



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE  
MEXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
IZTACALA**

**Detección de Gimnamebas en agua residual doméstica  
en un tanque de sedimentación.**

**T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
B I O L O G O**

**Presenta:**

**LUIS ESTEBAN CHIQUILLO HERNANDEZ.**

**Directora: M. en C. Elizabeth Ramírez Flores.**



**Los Reyes Iztacala, Edo de México.**

**2004**



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.

## *Dedicatorias*

A Dios, por obsequiarme este grato momento de mi vida y poder disfrutarlo.

A mi mamá Catalina Hernández Barcena y mi papá Odilón Chiquillo Alpizar, por haberme permitido concluir mis estudios de licenciatura con satisfacción.  
Los quiero mucho.

A mi hermano Paco y a mi prima Cori.

A mis tías Espe e Iné, que también son parte de este logro.

## *Agradecimientos*

A la M. en C. Elizabeth Ramírez Flores, por su apoyo, paciencia, confianza, tiempo y la oportunidad que me dio para realizar la tesis.

A los sinodales de tesis:

Dra. Patricia Bonilla Lemus.

Doctores María del Rosario Sánchez Rodríguez y Alfonso Lugo Vázquez.

Dra. Esperanza Robles Valderrama.

Por tener siempre la disposición para atender mis dudas, por la ayuda (comentarios, sugerencias, material) que me proporcionaron en la realización de este trabajo y sobretodo por su calidad humana y gentileza.

Al Ing. Héctor Lugo, por su iniciativa en la construcción del sistema de tratamiento y disposición para hacer el sistema más eficiente, así como, por las facilidades otorgadas en la realización de los muestreos.

A Luis Fernando, por su oportuna asistencia técnica en el laboratorio.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por su sobresaliente tarea de inculcar en los alumnos conocimientos y profesionalismo.

A la DGAPA clave 1N211900, por el apoyo económico otorgado.

A los integrantes del proyecto CyMA, que de manera discreta colaboraron en la realización de este trabajo.

A los amigos, cuates y compañeros que conocí en el transcurso de esta sorprendente carrera: *Lulú, Marcos, Claudia, Juan Carlos, Elizabeth, Roberto, Prisci, Adrián, Julia, Omar, Lían, Chacón, Fernando, Tonatiuh y Horacio.*

**¡ Muchas Gracias y Buena Suerte !**

# CONTENIDO

	Pág.
<b>RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>2</b>
<b>ANTECEDENTES</b>	<b>4</b>
Tratamiento del agua residual	4
Tratamiento primario	5
El estudio de los protozoos	9
Característica de las amebas	9
Historia	9
AVL aisladas en sistemas de tratamiento de aguas residuales	10
Aspectos ecológicos	11
Enfermedades que causan las AVL	12
Métodos de cuantificación de las AVL	14
<b>JUSTIFICACIÓN</b>	<b>16</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>16</b>
<b>DESCRIPCIÓN DE LA ZONA DE MUESTREO</b>	<b>17</b>
<b>DESCRIPCIÓN DEL SISTEMA DE TRATAMIENTO</b>	<b>19</b>
<b>MATERIAL Y METODOS</b>	<b>22</b>
Muestreos	22
Obtención de las muestras	22
Cultivo	23
Incubación	23
Conteo	23
Identificación	23
Análisis estadístico	23
<b>RESULTADOS Y DISCUSIONES</b>	<b>24</b>
Riqueza Especifica	25
Distribución espacial	28
Frecuencia de la Gimnamebas aisladas	31
Abundancia de Gimnamebas	34
Distribución estacional y temporal	40
Parámetros físicos y químicos	41
Correlaciones	47
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>48</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>49</b>
<b>ANEXO</b>	<b>55</b>
Medios de cultivo	55
Fotografías de las Gimnamebas aisladas	56

## Resumen

Los protozoos en los sistemas de tratamiento de aguas residuales desempeñan varias funciones de importancia como consumidores de bacterias y materia orgánica, favoreciendo el buen funcionamiento de los sistemas. Algunas especies son muy comunes en las aguas contaminadas y también se encuentran frecuentemente en estos sistemas. Entre los protozoos destaca el grupo de las gimnamebas, porque además de participar en la microlimpieza del agua, son capaces de causar enfermedades.

Por tal motivo, el presente trabajo formó parte de un sistema de tratamiento ubicado en el poblado de Matilde, Hgo., que consistió en detectar la presencia y determinar la abundancia de Gimnamebas en agua residual doméstica en un tanque de sedimentación (séptico) que consta de 2 cámaras, cuya finalidad es la separación de los sólidos grandes mediante el proceso físico de sedimentación, conformando la etapa del tratamiento primario.

El estudio se llevo a cabo mensualmente de enero a diciembre del año 2002, donde se colectaron muestras de sedimento de la 1<sup>ra</sup> cámara y de agua residual de la 2<sup>a</sup> cámara y salida del tanque séptico. Se obtuvieron un total de 183 aislamientos, de los cuales se identificaron 18 especies, distribuidas en 5 familias y 6 géneros, siendo *Acanthamoeba* el género de mayor representación con un 52%. Las especies que tuvieron mayor incidencia fueron: *Dactylamoeba stella*, *Acanthamoeba astronyxis*, *Acanthamoeba tubiashi*, *Acanthamoeba triangularis* y *Vahlkampfia avara*.

Las amebas fueron contadas mediante la técnica del Número Más Probable (NMP), alcanzando una densidad promedio de 74,300 amebas/L. De los tres puntos de muestreo, la 1<sup>ra</sup> cámara del tanque fue la que registró la mayor abundancia de hasta 240,000 amebas por litro, en tanto que la salida presentó la menor densidad pero se observó un mayor número de especies con 16 de las 18 especies identificadas. Mientras los meses en que se observaron las cantidades más altas de amebas fueron agosto, octubre y noviembre, este ultimo presentó el pico de densidad máximo. Los resultados de este estudio también demostraron que la abundancia de las gimnamebas está estrechamente asociada con la cantidad de materia orgánica, pues esta se vio favorecida al presentarse el mayor número de amebas en la muestra de sedimento colectada de la 1<sup>ra</sup> cámara del tanque de sedimentación, es decir donde había mayor cantidad de materia orgánica.

El parámetro físico-químico que tuvo una correlación significativa de tipo directa con la abundancia de las gimnamebas fue el pH, en tanto que la temperatura, la conductividad y el oxígeno disuelto no presentaron relación.

Aunque las condiciones a las que estuvieron sujetas las gimnamebas no fueron muy favorables, no impidieron la presencia de las especies amebianas pues estas fueron capaces de resistir a pesar de que algunas no forman quistes como es el caso de los géneros *Dactylamoeba*, *Mayorella* y *Vannella*, significando de manera considerable la adaptación para habitar este tipo de ambiente.

## Introducción

El agua ha sido, desde la creación del mundo, un elemento imprescindible para todos los seres vivos, ya que forma parte de su composición y es necesaria para su mantenimiento, además de ser hábitat para múltiples especies. Para la especie humana, a medida que se ha desarrollado y ha crecido la población en casi todas las áreas habitadas de la superficie terrestre, las necesidades del agua han ido en forma creciente (Seoanez, 1995).

La eliminación adecuada de los desperdicios humanos y domésticos es necesaria para proteger la salud de la familia y de la comunidad. Para obtener resultados satisfactorios, tales desperdicios deben eliminarse de manera que; a) no contaminen abastecimiento alguno de agua potable, b) no den lugar a un peligro público para la salud, al ser accesible a roedores, insectos u otros posibles transmisores que puedan entrar en contacto con alimentos o agua para beber c) no den lugar a un peligro público para la salud, al ser accesibles a personas, d) no violen leyes o reglamentos referentes a contaminación de agua o eliminación de aguas negras, e) no contaminen las aguas de ríos, lagunas, playas o corrientes usadas con fines de abastecimiento de agua públicos o domésticos o para motivos de recreo y f) no den lugar a molestias debidas a olores o apariencia antiestética (SSPEUA, 1975).

México no es la excepción, ya que tiene muchas y diversas necesidades en el uso del agua, entre las cuales podemos incluir: suministro de agua potable, aplicaciones en la agricultura y la industria, depósitos de desechos y usos recreativos (OCDE, 1997).

Más del 70% de las comunidades mexicanas poseen menos de 100 habitantes (OCDE, 1997), la mayoría de estas numerosas comunidades no poseen un sistema de tratamiento, ya que los métodos existentes resultan costosos (Rivera y Calderón, 1993). Estos pequeños poblados producen aguas de desecho que no reciben ningún tipo de tratamiento, lo cual provoca la facilidad de dispersión de enfermedades gastrointestinales, en especial las parasitarias. En muchos casos, el agua necesita un tratamiento y cada vez se hace más necesario tratarla mediante el uso de tecnologías que sean accesibles y no requieran de mantenimiento constante y especializado para que puedan contribuir a la sustentabilidad del suministro de agua (OCDE, 1997).

Todas las casas habitación que están equipadas con agua corriente e instalaciones modernas de tubería, se enfrentan al problema de la eliminación de los desperdicios que acarrea el agua. Particularmente en regiones rurales y suburbanas escasamente desarrolladas que no cuentan con albañales municipales, se ha resuelto esta necesidad mediante la instalación de sistemas individuales para la eliminación de las aguas negras. El tipo más común de sistema individual en la eliminación de esta agua consta de un tanque (fosa o cámara) séptico, ya que ha resultado más sencillo, más conveniente y satisfactorio -al menos durante el período en que el sistema funciona correctamente- para la eliminación de los desperdicios dentro de lo confines de un lote en particular. Sin embargo, en algunas partes, su aplicación incorrecta ha originado situaciones intolerables con respecto a la estética y la salud pública (Cotteral y Norris, 1975). Es por este motivo, que las fosas se deben diseñar y construir adecuadamente para que sean efectivas en el desempeño de su función evitando problemas de sanidad (SSPEUA, 1975).

La principal fuente de contaminación acuática son las aguas negras o residuales, estas son aguas de abastecimiento de una población que son contaminadas por diversos usos. Su origen resulta de la combinación de los líquidos o desechos arrastrados por el agua de las casas habitación, edificios comerciales e instituciones, junto con los provenientes de los abastecimientos industriales y las aguas subterráneas superficiales o de precipitación que puedan agregarse (Departamento de Sanidad, 1990).

Una de las cuatro fuentes fundamentales de aguas residuales, son las aguas domésticas o urbanas (Ramalho, 1993), compuestas principalmente por materia orgánica (MO), en forma de carbono orgánico disuelto (COD) y carbono orgánico particulado (COP), que comprende el 60% del total de la MO y el cual puede ser removido por sedimentación (Bitton, 1994).

Por tal motivo el hombre ha ideado a lo largo de la historia diferentes sistemas de aprovechamiento y tratamiento, por lo tanto las aguas residuales plantean uno de los mayores problemas con que se enfrenta la humanidad (Seoanez, 1995).

Los mecanismos que se emplean para el tratamiento de dichas aguas son una combinación de procesos físicos, químicos y biológicos (Crites y Tchobanoglous, 2000), los cuales están diseñados para la eliminación o reducción de la materia orgánica, sustancias tóxicas, nutrientes como P y N, metales pesados y microorganismos patógenos y parásitos (Bitton, 1994). Uno de estos mecanismos es el tratamiento primario, que utiliza diversos procesos como la sedimentación, cuya finalidad es separar los sólidos mediante el proceso físico de la gravedad; este proceso se realiza esencialmente en tanques sedimentadores (Metcalf y Eddy, 1985).

En este tipo de aguas, se llevan a cabo diversas reacciones bioquímicas, cuyo propósito es degradar la materia orgánica por medio de procesos aerobios y anaerobios. En ambos mecanismos se realizan una serie de transformaciones y de procesos como la digestión, asimilación y metabolización del compuesto orgánico, que es llevado a cabo por los microorganismos saprofitos o saprozoicos tales como: bacterias, hongos y protozoos entre otros (Robles *et al.*, 1993).

Los protozoos son abundantes en los sistemas de tratamiento, ya que más de 400 especies se han reportado en dichos procesos y que algunas especies son muy comunes, además tienen una respuesta rápida a los cambios ambientales; debido a esto, se les ha considerado como indicadores de la calidad del agua. La función que desempeñan en las aguas residuales, es la de actuar esencialmente en el consumo de una gran cantidad de bacterias y partículas orgánicas presentes en cada paso de los sistemas de tratamiento (Curds, 1992).

La presencia de los protozoos en las aguas residuales, se debe a que toleran condiciones como bajas concentraciones de oxígeno disuelto, elevadas concentraciones de amonio, CO<sub>2</sub> y en algunos casos a la presencia de sulfuro de hidrógeno (Sleigh, 1989).

Entre los protozoos destacan las amebas de vida libre (AVL), porque aparte de realizar la función de remoción de bacterias y materia orgánica en las aguas residuales, algunas de ellas son potencialmente patógenas (Bonilla y Ramírez, 1993). Tal es el caso de los géneros *Naegleria*, *Acanthamoeba* y *Balamuthia* ya que son capaces de causar enfermedades en humanos y otros animales. Estos géneros atacan principalmente a órganos como el ojo y al sistema nervioso central, caso en que llegan a provocar la muerte (John, 1993; Martínez y Visvesvara, 1997).



## Antecedentes

### *Tratamiento del agua residual*

El tipo de tratamiento del agua residual depende de los siguientes factores: Tipo de contaminación, grado de contaminación, capacidad de difusión en el ambiente, calidad del nuevo ambiente y uso que se le dará al agua resultante (Ramírez, 1998).

El tratamiento de las aguas residuales comprende los siguientes pasos:

<b>TRATAMIENTO PRELIMINAR</b>
Cribado o desbrozo Desmenuzadores Desarenadores Tanque de preaereación
<b>TRATAMIENTO PRIMARIO</b>
Sedimentación Flotación Separación de aceites Homogeneización Neutralización
<b>TRATAMIENTO SECUNDARIO O BIOLÓGICO</b>
Lodos activados Lagunas de estabilización Lagunaje con aireación Filtros biológicos (percoladores) Discos biológicos Lechos de carrizos o humedales (MZR) Tratamientos anaerobios
<b>TRATAMIENTO TERCIARIO</b>
Microtamizado Electrodialisis Intercambio iónico Adsorción (carbón activado) Precipitación y coagulación Filtración (lecho de arena, antracita, diatomeas) Osmosis inversa Procesos de reducción de nutrientes
<b>DESINFECCIÓN</b>
Cloración Ozonización
<b>TRATAMIENTO DE LODOS</b>
Espesamiento Digestión Lechos de secado Secado por calentamiento Incineración
<b>DISPOSICIÓN DE LOS LODOS</b>
Enterrado Relleno Aplicación como fertilizantes

(Ramalho, 1993; Ramírez, 1998).

## ***Tratamiento primario***

El tratamiento primario implica la remoción de hasta un 90% de los sólidos sedimentables y del 40 al 60% de los sólidos suspendidos. La DBO puede disminuir de 20 a 40%, de tal manera que el efluente quede ausente de materiales sólidos de gran tamaño, además de lograr una eliminación de materia orgánica, para pasar al siguiente proceso de tratamiento (Tillman, 1992).

Los tipos fundamentales de tratamientos primarios se basan en procesos físicos como son: la sedimentación, la flotación, la neutralización, la homogenización y la separación de aceites (Ramalho, 1993).

En este caso, el proceso que trataremos es la **sedimentación**, la cual consiste en la separación de las partículas suspendidas más pesadas del agua, mediante la acción de la gravedad; esta operación se utiliza para la eliminación de los sólidos sedimentables, así como de los flotantes. Es una de las operaciones unitarias más utilizadas en el tratamiento de las aguas residuales, que tiene como propósito fundamental el obtener un efluente clarificado (Metcalf y Eddy, 1985). En algunos casos la sedimentación es el único tratamiento al que se somete el agua residual y que puede realizarse en una o varias etapas del tratamiento (Ramalho, 1993).

Pueden considerarse cuatro tipos de mecanismos o procesos de sedimentación, dependiendo de la naturaleza de los sólidos presentes en suspensión (Ramalho, 1993).

***Sedimentación discreta:*** Las partículas que se depositan mantienen su individualidad, es decir que no son sometidas a un proceso de coalescencia con otras partículas. En este caso, las propiedades físicas (tamaño, forma, peso específico) de las partículas no cambian durante el proceso. La deposición de partículas en los desarenadores es un ejemplo típico de sedimentación discreta (Ramalho, 1993).

***Sedimentación con floculación:*** Cuando la aglomeración de las partículas va acompañada de cambios en la densidad y en la velocidad de la sedimentación o precipitación. Este tipo de sedimentación se lleva a cabo en los clarificadores o sedimentadores primarios.

***Sedimentación por zonas:*** Las partículas forman una especie de natas que se sedimentan como una masa total presentando una interfase distinta con la fase líquida. Un ejemplo de este proceso incluye la sedimentación de lodos activados en clarificadores secundarios (Ramalho, 1993).

***Sedimentación por compresión:*** Las partículas están concentradas de tal manera que se forma una estructura y solamente puede darse la sedimentación por compresión de la estructura. La compresión tiene lugar por el peso de las partículas, que se van añadiendo constantemente a la estructura por sedimentación desde el líquido sobrenadante. Se produce en las capas inferiores de una masa de fango de gran espesor, tal como ocurre en el fondo de los decantadores secundarios profundos y en las instalaciones de espesamiento de fangos (Metcalf y Eddy, 1985).

Los principales dispositivos para el tratamiento primario son los tanques de sedimentación o clarificadores, como resultado del diseño de los tanques sépticos, que son modificados no sólo para retener el agua residual, sino también para separar los sólidos por medio de cámaras que se instalan dentro del tanque, además de que tienen la función adicional de servir para la descomposición de los sólidos sedimentados, lo cual se conoce como digestión de lodos (Departamento de Sanidad, 1990).

El concepto ideal de un tanque de sedimentación simple, está basado en el modelo seleccionado para un sedimentador de forma rectangular que consiste en cuatro zonas:

1. **Zona de entrada.** En la cual el flujo puede considerarse laminar, donde las partículas se distribuyen uniformemente según la sección de entrada.
2. **Zona de sedimentación.** Aquí las partículas dejan de estar en suspensión, cuando llegan al fondo de esta zona.
3. **Zona de salida.** El agua residual se recoge aquí antes de su paso al tratamiento posterior.
4. **Zona de lodos.** Es la reservada para la retirada de los lodos (Ramalho, 1993).

Son diversos los tanques que se utilizan en el proceso de sedimentación, a continuación se mencionan algunos de los más utilizados.

**Tanques sépticos.** El tanque séptico es uno de los dispositivos más antiguos de tratamiento primario (Departamento de Sanidad, 1990), se remonta alrededor de 1860, en Francia, por John Louis Mouras (Crites y Tchobanoglous, 2000). Se utilizan principalmente para el tratamiento de aguas residuales de viviendas individuales. Los sistemas de tanques sépticos han permanecido, básicamente, sin cambios durante sus más de 100 años de uso. En esencia, el método proporciona la recolección de los desperdicios domésticos por el agua en una bóveda subterránea donde las heces, la grasa y los sólidos que se asientan se separan del líquido por la acción de la gravedad (Cotteral y Norris, 1975).

La fosa séptica está diseñada para mantener a las aguas negras en condiciones anaerobias, por un periodo de 12 a 24 horas durante el cual se efectúa una gran eliminación de sólidos sedimentables (Departamento de Sanidad, 1990). Cuando se proyecta para una sola vivienda se utiliza un periodo de detención de 24 horas, en instalaciones mayores que den servicio a instituciones o a varias familias, es permisible un periodo de retención más corto (Metcalf y Heddy, 1985).

Tres funciones tienen lugar dentro de las fosas sépticas:

**Eliminación de sólidos.**- A medida que el agua negra procedente de la casa entra en la fosa, su velocidad de flujo se reduce de tal forma que los sólidos mayores se hunden al fondo o suben a la superficie, estos sólidos se retienen en el depósito y el efluente clarificado es descargado. **Digestión.**- Los sólidos o líquidos son sometidos a descomposición por procesos naturales y bacteriológicos. La MO retenida en el fondo se somete a un proceso de descomposición anaerobia y facultativa, transformándose en compuestos y gases más estables como el dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ); metano ( $\text{CH}_4$ ) y sulfuro de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{S}$ ). Esta descomposición en condiciones anaerobias es "séptica", de aquí el nombre de la fosa; el agua negra que ha sido sujeta a tal tratamiento causa menos atascamientos que el agua no tratada que contenga la misma cantidad de sólidos en suspensión. **Almacenamiento de cieno y natas.**- El cieno es una acumulación de sólidos en el fondo de la fosa, mientras que las natas son un conjunto, parcialmente sumergido, de sólidos flotantes que pueden formarse en la superficie del líquido (SSPEUA, 1975; Crites y Tchobanoglous, 2000).

Debido a la fundamental importancia que tienen los tanques sépticos dentro de los sistemas *in situ* para el manejo de las aguas residuales, a continuación se presenta de manera general una descripción del diseño, operación y mantenimiento de estas unidades.

Las fosas sépticas deben ubicarse donde no puedan provocar contaminación de algún pozo, manantial u otra fuente de abastecimiento de agua. La contaminación subterránea generalmente se mueve en la misma dirección que el movimiento normal del agua freática de la zona, por esta razón, las fosas deben localizarse colina debajo de pozos y manantiales. Las fosas no deben estar a menos de 15 m de cualquier fuente de abastecimiento de agua; mayores distancias son preferibles donde sea posible. No deben situarse a menos de 1.5m de cualquier edificio, ya que pueden ocurrir daños estructurales durante su construcción, como las filtraciones. Tampoco deben construirse en zonas pantanosas, ni en áreas sujetas a inundaciones. En general, la fosa debe localizarse donde se disponga de la mayor área para el campo de eliminación. También debe considerarse la ubicación desde el punto de vista de limpieza y mantenimiento, además donde se piense instalar en el futuro, alcantarillado público donde deben tomarse providencias en el sistema de fontanería de la casa para poder conectarlo al alcantarillado (SSPEUA, 1975).

Contrariamente a la creencia popular, las fosas sépticas no efectúan en alto grado la eliminación de bacterias. Aunque las aguas negras experimentan tratamiento al pasar por la fosa, esto no significa que se eliminen agentes infecciosos; por lo tanto el efluente no debe considerarse potable. El líquido que se descarga es en cierto aspecto peor al que entra; es séptico y maloliente, esto sin embargo no demerita la función de la fosa, cuya función primordial es la separación de los sólidos de tamaño grande (SSPEUA, 1975).

La capacidad es una de las consideraciones más importantes en el diseño de una fosa séptica, las capacidades de líquido recomendadas son las siguientes:

<b>Número de personas</b>	<b>Capacidad mínima</b>	<b>Capacidad equivalente por persona</b>
2 ó menos	2840 litros	1420 litros
3	3410 litros	1135 litros
4	3785 litros	950 litros

Por cada persona adicional, añádanse 950 litros (SSPEUA, 1975).

Si por cualquier razón se decide utilizar un único tanque más pequeño que el correctamente diseñado, el propietario debe estar alerta con la acumulación de lodos, pues estos tendrán que ser extraídos con mucha más frecuencia (Crites y Tchobanoglous, 2000).

Deben ser impermeables al estar construidas con materiales no susceptibles de sufrir corrosión o deterioro. En general, para su construcción se usan materiales como el concreto o la fibra de vidrio. En la actualidad no se permite el uso de materiales como el acero y la madera en la construcción de los tanques sépticos. Para lograr una máxima integridad estructural, las paredes y el fondo del tanque deben ser unidos monolíticamente al igual que la cubierta, utilizando el refuerzo en acero que sobresale de los muros, evitando colocar la cubierta sobre el tanque puesto que se pueden presentar separaciones cuando ocurren asentamientos diferenciales (Crites y Tchobanoglous, 2000).

Aunque a menudo se usen fosas de una sola cámara, el tipo adecuado consiste en dos o más cámaras en serie, estas pueden ser unidades separadas, ligadas entre sí o secciones encerradas en un cascarón continuo. El primer compartimento se utiliza para la sedimentación, digestión y almacenamiento de fango, el cual debe tener un volumen dos veces mayor al segundo compartimento que proporciona sedimentación y capacidad de almacenamiento de fango adicional y, por tanto, sirve para proteger contra la descarga de fango u otro material que pueda escaparse de la primera cámara (Metcalf y Eddy, 1985).

Cada compartimiento debe tener una dimensión mínima en planta de 60 cm con una profundidad del líquido que varíe de 75 a 150 cm. Un pozo de visita debe proveerse en cada compartimiento y ventilación entre compartimientos para permitir el libre paso del gas (SSPEUA, 1975). La limpieza, se efectúa generalmente cada dos a tres años, bombeando el contenido de la fosa dentro de un camión cisterna, el fango extraído se descarga normalmente en una estación depuradora cercana para su tratamiento (Metcalf y Eddy, 1985); también puede enterrarse en sitios no habitados o vaciarse en un sistema sanitario de alcantarillado con permiso de la autoridad apropiada. Nunca debe ser vaciado en drenes de tormenta o descarga directamente en una corriente de agua. Las fosas no deben lavarse ni desinfectarse después del bombeo, un pequeño residuo de cieno debe dejarse para propósitos de inoculación. Las fosas sépticas abandonadas deben llenarse con tierra o roca (SSPEUA, 1975).

El funcionamiento de las fosas no se mejora con la adición de desinfectantes u otras sustancias químicas, en general no se recomienda. Algunos productos contienen hidróxido de sodio o hidróxido de potasio como agente activo, tales compuestos pueden provocar un aumento de cieno y un notable incremento de la alcalinidad y pueden interferir con la digestión. El uso de jabones, detergentes, blanqueadores, limpiadores de drenaje, normalmente usados en el hogar, no tendrán efectos adversos apreciables en el sistema, si las fosas son grandes como las recomendadas debido a la dilución será suficiente para desvanecer cualquier efecto dañino de estos materiales que de otra forma podrían ocurrir (SSPEUA, 1975).

En general es aconsejable vertir todos los desperdicios domésticos normales de una descarga doméstica a una fosa séptica, tales como los que se refieren a la lavandería, el baño y la cocina. Desagües del techo, drenes de la cimentación o drenaje de otras fuentes que producen grandes volúmenes intermitentes y constantes de agua simple no deben ser entubados dentro de la fosa, estos grandes volúmenes de agua agitarán el contenido de la fosa y arrastrarán algunos de los sólidos hacia la tubería de la salida (SSPEUA, 1975).

***Tanques de doble acción.*** Estos tanques se idearon para corregir los dos defectos principales del tanque séptico, en la forma siguiente: **a)** Impedir que los sólidos que se han separado de las aguas negras se mezclen nuevamente con ellas, permitiendo la retención de estos sólidos para su descomposición en la misma unidad y **b)** proporcionar un efluente adecuado a un tratamiento ulterior. El contacto entre las aguas negras y los lodos que se digieren anaerobiamente queda prácticamente eliminado y disminuye el periodo de retención en el tanque. El ejemplo de este tipo es el Tanque Imhoff.

***Tanques de sedimentación simple.*** Como se ha mencionado con anterioridad, son tanques cuya función principal es separar los sólidos sedimentables de las aguas negras, mediante el proceso de sedimentación. Los sólidos asentados se substraen continuamente a intervalos frecuentes, para no dar tiempo a que se desarrolle la descomposición con formación de gases (Departamento de Sanidad, 1990).

Dentro de los tipos de clarificadores simples, se clasifican según su geometría de su sección horizontal en rectangulares y circulares. Estos a su vez se pueden clasificar de acuerdo a su forma de alimentación en tanques con alimentación central y con alimentación periférica, encontrando así: clarificadores rectangulares, clarificadores circulares con alimentación central y clarificadores circulares con alimentación periférica (Ramalho, 1993).

## ***El estudio de los protozoos***

Mientras miraba a través de sus más de 300 microscopios que había construido, el holandés Anthony van Leeuwenhoek en el año de 1674, fue el primero en descubrir a los microorganismos, entre éstos se encontró con los protozoos (Ford, 1998).

Desde aquel entonces, se ha estimado que hay más de 100,000 especies descritas y que aún faltan todavía cientos de especies más por descubrir (Margulis *et al.*, 1993).

En general, los protozoos son organismos microscópicos, eucariontes unicelulares, de formas muy variadas, heterótrofos y autótrofos, aerobios y anaerobios, reproducción sexual y asexual, de origen polifilético, que no forman tejidos ni órganos. Su distribución es cosmopolita, porque han sabido aprovechar cualquier espacio donde exista una película de agua (Lee *et al.*, 1985; Sleigh, 1989).

## ***Características de las amebas***

Dentro del grupo de los protozoos, encontramos a los Sarcodarios, mejor conocidos como amebas, cuyo carácter distintivo es el de poseer pseudópodos (falsos pies), que son proyecciones del protoplasma que sirven como órgano locomotor y para la captura de alimento. Su citoplasma está diferenciado en un ectoplasma y endoplasma, se reproducen asexualmente por fisión binaria, gemación y plasmotomía. En su ciclo de vida pueden presentarse como trofozoíto, que es la etapa por la cual se alimentan y se reproducen, además de la de quiste, que es una etapa inactiva y de resistencia, logrando así, permanecer en el ambiente, cuando las condiciones no son las adecuadas (Sleigh, 1989; Schuster, 1990). Aunque algunas amebas llegan a desarrollar una tercera fase, conocida como “etapa flagelada”, en particular la mayoría de los géneros de la familia Vahlkampfiidae (Page, 1988).

De esta manera, los Sarcodarios pueden comprender grupos muy variados, uno de estos son las Gimnamebas o “amebas desnudas”, se les llama así porque no presentan una cubierta o concha. Las podemos encontrar en forma libre o como parásitos (Sleigh, 1989).

En especial nos enfocaremos a las pequeñas amebas de vida libre desnudas (AVL), que comúnmente conocemos como amibas (Villagrana, 1994). Las AVL, habitan en una gran diversidad de ambientes acuáticos, terrestres y aéreos (Rodríguez-Zaragoza, 1994; Urban y Vega, 2002). Algunas de estas, se les denomina amebas anfizoicas (del griego *amphi*: en ambos lados), es decir, que son capaces de vivir libremente en la naturaleza y también como endoparásitos (John, 1993).

## ***Historia***

La descripción de una ameba por vez primera se debe al francés Félix Dujardin en el año de 1841, esta fue aislada en el río Sena, a la cual nombró *Amoeba limax* (Martínez, 1985).

En el ambiente las AVL, han sido aisladas de los sitios menos imaginados como: aguas naturales termales (Rivera *et al.*, 1989a), aguas subterráneas (Matuz, 2001), aguas residuales (Gogate y Deodhar, 1984), descargas de aguas termales contaminadas (De Jonckheere, 1981), aguas minerales embotelladas (Rivera *et al.*, 1981), lagos de agua dulce (Kyle y Noblet, 1986), manglar (Bhattacharya *et al.*, 1987), de estuarios (Anderson y

Rogerson, 1995), en suelos (Bischoff y Anderson, 1998), agua marina, sedimentos oceánicos, agua helada de piscina, aguas industriales, composta, piscinas cloradas, unidades de diálisis, unidades de tratamiento dental, tubos de lavado gástrico y lentes de contacto (De Jonckheere, 1991).

Además de lo ya dicho, las podemos encontrar suspendidas en el aire (Rivera *et al.*, 1991), en muestras de polvo en ambientes extra e intramuros provenientes de casas habitación (Urban y Vega, 2002), también en comedores, recámaras y cuartos de descanso de hospitales, en heces fecales de humanos, perros, ganado, en áreas recreativas y deportivas (Mergeryan, 1991).

En organismos vivos, han sido aisladas de vegetales, hongos, peces, reptiles, aves, mamíferos y cultivos celulares (De Jonckheere, 1991). En el humano, se han aislado de cavidades nasales, boca y quemaduras (Rivera *et al.*, 1986b; 1989b), en garganta, intestinos, tejidos infectados de cerebro, pulmón, piel y córnea (De Jonckheere, 1991).

### ***AVL aisladas en sistemas de tratamiento de aguas residuales***

De marzo a diciembre de 1981, se realizó un estudio para aislar amebas en un sistema de Lagunas de Estabilización, en Sto. Tomás Atzingo, Edo de México. Se seleccionaron 6 estaciones de las cuales se tomaron 20 muestras (superficie y fondo), 2 por mes. De las 13 especies amebianas aisladas e identificadas, 10 especies correspondieron a amebas de vida libre, entre estas estuvieron: *Acanthamoeba astronyxis*, *Amoeba proteus*, *Hartmannella exundans*, *Hartmannella vermiformis*, *Pelomyxa palustris*, *Vahlkampfia avara*, *Vahlkampfia russelli*, además se aislaron amebas patógenas para el hombre como; *Acanthamoeba castellanii*, *Acanthamoeba polyphaga* y *Naegleria* sp (Rivera *et al.*, 1986a).

En la India, en la ciudad de Bombay, en 1984, se colectaron 87 muestras de suelo de diferentes sitios, 48 muestras fueron de lodo de aguas residuales, donde se aislaron 277 cepas de amebas; 56 cepas correspondientes a *Schizopyrenus russelli*, 74 de *Hartmannella vermiformis*, 4 de *Echinamoeba exundans*, 3 de *Vannella cutleri*, 4 de *Acanthamoeba astronyxis*, 70 de *Acanthamoeba rhyodes* y 66 de *Acanthamoeba culbertsoni*. Mientras que en una muestra de agua dulce se encontró *Naegleria aerobia* (*Naegleria fowleri*). También hicieron estudios sobre patogenicidad en ratones a las cepas de *A. rhyodes*, *A. culbertsoni* y *N. aerobia* resultando patógenas (Gogate y Deodhar, 1984).

Basu y colaboradores, en enero también de 1984, colectaron muestras de aguas residuales, tanto de lodo como de agua, en un suburbio de Calcuta, India. Aislaron 5 especies pertenecientes a los géneros; *Greeffia*, *Acanthamoeba* y *Echinamoeba*. Las especies fueron *G. soli*, *A. rhyodes*, *A. palestinensis*, *A. astronyxis* y *E. exundans* (Basu *et al.*, 1987).

En 1991, se realizó un estudio para determinar la presencia de las AVL, en una planta de lodos activados en Middlesex, Inglaterra. Se aislaron 13 especies de amebas, pertenecientes a 11 géneros: *Echinamoeba silvestris*, *Hartmannella vermiformis*, *Mayorella viridis*, *Naegleria gruberi*, *Rosculus ithacus*, *Saccamoeba stagnicola*, *Vahlkampfia avara*, *Vannella simplex*, *Vexillifera bacillipides*, *Willaertia magna*, *Acanthamoeba culbertsoni*, *Acanthamoeba polyphaga* y *Acanthamoeba castellanii*. Estas tres últimas especies del género *Acanthamoeba*, mostraron diversos grados de patogenicidad en ratones, sobre todo *A. polyphaga*, que resultó la más virulenta (Ramírez *et al.*, 1993).

Otro estudio realizado en 1991, en Cheshire, Inglaterra, enfocado a aislar AVL patógenas y no patógenas, pero ahora en un sistema de tratamiento basado en el Método de la Zona de la Raíz (MZR), arrojó los siguientes resultados. Fueron aisladas 13 especies de AVL, correspondientes a 9 géneros, entre las cuales están: *Echinamoeba exundans*, *Hartmannella cantabrigiensis*, *Hartmannella vermiformis*, *Mayorella* sp *Paramoeba* sp *Platyamoeba placida*, *Rosculus ithacus*, *Vahlkampfia avara*, *Vahlkampfia ustiana* y *Vexillifera* sp. Además tres especies de AVL potencialmente patógenas pertenecientes al género *Acanthamoeba* fueron aisladas durante este estudio; *A. polyphaga*, *A. rhyodes* y *A. astronyxis*, todas fueron patógenas en ratones (Rivera *et al.*, 1993).

De junio a octubre de 1993, se llevo a cabo un estudio piloto a pequeña escala, en el cual se utilizaron humedales artificiales de *Phragmites* sp plantados en diferentes sustratos, para ver el grado de remoción de microorganismos patógenos de las aguas residuales. Este estudio se realizó en invernaderos del Jardín Botánico de la UNAM, en la Ciudad de México, en un invernadero se representó un clima subtropical y en otro un clima tropical. Se aislaron 22 géneros de AVL del afluente y efluente, el número de cepas aisladas fueron: *Vahlkampfia* (24), *Naegleria* (23), *Rosculus* (19), *Platyamoeba* (17), *Hartmannella* (14), *Vannella* (13), *Thecamoeba* (12), *Acanthamoeba* (11), *Dactylamoeba* (10), *Mayorella* (6), *Guttulinopsis* (4), *Acrasis* (4), *Cochliopodium* (3), *Glaeseria* (3), *Cashia* (3), *Vexillifera* (2), *Pocheina* (2), *Flamella* (1), *Paratetramitus* (1), *Filamoeba* (1), *Saccamoeba* (1) y *Dermamoeba* (1) (Rivera *et al.*, 1995b).

### ***Aspectos ecológicos***

La ubicuidad de las AVL, incluyendo a las especies patógenas, ocupan una extensa variedad de hábitats (agua, suelo, aire y sedimentos marinos) (Martínez, 1985).

Se presentan en las interfases: agua-suelo, agua-organismo, agua-planta, agua-aire y aire-organismo, de donde se alimentan de bacterias, hongos, algas, materia orgánica y otros protozoos, incluyendo a otras amebas (Rodríguez-Zaragoza, 1994).

Las AVL son los principales reguladores de las poblaciones bacterianas del suelo, pues forman parte fundamental de las cadenas tróficas actuando como consumidores voraces de bacterias, donde liberan alrededor del 35% del material ingerido, participando en la recirculación de nutrimentos (nitrógeno y fósforo), con lo cual aceleran la descomposición de la materia orgánica, además de incrementar la mineralización haciéndolos mas viables para las plantas. Esto se debe a que las AVL conforman cerca del 50 al 90% de los protozoos del suelo y de la materia orgánica en descomposición. Esto es posible porque poseen cuerpos flexibles, permitiéndoles llegar a los espacios porosos más diminutos (Bamforth, 1980; 1985).

Las condiciones básicas que necesitan las amebas para sobrevivir en cualquier ambiente son alimento (bacterias y MO), oxígeno, agua y temperatura adecuada. Las temperaturas extremas están por debajo de los 4°C y por encima de los 37°C, algunas son capaces de sobrevivir a temperaturas mayores de 45°C. En general algunas de las especies patógenas como *Acanthamoeba* y *Naegleria* toleran temperaturas mayores de 40°C (Bonilla y Ramírez, 1993). Cabe notar, que todas las especies patógenas son termotolerantes, pero no todas las termotolerantes son patógenas (Martínez, 1985).



En el suelo, pueden resistir amplias variaciones de pH desde de 3.9 hasta 9.7, mientras que en los ambientes acuáticos se encuentran en un intervalo de pH entre 4.5 y 9.5 (Bonilla y Ramírez, 1993).

Las amebas del suelo son útiles, porque se ha observado que algunas tienen selectividad por ciertas bacterias y hongos, lo que sugiere que podrían ser utilizadas como control biológico (competencia, producción de ciertos metabolitos o depredación). También indican las condiciones de acidez de la lluvia en una región determinada, pues reaccionan rápidamente disminuyendo su número y diversidad cuando el suelo se acidifica a causa de la lluvia (Lugo y Sánchez, 1995).

También es importante mencionar que las AVL son capaces de establecer relaciones simbióticas, porque sirven como vehículos de multiplicación y dispersión de bacterias, incluyendo a las patógenas (Hoffman y Michel, 2001). Tal es el caso de los géneros *Acanthamoeba*, *Hartmannella*, *Vahlkampfia* y *Naegleria*, que han sido encontrados en asociación con la bacteria patógena *Legionella pneumophila* (Martínez y Visvesvara, 1997; Rodríguez-Zaragoza, 1994), además de otros microbios como bacteroides, virus, viriones y micoplasmas (Rodríguez-Zaragoza, 1994).

Igualmente sucede con otros géneros bacterianos patógenos como *Listeria*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Salmonella* y *Vibrio*, que no solo llegan a sobrevivir como endosimbiontes, sino que también pueden multiplicarse en el ambiente intracelular de las amebas llegando a provocar la lisis de la ameba, incluso se ha observado que *Vibrio cholerae* sobrevive aún dentro de los quistes de *Naegleria* (Barker y Brown, 1994), al igual que *Legionella pneumophila* se encuentra en quistes de *Acanthamoeba* (Newsome *et al.*, 2001).

### ***Enfermedades que causan las AVL***

La mayoría de las personas asocia la palabra ameba a los parásitos gastrointestinales tan frecuentes en nuestro país, sin embargo la gran mayoría (11 300) de las especies no son patógenas para los humanos (Lugo y Sánchez, 1995). Además de las amebas intestinales existen otro tipo de amebas llamadas anfizoicas causantes de otros tipos de enfermedades (Page, 1988), que como oportunistas, pueden producir infecciones serias en el ojo y el sistema nervioso central (Ramírez y Bonilla, 1995).

Las amebas anfizoicas pertenecientes a los géneros *Naegleria*, *Acanthamoeba* y *Balamuthia*, son las responsables de causar enfermedades en el humano y en otras especies de animales (Martínez y Visvesvara, 1997).

Estos géneros de amebas adquirieron importancia médica cuando se reportó el primer caso de infección en el año de 1965 ocurrida en Australia, cuando Fowler y Carter aislaron una ameba a la cual, posteriormente la identificaron como *Naegleria fowleri* (John, 1993).

*N. fowleri*, es la causante de una enfermedad en el Sistema Nervioso Central (SNC), llamada Meningoencefalitis Amebiana Primaria (MEAP), específicamente es una enfermedad cerebral aguda, fulminante y fatal que llega a provocar la muerte en un periodo de 3 a 7 días (Martínez y Visvesvara, 1997).

La vía de entrada al humano más frecuente la constituyen las fosas nasales, donde se instalan en la mucosa nasal y de ahí migran directamente al encéfalo a través de los nervios olfatorios (Ma *et al.*, 1990). Debido a que la invasión es muy rápida hay necrosis y hemorragias en gran parte del encéfalo. Los signos y los síntomas clínicos se caracterizan por confusión mental con alucinaciones, severos dolores de cabeza, fiebre, náusea, vómito, cuello rígido, pérdida del apetito, disturbios en el sentido del olfato y gusto, coma profundo y finalmente la muerte (John, 1993; Martínez y Visvesvara, 1997). Muchos de los casos reportados han ocurrido en personas jóvenes que gozan de buena salud y el contagio se ha relacionado con actividades acuáticas (Visvesvara y Stehr-Green, 1990).

El otro género que también provoca enfermedad en el SNC, es *Acanthamoeba*, la cual se comporta como oportunista y que cuenta con varias especies patógenas como son; *A. culbertsoni*, *A. castellanii*, *A. palestinensis*, *A. polyphaga*, *A. rhyodes* y *A. astronyxis* (Ma *et al.*, 1990; John, 1993), que causan una infección conocida como Encefalitis Amebiana Granulomatosa (EAG), que igualmente afecta al cerebro pero que a diferencia de la producida por *N. fowleri* es una enfermedad crónica subaguda con un curso prolongado de varios meses que ocurre predominante en pacientes inmunodeprimidos, como sucede en los pacientes infectados de SIDA (Visvesvara y Stehr-Green, 1990; John, 1993).

La ruta de entrada y penetración puede ser a través de la piel o mucosas, así como mediante la aspiración nasal. Una vez en el organismo, se establece una lesión primaria desde la cual, por vía hematógena las amebas llegan al sistema nervioso (Ma *et al.*, 1990). Entre los síntomas más relevantes destacan alteraciones del estado mental como alucinaciones, letargia, somnolencia y cambios en la personalidad, dolor de cabeza, fiebre, semiparálisis y coma. El diagnóstico se confirma mediante el aislamiento de los trofozoítos o quistes en el líquido cerebro-espinal (John, 1993; Martínez y Visvesvara, 1997).

Además de oportunista, también ataca a individuos sanos, como es el caso de una infección en la córnea del ojo referida como Queratitis amebiana (QA), esta infección se asocia con trauma, exposición del ojo con agua contaminada y al uso de lentes de contacto suaves, debido principalmente a la elaboración de soluciones de limpieza hechas en casa sin las medidas de higiene requeridas (Ma *et al.*, 1990; John, 1993).

Son cinco especies asociadas a este tipo de padecimiento; *A. castellanii*, *A. culbertsoni*, *A. polyphaga*, *A. hatchetti* y *A. rhyodes*. La sintomatología se caracteriza por un fuerte dolor agudo generalmente unilateral, enrojecimiento, irritación con sensación de cuerpo extraño y fotofobia (John, 1993; Martínez y Visvesvara, 1997).

*Acanthamoeba* se asocia también con otro tipo de padecimientos que incluyen úlceras en la piel, enfermedades en el hígado, neumonías, falla renal, tuberculosis, inflamación de la mucosa nasal y de la faringe (Rivera *et al.*, 1995a).

En 1989 se demostró la existencia de otra especie, esta vez se trata de una ameba *Leptomyxida* y que posteriormente en 1993 fue nombrada *Balamuthia mandrillaris*, por haber sido aislada de un mandril que murió de encefalitis y que al igual que *Acanthamoeba* es causal de la EAG (Visvesvara *et al.*, 1993; Martínez y Visvesvara, 1997).

La habilidad de estas amebas para adherirse a los tejidos es un factor importante de virulencia, además de su locomoción ameboidal que le permite una invasión rápida principalmente en *N. fowleri* (Ferrante, 1991).

Estas infecciones normalmente se adquieren durante la natación o al estar en contacto con agua contaminada; sin embargo existe la evidencia de que también pueden adquirirse por la inhalación de aire contaminado por estas amebas (Bonilla y Ramírez, 1993).

En nuestro país la baja casuística de estas infecciones, se debe en parte a que no se tienen en mente a las AVL como agentes etiológicos, por lo que se sospecha que muchos casos han pasado desapercibidos (Ramírez y Bonilla, 1995). Otra dificultad que existe en el conocimiento de estas infecciones es la falta de métodos específicos para detectar e identificar al organismo así como al diagnóstico diferencial de los signos clínicos, de tal manera que muchas de estas infecciones se han reconocido post-mortem (Marciano-Cabral y Bradley, 2001). Colectivamente, los estudios que sugieren que las amebas sirven como hospederos intracelulares a una variedad de bacterias patógenas, significando adicionalmente un riesgo potencial para la salud humana (Newsome *et al.*, 2001).

### ***Métodos de Cuantificación de las AVL***

Los estudios cuantitativos de las AVL en el ambiente presentan dificultades debido a las diferentes etapas en su ciclo de vida. Sin embargo, la estimación en el número de las amebas cae en una de las siguientes categorías: conteos directos y serie de diluciones en medios de cultivo (Rodríguez-Zaragoza, 1994).

El Método de conteo directo al microscopio, aunque evita la selección de los medios de cultivo, no ha tenido la suficiente aceptación, esto se debe a dos razones principales; una es porque el número de amebas puede llegar a ser demasiado pequeño, que no pueda permitir su conteo y la otra consiste a la dificultad de apartarlas de las partículas ya que se fijan firmemente y pueden pasar desapercibidas (Singh, 1955).

Por tales razones, el Método de dilución, con sus respectivas modificaciones ha sido considerado y utilizado ampliamente, como la mejor opción para el conteo de estos organismos.

Los primeros intentos para contar a las AVL, tuvieron dificultades al no contar con medios de cultivo adecuados. Este problema fue resuelto por Cutler y Svertzova, quienes propusieron el uso de agar no-nutritivo en placas, donde adicionaron bacteria como fuente de alimento y así poder obtener un medio adecuado para el desarrollo de las amebas. También trabajaron en la diferenciación de las etapas fisiológicas de estas, al usar HCl al 2% y una temperatura de 60°C por una hora, para la eliminación de la etapa de trofozoíto (Rodríguez-Zaragoza, 1994).

Fue el mismo Cutler y colaboradores en 1922, que publicaron el primer método de conteo de protozoos y que ha sido estadísticamente aprobado, aunque es limitado en exactitud, debido a la dificultad de obtener suficientes réplicas, se necesita un amplio número de diluciones usualmente 15, ya que el número de amebas puede variar de unos cientos a cientos de miles y por otro lado al examinar las muestras de toda la superficie de la placa es fácil omitir la presencia de pequeños números de protozoos (Singh, 1955).

Esta problemática, se superó gracias a los trabajos de Singh en 1955, que propuso el Método de los Anillos, basado en gran parte a los trabajos de Cutler y Svertzova.

En el Método de los Anillos, se utilizan diferentes diluciones, comenzando 1:5, 1:10 seguida de 14 diluciones más, hasta 1:81920, se toman alícuotas de 25µl y de estas diluciones se inoculan usando ocho réplicas en cajas petri con agar no-nutritivo o gel silica y *E. coli* muerta por calor, que tienen anillos de plástico o vidrio de 1.5 cm de diámetro y 1cm de alto. Las cajas petri se incuban de 7 a 10 días a 25, 30 y 42°C (Singh, 1955; Rodríguez-Zaragoza, 1994).

También en 1955, Takatsy ideó el Método de la microdiluciones, que es frecuentemente utilizado en virología, donde se preparan una serie de diluciones sucesivas, puestas en micropozos de estireno transparente (Darbyshire *et al.*, 1974).

Para 1964, Collins y su Método del número más probable, utilizado para muestras de suelo, preparó, una serie de 5 diluciones dobles con cinco réplicas de cada dilución, empleando un medio mineral salino o caldo nutritivo (Darbyshire *et al.*, 1974).

El Método del Número Más Probable (NMP), es usado profusamente en pruebas de bacteriología, este método consiste en preparar una serie de tubos de dilución múltiple, los resultados numéricos de las pruebas de estos tubos, se obtienen anotando los tubos positivos de cada dilución como un código de tres dígitos, que se buscan en las tablas elaboradas para tal fin y que marcan el 95% de límites de confianza para cada valor de NMP determinado. Los resultados se reportan como el número más probable de organismos por 100ml de muestra, NMP/100ml (CIECCA,1985).

Con el conocimiento de los diferentes métodos de cuantificación ya mencionados, Darbyshire y colaboradores (1974), los utilizó para comparar los resultados obtenidos de cada método. Trabajó basándose, en el método de dilución descrito por Singh (1955), que lo modificó para nombrarlo el método de la pipeta, después hizo lo mismo con el método de las microdiluciones de Takatsy y el método del NMP de Collins. Los resultados que arrojaron estos tres métodos, fueron casi similares, encontrándose que no existen diferencias significativas entre el método de la pipeta y el método de las microdiluciones. Al igual que comparó el Método del NMP y el de la modificación del método de las microdiluciones, encontrando también que no existen diferencias estadísticamente significativas entre ambos métodos.

Estos métodos fueron utilizados originalmente para estimar poblaciones de protozoos provenientes de muestras de suelo. No obstante se han adecuado y utilizado para las muestras acuáticas.

Así pues, el método de las diluciones en medios enriquecidos, ha sido aplicado exitosamente en sedimento, suelo y agua. Un ejemplo de su uso fue estimar la abundancia de Gimnamebas muestreando la capa superficial de un estanque de agua dulce, en Nueva York, obteniendo datos numéricos acerca de su abundancia, la cual fue en total como valor mínimo de 81/ml en enero a valores pico de 1568/ml en junio y 1813/ml en octubre. La abundancia fue baja en los meses de invierno, alcanzando fluctuaciones en la densidad de organismos/ml en primavera y verano y un segundo pico en otoño (Anderson, 1997).

## ***Justificación***

Las amebas desnudas o Gimnamebas prefieren ambiente aerobios (John, 1993) y cuando las condiciones del ambiente son adversas tienen la capacidad de formar una estructura de resistencia llamada quiste, la cual les permite mantenerse viables hasta que las condiciones son nuevamente favorables (Sleigh, 1989). Sin embargo, se han encontrado indicios de que algunas amebas que no tienen la capacidad de formar quistes, pueden estar presentes en ambientes con condiciones adversas como concentraciones bajas de oxígeno disuelto (microaerófilas), temperaturas bajas y presencia de algunos compuestos tóxicos, que se encuentran en los desechos orgánicos en descomposición y en el agua residual (Page, 1988; Rodríguez-Zaragoza, 1994).

Por tales razones, este trabajo está enfocado a detectar la presencia y abundancia de las amebas desnudas (formadoras y no formadoras de quistes), en un hábitat en condiciones microaerófilas como es el agua residual de un tanque sedimentador, que por diseño y finalidad, no favorece la existencia de concentraciones altas de oxígeno.

## **Objetivo General**

Detectar la presencia y determinar la abundancia de Gimnamebas en agua residual doméstica en un tanque de sedimentación.

## **Objetivos particulares**

- Aislar Gimnamebas de un tanque de sedimentación.
- Identificar Gimnamebas mediante su morfología.
- Cuantificarlas con el método del Número Más Probable (NMP).
- Relacionarlas con algunos parámetros físicos y químicos (pH, temperatura, conductividad y oxígeno disuelto).
- Determinar su distribución espacial de las Gimnamebas.
- Determinar la distribución estacional y temporal referente a la abundancia durante el periodo de estudio.

## Descripción de la zona de muestreo

### Ubicación Geográfica.

El poblado de Santa Matilde, se encuentra ubicado en el Municipio de Pachuca, en el Estado de Hidalgo. Santa Matilde se localiza en las coordenadas 98° 48' 12" de longitud oeste y 20° 01' 47" latitud norte (Fig. 1). Con una altura aproximada de 2360 msnm. Como referencia se localiza a tan sólo 11.5 km de la capital Pachuca de Soto (SPP, 1984).

### Clima

El tipo de clima que se presenta es BS1k'w", semiseco templado (García, 1981). Con una temperatura media anual de 14.7°C y una precipitación media anual de 378 mm. El periodo de lluvias se presenta de Abril a Septiembre (INEGI, 2002).

### Vegetación.

La vegetación con que cuenta es de matorral desértico micrófilo inerme, con vegetación secundaria y pastizales inducidos (SPP, 1984).

### Edafología.

Con un suelo feozem de tipo Aplico (Hh) con partes de calcárico (HC) fino, con una clase textural que va de mediano a fino, en una fase física dúrica. El límite del suelo, tiene una profundidad de 26 cm. con un límite de cementación. El Horizonte A, tiene una denominación Mólico, con una textura media en forma de bloques de tamaño muy fino, con un desarrollo débil (SPP, 1984).

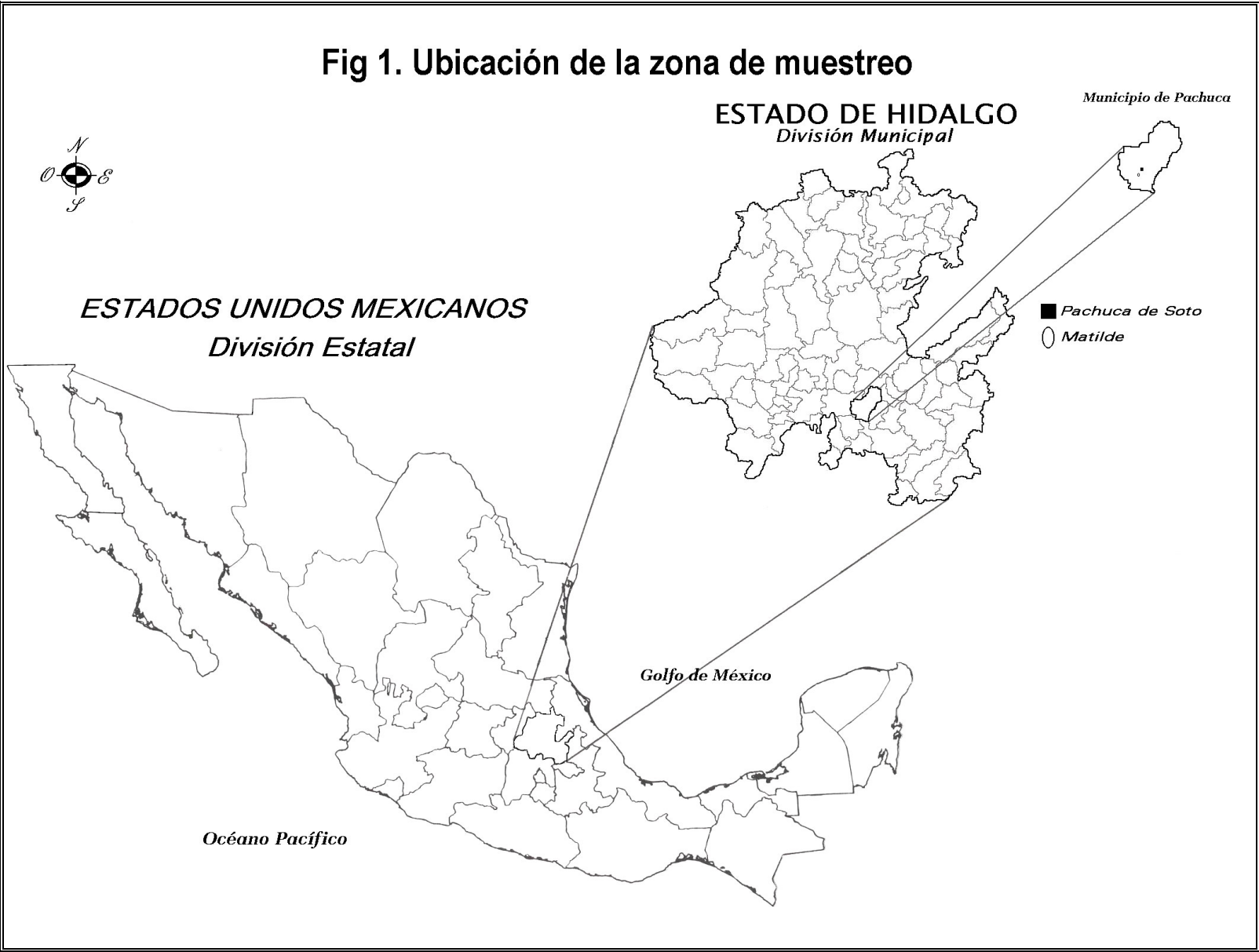
### Geología

La zona presenta rocas sedimentarias de tipo arenisca (ar), en relieve de lomerío con capas masivas de edad del Terciario Superior de permeabilidad mediana, así como arenisca de baja compactación con uso de relleno, rodeado por rocas ígneas de brecha volcánica basáltica (Bub) y por suelos de aluvión (al) (SPP, 1984).

### Uso del suelo

Se lleva a cabo la actividad agrícola de temporal y anual (SPP, 1984), con cultivos de maguey y cebada. La tenencia de la tierra, en su mayoría es ejidal, siguiendo la pequeña propiedad (INEGI, 2002).

**Fig 1. Ubicación de la zona de muestreo**



## Descripción del sistema de tratamiento

El sistema está diseñado y construido por el propietario de la casa (Ing. Héctor Lugo), para tratar las aguas residuales de una vivienda habitada por 5 personas, ubicado en el poblado de Santa Matilde, Hgo.

Está constituido en su primera fase, por un tanque de sedimentación que funciona de fosa séptica y es utilizado para el tratamiento primario, el cual tiene la función de retirar de las aguas los sólidos orgánicos e inorgánicos sedimentables, mediante el proceso físico de sedimentación.

La segunda fase del tratamiento consta de un humedal artificial subsuperficial de flujo horizontal, que tiene 1.70 m de ancho por 5 m de largo, una profundidad de 45 cm y una pendiente del 2%, con plantas macrófitas del género *Phragmites* sp (carrizos) y *Typha* sp (tules) plantadas a todo lo largo y ancho en grava como sustrato, así pues el agua es tratada aeróbicamente por la actividad bioquímica microbiana en los rizomas y anaerobiamente en el suelo circundante (Ramírez, 1998). Este lecho de macrófitas, se conoce como el Método de la Zona de la Raíz (MZR) y forma parte del tratamiento secundario o biológico. El agua tratada pasa finalmente a una fosa de almacenamiento y esta agua es reutilizada para el riego de árboles (Fig. 2 y 3).

Es importante señalar que el poblado todavía no cuenta con un sistema de alcantarillado y drenaje, el cual permita el desagüe de sus aguas residuales hacia un canal. Por lo tanto la casa cuenta con su propio drenaje llevando el agua residual a este sistema de tratamiento ya descrito. Este tipo de sistema, es una buena opción en el tratamiento de las aguas de desecho, ya que el costo de fabricación es económico, además de que no requiere un mantenimiento especializado, ofreciendo así una alternativa en la descarga y tratamiento de las aguas residuales domésticas.

### *Descripción del tanque de sedimentación*

El tanque de sedimentación es de forma rectangular con una longitud de 2 m por 1m de ancho y una profundidad de 1.50 m, cuenta con la capacidad de almacenar un volumen total de 1.5 m<sup>3</sup>.

Esta dividido en dos cámaras por una mampara, la cual tiene una abertura de 35 cm para el paso del agua. La primera cámara tiene una longitud de 1.15 m y se encarga de sedimentar la mayor parte la materia sólida de gran tamaño, mientras que la siguiente cámara cuenta con una longitud de 70 cm la cual recibe el agua con poca materia, de tal forma, de que, ni el fango del fondo ni el flotante de una cámara pase a la siguiente, cumpliendo de manera significativa con el propósito del tratamiento primario (Fig 4).

Para su construcción se hizo una excavación de acuerdo con las dimensiones requeridas para el tanque, utilizando concreto en las paredes y en la losa superior e inferior para evitar filtraciones al subsuelo.



Fig 2. Descripción del sistema de tratamiento de agua

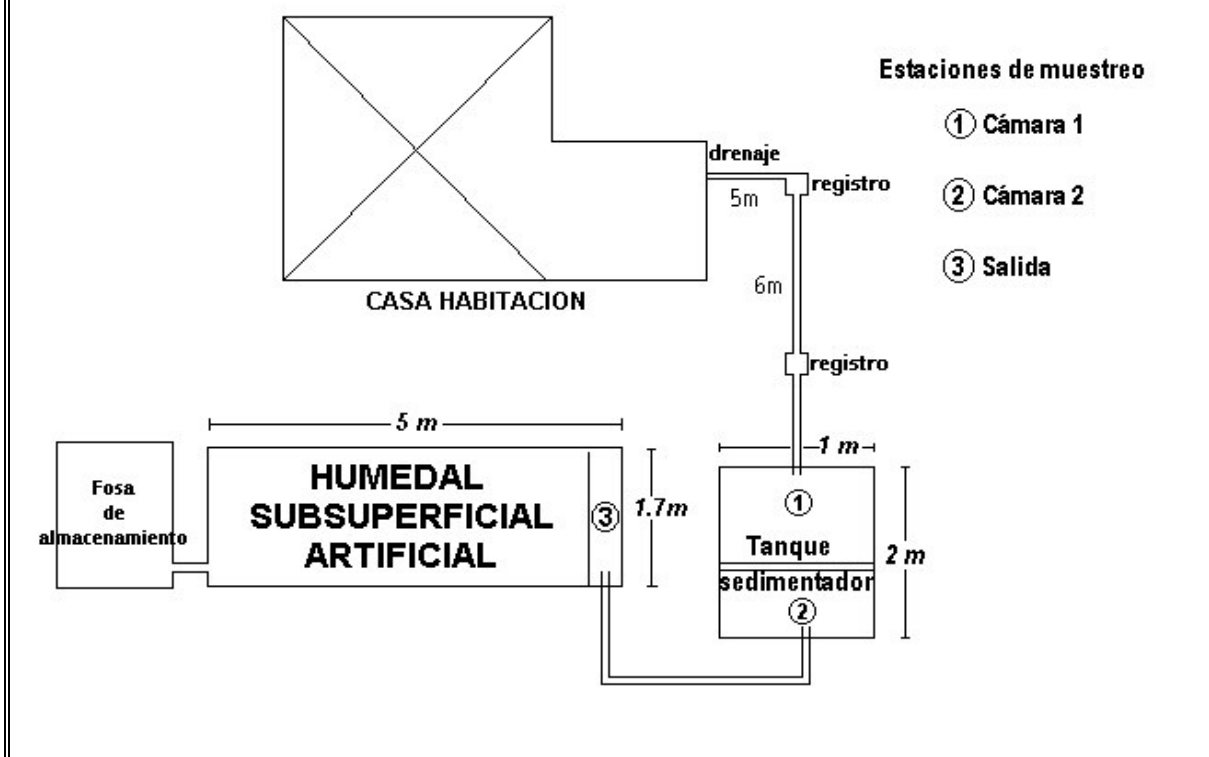
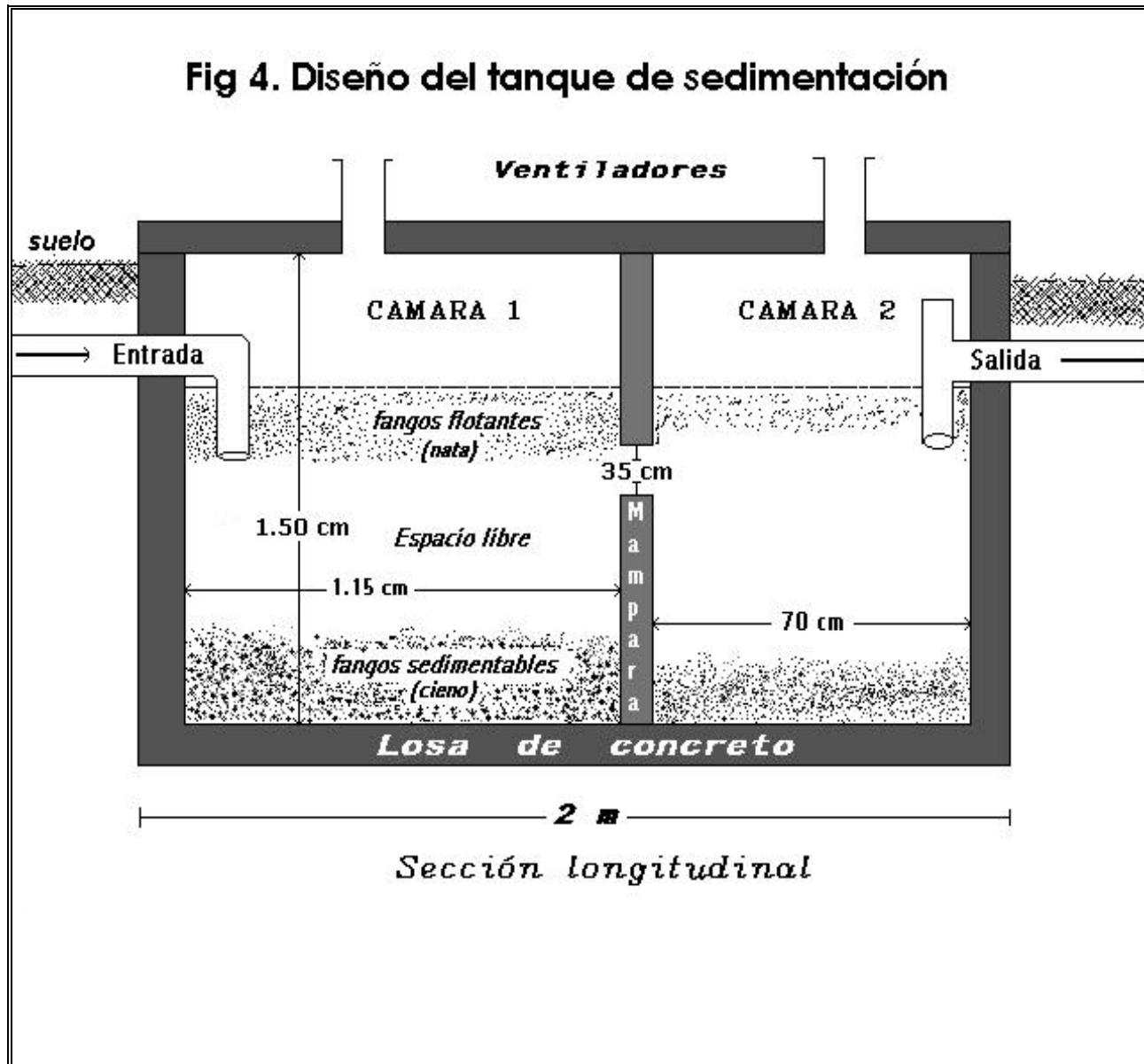


Fig 3. Vista general del sistema.

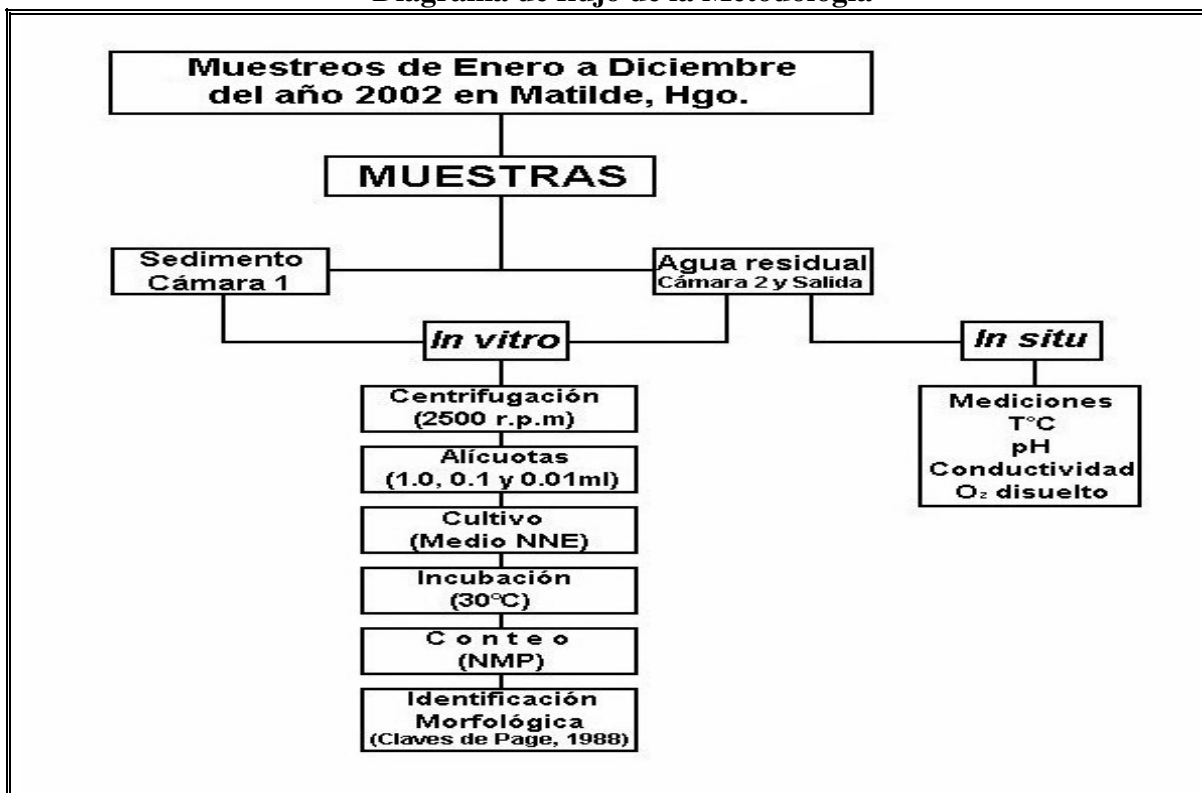


(A) Tanque de sedimentación. (B) Humedal.

**Fig 4. Diseño del tanque de sedimentación**



## Diagrama de flujo de la Metodología



## Material y Métodos

### Muestras

Se realizaron doce muestreos mensuales de enero a diciembre, correspondientes al año 2002, en el poblado de Santa Matilde, Municipio de Pachuca, Estado de Hidalgo.

### Obtención de las muestras

El material utilizado tanto para la toma de muestras, como el de laboratorio se esterilizó previamente, en una autoclave a 15 libras de presión durante 15 minutos.

Las muestras se tomaron de la primera y segunda cámara del tanque sedimentador así como de la salida (Fig. 2).

En la primera cámara del tanque sedimentador, debido a la poca disponibilidad de agua, se obtuvo muestra de sedimento, mediante un tubo de cobre de 50 cm. de largo y con una abertura de 2 cm. de diámetro.

Mientras que las muestras de agua residual se obtuvieron de la segunda cámara y de la salida utilizando botellas de color ámbar; en seguida se realizó *in situ*, la medición de los siguientes parámetros físicos y químicos: pH, Temperatura, Conductividad (CONDUCTRONIC PC 18) y Oxígeno disuelto (OXIMETRO YSI MOD 51B).

La muestra de sedimento, así como las de agua se trasladaron a temperatura ambiente al laboratorio de Microbiología Ambiental del Proyecto CyMA, para su inmediato procesamiento.

### Procesamiento de las muestras

Se obtuvieron aproximadamente 3 gramos de la muestra de sedimento, los cuales se resuspendieron agregando agua destilada estéril hasta completar un volumen de 50 ml.

Para las muestras de agua residual se agitaron y se tomaron volúmenes de 50 ml de cada muestra.

La muestra de sedimento y agua residual, se concentraron utilizando una centrifuga (BECKMAN-MODELO TJ-6) a 2500 r.p.m., durante 15 minutos para posteriormente desechar el sobrenadante y así obtener 5 ml de pastilla, que sirvió para el cultivo de las amebas.

#### Diluciones

Para la cuantificación de las amebas, se utilizaron alícuotas de 1.0, 0.1 y 0.01 ml, con tres repeticiones respectivamente. En la primera línea se inoculó 1ml de la muestra directa y en la subsiguientes 100µl de las diluciones 0.1 y 0.01 ml.

#### Cultivo

La muestra directa, así como las diluciones se cultivaron en placas de plástico de 12 pozos con agar NNE (medio axénico) y dos gotas de una suspensión bacteriana de *Enterobacter aerogenes* muerta por calor (ver anexo), como fuente de alimento para las amebas.

#### Incubación

Para el desarrollo de las amebas, las placas se dejaron incubar, en la estufa a una temperatura de 30°C y para detectar el crecimiento se empezaron a revisar al tercer día, con un invertoscopio Zeiss a 10x y 20x aumentos, dejándose incubar hasta el séptimo día.

#### Conteo

Una vez que se detectó el crecimiento, se prosiguió al conteo para estimar la densidad de las amebas en sedimento y agua, mediante el seguimiento de los valores de la tabla del Índice del Número Más Probable (NMP) y límite confiable al 95% para varias combinaciones de tres repeticiones y tres diluciones de resultados positivos y negativos (CIECCA, 1985). Se tomaron en cuenta los pozos que resultaron positivos, es decir, los que presentaron crecimiento, tanto de trofozoítos como de quistes, para obtener los valores correspondientes.

#### Identificación

Se realizaron preparaciones en fresco utilizando Medio Ringer (ver anexo) para hacer un lavado y un ligero raspado en el agar con un asa de siembra, de esta suspensión se tomo una gota y se colocó en un portaobjetos para su observación en un microscopio de contraste de fases Zeiss a 40x y 100x.

Para la identificación y determinación del género así como de la especie se utilizó la clave de Page (1988), basándose en la morfología, en la cual se midió la longitud y ancho de los trofozoítos y del diámetro de los quistes de las amebas.

#### Análisis estadístico

Para saber si existen diferencias significativas entre los parámetros y el número de amebas en cada punto de muestro, se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA  $\alpha=0.05$ ) y en caso de haber diferencias significativas se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey ( $\alpha=0.05$ ).

Se aplicó el método estadístico de análisis de Coeficiente de Correlación Lineal Producto-Momento de Pearson, que permitiera establecer de una manera válida las relaciones entre el número de amebas y los diferentes parámetros fisicoquímicos (Statistica 10.0).

## Resultados y Discusiones

De las muestras de sedimento de la primera cámara, así como de las muestras de agua residual doméstica de la segunda cámara y de la salida, muestreadas de enero a diciembre del 2002, se identificaron un total de 18 especies de gimnamebas, distribuidas en 5 familias y 6 géneros como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Esquema taxonómico de las Gimnamebas aisladas.

<b>REINO:</b>	<b>Protista</b> Haeckel, 1866		
<b>SUBREINO:</b>	<b>Protozoa</b> Goldfuss, 1818, emend von Sieblod, 1846		
<b>PHYLUM:</b>	<b>Sarcomastigophora</b> Honigberg & Balamuth, 1963		
<b>SUBPHYLUM:</b>	<b>Sarcodina</b> Schmarda, 1871		
<b>SUPERCLASE:</b>	<b>Rhizopoda</b> von Siebold, 1845		
<b>CLASE:</b>	<b>Lobosea</b> Carpenter, 1861		
<b>SUBCLASE:</b>	<b>Gymnamoebia</b> Haeckel, 1862		
<b>ORDEN:</b>	<b>Amoebida</b> Ehrenbreg, 1830		
	<b>*FAMILIA</b>	<b>*GENERO</b>	<b>*ESPECIE</b>
	<b>Hartmannellidae</b> Volkonsky, 1931; emend. Page, 1974	<b>Hartmannella</b> Alexeieff, 1912; emend. Page, 1974	<b>vermiformis</b> Page, 1967
	<b>Vannellidae</b> Bovee, 1979	<b>Vannella</b> Bovee, 1965	<b>platypodia</b> Glasër, 1912 <b>simplex</b> Wohlfarth-Botterman, 1960 <b>lata</b> Page, 1988
	<b>Paramoebidae</b> Poche, 1913; emend. Page, 1987	<b>Dactylamoeba</b> Korotneff, 1880	<b>stella</b> Schaeffer, 1926
		<b>Mayorella</b> Schaeffer, 1926	<b>microeruca</b> Bovee, 1970
<b>ORDEN:</b>	<b>Schizopyrenida</b> Singh, 1952		
	<b>Vahlkampfiidae</b> Jollos, 1917	<b>Vahlkampfia</b> Chatton & Lalung-Bonnaire, 1912	<b>avara</b> Page, 1967 <b>aberdonica</b> Page, 1974
<b>ORDEN:</b>	<b>Acanthopodina</b> Page, 1976		
	<b>Acanthamoebidae</b> Sawyer & Griffin, 1975	<b>Acanthamoeba</b> Volkonsky, 1931	<b>astronyxis</b> Ray & Hayes, 1954 <b>tubiashi</b> Lewis & Sawyer, 1979 <b>lugdunensis</b> Pussard & Pons, 1977 <b>mauritaniensis</b> Pussard & Pons, 1977 <b>castellanii</b> Douglas, 1930 <b>polyphaga</b> Puschkarew, 1913 <b>quina</b> Pussard & Pons, 1977 <b>triangularis</b> Pussard & Pons, 1977 <b>royreba</b> Willaert, Stevens & Tyndall, 1978 <b>lenticulata</b> Molet & Ermolieff-Braun, 1976

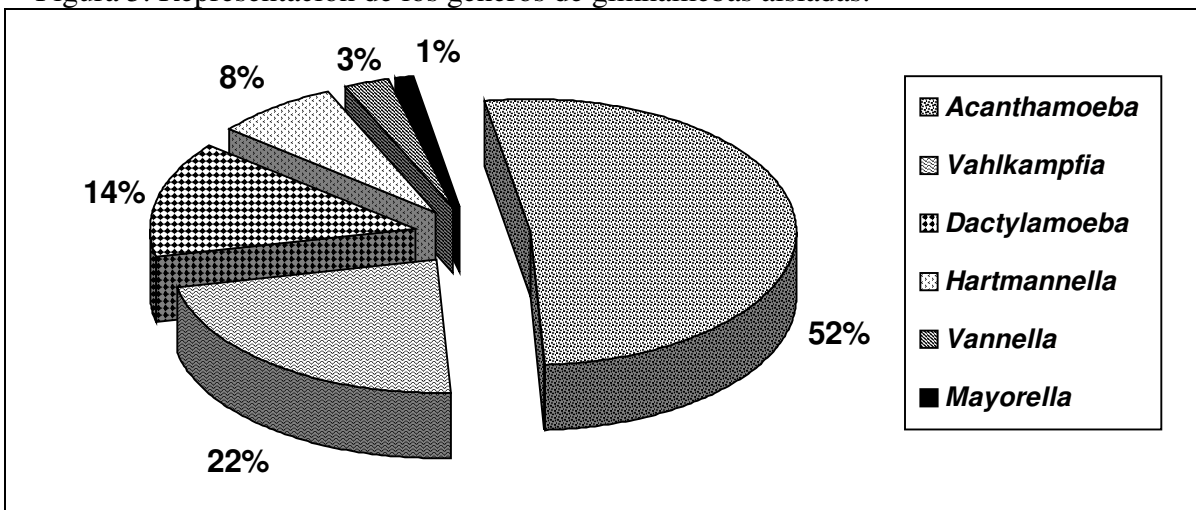
(Levine *et al.*, 1980; \*Page, 1988; 1991)

## Riqueza específica

Las especies pertenecientes al género *Acanthamoeba* fueron las de mayor riqueza con diez especies, en segundo lugar se encontró el género *Vannella* con tres especies, en tercer lugar estuvo el género *Vahlkampfia* con dos especies, mientras que los demás géneros como *Hartmannella*, *Dactylamoeba* y *Mayorella* sólo presentaron una especie respectivamente (Tabla 1).

En la figura 5, se observa el porcentaje de representación que tuvo cada género amibiano, donde se muestra que el género *Acanthamoeba* resultó ser el que mayor representación obtuvo con el 52% del total de los aislamientos, le siguieron los géneros *Vahlkampfia* con un 22% y *Dactylamoeba* con el 14%. Con menos porcentajes, se presentaron los géneros *Hartmannella* con el 8%, *Vannella* con un 3% y por último el género *Mayorella* con el 1%.

Figura 5. Representación de los géneros de gimnamebas aisladas.



Page (1988), señala que el género *Acanthamoeba* está distribuido extensamente en la biósfera, siendo la ameba de vida libre (AVL) más frecuentemente aislada y posiblemente el más común de los protozoos. Esta misma opinión la comparte De Jonckheere (1991), donde menciona que este género es la AVL que se encuentra presente en todos los tipos de ambientes del mundo.

La predominancia de *Acanthamoeba* y por ende su mayor porcentaje sobre las demás amebas en estudios realizados en diversos ambientes ha sido reportado por varios autores (Kyle y Noblet, 1986; Rivera *et al.*, 1989b; Mergeryan, 1991; Rivera *et al.*, 1991; Matuz, 2001; Hoffman y Michel, 2001; Urban y Vega, 2002; Gudiño, 2003).

La amplia distribución que presenta *Acanthamoeba* en los diversos ambientes se debe en gran medida a la resistencia de su quiste, cuya característica principal es la de estar formado por una doble pared; una capa externa (exoquiste) compuesta por fosfoproteínas y una capa interna (endoquiste) de celulosa (Page, 1991). Dada la peculiaridad que presentan sus quistes, se les ha considerado más resistentes a varios componentes químicos que a otros quistes de amebas de vida libre (Kyle y Noblet, 1986).

Otra característica de este género es su resistencia a cambios extremos, permitiéndole colonizar y mantener su población en una gran variedad de microambientes (Rodríguez-Zaragoza, 1994).

En lo referente en ambientes contaminados se ha reportado que existe una relación directa entre la presencia de *Acanthamoeba* y bacterias indicadoras de contaminación fecal que han sido encontradas en muestras de sedimento marino (Sawyer *et al.*, 1982 citado en De Jonckheere, 1991).

Los diversos trabajos realizados por Sawyer, (1980;1982;1990;1993), concernientes a la contaminación producida por las aguas residuales (citados en Nerad y colaboradores 1995), proponen a las AVL que forman quistes -en especial al género *Acanthamoeba*- como indicadores fiables de contaminación por la dispersión de aguas residuales en ríos, bahías, costas y océanos. Los mismos autores señalan que el uso de una combinación de bacterias entéricas y amebas formadoras de quistes es una buena opción para el monitoreo de diversos ecosistemas que son usados como vertederos de aguas de desecho. Incluso detectaron nuevas especies de este género tales como *A. jacobsi*, *A. stevensoni* y *A. pearcei*; su descubrimiento tuvo en común que fueron aisladas en ambientes marinos contaminados por la descarga de aguas residuales.

También se ha reportado una correlación positiva de *Acanthamoeba* en sedimentos oceánicos con la presencia de lodos de aguas residuales (Dagget *et al.*, 1982, citado en Kyle y Noblet, 1986).

No se debe olvidar que la presencia del género *Acanthamoeba* es un factor importante de riesgo porque varias especies son de potencial patógeno ya que producen infecciones en el sistema nervioso central, ojos, piel y pulmones en individuos sanos, así como a los que tienen el sistema inmune debilitado (Martinez y Visvesvara, 1997). Una de las formas más eficaces para tener un control sanitario es el empleo de cloro libre activo (hipoclorito de sodio), en una concentración de 2 mg/L, mata los trofozoitos y quistes tanto de *Naegleria* como de *Acanthamoeba*. El problema subsiste si la materia orgánica que se introduce es mucha, hablese de cabellos, tierra, grasa corporal y hojas entre otros, porque se neutraliza la acción del cloro y los organismos logran subsistir (Rivera citado en Villagrana, 1994).

La mayoría de las gimnamebas producen quistes resistentes dentro de los cuales pueden permanecer en estado latente durante los períodos en que las condiciones ambientales son hostiles. Además los quistes son un excelente medio para la dispersión, lo que justifica su amplia distribución, pues de esta manera pueden ser transportados a grandes distancias (Sleigh, 1989). Esta habilidad adaptativa surgió como respuesta a la variación ambiental, pues de esta manera son capaces de sobrevivir en condiciones de sequía, cambios de pH, escasez de oxígeno y de alimento (Bonilla y Ramírez, 1993).

Las especies del género *Vahlkampfia* tienen un quiste con pared gelatinosa (Page, 1988), característica que explica su sobrevivencia en este ambiente, por esta razón representó el 22% de las gimnamebas y su aislamiento fue constante. Este segundo lugar que ocuparon se debe a que se les considera como una de las amebas que son consumidores voraces de bacterias pequeñas, lo que favorece su proliferación en aguas de desecho donde las bacterias provenientes del tracto intestinal son abundantes (Bonilla y Ramírez, 1993).

Las especies del género *Hartmannella* producen quistes con doble pared, cuya pared interna es más gruesa que la externa. Sin embargo no tuvo la suficiente adaptación a las variaciones ambientales, pues su quiste y trofozoíto son menos resistentes (Page, 1988), por lo tanto ocupó un porcentaje del 8%.

El aislamiento de los géneros *Vahlkampfia* y *Hartmannella* no es casual, ya que se reportan frecuentemente en los sistemas de tratamiento de aguas residuales (Gogate y Deodhar, 1984; Rivera *et al.*, 1986a; Ramírez *et al.*, 1993 y Rivera *et al.*, 1993, 1995b).

La capacidad que tiene la mayoría de las amebas para formar quistes, representa una característica de vital importancia, ya que gracias a esta estructura de resistencia pueden sobrevivir a las condiciones adversas que se presentan en las aguas residuales como concentraciones de amonio, CO<sub>2</sub>, sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S) y bajas concentraciones de oxígeno disuelto.

La presencia de H<sub>2</sub>S se debe a que la mayor parte de la degradación orgánica sucede en anaerobiosis, utilizándose aceptores de hidrógeno distintos del oxígeno, por lo cual pueden producirse grandes cantidades de sulfuro de hidrógeno y de amoníaco (Sleigh, 1989).

En tanto que *Dactylamoeba stella*, a pesar de no formar quistes (Page, 1998), se presentó en el tanque. Su aislamiento es de destacarse, al ubicarse en tercer lugar con el 14% de los aislamientos, ya que no sólo logró sobrevivir, sino que también se aisló durante la gran mayoría de los meses, así como en todas las estaciones de muestreo, lo cual demuestra su resistencia a condiciones ambientales adversas.

Page (1988), describe al género *Vannella* como una ameba que se ha aislado en ambientes de agua dulce y marino de muchas partes del mundo. Este género es uno de los que tampoco forma quistes y sin embargo pudo adaptarse al ambiente del agua residual al aislarse en un 3%, también ha sido cultivada de materia orgánica en basura de hojas.

*Vannella simplex* es una de las especies de amebas más comunes que ha sido reportada de una gran variedad de regiones; originalmente se ha descrito como una especie de agua dulce, sin embargo también se ha reportado en ambientes marinos. Esta especie presenta una cepa *Vannella simplex* Nivå a la que recientemente se le ha descubierto la capacidad de formar quistes, los cuales tienen la característica de ser redondos con una sola pared y un tamaño que va de 16 a 26µm de diámetro. Otra característica es la de presentar una superficie de apariencia rugosa, su aislamiento se registro no en agua dulce sino en agua salobre, de la Bahía Nivå, en el mar Báltico. La particularidad de formar quistes le permite soportar cambios en las concentraciones de salinidad y oxígeno (Smirnov *et al.*, 2002).

Otro género que no forma quistes es *Mayorella* (Page, 1988); el bajo aislamiento (1%) de *Mayorella microeruca* nos indica que es más susceptible a ser eliminada en condiciones desfavorables o que haya sido recientemente introducida al sistema, ya que su aislamiento fue poco frecuente.

Cabe señalar que no se obtuvo ningún aislamiento del género *Naegleria*, al cual pertenecen amebas muy patógenas, esto se debió a que estas amebas son muy sensibles a condiciones ambientales extremas (Bonilla y Ramírez, 1993), de tal modo que su presencia en el agua residual del tanque no se vio favorecida.



## Distribución espacial

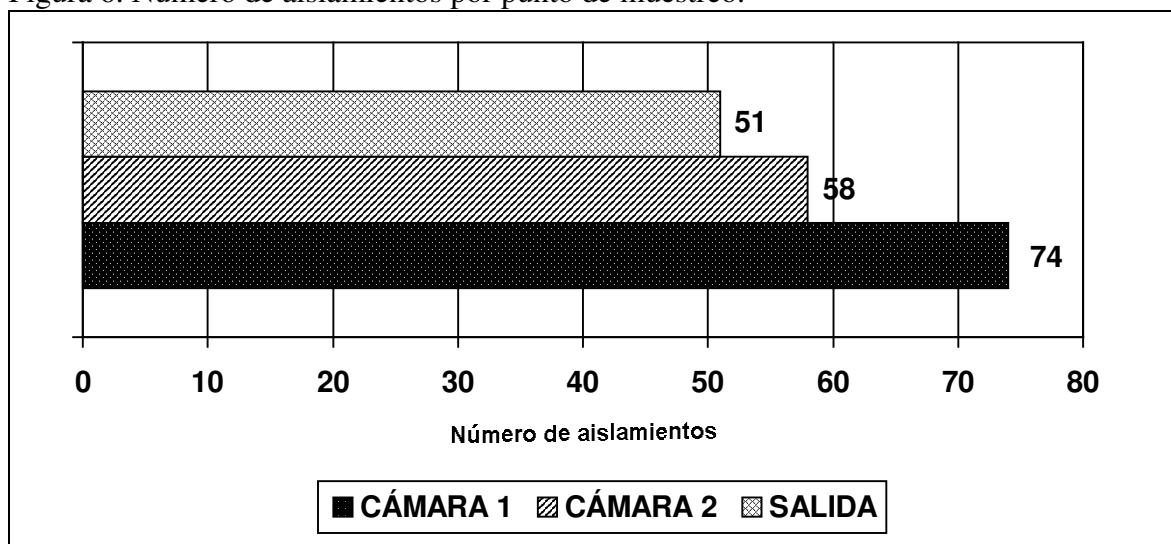
La distribución espacial de las gimnamebas en cuanto al número de especies, estuvo dada de la siguiente manera (Tabla 2). Se aislaron once especies de la cámara 1, doce especies de la cámara 2 y dieciséis de la salida. Este último punto fue donde se presentó un mayor número de especies de amebas, como se muestra en la figura 7.

Tabla 2. Lista de especies amebianas por punto de muestreo.

CÁMARA 1	CÁMARA 2	SALIDA
<i>Acanthamoeba tubiashi</i>	<i>Acanthamoeba tubiashi</i>	<i>A. tubiashi</i>
<i>Acanthamoeba astronyxis</i>	<i>Acanthamoeba astronyxis</i>	<i>A. astronyxis</i>
<i>Acanthamoeba quina</i>	<i>Acanthamoeba castellanii</i>	<i>A. lugdunensis</i>
<i>Acanthamoeba triangularis</i>	<i>Acanthamoeba quina</i>	<i>A. mauritaniensis</i>
<i>Acanthamoeba royreba</i>	<i>Acanthamoeba triangularis</i>	<i>A. polyphaga</i>
<i>Acanthamoeba lenticulata</i>	<i>Acanthamoeba royreba</i>	<i>A. quina</i>
<i>Dactylamoeba stella</i>	<i>Acanthamoeba lenticulata</i>	<i>A. triangularis</i>
<i>Hartmannella vermiformis</i>	<i>Dactylamoeba stella</i>	<i>A. royreba</i>
<i>Mayorella microeruca</i>	<i>Hartmannella vermiformis</i>	<i>A. lenticulata</i>
<i>Vahlkampfia avara</i>	<i>Mayorella microeruca</i>	<i>Dactylamoeba stella</i>
<i>Vahlkampfia aberdonica</i>	<i>Vahlkampfia avara</i>	<i>Hartmannella vermiformis</i>
	<i>Vahlkampfia aberdonica</i>	<i>Vahlkampfia avara</i>
		<i>Vahlkampfia aberdonica</i>
		<i>Vannella platypodia</i>
		<i>Vannella simplex</i>
		<i>Vannella lata</i>

De los 183 aislamientos obtenidos, la primera cámara fue el sitio donde se obtuvo el mayor número con 74 del total de los aislamientos, mientras que en la segunda cámara se registraron 58 y para la zona de la salida se contaron 51 aislamientos (Fig 6).

Figura 6. Número de aislamientos por punto de muestreo.



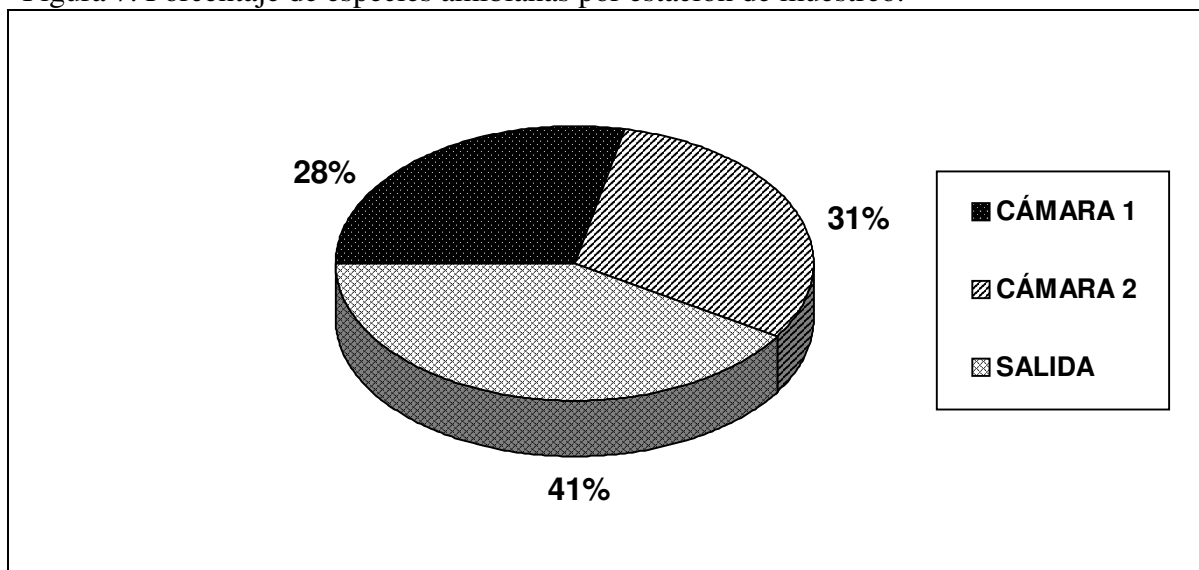
En este estudio se observó que el mayor número de aislamientos no se reflejó en el número de especies aisladas de gimnamebas al ser menor en la primera y segunda cámara a diferencia de la salida en donde se registró el menor número de aislamientos, pero el número de especies fue mayor con 16 de las 18 aisladas, ésto, al parecer se debió a que el oxígeno influyó en el número de especies, pues en la salida del tanque las concentraciones de O<sub>2</sub> fueron mayores (hasta 1.4 mg/L), permitiendo la colonización y desarrollo de otras especies amibianas.

Las diferencias en el número de aislamientos y el número de especies de gimnamebas en la primera cámara como en la segunda y salida, estuvo reflejada en su diferente composición, pues cabe indicar que la muestra obtenida de la cámara uno, fue sedimento de aspecto lodoso y que se obtuvo a una profundidad de 5 cm de la capa superficial del fango flotante que se almacenó en esta cámara, durante el proceso de sedimentación que se lleva a cabo en el tanque, donde los materiales más pesados se van al fondo mientras que los más ligeros tienden a flotar acumulándose en la superficie, por lo tanto este material se puede considerar de apariencia fina.

Estos datos concuerdan con Matuz (2001), en el estudio del acuífero del Valle del Mezquital, Hgo., indicando que se obtuvo un mayor número de aislamientos amibianos, en aquellos pozos de agua subterránea que son circundantes con terrenos irrigados con aguas residuales, lo que incrementa la cantidad de bacterias y materia orgánica que se filtra a los pozos, dando al agua diferente composición y de ahí que se observaran diferencias en el número de aislamientos.

El mayor número de aislamientos en la 1<sup>ra</sup> cámara, tal vez se debió a que estas especies estén mejor adaptadas para habitar este ambiente al tener menos competencia, de tal manera que siempre se observaran las mismas especies y sus aislamientos fueran constantes. Además, las partículas finas que conforman el sedimento tienen una medida de grano menor a 100µm y poseen numerosos espacios porosos de tamaño muy pequeño, en este micronicho las amebas experimentan menor competencia y depredación con otros protistas, además poseen la habilidad de penetrar las capas más profundas debido a su tamaño y forma (Butler y Rogerson, 1995).

Figura 7. Porcentaje de especies amibianas por estación de muestreo.



La variedad de amebas presentes en el agua residual depende del tipo de desechos contenidos en ella. Esta variedad decrece cuando el agua contiene sustancias tóxicas o el oxígeno disuelto es escaso. Esto se confirmó en un estudio en una planta piloto en un sistema a base de lechos de raíces de carrizos, suministrado con agua sin tratar de tipo doméstico-industrial, donde en la entrada apenas se registraron 4 géneros (*Acanthamoeba*, *Hartmannella*, *Rosculus* y *Vahlkampfia*), mientras que en la salida del lecho se registraron 16 géneros (Bonilla y Ramírez, 1993).

Comparando el número de especies aisladas en el humedal de macrofitas con las aisladas en el tanque de sedimentación, se observó que en éste, el número de especies fue mucho menor. Esto se entiende porque las condiciones ambientales del tanque no son las mismas que las del humedal. Porque en el tanque sólo existe un ambiente que es el agua de desecho con concentraciones de oxígeno disuelto menores, en cambio en el humedal las amebas se relacionan con dos ambientes: por un lado el agua de desecho y por otro el suelo que se utiliza como sustrato (en este caso el sustrato utilizado es grava), de esta manera las amebas del agua se ponen en contacto con las partículas del sustrato que contiene una población amibiana propia y en general más diversa (Bonilla y Ramírez, 1993). También hay que mencionar que los carrizos (*Phragmites* sp) y los tules (*Typha* sp) aportan oxígeno atmosférico a la rizósfera a través de las hojas, tallos y rizomas de los vegetales, así pues, el agua residual se trata aerobiamente por la actividad bioquímica microbiana en la rizósfera y anaerobiamente en el suelo circundante, de tal modo que las áreas próximas a las raíces son aerobias, mientras que las más alejadas son anaerobias, permitiendo una gran variedad de microbios (Rivera y Calderón, 1993).

Es por este motivo que en el humedal (que continúa del tanque de sedimentación estudiado), se encontraron más especies, como lo muestran los estudios realizados previamente también en Matilde, Hgo. De la Cerda y López (2002), en el periodo de marzo del 2000 a febrero del 2001, encontraron 32 especies representadas en 12 géneros (*Acanthamoeba*, *Dactylamoeba*, *Echinamoeba*, *Guttulinopsis*, *Hartmannella*, *Mayorella*, *Naegleria*, *Platyamoeba*, *Rosculus*, *Thecamoeba*, *Vahlkampfia* y *Vannella*); mientras que Gudiño (2003), en su estudio realizado de enero del 2001 a febrero del 2002, reporta un total de 34 especies, pertenecientes a 14 géneros (*Acanthamoeba*, *Acrasis*, *Dactylamoeba*, *Echinamoeba*, *Filamoeba*, *Guttulinopsis*, *Hartmannella*, *Mayorella*, *Naegleria*, *Platyamoeba*, *Protacanthamoeba*, *Saccamoeba*, *Vahlkampfia* y *Vannella*).

Ésta es la primera ocasión que se reportan gimnamebas del tanque sedimentador, pues en los dos estudios ya mencionados no se habían tomado muestras del tanque, complementando así el estudio de toda la planta de tratamiento.

### Frecuencia de las gimnamebas aisladas

Las especies que presentaron mayor frecuencia en la primera cámara del tanque sedimentador fueron *Acanthamoeba astronyxis* y *Dactylamoeba stella*, pues estuvieron presentes durante los doce meses de muestreos. *Vahlkampfia avara* se presentó en nueve meses, mientras que *Acanthamoeba tubiashi*, *Acanthamoeba triangularis* y *Hartmannella vermiformis* se encontraron en 8 de los muestreos y en siete ocasiones estuvo *Vahlkampfia aberdonica*. En tanto que las especies *Acanthamoeba royreba* y *Mayorella microeruca*, tan sólo se presentaron en una ocasión (Tabla 3).

Tabla 3. Frecuencia de aparición de las especies de amebas encontradas en la cámara 1.

<b>ENE</b>	•	•		•			•	•			•	6
<b>FEB</b>	•	•		•		•	•					5
<b>MAR</b>	•	•				•	•			•		5
<b>ABR</b>	•	•	•				•			•		5
<b>MAY</b>	•	•		•			•	•		•	•	7
<b>JUN</b>	•	•	•	•		•	•	•		•		8
<b>JUL</b>	•	•					•	•		•	•	6
<b>AGO</b>	•	•	•	•			•	•		•	•	8
<b>SEP</b>	•						•			•	•	4
<b>OCT</b>	•		•	•			•	•		•	•	7
<b>NOV</b>	•			•			•	•	•		•	6
<b>DIC</b>	•		•	•	•		•	•		•		7
Frecuencia	12	8	5	8	1	3	12	8	1	9	7	
<b>ESPECIE</b>	<i>Acanthamoeba astronyxis</i>	<i>Acanthamoeba tubiashi</i>	<i>Acanthamoeba quina</i>	<i>Acanthamoeba triangularis</i>	<i>Acanthamoeba royreba</i>	<i>Acanthamoeba lenticulata</i>	<i>Dactylamoeba stella</i>	<i>Hartmannella vermiformis</i>	<i>Mayorella microeruca</i>	<i>Vahlkampfia avara</i>	<i>Vahlkampfia aberdonica</i>	<b>Número de especies</b>

Nuevamente *Dactylamoeba stella* fue la que estuvo presente con mayor frecuencia en la segunda cámara, ya que se presentó en 9 ocasiones, seguida de *Acanthamoeba tubiashi* con ocho ocasiones y con siete estuvieron *Acanthamoeba astronyxis* y *Vahlkampfia avara*. Las especies que tan sólo se presentaron en una ocasión fueron *Acanthamoeba castellanii* y *Mayorella microeruca* (Tabla 4).

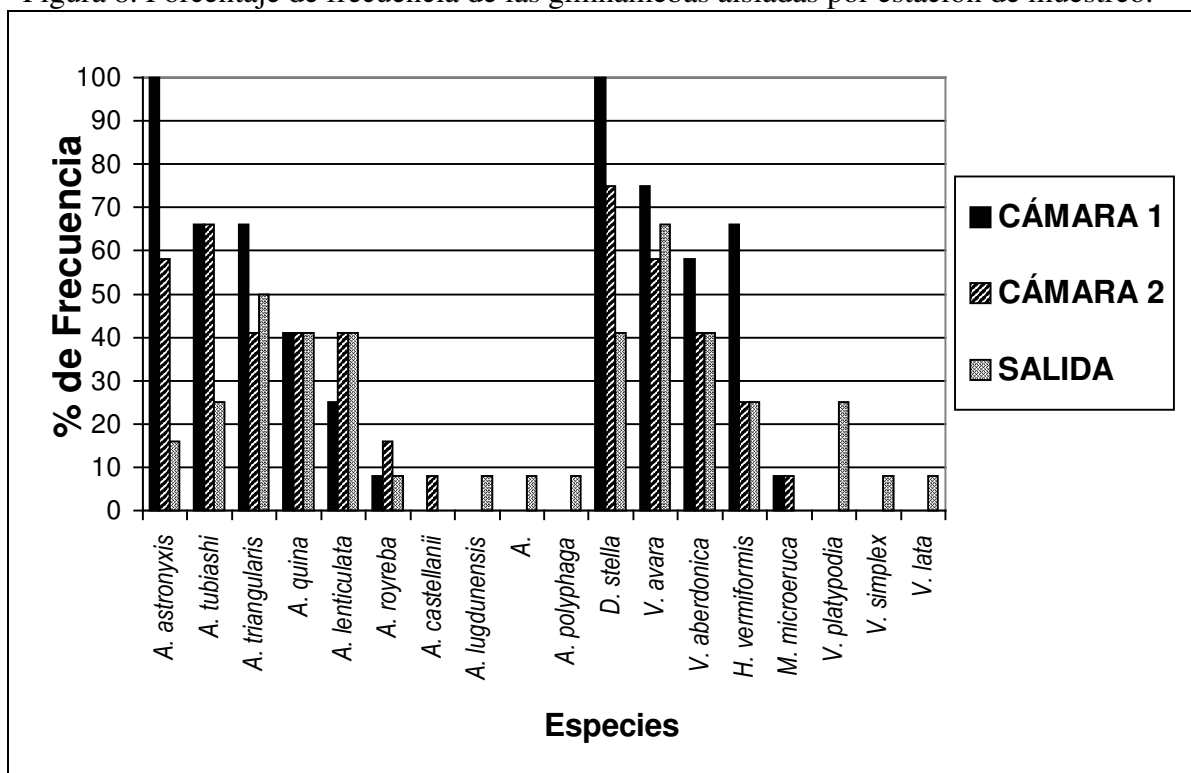
Con respecto a la salida, la especie más frecuente fue *Vahlkampfia avara* que se presentó ocho veces; en seguida aparece *Acanthamoeba triangularis* con seis meses. En esta zona varias especies sólo se presentaron en una ocasión, estas fueron; *A. lugdunensis*, *A. mauritaniensis*, *A. polyphaga*, *A. royreba*, *Vannella simplex* y *Vannella lata* (Tabla 5).



Es de llamar la atención que las especies del género *Vannella* y tres especies del género *Acanthamoeba* (*A. mauritaniensis*, *A. polyphaga* y *A. lugdunensis*) sólo estuvieron presentes en la salida.

De acuerdo con Sleigh (1989), los géneros más comunes de AVL del suelo corresponden a *Acanthamoeba*, *Naegleria* y *Hartmannella*. En este estudio los géneros más frecuentes tanto en sedimento como en agua fueron *Acanthamoeba*, *Dactylamoeba* y *Vahlkampfia*. Se esperaría que las AVL más comunes del suelo también lo fueran en el agua, no obstante se observan algunas diferencias con los géneros registrados (*Dactylamoeba* y *Vahlkampfia*) lo cual pudo deberse a la capacidad de sobrevivencia de cada género y a las condiciones particulares del tanque.

Figura 8. Porcentaje de frecuencia de las gimnamebas aisladas por estación de muestreo.



Las especies pertenecientes al género *Acanthamoeba* que más frecuencia tuvieron fueron *A. astronyxis*, con el 100% en la cámara 1, en la cámara 2 un 58% y 16% en la salida, esta fue la especie con el mayor porcentaje de frecuencia de todas las acanthamebas.

El segundo lugar lo comparten *A. tubiashi* y *A. triangularis*, primordialmente en la cámara 1, con un valor de 66% para ambas especies. En tercer lugar estuvo *A. quina* que registró una incidencia del 41% en las tres zonas de muestreo. Estas especies tuvieron el mayor porcentaje de incidencia tanto en las muestras de sedimento como también en las muestras de agua, durante el período de muestreo, como se observa en la figura 8.

Los miembros del género *Acanthamoeba*, incluyendo *A. culbertsoni*, *A. rhyodes* y *A. astronyxis*, siempre han sido encontradas por ser un grupo dominante de las gimnamebas de suelo de manglar, lo que significa que estas especies son capaces de resistir condiciones extremas como períodos de sequía, cambios de salinidad y altas concentraciones de materia

orgánica. Su abundancia podría estar relacionada con el papel que desempeñan como microdepredadores en el sistema suelo-basura (Bhattacharya *et al.*, 1987). Estos datos ofrecen una explicación del porque *A. astronyxis* fue resistente y en consecuencia el alto porcentaje de frecuencia que alcanzó.

La otra especie que también ocupó un lugar sobresaliente en frecuencia fue *Dactylamoeba stella*, que al igual que *A. astronyxis*, también presentó el 100% en la primera cámara, mientras que en la segunda cámara estuvo con un 66%, disminuyendo a 41% en la salida, siendo la especie que presentó el mayor porcentaje de incidencia de todas las amebas aisladas, destacando primordialmente en la muestra de sedimento durante los doce meses en que se llevo a cabo el estudio (Fig 8).

El alto porcentaje de frecuencia que registró *Dactylamoeba stella* es un dato interesante pues tuvo la capacidad de adaptación para resistir este tipo de condiciones desfavorables que son típicas en las aguas residuales y que a diferencia de otras especies amebianas que si forman quistes como en este caso *Vahlkampfia* y *Hartmannella* tuvieron una menor frecuencia.

*Vahlkampfia*, fue el otro género que tuvo un mayor porcentaje de frecuencia, la especie que más sobresale es *V. avara*, pues presentó un 75% en la primera cámara, un 58% en la segunda cámara y un 66% en la salida, en tanto que *V. aberdonica* tuvo mayor frecuencia en la primera cámara con un 58% (Fig 8). La alta frecuencia que alcanzó *V. Avara* contrasta con lo registrado por Rivera y colaboradores (1986a), quienes la reportan con una frecuencia del 20%, en un sistema de Lagunas de Estabilización.

### Abundancia de gimnamebas

El número de amebas presentó variaciones durante los doce meses en que se llevo a cabo el estudio, así pues, se registraron valores promedio mínimos en enero de 21,100 amebas/L y en febrero de 13,600 amebas/L hasta valores promedio máximos de 132,000 amebas/L en noviembre y 117,433 amebas/L en octubre, para un promedio anual de 74,300 amebas/L (Tabla 6).

Tabla 6. Número de gimnamebas por litro.

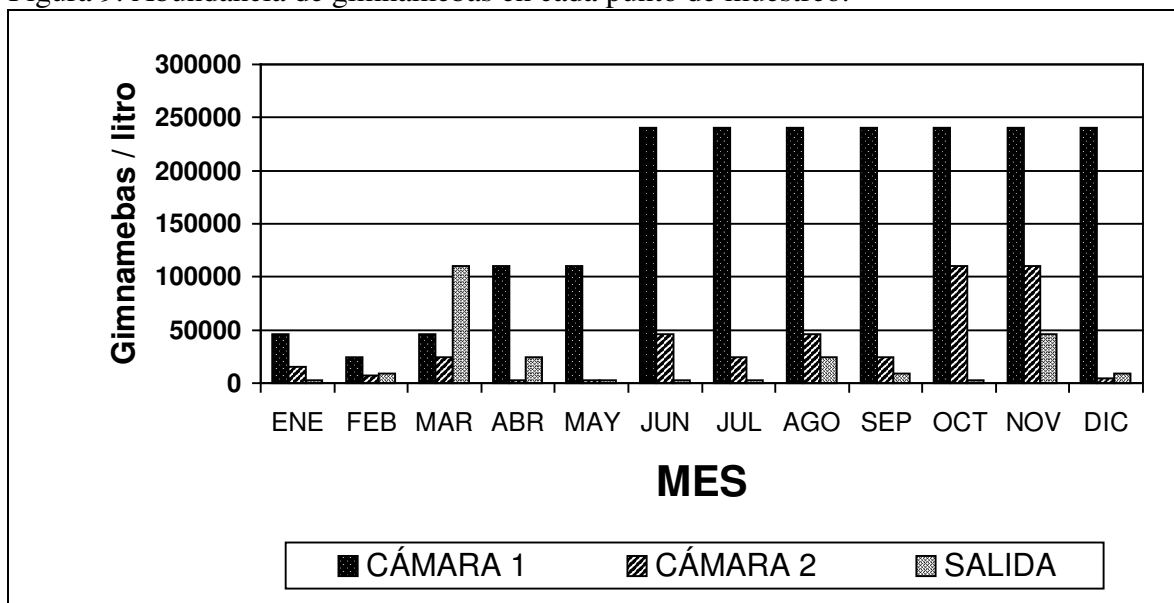
MES	CAMARA 1	CAMARA 2	SALIDA	Promedio por mes
ENE	46,000	15,000	2,300	21,100
FEB	24,000	7,500	9,300	13,600
MAR	46,000	24,000	110,000	60,000
ABR	110,000	2,300	24,000	45,433
MAY	110,000	2,300	2,300	38,200
JUN	240,000	46,000	2,300	96,100
JUL	240,000	24,000	2,300	88,766
AGO	240,000	46,000	24,000	103,333
SEP	240,000	24,000	9,300	91,100
OCT	240,000	110,000	2,300	117,433
NOV	240,000	110,000	46,000	132,000
DIC	240,000	4,300	9,300	84,533
Promedio por punto de muestreo	<b>168,000</b>	<b>34,616</b>	<b>20,283</b>	<b>74,300</b>

La prueba estadística empleada (ANOVA  $\alpha=0.05$ ) mostró que no existen diferencias significativas entre los valores promedio en la cantidad de amebas registradas mensualmente.

Las abundancias correspondientes a los tres puntos de muestreo se muestran en la tabla 6 y figura 9, donde la cámara 1, fue en la que se obtuvo la mayor abundancia de amebas con dos valores máximos, uno de 240,000 amebas/L durante los meses de junio a diciembre y un valor de 110,000 amebas/L en abril y mayo. El valor mínimo correspondió al mes de febrero con tan sólo 24,000 amebas/L. En la segunda cámara del tanque se obtuvo un valor máximo de 110,000 amebas/L en los meses de octubre y noviembre, el valor mínimo fue de 2,300 amebas/L correspondientes a los meses de abril y mayo. La menor abundancia se presentó en la zona de la salida con un valor máximo de 110,000 amebas/L en el mes de marzo y un valor mínimo de 2,300 amebas/L en enero.

En promedio el número de amebas por litro registró valores de 168,000 para la primera cámara, 34,616, para la segunda cámara y 20,283 para la zona de la salida (Tabla 6). Cabe indicar que en este estudio las cantidades de amebas en la zona de la salida fueron bajas a diferencia de las obtenidas por Gudiño (2003), con un valor promedio de 105,625 amebas/L, esto significa que se tuvo un descenso en el número de amebas durante el periodo transcurrido entre los dos estudios para esta zona, que para fines prácticos viene siendo la zona de entrada al humedal.

Figura 9. Abundancia de gimnamebas en cada punto de muestreo.



Las pruebas estadísticas aplicadas (ANOVA  $\alpha=0.05$  y Tukey  $\alpha=0.05$ ) mostraron que la 1<sup>ra</sup> cámara difiere significativamente de la 2<sup>a</sup> y de la salida, en cuanto a las abundancias obtenidas en estos tres puntos. Sin embargo, la 2<sup>a</sup> cámara y la salida no presentaron diferencias significativas entre el promedio de ambos valores.

En general, las densidades de gimnamebas registradas en las muestras de sedimento como en las de agua residual del tanque fueron significativas pues estuvieron en un intervalo de 2,300 hasta 240,000 organismos por litro dando un promedio anual de 74,300 células/litro, a pesar de las condiciones poco favorables que tuvieron que resistir estos organismos.



Este promedio de 74,300 amebas/L que se registró durante los doce meses de estudio, es bajo en comparación con el registrado por Gudiño (2003) en el humedal, cuyo promedio fue de 238,000 amebas/L, alcanzando cantidades de hasta 1,000,000/L; sin embargo, estas cantidades están aún por debajo a las reportadas por Rivera y colaboradores (1986a) en un estanque de Estabilización, localizado en el Estado de México, promediando la cantidad de 2,035,000 amebas/L.

Aunque estos sistemas tratan aguas residuales de origen doméstico y se basan en procesos biológicos (humedales y lagunas de estabilización), se observa que en este tipo de tratamientos las concentraciones de amebas son mayores a las registradas por el tanque de sedimentación que está basado principalmente en procesos físicos.

Esta diferencia también puede ser notada en plantas purificadoras ubicadas en Alemania, para el suministro de agua potable de uso doméstico, en un estudio que llevaron a cabo Hoffman y Michel (2001) para obtener datos sobre la concentración y distribución de amebas durante los procesos de purificación. Estas plantas utilizan procesos como floculación, sedimentación, filtración y para la obtención de agua pura procesos de ozonización y cloración. Los autores reportan diferencias en la cantidad de amebas, donde se nota que para el agua sin tratar proveniente de pozos subterráneos enriquecidos por un río, se registraron las densidades más altas de 90,000 amebas/L, mientras que en las plantas que usan reservorios de agua se registraron 3,000 amebas/L. Después de los procesos de floculación, sedimentación y filtración, la concentración de amebas disminuyó considerablemente, contabilizando 4,000/L para el agua proveniente de los pozos subterráneos y de 300 amebas/L en los reservorios. En tanto que las densidades más bajas se observaron en las muestras de agua pura con valores de 0 a 100 amebas por litro, donde señalan que en este tipo de agua purificada no se aislaron amebas de los géneros *Acanthamoeba* y *Naegleria*.

El papel de las amebas en los sistemas de tratamiento de aguas residuales está poco estudiado, ya que la mayoría de los estudios sobre protozoos en este tipo de aguas se han enfocado principalmente a los flagelados y ciliados (Rodríguez-Zaragoza, 1994). Por tal razón y debido a los escasos trabajos en que se reportan cantidades de amebas en sistemas de tratamiento de aguas residuales, los resultados de este estudio se compararon con los realizados en diferentes ambientes en los que se han utilizado distintas técnicas de cultivo y de conteo, por lo tanto estos estudios se tomaron como referencia para darnos una idea aproximada acerca de la población de amebas desnudas que se presentan en distintos hábitats de la biosfera.

Bhattacharya y colaboradores (1987), reportan densidades para *Acanthamoeba rhyodes* de hasta 256,000 organismos por gramo de suelo en un Manglar de la India. En un manglar de Florida, USA, se han reportado cantidades de amebas que van de 2,000 a 104,000 por litro (Rogerson y Gwaltney, 2000). Anderson (1997), reporta en un estanque superficial de agua dulce rico en contenido orgánico localizado en Torrey Cliff, N.Y, cantidades de 81,000 a 1,813,000 amebas/L. En el estuario Hudson, USA, Anderson y Rogerson (1995) reportan abundancias de 7639 amebas/L, incluso han sido reportadas cantidades de hasta 2,048 amebas/L en aguas de la costa Antártica por Mayes y colaboradores (citado por Rogerson y Gwaltney, 2000).

En muestras de sedimentos marinos de Escocia, Butler y Rogerson (1995), en promedio hallaron 2,224 amebas/cm<sup>3</sup> en sedimentos finos, en tanto que en muestras de sedimento arenoso el promedio fue de 874 amebas/cm<sup>3</sup>. En sitios tropicales, como el reportado por Anderson (1998), registró en sedimentos de diferentes hábitats acuáticos costeros en Bermuda, densidades que van de 28,761/g hasta 17,597 amebas/g en dos sitios marinos respectivamente, mientras que en un estanque de agua salobre se encontraron 40,590 amebas/g y Smirnov (2002), reporta para la capa superior de 2 cm de profundidad en sedimentos de la Bahía Nivå del Mar Báltico, no menos de 166,000-195,000 gimnamebas por litro.

Además de los trabajos reportados en ambientes acuáticos, se encuentran los estudios realizados en distintos tipos de suelo. Rodríguez-Zaragoza y García (1997), reportan en suelos de desierto del Valle de Tehuacán, México, cantidades de amebas desnudas de hasta 4206/g en los primeros 10 cm, lo cual es normal porque estos protozoos son más abundantes en los primeros 15 cm de profundidad. Los mismos autores también reportan cantidades de 18,333 amebas por gramo de raíz, asociadas a la cactácea *Escontria chiotilla*.

Bischoff y Anderson (1998), reportan cantidades promedio de amebas que van de 1,044/g hasta 5,660/g en seis suelos con diferente composición localizados cerca de Palisades, Nueva York, así como el de Bass y Bischoff (2001), que reportaron números de gimnamebas en tres tipos de suelo de un transepto corto en Georgia, USA. Donde en un suelo compactado se registró un promedio de 1,464 amebas/g, mientras que para un suelo moderadamente compactado se obtuvo un promedio de 852 amebas/g, en tanto que el valor más alto se registró en suelo suelto promediando 1,655 amebas por gramo, debido al grado de compactación, pues en el suelo suelto los espacios porosos son de gran tamaño, favoreciendo de cierta manera la abundancia de las amebas.

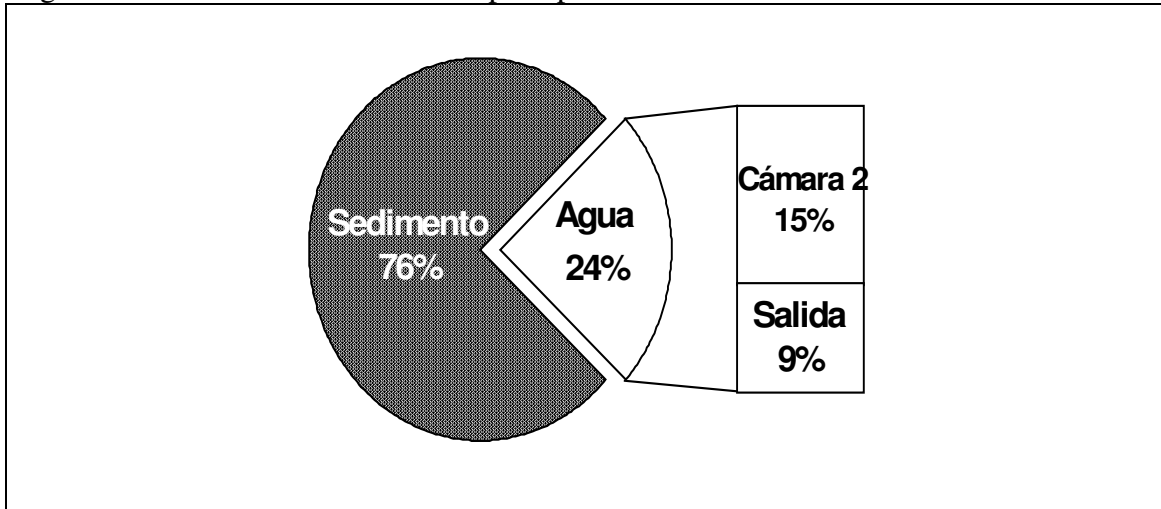
Se puede notar que las amebas son mucho más abundantes en aquellos ambientes (manglares y estanques), donde la materia orgánica se encuentra en gran cantidad, de tal manera que en fuentes enriquecidas por detritus orgánico, como son las aguas residuales, muestran que la población de AVL sea considerablemente más alta (Basu *et al.*, 1987).

Debemos entender que las amebas son raramente observadas directamente en muestras frescas o recién colectadas, por lo que no son fácilmente visibles debido a que muchas son pequeñas, transparentes y usualmente están asociadas con superficies. Es por eso, que para su observación se han desarrollado diversos medios de cultivo enriquecidos pues de esta manera, se facilita su observación y por consiguiente permite el conteo de estos organismos (Butler y Rogerson, 1995; Rogerson y Gwaltney, 2000; Smirnov, 2002).

También hay que aclarar que la técnica de conteo utilizada, en este caso el Número Más Probable (NMP) no distingue entre trofozoítos y quistes, por lo tanto los resultados obtenidos reflejan la abundancia total de estas etapas de vida que presentan las amebas. Además de que subestima el número total de las amebas presentes en una muestra por alrededor del 30%, no obstante, este método de conteo es considerado por ser una técnica confiable y disponible para la enumeración de amebas (Rivera *et al.*, 1993).

Con respecto a la abundancia de amebas por tipo de muestra, el sedimento fue la de mayor concentración con un porcentaje del 76% del total de las amebas cuantificadas, el 24% correspondió a las muestras de agua de la cámara 2 y salida, esta última zona tuvo la menor concentración con un 9% de la muestra de agua residual (Figura 10).

Figura 10. Concentración de amebas por tipo de muestra.



Del porque en el sedimento se encontró la mayor densidad de gimnamebas a diferencia de las muestras de agua, es porque los trofozoítos necesitan superficies para alimentarse y desplazarse sobre partículas donde la riqueza de materia orgánica y bacterias suele ser mayor que en la columna de agua, es por este motivo que en el sedimento se obtuvo un mayor porcentaje (76%) de amebas y por ende que la gran cantidad de amebas se registrara en la muestra de sedimento. Estos resultados confirman lo reportado por Kyle y Noblet (1986), quienes señalaron que en los cuerpos acuáticos, las amebas generalmente se encuentran adheridas en mayor proporción a las partículas flotantes de la microcapa superficial, en menor cantidad se les encuentra en la columna de agua y en los sedimentos se les encuentra en forma de quiste.

Butler y Rogerson (1995), señalan que las amebas son mucho más abundantes en las capas superficiales de sedimentos marinos, porque tienen la facilidad para moverse a través de los intersticios pequeños debido a su forma aplanada y alargada, además reportan que son mucho más abundantes en sedimentos finos que en sedimentos arenosos. Similarmente sucede en la columna de agua de estuarios, donde se les encuentra en gran número al estar unidas sobre partículas suspendidas de gran tamaño (Anderson y Rogerson, 1995), este mismo parecer es apoyado por Anderson (1998), el cual señala que en sedimentos de estanques de agua salobre generalmente se encuentran las más altas concentraciones de amebas desnudas que en sedimentos costeros marinos en hábitats acuáticos de Bermuda.

Esta observación se fundamenta en que los sedimentos de estanques son más ricos en materia orgánica lo cual favorece de manera significativa al incremento de la población de amebas por ser consumidores de bacterias y algas como su principal fuente de alimento en este tipo de hábitats. Rogerson y Gwaltney (2000), reportan grandes cantidades de gimnamebas en la columna de agua en manglares de Florida, indicando que la abundancia está relacionada con la cantidad de materia suspendida en la columna de agua, es decir, que a mayor cantidad de partículas suspendidas mayor es la abundancia.

En sedimentos marinos se ha observado que estos organismos son más abundantes en las capas superficiales, esto se debe principalmente a que la disponibilidad de oxígeno va disminuyendo conforme aumenta la profundidad de tal manera que las amebas se encuentran en “burbujas” microaerófilas (Butler y Rogerson, 1995). De igual forma, Smirnov (2002), señala en su estudio realizado en sedimentos profundos de la bahía Nivå, que existe una clara disminución en la abundancia y diversidad de gimnamebas cuando la muestra de sedimento proviene paulatinamente de los estratos más profundos.

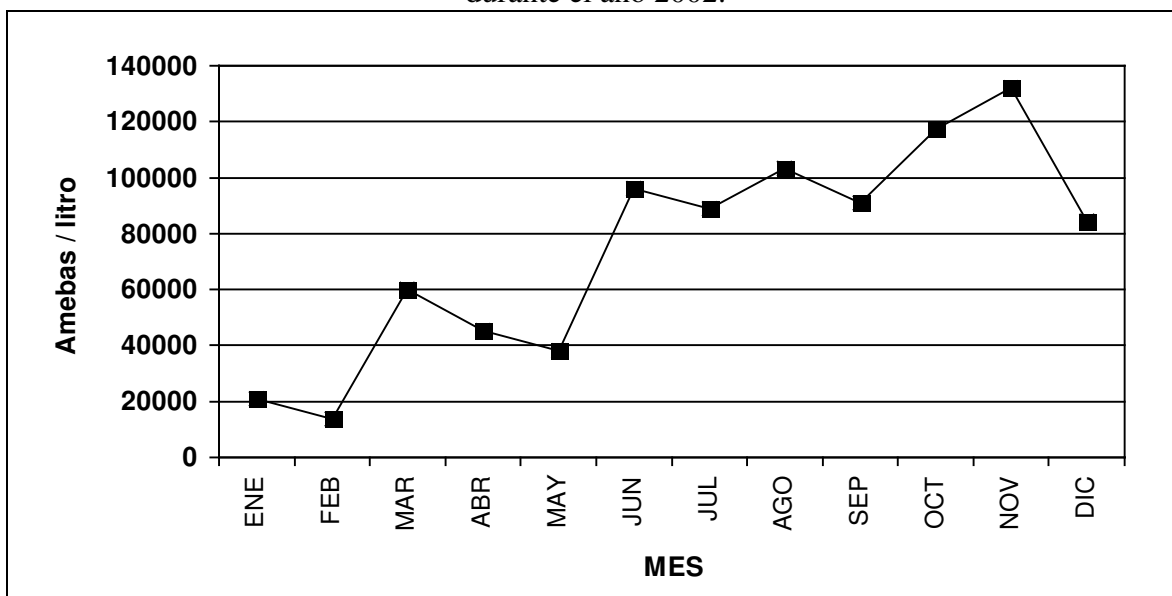
Es indudable que la abundancia de las amebas desnudas este relacionada directamente con la cantidad de materia orgánica presente en un determinado ambiente, en este caso, no está de más repetir que la finalidad del tanque sedimentador es la separación de los sólidos de tamaño grande, por lo que en la primera cámara y con base a la observación de campo, este compartimento fue donde se almacenó gran cantidad de materia y que ésta fue disminuyendo en la parte de la salida. Por consiguiente, las abundancias más altas se registraron en la 1<sup>ra</sup> y 2<sup>a</sup> cámara dada a las elevadas concentraciones de materia orgánica.

Una semejanza se observa en el trabajo de Gudiño (2003), donde indica que en un principio el tanque estaba desprovisto de la mampara, por lo que en esta primera etapa comprendida de enero a mayo del 2001 el promedio en el número de amebas fue mayor (191,200/L), mientras que a partir de la segunda etapa (cuando se realizó la instalación de la mampara), el número promedio disminuyó (44,500 amebas/L). El hecho de que se registrara una menor cantidad de amebas en la segunda etapa en la zona de entrada al humedal, significó que la mampara colocada en el tanque ayudó favoreciendo la sedimentación y permitió la reducción de los sólidos. Por lo que estos datos corroboran que la abundancia de las amebas esta estrechamente asociada con el aumento de la MO.

## Distribución estacional y temporal

El ciclo anual de las gimnamebas se caracterizó por varios picos de densidad al inicio de la época cálida (marzo, abril y mayo) donde se observan picos de densidad que se fueron incrementando a partir de la mitad del año (junio), teniendo como máximas densidades en agosto (103,333 amebas/L), octubre (117,433 amebas/L) hasta alcanzar un pico máximo en noviembre (132,000/L) que al mes siguiente (diciembre) disminuyen considerablemente. Durante la época fría (enero y febrero) se observaron las densidades mas bajas con 21,000 y 13,600 amebas por litro respectivamente (Figura 11).

Figura 11. Distribución que mostraron las gimnamebas en los tres puntos de muestreo durante el año 2002.



Anderson y Rogerson (1995), en el estuario Hudson, reportan densidades pico de abril a octubre, donde el pico de densidad más alto se observó en junio. Anderson (1997), reporta que las densidades más altas alcanzadas en un estanque artificial de agua dulce en Torrey Cliff, NY, se registraron también de abril a octubre, pero en este último mes se registró el pico de densidad más alto. Bass y Bischoff (2001), en mayo reportan el pico más alto de densidad de gimnamebas en un transecto corto de subsuelos con diferente grado de compactación.

En sistemas de tratamiento de aguas residuales, Rivera y colaboradores (1986a), reportaron en el mes de junio la mayor densidad de amebas en una planta de tratamiento a base de lagunas de estabilización localizada en el Estado de México. En tanto que Gudiño (2003), reporta para un humedal de macrofitas, que durante los meses de marzo a mayo se presentaron las más altas cantidades de amebas, donde en mayo se presentó el pico máximo de densidad.

Hoffman y Michel (2001), reportan en plantas potabilizadoras de agua, ubicadas en Alemania, que las más altas concentraciones de amebas fueron observadas durante los meses de agosto a octubre.

Aunque los ambientes estudiados fueron diferentes tanto en su composición como en su ubicación geográfica, se puede notar una similitud en el patrón de distribución de los picos de abundancia de las gimnamebas durante los meses en que se registraron las temperaturas más altas. Anderson y Rogerson (1995), establecen que las abundancias de las amebas están relacionadas directamente con la temperatura del agua de ahí que se observe una variación estacional.

En los países templados y fríos las amebas proliferan mejor durante los meses más cálidos, lo que lleva a un patrón estacional. No ocurre lo mismo en los países tropicales y subtropicales donde las condiciones son favorables durante todo el año, como ocurre en la mayor parte de nuestro país (Ramírez y Bonilla, 1995).

Por ejemplo, en manglares de Florida, USA, Rogerson y Gwaltney (2000), señalan que no se encontraron diferencias en la variación temporal, lo cual no es sorprendente para aguas subtropicales, donde las temperaturas siempre marcan arriba de los 21°C.

### Parámetros físicos y químicos

Tabla 7. Valores de los parámetros físicos y químicos del agua residual medidos mensualmente.

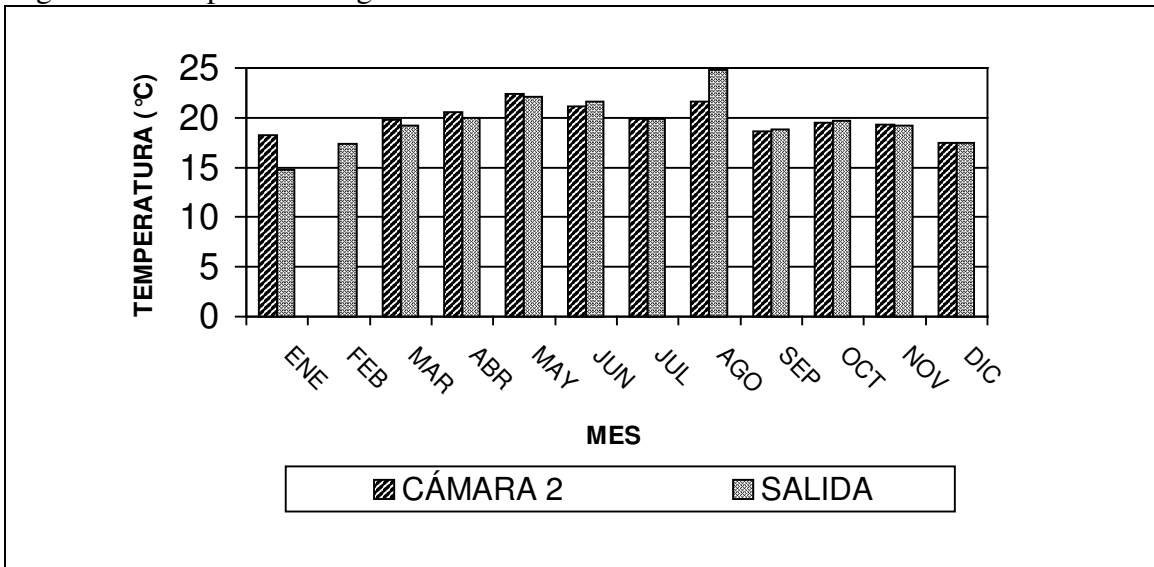
<i>MES (día)</i>	<b>C Á M A R A 2</b>				<b>S A L I D A</b>			
	<b>T°C</b>	<b>pH</b>	<b>Cond (µS/cm)</b>	<b>O<sub>2</sub> (mg/L)</b>	<b>T°C</b>	<b>pH</b>	<b>Cond (µS/cm)</b>	<b>O<sub>2</sub> (mg/L)</b>
<i>ENE (15)</i>	18.2	7.31	1300	0.4	14.8	7.32	1200	0.2
<i>FEB (14)</i>	***	***	***	***	17.4	7.30	1250	0.8
<i>MAR (5)</i>	19.8	7.40	1270	0.4	19.5	7.37	1200	0.6
<i>ABR (9)</i>	20.6	7.31	1570	0.2	20.0	7.36	1500	0.4
<i>MAY (14)</i>	22.4	7.13	1390	0.4	22.1	7.15	1340	0.6
<i>JUN (17)</i>	21.1	7.13	1240	0.2	21.6	6.95	1240	0.4
<i>JUL (16)</i>	19.9	7.20	1200	0.2	19.9	7.16	1050	0.4
<i>AGO (27)</i>	21.6	7.17	1090	0.6	24.8	7.07	1240	1.4
<i>SEP (24)</i>	18.6	7.70	1150	0.6	18.8	7.82	1060	0.8
<i>OCT (14)</i>	19.5	7.69	1380	0.6	19.7	7.61	1130	0.4
<i>NOV (11)</i>	19.3	8.05	1200	0.4	19.2	7.94	1020	0.6
<i>DIC (4)</i>	17.5	7.36	1240	0.4	17.0	7.39	1190	0.4
<b>Promedio</b>	<b>19.8</b>	<b>7.40</b>	<b>1275</b>	<b>0.4</b>	<b>19.5</b>	<b>7.37</b>	<b>1201</b>	<b>0.6</b>
*** No se tomaron medidas								

## Temperatura

En la cámara 2, el valor máximo de temperatura correspondió al mes de mayo con 22.4°C, seguidos de los meses de abril, junio y agosto 20.6, 21.1 y 21.6°C respectivamente, en tanto que las temperaturas bajas se registraron en enero con 18.2 y diciembre con 17.5°C. Con respecto a la zona de la salida, en el mes de agosto se registró como medición máxima 24.8°C a continuación le siguen los valores de 19.8, 20, 22.1, 21.1 y 19.9°C durante los meses de marzo a julio (Figura 12).

En la tabla 7 se observa el promedio registrado para los 12 muestreos entre la cámara 2 y la salida los cuales tuvieron un comportamiento estable, sin que se presentaran cambios drásticos, ya que registraron promedios de 19.8 y 19.5°C respectivamente. El análisis estadístico utilizado (ANOVA  $\alpha=0.05$ ), mostró que no se encontraron diferencias significativas entre estos dos valores.

Figura 12. Temperaturas registradas durante los doce meses de muestreo.



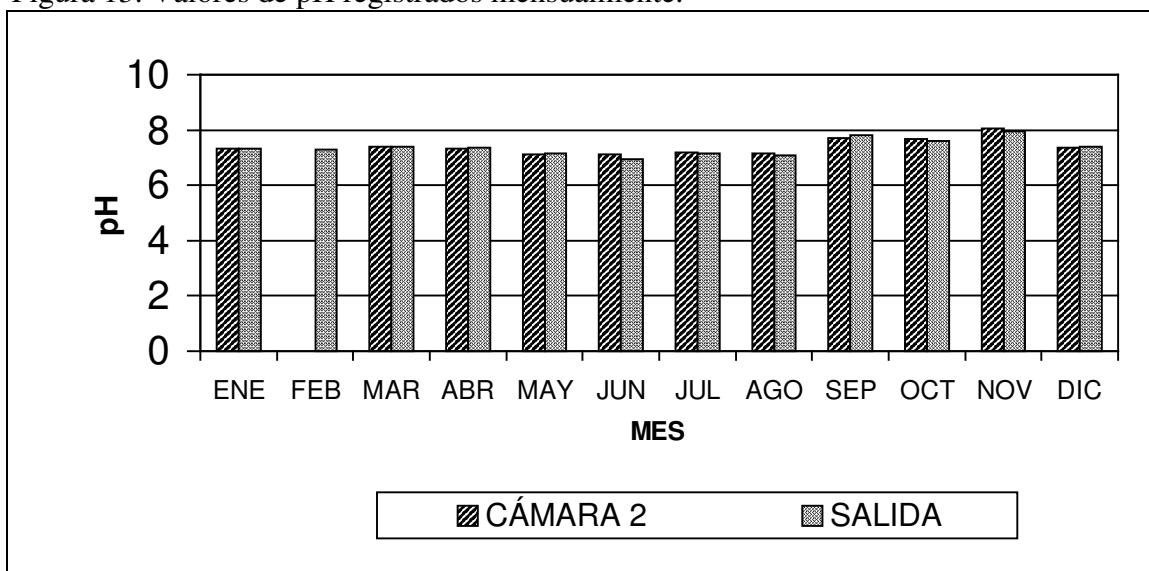
La temperatura es uno de los factores que tiene un efecto directo en la supervivencia y abundancia de los organismos, ya que llega a tener efectos adversos al limitar la actividad de los protozoos cuando se presentan temperaturas bajas (Sleigh, 1989). Aunque estadísticamente la temperatura no presentó correlación significativa con la abundancia, quizá esto se debió a que en la relación abundancia-temperatura se pudo observar en términos generales varios comportamientos. En enero y febrero, cuando la temperatura fue la más baja, también la abundancia fue la menor. De junio a noviembre, cuando las temperaturas fueron las más elevadas, las abundancias correspondieron a las más altas. Este comportamiento está de acuerdo con la distribución estacional reportada en otros trabajos, en donde se ha visto una relación positiva de las amebas con la temperatura, pero hubieron meses que se salieron de este patrón de comportamiento. Así tenemos que en marzo, abril y mayo, cuando las temperaturas marcaron 19, 20 y 22°C respectivamente, las abundancias fueron las segundas más bajas y en diciembre cuando la temperatura fue de 17°C la abundancia fue media. Esto pudo deberse a algún otro factor que no se determinó en el estudio.

## pH

Los valores registrados en la cámara 2 estuvieron entre 8.05 como valor máximo correspondiente al mes de noviembre y 7.13 como valor mínimo en mayo y junio, mientras que la salida presentó valores entre 7.94 como medida máxima también en noviembre y 6.95 en junio como medida mínima (Figura 13).

El promedio obtenido para las dos muestras de agua presentó valores homogéneos, pues la cámara 2 promedió 7.40 y 7.37 fue para la salida (Tabla 7), sin observarse diferencias significativas.

Figura 13. Valores de pH registrados mensualmente.



El intervalo adecuado de pH para la existencia de la vida biológica es en general entre pH 5 y 9. Las aguas residuales con valores de pH menores a 5 y superiores a 9 son de difícil tratamiento mediante procesos biológicos (Crites y Tchobanoglous, 2000).

De tal manera que los valores obtenidos, se encuentran en el intervalo satisfactorio para la actividad biológica de los organismos, así como también, estos valores permiten en este tipo de agua residual el siguiente proceso de tratamiento mediante procesos biológicos, por lo que no dificulta su posterior tratamiento en el humedal artificial con plantas macrofitas, que es utilizado como tratamiento biológico.

Así pues, los valores registrados en el agua residual tanto de la cámara 2 como de la salida están dentro de los límites que permiten el crecimiento adecuado de la gimnamebas, ya que en los ambientes acuáticos se encuentran en un intervalo de pH entre 4.5 y 9.5 (Bonilla y Ramírez, 1993), por lo que este factor no fue limitante para el desarrollo de estos organismos.

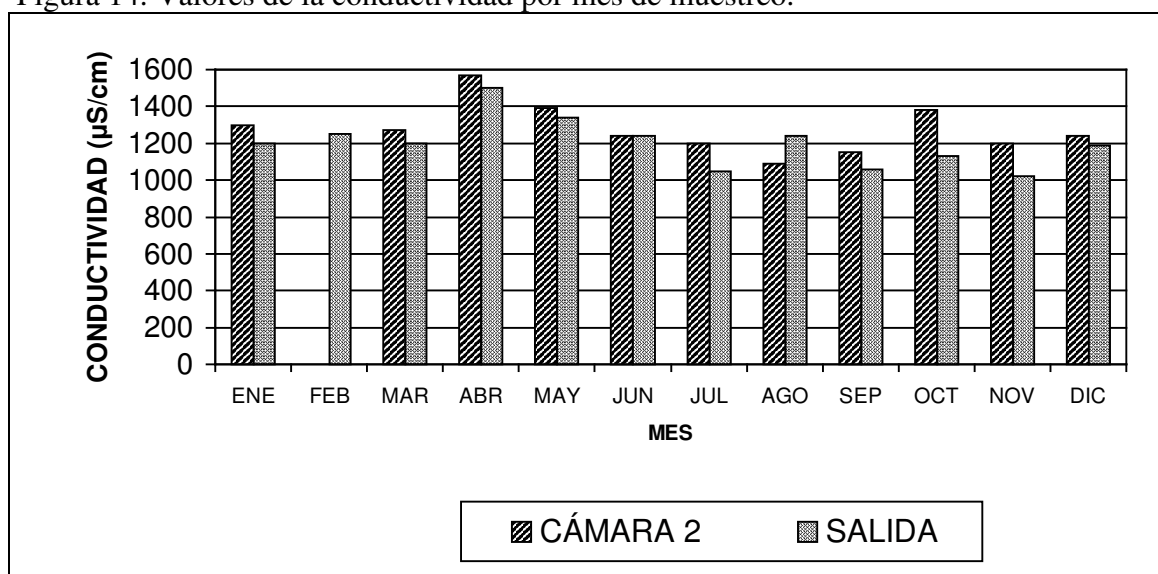


## Conductividad

La conductividad del agua se refiere a la medida de la capacidad de una solución para conducir la corriente eléctrica por medio de las sales disueltas (Crites y Tchobanoglous, 2000). Para la segunda cámara se registró como valor máximo 1570  $\mu\text{S}/\text{cm}$  en el mes de abril y como valor mínimo, 1090  $\mu\text{S}/\text{cm}$  en agosto. La salida presentó un valor máximo de 1500  $\mu\text{S}/\text{cm}$  también en abril, en tanto que los valores mínimos fueron 1050, 1060 y 1020  $\mu\text{S}/\text{cm}$  en los meses de julio, septiembre y noviembre respectivamente (Figura 14).

Los valores promedio de la solución del agua residual de la 2ª cámara fueron de 1275  $\mu\text{S}/\text{cm}$  y 1201  $\mu\text{S}/\text{cm}$  para la salida (Tabla 7), sin que tampoco existan diferencias significativas entre ambos valores.

Figura 14. Valores de la conductividad por mes de muestreo.



El valor de la medida de la conductividad eléctrica (CE) también es usado como parámetro sustituto de la concentración de sólidos disueltos totales (SDT), en la actualidad, el parámetro más importante para determinar la posibilidad de uso de una agua para riego es la conductividad eléctrica, es así como la salinidad de determinada agua residual tratada que se desea usar para riego se establece mediante la medición de la CE (Crites y Tchobanoglous, 2000). De tal manera las concentraciones de SDT son menores en la salida (excepto en agosto) que las contenidas en la cámara 2 del tanque como se observa en la figura 14, estos valores demuestran la remoción de los sólidos disueltos que se llevó a cabo en el tanque de sedimentación.

Por consiguiente el empleo del tanque sedimentador es de fundamental importancia para la depuración *in situ* de las aguas de desecho, que aunque esta se lleva a pequeña escala, tiene la finalidad de reducir los sólidos orgánicos e inorgánicos, esta operación depende en gran medida del éxito de la siguiente etapa de tratamiento. Ya que si no se hubiera instalado el tanque sedimentador (séptico), el agua que proviene de la casa entraría sin previo tratamiento al humedal, provocando un mal funcionamiento, por lo que acabaría frustrando el propósito del humedal.

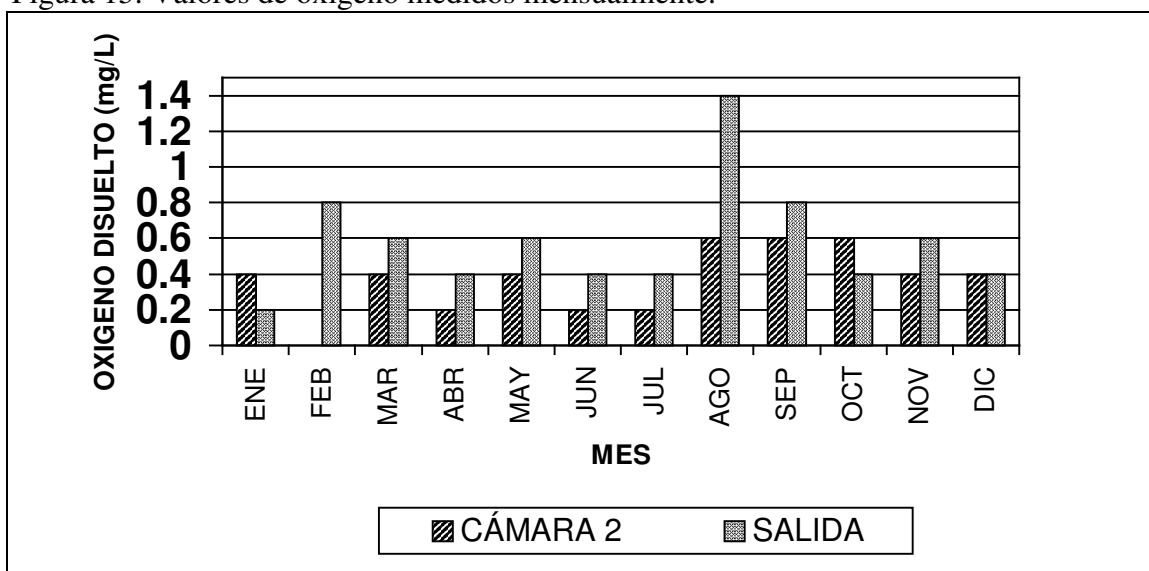
En un estudio realizado por Preston y King (1984), *in vitro* se observó que a mayores concentraciones de sales en el medio de cultivo las amebas se adherían mejor al sustrato y este fue un factor indispensable para su crecimiento además de presentar un mejor desplazamiento

### Oxígeno Disuelto

Los valores de O<sub>2</sub> en la 2<sup>a</sup> cámara fueron los más bajos, pues el valor máximo alcanzado fue de tan sólo 0.6 mg/L durante los meses de agosto a octubre, mientras que el valor mínimo apenas fue de 0.2 mg/L en abril, junio y julio, los demás meses registraron 0.4 mg/L.

Para la salida los valores tuvieron un comportamiento idéntico, pero esta zona presentó la máxima concentración alcanzando el valor de 1.4 mg/L en el mes de agosto, por su parte los meses restantes, los valores fluctuaron entre 0.2 a 0.8 mg/L (Figura 15).

Figura 15. Valores de oxígeno medidos mensualmente.



Estos valores dieron como promedio 0.4 mg/L para la segunda cámara y 0.6 mg/L para la zona de la salida (Tabla 7). Tampoco se encontraron diferencias significativas entre ambos promedios.

Las condiciones microaerófilas presentes en el tanque se deben a que hay abundantes bacterias las cuales consumen la mayor parte del oxígeno para la oxidación de grandes cantidades de materia orgánica, dando como resultado que el medio contiene oxígeno exclusivamente en una estrecha zona superficial del tanque y a medida que se va descendiendo en los estratos profundos, la concentración de oxígeno va disminuyendo hasta encontrarse en condiciones de anoxia (Sleigh, 1989). Además del oxígeno que demandan los microorganismos, existe el que requiere un desecho por medio de la oxidación química (Robles *et al.*, 1993).

Rivera y colaboradores (1986a) reportan valores nulos de oxígeno disuelto en un sistema de tratamiento de lagunas de oxidación, en el Edo de México, a pesar de que no se detectó oxígeno se aislaron amebas, los autores sospecharon que se podían hallar concentraciones de oxígeno debido a la incidencia de fitoflagelados y algas microscópicas en el sistema, además de la presencia de amebas estrictamente aerobias como *Amoeba proteus* y *Pelomyxa palustris*, pues requieren un nivel óptimo de 10ppm de O<sub>2</sub> para desarrollarse y reproducirse. Esto significa que los bajos niveles de oxígeno presentes se debieron al consumo inmediato por los organismos aerobios o por los compuestos en proceso de oxidación.

Las gimnamebas a diferencia de *Entamoeba* son aerobias, por esta razón requieren oxígeno para su sobrevivencia. Sin embargo, cuando las concentraciones de oxígeno disminuyen las formas tróficas y flageladas sufren un cambio a la formación de quiste como protección natural (John, 1993). Por ello la medida de la concentración de oxígeno disuelto (OD) en el agua nos puede indicar la etapa en que se encuentran estas amebas.

El ambiente microaerófilo (bajos niveles en la concentración de oxígeno) al que estuvieron sometidas las gimnamebas en el tanque, pudiera haber sido un factor limitante que influyera en su presencia, debido a que estas amebas habían sido consideradas aerobias estrictas. Sin embargo, fue notable que no solamente amebas capaces de formar quistes estuvieran presentes en el tanque, sino también amebas que no tienen esta capacidad, como son las del género *Dactylamoeba*, *Mayorella* y *Vannella*. Este hallazgo es importante porque nos sugiere que estas amebas pueden soportar condiciones pobres de oxígeno en su forma trófica.

Estos datos también coinciden con el estudio realizado por Gudiño (2003), en el sistema del humedal, que registró niveles bajos de oxígeno (0.2-1.5 mg/L), donde estuvieron presentes con mayor frecuencia algunas amebas que no forman quiste como *Dactylamoeba* y *Vannella* que otras como *Naegleria*, que a pesar de presentar dicha estructura de resistencia, su frecuencia de aparición fue más baja.

La prevalencia de las amebas del género *Acanthamoeba* se pudo deber a que tienen varios mecanismos de adaptación que presenta este género a la presencia de H<sub>2</sub>S y anoxia. Como por ejemplo *A. castellanii* tiene dos mecanismos de protección contra el ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S), eso se debe a la habilidad de oxidar el H<sub>2</sub>S y al uso de una vía alterna en el transporte de electrones que no son inhibidos por el H<sub>2</sub>S. El otro mecanismo por el cual se adapta a las bajas concentraciones de oxígeno, es debido a que puede ajustar la velocidad en el transporte de electrones para emparejar el suministro de oxígeno (Lloyd *et al.*, 1981; 1983 citados por Kyle y Noblet, 1986).

## Resultados del Análisis de Coeficiente de Correlación Lineal Producto-Momento de Pearson.

Tabla 8. Correlaciones entre la abundancia y los parámetros físico-químicos en la cámara 2.

STAT. BASIC STATS	Correlaciones				
	Nivel de significancia a $p < 0.05000$ N=11				
Variable	Temperatura	pH	Conductividad	Oxígeno	Amebas
Temperatura	1.000 p=	-0.483 p= 0.132	0.168 p= 0.621	-0.170 p= 0.618	0.009 p= 0.979
pH	-0.483 p= 0.132	1.000 p=	-0.122 p= 0.720	0.407 p= 0.214	<b>0.683</b> p= 0.021
Conductividad	0.168 p= 0.621	-0.122 p= 0.720	1.000 p=	-0.380 p= 0.249	-0.209 p= 0.537
Oxígeno	-0.170 p= 0.168	0.407 p= 0.214	-0.380 p= 0.249	1.000 p=	0.347 p= 0.296
Amebas (abundancia)	0.009 p= 0.979	<b>0.683</b> p= 0.021	-0.209 p= 0.537	0.347 p= 0.296	1.000 p=

Los resultados del análisis de correlación entre los parámetros físicos y químicos medidos y las densidades de las gimnamebas correspondientes a la cámara 2 del tanque sedimentador, señalaron una correlación significativa ( $r= 0.61$   $p < 0.05$ ) de tipo directa entre el pH y la abundancia de las gimnamebas (Tabla 8), es decir que a mayores valores de pH se esperaría un incremento en el número de amebas.

Tabla 9. Correlaciones entre el número de amebas (abundancia) y los parámetros físico-químicos en la salida.

STAT. BASIC STATS	Correlaciones				
	Nivel de significancia a $p < 0.05000$ N=12				
Variable	Temperatura	pH	Conductividad	Oxígeno	Amebas
Temperatura	1.000 p=	-0.389 p= 0.212	0.214 p= 0.504	<b>0.613</b> p= 0.034	0.069 p= 0.31
pH	-0.389 p= 0.212	1.000 p=	-0.504 p= 0.094	-0.067 p= 0.836	0.208 p= 0.517
Conductividad	0.214 p= 0.504	-0.504 p= 0.094	1.000 p=	-0.017 p= 0.959	-0.034 p= 0.917
Oxígeno	<b>0.613</b> p= 0.034	-0.067 p= 0.836	-0.017 p= 0.959	1.000 p=	0.168 p= 0.602
Amebas (abundancia)	0.069 p= 0.831	0.208 p= 0.517	-0.034 p= 0.917	0.168 p= 0.604	1.000 p=

En tanto que para la salida, ninguno de los parámetros físico-químicos presentó relación con la abundancia de las gimnamebas, pero entre el oxígeno y la temperatura si se presentó una relación directa ( $r= 0.61$   $p < 0.05$ ), es decir que a mayor temperatura menor es la concentración del oxígeno (Tabla 9).

## Conclusiones

- El número de especies encontradas en el tanque de sedimentación fue menor que el encontrado en otros sistemas de tratamiento del agua residual.
- El género *Acanthamoeba* fue el más predominante al estar representado por diez especies, las cuales mostraron una mayor resistencia para soportar las condiciones adversas que se presentan en las aguas residuales.
- Las especies que tuvieron mayor porcentaje de frecuencia fueron: *Dactylamoeba stella*, *Acanthamoeba astronyxis*, *Acanthamoeba tubiashi*, *Acanthamoeba triangularis* y *Vahlkampfia avara*.
- La presencia de Gimnamebas en el tanque de sedimentación que no forman quistes, sugiere que estas amebas son capaces de soportar condiciones microaerófilas aún en su forma trófica.
- La zona de la salida fue la que presentó mayor número de especies con 16 de las 18 especies de Gimnamebas aisladas, aunque tuvo la menor abundancia.
- La muestra de sedimento, fue la que registró la mayor abundancia de Gimnamebas.
- Los meses en que se observaron las abundancias más altas fueron: Agosto, Octubre y Noviembre.
- En general, las variables físico-químicas a las que estuvieron sometidas las amebas, no tuvieron efecto en la presencia de éstas.
- El pH, fue el único parámetro físico-químico que presentó relación con la abundancia de las amebas en la cámara 2.

## Referencias Bibliográficas

- Anderson, O.R. and Rogerson, A. 1995. Annual abundances and Growth Potential of Gymnamoebae in the Hudson Estuary with Comparative Data from the Firth of Clyde. *Europ .J. Protistol.* 31: 223-233.
- Anderson, O.R. 1997. Annual Abundances, Diversity and Growth Potential of Gymnamoebae in a Shallow Freshwater Pond. *J. Euk. Microbiol.* 44(5): 393-398.
- Anderson, O.R. 1998. Densities and Diversity of Gymnamoebae in Relation to Some Inshore Aquatic Habitats at Bermuda. *J. Euk. Microbiol.* 45(1): 151-155.
- Bamforth, S.S. 1980. Terrestrial Protozoa. *J. Protozool.* 27(1): 33-36.
- Bamforth, S.S. 1985. The role of Protozoa in Litters and Soils. *J. Protozool.* 32(3): 404-409.
- Barker, J. and Brown, M.R.W. 1994. Trojan horses of the microbial world: protozoa and the survival of bacterial pathogens in the environment. *Microbiol.* 140(6): 1253-1259.
- Bass, P. and Bischoff, P.J. 2001. Seasonal Variability in Abundance and Diversity of Soil Gymnamoebae along Short Transect in Southeastern USA. *J. Euk. Microbiol.* 48(4): 475-479.
- Basu, P., Ghosh, M., Choudhury, A. and Bhattacharya, A. 1987. Free-living amoebae from a sewage survey of West Bengal, India. *J. Bengal Nat. Hist. Soc.* 1(6): 6-31.
- Bhattacharya, A., Ghosh, M. and Choudhury, A. 1987. Seasonal Abundance of *Acanthamoeba rhyodes* (Singh,1952) (Protozoa: Gymnamoebia) in a Mangrove Litter- Soil Ecosystem of Gangetic-Estuary, India. *J. Protozool.* 34(4): 403-405.
- Bischoff, P.J. and Anderson, O.R. 1998. Abundance and Diversity of Gymnamoebae in Varying Soil sites in Northeastern USA. *Acta Protozool.* 37:17-21.
- Bitton, G. 1994. **Wastewater Microbiology**. Wiley liss. USA. 478pp.
- Bonilla, P. y Ramírez, E. 1993. Las amibas de vida libre. *Inf. Cienc. Tecnol.* 15(203): 22-25.
- Butler, H. and Rogerson, A. 1995. Temporal and Spatial Abundance of Naked Amoebae (Gymnamoebae) in Marine Benthic Sediments of the Clyde Sea Area Scotland. *J. Euk. Microbiol.* 42(6): 724-730.

- CIECCA. 1985. Manual de Microbiología del Agua. SARH. México, DF. 278pp.
- Cotteral, J.A. y Norris, D.P. 1975. **Sistemas de Tanques Sépticos**. Centro Regional de Ayuda Técnica. Agencia para el Desarrollo Internacional. México-Buenos Aires. 29pp.
- Crites, R. y Tchobanoglous, G. 2000. **Tratamiento de aguas residuales en pequeñas poblaciones**. McGraw-Hill. Bogotá, Col. 766pp.
- Curds, C.R. 1992. **Protozoa in the Water Industry**. Cambridge University Press. Great Britain. 122pp.
- Darbyshire, J.F., Whaetley, RE., Greaves, M.P. and Inkson, R.H. 1974. A rapid micromethod for estimating bacterial and protozoan populations in soil. *Rev. Ecol. Biol. Sol.* 11(4): 465-475.
- De Jonckheere, J.F. 1981. Pathogenic and Nonpathogenic *Acanthamoeba* spp. in Thermally Polluted Discharges and Surface Waters. *J. Protozool.* 28(1): 56-59.
- De Jonckheere, J.F. 1991. Ecology of *Acanthamoeba*. *Rev. Infect. Dis.* 13(Suppl 5): S385-S387.
- De la Cerda, J. y López, M. 2002. Amibas de vida libre en 2 humedales artificiales con distintos pretratamientos. Tesis de Licenciatura en Biología. FES Iztacala, UNAM. México. 54pp.
- Departamento de Sanidad del Estado de Nueva York. 1990. **Manual de Tratamiento de aguas negras**. Limusa. México. 303pp.
- Ferrante, A. 1991. Free-living amoebae: pathogenicity and immunity. *Parasite Immunol.* 13: 31-47.
- Ford, B.J. 1998. The Earliest Views. *Sc. Am.* 278(4): 50-53.
- García, E. 1981. **Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen**. 3ª ed. Instituto de Geografía. UNAM. 252pp.
- Gogate, A. and Deodhar, L. 1984. Isolation of pathogenic free-living amoebae from soils, sewage sludge and freshwater in Bombay. *Indian. J. Parasitol.* 8(1): 143-144.
- Gudiño, D.G. 2003. Estudio cuantitativo de las amibas de vida libre presentes en un sistema de tratamiento de agua residual del tipo del Método de la Zona de la Zona de la Raíz (MZR) en el poblado de Matilde, Hgo. Tesis de Licenciatura en Biología. FES Iztacala, UNAM. México. 64pp.

- Hoffman, R. and Michel, R. 2001. Distribution of free-living amoebae (FLA) during preparation and supply of drinking water. *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 203: 215-219.
- John, D.T. 1993. Opportunistically Pathogenic free-living amoebae: in Parasitic Protozoa, Kreier, J.P. and Baker, J.R. (eds). Vol III. 2<sup>nd</sup> ed. Academic Press, Inc. San Diego. 139-246.
- INEGI. 2002. Anuario Estadístico del Estado de Hidalgo. Aguascalientes, México. 739pp.
- Kyle, E.D. and Noblet, G.P. 1986. Seasonal Distribution of Thermotolerant Free-living Amoebae. I. Willard's Pond. *J. Protozool.* 33(3): 422-434.
- Lee, J.J., Hunter, S.H and Bovee, E.C. 1985. **An Illustrated guide to the Protozoa.** Society of Protozoologist. Kansas, USA. 629pp.
- Levine, N.D., Corliss, J.O., Cox, F.G.E., Deroux, G., Grain, J., Honigberg, B.M., Leedale, G.F., Loeblich, A.R., Lom, J., Lynn, D., Merinfeld, E.G., Page, F.C., Poljansky, J., Sprague, V., Vavra, J. and Wallace, F.G. 1980. A Newly Revised Classification of the Protozoa. *J. Protozool.* 27(1): 37-58.
- Lugo, A. y Sánchez, M.R. 1995. Amebas amigas. *Inf. Cienc. Tecnol.* 17(220): 12-14.
- Ma, P., Visvesvara, G.S., Martinez, A.J., Theodore, F.H., Dagget, P.M. and Sawyer, T.K. 1990. *Naegleria* and *Acanthamoeba* Infections: Review. *Rev. Infect. Dis.* 12(3): 490-513.
- Marciano-Cabral, F. and Bradley, S.G. 2001. Current Research on Free-living Amebae Causing Granulomatous Amebic Encephalitis. *J. Euk. Microbiol.* (Supplement). Proceedings of the Seventh International Workshop on Opportunistic Protist. Cincinnati, Ohio. June 13-16. 3S.
- Margulis, L., Mckhan, H.I. and Olendzenski, L. 1993. **Illustrated Glossary of Protoctista.** Jones and Bartlett Publishers. USA. 288pp.
- Martinez, A.J. 1985. Free-living Amoebas: Natural History, Prevention, Diagnosis, Pathology and Treatment of Disease. CRC Press, Boca Raton, FL. 156pp.
- Martinez, A.J. and Visvesvara, G.S. 1997. Free-living amphizoic and opportunistic amebas. *Brain Pathol.* 7: 583-598.
- Matuz, D.M. 2001. Amibas de vida libre aisladas de aguas subterráneas del Valle del Mezquital, Hidalgo, México. Tesis de Licenciatura en Biología. ENEP Iztacala, UNAM. México. 53pp.



- Mergeryan, H. 1991. The prevalence of *Acanthamoeba* in the Human Environment. *Rev. Inf. Dis.* 13(Suppl 5): S390-S391.
- Metcalf y Eddy. 1985. **Ingeniería Sanitaria. Tratamiento, evacuación y reutilización de aguas residuales.** 2ª ed. McGraw-Hill. Barcelona, Esp. 968pp.
- Nerad, T.A., Sawyer, T.K., Lewis, E.J. and McLaughlin. 1995. *Acanthamoeba pearcei* N. Sp. (Protozoa: Amoebida) from Sewage Contaminated Sediments. *J. Euk. Microbiol.* 42(6): 702-705.
- Newsome, A.L., Farone, M.B., Berk, S.G. and Gunderson, J.H. 2001. Free Living Amoebae as Opportunistic Host for Intracellular Bacterial Parasites. *J. Euk. Microbiol.* (Supplement). Proceedings of the Seventh International Workshop on Opportunistic Protist. Cincinnati, Ohio. June 13-16. 13S-14S.
- OCDE. 1997. **Biotechnología para uso y conservación del agua.** Taller de trabajo México 96. 48pp.
- Page, F.C. 1988. **A new key to freshwater and soil Gymnamoebae with instructions for culture.** Fresh Biological Association. Ambleside, Cumbria. 122pp.
- Page, F.C. 1991. **Nackte Rizopoda. In Nackte Rizopoda und Heliozoa.** (Protozoenfauna Band 2). Gustav Fischer Verlag (ed). Stuttgart, New York. 170pp.
- Preston, T. and King, C. 1984. Amoeboid Locomotion of *Acanthamoeba castellanii* with Special Reference to Cell-Substratum Interactions. *J. Gen. Microbiol.* 130: 2317-2323.
- Ramalho, R.S. 1993. **Tratamiento de aguas residuales.** Reverte. Barcelona, Esp. 705pp.
- Ramirez, E., Warren, A., Rivera, F., Bonilla, P., Rodriguez, S., Calderon, A., Ortiz, R. and Gallegos, E. 1993. An investigation of pathogenic and no pathogenic free-living Amoebae in Activated sludge plant. *Wat, air & soil. poll.* 69: 135-139.
- Ramírez, E. y Bonilla, P. 1995. Epidemiología de las Amebas en México. *Inf. Cienc. Tecnol.* 17(220): 15-17.
- Ramírez, E. 1998. Sistemas de tratamiento de aguas residuales. Memorias del Congreso: Hacia una renovación ambiental en México. ENEP, Iztacala. UNAM. 91-96.
- Rivera, F., Galvan, M., Robles, E., Leal, P., Gonzalez, L. and Lacy, A.M. 1981. Bottled Mineral Waters Polluted by Protozoa in Mexico. *J. Protozool.* 28(1): 54-56.

- Rivera, F., Garcia, G., Lugo, A., Zierold, E., Islas, J., Ramirez, E. and Bonilla, P. 1986a. Amoebae in a waste stabilization pond system in Mexico. *Wat, air & soil. poll.* 28: 185-196.
- Rivera, F., Rosas, I., Castillo, M., Gomez, R., Chio, R.E. and Islas, J. 1986b. Pathogenic and free-living protozoa cultured from the nasopharyngeal and oral regions of dental patients. *Environ. Res.* 39: 364-371.
- Rivera, F., Lares, F., Gallegos, E., Ramirez, E., Bonilla, P., Calderon, A., Martinez, J.J., Rodriguez, S. and Alcocer, J. 1989a. Pathogenic Amoebae in natural thermal water of the three resorts of Hidalgo, Mexico. *Environ. Res.* 50: 281-295.
- Rivera, F., Lares, F., Ramírez, E., Bonilla, P., Calderón, A., Rodríguez, S., Ramírez, J., Xochihua, L. y Guzmán, H. 1989b. *Acanthamoeba* spp. en quemaduras infectadas y rinitis. *Rev. Lat-amer. Microbiol.* 31: 137-140.
- Rivera, F., Lares, F., Ramirez, E., Bonilla, P., Rodriguez, S., Labastida, A., Ortiz, R. and Hernandez, D. 1991. Pathogenic *Acanthamoeba* Isolated During an Atmospheric Survey in Mexico. *Rev. Infect. Dis.* 13(Suppl.5): S388-S389.
- Rivera, F.A. y Calderón, A.V. 1993. Biotratamiento de aguas negras. *Inf. Cienc. Tecnol.* 15(203): 29-31.
- Rivera, F., Rodriguez, S., Warren, A., Bonilla, P., Ramirez, E., Calderon, A. and Ortiz, R. 1993. An investigation of the pathogenic and non-pathogenic free-living amoebae from the root zone method of wastewater treatment. *Wat, air & soil. poll.* 69: 93-98.
- Rivera, F., Rivera, V.M. Gallegos, E.M. y Oliver, G. 1995a. ¿Porqué matan al hombre las amebas? *Inf. Cienc. Tecnol.* 17(220): 18-20.
- Rivera, F., Warren, A., Ramirez, E., Decamp, O., Bonilla, P., Gallegos, E., Calderon, A. and Trinidad, J.S. 1995b. Removal of pathogens from wastewater by the root zone method (RZM). *Wat. Sci. Tech.* 32(3): 211-218.
- Robles, E., Gallegos, E., Calderón, A. y Sainz, M. G. 1993. Remoción de materia orgánica. *Inf. Cienc. Tecnol.* 15(203): 26-28.
- Rodriguez-Zaragoza, S. 1994. Ecology of free-living Amoebae. *Critical. Rev. Microbiol.* 20(3): 225-241.
- Rodriguez-Zaragoza, S. and Garcia, S. 1997. Species Richness and Abundance of Naked Amebae in the Rhizoplane of the Desert Plant *Escontria Chiotilla* (Cactaceae). *J. Euk. Microbiol.* 44(2): 122-126.
- Rogerson, A. and Gwaltney, C. 2000. High numbers of Naked Amoebae in the Planktonic Waters of a Mangrove Stand in Southern Florida, USA. *J. Euk. Microbiol.* 47(3): 235-241.

- Schuster, F.L. 1990. **Phylum Rhizopoda: in Handbook of Protoctista**; Margulis, L., Corliss, J.O. Meilikonian, M. and Chapman, D.J. (eds). Jones and Bartlett Publishers. Boston, EUA. 3-18.
- Seoanez, M.C. 1995. **Aguas residuales urbanas: Tratamientos naturales de bajo costo y aprovechamiento**. Mundi-Prensa. Madrid, Esp. 368pp.
- Singh, B.N. 1955. Culturing soil protozoa and estimating their number in soil. In Soil Zoology. Kevan ed. Butterworths Scientific Publications, London. 403-411.
- Sleight, M.A. 1989. **Protozoa and other Protist**. E. Arnold (ed). London, England. 342pp.
- Smirnov, A.V. 2002. Vertical Distribution and Abundance of Gymnamoebae (Rhizopoda) in Bottom Sediments of the Brackish Water Nivå Bay Baltic Sea, (The Sound). *Protist*. 153(3): 239-250.
- Smirnov, A.V., Nassonova, E., Holzman, M. and Pawlowski, J. 2002. Morphological, Ecological, and Molecular Studies of *Vannella simplex* Wohlfarth-Botterman 1960 (Lobosea, Gymnamoebia), with a new Diagnosis of this Species. *Protist*. 153(4): 367-377.
- SPP. 1984. Juego de cartas temáticas: Topográfica, Edafológica, Geológica, Uso del Suelo y Vegetación. F14D8. "Pachuca" Escala 1:50 000.
- SSPEUA. 1975. **Manual de Fosas Sépticas**. Centro Regional de Ayuda Técnica. Agencia para el Desarrollo Internacional. México-Buenos Aires. 85pp.
- Tillman, G.M. 1992. **Primary treatment at wastewater treatment plants**. Lewis Publisher. USA. 115p.
- Urban, L.M. y Vega, N.S.M. 2002. Aislamiento de amibas de vida libre en ambientes intra y extra muros. Tesis de Licenciatura en Biología. FES Iztacala, UNAM. 56pp.
- Villagrana, J.R.L. 1994. Análisis sobre las amibas de vida libre. *UNAM hoy*. 14: 17-22.
- Visvesvara, G.S. and Sterh-Green, J.K. 1990. Epidemiology of Free-living Ameba Infections. *J. Protozool*. 37(4): 25S-33S.
- Visvesvara, G.S., Schuster, F.L. and Martinez, A.J. 1993. *Balamuthia mandrillaris*, N. G., N. Sp., Agent of Amebic Meningoencephalitis in Humans and Other Animals. *J. Euk. Microbiol*. 40(4): 504-514.

## Anexo

### Medios de Cultivo

#### Agar no nutritivo con *Enterobacter aerogenes* (NNE).

NaCl	0.12 g
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0.0004 g
CaCl <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O	0.0004 g
Na <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> dibásico anhidrido	0.142 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> monobásico	0.136 g
Agar bacteriológico	15.0 g
Agua destilada	1000 ml

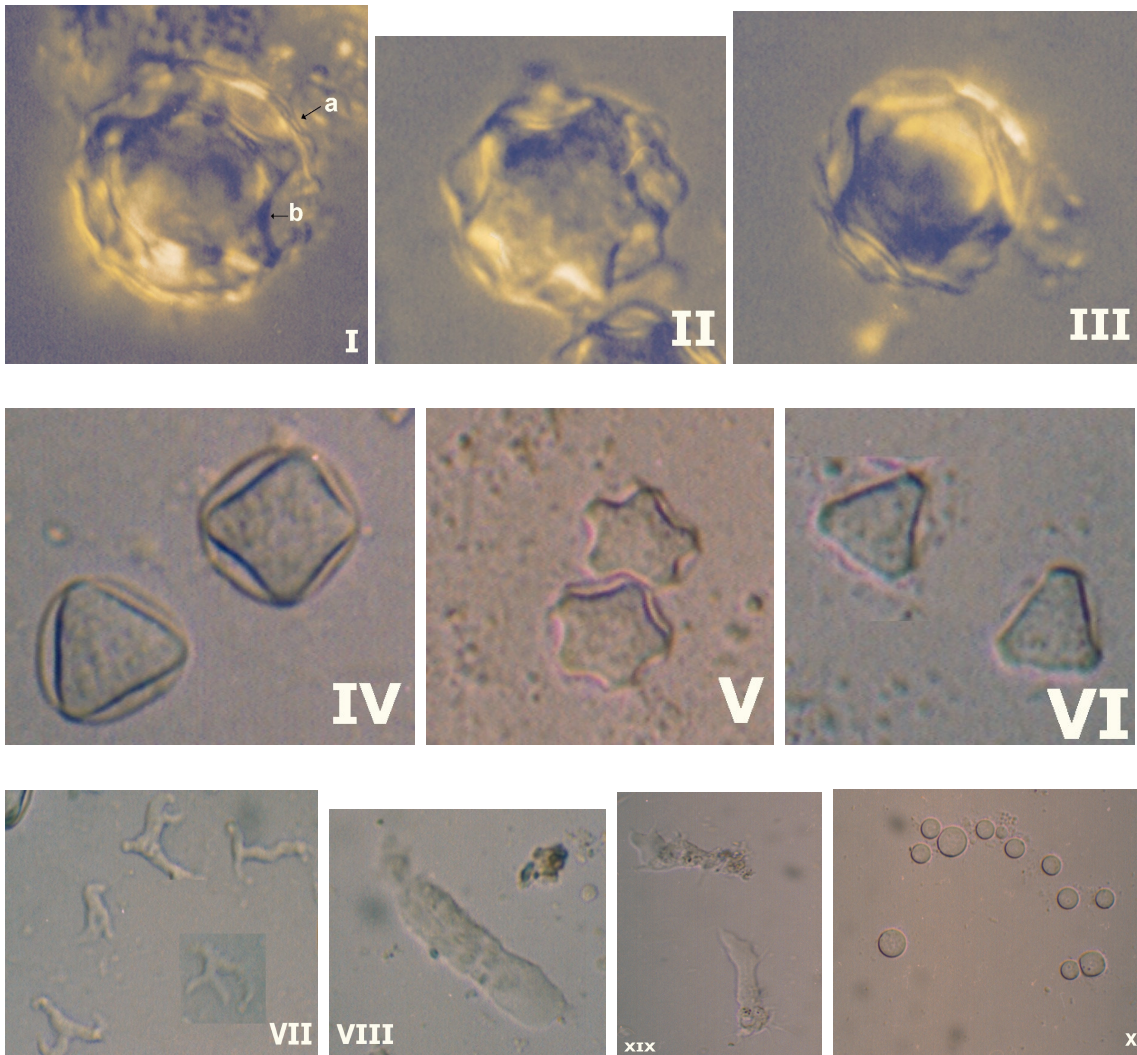
Mezclar en seco los compuestos, agregar 500 ml de agua destilada y disolver hasta completar un volumen de 1000 ml, se hierva hasta que se disuelva completamente el agar. Esterilizar a 121°C durante 20 minutos y se vierten 2 ml en cada pozo, cuando se halla solidificado se agregan 2 gotas de una suspensión concentrada de la bacteria *Enterobacter aerogenes* muerta por calor a 68°C, distribuyéndose sobre la superficie del agar. Antes de su uso se almacenan en el refrigerador para su conservación.

#### Medio Ringer

#### Solución isotónica salina de cloruro de sodio-potasio.

NaCl	6.0 g
KCl	0.075 g
CaCl <sub>2</sub>	0.01 g
NaHCO <sub>3</sub>	0.1 g
Agua destilada	1000 ml

Se mezclan los compuestos en seco y se agregan 500 ml de agua destilada para disolver hasta completar los 1000 ml. Después se esteriliza a 121°C durante 20 minutos y se deja enfriar para su conservación en el refrigerador.



I y II. *Acanthamoeba astronyxis* (quistes). **a.** exoquiste **b.** endoquiste  
 III y IV. *Acanthamoeba tubiashi* (quistes). **V.** *Acanthamoeba quina* (quistes).  
**VI.** *Acanthamoeba triangularis* (quistes).  
**VII.** *Hartmannella vermiformis* (trofozoítos).  
**VIII y XIX.** *Dactylamoeba stella* (trofozoítos).  
**X.** *Vahlkampfia aberdonica* (quistes).

Microscopia de Contraste Diferencial de Interferencia 400X. (Microscopio **Nikon**).