima (de cero a uno) (Gráfica 14).

La única relación que se puede decir que si fue representativa, es la moderada relación directa con el oxígeno disuelto en el pozo Tezoyuca. En la gráfica 15 se puede observar que cuando la concentración de OD aumentó, el número de las amibas también aumentó, como sucedió en los meses de mayo, diciembre y abril. Esto es por que las amibas de vida libre al ser organismos aerobios se pueden ver favorecidos por la presencia de oxígeno disuelto, reportándose 1.0

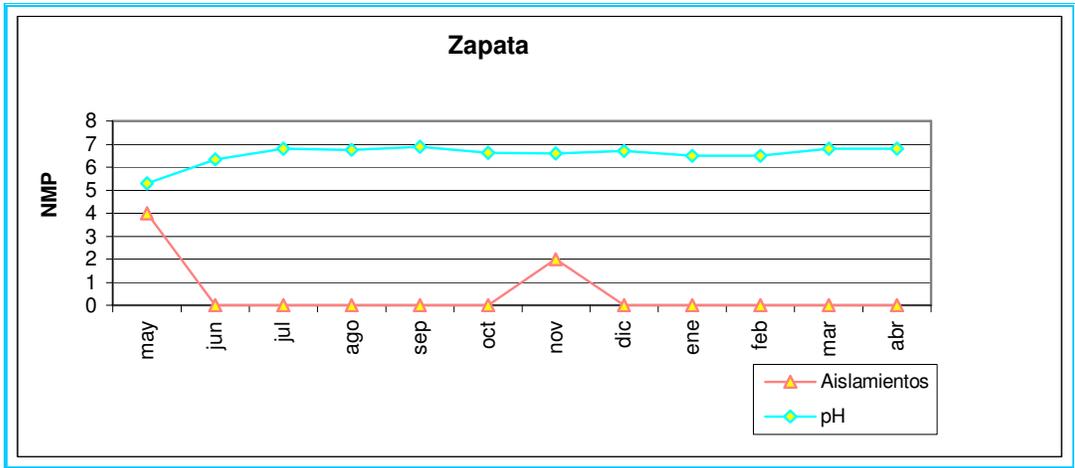
mg/L como concentración mínima para la presencia de estas amibas (Ramírez *et al.*, 2001; Bonilla *et al.*, 2004).

Pozos	Temperatura.	pH	OD
Ojo de agua	0.089	-0.005	-0.245
Tezoyuca	0.341	-0.951	0.721
Zapata	-0.355	-0.844	-0.008
Texcal	-0.236	0.175	0.068
CIVAC	-0.500	-0.397	-0.058
Tabachines	-0.056	0.167	0.223
Herradura	-0.159	-0.831	0.211
H. Prado	0.230	-0.337	0.347
Universidad	0.254	0.254	-0.164

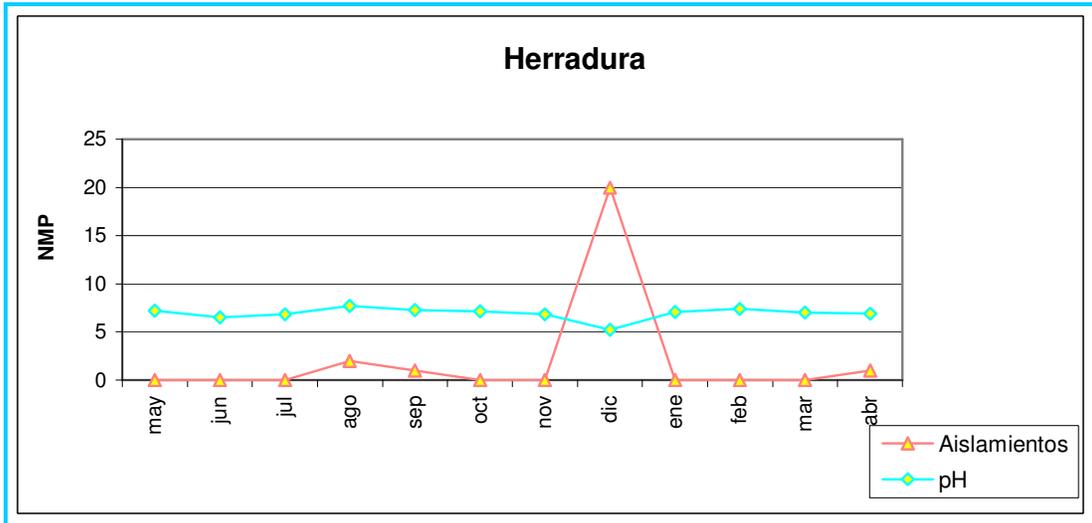
Tabla 6: Análisis de correlación de las amibas de vida libre con los parámetros fisicoquímicos en los pozos del acuífero de Cuernavaca, Morelos.



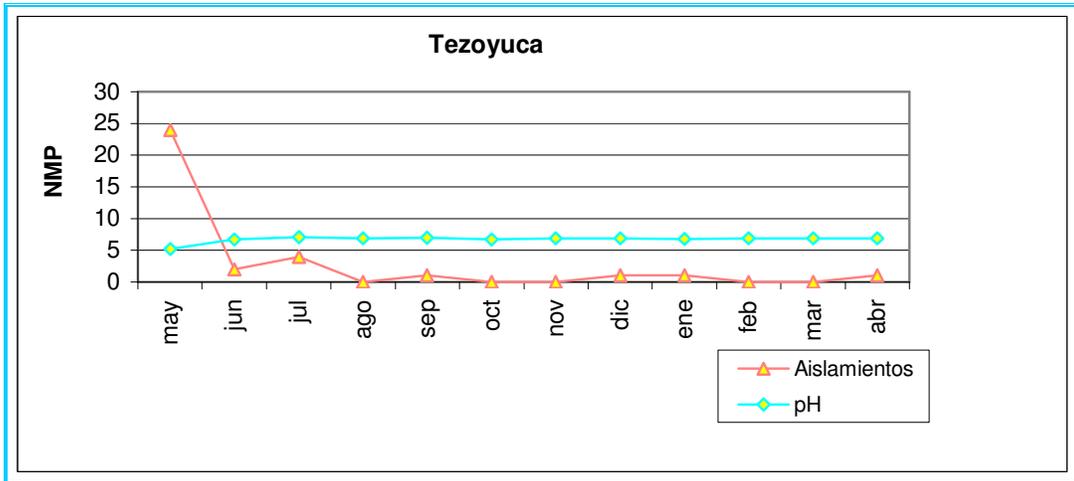
Gráfica 11: Relación de temperatura con las amibas de vida libre en el pozo CIVAC.



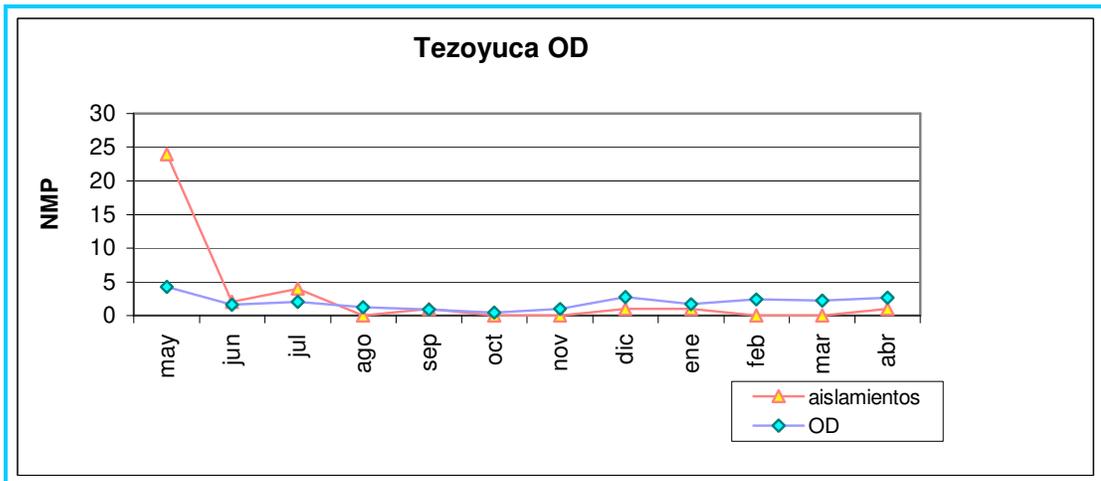
Gráfica 12: Relación de pH y el número de amibas de vida libre en el pozo Zapata.



Gráfica 13: Relación de pH y amibas de vida libre en el pozo Herradura.



Gráfica 14: Relación de pH y amibas de vida libre en el pozo Tezoyuca.



Gráfica 15: Relación de oxígeno disuelto y amibas de vida libre en el pozo Tezoyuca.

8. CONCLUSIONES

Se detectaron amibas en casi todos los pozos estudiados, aunque en bajas concentraciones.

Se encontraron con mayor frecuencia AVL en los pozos de Tezoyuca y Hotel del Prado, a diferencia del pozo la Cañada donde no se detectaron en ninguno de los muestreos; por lo tanto fue el pozo de mejor calidad con respecto a las AVL.

Se encontraron 19 especies pertenecientes a 14 géneros, siendo *Hartmannella vermiformis* y *H. cantabrigiensis* las especies más frecuentes.

No se encontraron amibas patógenas en el período de estudio, por lo que no existió peligro para los usuarios por el uso de esta agua.

El NMP de AVL más alto se presentó en el mes de mayo y junio, mientras que en el mes de octubre fue cero.

Los pozos que presentaron mayor número de amibas fueron Tabachines y Tezoyuca.

Los parámetros fisicoquímicos no fueron obstáculo para la presencia de las amibas no patógenas, pero si para las amibas patógenas, por que estas proliferan mejor a temperaturas por arriba de los 30°C.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ávila, I., Rodríguez de G., M., Infante, D., Llovera, V., Álvarez, O., Briceño, M., 2006. Amibas de Vida Libre potencialmente patógenas en aguas del parque “Las cocuizas”, Macaray, Venezuela. REV CUBANA MED TROP;58(1):19-24
- Bonilla, P., Ramírez E., Ortiz, R., Calderón, A., Gallegos, E., Hernández, D. 2000. Occurrence of pathogenic and free-living amoebae in aquatic systems of the Huasteca Potosina, Mexico. En: M.S. Munawar, I.F. Lawrence, I.F. Munawar y D. Malley (eds.), Aquatic Ecosystems of Mexico: Status and Scope. Backhuys Publishers. Pp. 37-44.
- Bonilla, P., Ramírez, E., Ortiz, R., Eslava, C., 2004. La ecología de las amibas patógenas de vida libre en ambientes acuáticos. En Rosas I., Cravioto A., Ezcurra E. (comps), Microbiología ambiental. INE-SEMARNAT, UNAM, PUMA Pág. 67-79.
- Campos, L., L., 2007. Distribución temporal de las amibas de vida libre en dos manantiales del acuífero del Valle de Cuernavaca, Morelos. Tesis: Licenciatura en Biología, UNAM, Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Pág. 36.
- Centeno M., Rivera f., Cerva L., Tsutsumi V., Gallegos E., Calderón A., Ortiz R., Bonilla P., Ramírez E., y Suarez G. 1996. *Hartmannella vermiformis* isolated from the cerebrospinal fluid of a Young male patient with meningoencephalitis and bronchopneumonia. Archives of Med. Res. 27 (4): 579-586.
- CIECCA, 1985. Manual de microbiología del agua, SARH. P.p. 106-115.
- Comisión Nacional del Agua, 2002. Determinación de la disponibilidad de agua en el Acuífero Cuernavaca, Morelos.

- Durán, A., Cisneros, A., y Vargas, A., 2003, Bioestadística, FES Iztacala, UNAM. Pp.136-144.
- Galarza, C., Gutiérrez, E., Uribe, M., Ramos, W, Ortega, E., Ávila, J., Hanco, J., Espinoza, Y., Espinoza, M., Ñavimcopa, M., Gámez, D., 2006. Amebas de vida libre en lesiones cutáneas reporte de 4 casos. *Dermatol Perú*; 16(1):36-40.
- García O. N. L., 2007. Estudio fisicoquímico y bacteriológico del agua subterránea en la zona centro-oriente del Valle de Cuernavaca, Morelos, México. Tesis: Licenciatura en Biología, UNAM, Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Pág. 83.
- [Gelman, B.B.](#), [Popov, V.](#), [Chaljub, G.](#), [Nader, R.](#), [Rauf, S.J.](#), [Nauta, H.W.](#), [Visvesvara, G.S.](#) 2003. Neuropathological and ultrastructural features of amebic encephalitis caused by *Sappinia diploidea*. [J. Neuropathol. Exp. Neurol.](#) 62 (10):990-8.
- Gudiño, G. D., 2003. Estudio cuantitativo de las amibas de vida libre presentes en un sistema de tratamiento del agua residual del tipo del método de la zona de la raíz (MZR) en el poblado de Matilde, Hidalgo. Tesis: Licenciatura en Biología, UNAM, Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Pág. 64.
- Jiménez, C. B., 2001. Contaminación ambiental en México, Limusa, México, Pp. 303-316.
- Jones, B. J., Mulholland, J. P., 2000. Streams and ground waters. Academia press. United States of America. Pág.425.
- Llamas, M., R.; Hernández-Mora, N.; Martínez, C. L. 2000. Uso intensivo de las aguas subterráneas. Aspectos éticos, tecnológicos y económicos. Serie A. N° 1, El uso sostenible de las aguas subterráneas. Fundación Marcelino Botín. Madrid, España. Pág. 54.

- Llopis, Ll., N. 1970. fundamentos de hidrogeología carstica; (Introducción a la geoespeleología), Blumec, Madrid, España. Pág. 269.
- Margalef, R. 1983. Limnología, Omega, Barcelona, España. Pp. 903-909.
- Medina, V. N. 2006. Caracterización de las Gimnamoebas presentes en el sistema de tratamiento de filtros rociadores de Ciudad Universitaria, Tesis: Licenciatura en Biología, UNAM, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Pág. 49.
- Monroy, P. D. 2007. Estudio fisicoquímico y bacteriológico del agua subterránea en la zona sur del Valle de Cuernavaca, Morelos, México. Tesis: Licenciatura en Biología, UNAM, Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Pág. 85.
- Muñoz, V., Reyes, H., Toche, P., Cárcamo, C., Gottlieb B., 2003. Aislamiento de amibas de vida libre en piscinas públicas de Santiago de Chile. Parasitol latiniam, 58: 106 – 111.
- Novarino, G., Warren, A., Butler, H., Lambourne, G., Boxshall, A., Bateman J., Kinner, N. E., Harvey, R. W., Mosse, R. A., Teltsch, B., 1997. Protistan communities in aquifers: a review, FEMS Microbiology Reviews 20: 261-275.
- Oddó, B., D., 2006. Infecciones por Amibas de Vida Libre. Comentarios históricos, taxonomía y nomenclatura, Protozoología y cuadros anátomo-clínicos. Rev Chil Infect; 23 (3): 200-214.
- Page, F.C. 1988. A New Key to Freshwater and Soil Gymnamoebae. CCAP. Cumbria. England. Pág. 122.

- Price, M. 2003. Agua subterránea, Limusa, grupo Noriega editores, México. Pág. 330.
- Ramírez, E., Campoy, E., Matuz, D., Robles, E., Bonilla, P., Warren, A., Ortiz, R. 2001. Free-living amoebae in organically-contaminated aquifer in México. En Billot-Bonef S., Cabanes P. A., F. Marciano-Cabral P., Pernin P., Pringuez E (Eds). IXth International Meeting on the Biology and Pathogenicity of Free-living amoebae Proceedings, Edit. John Libbey eurotext, Pp. 109-116.
- Rubio R., M., A. 2007. Estudio fisicoquímico y bacteriológico del agua subterránea en la zona norte del Valle de Cuernavaca, Morelos, México. Tesis: Licenciatura en Biología. UNAM, Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Pag. 95
- Schuster, F.L. y Visvesvara, G.S. 2004a. Free-living amoebae as opportunistic and non-opportunistic pathogens of humans and animals. Int. J. Parasitol. 34:1001-1027.
- Schuster, F.L. y Visvesvara, G.S. 2004b. Amebae and ciliated protozoa as causal agents of waterborne zoonotic disease. Veterinary parasitology. 126: 91-120.
- Solarte, Y., Peña, M., Madera, C. 2006. Transmisión de protozoarios patógenos a través del agua para consumo humano. Colombia médica. Vol. 37 (1): 74-82.
- Suárez, R., 1, Espinoza, Y., Villanueva, C., Ramos J., Huapaya, P., Marquina, R., 2002. Aislamiento de amebas de vida libre del género *Acanthamoeba* a partir de fuentes de agua en la ciudad de Ica. Anales de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú, Vol. 63 (2):101–105.
- Visvesvara, G. S., Martinez, A. J., Schuster F L, Leitch, G., Wallace, S. V., Sawyer, T. K., Anderson, M. 1990. Leptomyxid ameba, new agent of amebic meningoencephalitis in human and animals. J Clin Microbiol; 28: 2740-56.

- <http://www.imss.gob.mx/nr/imss/dpm/dties/normatividad/vigilanciaepi/Man13-Menin...> 07/01/2004