



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**“Distribución espacial de Amibas de
Vida Libre en pozos de agua del municipio
de Texcoco, Estado de México”**

T E S I S

Que para obtener el título de

B I Ó L O G O

P R E S E N T A

NYDIA KAREN OROZCO GUEVARA

Directora de Tesis:

M. EN C. ELIZABETH RAMÍREZ FLORES



Los Reyes Iztacala, Edo. De México, 2013



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

Dedicado a mi madre Amparo Guevara, le dedico este y todos mis logros, ya que sin ella no podría haber sido posible. Gracias madre por darme la vida, quererme mucho, creer en mí, porque siempre me apoyaste y por darme una carrera para mi futuro, todo esto te lo debo a ti.

A mi hermano Alan Orozco que siempre me ha acompañado sin importar lo que pase, intentando siempre apoyarnos mutuamente.

A mi familia por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como de la vida, por su incondicional apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo.

Y a mi gran amor Héctor Ardit; por los momentos compartidos, las lecciones aprendidas, todos los sueños, las ilusiones y por estar a mi lado.

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer este trabajo de tesis a Dios por bendecirme para llegar hasta donde he llegado, porque hiciste realidad este sueño anhelado.

Son muchas las personas que han formado parte de mi vida profesional a las que me encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles de mi vida. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en mi corazón, sin importar en donde estén quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.

Por todas las facilidades brindadas para la realización de este trabajo agradezco a

Comisión Nacional del Agua

Gerencia de Aguas Subterráneas

Subgerencia de Explotación y Monitoreo Geohidrológico

Subdirección de Aguas Subterráneas

A mi directora de Tesis la M. en C. Elizabeth Ramírez Flores por su esfuerzo y dedicación, quien con sus conocimientos, su experiencia, su paciencia y su motivación ha logrado en mí que pueda terminar mis estudios con éxito.

A mis sinodales; la Dra. Patricia Bonilla Lemus, la M. en M. Dolores Hernández Martínez, el Dr. Víctor Manuel Rivera Aguilar y la Q.F.B. Esperanza Robles Valderrama, gracias por todas sus atenciones, tiempo y valiosos comentarios

ÍNDICE

• RESUMEN	5
1. INTRODUCCIÓN	6
2. MARCO TEÓRICO	10
2.1 Amibas de vida libre (AVL)	10
2.2 Agua subterránea	15
3. ANTECEDENTES	19
4. JUSTIFICACIÓN	21
5. OBJETIVOS	22
6. ZONA DE ESTUDIO	22
6.1 Localización	25
6.2 Clima	25
6.3 Precipitación	25
6.4 Calidad del agua	25
6.5 Extracción del agua del acuífero Texcoco	26
7. MATERIAL Y MÉTODO	31
7.1 Trabajo de Campo	31
7.2 Trabajo de Laboratorio	32
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
8.1 Presencia y Ausencia de AVL	34
8.2 Riqueza Específica	35
8.3 Frecuencia de AVL	38
8.4 Distribución Temporal	40
8.5 Distribución Espacial	41
8.6 Parámetros Físico-químicos	42
9. CONCLUSIONES	49
10. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS	50
11. ANEXOS	55

RESUMEN

El agua subterránea es una de las principales fuentes de abastecimiento de agua en el país. En el Valle de México 70% de la población se abastece con el agua extraída a través de pozos. Sin embargo, los problemas de sobreexplotación de acuíferos en muchas zonas, así como las actividades antropogénicas, han ocasionado deterioro en la calidad del agua subterránea en algunos sitios, y en muchos otros, condiciones graves de decremento del nivel de los acuíferos y la disminución de sitios de recargas naturales debido a la elevada urbanización, lo que también influye en la afectación de la calidad del agua de recarga.

La OMS (1995) considera que el agua subterránea extraída de acuíferos profundos y bien protegidos generalmente está libre de microorganismos patógenos y en muchos países la distribución de agua sin tratamiento es una práctica común. Esto exige que la zona de influencia se proteja mediante medidas de reglamentación eficaces y que el sistema de distribución se proteja también suficientemente contra contaminación secundaria por lixiviados y organismos de interés en la salud pública. Como es el caso de las amibas de vida libre (AVL), protozoos cosmopolitas que habitan en ambientes húmedos como el suelo y el agua, aunque también se pueden encontrar en el aire en forma de quistes. A la fecha se han descrito como patógenas las Amibas de Vida Libre (AVL): *Acanthamoeba*, *Naegleria*, *Balamuthia* y *Sappinia*. *Naegleria fowleri* es capaz de producir en el hombre meningoencefalitis amebiana primaria (MEAP) enfermedad fulminante y mortal. *Acanthamoeba spp.* puede provocar infecciones severas en pulmones, oídos, nariz y queratitis amibiana en ojos. Por lo que éste trabajo tuvo como objetivo determinar la presencia de amibas de vida libre en el agua subterránea del municipio de Texcoco, Estado de México. Se realizaron 6 muestreos bimensuales a lo largo del año 2012, en 6 pozos; 3 pozos dentro del lago de Texcoco, 3 pozos a la orilla del lago sobre la carretera y una muestra de la entrada de la planta eliminadora de manganeso que está en Texcoco, donde se junta el agua de todo los pozos de la zona. Se colectaron muestras de 1000 ml de agua en recipientes esterilizados y posteriormente se transportaron a temperatura ambiente al laboratorio. En el sitio se midieron los parámetros fisicoquímicos: pH, oxígeno disuelto y temperatura. En el laboratorio se realizó el aislamiento y cultivo de las AVL, en el medio específico Agar no Nutritivo con la bacteria *Enterobacter aerogenes* (NNE), incubándose a 30 °C y después a 37 °C y 42 °C para la prueba de temperatura. La identificación fue morfológica siguiendo las claves taxonómicas de Page (1988).

La riqueza específica encontrada en el agua fue determinada por la alta concentración de sales disueltas, aislándose solamente 4 especies de amibas pertenecientes a 2 géneros: *Acanthamoeba castellanii*, *Acanthamoeba polyphaga*, *Hartmannella cantabrigiensis* y *Hartmannella vermiformis*; esta última fue la más frecuente con el 40 %. El pozo con mayor número de aislamientos fue el pozo 7, donde se presentó la menor concentración promedio de sólidos disueltos y se encontraron uno de los valores promedios más altos de oxígeno disuelto; mientras que en el pozo 17 no presentó ningún aislamiento. El mes con mayor número de aislamientos fue Septiembre con 12 y el menor fue Noviembre con solo 1 aislamiento. Los parámetros fisicoquímicos estuvieron dentro de los intervalos adecuados para el crecimiento de las AVL, excepto los sólidos disueltos que presentaron valores muy elevados en 4 de los 7 pozos muestreados.

1. INTRODUCCIÓN

El agua es esencial para la existencia de cualquier tipo de vida y vivimos en un planeta cubierto en un 70% por agua y sin embargo, cada día se habla con mayor frecuencia de una gran crisis hídrica mundial.

Dentro del ciclo hidrológico, las aguas subterráneas son fundamentales tanto como fuente de agua potable para la sociedad, como para el mantenimiento de muchos ecosistemas acuáticos (Llamas *et al.*, 2000).

El agua subterránea es uno de los recursos naturales más valiosos, ya que es una de las principales fuentes de abastecimiento para diversos sectores de una población, como son: el urbano, rural, industrial y comercial, considerada frecuentemente una fuente inagotable debido a su disponibilidad y buena calidad.

El agua subterránea se encuentra debajo de la superficie de la tierra y las reservas mayores de agua subterránea son llamadas acuíferos.

Un acuífero es la forma geológica que almacena agua y actúa como depósito y reserva. La mayoría conforman grandes extensiones y generalmente su alimentación es por el aporte de aguas pluviales, corrientes superficiales y lagos que se infiltran en el suelo. Dentro de un acuífero el agua escurre debido a la gravedad desde las zonas de recarga hacia las de descarga, las cuales pueden ser ríos, lagos o manantiales (Jiménez, 2001).

A nivel mundial el agua subterránea constituye un alto porcentaje como fuente de suministro. Para dos terceras partes de México el agua subterránea es la principal fuente, pues proporciona el 70% del recurso potable en el valle de México así la población se abastece con el agua extraída de pozos. Cuando la demanda de abastecimiento se excede; ocurren severas crisis observándose notables síntomas del incremento en la escasez del agua. En México se utilizan cerca de 75.4 mil millones de m³ anuales de agua del subsuelo para todos los usos (Caballero, 2006).

La Comisión Nacional del Agua reconoce 154 acuíferos distribuidos en todo el territorio de la República Mexicana, con una recarga anual de 75 km³ y una extracción anual para usos público-urbano, agrícola, etc. de 28 km³, que representa el 40% de la extracción anual bruta. El gran Valle de México tiene siete acuíferos: dos, los más importantes y que corresponden a la zona metropolitana, son el acuífero de la zona metropolitana y el acuífero de Texcoco (CONAGUA, 1994).

También señala la Comisión Nacional del Agua que 106 acuíferos están sobreexplotados, estimando que en el acuífero de la Ciudad de México existe una sobreexplotación del 35%, mientras que en el acuífero de Texcoco llega a 50%. La explotación de los acuíferos se efectúa mediante el bombeo en pozos. La excavación cada vez más profunda de los pozos ocasiona la alteración físico-química del agua la cual presenta un mayor contenido de hierro y manganeso, disminuyendo su calidad y presentando un riesgo para la salud (Jiménez, 2001).

El agua para consumo humano debe tener la calidad adecuada para consumo humano y para cualquier uso doméstico, esto implica que el agua no debe presentar ningún tipo de riesgo que pueda causar irritación química, intoxicación o infección microbológica que sea perjudicial a la salud humana (Llamas, 2000).

El abastecimiento de agua para uso y consumo humano con calidad adecuada es fundamental para prevenir y evitar la transmisión de enfermedades, para lo cual se requiere establecer límites permisibles en cuanto a sus características bacteriológicas, físicas, organolépticas, químicas y radiactivas, con el fin de asegurar y preservar la calidad del agua en los sistemas, hasta la entrega al consumidor (NOM-127-SSA1-1994).

Las aguas subterráneas pueden sufrir desaparición y contaminación, tanto por condiciones naturales como antropogénicas (Llamas *et al.*, 2000).

La contaminación de las aguas subterráneas es un grave problema ambiental que difícilmente es remediable. Las circunstancias actuales indican que el agua subterránea es muy vulnerable a la contaminación; se contamina cuando algunas sustancias tóxicas se disuelven en el agua superficial y son acarreadas o lixiviadas a acuíferos con el agua percolada. Así mismo pueden llegar a entrar tanto productos químicos-orgánicos e inorgánicos así como algunas bacterias, virus y protozoarios (Llopis, 1970).

A través de la historia, la calidad del agua potable ha sido un factor determinante para el bienestar humano. De aquí que los abastecimientos de agua potable sin tratar o con un tratamiento inadecuado, siguen siendo una amenaza para la salud pública (Guerrero, 1999).

De acuerdo con Knobelsdorf y Mujeriego (1997) los sistemas de almacenamiento y distribución de agua potable constituyen un ambiente propicio para el desarrollo y crecimiento de microorganismos como bacterias, algas, hongos y protozoos (CIECCA, 1985).

Los protozoos patógenos tienen importancia en la calidad del agua; pues está es un vehículo para la trasmisión de la mayoría de las enfermedades. Los principales mecanismos en la transmisión son la ingestión y/o contacto con agua contaminada.

Tal es el caso de las Amibas de Vida Libre (AVL) patógenas, las cuales presentan en general una distribución cosmopolita, se les puede encontrar en suelo, agua y aire. Desde el punto de vista ecológico, uno de los principales factores para la distribución de las AVL es la presencia de bacterias como fuente principal de alimento.

Además tienen la característica de ser termo tolerantes, aunque no todas las termo tolerantes son patógenas y se presentan en cuerpos de agua con temperatura arriba de los 25°C y aguas naturales de los trópico y subtrópicos, esto favorece su proliferación en ambientes específicos, también son capaces de soportar varios ámbitos de salinidad y pH, por lo que tienen una amplia distribución en la naturaleza (Visvesvara *et al*, 1990).

Dentro del grupo de amibas existe un conjunto de especies de importancia médica capaces de causar afecciones a humanos y animales pertenecientes a los géneros *Acanthamoeba*, *Sappinia*, *Naegleria* y *Balamuthia*, debido a que tienen la capacidad de producir infecciones en el sistema nervioso central (SNC), tales como meningoencefalitis amebiana primaria (EAG), así como infecciones en los ojos, piel y otros tejidos del ser humano.

La puerta de entrada para estas infecciones puede ser a través de la piel o mucosas, así como por la aspiración nasal de agua o aire contaminados con amibas o quistes viables de las mismas. La mayoría de los casos reportados causados por estas amibas se asocian a eventos donde se tuvo contacto con agua contaminada donde se presentan estos organismos. Lo cual preocupa ya que personas inmunocomprometidas e inmunosuprimidas pueden tener contacto con esta fuente de infección y debido a que son más susceptibles a las infecciones oportunistas puede ser un grave riesgo de salud (Bonilla y Ramírez, 2008).

2. MARCO TEÓRICO

2.1 AMIBAS DE VIDA LIBRE.

Importancia Ecológica y Médica

Las AVL en los ecosistemas acuáticos desempeñan un papel muy importante en el mantenimiento del flujo de energía y el reciclado de los nutrientes. Su eficiencia en el uso de los recursos los convierte en un enlace fundamental entre los organismos desintegradores y aquellos pertenecientes a niveles tróficos superiores. Las AVL se encuentran en mayor proporción en la microcapa superficial, debido a la abundancia de nutrientes y al establecimiento de quistes aéreos y en menor proporción en los sedimentos (Bonilla *et al.*, 2004).

Las AVL son un grupo de protozoarios y algunas con importancia médica pertenecen a los súper grupos Amoebozoa y Excavata (Adl *et al.*, 2005). Éstas han sido estudiadas y reciben la denominación de anfizoicas, porque son capaces de vivir en el medio ambiente y actuar como parásitos en el ser humano. El ciclo de vida de las AVL presenta 2 fases: trofozoíto y quiste, además de un estadio flagelar para *Naegleria* que pertenece a las amibas patógenas (Galarza *et al.*, 2006).

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

Tiene una distribución mundial, vive principalmente en el suelo y ambientes acuáticos calentados natural o artificialmente, aunque también se pueden establecer en estanques, cascadas, manantiales lagos y ríos con temperaturas menores. Se han aislado de agua de grifo, piscinas, aguas termales, aguas de desecho, canales de riego, tinas de hidroterapia, lagos artificiales, efluentes calientes de plantas hidroeléctricas, polvo y de la nariz de individuos sanos (IMSS, 2012).

Los factores ambientales favorables para el desarrollo de este género de amibas son intervalos de temperatura de entre 30°C y 45°C, niveles óptimos de oxígeno, pH cercano a la neutralidad, alimento suficiente (bacterias y materia orgánica) y un mínimo de humedad. En temperaturas frías probablemente se enquistan y permanecen en el fondo con los sedimentos (Bonilla *et al.*, 2004; Visvesvara, 1994). Recientemente Beltrán (2008) y Limón (2008) aislaron *Naegleria* de agua subterránea.

Al género *Naegleria* pertenece la especie patógena para el ser humano, *Naegleria fowleri*, causante de la meningoencefalitis amibiana primaria (MAP), enfermedad fulminante que ocurre en personas sanas que han tenido contacto con agua, que presenta como característica temperatura elevada y concentraciones insuficientes de cloro libre residual. Aunque 0.5 ppm de cloro pueden matar a *N. fowleri*, la cloración insuficiente de las aguas de albercas permite sobrevivir a un número suficiente de amibas (Bonilla *et al.*, 2004, y Visvesvara, 2004).

La ruta de invasión de *N. fowleri* es a través de la aspiración del agua contaminada; los trofozoítos invaden la mucosa olfatoria, atraviesan el nervio olfativo, la lámina cribiforme y llegan al espacio subaracnoideo.

Estas amibas producen edema y necrosis hemorrágica en el tejido cerebral mediante la producción de hidrolasas lisosomales y fosfolipasas que degradan la mielina y provocan daños graves e irreversibles.

Los primeros síntomas son repentinos, seguido de alteraciones neurológicas que finalmente lo lleva a la muerte en tan solo una semana. El diagnóstico se realiza observando preparaciones de líquido cefalorraquídeo (LCR) en vivo o teñidas con Wrigth, Giemsa o Hematoxilina y Eosina. Sin embargo, el principal problema para identificar las amibas es que pueden confundirse como macrófagos, células epiteliales o pasar inadvertidas como simples partículas. El único fármaco contra *N. fowleri* es la Anfotericina B, pero solamente es efectivo cuando se administra al inicio de la infección (Visvesvara y Schuster, 2007; Bonilla y Ramírez, 2008).

■ ***Acanthamoeba*** tiene la habilidad de sobrevivir en diversos ambientes y ha sido aislada de distribuidores de agua pública, piscinas, agua embotellada, agua de mar, estanques, agua estancada, lagos de agua dulce y salada, ríos, ductos de ventilación, incluso de la boca y nariz de individuos asintomáticos, interface aire-agua, unidades de aire acondicionado, agua residual, composta, sedimentos, suelo, aire, vegetales, lentes de contacto, y de la atmósfera, indicando la naturaleza ubicua de éstos organismos (Oddó, 2006).

Causante de diversas infecciones en el ser humano principalmente en individuos inmunocomprometidos e inmunosuprimidos; aunque se ha reportado como “biota normal” en individuos sanos (IMSS, 2012).

Varias especies de este género pueden causar diversas infecciones en el ser humano, no solo es causante de la encefalitis amibiana granulomatosa, sino también de infecciones oculares, principalmente en usuarios de lentes de contacto, también se han reportado casos de neumonitis y dermatitis causados por esta amiba (Bonilla *et al.*, 2004; Visvesvara, 2004; Galarza *et al.*, 2006).

La capacidad de formar quistes resistentes en condiciones desfavorables le facilita una amplia distribución, así como también la existencia de bacterias en su interior y adaptación del medio (Bonilla *et al.*, 2004).

Además *Acanthamoeba* ha sido aislada de muestras de hospitales, unidades de diálisis, recipientes para lavado de ojos, cavidad nasal humana, tejido de pulmón, lesiones de piel, biopsias corneales, fluido cerebroespinal y necropsia de cerebro (Naveed, 2006).

El ciclo de vida de las diferentes especies de acantamebas presenta una forma trofozoíto y una forma quística. Los trofozoítos son irregulares y presentan múltiples proyecciones pseudopodiales retráctiles, filamentosas o espinosas llamadas acantópodos. El tamaño de los trofozoítos varía de acuerdo a cada especie, con promedios de 20 a 40 μ . El citoplasma es abundante y tiene un aspecto granular y vacuolar; además tiene un núcleo claro, central y esférico con un prominente y denso nucléolo redondeado (Oddó, 2006).

■ ***Balamuthia mandrillaris***, amiba oportunista, cuyo nombre se debe a que fue aislada de un mandril, por lo que se clasificó como *Balamuthia* en 1993. Esta amiba es causante de encefalitis granulomatosa y lesiones cutáneas, presentando una patología similar al género *Acanthamoeba*. Los casos que han sido reportados en América Latina (Perú, Argentina y México) están asociados con exposición a aguas de ríos.

El ciclo de vida de *B. mandrillaris* es probablemente semejante al de *Acanthamoeba spp.*, al igual que el aspecto de los trofozoítos y quistes. Sin embargo, los trofozoítos pueden llegar a medir hasta 50 μ , tienen un peculiar retículo endoplasmático acintado, y se desplazan lentamente mediante amplias proyecciones aplanadas, llamadas lamelipodios, a diferencia de las prolongaciones espinosas del género *Acanthamoeba*. Los quistes miden de 15 a 30 μ de diámetro y tienen una característica triple pared (Oddó, 2006).

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

■ ***Sappinia pedata (diploidea)*** se ha encontrado como otro causante de encefalitis y solamente se ha reportado un caso, donde no se observó la formación de granulomas, como en la encefalitis causada por *Acanthamoeba*. Anteriormente la amiba se había aislado del ambiente y de las heces de los seres humanos, alces, bisontes y ganado, pero nunca se le había implicado en una patología.

Con el descubrimiento gradual de patógenos, se piensa que otros microorganismos amibianos patógenos están esperando ser reconocidos por su capacidad para producir citopatología en tejido fino, esto puede indicar su potencial para causar enfermedades (Gelman *et al.*, 2003).

Biólogos, médicos y observadores con conocimientos han realizado aportaciones importantes sobre su existencia, se encuentran reportes de AVL en varios lugares del mundo, en donde han sido encontradas en casos de infección humana, así como en el medio ambiente (Oddó, 2006).

2.2 AGUA SUBTERRÁNEA- ACUÍFEROS

Los acuíferos se forman con rocas no consolidadas, grava y arena. La mayoría de los acuíferos se consideran como grandes sistemas de almacenamiento de agua subterránea, en los cuales este líquido entra al reservorio por recarga natural o artificial y sale a la superficie a través de manantiales y galerías filtrantes (Iturbe y Silva, 1992; Gordon *et al.*, 1987).

El agua subterránea se encuentra contenida en el interior de un acuífero estos pueden ser libres y confinados esto respecto a la ausencia o presencia de nivel freático y el agua subterránea puede a menudo extraerse por medio de pozos que se perforan y que se construyen en lugares deseados. Localizada en las profundidades debajo del suelo, está resguardada de los cambios de temperatura y protegida de la evaporación y es menos vulnerable a la contaminación, que es un riesgo constante del agua en la superficie.

- Tipos de Acuíferos.

Los acuíferos se clasifican en confinados, no confinados y semiconfinados, dependiendo de la ausencia o presencia de nivel freático.

Los acuíferos confinados son llamados también artesianos, se presentan cuando el agua subterránea se halla bajo una presión mayor que la atmosférica. Si se abre un pozo de este tipo de acuífero, el nivel del agua sube más arriba de la frontera del acuífero y se dice que hay una condición artesisiana (Price, 2007).

Los acuíferos no confinados tienen como frontera superior el nivel freático y por lo general se ubican cerca de la superficie del terreno. Se conocen como libres, freáticos, o no artesianos (Figura 1).

Los acuíferos colgados son un caso especial de los acuíferos no confinados; se presentan en estratos muy permeables de la zona no saturada donde hay pequeñas capas, generalmente arcillosas y muy impermeables, en las cuales se acumula el agua y por ello se denominan acuíferos.

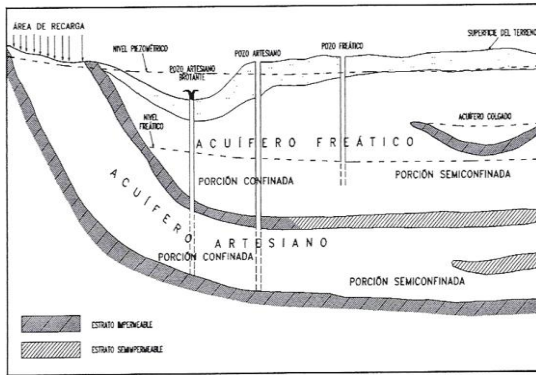


Figura 1. Tipos de Acuíferos



Figura 2. Nivel piezométrico en un acuífero.

Acuíferos semiconfinados: las características de este tipo de acuífero, pueden considerarse en cierta medida intermedia entre las de uno libre y otro confinado. El muro o techo no son totalmente permeables sino que son acuitardos y permiten la filtración vertical del agua y, por tanto, puede recibir recarga o perder agua a través del techo o de la base. Este flujo vertical sólo es posible si existe una diferencia de potencial entre ambos niveles (Figura 1).

En algunos casos, dependiendo de la topografía, dicho nivel rebasa el del terreno y entonces se tiene un pozo artesiano. Las elevaciones y caídas del nivel del agua en tales pozos son resultado de cambios de presión y no de volumen. La superficie piezométrica de estos acuíferos es una superficie imaginaria que coincide con el nivel de la presión hidrostática del agua en el acuífero (Figura 2). El nivel del agua en un pozo artesiano define la elevación de la superficie piezométrica en ese punto (Iturbe y Silva, 1992).

Los acuitardos son formaciones geológicas semipermeables que, conteniendo agua en gran cantidad, la transmiten muy lentamente, por lo que en estas formaciones tampoco resulta adecuado emplazar captaciones; no obstante, en determinados casos, la presencia de un acuitardo puede proporcionar a un acuífero que esté en contacto con él, una recarga vertical que puede llegar a ser importante. Las arcillas limosas y arenosas son formaciones que pueden comportarse como acuitardos.

El pH del agua subterránea se presente entre 7 y 8, es una solución neutra que varía con la temperatura la cual va de 7°C a 25°C. En México, en particular en la zona de la Sierra Madre Occidental y en las Cuencas Aluviales Centrales, existe un gradiente geotérmico de 31.4 a 39.3°C/km, el cual es considerado mayor en lugares de la Eje Transvolcánica Mexicana (Price, 2007).

- Calidad del Agua

La calidad del agua subterránea es relativa debido a que ésta depende del uso que se le quiera dar. Algunas de las actividades antropológicas pueden ocasionar contaminación de acuíferos disminuyendo la calidad del agua si es que se quiere potabilizar. Aunque no se dispone de información suficiente para diagnosticar la calidad de las aguas subterráneas de los principales acuíferos del país, dicha calidad se ha deteriorado debido a las actividades humanas.

La contaminación es mayor en los pozos someros que en los profundos; sin embargo, éstos pueden verse seriamente afectados debido a la presencia de fracturas verticales que proveen patrones de flujo de migración rápida; o bien, a la carencia de sellos de protección en los pozos de inyección lo que puede dar lugar al establecimiento de conexiones preferenciales entre el nivel freático y los flujos de los niveles más profundos, generando la migración de los contaminantes a mayor profundidad (Price, 2007).

Antes de los años 70's el estudio de la biología del agua subterránea, fue relativamente limitado, sin embargo se hizo cada vez más obvio que la eliminación de desperdicios contaminaban ambientes subsuperficiales, esto condujo a un creciente interés en el estudio de este tipo de ambientes; además de los organismos que se encontraban en estos, para llevar a cabo la degradación de contaminantes potenciales es decir la biorremediación (Leclerc y Moreau 2002).

La problemática de los acuíferos del país es diversa pues depende de las características hidrogeológicas de las zonas, del uso de los acuíferos y de las aportaciones que estos reciben (Iturbe y Silva, 1992).

Las fuentes de contaminación química y microbiológica son numerosas. Estas fuentes incluyen la práctica de disposición en el suelo de los efluentes de agua de desecho, lodos, desechos sólidos, efluentes de tanques sépticos y escurrimientos urbanos (Gerba y Bitton, 1984).

Más de 200 sustancias orgánicas e inorgánicas sintéticas se han identificado en suministros de agua subterránea (Zoller, 1994).

Con respecto a la contaminación por microorganismos patógenos, la contaminación bacteriana parece ser el problema más común; aunque también se han detectado problemas de salud por brotes de algunos virus como el de la hepatitis y la gastroenteritis (Craun, 1984; Zellikson, 1996).

En el caso de los protozoarios, no se cuenta con mucha información acerca de su presencia en el agua subterránea. Se ha observado que su número es bajo, pero en aguas contaminadas orgánicamente, su número se incrementa debido al aumento de la población bacteriana, que es el principal alimento de los diferentes grupos de protozoos, entre los que se destacan las amibas de vida libre por su voracidad para consumir bacterias (Ramírez *et al.*, 2001).

3. ANTECEDENTES

- **Novarino et al. en 1997** mencionan que los flagelados pequeños son en gran medida los protistas dominantes en acuíferos, aunque también pueden estar presentes las amibas y los ciliados. Reportando los siguientes géneros amibianos: *Acanthamoeba*, *Hartmannella*, *Mayorella*, *Rosculus*, *Vahlkampfia*, *Vannella* y *Platyamoeba*.
- **Ramírez et al. en 2001** presentan un estudio donde caracterizaron las poblaciones de amibas de vida libre presentes en un acuífero contaminado orgánicamente de México en el Valle del Mezquital, Hidalgo. Se encontraron 289 amibas aisladas de 8 géneros. El género más encontrado fue *Acanthamoeba* seguido por *Hartmannella*. La mayor abundancia de AVL fue registrada en agosto y cerca de la superficie.
- **Campos en el 2007** hizo un estudio acerca de la distribución temporal de AVL en dos manantiales del acuífero de Cuernavaca donde encontró que los géneros *Hartmannella* y *Vahlkampfia* fueron los que tuvieron mayor incidencia, reportando el mayor número de aislamientos amebianos en los meses de noviembre, marzo y abril.
- **Limón en el 2007** reportó la distribución temporal y espacial de las AVL en 8 pozos del acuífero de Zacatepec, Morelos donde encontró que *Hartmannella vermiformis* fue la más frecuente con el 41.5%, también encontró dos especies patógenas del género *Acanthamoeba*: *A. polyphaga* y *A. royreba*.

- **Beltrán en el 2008** realizó la determinación de Amibas de Vida Libre en 10 pozos de Cuernavaca, Morelos en el periodo de un año. Encontrando 19 especies pertenecientes a 14 géneros: *Hartmannella*, *Naegleria*, *Vannella*, *Vahlkampfia*, *Rosculus*, *Platyamoeba*, *Thecamoeba*, *Vexillifera*, *Nuclearia*, *Stachyamoeba*, *Echinamoeba*, *Guttulinopsis*, *Cochliopodium* y *Acanthamoeba*; siendo *Hartmannella* la que se presentó con más frecuencia con sus dos especies: *H. vermiformis* y *H. cantabrigiensis*.
- **Zarza en 2009** detectó amibas de vida libre en el manantial y los pozos de Cuautla Morelos, obteniendo 29 especies de AVL pertenecientes a 16 géneros diferentes. La amiba que predominó fue *Hartmannella vermiformis* y encontró AVL reportadas como patógenas, *Acanthamoeba castellanii* y *Acanthamoeba polyphaga*.
- **Vicente en 2009** determinó la distribución temporal y espacial de Amibas de Vida Libre presentes en pozos de la zona suroeste del acuífero de Zacatepec, Morelos. Muestreo cinco pozos, encontró 21 diferentes especies de Amibas de Vida Libre pertenecientes a 16 géneros. La especie encontrada con mayor frecuencia fue *Hartmannella vermiformis*, de las amibas con potencial patógeno se encontraron *Acanthamoeba polyphaga* y *Acanthamoeba royreba* y con baja frecuencia *Naegleria sp.*
- **Ramírez et al. en 2009** publicaron un artículo donde determinaron la calidad microbiológica del acuífero de Zacatepec, Morelos, en trece pozos del acuífero. Todos los pozos presentaron contaminación por coliformes totales y se detectaron amibas de vida libre, pertenecientes a 16 géneros; el más frecuente fue *Hartmannella*; también se encontró *Acanthamoeba*, pero con baja frecuencia.

- **Robles et al. en el 2010** publicaron un artículo donde se determinó la calidad bacteriológica y fisicoquímica en tres pozos de la zona centro del acuífero Cuautla-Yautepec en Morelos, detectando contaminación bacteriológica en el acuífero que indica infiltración de bacterias provenientes de descargas de aguas residuales, aunque el agua del acuífero cumple con las regulaciones sanitarias para ser fuente de consumo humano.

4. JUSTIFICACIÓN

El agua subterránea se ha usado ampliamente para uso doméstico ya que se consideraba una fuente de agua inagotable y de buena calidad; pero es susceptible de contaminarse y los mantos acuíferos han sido objeto de sobreexplotación. En la parte central de México una parte importante de la población se abastece con el agua extraída a través de los pozos. La importancia que ha cobrado la calidad del agua ha permitido evidenciar que entre los factores o agentes que causan la contaminación de ella están: agentes patógenos, tales como bacterias, virus y protozoos como las Amibas de Vida Libre, las cuales han cobrado importancia debido a su patogenicidad y los graves tipos de lesiones que produce, principalmente en el sistema nervioso.

Con este trabajo se pretende ampliar el conocimiento acerca de los organismos patógenos que se encuentran en los cuerpos de agua contaminada, que son los causantes de diversas enfermedades y la muerte en humanos. Puesto que es importante remarcar que las amibas anfizoicas pueden ser encontradas en cualquier tipo de agua, desde lagos hasta piscinas y sería de gran relevancia realizar investigaciones en las áreas con mayor riesgo de la presencia de AVL en el país, para conocer el comportamiento de los géneros y las especies de los casos clínicos, así como para establecer las medidas necesarias para su prevención y posible control. Con lo que se aseguraría agua de buena calidad a los usuarios.

5. OBJETIVOS

- Objetivo general

Determinar la distribución espacial de amibas de vida libre en pozos de agua del municipio de Texcoco, Estado de México.

- Objetivos particulares

Determinar la riqueza específica de amibas de vida libre en los pozos.

Determinar en los pozos los siguientes parámetros físicos y químicos del agua: pH, temperatura, oxígeno disuelto y sólidos disueltos.

6. ZONA DE ESTUDIO

6.1 Localización

Texcoco se encuentra situado geográficamente en la parte este del Estado de México y colinda al norte con Tepetlaoxtoc, Papalotla, Chiautla, Chiconcuac; al sur con Chimalhuacán, Chicoloapan e Ixtapaluca; al oeste con Atenco; y al este con los estados de Tlaxcala y Puebla, con una longitud Oeste $99^{\circ} 01' 45''$ y una latitud Norte $19^{\circ} 35' 41''$ y contiene un área de 93, 904 ha (Figura 3). Antiguamente el municipio gozaba de la gran laguna localizada al poniente de la cabecera municipal, que hasta el momento es alimentada por los riachuelos: el Cozacuaco, el Chapingo y el San Bernardino (GOB, 2012).

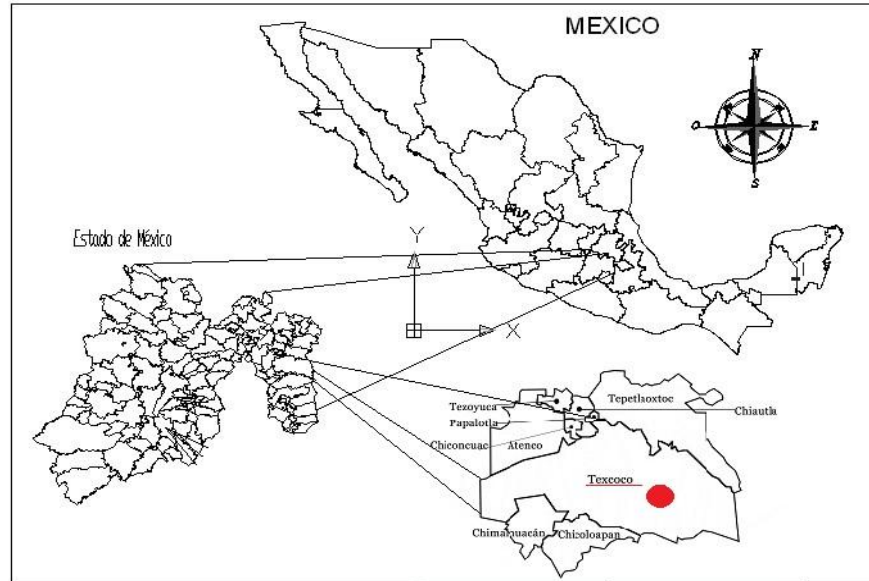


Figura 3. Localización del Municipio de Texcoco

El acuífero Texcoco colinda al sur con la Sierra Santa Catarina, al norte con la Sierra de Patlachique, al poniente con la Ciudad de México y al oriente con la Sierra de Río Frío. El tipo de acuífero Texcoco se considera semiconfinado debido a que se encuentra formado por material arcilloso con espesor superior a 60 metros en la parte central del lago de Texcoco y dicho espesor se adelgaza hacia las estribaciones de las sierras que limitan dicho acuífero (Arriaga, 2001).

El acuífero de la zona metropolitana tiene una sobreexplotación. El acuífero de Texcoco es el más sobreexplotado, se extrae un porcentaje mayor al de su recarga media anual.

Existe alto contenido en manganeso en el ramal Peñón- Texcoco donde actualmente está operando la planta de remoción de manganeso (Piñón, 1989).

El acuífero Texcoco está comunicado hacia el norte, con el acuífero Cuautitlán-Pachuca, a través de los materiales aluviales y lacustres comunes en estas planicies; también manifiesta comunicación hacia el oriente, con el acuífero Ciudad de México a través de la continuidad de los depósitos lacustres y aluviales y finalmente tiene comunicación hacia el sur con el acuífero Chalco-Amecameca

(Figura 4), a través de materiales permeables de la Formación Tarango y de los depósitos aluviales. La precipitación media anual para la zona de Texcoco es del orden de 650.73 mm el cual genera un volumen de 611.06 hm³/ año (CONAGUA, 2008).

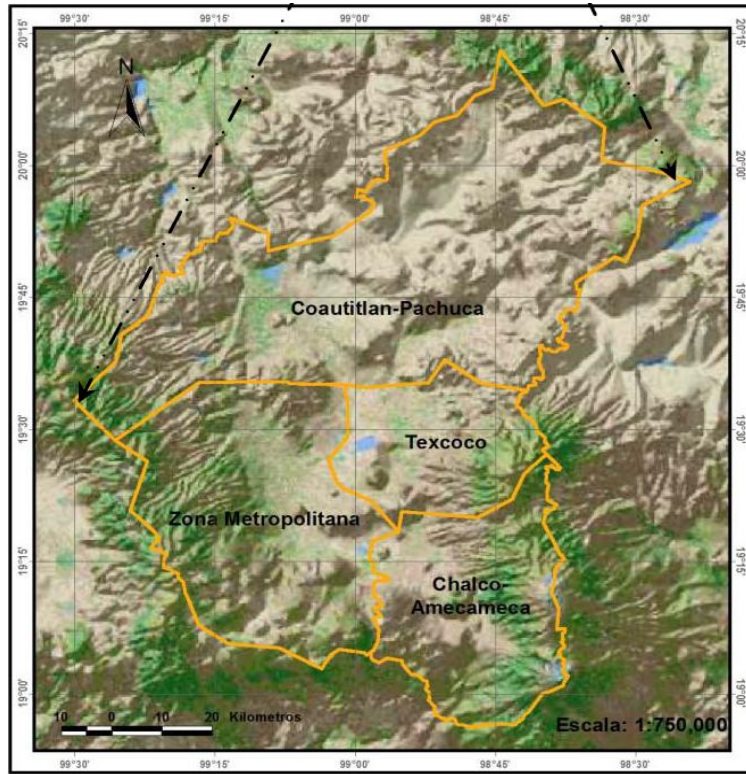


Figura 4. Localización y colindancias del acuífero Texcoco con otros acuíferos.

Para conocer la estratigrafía del subsuelo, la CONAGUA perforó tres pozos, localizados aproximadamente en el centro del Lago de Texcoco; el primero de 1,500 m de profundidad y de 750 m los otros dos. Los materiales están saturados de agua y los registros eléctricos muestran acuíferos de gran espesor. La presencia de trece derrames de roca ígnea, revelan una gran actividad volcánica (Landeros, 1970).

Según los trabajos de perforación que la CONAGUA tiene operando en la parte baja de la cuenca del Lago de Texcoco se considera que el agua se está explotando a más de 150 m de profundidad, debido a que el agua de estratos superiores a 200 m presenta alto contenido salino (salmuera), así como altas concentraciones de sosa cáustica (Barrera, 2000).

6.2 Clima

Es variable el clima de la zona, entre los que corresponde a: un clima templado, subhúmedo con verano fresco, el más húmedo de los templados subhúmedos con régimen de lluvias en verano y escaso porcentaje de lluvia invernal, poca oscilación y la temperatura del mes más cálido se tiene antes del solsticio de verano. Semiseco estepario, el más húmedo de los semisecos, templado con verano cálido con régimen de lluvias en verano y escaso porcentaje de lluvia invernal, extremo y la temperatura del mes más cálido se presenta antes del solsticio de verano. La temperatura media anual es de 15°C (Escobar, 2010).

6.3 Precipitación

Prácticamente toda el agua subterránea tiene su origen en la precipitación y escurrimientos superficiales. La magnitud de la precipitación puede variar en el espacio (con la posición geográfica) y en el tiempo (con la estación del año) y por lo tanto no puede estimarse con otras variables meteorológicas.

La precipitación media anual para la zona es del orden de 650.73 mm, la cual genera un volumen llovido de 611.061 mm anuales (GOB, 2012).

6.4 Calidad del agua

La calidad del agua en este acuífero rebasa las concentraciones de la NOM-127-SSA1-1994. En la zona de Ecatepec aledaño al Lago de Texcoco se rebasan los límites permitidos de cloruros, dureza total, residuo seco, bicarbonatos y amonio, este último es un principal indicador de la contaminación de las aguas, que permite inferir la existencia del contacto con las aguas del Lago de Texcoco debido a que se detectó la existencia de flujo hacia el acuífero. Hacia la parte de Netzahualcóyotl se rebasan los elementos de cloruros y amonio, en la zona de Iztapalapa se rebasan los límites de residuo seco, cloruros y bicarbonatos, esta zona presenta una sobreexplotación en los últimos años (Piñón, 1989).

6.5 Extracción del agua del acuífero Texcoco

Los municipios con mayor concentración humana en el Estado de México son los municipios de Chimalhuacán, La paz y Texcoco y son de donde se presentan las mayores extracciones de agua subterráneas (CONAGUA, 2002).

Tabla 1. Extracciones de agua subterránea del municipio de Texcoco.

Municipio	Tipo de Aprovechamiento	No. De Aprovechamientos	Extracción por usos(m ³ /año)					Extracción Total por Mpio. (m ³ /año)	Volumen Autorizado (m ³ /año)	Excedente (m ³ /año)
			Agrícola	Público Urbano	Pecuario	Industrial	Usos múltiples y servicios			
1. Texcoco	Pozos	293	26,825,703	36,327,464	707,697	864,677	1,463,498	66,189,034	59,193,465	-17,433,402
	Manantiales	18	7,264,948	3,100,934	0	0	66,951	10,432,833		
	Norias	1	0	0	0	0	5,000	5,000		
Subtotal		312	34,090,651	39,428,398	707,697	864,677	1,535,444	76,626,867		

Se extrae un total de 183.02 mm anuales de agua del acuífero Texcoco de los cuales el municipio de Texcoco mediante 312 aprovechamientos extrae 41.87% del volumen total. De la extracción total del agua, el 70.57% es para uso público urbano seguido del uso agrícola con 25.83%; es importante mencionar que los mayores volúmenes de agua extraídos por usos públicos urbano y agrícola los tiene el municipio de Texcoco con 39.45 mm anuales (CONAGUA, 2002).

Con base en la red de flujo elaborada para conocer las entradas por flujo horizontal en el acuífero Texcoco, se detectó la existencia de flujo hacia el acuífero Cuautitlán-Tizayuca Pachuca, el volumen de salida obtenido es de 1.223 mm anuales. Dicho volumen se considera como entrada para el acuífero Cuautitlán-Tizayuca-Pachuca (Rosales y Martín, 1988). El Lago de Texcoco que originalmente era colector y regulador natural de las aguas del Valle de México, en virtud de las obras realizadas en el pasado, requeridas por el crecimiento y hundimiento propios de la Ciudad de México, se ha convertido actualmente en foco de contaminación ambiental, causante de tolvaderas y amenaza de inundaciones (Llerena, 1987).

Para la realización de este estudio, en conjunto con la CONAGUA, se seleccionaron 6 pozos del acuífero de Texcoco, 3 pozos localizados dentro del Lago de Texcoco: Pozo 3, Pozo 4 y Pozo 7 (Figuras 6 - 8) y 3 pozos localizados en la carretera: Pozo 15, Pozo 17 y Pozo 20 (Figuras 9 - 11). Además se tomaron muestras de la entrada de la planta eliminadora de manganeso (Figura 12) a donde llega el agua de los pozos del acuífero (Figura 5, Tabla 2).

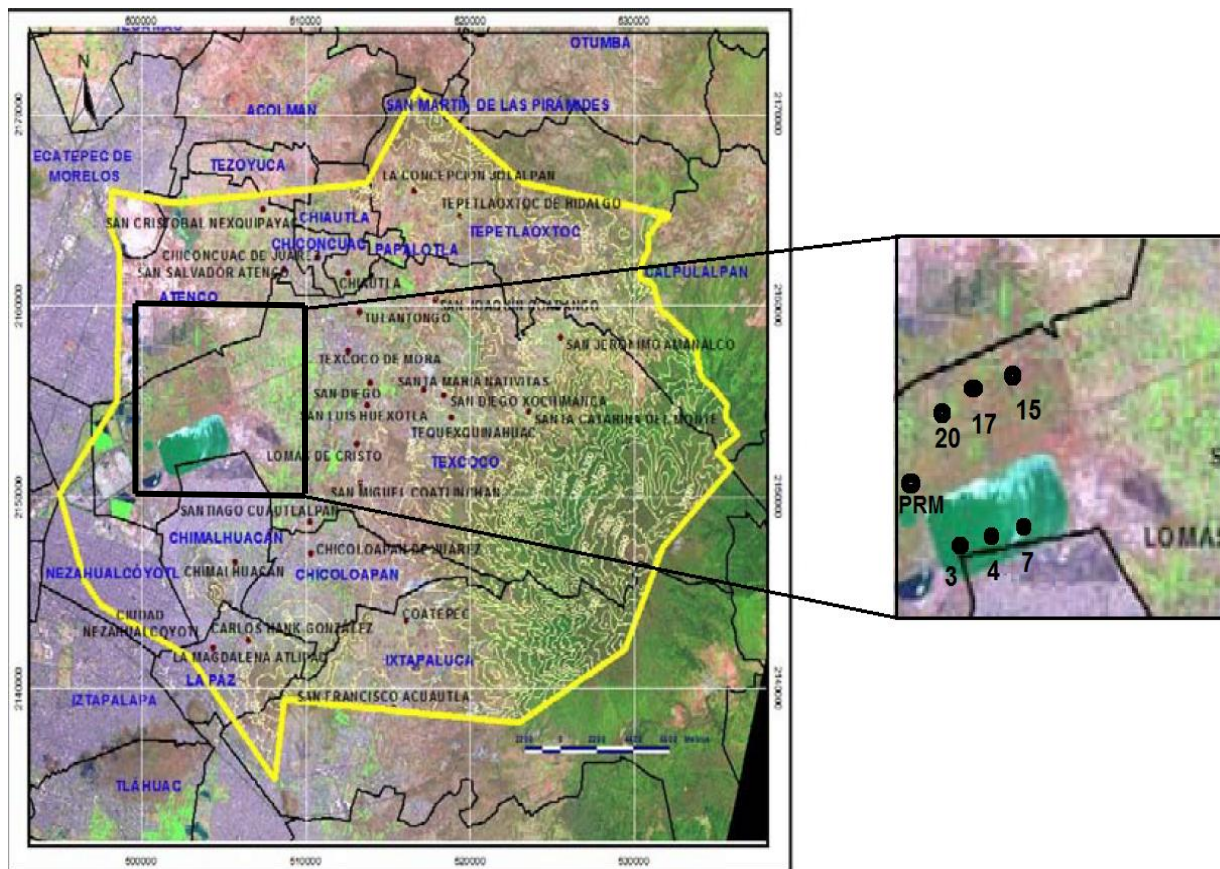


Figura 5. Acuífero de Texcoco y la localización de los pozos muestreados.

Tabla 2. Referencias de localización de los pozos muestreados.

POZO	Localización (Latitud Norte Longitud Oeste)	Altitud (msnm)	Descripción
3	N 19°28`09.2" O 98°57`43.7"	2242	Ubicado dentro del lago de Texcoco, con una profundidad de 250m.
4	N 19°28`23.3" O 98°57`35.1"	2245	Ubicado dentro del lago de Texcoco, presento una fuga en el mes de noviembre.
7	N 19°28`13.3" O 98°57`21.2"	2249	Ubicado dentro del lago de Texcoco, sin más observaciones.
15	N 19°29`25.3" O 98°56`48"	2243	Ubicado a la orilla de la carretera Peñón- Texcoco.
17	N 19°29`18.4" O 98°57`87.1"	2247	A la orilla de la carretera, reciente cambio de tuberías, en julio permaneció cerrado y se obtuvo agua del pozo 18.
20	N 19°29`08.2" O 98°57`35.8"	2245	Ubicado a la orilla de la carretera Peñón- Texcoco
Planta de Remoción de Manganeso	N 19°28`21.3" O 98°59`33.1"	2232	A la orilla de la carretera, el agua se obtuvo de la entrada donde se juntan todos los pozos para su tratamiento.

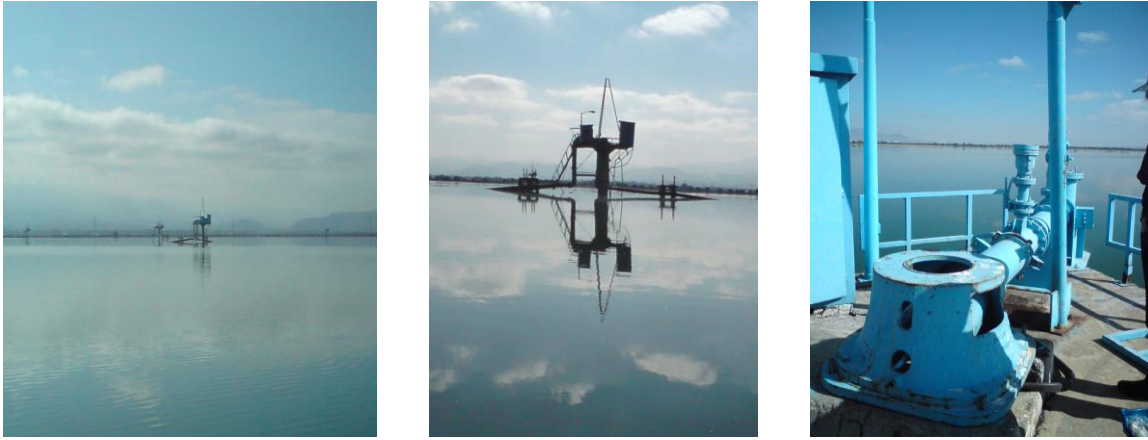


Figura 6. Fotografías del pozo 3, dentro del Lago de Texcoco.



Figura 7. Fotografías del pozo 4, dentro del Lago de Texcoco

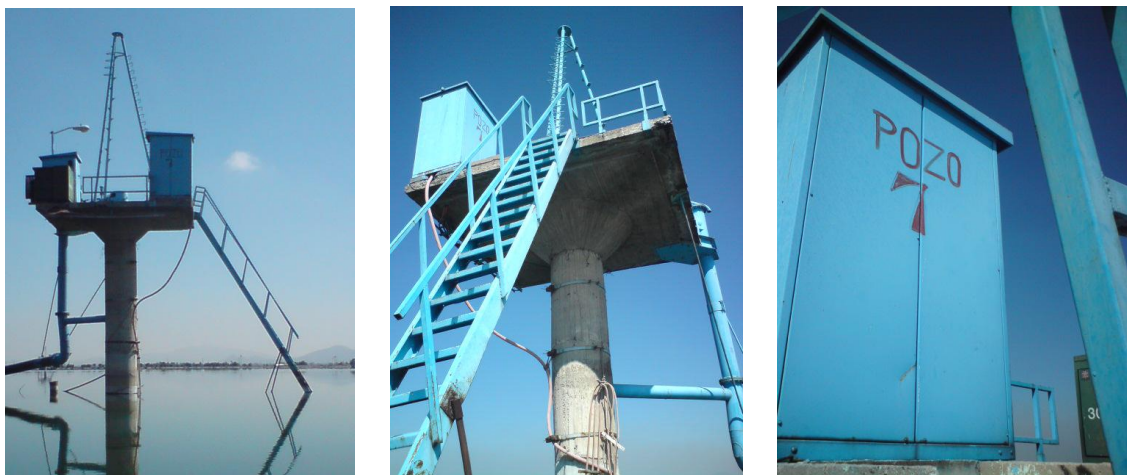


Figura 8. Fotografías del pozo 7, dentro del Lago de Texcoco.



Figura 9. Fotografías del pozo 15 El Ramal Peñón-Texcoco



Figura 10. Fotografías del pozo 17, El Ramal Peñón-Texcoco

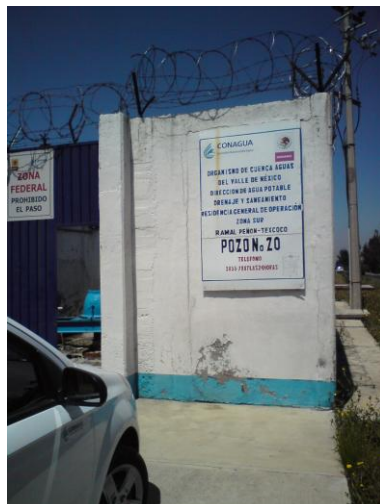


Figura 11. Fotografías del pozo 20, El Ramal Peñón-Texcoco



Figura 12. Fotografías de la Planta de Remoción de Manganeso, punto donde se junta el agua de los pozos para ser tratada.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1 Trabajo en campo

Se realizaron seis muestreos bimensuales en el agua subterránea del municipio de Texcoco, en 6 pozos del municipio. Los muestreos fueron en enero, marzo, mayo, julio, septiembre y noviembre del 2012.

Unos pozos se encuentran dentro del lago de Texcoco y los otros en la carretera cercana, también se tomaron muestras en la planta de remoción de manganeso, en donde se junta el agua de todos los pozos para su potabilización.

Los pozos que se muestrearon se encuentran en uso para consumo de agua potable, por lo que están entubados y las muestras se tomaron de la válvula que está antes de la cloración.

Para la determinación de amibas de vida libre, se recolectaron 1000 ml de agua en envases esterilizados y se transportaron a temperatura ambiente para evitar cambios en la estructura de la amibas al laboratorio de Microbiología Ambiental del Proyecto de Conservación y Mejoramiento del Ambiente de la UIICSE.

En el sitio se midieron los siguientes parámetros fisicoquímicos: pH (potenciómetro HANNA Instruments HI 8314), oxígeno disuelto y temperatura (Oxímetro YSI Mod 51-b).

7.2 Trabajo de laboratorio

Aislamiento y cultivo de AVL.

Las muestras de 1000 ml se filtraron a través de membranas Millipore de 1.2 μ de poro en condiciones estériles. Las membranas se colocaron hacia abajo en placas de medio agar no nutritivo con bacterias *Enterobacter aerogenes* (NNE) para el aislamiento de las amibas.

Las placas se incubaron a 30°C y se revisaron después de ocho días para detectar el crecimiento amibiano usando un microscopio invertido marca Zeiss.

Identificación morfológica

La identificación de las amibas se realizó tomando en cuenta las características morfológicas tanto de la forma trófica como quística, observando preparaciones al microscopio de contraste de fases marca Zeiss, a 400x y 1000x, siguiendo las claves taxonómicas de Page, 1988.

Prueba de tolerancia a la temperatura.

De las cajas que tuvieron presencia de amibas a una temperatura de 30°C, se les realizó la prueba de tolerancia a temperaturas mayores, para ello se realizó un resembrado de las cepas por duplicado, las cuales se incubaron a 37°C y a 42°C por 48 horas para observar el desarrollo de las amibas. La identificación de las amibas se realizó de la misma manera que a 30°C tomando en cuenta sus características morfológicas tróficas y quísticas.

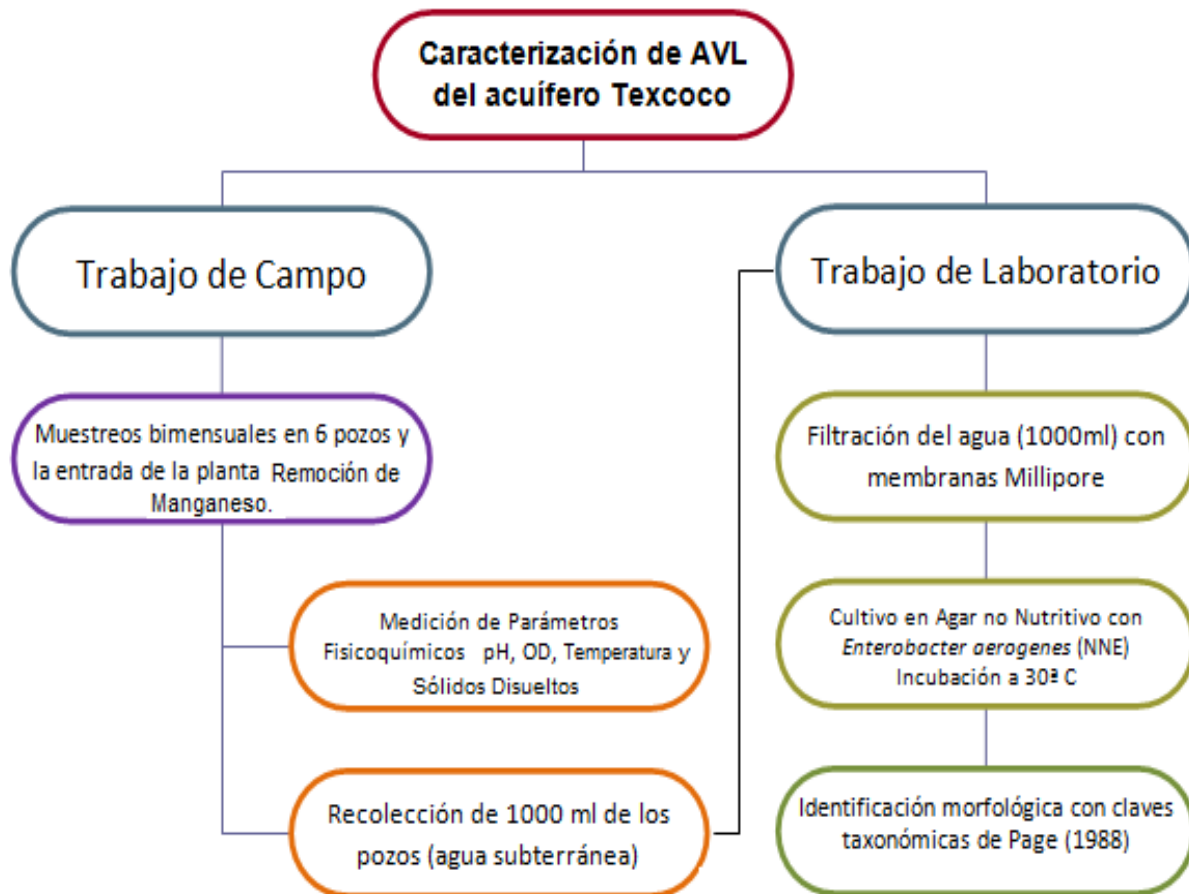


Figura 13. Diagrama de flujo de la metodología empleada para la caracterización de AVL.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Presencia y Ausencia de AVL

En la tabla 3 se puede observar la presencia y ausencia de amibas de vida libre en los 7 pozos de estudio, durante el año de muestreo en 2012.

Tabla 3. Presencia y ausencia de AVL en los 7 pozos de Texcoco, Edo. Méx.

Pozos	Enero	Marzo	Mayo	Julio	Sept.	Nov.
Pozo 3	+	-	+	-	+	-
Pozo 4	+	+	+	+	+	-
Pozo 7	+	+	+	+	+	+
Pozo 15	nm	+	-	+	+	-
Pozo 17	nm	-	-	-	-	-
Pozo 20	nm	+	-	-	+	-
Planta de Remoción de Manganeso	+	+	-	-	-	-

(+ : presencia, - : ausencia, nm: no muestreado).

De las 39 muestras analizadas, 21 (53.8%) fueron positivas para la presencia de las amibas con un total de 40 aislamientos. Se puede observar en la tabla 3, que los pozos 4 y 7 fueron los que presentaron la mayor presencia de AVL; la presencia amibiana en estos pozos posiblemente se deba a que se encuentran dentro del lago de Texcoco y están propensos a contaminarse debido a las condiciones de la tubería de los pozos ya sea por fisuras o desgaste teniendo así filtraciones de agua del lago.

En contraste con el pozo 17, donde no se detectaron amibas en ninguno de los meses muestreados, probablemente se debió a que la tubería de este pozo se cambio recientemente y se encuentra en buenas condiciones.

8.2 Riqueza Específica

Se identificaron 4 especies en los pozos del municipio de Texcoco en el periodo estudiado, de estas *Hartmannella vermiformis* estuvo distribuida en la mayoría de los pozos (Tabla 5). Comparado con los estudios realizados en los acuíferos de Morelos y el del Valle del Mezquital, el número de especies encontrado fue bajo (Mares, 2001; Campos, 2007; Limón, 2007; Beltrán, 2008). Esta selección amibiana seguramente se debió a la alta salinidad que presenta el agua (Piñón, 1989).

La especie *Hartmannella vermiformis* fue la que presentó mayor termotolerancia ya que además de crecer a 30°C que fue la temperatura original de incubación, siempre creció a 37°C y casi siempre a 42°C. De las acantamebas aisladas *A. polyphaga* creció muy poco a 37°C, contrario a *A. castellanii* que creció a las 3 temperaturas de prueba, esto hay que tomarlo con reserva, porque se sabe que todas las amibas que han sido patógenas son termófilas, pero no todas las termófilas son patógenas.

Tabla 4. Riqueza específica de amibas encontradas en los pozos del municipio de Texcoco Edo. Méx. (De acuerdo con Adl *et al.*, 2005)

Súper Grupo	1° Clase	Género	Especie
<i>Amoebozoa</i>	<i>Acanthamoebidae</i>	<i>Acanthamoeba</i>	<i>polyphaga</i> <i>castellanii</i>
<i>Amoebozoa</i>	<i>Tubulinea</i>	<i>Hartmannella</i>	<i>vermiformis</i> <i>cantabrigiensis</i>

El género *Acanthamoeba* se ha reportado como el protozoo mas distribuido en la naturaleza, probablemente por la gran resistencia de su quiste compuesto de celulosa. Todas las especies de *Acanthamoeba* pueden cultivarse en agar no nutritivo con bacteria, todas crecen a 30 °C, pero algunos se multiplican y se enquistan más rápidamente a temperaturas más altas. Aunque el quiste de *Acanthamoeba* identifica inmediatamente el género, la diferenciación de las especies es difícil (Page, 1988).

El ciclo de vida de las diferentes especies del género presenta una forma vegetativa o trofozoíto y una forma quística o quiste. Los trofozoítos de *Acanthamoeba* son irregulares y presentan múltiples proyecciones pseudopodiales, filamentosas o espinosas llamadas acantopodios, tienen una vacuola contráctil y polaridad antero-posterior. El tamaño de los trofozoítos varía de acuerdo a cada especie, con promedios de 20 a 50 μ ; así los diámetro mayores son: 21 a 45 μ para *A. castellanii* y 14 a 41 μ para *A. polyphaga*. El citoplasma es abundante y tiene un aspecto granular y vacuolar; además tienen un núcleo claro, central y esférico con un prominente y denso nucléolo redondeado. El citoplasma es granular, con numerosas vacuolas alimentarias, distribuidas alrededor del núcleo, una de estas vacuolas alimentarias, es contráctil. El núcleo tiene un nucléolo redondeado. Los quistes son esféricos, con doble pared, la externa lisa y la interna poligonal, estrellada o esférica, presentan poros y miden de 10 a 25 μ (John, 1993; Oddó, 2006).

Las amibas del género *Hartmannella* están ampliamente distribuidas en la naturaleza, se han aislado de suelo, agua dulce y aire; en la detección de este protozoo se utiliza el medio de agar no nutritivo con bacteria. Se ha reportado que puede crecer a temperaturas de laboratorio superiores a 40°C, lo que es de llamar la atención, por lo que sería importante estudiar con mayor detalle la biología de este género (Ramírez *et al.*, 2005; Ramírez *et al.*, 2009; Ramírez *et al.*, 2010).

En su ciclo de vida presenta dos formas, el trofozoíto y el quiste. El trofozoíto mide de 12 a 37 μ de largo, tiene forma limax, pero debe distinguirse de las amibas limax de la clase Heterolobosea como *Naegleria*, ya que es muy delgado y su movimiento no es eruptivo; tiene un núcleo granular y una distintiva forma flotante con pseudópodos granulares. A veces durante la locomoción, se notan ligeras protuberancias que se forman a un lado o al otro en el extremo anterior. Los quistes son lisos, esféricos u ovoides, muy refringentes y miden de diámetro de 7 a 13 μ con una capa interna delgada y una capa externa. La diferencia importante entre las dos especies aisladas es la relación largo-ancho del trofozoíto. En el caso de *H. cantabrigiensis* la relación es de 4.5 a 6.5 y en el caso de *H. vermiformis* por lo general es de 6 a 8.4 (Page, 1988).

La mayor riqueza se presentó en los pozos 3, 4 y 7, donde se encontraron las 4 especies aisladas, a diferencia de los pozos 15, 20 y la planta tratadora de manganeso, que fueron las de menor riqueza con 3 especies (Tabla 5); la razón en la diferencia en el número de especies podría deberse a que los pozos dentro del lago están más expuestos a sufrir desgaste en la tubería ocasionando fracturas o fisuras por donde el agua del lago se puede combinar con el agua subterránea.

Tabla 5. Riqueza específica de AVL encontrada en cada uno de los pozos a lo largo del período de muestreo.

Pozos	Enero	Marzo	Mayo	Julio	Sept.	Nov.
Pozo 3	<i>Hartmannella vermiformis</i>	Ausencia	<i>A. castellanii</i> <i>H. vermiformis</i> <i>A. polyphaga</i>	Ausencia	<i>H. cantabrigiensis</i> <i>A. castellanii</i> <i>H. vermiformis</i>	Ausencia
Pozo 4	<i>Hartmannella vermiformis</i>	<i>A. castellanii</i> <i>H. vermiformis</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>A. castellanii</i>	<i>A. polyphaga</i> <i>H. cantabrigiensis</i> <i>H. vermiformis</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>A. polyphaga</i>	Ausencia
Pozo 7	<i>Acanthamoeba castellanii</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>A. polyphaga</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>H. cantabrigiensis</i> <i>A. polyphaga</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>A. polyphaga</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>A. castellanii</i>	<i>Hartmannella vermiformis</i>
Pozo 15	nm	<i>Hartmannella vermiformis</i>	Ausencia	<i>Acanthamoeba castellanii</i>	<i>A. castellanii</i> <i>H. vermiformis</i> <i>H. cantabrigiensis</i>	Ausencia
Pozo 17	nm	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Pozo 20	nm	<i>A. polyphaga</i> <i>H. vermiformis</i> <i>H. cantabrigiensis</i>	Ausencia	Ausencia	<i>H. vermiformis</i> <i>A. polyphaga</i>	Ausencia
Planta de Remoción Manganeso	<i>Hartmannella vermiformis</i>	<i>A. polyphaga</i> <i>A. castellanii</i> <i>H. vermiformis</i>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

8.3 Frecuencia de AVL

En la figura 14 se muestra la frecuencia de aparición de las amibas encontradas en los pozos, en donde se observa que el género *Hartmannella* presentó la mayor frecuencia con un 60%, siendo la especie *H. vermiformis* la que tuvo mayor predominancia entre las especies determinadas con 30% y la especie menos frecuente fue *Hartmannella cantabrigiensis*, esto coincide con lo reportado por Campos (2007), Limón (2007) y Beltrán (2008) en acuíferos del estado de Morelos. La frecuencia de aparición del género *Acanthamoeba* fue menor con 40%.

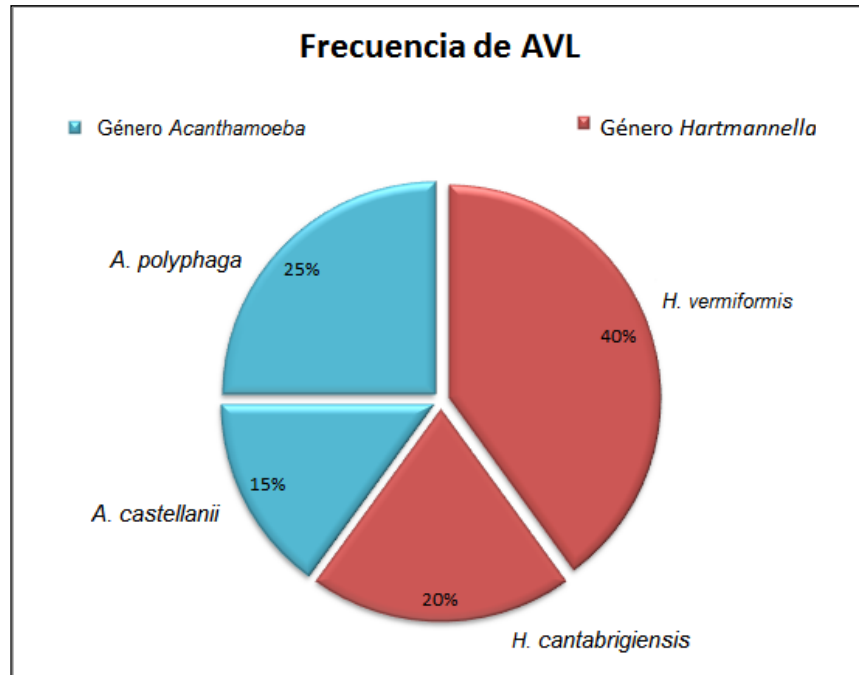


Figura 14. Frecuencia de AVL en géneros y especies.

De las acantamebas encontradas *A. castellanii* ha sido reportada como patógena en infecciones humanas del Sistema Nervioso Central, ojos, músculo, seno nasal y piel; mientras que *A. polyphaga* ha sido detectada solamente como causante de infecciones oculares (John, 1993).

Las especies del género *Hartmannella* no han sido reportadas como patógenas, pero, *H. vermiformis* se encontró asociada a un caso de encefalitis, aunque no se pudo comprobar su participación como causante de la enfermedad (Centeno *et al.*, 1996); de igual modo ha sido asociada a casos clínicos humanos en la superficie ocular por el uso inadecuado y falta de higiene en portadores de lentes de contacto (Dorothy *et al.*, 1996).

8.4 Distribución Temporal

Con un total de 40 aislamientos se observó que el número más alto de estos se presentó en el mes de Septiembre (12), seguido por Marzo (11) y el número más bajo en Noviembre con 1 aislamiento. Asimismo, se observó una distribución temporal variable de las amibas, mostrando incrementos y decrementos a lo largo del periodo de muestreo y no se observaron similitudes temporales entre los pozos. En este sentido, hay que recordar que la temperatura del agua subterránea no está influenciada por la temperatura ambiente (Ramírez *et al.*, 2010).

En general el número de aislamientos totales fue similar a lo reportado para la zona suroeste del acuífero de Zacatepec (3 a 13 aislamientos) (Vicente, 2009), pero fue bajo con lo reportado en el acuífero de Cuautla con (7-23 aislamientos) (Gómez, 2009), ambos localizados en el estado de Morelos.

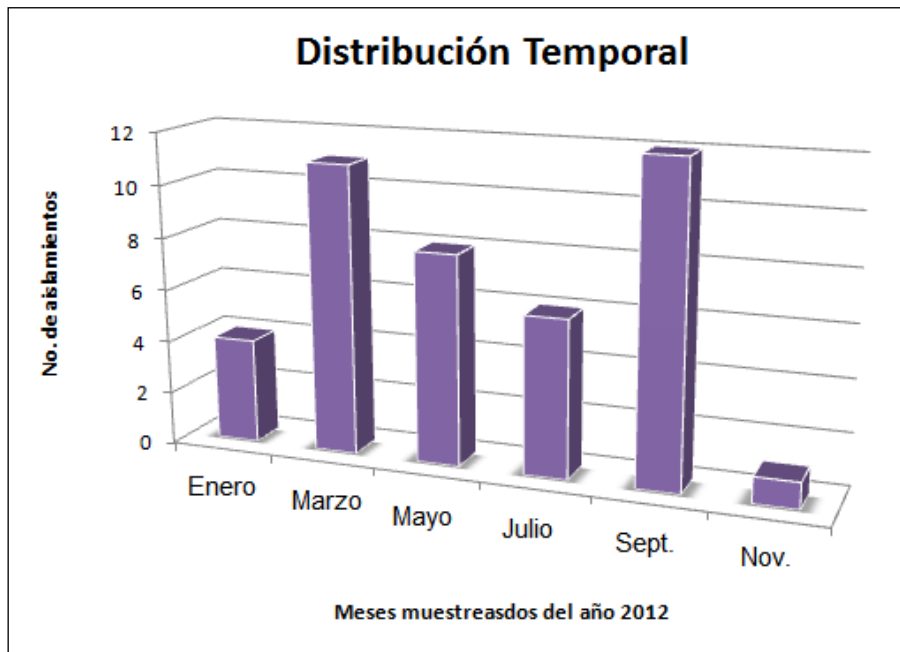


Figura 15. Distribución temporal de AVL de los 7 pozos muestreados.

8.5 Distribución Espacial

El pozo 7 registró el mayor número de aislamientos con un total de 11, posiblemente esto se debió a que el pozo se encuentra dentro del lago de Texcoco y está propenso a contaminarse debido a las condiciones de la tubería del pozo ya sea por fisuras o desgaste teniendo así filtraciones de agua del lago. Además el valor promedio de la concentración de sólidos disueltos en este pozo fue el menor obtenido de todos los pozos, infiriendo que la cantidad de sales también es menor en este pozo; asimismo se encontraron uno de los valores promedios más altos de oxígeno disuelto.

Las muestras de agua de la planta de remoción de manganeso, obtuvieron el menor número de aislamientos, se detectaron 4 durante todo el periodo de muestreo, esto tal vez se debió a que pusieron nuevas tuberías en la planta. En el pozo 17 no se obtuvieron aislamientos ambientales a pesar de que el valor promedio de sólidos disueltos era bajo, pero al igual que la planta de remoción hubo un cambio de tuberías durante el mes de febrero del 2012.

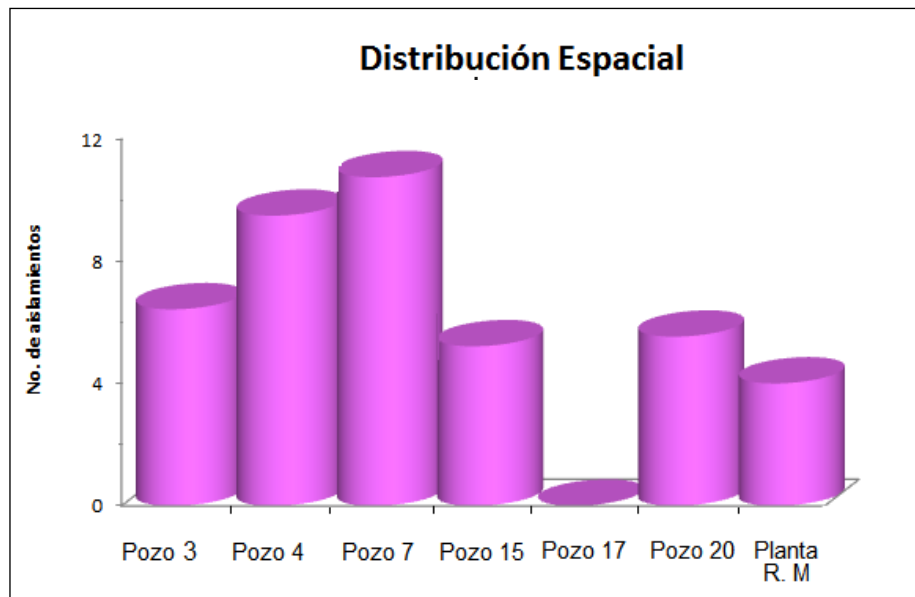


Figura 16. Distribución Espacial de AVL

8.6 Parámetros Físico-químicos.

- pH

El pH se mantuvo prácticamente en la neutralidad y muy constante durante todo el periodo de estudio, teniendo 7 como mínimo, 8.1 como máximo y con un valor promedio de 7.45. Estos valores se encuentran dentro de los límites que permiten el crecimiento de las AVL, de acuerdo a lo reportado por Matuz (2001) quién señala que las amibas toleran amplios intervalos de pH que pueden ir desde valores de 4 hasta 8.6.

Los niveles de pH estuvieron muy homogéneos en todos los meses, pero en Enero y Marzo en el pozo 7 registró una leve variación en comparación de los demás meses.

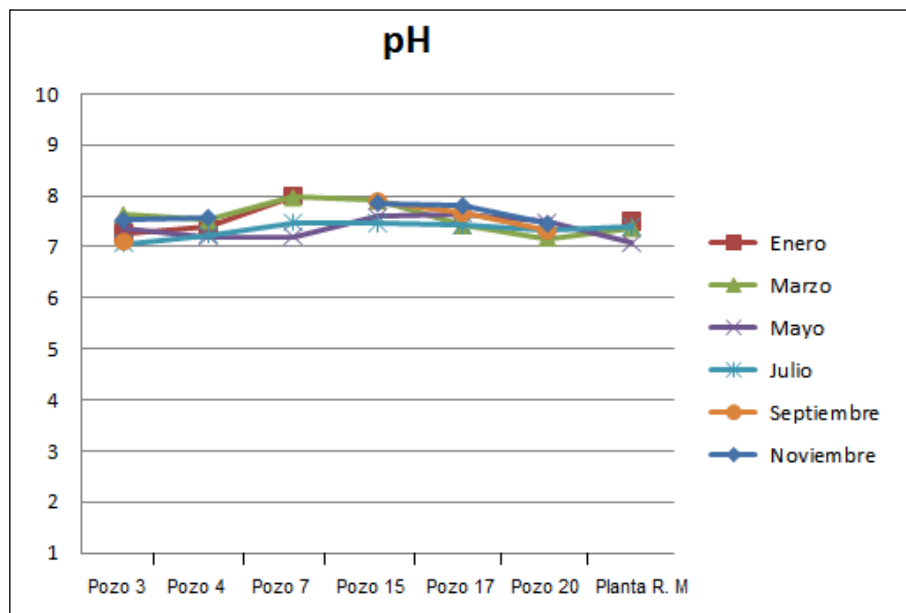


Figura 17. Comportamiento de pH durante el período de muestreo.

En general, se observó que el valor promedio de pH fue similar en todos los pozos muestreados, el rango promedio osciló entre 7.3 y 7.6, muy cercano a la neutralidad (Figura 18).

Esto nos sugiere que el agua subterránea en este acuífero es homogénea y aunque se apreció que el pozo 7 tiene una ligera variación durante Enero y Marzo (Figura 17) dando los valores individuales más altos de pH (8), el cambio es poco notable.

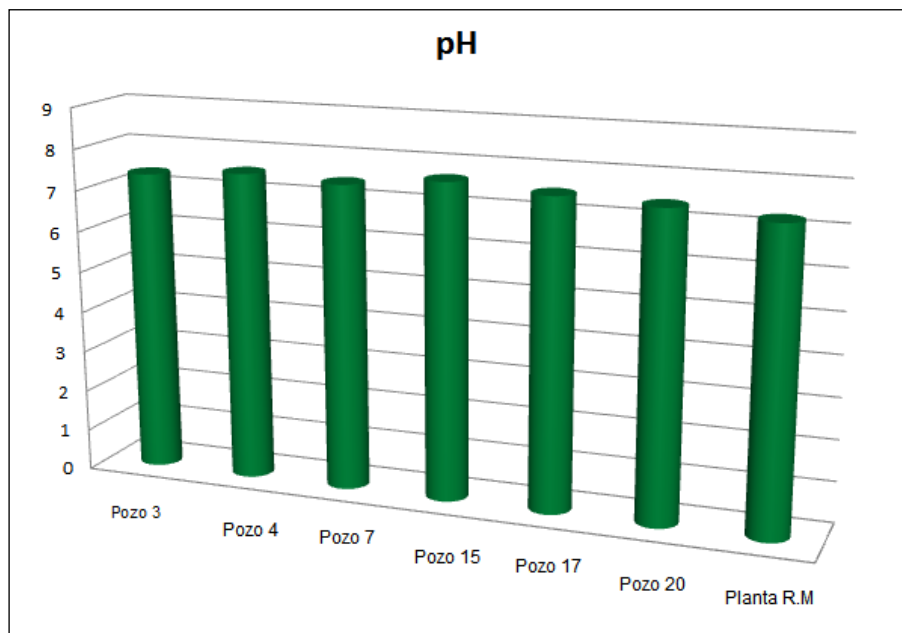


Figura 18. Valores promedios de pH de los pozos.

- Oxígeno Disuelto (OD)

En general los 7 pozos mostraron un comportamiento de oxígeno disuelto variable durante el período de muestreo, con una concentración mínima de 1.2 mg/L en la muestra de la planta de remoción de manganeso en el mes de Enero y una máxima de 5.3 mg/L en el pozo 3 en el mes de Mayo (Figura 19).

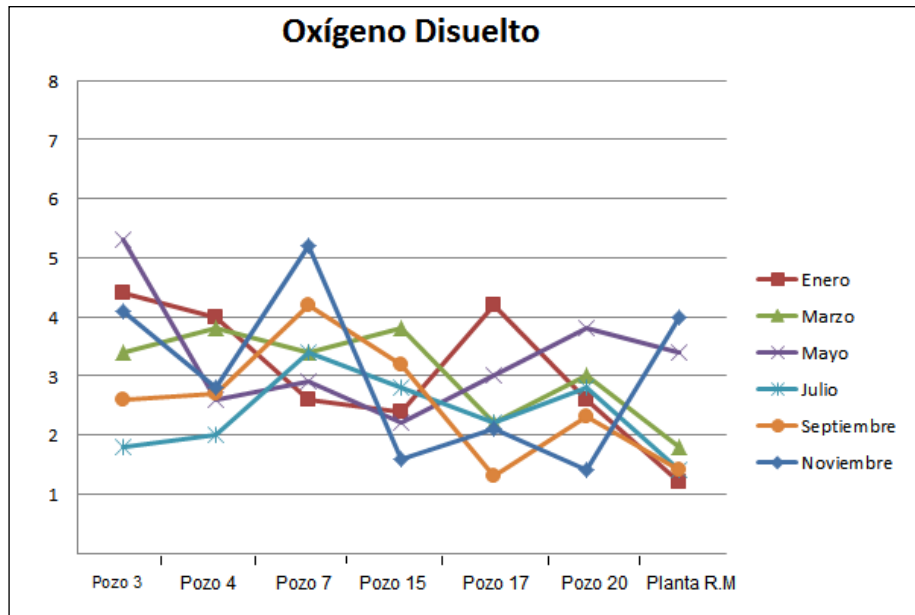


Figura 19. Comportamiento de O.D. durante el período de muestreo.

En cuanto a los valores promedios de OD, se pudo observar que los valores más altos (4.4 mg/L) se obtuvieron en los pozos 3 y 7 y el valor más bajo (2 mg/L) se presento en la entrada de la planta eliminadora de manganeso (Figura 20). Estos valores están en el intervalo señalado como adecuado para la presencia de las AVL tanto patógenas como no patógenas (Bonilla y Ramírez, 2008).

En algunos pozos se registraron valores de oxígeno disuelto por debajo de los mencionados anteriormente, que posiblemente pudiesen atribuirse a que la zona se caracteriza por presentar altas concentraciones de sodio y se ha reportado que conforme la salinidad se incrementa los niveles de OD disminuyen (Cruickshank, 1995).

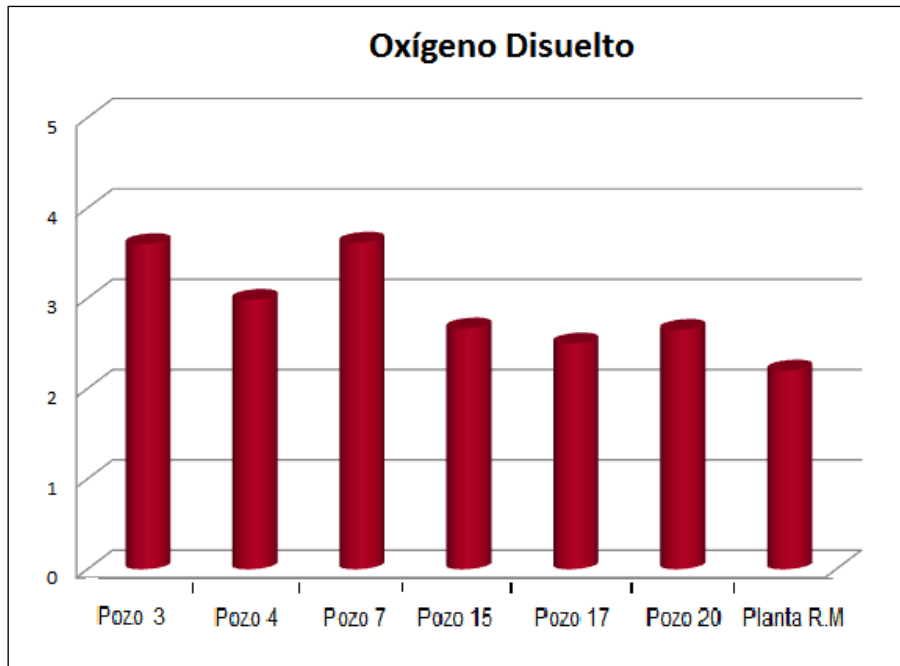


Figura 20. Valores promedios de O.D. de cada pozo.

- Temperatura

En general los 7 pozos siguieron un comportamiento de temperatura variable durante todo el periodo de estudio, que osciló entre los 22°C y los 31°C, con un promedio de 25.7°C; solamente en dos meses (enero y septiembre) la temperatura llegó a la máxima de 31°C (Figura 21). Este intervalo de temperatura es adecuado para el crecimiento de las AVL (Bonilla *et al.*, 2004).

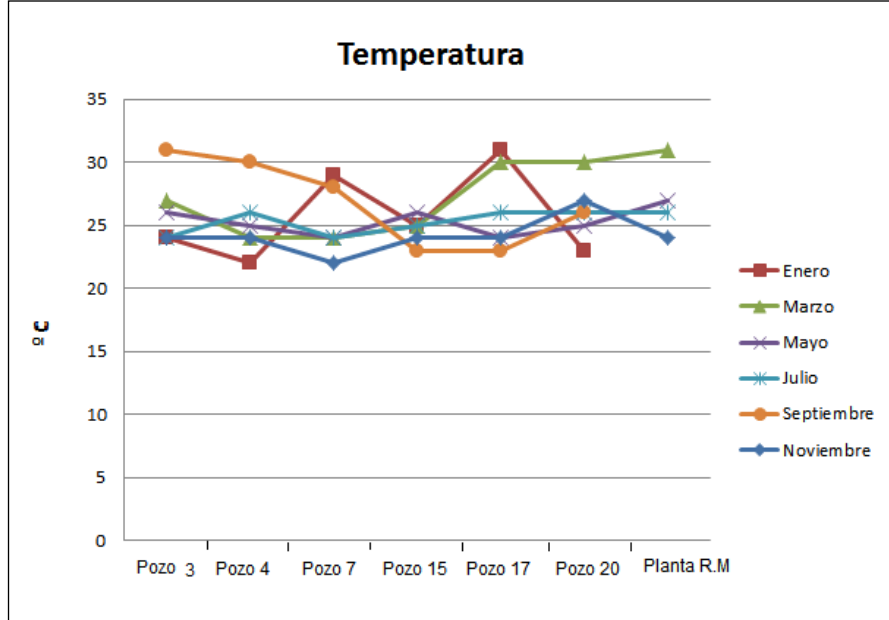


Figura 21. Comportamiento de la Temperatura durante el año de muestreo.

El sitio con mayor temperatura promedio fue la entrada de la planta de remoción de manganeso con 27°C, aunque todos los pozos se mantuvieron muy similares en las temperaturas promedio y el pozo 15 presentó la menor temperatura promedio con 24.6°C (Figura 22). El número de aislamientos no se vio influenciado por la temperatura ya que estos valores se mantuvieron en el intervalo óptimo para el crecimiento amibiano.

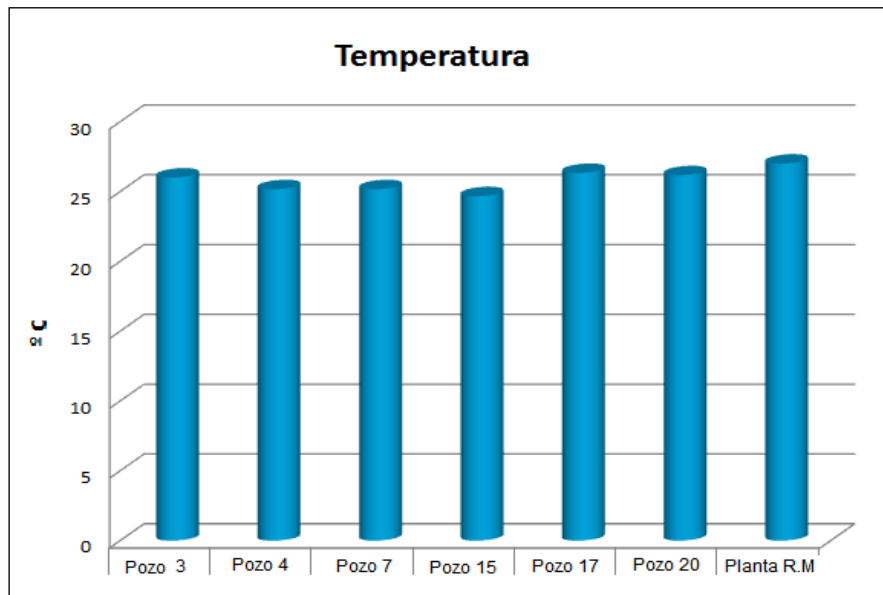


Figura 22. Valores promedios de temperatura de cada pozo.

- Sólidos Disueltos.

Se observó el mismo comportamiento de los sólidos disueltos en todos los meses muestreados, a excepción de marzo en el pozo 3 que mostro un valor menor que los demás meses (Figura 23). Lo anterior indica que la concentración de sólidos disueltos en el agua de los pozos es muy estable en el tiempo.

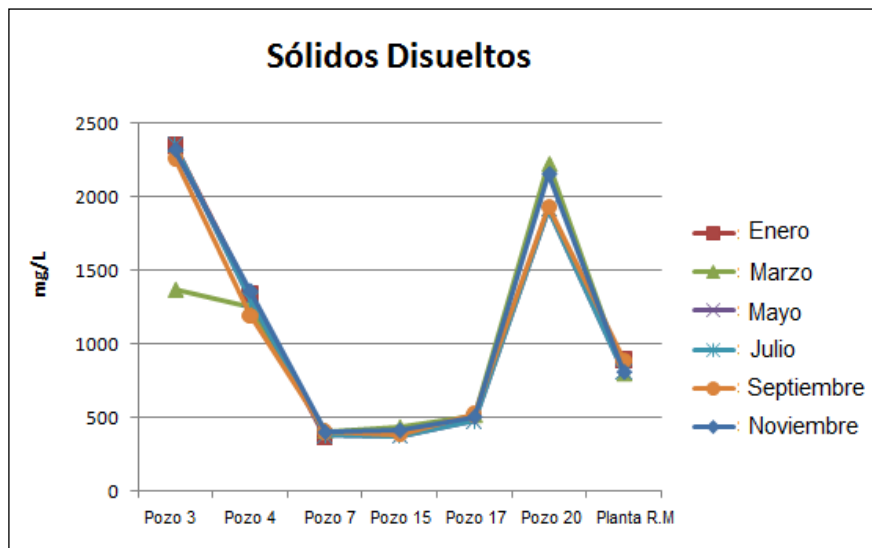


Figura 23. Comportamiento de los Sólidos Disueltos durante el año de muestreo.

Los sólidos disueltos estuvieron en valores muy elevados en los pozos 3 y 20. Esto se debe a que el suelo de esta zona se caracteriza por ser muy salino (Garduño, 2004). Particularmente se sabe que el pozo 3 se encuentra a una profundidad de 250 metros y la CONAGUA reporta que en esa zona, a estratos superiores a 200 metros presenta alto contenido salino (Barrera, 2000). Lo que repercutió en la calidad del agua de estos pozos y que fue lo que condicionó la presencia de las AVL, presentándose una riqueza específica muy baja, con sólo 4 especies aisladas.

Los valores más bajos se presentaron en el pozo 7 y 15 y aunque se desconoce la profundidad exacta de los pozos, se sabe que están aproximadamente a 150 m de profundidad, esto probablemente fue lo que determinó que la concentración de sales fue menor que en los otros pozos (Barrera, 2000).

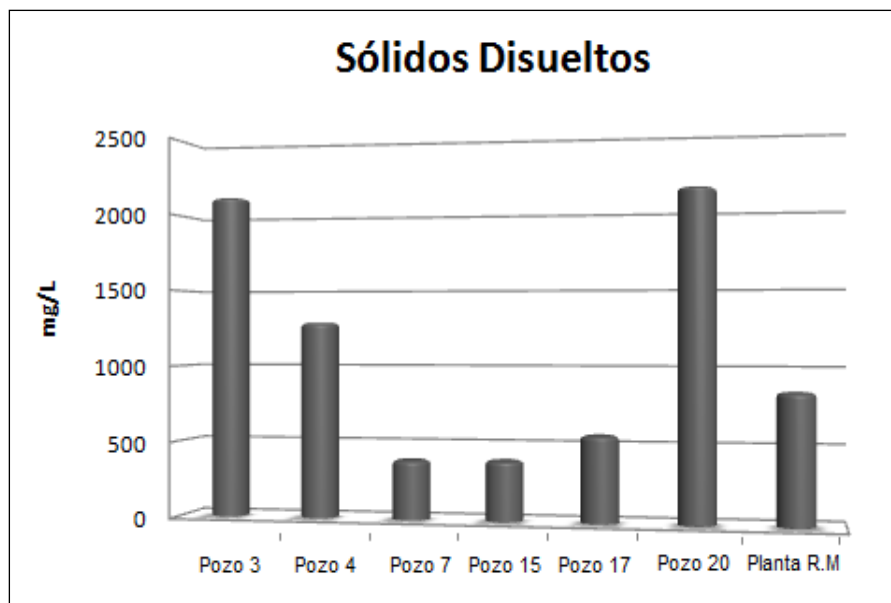


Figura 24. Valores promedios de Sólidos Disueltos de cada pozo.

9. CONCLUSIONES

En general no se observó una distribución espacial de las amibas en los pozos estudiados, solamente en el caso de los pozos dentro del lago se apreció un ligero incremento de aislamientos del pozo 3 al 7, donde el pozo 7 presentó el mayor número de aislamientos (11); debido a que el valor promedio de sólidos disueltos fue el más bajo obtenido con menos de 500 mg/l.

En cuanto a la distribución temporal de las AVL, los meses de Marzo (11) y Septiembre (12) fueron los que presentaron el número de aislamientos más altos y el mes de Noviembre (1) el más bajo.

Las Amibas de Vida Libre se presentaron en el 53% de las muestras analizadas, siendo baja la riqueza específica, aislándose solamente 4 especies de amibas.

El género amibiano más frecuente fue *Hartmannella*, predominando *H. vermiformis*, la cual no se ha comprobado que sea patógena.

Las amibas con potencial patógeno del género *Acanthamoeba* se encontraron con una baja incidencia. Sin embargo no se debe descuidar la cloración del agua para evitar riesgo a la salud de los usuarios.

Los parámetros fisicoquímicos (pH, Oxígeno disuelto, Temperatura) estuvieron dentro de los intervalos señalados para la presencia de las amibas, a diferencia de los sólidos disueltos que presentaron altas concentraciones en 4 de los 7 pozos estudiados.

10. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS

- Adl SM, Simpson AGB, Farmer MA *et al.* 2005. The new higherlevel classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. *J Eukaryot Microbiol* 52: 399–451.
- Arriaga, S. V. 2001. “El subsuelo del ex-lago de Texcoco”. Tesis. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ingeniería. Distrito Federal, México.
- Barrera, F. 2000. Distribución espacio-temporal de la salinización y sodificación del suelo en la zona federal del ex-lago de Texcoco, edo. de México. Tesis. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ciencias. Distrito Federal, México.
- Beltrán, A. 2008. Determinación de las amibas de vida libre en pozos del acuífero de Cuernavaca, Morelos. Tesis de Licenciatura en Biología. FES-Iztacala. UNAM. México.
- Bonilla P., Ramírez, E., Ortiz, R., Eslava C. 2004. La ecología de las amibas de vida libre en ambientes acuáticos. En: *Microbiología Ambiental*. Irma Rosas, Alejandro Cravioto, Exequiel Ezcurra. Instituto Nacional de Ecología. UNAM. México. 67-78 pp.
- Bonilla P. y Ramírez E. 2008. Amebas de vida libre asociadas a patologías en seres humanos. En: *Parasitología Médica* (M.A. Becerril, Ed.). McGraw-Hill Interamericana, México, pp. 22-30
- Caballero, D. 2006. La Calidad del Agua Subterránea en la Subcuenca del río Guanajuato. Tesis de Licenciatura (Ingeniero Civil). Facultad de Ingeniería.
- Campos, L. U. 2007. Distribución temporal de las amibas de vida libre en dos manantiales del acuífero del Valle de Cuernavaca Morelos. Tesis de Licenciatura en Biología. FES-Iztacala. UNAM. México

- CIECCA, Centro de Investigación y Entrenamiento para el Control de la Calidad del Agua en México. 1985. Manual de microbiología del agua, SARH.
- Comisión Nacional del Agua. 1994. Manual para evaluar recursos hidráulicos subterráneos. México.
- Comisión Nacional del Agua. 2008. Estadísticas del agua en México
- Comisión Nacional del Agua. 2002. Determinación de la disponibilidad de agua en el acuífero de Texcoco, Estado de México.
- Comisión Nacional del Agua. 2012. <http://www.cna.gob.mx/>
- Craun, G. F. 1984. Health aspect of groundwater pollution. En: G. Bitton y Ch. B. Gerba. (eds.). John Wiley & Sons. New York.
- Cruickshank, G.G 1995. Proyecto Lago de Texcoco, Rescate Hidroecológico, CNA. México
- Dorothy, A. J. 1996. Keratitis in a wearer of Disposable contact lenses due to a mixed *Valkampfia* and *Hartmanella* infection. Ophthalmology. P 485-494
- Durán, D. A., Cisneros, C.A y Vargas, V.A. 2005. Bioestadística. FES Iztacala. UNAM, México 56 pp.
- Escobar, B. 2010. Análisis de la sobre-explotación del Acuífero de Texcoco. Tesis de Posgrado de Hidrociencias. Montesillo, Texcoco.
- Gaduño, M. A. 2004. Proyecto: siembra aérea de *Kachia scuparia* en la zona federal del ex lago de Texcoco. Reporte Técnico, CNA, COP. 87 pp.
- Galarza, C., Gutiérrez, E., Uribe, M., Ramos, W., Ortega, E., Avila, J., Hanco, J., Espinoza, Gámez, D., 2006. Amebas de vida libre en lesiones cutáneas reporte de 4 caos. Dermatol Perú.
- Gelman, B.B, Popov, V., Chaljub, G., Nader, R., Rauf, S.J, Nauta, H.W., Visvesvara, G.S., 2003 Neuropathological and ultrastructural features of amebic ancephalitis caused by *Sappinia diploidea*. J Neuropathol.

- Gerba, P. y Bitton, G. 1984. Microbial pollutants their survival and transport pattern to groundwater enviromental science and technology. En: G. Bitton y Ch. B. Gerba. (eds). John Wiley & Sons. New York
- Gobierno de la República Mexicana. 2012. http://www.texcoco.gob.mx/ciudad_estadisticas
- Gómez, Z.C. 2009. Caracterización de Amiva de vida Libre presentes en agua subterránea del Acuífero de Cuautla, Morelos. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM, México. 48p.
- Gordon, M. F., Geyer, J. C. y Okun D. A., 1997. Abastecimiento de agua y remoción de aguas residuales. Volumen III. Ed. Limusa. México D.F
- Guerrero, M. 1999 El agua en la ciencia para todos, N°102. Fondo de cultura Económica. México.
- Iturbe, A. R. y Silva, M. A. E. 1992. Agua subterránea y Contaminación. Series del Instituto de Ingeniería. No. 539. Instituto de Ingeniería UNAM. México.
- Instituto Mexicano del Seguro Social. 2012. <http://www.imss.gob.mx/nr/imss/dpm/dties/normatividad/vigilanciaepi/Man12-Meningitis>
- Jiménez, C.B 2001. Contaminación ambiental en México, Limusa, México.
- John, D.T. 1993. Opportunistic Pathogenic free-living amoebae: in Parasitic Protozoa, Kreier J.P and Baker J.R. Vol III. 2° ed. Academic Press. Inc. San Diego. Pp 139-246
- Landeros, J. 1970. "Prueba piloto de extracción de agua subterránea en el lago de Texcoco". Tesis licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ingeniería. Distrito Federal, México.
- Leclerc, H. y Moreau A., 2002. Microbiological safety of natural mineral water FEMS microbiology Reviews 26.

- Limón, T. J. L., 2007. Caracterización de Amibas de Vida Libre presentes en agua subterránea del Acuífero de Zacatepec, Morelos. Tesis de Licenciatura en Biología. FES-Iztacala. UNAM. México
- Llamas, M., R.; Hernández-Mora, N.; Martínez, C. L. 2000. Uso intensivo de las aguas subterráneas. Fundación Marcelino Botín. Madrid España.
- Llerena V., F. A. y Becerra M., A. 1987. "Uso de aguas semisalinizadas en el ex-lago de Texcoco y su potencial de aprovechamiento". III Congreso Nacional de Irrigación, Los Mochis, Sinaloa
- Llopis, Ll., N. 1970. Fundamentos de hidrogeología característica, Blume, Madrid, España.
- Matuz, M., 2001. Amibas de vida libre aisladas de Aguas subterráneas del Valle del Mezquital, Hidalgo, México. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM, México. 53 p.
- Naveed, A. K., 2006. Acanthamoeba: biology and increasing importance in human health. FEMS Microbiology Review.
- Norma Oficial Mexicana. NOM-127-SSA1-1994
- Novarino, G., Warren, A., Butler, H., Lambourne, G., Boxshall, A., Bateman J., Kinner, N. E., Harvey, R. W., Mosse, R. A., Teltsch, B., 1997. Protistan communities in aquifers: a review, FEMS Microbiology Reviews
- Oddó B, D., Ciani A. S., Vial C. P. 2006. Encefalitis amebiana granulomatosa por *Balamuthia mandrillaris*: Primer caso diagnosticado en Chile. Revista Chilena de Infectología.
- Page, F. C., 1988. A new key to freshwater and soil gymnamoebae with instructions for culture. Culture Collection of Algae and Protozoa. Cumbria.
- Piñón, M. N. 1989. Módulo experimental de recarga de acuíferos. Proyecto técnico. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, Comisión Lago Texcoco, Comisión Nacional del Agua. Distrito Federal, México.
- Price, M., 2007. Agua Subterránea. Limusa. México.

- Ramírez, E. y Bonilla, P. 1995. Epidemiología de las amibas en México. Rev. Información Científica y Tecnológica. 17. 15-17 pp.
- Ramírez, E., Campoy, E., Matuz, D., Robles, E., Bonilla, P., Warren, A. y Ortiz, R. 2001. Free- Living amoebae in organically-contaminated aquifer in México. En: S. Billot- Bonef, P.A. Cabanes, F. Marciano- Cabral, P. Pernin y E. Pringuez (eds.). IX International Meeting on the Biology and Pathogenicity of Free-living Amoebae Proceedings. John Libbey. Eurotext.
- Ramírez, E., E. Robles, M. E. González y M. E. Martínez. 2010. Microbiological and Physicochemical Quality of Well Water Used as a Source of Public Supply. *Air, soil and water research*. 3:105-112.
- Rosales C., y Martín F. 1988. "Tratamiento avanzado del agua para recargar el acuífero en la zona del ex-lago de Texcoco". Tesis licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química. Distrito Federal México.
- Visvesvara, G. S., Martinez, A. J., Schuster F.L., Leitch, G., Wallace, S., Sawyer, T., Anderson, M., 1990. Leptomyxid ameba, new agent of amebic meningoencephalitis in human and animals. *J Clin Microbiology*.
- Zelikson R. 1996. Microorganisms and Viruses in Groundwater Environmental Science and Pollution Control. Series Haifa University-Oranim.
- Zoller, U. 1994. Groundwater Contamination and Control. Marcel Dekker, Inc. New York.

11. ANEXOS

ANEXO 1. Medio de Cultivo

Agar no nutritivo con *Enterobacter aerogenes* (NNE)

NaCl	0.12g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.004g
CaCl ₂ 2H ₂ O	0.004g
Na ₂ HPO ₄	0.142g
KH ₂ PO ₄	0.136g
Bactoagar	15.0g
Agua Destilada	1000ml

El medio NNE se prepara mezclando los componentes deshidratados y después agregando el agua destilada que se calienta hasta ebullición. Se esteriliza a 121 °C durante 15 minutos y cuando se ha enfriado un poco se vacían de 15 a 20 ml de agar en cajas de Petri previamente esterilizadas. Cuando el agar solidifica, se inocula una preparación de bacterias *Enterobacter aerogenes* inactivada. Las bacterias se obtienen cosechándolas a partir de cultivos puros en solución de agua destilada e inactivándola en baño de agua a 70 °C por 30 minutos.

En las placas con agar se siembra aproximadamente 0.5 ml de la solución de bacterias inactivadas la cual se distribuye homogéneamente por toda la superficie del medio con varilla acodada. Las placas de NNE se dejan reposar una hora aproximadamente y se guardan en el refrigerador hasta su uso (García, 2000).

ANEXO 2. Fotografías de las amibas asiladas.

Fotografías tomadas con la cámara del microscopio de contraste de fases que se encuentra en el Laboratorio de Microbiología en la UIICSE, con un aumento de 1000X.

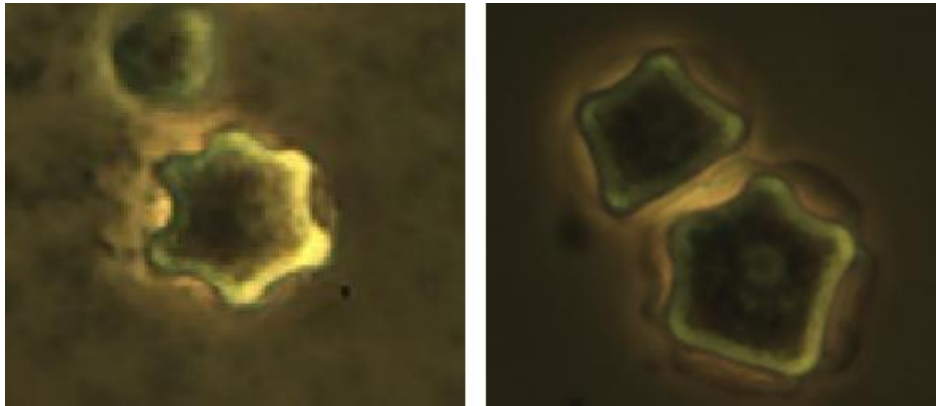


Figura 25. Fotografía de la Morfología de los Quistes del género *Acanthamoeba*

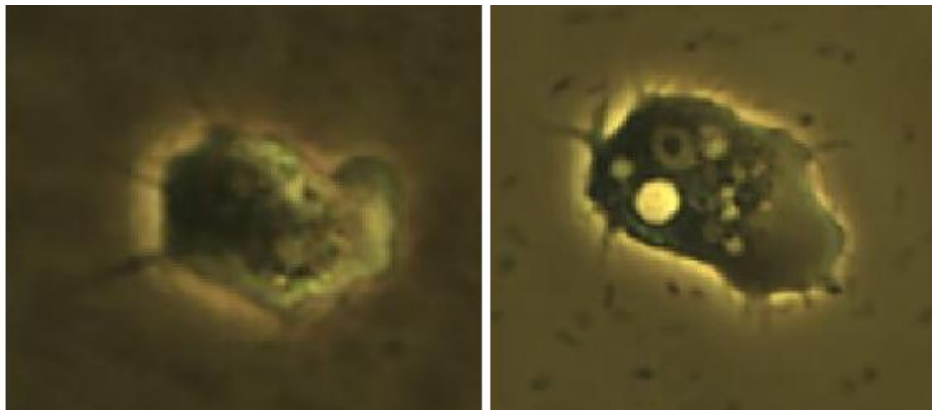


Figura 26. Fotografía de la Morfología de los Trofozoítos del género *Acanthamoeba*

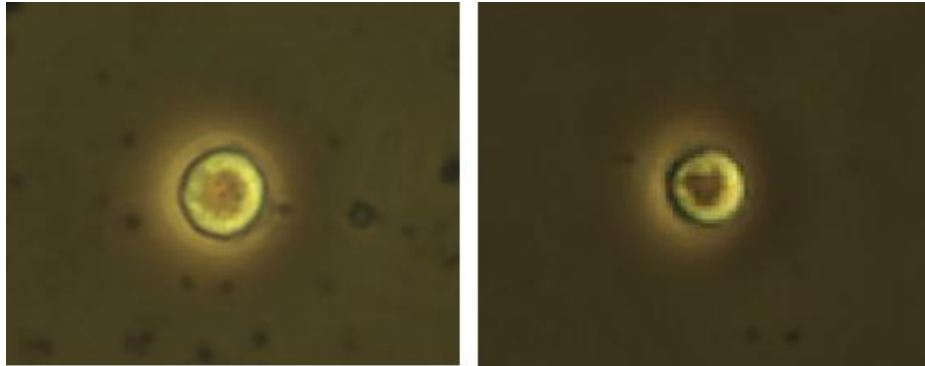


Figura 27. Fotografía de la Morfología de los
Quistes del género *Hartmannella*

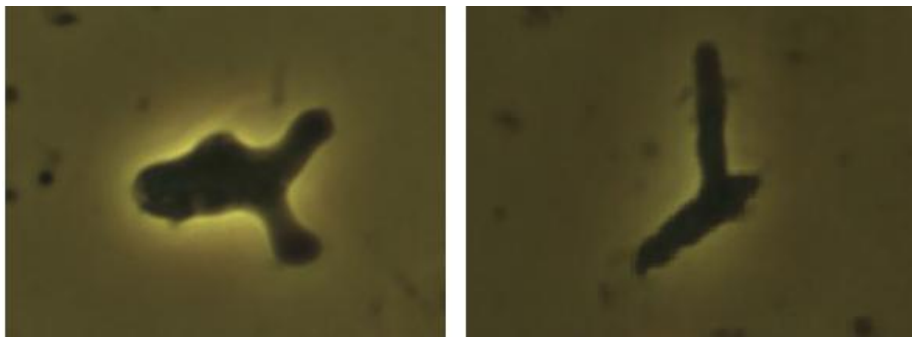


Figura 28. Fotografía de la Morfología de los
Trofozoítos del género *Hartmannella*

ANEXO 3. Tabla de datos de parámetros fisicoquímicos y amebológicos.

POZO 3	Número de				
Muestreo	Aislamientos	pH	Oxígeno Disuelto	Temperatura	Sólidos Disueltos
ENERO 2012	1	7.2	4.4	24	2350
MARZO	0	7.6	3.4	27	1370
MAYO	3	7.3	5.3	26	2353
JULIO	0	7	1.8	24	2052
SEPTIEMBRE	3	7.1	0	31	2265
NOVIEMBRE	0	7.5	4.1	24	2320

POZO 4	Número de				
Muestreo	Aislamientos	pH	Oxígeno Disuelto	Temperatura	Sólidos Disueltos
ENERO	1	7.4	4	22	1340
MARZO	2	7.5	3.8	24	1255
MAYO	2	7.2	2.6	25	1305
JULIO	3	7.2	2	26	1267
SEPTIEMBRE	2	ncon	0.2	30	1195
NOVIEMBRE	0	7.5	2.8	24	1360

POZO 7	Número de				
Muestreo	Aislamientos	pH	Oxígeno Disuelto	Temperatura	Sólidos Disueltos
ENERO	1	8	2.6	29	363
MARZO	2	7.97	3.4	24	408
MAYO	3	7.2	2.9	24	378
JULIO	2	7.48	3.4	24	382
SEPTIEMBRE	2	ncon	4.2	28	405
NOVIEMBRE	1	ncon	5.2	22	400

POZO 15	Número de				
Muestreo	Aislamientos	pH	Oxígeno Disuelto	Temperatura	Sólidos Disueltos
ENERO	-	-	-	-	-
MARZO	1	7.91	3.8	25	432
MAYO	0	7.59	2.2	26	375
JULIO	1	7.46	2.8	25	363
SEPTIEMBRE	3	7.89	3.2	23	385
NOVIEMBRE	0	7.86	1.6	24	413

POZO 17	Número de				
Muestreo	Aislamientos	pH	Oxígeno Disuelto	Temperatura	Sólidos Disueltos
ENERO	-	-	-	-	-
MARZO	0	7.42	2.2	30	517
MAYO	0	7.65	3	24	482
JULIO	0	7.42	2.2	26	783
SEPTIEMBRE	0	7.66	1.3	23	525
NOVIEMBRE	0	7.81	2.1	24	505

POZO 20	Número de				
Muestreo	Aislamientos	pH	Oxígeno Disuelto	Temperatura	Sólidos Disueltos
ENERO	-	-	-	-	-
MARZO	3	7.17	3	30	2227
MAYO	0	7.49	3.8	25	1920
JULIO	0	7.34	2.8	26	2500
SEPTIEMBRE	2	7.31	0.2	26	1935
NOVIEMBRE	0	7.46	1.4	27	2155

Planta R. M	Número de				
Muestreo	Aislamientos	pH	Oxígeno Disuelto	Temperatura	Sólidos Disueltos
ENERO	1	7.5	1.2	25	895
MARZO	3	7.3	1.8	31	800
MAYO	0	7	3.4	27	810
JULIO	0	7.4	1.4	26	873
SEPTIEMBRE	0	ncon	1.4	30	890
NOVIEMBRE	0	ncon	4	24	810

***Todos los meses muestreados son del año 2012**