



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**AMIBAS DE VIDA LIBRE EN UN SISTEMA PILOTO DE
LADOS ACTIVADOS QUE TRATA AGUA RESIDUAL
TEXTIL.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

PRESENTA:

FRANCISCO JAVIER BARRIOS ESPINOSA

DIRECTORA DE TESIS: M. en C. Elizabeth Ramírez Flores

SINODALES: Dr. Francisco José Torner Morales

Esperanza del Socorro Robles Valderrama

María de Guadalupe Sainz

Dr. Víctor Manuel Rivera Aguilar



Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México, 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

Le dedico el presente trabajo a mi madre.

Por haberme apoyado y confiado en todo momento a pesar de las altas y bajas que tuve a lo largo de mi carrera, por sus valiosos consejos, por los valores que me inculco desde pequeño, por la motivación constante que brindo y que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.

Gracias por todo.

Agradecimientos.

A la máxima casa de estudios en México la UNAM que me brindó la oportunidad de aprender lo que es la Biología, ampliando mi visión y dejándome vivir fabulosas experiencias con grandes personas.

A todos los profesores y personas que me ayudaron durante mi formación profesional en la FES Iztacala, que de una u otra manera dejaron huella en mí.

Al proyecto CyMA, por permitirme aprender y colaborar en este proyecto, por abrirme las puertas de ese gran laboratorio y dejarme conocer a grandes personas como Daniela, Miguel, José Luis, Diego, Bernabé, Abram, con las cuales compartí buenos momentos.

A la DGAPA por el financiamiento otorgado a los proyectos UNAM-DGAPA-PAPIIT IA205215 y RA205215.

A todos los sinodales: Dr. Francisco José Torner Morales, Esperanza del Socorro Robles Valderrama, Dr. Víctor Manuel Rivera Aguilar y María de Guadalupe Sainz Morales, por cada uno de los comentarios hechos durante mi trabajo tanto de LyCIT como de tesis, con los cuales logré mejorar mi trabajo final. Sin embargo, debo agradecer en especial a la Profesora Elizabeth Ramírez Flores que me aceptó en su investigación en un momento crucial de mi vida, que siempre tuvo tiempo para resolver mis dudas, la gran paciencia que me tuvo, y que compartió tantas pláticas conmigo en el laboratorio.

Contenido.

1. Introducción	5
2. Marco Teórico	7
2.1. Agua	7
2.2. Industria Textil	8
2.3. Sistema de Tratamiento	10
2.4. Amibas de Vida Libre	14
3. Marco de Referencia.....	16
4. Justificación	18
5. Objetivos	19
6. Material y Métodos.....	20
7. Resultados y Discusión.....	23
7.1. Presencia de las amibas de vida libre en el sistema de tratamiento	23
7.2. Riqueza específica	24
7.3. Frecuencia de las especies de AVL	26
7.4. Distribución espacial de las AVL en el sistema piloto de lodos activados	29
7.5. Distribución temporal de las AVL en el sistema piloto de lodos activados	31
7.6. Distribución de las especies de AVL en el Biorreactor	32
7.7. Dinámica de las especies de AVL en el biorreactor	34
7.8. Parámetros fisicoquímicos	38
8. Conclusiones	42
9. Bibliografía	43

Resumen.

Las características químicas tan variables que presenta el agua residual textil dificultan su tratamiento; uno de los sistemas de tratamiento de aguas residuales más utilizados es el de lodos activados. Dicho sistema se basa en poblaciones de microorganismos para remover materia orgánica y ciertos compuestos tóxicos de la misma, entre estas poblaciones se encuentran las amibas de vida libre las cuales se alimentan principalmente de bacterias, las cuales a su vez eliminan la materia orgánica. Son pocos los estudios centrados en amibas y en especial en agua residual textil. Por lo que el objetivo del presente trabajo fue determinar las amibas de vida libre en un sistema piloto de lodos activados que se alimentaba de agua residual proveniente de una textilera. Se realizaron un total de 14 muestreos, las muestras tomadas fueron de 50 ml, y se sembraron por triplicado en medio de agar no nutritivo con la bacteria *Enterobacter aerogenes* (NNE); las cajas se incubaron a 30°C. La identificación fue morfológica. Se aislaron un total de 18 especies de amibas, pertenecientes a 12 géneros distintos. De acuerdo con la distribución espacial que presentaron, el biorreactor fue el punto en donde se obtuvo el mayor número de aislamientos y de diversidad de especies, a pesar de las características del agua residual. Las especies de amibas se agruparon de acuerdo a la adaptación que tuvieron a este tipo de agua, tomando en cuenta su frecuencia relativa y su distribución temporal. *Acanthamoeba polyphaga* fue la especie que mejor se adaptó al agua residual textil, esto debido en gran parte a la resistencia de su quiste. Los parámetros fisicoquímicos (pH, temperatura y oxígeno disuelto) no mostraron relación directa con la aparición de las amibas de vida libre en el sistema, pero estuvieron en los intervalos adecuados para la presencia de estas.

1 Introducción.

El agua es empleada en diferentes actividades humanas, ya sea para subsistir o bien para producir e intercambiar bienes y servicios. La industria es uno de los principales motores de crecimiento y desarrollo económico, a nivel mundial el 19% del agua que se extrae se emplea en este sector. El 62.8% del agua que se utiliza en México proviene de fuentes superficiales, mientras que el 37.2% restante se obtiene de aguas subterráneas. En la industria el agua que se utiliza proviene de arroyos, ríos o lagos del país; sin embargo, entre el 2001 y el 2013 el uso del agua subterránea se incrementó (SEMARNAT, 2014).

Los sectores de minería, electricidad, suministro de gas, construcción y las industrias manufactureras, pertenecen a la categoría de industria; en particular las textiles se han caracterizado por el alto consumo de agua, energía y productos químicos, además de la generación de grandes cantidades de agua residual. Esto debido a que gran parte de su línea de producción se realiza en medios húmedos, principalmente los procesos de teñido y acabado de las telas, siendo aquí en donde se utilizan elevadas concentraciones de colorantes, contaminantes orgánicos, compuestos tóxicos, componentes inhibidores, tensoactivos y componentes clorados. Lo que ocasiona que los efluentes resultantes presenten características fisicoquímicas muy diversas, como los altos valores tanto de demanda química de oxígeno (DQO) como de demanda bioquímica de oxígeno (DBO), además de la presencia de sólidos suspendidos (SST), pH variable, coloración diversa y persistente, así como diferentes temperaturas dependiendo de qué proceso provenga el agua; lo que convierte al agua residual de este tipo de industria en un gran problema ambiental (García-Gómez *et al.*, 2011; Salazar-Gómez *et al.*, 2009; SEMARNAT, 2014).

Los colorantes de tipo azo son utilizados para teñir los materiales textiles, siendo aproximadamente el 70% del total de colorantes utilizados. Al ser colorantes de origen sintético poco biodegradables, son apropiados para fibras hidrofóbicas; sin

embargo, en el proceso de teñido entre el 2 y el 50% de los colorantes no se fijan en las telas y son descargados en el agua residual (Moellar-Chávez, 2013).

El agua residual resultante de la industria textil es difícil de tratar, principalmente por el aporte de dichos colorantes, además de que este tipo de agua presenta metales pesados y azufre que provocan problemas ambientales de consideración debido a su naturaleza tóxica. Para el tratamiento de agua residual se utilizan procesos físicos, químicos y biológicos. Los procesos biológicos se basan en la capacidad que tienen los microorganismos para metabolizar y convertir la materia orgánica en suspensión y disuelta, en tejido celular nuevo y gases. Los procesos del tratamiento biológico que se dan en presencia de oxígeno son conocidos como aerobios, siendo el sistema de lodos activados uno de los más utilizados para el tratamiento de aguas residuales urbanas e industriales. Las plantas de tratamiento de lodos activados son un sistema de mezcla, con inyección de oxígeno y agitación constante (Varila-Quiroga *et al.*, 2008; Sánchez-Mares, 2005).

En el tratamiento de lodos activados, se utilizan poblaciones de microorganismos cuyo objetivo es metabolizar la materia orgánica en suspensión y disuelta. Dichas poblaciones se componen principalmente de bacterias y protozoos, estos grupos son sensibles a las condiciones fisicoquímicas y dependen de ellas para su actividad (Limón-Macías, 2013; Appels *et al.*, 2008).

Entre los protozoos que conforman dichos lodos se encuentran las amibas de vida libre (AVL), que son conocidas como microorganismos anfizoicos, ya que tienen la capacidad de vivir libres en el ambiente y también pueden ser agentes patógenos tanto para el humano como para otros animales, lo que les otorga importancia médica ya que pueden causar infecciones graves en el sistema nervioso central. Su gran versatilidad les ha dado la ventaja de colonizar todo tipo de ambiente, como en el agua, el suelo e incluso en el aire que les sirve como medio de dispersión. Además, las AVL pueden ser vectores de agentes patógenos como ciertas bacterias (Bonilla y Ramírez, 2014; Visvesvara, 2014).

Las AVL presentan una distribución cosmopolita, convirtiéndolas en microorganismos ubicuos en la naturaleza. En el agua desempeñan un papel

fundamental en el flujo de energía y el reciclado de nutrientes. Su gran eficiencia en dichos procesos en comparación con otras formas de vida superiores le otorga una ventaja y una importancia fundamental en el medio; lo que las convierte en un enlace entre microorganismos desintegradores y niveles tróficos superiores. Además, son grandes consumidores de bacterias, llegando a consumir hasta un 50% de la biomasa bacteriana y de la materia orgánica particulada en suspensión (Bonilla *et al.*, 2004).

2 Marco Teórico.

2.1 Agua.

En el Registro Público de Derechos de Agua (REPDA), se registran anualmente los volúmenes asignados a los usuarios de aguas nacionales. En este registro se tienen clasificados los usos de las aguas mexicanas en las siguientes categorías:

- Agrícola.
- Abastecimiento público.
- Industria.
- Energía eléctrica
- Hidroeléctricas.

Más del 60% del agua destinada a estos sitios proviene de fuentes superficiales (ríos, arroyos y lagos), mientras que el porcentaje restante corresponde a fuentes subterráneas (acuíferos). En el registro realizado el 31 de diciembre del 2015, el mayor volumen de agua asignado fue para las actividades agrícolas, principalmente para el riego. El abastecimiento público se refiere al agua potable que llega a los domicilios, así como a diversos sectores que prestan servicios. Mientras que a la

Industria solo se le abastece cerca del 5% del total, aunque este porcentaje ha aumentado en el periodo que va de 2006-2015 (SEMRNAT, 2016).

2.2 Industria textil.

La actividad textil en México comenzó en el siglo XIX, pero no fue hasta 1830 que empezó a tener reconocimiento como una industria formal, ya que representaba una de las primeras actividades económicas rentables. Actualmente el panorama económico para la industria textil se ha visto mermado por causa de los altos costos en la línea de producción junto con otros aspectos de manejo y traslado de las telas (Arroyo-López y Cárcamo-Solís, 2010).

La línea de producción de la industria textil ha cambiado con los años, sin embargo, actualmente se compone de los procesos que se observan en la Figura 1.

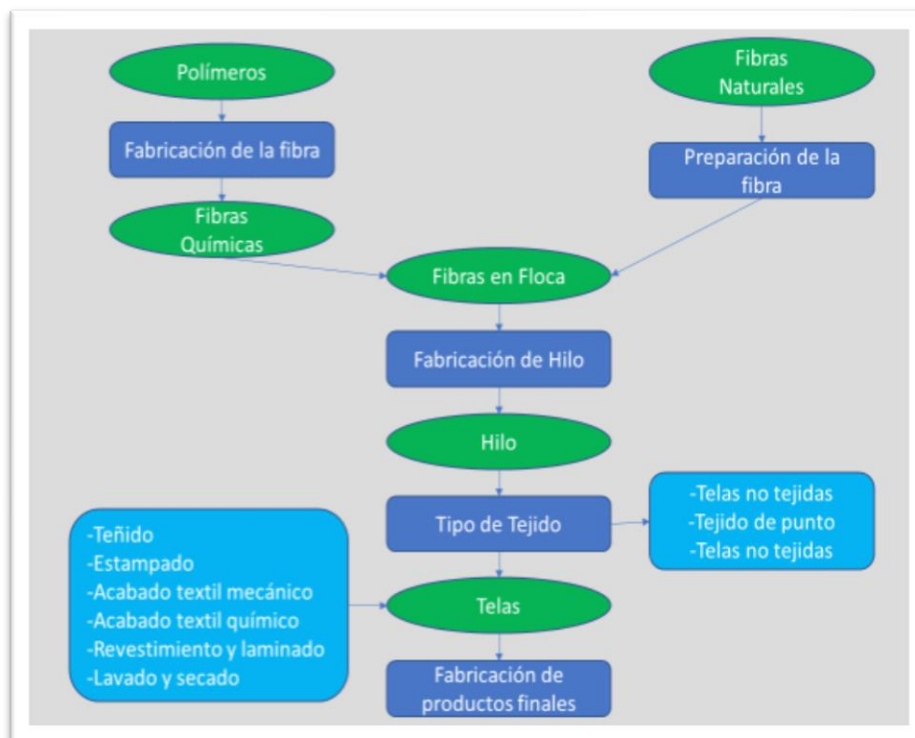


Figura 1. Línea de producción de la Industria textil, figura obtenida de ITAM, 2008.

La producción de las fibras puede ser de tipo natural o químico; el origen de las fibras naturales puede ser tanto vegetal como animal, mientras que las fibras químicas son de origen artificial o sintéticas. El proceso de hiladura comprende todo el tratamiento que se le da a las fibras hasta su transformación en hilo, y su posterior acabado. El proceso conocido como tejido comprende como primera etapa los siguientes procesos: chamuscado, descolado, descrudado, mercerizado, blanqueo, carbonizado y lavado. Posteriormente las prendas pasan por un proceso de teñido, que a su vez se conforma de cuatro etapas; en primer lugar, el colorante se disuelve en el baño de tintura, seguido de una aplicación de los colorantes sobre las prendas, para que los colorantes migren al interior de las fibras y el colorante se fije, esto con ayuda de altas temperaturas y cambios en el pH del medio; este proceso de teñido y el posterior proceso de acabado de las prendas se realiza en medios húmedos, siendo en este último en donde se utilizan compuestos químicos para darle ciertas propiedades a la tela como la textura (ITAM, 2008).

Por lo tanto, la demanda de agua por parte de la industria textil es elevada, en promedio se consumen 160 kg por cada kg de producto terminado; y al realizarse los dos procesos más importantes (teñido y acabado) en medios húmedos los efluentes resultantes son aguas muy cargadas de químicos. En general las aguas residuales textiles presentan características como:

- Sólidos suspendidos.
- Altas temperaturas.
- Variabilidad de pH.
- Alta DQO.
- Alta DBO.
- Coloración variable.

Otros contaminantes que se descargan en estos efluentes son, por ejemplo: compuestos aromáticos para conservar las telas, almidones, solventes, grasas, aceites, algunos metales pesados, sales (cloruros, sulfatos), agentes oxidantes

(peróxidos), agentes reductores (sulfuros), blanqueadores (hipoclorito, peróxido de hidrógeno), entre otros. Todos estos compuestos químicos provocan que las aguas residuales provenientes de la industria textil sean un gran problema ambiental (Hassan *et al*, 2014; López-Grimau y Crespi-Rosell, 2015).

Los colorantes utilizados en la industria, no solo textil, sino también en la papelera, cosmética y farmacéutica son de tipo azo, de los cuales existen cerca de 3000 tipos diferentes. Cerca del 15% de los colorantes utilizados en el proceso de teñido quedan disueltos en el agua; estos colorantes azo, se caracterizan por ser persistentes y altamente tóxicos, por lo deben de ser degradados o neutralizados del agua (Mendoza-Hernández *et al.*, 2010).

Los colorantes son compuestos xenobióticos, caracterizados por la presencia de un grupo azo (-N=N-) y son considerados como uno de los más importantes dentro de la industria. Existen los llamados colorantes directos, los cuales son moléculas enormes con gran afinidad por las fibras de celulosa. De este grupo existen alrededor de 1600 variantes diferentes, lo que nos habla de que un gran porcentaje de la producción mundial de este tipo de colorantes cae en esta categoría. Un ejemplo de ellos es el conocido como Rojo Directo 23 (RD23), el cual es utilizado para teñir fibras de algodón, lino y rayón; cabe resaltar que este colorante tiene un 70 a 90% de fijación a la tela, además, de que es estable a la luz (Morales-Guzmán y Melgoza–Aleman, 2009).

2.3 Sistemas de tratamiento.

Las aguas residuales son definidas por la Ley de Aguas Nacionales como: “Las aguas de composición variada provenientes de las descargas de usos público urbano, doméstico, industrial, comercial, de servicios, agrícola, pecuario, de las plantas de tratamiento y en general, de cualquier uso, así como la mezcla de ellas”. Por tanto, el tratamiento de dichas aguas es de vital importancia, ya que pueden ser un gran riesgo ambiental, dependiendo del origen de estas (Ley de Aguas Nacionales, DOF 24-03-2016).

El objetivo que tiene el tratamiento del agua residual es el de remover los contaminantes orgánicos e inorgánicos, los cuales pueden encontrarse disueltos o en suspensión; esto con el propósito de alcanzar cierto nivel de calidad del agua, esto bajo la normativa de descarga, en la cual se plantean límites diarios de parámetros como: pH (6-9), DBO (100 mg/L), DQO (200 mg/L), SST (100 mg/L), cromo total (1.0 mg/L), sulfuros (0.2 mg/L) y fenoles (0.1 mg/L) (NOM-CCA-014-ECOL/1993). Para lograr esa depuración del agua se emplean procesos físicos, químicos y biológicos; estos son seleccionados en las plantas de tratamiento de acuerdo a las características del agua residual y la calidad que se desea alcanzar. Dentro de los sistemas biológicos existen los de tipo aerobio (los cuales requieren oxígeno disuelto) se pueden mencionar: los lodos activados, filtro percolador, discos biológicos y los filtros sumergidos; mientras que en los de tipo anaerobio (funcionan sin presencia de oxígeno) se encuentran algunos como: las fosas sépticas, los filtros anaerobios, el reactor de lecho de lodos y el reactor de lecho expandido. Normalmente se utilizan ambos sistemas esto para poder disminuir los costos de operación y mantenimiento de las plantas de tratamiento, al reducir el consumo de energía y la producción de lodos. Ya que el sistema anaerobio remueve en promedio el 65% de materia orgánica del agua residual sin requerimiento energético para aireación; y el porcentaje restante de materia orgánica lo removerá el sistema aerobio, produciendo así agua con mejor calidad que si solo se utilizara uno de los dos sistemas. Existen también los llamados trenes de tratamiento, en los cuales se combinan los sistemas biológicos y fisicoquímicos para el tratamiento del agua residual (Noyola *et al.*, 2013).

En un sistema de tratamiento de agua se diferencian ciertos niveles, los cuales son: tratamiento preliminar, tratamiento primario, tratamiento secundario y tratamiento terciario o avanzado. En el tratamiento preliminar, el agua pasa por una serie de rejillas o cribas para eliminar materia de gran tamaño que pueda obstruir los posteriores procesos, también se utilizan ciertos mecanismos para eliminar o regular los aceites y grasas en el agua residual. El agua continúa al tratamiento primario, que se lleva a cabo en tanques de sedimentación, con el principio básico de la fuerza de gravedad; las cifras que se tienen registradas en cuanto a la remoción son de

60% de los sólidos suspendidos y de 30% de la DBO. Posteriormente el agua pasa a un tratamiento secundario en donde se tiene como objetivo la eliminación de materia orgánica biodegradable; esto gracias a los microorganismos que transforman dicha materia en energía para su metabolismo y en otros compuestos orgánicos e inorgánicos. Finalmente, en el tratamiento terciario el agua se somete a ciertos procesos para remover la materia orgánica remanente no biodegradable, algunos sólidos suspendidos y ciertos nutrientes; por lo regular dicho tratamiento es necesario cuando el agua debe alcanzar cierta calidad (CONAGUA, 2007; Noyola *et al.*, 2013).

Específicamente el tratamiento de aguas residuales mediante lodos activados se desarrolló y puso en marcha en 1914 en Inglaterra. En la actualidad este tratamiento aerobio es el estándar en cuanto a tratamiento secundario se refiere y, como se mencionó, el objetivo de este es el de remover la materia orgánica en términos de DQO. Los contaminantes son utilizados como fuente de alimentación por los microorganismos que se encuentran en el agua residual; los microorganismos se alimentan y se reproducen formando consorcios microbianos y macroestructuras llamadas flóculos, que conjuntamente constituyen la biomasa del proceso. El tratamiento por lodos activados implica dos etapas: la primera consiste en la oxigenación de los flóculos microbianos en el tanque de aireación, y segunda la etapa de separación de los lodos del agua tratada en el tanque de sedimentación (Charpentier, 2014; Varila y Díaz, 2008).

El sistema consiste en un tanque primario, en el cual recibe el agua residual de la industria, este tanque a su vez está conectado al tanque de aireación o biorreactor, el cual está equipado con aireadores los cuales mantienen una inyección de oxígeno constante para mantener las poblaciones de microorganismos; ya que se necesita un equilibrio entre tres elementos base para que sistema funcione de manera eficiente, dichos elementos son: materia orgánica, las poblaciones de microorganismos y la cantidad suficiente de oxígeno. Los aireadores se encuentran en el fondo del tanque, para que todo el biorreactor tenga acceso al oxígeno. También cuenta con un mecanismo para mantener en constante agitación el agua

residual, ya sean rotores horizontales o verticales. El biorreactor es en donde se llevan a cabo todos los procesos biológicos de degradación, esto gracias a las poblaciones de microorganismos en los lodos activados, entre las cuales se encuentran poblaciones bacterianas, de distintos protozoos y de hongos. Una vez terminado su estadio en el biorreactor, el agua pasa a un tanque de sedimentación, en el cual se lleva a cabo la separación de los lodos activados del agua, esto por medio de gravedad, ya que los lodos se precipitan hacia el fondo del tanque mientras que el agua se mantiene arriba, además de que existen ciertos mecanismos que barren los lodos que quedan flotando, esto para evitar que cualquier tipo de biomasa se vaya en el agua. Una parte de los lodos del fondo es recirculada al biorreactor, mientras que el agua continua para un tratamiento terciario o para su disposición, dependiendo cual sea el uso que se le vaya a dar a esta (Appels *et al.*, 2008; Charpentier, 2014; Coelho-Belchiora *et al.*, 2012; DEO).

Los microorganismos más importantes en los lodos activados son las bacterias, principalmente las bacterias nitrificantes, las cuales oxidan el amonio del medio a nitrito (bacterias amonio oxidantes) y luego a nitrato (bacterias nitrito oxidantes). En su mayoría las poblaciones de protozoos son heterótrofas y constituyen solo el 5% del total de la biomasa en los lodos activados; por lo regular se clasifican en 3 clases de organismos de vida libre (flagelados, ciliados y amibas) y una que comprende protozoos parásitos. El grupo de flagelados se caracteriza por tener uno, dos o numerosos flagelos, los cuales le sirven para la locomoción; además de que presentan una división celular longitudinal. El grupo de ciliados cuenta con múltiples cilios responsables de la locomoción y de la nutrición; estos protozoos son selectivos en su alimentación, limitándose a ciertos géneros o especies. Los protozoos parásitos pertenecientes al grupo *Sporozoa*, los cuales producen esporas; estos microorganismos necesitan un huésped para completar su ciclo de vida. Finalmente, el grupo de amibas de vida libre se explica a continuación (Avendaño-Villafranca, 2011).

2.4 Amibas de Vida Libre.

Las amibas de vida libre (AVL) son protozoos, eucariontes, aerobios, que en muchos casos forman parte del grupo de microorganismos que conforman los lodos activados. Cuentan con un ciclo de vida, que presenta dos estadios, el primero de ellos es conocido como trofozoito; en dicho estadio se alimenta, principalmente de bacterias, algas, hongos o de materia orgánica en suspensión, su reproducción es por medio de fisión binaria, el desplazamiento de la amiba es por medio de pseudópodo, gracias a este tipo de locomoción se han podido mover a través de todo tipo de ambiente. En cuanto al segundo estadio, es la etapa de baja actividad, en la cual la amiba se enquista, cabe destacar que en esta forma las amibas pueden soportar cambios drásticos en el ambiente, como altas o bajas temperaturas, cierto grado de salinidad, cambios en el pH del medio, entre otros. En algunos géneros de AVL, como en el caso de *Naegleria*, existe un tercer estadio, una forma flagelada, la cual se caracteriza por tener una gran movilidad, esta forma es transitoria y de poca duración, el cambio se da de trofozoito a flagelado y viceversa, según la amiba lo necesite, esto a causa de las condiciones del medio y la rapidez con la que la amiba se adapte (Bonilla y Ramírez, 2014; Açıkalın-Coskun *et al.*, 2013; Laconte *et al.*, 2008).

Algunas de las amibas mas comunes son las pertenecientes al género *Acanthamoeba*, las cuales cuentan con un quiste que tiene un alto grado de resistencia, lo cual se debe a la celulosa que contiene su pared (Bonilla y Ramírez, 2014; Corsaro *et al.*, 2010; Visvesvara, 2014); otra amiba muy común es *V. vermiformis*, la cual debe su alto grado de resistencia a los cambios del medio a su quiste pequeño, además de su reducido tamaño, lo que le ayuda a propagarse con rapidez en el medio (Corsaro *et al.*, 2010; Maisonneuve *et al.*, 2016).

Las amibas de vida libre son organismos cosmopolitas, ya que se han podido encontrar en todo tipo de ambientes; como en suelo o agua (agua de mar, agua residual, agua dulce, piscinas, entre otras) e incluso en el aire que les sirve como medio de dispersión. De manera particular, en los ecosistemas acuáticos las AVL

desempeñan un papel muy importante en el mantenimiento de flujo de energía y el reciclado de nutrientes. Su crecimiento apresurado y el uso eficiente de los recursos comparado con formas superiores de vida, así como el hecho de ser un enlace fundamental entre desintegradores y niveles tróficos superiores, las convierte en un eslabón importante dentro de la red trófica en el medio acuático (Bonilla *et al.*, 2004).

En general las AVL funcionan como importantes predadores de bacterias; la presencia de bacterias y sus predadores en el ambiente incrementa la transferencia de energía en la red trófica; sin embargo, solo los protozoos y entre ellos las AVL, tienen las características apropiadas para responder de manera rápida a incrementos temporales de biomasa bacteriana, ya que poseen un ciclo de vida corto, así como tallas pequeñas que representan una ventaja en el uso eficiente de fuentes de alimento (Rodríguez-Zaragoza, 1994).

Las AVL son ubicuas en la naturaleza, sin embargo, algunas especies son capaces de vivir como endoparásitos, por lo que se les denomina amibas anfizoicas. Las AVL patógenas pertenecen a los géneros *Naegleria*, *Acanthamoeba*, *Balamuthia* y *Sappinia*. Estas amibas pueden provocar infecciones graves del sistema nervioso central (SNC). *Naegleria fowleri* es la única especie de este género que causa la Meningoencefalitis amibiana primaria (MAP) en humanos; algunas especies del género *Acanthamoeba*, *B. mandrillaris* y *S. pedata*, pueden causar la Encefalitis amibiana granulomatosa (EAG). Además, *Acanthamoeba sp.* y *B. mandrillaris* causan infecciones graves en la piel, y en el caso de *Acanthamoeba* infección en el ojo (Bonilla y Ramírez, 2014; Visvesvara, 2014).

Por otra parte, se ha demostrado que algunas amibas pueden actuar como vectores de hongos, virus y bacterias, como *Legionella pneumophila*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium avium*, *Vibrio cholerae* y *Aspergillus fumigatus*, de esta forma las amibas proporcionan un mecanismo de transporte y protección para colonizar ambientes hostiles, lo que les ha ayudado a moverse a través de diferentes organismos y medios. Las amibas que se han descrito como vectores son *Acanthamoeba sp.* y *V. vermiformis* (Maisonneuve *et al.*, 2016; Bonilla y Ramírez, 2014; Scheikl *et al.*, 2014; Visvesvara, 2014; Corsaro *et al.*, 2010).

3 Marco de Referencia.

La mayoría de los estudios de AVL que se han realizados en sistemas de tratamiento han sido de agua residual doméstica, siendo muy pocos los estudios realizados en agua residual proveniente de industria textil.

- Rivera *et al.* en 1986 realizaron un estudio sobre protozoos sarcodinos en un sistema conocido como estanque de estabilización, que recibía agua residual de origen doméstico. En total se lograron aislar 13 especies de amibas, la especie más abundante fue *Entamoeba histolytica*, la cual sin duda es patógena, ya que puede causar infecciones intestinales. También se aislaron *Acanthamoeba polyphaga*, *Acanthamoeba castellanii* y *Naegleria sp.*, que son consideradas potencialmente patógenas. Además, se registraron otras AVL que no han sido reportadas como patógenas como: *A. astronyxis*, *Hartmannella exudans*, *Hartmannella vermiformis*, *Vahlkampfia avara* y *Vahlkampfia russelli*.
- Rivera *et al.* en 1993 realizaron una investigación en un sistema de tratamiento del Método de la Zona de Raíz (MZR) en Reino Unido. En total se aislaron 13 especies de 9 géneros, las cuales son: tres especies del género *Acanthamoeba* (*astronyxis*, *polyphaga* y *rhyssodes*), dos especies de *Hartmannella* (*cantabrigiensis* y *vermiformis*), *Mayorella sp.*, *Paramoeba sp.*, *Platyamoeba placida*, *Rosculus ithacus*, dos especies de *Vahlkampfia* (*avara* y *ustiana*) y *Vexillifera sp.* En el análisis realizado posteriormente, en el cual se inocularon vía intranasal e intracerebral a ratones con las amibas, se observó que las 3 especies de *Acanthamoeba* fueron patógenas.
- Ramírez *et al.* en 1993 realizaron un estudio en un sistema de tratamiento de agua que trataba agua proveniente de los suburbios de Londres, así como de empresas. En total se aislaron 13 especies de amibas que corresponden a 11 géneros. Se identificaron tres amibas potencialmente patógenas *Acanthamoeba castellanii*, *A. culbertsoni* y *A. polyphaga*. Además, se

identificó una especie del género *Naegleria*, sin embargo, esta no es patógena, *N. gruberi*. Otras AVL registradas en el estudio fueron: *Echinamoeba silvestris*, *Hartmannella vermiformis*, *Mayorella viridis*, *Rosculus ithacus*, *Saccamoeba stagnicola*, *Vahlkampfia avara*, *Vannella simplex*, *Vexillifera bacillipedes* y *Willaertia magna*. Las especies pertenecientes al género *Acanthamoeba* fueron aisladas en el tanque de aireación, mientras que las demás especies de AVL fueron aisladas en el tanque de sedimentación.

- Ramírez *et al.* en 2005 realizaron un estudio en un humedal artificial, el sistema trataba el agua residual de una casa-habitación. Se aislaron un total de 32 especies pertenecientes a 12 géneros, siendo *Acanthamoeba* el género más frecuente con un 59% de aparición, se menciona que la pared de celulosa que presenta esta AVL le ayudo a sobrevivir a cambios bruscos en el medio. Otras amibas aisladas fueron especies de los géneros: *Dactylamoeba*, *Echinamoeba*, *Guttulinopsis*, *Hartmannella*, *Mayorella*, *Naegleria*, *Platyamoeba*, *Rosculus*, *Thecamoeba*, *Vahlkampfia* y *Vannella*.
- Ramírez *et al.* en 2015 determinaron las AVL en un sistema de tratamiento de lodos activados de agua residual doméstica proveniente de una Unidad Habitacional. Se reportaron un total de 24 especies pertenecientes a 13 géneros. Las especies más frecuente fueron *Vermamoeba vermiformis*, *Acanthamoeba polyphaga*, *Naegleria sp.*, *Vahlkampfia avara* y *Vannella platypodia*. Siendo los géneros más frecuentes *Vermamoeba* y *Vannella* con un 21% de aparición, seguido de *Acanthamoeba* con un 18% y con un 0.5% los géneros *Deuteramoeba*, *Guttulinopsis* y *Mayorella*.
- Ramírez *et al.* en 2014, realizaron un estudio en una planta de tratamiento de lodos activados que recibía el agua residual proveniente de una textilera, lograron aislar los siguientes géneros de AVL: *Acanthamoeba*, *Echinamoeba*, *Korotnevella*, *Mayorella*, *Naegleria*, *Platyamoeba*, *Saccamoeba*, *Stachyamoeba*, *Thecamoeba*, *Vahlkampfia*, *Vannella*, *Vermamoeba*, *Vexillifera* y *Willaertia*.

- Ramírez *et al.* en 2017 reportaron un total de 23 especies de AVL que corresponden a 15 géneros, siendo los géneros *Acanthamoeba*, *Mayorella* y *Vannella*, los mejor representados. El estudio se realizó en un sistema de lodos activados que trataba agua residual textil. Las amibas registradas fueron: *Acanthamoeba astronyxis*, *A. hatchetti* y *A. polyphaga*, *Cochliopodium minus*, *Echinamoeba silvestris*, *Filamoeba nolandi*, *Hartmannella cantabrigiensis*, *Korotnevella stella*, *Mayorella cultura* y *M. penardi*, *Naegleria sp.*, *Paravahlkampfia ustiana*, *Rosculus ithacus*, *Saccamoeba stagnicola*, *Thecamoeba similis* y *T. striata*, *Vahlkampfia avara*, *Vannella lata*, *V. platypodia* y *V. simplex*, *Vermamoeba vermiformis*, *Vexillifera bacillipedes*.
- Pauletti en 2017 determinó los cambios en la presencia de AVL bajo un gradiente de agua residual doméstica a agua residual textil en un biorreactor de lodos activados. El mayor número de especies se encontró en 100% de agua residual doméstica (ARD) y fue disminuyendo a medida que se incrementó el agua residual textil (ART). Las especies de amibas se agruparon en 5 conjuntos; siendo *Vannella platypodia*, *Polychaos timidum* y *Rosculus ithacus* las especies con mayor frecuencia y distribución, por lo que se puede decir que fueron las que mejor se aclimataron al agua residual textil.

4 Justificación.

En la actualidad los estudios sobre AVL se enfocan solo a ciertas especies de importancia médica, ya que puede provocar infecciones graves o hasta la muerte. Sin embargo, no debemos olvidar que estos microorganismos tienen un rol ecológico importante, en cuanto al reciclaje de materia y el flujo de energía, por lo que son de gran importancia dentro de la remoción de contaminantes del agua.

La capacidad que tienen las AVL para soportar los cambios en el ambiente ha sorprendido a muchos investigadores, ya que se han aislado en condiciones extremas. Por lo que estos microorganismos han sido aprovechados en los sistemas

de tratamiento de agua, y un ejemplo claro son los sistemas de lodos activados, de los cuales las AVL forman parte importante, ya que se encargan de controlar las poblaciones de bacterias y de participar en la eliminación de materia orgánica del agua.

Los estudios centrados en aguas residuales de tipo industrial y en particular en textiles son casi nulos, por lo que en este trabajo se determinó la riqueza específica, la frecuencia y la distribución temporal de las poblaciones de AVL en un sistema a nivel de laboratorio que trata este tipo de agua residual.

5 Objetivos.

General.

- Determinar las amibas de vida libre en un sistema piloto a nivel de laboratorio de lodos activados que trata agua residual textil.

Particulares.

- Determinar la riqueza específica de las amibas de vida libre en el sistema de tratamiento.
- Determinar la distribución espacial y temporal que tuvieron las AVL en el sistema a lo largo de los muestreos.
- Relacionar la presencia de las amibas de vida libre con los parámetros fisicoquímicos: pH, temperatura y oxígeno disuelto.

6 Material y Métodos.

Descripción del sistema.

El presente trabajo se realizó en un sistema piloto de lodos activados a nivel de laboratorio que era alimentado con agua residual de origen textil de una industria textil lanera ubicada en el Estado de México. El agua residual textil fue principalmente del proceso de acabado. El sistema constó de tres contenedores: el primero fue el punto de carga del agua residual textil sin tratar (entrada), el segundo fue el biorreactor, en donde estaba la biomasa y en donde se realizaba la degradación de la materia orgánica por los microorganismos, el cual tenía un volumen de trabajo de 3 litros; finalmente el tercer contenedor recibía el agua tratada (salida) (Figura 2). El sistema fue operado en un esquema discontinuo secuencial con un tiempo de ciclo de tratamiento de 24 horas y un recambio del 50% del volumen del agua por cada ciclo. El agua residual textil que entró al sistema fue colectada en diferentes tiempos de la textilera, por lo que podían tener diferentes características que eran determinadas por los procesos y/o químicos que eran utilizados en el momento de colecta, lo que conformaba un lote de alimentación.



Figura 2. Sistema Piloto de Lodos Activados a Nivel de Laboratorio.

Muestreo.

Se realizaron muestreos cada 15 días, iniciando el 21 de octubre de 2016, y terminando el 19 junio de 2017. Se tomaron muestras de agua de 50 ml de la entrada, biorreactor y salida en recipientes estériles y se procesaron inmediatamente.

Se determinaron *in situ* los siguientes parámetros fisicoquímicos: pH con un potenciómetro HANNA Instruments HI 8314, temperatura y oxígeno disuelto con un oxímetro YSI. Mod. 51-b.

Laboratorio.

La muestra de agua de 50 ml se centrifugó a 3500 rpm durante 15 minutos, el sobrenadante se descartó y el sedimento se sembró en cajas con medio de agar no

nutritivo con la bacteria *Enterobacter aerogenes* (NNE), este procedimiento se realizó por triplicado para asegurar que se detectará todas las amibas presentes en la muestra. Las cajas se dejaron en incubación a 30 °C y se comenzaron a revisar desde el tercer día y hasta completar dos semanas con la ayuda de un microscopio invertido para detectar el crecimiento amibiano.

La identificación de las AVL se realizó observando preparaciones en fresco al microscopio de contraste de fases a 40x y 100x, se tomaron en cuenta los caracteres morfológicos tanto de la fase vegetativa o trofozoito como del quiste, para lo cual se utilizaron las claves de Page (1988).

Análisis estadístico.

Para relacionar los parámetros fisicoquímicos con la presencia de las amibas se utilizó el análisis de Coeficiente de Correlación de Pearson, el cual proporciona una medida de la asociación lineal entre las variables, los valores de la correlación están entre -1 y +1 (Durán *et al.*, 2003).

La tabla 1 se tomó como base para realizar la interpretación del análisis estadístico, ya que en ella se indican los rangos de los valores de R y su grado de correlación

Tabla 1. Valores de correlación de R y grado de correlación, tabla obtenida de Durán *et al.*, 2003.

Valor absoluto de R	Grado de asociación
0.8 – 1.0	Fuerte
0.5 – 0.8	Moderado
0.2 - 0.5	Débil
0 – 0.2	Insignificante

7 Resultados y Discusión.

7.1 Presencia de las amibas de vida libre en el sistema de tratamiento.

En la Tabla 2 se muestra la presencia de las AVL en el sistema piloto a lo largo de los muestreos, se observa que en el biorreactor hubo una presencia ininterrumpida de amibas, seguido del contenedor de salida. La constante presencia de amibas en el biorreactor se debe principalmente a que es aquí en donde se encuentran los lodos activados y en donde se llevan a cabo los procesos biológicos.

Por otro lado, en el contenedor de entrada las amibas estuvieron ausentes en los muestreos de marzo y abril; esto señala que el agua con que se alimentó el sistema pertenecía a otro lote de agua residual, que reflejaba algún cambio en los procesos productivos de la industria textil y que afectó negativamente la presencia de las amibas a causa de los diferentes compuestos químicos utilizados (Hassan *et al*, 2014; López-Grimau y Crespi-Rosell, 2015).

Tabla 2. Presencia y ausencia de AVL en el sistema piloto de lodos activados.

Muestreo	Entrada	Biorreactor	Salida
Muestreo 1 (21/Octubre/2016)	+	+	+
Muestreo 2 (4/Noviembre/2016)	+	+	+
Muestreo 3 (18/Noviembre/2016)	+	+	+
Muestreo 4 (5/Diciembre/2016)	+	+	-
Muestreo 5 (20/Enero/2017)	+	+	+
Muestreo 6 (3/Febrero/2017)	+	+	+
Muestreo 7 (23/Febrero/2017)	+	+	+
Muestreo 8 (16/Marzo/2017)	+	+	+
Muestreo 9 (29/Marzo/2017)	-	+	+
Muestreo 10 (20/Abril/2017)	-	+	+
Muestreo 11 (9/Mayo/2017)	+	+	+
Muestreo 12 (22/Mayo/2017)	+	+	+
Muestreo 13 (1/Junio/2017)	+	+	+
Muestreo 14 (19/Junio/2017)	+	+	+

7.2 Riqueza específica.

En la tabla 3 se muestran las 18 especies aisladas en el sistema piloto, las cuales pertenecieron a 12 géneros. La mayoría de estas especies han sido reportadas en sistemas de lodos activados que trataba agua residual textil (Ramírez *et al.*, 2014, 2017) y agua residual doméstica (Ramírez *et al.*, 1993, 2015); también han sido reportadas en otros tipos de sistemas de tratamiento biológico que trataba agua residual doméstica, como lagunas de estabilización y humedales artificiales (Rivera *et al.*, 1986; Rivera *et al.*, 1993; Ramírez *et al.*, 2005).

En el mismo sistema a nivel de laboratorio de lodos activados, pero en una etapa previa (en un gradiente de agua residual doméstica a agua residual textil) se determinaron las AVL, y entre las especies que más llaman la atención se encuentran *Vannella platypodia*, *Mayorella spatula* y *Vermamoeba vermiformis*; esto debido a que dichas amibas también son reportadas en el presente trabajo solo que con variaciones en cuanto a la frecuencia, ya que *Vannella platypodia* mantuvo casi

igual su alto porcentaje de frecuencia, mientras que las otras dos especies aumentaron su bajo porcentaje de frecuencia cuando el sistema piloto cambió por completo a agua residual textil (Pauletti, 2017).

Tabla 3. Especies de amibas de vida libre aisladas en el sistema piloto de lodos activados.

Géneros	Especies
<i>Acanthamoeba</i> (Volkonsky, 1931)	<i>astronyxis</i> (Ray and Hayes, 1954)
	<i>polyphaga</i> (Puschkarew, 1913)
<i>Cochliopodium</i> (Hertwig and Lesser, 1874)	<i>minus</i> (Page, 1976)
<i>Guttulinopsis</i> (Olive 1901)	<i>vulgaris</i> (Olive 1901)
<i>Hartmanella</i> (Alexeieff, 1912, emend. Page, 1974)	<i>cantabrigiensis</i> (Page, 1974)
<i>Mayorella</i> (Schaeffer, 1926)	<i>bicornifrons</i> (Bovee, 1970)
	<i>cultura</i> (Bovee, 1960)
	<i>microeruca</i> (Bovee, 1970)
	<i>spatula</i> (Bovee, 1970)
	<i>vespertilioides</i> (Page, 1983)
<i>Naegleria</i> (Aléxéieff, 1912)	<i>Naegleria sp.</i> (Aléxéieff, 1912)
<i>Paratetramitus</i> (Page y Goodfellow, 1976)	<i>rostratus</i> (Perty, 1852)
<i>Platyamoeba</i> (Page, 1969)	<i>placida</i> (Page, 1968)
<i>Thecamoeba</i> (Fromentel, 1874)	<i>striata</i> (Penard, 1890)
<i>Vahlkampfia</i> (Chatton y Lalung-Bonnaire, 1912)	<i>enterica</i> (Page, 1974)
<i>Vannella</i> (Bovee, 1965)	<i>platypodia</i> (Glaser, 1912)
	<i>simplex</i> (Wohlfarth-Bottermann, 1960)
<i>Vermamoeba</i> (Cavalier-Smith y Smirnov, 2005)	<i>vermiformis</i> (Page, 1967)

7.3 Frecuencia de las especies de AVL.

En la figura 3 se observa la frecuencia relativa de cada una de las 18 especies de AVL.

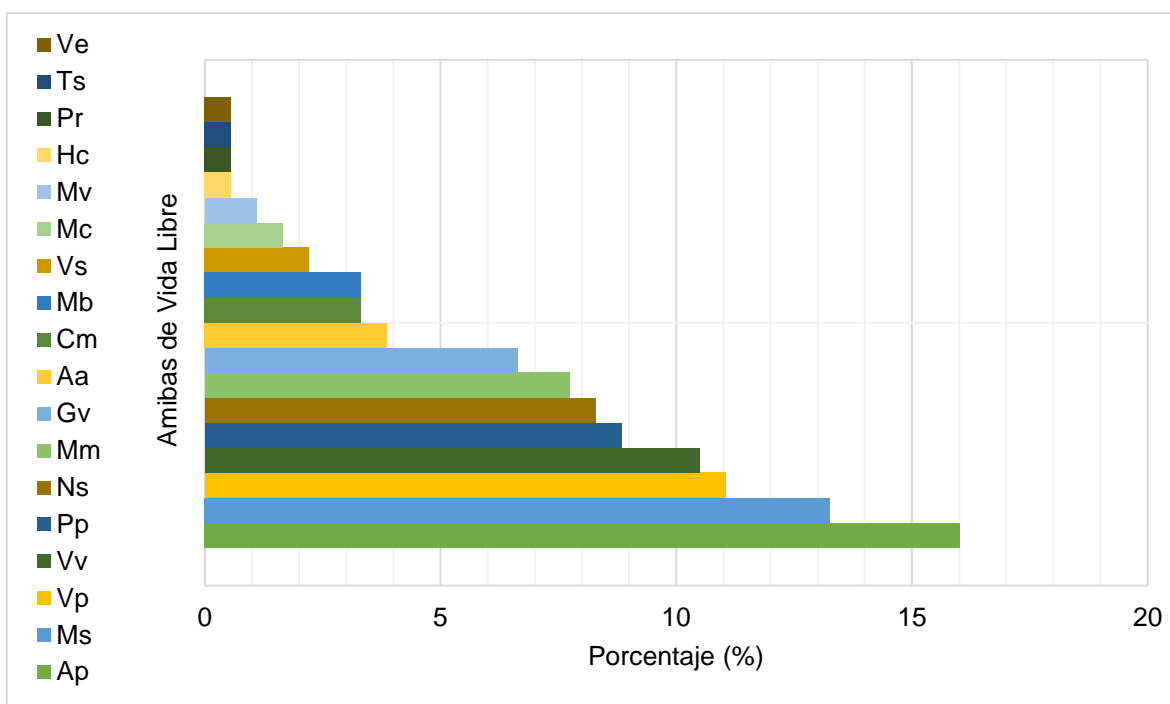


Figura 3. Frecuencia relativa de AVL en el sistema de lodos activados. *Acanthamoeba polyphaga* (Ap), *Mayorella spatula* (Ms), *Vannella platypodia* (Vp), *Vermamoeba vermiformis* (Vv), *Platyamoeba placida* (Pp), *Naegleria sp.* (Ns), *Mayorella microeruca* (Mm), *Guttulinopsis vulgaris* (Gv), *Acanthamoeba astronyxis* (Aa), *Cochliopodium minus* (Cm), *Mayorella bicornifrons* (Mb), *Vannella simplex* (Vs), *Mayorella cultura* (Mc), *Mayorella vespertilioides* (Mv), *Hartmannella cantabrigiensis* (Hc), *Paratetramitus rostratus* (Pr), *Thecamoeba striata* (Ts) y *Vahlkampfia enterica* (Ve).

Cuatro especies de amibas representaron el 50% de la frecuencia total: *Acanthamoeba polyphaga* con 16%, *Mayorella spatula* con 13%, *Vannella platypodia* con 11% y *Vermamoeba vermiformis* con 10%; mientras que cuatro especies representaron solamente el 2%, es decir, fueron las menos frecuentes:

Hartmanella cantabrigiensis, *Paratetramitus rostratus*, *Thecamoeba striata* y *Vahlkampfia enterica*.

La amiba con la mayor frecuencia a lo largo de todos los muestreos fue *Acanthamoeba polyphaga*, esta amiba ha sido reportada en diferentes trabajos en los cuales se hace referencia a su tolerancia a diversas condiciones del ambiente, así como a condiciones extremas. Esto gracias a la celulosa presente en la pared del quiste; lo que ha favorecido que sea una de las amibas más distribuidas en el mundo, además de que se ha aislado en ambientes considerados como extremos. Esta amiba puede ser patógena para el humano, lo que la convierte en un riesgo potencial para la salud (Bonilla y Ramírez, 2014). En trabajos previos también se han registrado frecuencias relativamente altas de esta especie, teniendo entre 15 y 25% de frecuencia, lo que confirma su gran resistencia y facilidad para adaptarse a diferentes medios (Abdul *et al.*, 2017; Lee y Welander, 1996; Ramírez *et al.*, 2005, 2014, 2015, 2017; Rivera *et al.*, 1986, 1993; Scheikl *et al.*, 2014).

El género *Mayorella* fue el mejor representado en el sistema con cinco especies: *M. cultura*, *M. bicornifrons*, *M. microeruca*, *M. spatula* y *M. vespertilioides*; siendo *M. spatula* la segunda amiba más frecuente en el sistema. Este género se caracteriza por carecer de un estadio de resistencia, lo que significa que no forman quiste, pero presenta la estrategia ecológica de producir numerosos individuos pequeños, *M. spatula* tiene un tamaño que va de 12-20 μm de largo, y que poseen un ciclo de vida corto; estas características representan una ventaja en el uso eficiente de fuentes de alimento (Rodríguez-Zaragoza, 1994). Una excepción fue *M. vespertilioides*, la cual es considerada como una amiba de grandes proporciones, ya que llega a alcanzar en promedio 61 μm de largo, pero solo se registró en dos de los primeros muestreos. En general este género ha sido aislado en diferentes tipos de ambientes, lo que nos habla de una amplia distribución (Lee y Welander, 1996; Ramírez *et al.*, en 2005, 2014, 2017; Rivera *et al.*, 1993; Salvado *et al.*, 2001).

Vannella platypodia, al igual que las amibas del género *Mayorella* no presentan estadio de resistencia, pero produce numerosos individuos pequeños que le confiere ventaja ecológica (Rodríguez-Zaragoza, 1994). Esto y la presencia de una

forma flotante, que le permite mantenerse en un medio líquido, pudieran ser las razones de su alta frecuencia en el sistema; lo que coincide con reportes previos (Corsaro *et al.*, 2010; Ramírez *et al.*, 2005, 2014, 2015, 2017; Scheikl *et al.*, 2014).

Otra de las amibas más frecuentes en este estudio fue *Vermamoeba vermiformis*, que presenta dos de las estrategias ecológicas de adaptación, formación de numerosos trofozoítos pequeños y formación de quiste, lo que ha favorecido su presencia con frecuencias altas en diferentes ambientes. Esta amiba no es patógena, pero se le ha relacionado con un caso de infección cerebral y se ha reportado como vector de bacterias patógenas, como *Legionella pneumophila* (Abdul *et al.*, 2017; Corsaro *et al.*, 2010; Kübra *et al.*, 2013; Maisonneuve *et al.*, 2016; Ramírez *et al.*, 2005, 2015, 2017; Rivera *et al.*, 1986, 1993; Scheikl *et al.*, 2014).

Una de las amibas aisladas con frecuencia media fue una especie de *Naegleria*, que por la temperatura a la que se aisló, probablemente no sea patógena, ya que se ha reportado que todas las amibas patógenas prefieren temperaturas altas (Ramírez *et al.*, 2014, 2015, 2017).

La presencia de la amiba *Guttulinopsis vulgaris* con frecuencia media es interesante, ya que esta amiba tiene una fase de hongo, en donde presenta sorocarpos, estructura que facilita la dispersión de las esporas, por lo que se encuentra en el grupo de las mixoamibas. Esta característica favorece su presencia en ambientes con alto contenido de materia orgánica; además produce numerosos individuos pequeños (10-20 μm), que le permite adaptarse a ambientes adversos (Bass *et al.*, 2016; Page, 1988).

Hartmanella cantabrigiensis, *Paratetramitus rostratus* y *Thecamoeba striata* fueron las amibas con menor frecuencia, lo que señala su poca adaptación a este tipo de ambiente; esto concuerda con lo reportado por Ramírez *et al.* (2009, 2012).

7.4 Distribución espacial de las AVL en el sistema piloto de lodos activados.

En la figura 4 se observa el número total de aislamiento amibianos en el sistema piloto y en la tabla 4 la diversidad de amibas que hubo.

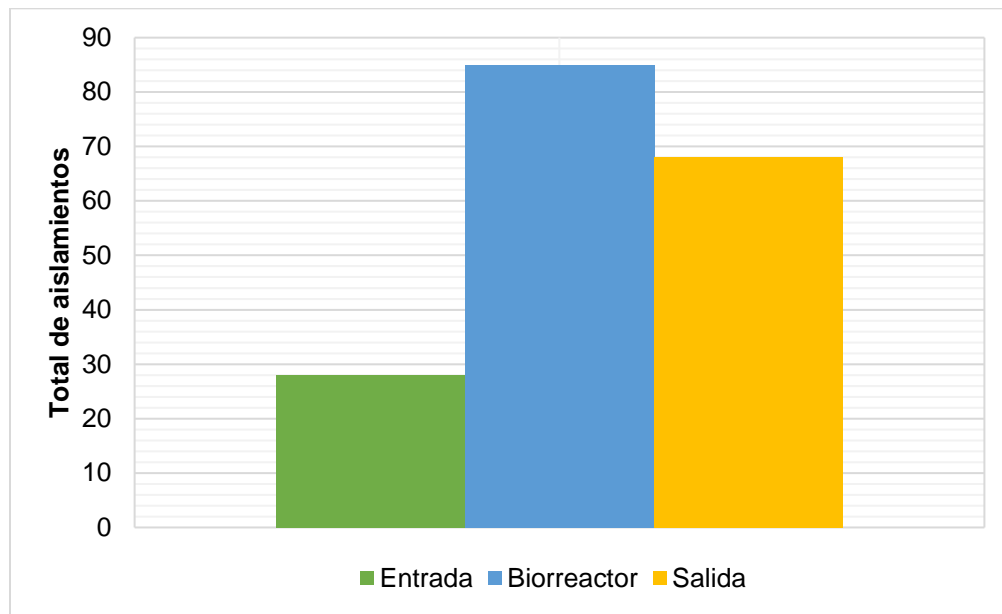


Figura 4. Número total de aislamientos de AVL en el sistema piloto de lodos activados.

Tabla 4. Diversidad de especies de AVL en el sistema piloto de lodos activados.

Especie	Entrada	Biorreactor	Salida
<i>Acanthamoeba astronyxis</i>	+	+	+
<i>Acanthamoeba polyphaga</i>	+	+	+
<i>Cochliopodium minus</i>	+	+	+
<i>Mayorella microeruca</i>	+	+	+
<i>Mayorella spatula</i>	+	+	+
<i>Naegleria sp.</i>	+	+	+
<i>Platyamoeba placida</i>	+	+	+
<i>Vannella platypodia</i>	+	+	+
<i>Vermamoeba vermiformis</i>	+	+	+
<i>Guttulinopsis vulgaris</i>	-	+	+
<i>Mayorella bicornifrons</i>	-	+	+
<i>Mayorella cultura</i>	-	+	+
<i>Vannella simplex</i>	-	+	+
<i>Hartmannella cantabrigiensis</i>	+	-	-
<i>Mayorella vespertilioides</i>	-	+	-
<i>Paratetramitus rostratus</i>	-	+	-
<i>Thecamoeba striata</i>	-	-	+
<i>Vahlkampfia entérica</i>	-	+	-
Número total de especies	10	16	14

En el contenedor de entrada se registró el menor número de aislamientos (28) y de especies de amibas (10), esto se puede explicar debido a que en ese sitio se recibía el agua sin tratar de los procesos de acabado y teñido de la textilera. Esto contrasta con lo que se observó en el biorreactor, cuyo punto del sistema obtuvo el mayor número de aislamientos (85) y de diversidad de especies (16); cabe mencionar que en dicho punto se encuentran las diferentes poblaciones de protozoos, y entre ellas las de AVL las cuales lograron alcanzar cierto grado de aclimatación al agua residual textil, debido a que el sistema tuvo un progresivo cambio de agua residual doméstica a residual textil (Pauletti, 2017). Además de que es aquí en donde se realizan los procesos biológicos de degradación de la materia orgánica por parte de las bacterias, que son el principal alimento de las AVL; otra de las razones que favoreció

la proliferación de esta, fue la continua inyección de oxígeno, ya que son organismos aerobios (Bonilla *et al.*, 2004). Este comportamiento coincide con lo reportado en otros trabajos realizados en sistemas de tratamiento de lodos activados (Ramírez *et al.*, 1993, 2014, 2015, 2017). En cuanto al contenedor de salida casi coincidió con el número de aislamientos (68) y de diversidad de amibas (14) con lo encontrado en el biorreactor.

7.5 Distribución temporal de las AVL en el sistema piloto de lodos activados.

En la figura 5 se muestra el número total de aislamientos en cada uno de los muestreos en el sistema (entrada, biorreactor y salida).

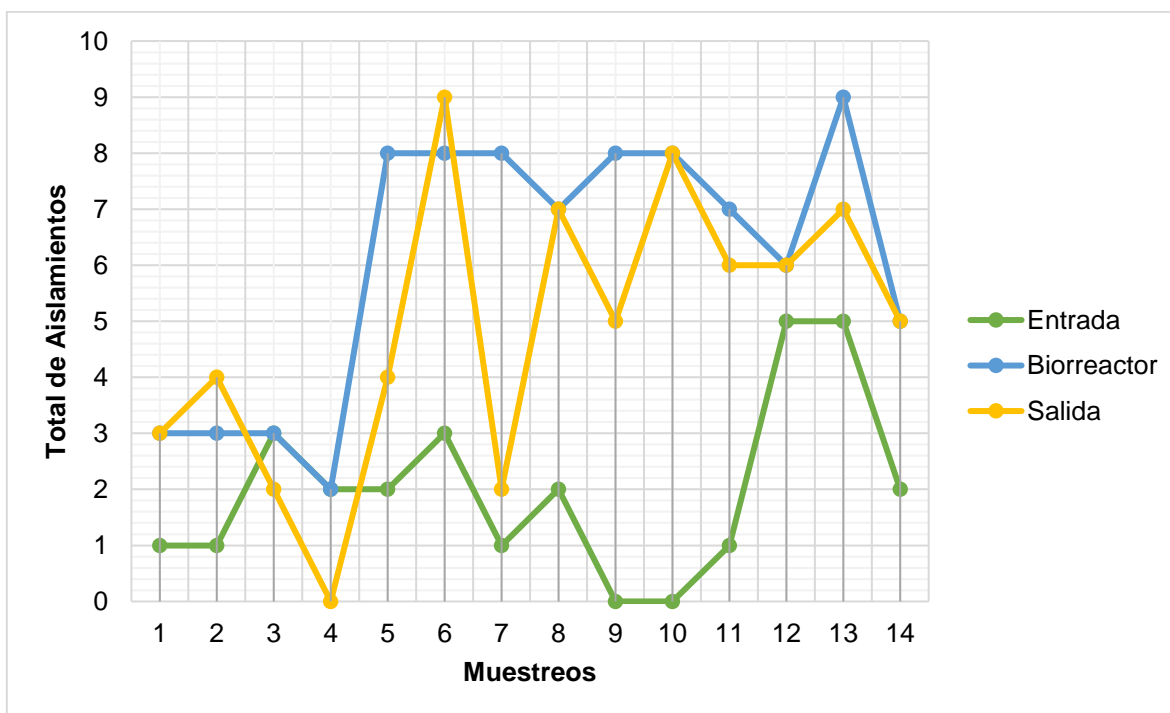


Figura 5. Distribución temporal de las AVL en el sistema piloto de lodos activados.

En el contenedor de entrada se pueden observar los efectos tan marcados que tuvieron los cambios de lote que ingresaba al sistema; las características fisicoquímicas de cada lote dependieron de los procesos que en el momento de la colecta del agua residual se realizaban en la textilera, estas características afectaron a la microbiota presente en el agua.

La producción en la industria textil se maneja de acuerdo a la temporada del año, diferenciando dos temporadas importantes, la de otoño-invierno y la de primavera-verano; en las que el tipo de telas y colores puede variar, lo que repercute en los compuestos químicos que se utilizan y que terminan en el agua residual (Luque, 2009).

Esto fue muy notorio en los muestreos 9 y 10, en donde no se aislaron amibas, lo que señala que el agua que ingresó al sistema en esos muestreos pertenecía al mismo lote. En cambio, en los muestreos 12 y 13 la composición del agua fue favorable para las amibas, permitiendo encontrar el mayor número de aislamientos.

El número de aislamientos amibianos en el biorreactor se mantuvo más o menos estable a partir del quinto muestreo. Las poblaciones amibianas aclimatadas al agua residual textil soportaron las variaciones en las características del agua que ingresó al sistema. Esto se observó claramente en los muestreos 9 y 10, cuando las características de ese lote no permitieron la presencia de amibas en el contenedor de entrada, pero esto no afectó a las poblaciones amibianas ya establecidas en el biorreactor. Por otro lado, el número de aislamientos de amibas en el contenedor de salida fue variable durante todo el estudio.

7.6 Distribución de las especies de AVL en el biorreactor.

En la tabla 5 se observa la distribución de las especies en el biorreactor a lo largo de los 14 muestreos. Se representó con 1 la presencia y con 0 la ausencia de la especie. Cabe mencionar que las amibas *Hartmannella cantabrigiensis* y

Thecamoeba striata no fueron aisladas en este punto del sistema, y por tanto no fueron agregadas al listado.

Tabla 5. Distribución temporal de las especies de AVL en el Biorreactor.

Especies	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	No. total de registros	(%)
<i>Acanthamoeba polyphaga</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	14	100
<i>Mayorella spatula</i>	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10	71.4
<i>Vannella platypodia</i>	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	9	64.2
<i>Guttulinopsis vulgaris</i>	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	8	57.1
<i>Vermamoeba vermiformis</i>	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	8	57.1
<i>Naegleria sp.</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	7	50
<i>Mayorella microeruca</i>	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	0	6	42.8
<i>Mayorella bicornifrons</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1	0	5	35.7
<i>Platyamoeba placida</i>	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	5	35.7
<i>Cochliopodium minus</i>	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	3	21.4
<i>Acanthamoeba astronyxis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	2	14.2
<i>Mayorella cultura</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	2	14.2
<i>Mayorella vesperilioides</i>	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	14.2
<i>Vannella simplex</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	2	14.2
<i>Paratetramitus rostratus</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	7.1
<i>Vahlkampfia enterica</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	7.1
Total, de especies	3	3	3	2	8	8	8	7	8	8	7	6	9	5	-	-

En los cuatro primeros muestreos (octubre a diciembre de 2016), el número de especies aisladas fue bajo (2-3); es importante tomar en cuenta que estos muestreos fueron los primeros con 100% de agua residual textil después del cambio progresivo de agua residual doméstica a textil que tuvo el sistema (Pauletti, 2017), y por tanto las poblaciones amibianas habían sido afectadas ya sea negativa o positivamente. A partir del muestreo cinco y hasta el muestreo trece el número de especies aumento (entre 7 y 9), probablemente dichas poblaciones lograron estabilizarse y aclimatarse a las condiciones de 100% de agua residual textil en el sistema. Sin embargo, hubo una disminución en el número de especies (5) en el muestreo catorce, esto sugiere que el lote de agua que ingresó al sistema tenía

ciertas características químicas que afectaron a las poblaciones amibianas del biorreactor.

7.7 Dinámica de las especies de AVL en el biorreactor.

El comportamiento de las especies de AVL en el sistema piloto de lodos activados durante el período de muestreo se observa en la figura 6.

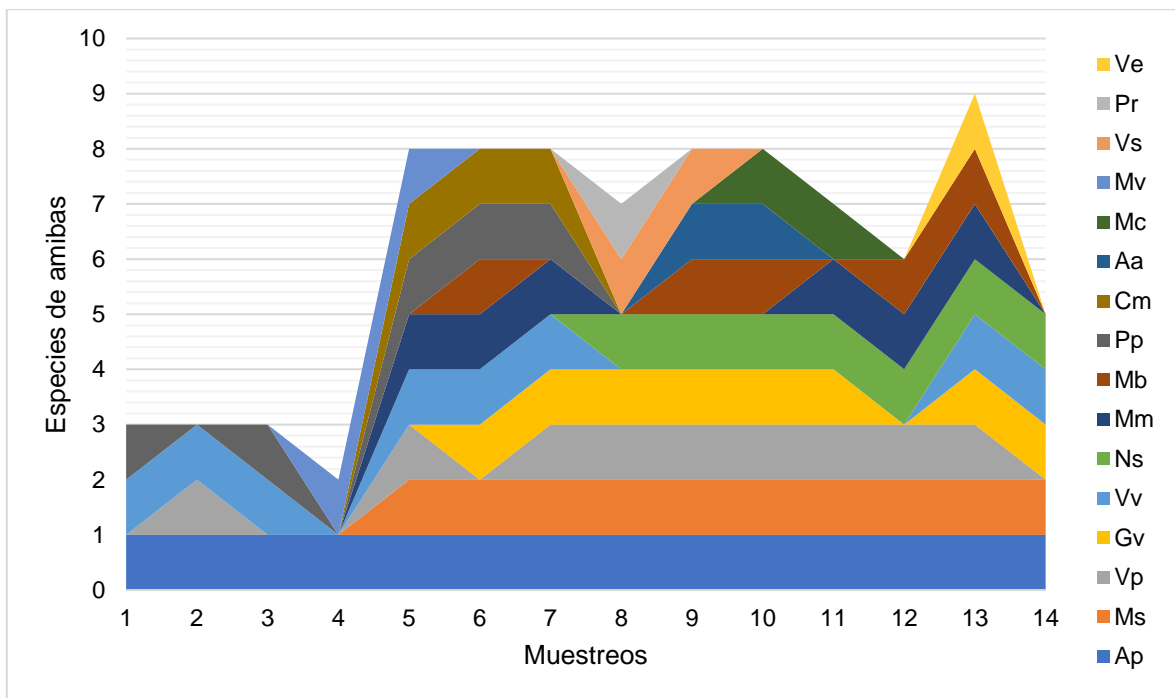


Figura 6. Dinámica de las especies de amibas en el biorreactor durante los muestreos. *Acanthamoeba polyphaga* (Ap), *Mayorella spatula* (Ms), *Vannella platypodia* (Vp), *Vermamoeba vermiformis* (Vv), *Platyamoeba placida* (Pp), *Naegleria sp.* (Ns), *Mayorella microeruca* (Mm), *Guttulinopsis vulgaris* (Gv), *Acanthamoeba astronyxis* (Aa), *Cochliopodium minus* (Cm), *Mayorella bicornifrons* (Mb), *Vannella simplex* (Vs), *Mayorella cultura* (Mc), *Mayorella vespertilioides* (Mv), *Paratetramitus rostratus* (Pr) y *Vahlkampfia enterica* (Ve).

Se observó que algunas especies aparecieron solamente en los primeros muestreos, tal fue el caso de *Cochliopodium minus*, *Mayorella vespertilioides* y *Platyamoeba placida*. Otras especies aparecieron a la mitad del período de estudio (entre el muestreo 8 y 11), pero solamente en 1 o 2 muestreos, tal cual fue el caso de *Paratetramitus rostratus*, *Vannella simplex*, *Acanthamoeba astronyxis* y *Mayorella cultura*, y una más solamente en el último muestreo (*Vahlkampfia avara*).

Algunas especies se presentaron intermitentemente durante el período de estudio, tal fue el caso de *Vermamoeba vermiformis*, *Mayorella microeruca* y *Mayorella bicornifrons*. A comparación de las especies que se presentaron en todos los muestreos (*Acanthamoeba polyphaga*) o en la mayoría de ellos (*Mayorella spatula*, *Vannella platypodia* y *Guttulinopsis vulgaris*).

Con la finalidad de agrupar las especies de amibas de acuerdo a su adaptación al agua residual textil, se tomaron en cuenta dos características biológicas importantes: la frecuencia y la distribución temporal de las especies, como se muestra en la Figura 7; obteniéndose así 5 grupos.

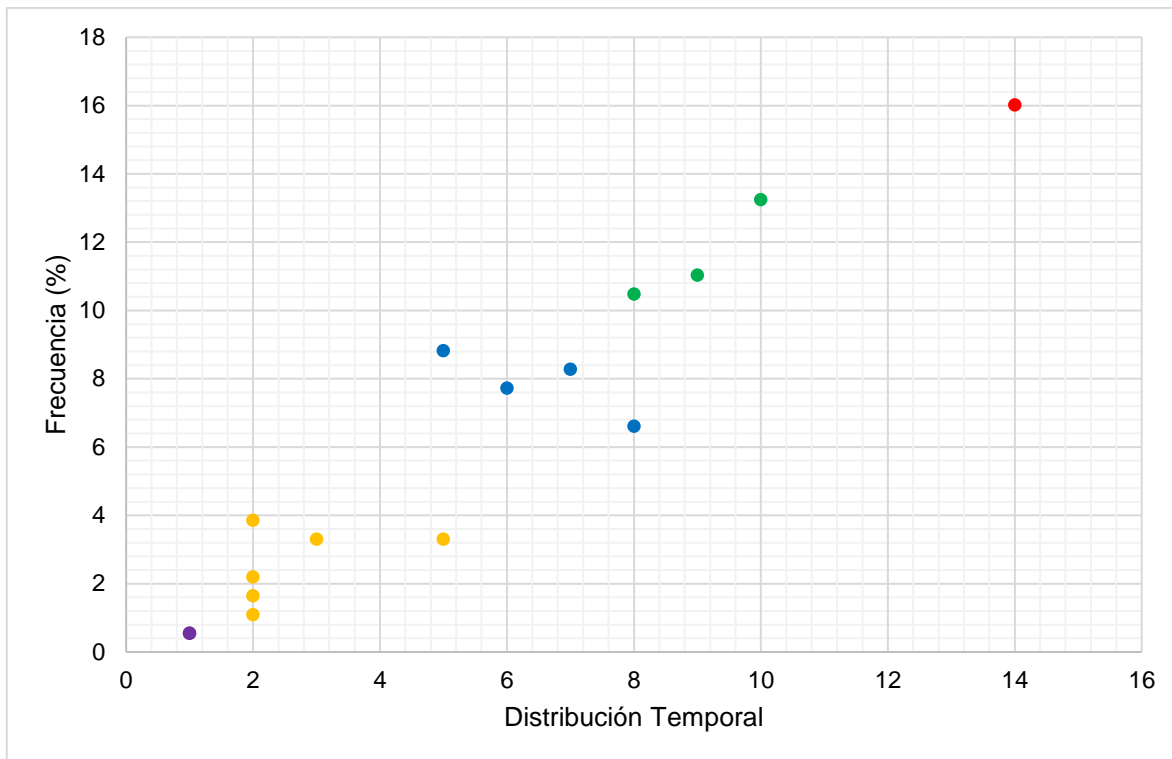


Figura 7. Diagrama de dispersión de las especies de AVL en el biorreactor de acuerdo a su frecuencia y a su distribución temporal.

Grupo 1 (morado): Estuvo constituido por 2 especies con distribución temporal muy baja (solo se encontraron en 1 muestreo) y frecuencia muy baja (menor del 1%): *Paratetramitus rostratus* y *Vahlkampfia enterica*. Estas especies forman quiste, pero no son tan resistentes como otras especies de amibas como para resistir las condiciones del agua residual textil, por lo que su presencia fue limitada.

Grupo 2 (amarillo): Estuvo constituido por 6 especies con distribución temporal baja (estuvieron entre 2 y 5 muestreos) y frecuencia baja (entre 1.1 y 3.8%): *Mayorella vespertilioides*, *Cochliopodium minus*, *Vannella simplex*, *Mayorella cultura*, *Mayorella bicornifrons* y *Acanthamoeba astronyxis*.

Se ha señalado que las amibas pueden presentar dos estrategias ecológicas para resistir condiciones adversas: producción de numerosos especímenes pequeños o formación de quiste (estructura de resistencia) (Rodríguez-Zaragoza, 1994). *Mayorella vespertilioides*, *Cochliopodium minus* y *Vannella simplex* no desarrollan

ninguna de estas estrategias, lo que explica su pobre adaptación al agua residual textil. *Mayorella cultura* y *Mayorella bicornifrons* son amibas pequeñas, pero no presentan quiste. En el caso de *Acanthamoeba astronyxis* es de tamaño medio y forma quiste, que se ha señalado como muy resistente (Page, 1988), sin embargo, tampoco proliferó en este ambiente.

Grupo 3 (azul): Estuvo constituido por 4 especies con distribución temporal de baja a media (estuvieron entre 5 y 8 muestreos) y frecuencia media (entre 6 y 8.8%): *Platyamoeba placida*, *Naegleria* sp., *Mayorella microeruca* y *Guttulinopsis vulgaris*. Las amibas de este grupo tuvieron un grado de adaptación media al agua residual textil en general, en algunos casos gracias a la formación de una estructura de resistencia (*Platyamoeba placida* y *Naegleria* sp.) y en otras, producción de numerosos especímenes pequeños (*Mayorella microeruca* y *Guttulinopsis vulgaris*). Por su parte *Guttulinopsis vulgaris* tiene además una fase de hongo, en donde presenta sorocarpos (estructura que facilita la dispersión de las esporas), lo que favorece su proliferación (Page, 1988).

Grupo 4 (verde): Estuvo constituido por 3 especies con distribución temporal de media a alta (estuvieron entre 5 a 8 muestreos) y frecuencia alta (entre 10 y 13.2%): *Vermamoeba vermiformis*, *Vannella platypodia* y *Mayorella spatula*. Estas amibas presentan la estrategia ecológica de producir numerosos especímenes pequeños, y *Vermamoeba vermiformis* si forma quiste; lo que explica su adaptación al agua residual textil.

Grupo 5 (rojo): Estuvo conformado solamente por una especie con distribución temporal muy alta (se encontró en los 14 muestreos) y frecuencia alta (16%): *Acanthamoeba polyphaga*. Esta amiba forma un quiste que tiene en su pared celulosa, lo que le confiere una gran resistencia a condiciones ambientales adversas; además de que cuenta con un rango de tolerancia a las características fisicoquímicas del medio muy amplio (Page, 1988; Ramírez *et al.*, 2005, 2014, 2015, 2017), lo que facilitó su proliferación en el agua residual textil.

7.8 Parámetros fisicoquímicos.



Figura 8. Valores de pH registrados en el sistema piloto de lodos activados durante todo el período de muestreo.

Como se muestra en la figura 8 el pH del contenedor de entrada se mantuvo en un intervalo de 7-7.9. Mientras que los valores de pH se incrementaron en el biorreactor, manteniéndose en la mayoría de los muestreos en valores que van de 7.6-8.5, esto pudo ser a causa de las reacciones de degradación de la materia por parte de las bacterias. Y en el contenedor de salida en general siguió un patrón similar de comportamiento que el biorreactor.



Figura 9. Valores de temperatura registrados en el sistema piloto de lodos activados durante todo el período de muestreo.

En la figura 9 se muestran los valores de la temperatura en los tres puntos del sistema; la temperatura del agua se mantuvo en un intervalo de 18 a 25 °C en el contenedor de entrada y de salida. Mientras que en el biorreactor la temperatura se mantuvo en un intervalo de 20 a 27 °C, esto debido a que el biorreactor contaba con un termostato que intentó mantener lo más estable posible.

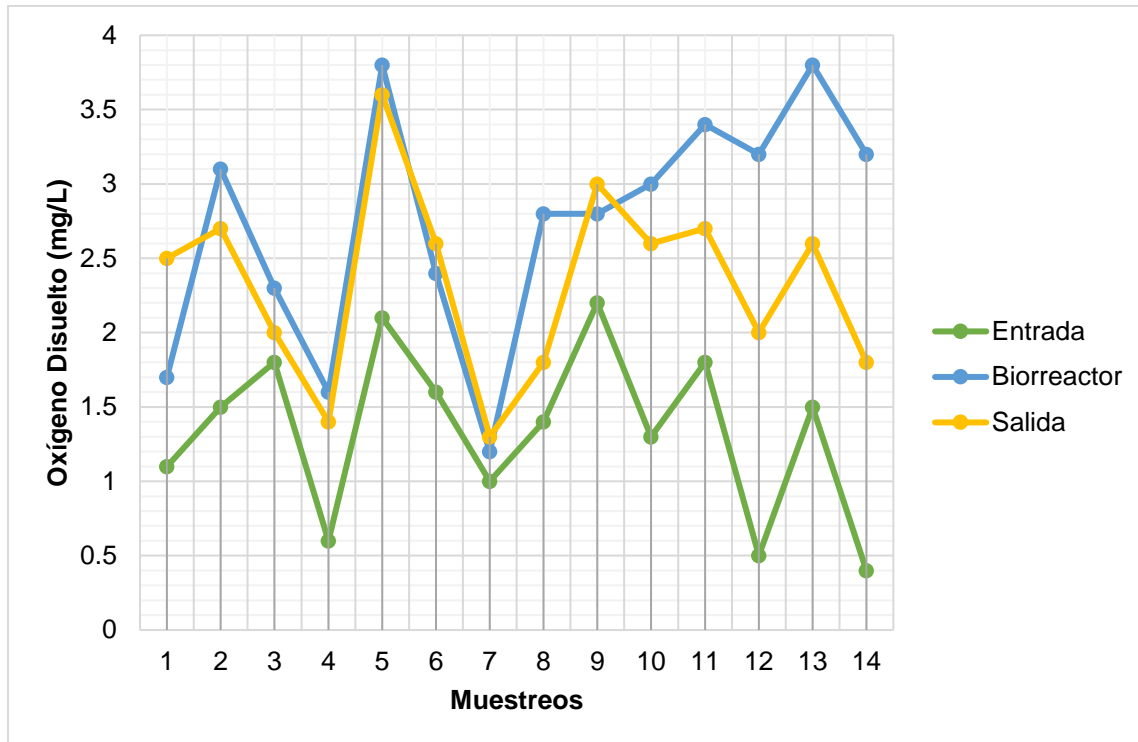


Figura 10. Valores de oxígeno disuelto registrados en el sistema piloto de lodos activados durante todo el período de muestreo.

En la figura 10 se observan los valores del oxígeno disuelto, los cuales fueron muy variables durante todo el período de muestreo en los tres puntos del sistema, teniendo los valores más altos el biorreactor (3.8 mg/L), debido a la constante inyección de oxígeno con la que contaba.

Lo intervalos que tuvieron los tres parámetros, ya han sido reportados para que las amibas de vida libre proliferen, el pH alrededor de la neutralidad, la temperatura arriba de los 15 °C, aunque estas temperaturas favorecen más a las amibas no patógenas, y el oxígeno arriba de 1mg/L (Bonilla *et al.*, 2004).

Correlación de la presencia de las AVL con los parámetros fisicoquímicos.

Los valores de la correlación de Pearson obtenidos se muestran en la tabla 6. En general no hubo relación entre la presencia de las AVL y los parámetros, ya que tanto el pH, temperatura y oxígeno disuelto estuvieron dentro de los rangos de tolerancia para las amibas, solamente en el caso del pH en el biorreactor hubo una relación moderada. Es conveniente mencionar que esta relación es válida para el intervalo de pH que se presentó en el periodo de estudio (Bonilla y Ramírez, 2014). Esto sugiere que existieron otros factores, como la composición química del agua residual textil que pudieron haber determinado la presencia de las AVL.

Tabla 6. Correlación entre los parámetros fisicoquímicos y la presencia de AVL en el sistema.

Pearson	pH	Temperatura	Oxígeno
Entrada	0.287016217	0.29015462	-0.25957041
Biorreactor	0.615089917	0.40638901	0.41380653
Salida	0.206533917	-0.19259256	0.38767616

8 Conclusiones.

- Hubo presencia de amibas de vida libre en el sistema piloto de lodos activados, principalmente en el biorreactor, a pesar de las características del agua residual textil.
- Las especies de amibas se agruparon de acuerdo a su adaptación al agua residual textil, tomándose en cuenta la frecuencia relativa y la distribución temporal que tuvieron.
- El género *Mayorella* presentó un alto grado de tolerancia al agua residual textil, lo que se refleja claramente en el número de especies que proliferaron, siendo en total 5; las especies de tallas pequeñas como *M. spatula* o *M. bicornifrons*, tuvieron mejor adaptación en comparación con las de tallas grandes como *M. vespertilioides*.
- *Acanthamoeba polyphaga* fue la amiba de vida libre que mejor se adaptó al agua residual textil, ya que tuvo la mayor frecuencia y la mejor distribución temporal; podemos atribuir dicha constancia en el sistema al quiste tan resistente que presenta y al amplio rango de tolerancia que tiene esta amiba.
- Los parámetros fisicoquímicos (pH, temperatura y oxígeno disuelto) no mostraron relación con las amibas de vida libre, pero estuvieron en los intervalos adecuados para la presencia de las amibas.

9 Bibliografía.

- Abdul-Majid M., Mahboob T., Mong B., Jaturas N., Richard R., Tian-Chye T., Tian-Chye T., Phimphila A., Mahaphonh P., Nyein-Aye K., Lynn-Aung W., Chuah J., Ziegler A., Yasiri A., Sawangjaroen N., Lim Y. y Nissapatorn V. 2017. Pathogenic waterborne free-living amoebae: An update from selected Southeast Asian countries. PLOS ONE Vol. 12. No. 2. Pag. 17.
- Açikalin-Coskun K., Özçelik S., Tutar L., Elaldi N., Tutar Y. 2013. Isolation and Identification of Free-Living Amoebae from Tap Water in Sivas, Turkey. BioMed Research International. Vol. 2013. Article ID 675145. Pag. 8.
- Appels L., Baeyens J., Degreve J., Dewil R. 2008. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. Progress in Energy and Combustion Science. No. 34. Pag. 755-781.
- Arroyo-López M., Cárcamo-Solís M. 2010. La evolución histórica e importancia económica del sector textil y del vestido en México. Economía y Sociedad. Vol. XIV. No. 25. Pag. 51-68.
- Avendaño-Villafranca L. 2011. Estudio de la población de bacterias nitrificantes y su relación con los parámetros fisicoquímicos, biológicos y operacionales en una EDAR con sistema convencional de Fangos Activos. Trabajo final de Máster. Universidad Politécnica de Valencia. Pag. 107.
- Bass D., Silberman J., Brown M., Pearce R., Tice A., Jousset A. Geisen S. y Hartikaine H. 2016. Coprophilic amoebae and flagellates, including Guttulinopsis, Rosculus and Helkesimastix, characterise a divergent and diverse rhizarian radiation and contribute to a large diversity of faecal associated protists. Environmental Microbiology. Pag. 15.
- Bonilla P., Ramírez E., Ortiz R., Eslava C. 2004. La ecología de las amibas de vida libre en ambientes acuáticos. En: *Microbiología Ambiental* (I. Rosas, A. Cravioto, E. Ezcurra, Eds.). SEMARNAT, INE, PUMA-UNAM, México, Pag. 67-81.

- Bonilla P. y Ramírez E. 2014. Amibas de vida libre patógenas y oportunistas. En: *Parasitología Médica*. M.A. Becerril (ed). 4° Edición. McGraw-Hill Interamericana. México. Pag. 37-50.
- Charpentier J. 2014. Tratamiento de Aguas Residuales con Lodos Activados. Cuaderno Tecnológico No. 6. Instituto Nacional de Tecnología Industrial. Pag. 43.
- Coelho-Belchiora C., Matos-Araujo R., y Cardoso-Landek J. 2012. Dissolved oxygen control of the activated sludge wastewater treatment process using stable adaptive fuzzy control. University of Coimbra, 3030-290 Coimbra, Portugal. Pag. 12.
- Comisión Nacional del Agua. 2007. Manual de Agua Potable, Alcantarillado y Saneamiento. Sistemas Alternativos de Tratamiento de Aguas Residuales y lodos Producidos. Disponible en: <http://www.cecodes.net/manuales/MANUAL%20DE%20AGUA%20POTABLE,%20ALCANTARILLADO%20Y%20SANEAMIENTO.pdf>
- Corsaro D., Saucedo-Pages G., Catalan V., Loret J., Greub G. 2010. Biodiversity of amoebae and amoeba-associated bacteria in water treatment plants. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* No. 213. Pag. 158-166.
- DEO. State of Michigan Department of Environmental Quality. Activated Sludge Process Control. Training Manual for Wastewater. Treatment Plant Operators. Disponible en: https://www.michigan.gov/documents/deq/wrd-ot-activated-sludge-manual_460007_7.pdf
- Durán A., Cisneros A., Vargas A. 2003. Bioestadística. UNAM FES Iztacala. Pag. 136-144.
- García-Gómez C., Gortáres-Moroyoqui P., Drogui P. 2011. Tratamientos biológicos y de oxidación avanzada combinados para una solución a la biotecnología ambiental. *Ide@s CONCYTEG*, Vol. 6 No. 71. Pag. 585-605.
- Hassan N., Moniruzzaman., Kabir H., Rahman M., Islam R. 2014. Treatment of Textile Wastewater by Electro-coagulation and Activated Sludge Process. *International Journal of Chemical Studies*. Vol. 1. No. 6. Pag. 58-63.

- ITAM. Publicación del Centro de Estudios de Competitividad. 2008. La Industria Textil en México: Diagnóstico, Prospectiva y Estrategia. Disponible en:
<http://libroweb.alfaomega.com.mx/book/385/free/data/Materiales/Capitulo12/EstudioSectorialIndustriaTextil.pdf>
- Laconte L., Rivero F., Lujan H., Casero R. 2008. Caracterización morfológica, fisiológica y molecular de aislamientos de amebas de vida libre (Acanthamoeba) obtenidas del medio ambiente y de pacientes con queratitis amebiana. Departamento de Parasitología Hospital de Clínicas. Facultad de Ciencias Médicas. Pag. 14.
- Lee N. y Welander T. 1996. Reducing Sludge Production in Aerobic Wastewater Treatment Through Manipulation of the Ecosystem. Wat. Res. Vol. 30. No. 8, Pag. 1781-1790.
- LEY DE AGUAS NACIONALES. Nueva Ley publicada en el Diario Oficial de la Federación el 1º de diciembre de 1992. TEXTO VIGENTE Última reforma publicada DOF 24-03-2016. Disponible en:
http://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/16_240316.pdf
- Limón-Macías J. 2013. Los Lodos de Las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales, ¿Problema o Recurso? Disponible en:
http://www.ai.org.mx/ai/images/sitio/201309/ingresos/jglm/doc_ingreso_qualberto_limon_trabajo_de_ingreso.pdf
- López-Grimau V. y Crespi-Rosell M. 2015. Gestión de los efluentes de la industria textil. Cuaderno Tecnológico No. 18. Pag. 21.
- Luque N. 2009. Plan de negocios para producir y comercializar confecciones con un excelente nivel de diseño y calidad, siñendonos al cumplimiento cabal que exige el marco de la responsabilidad social empresarial, con énfasis en el capital humano. Pontificia Universidad Javeriana Facultad de Ciencias Económicas y Administrativas. Bogotá D.C. Pag. 59-70.
- Maisonneuve E., Cateau E., Kaaki S., Rodier M. 2016. Vermamoeba vermiformis-Aspergillus fumigatus relationships and comparison with other phagocytic cells. Parasitol Res. DOI 10.1007/s00436-016-5182-3. Pag. 9.

- Mendoza-Hernández J., Martínez-Tecuatl N., Jaramillo-Hernández O., Arriola-Morales J., Pérez-Osorio G., Espinosa-Aquino B. 2010. Biodegradación de Colorantes Textiles mediante *Sphingobacterium multivorum* y *Acinetobacter haemolyticu*. Revista Latinoamericana el ambiente y las ciencias. Vol. 1 No. 1. Pag. 13.
- Moellar-Chávez G., Sandoval-Yoval L., Mijaylova-Nacheva P. 2013. Evaluación de diferentes procesos de tratamiento para la remoción de colorantes sintéticos utilizados en la industria textil. SEMARNAT. Coordinación de Tratamiento y Calidad del Agua. Disponible en: <http://repositorio.imta.mx/bitstream/handle/20.500.12013/1406/TC-1223.1.pdf?sequence=1>
- Morales-Guzmán F. y Melgoza–Alemán R. 2009. Tratamiento del Colorante Azo Rojo Directo 23 mediante Reactores Discontinuos Secuenciados Anaerobios/Aerobio. Información Tecnológica Vol. 20. No. 1. Pag. 73-82.
- NOM-CCA-014-ECOL/1993. Disponible en: http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4794015&fecha=18/10/1993
- Noyola A., Morgan-Sagastume J., Güereca L. 2013. Selección de Tecnologías para el Tratamiento de Aguas Residuales Municipales. Instituto de Ingeniería de la UNAM. Disponible en: http://www.pronatura-sur.org/web/docs/Tecnologia_Aguas_Residuales.pdf
- Page F. C. 1988. A new key to freshwater and soil Gymnamoebae with instructions for culture. Culture Collection of Algae and Protozoa. Cumbria. Pag. 122.
- Pauletti S. F. 2017. Amibas de vida libre en un gradiente de agua residual doméstica a gua residual textil. Tesis de licenciatura. FES Iztacala. Pag. 37.
- Ramírez E., Warren A., Rivera F., Bonilla P., Rodríguez S., Calderón A., Ortíz R. Gallegos E. 1993. An Investigation of the Pathogenic and Nonpathogenic Free-Living Amoebae in an Activated-Sludge Plant. Water, Air, and Soil Pollution Vol. 69. Pag. 135-139.

- Ramírez E., Robles E., Bonilla P., Sainz G., López M., De La Cerda J., Warren A. 2005. Occurrence of Pathogenic Free-Living Amoebae and Bacterial Indicators in a Constructed Wetland Treating Domestic Wastewater from a Single Household. *Eng. Life Sci.* Vol. 5. No. 3. Pag. 6.
- Ramírez E., Robles E., Sainz M., Ayala R., y Campoy E. 2009. Calidad Microbiológica del Acuífero de Zacatepec, Morelos, México. *Rev. Int. Contam. Ambient.* Vol. 25. No. 4. Pag. 247-255.
- Ramírez E., Robles E., Ayala R., y Martínez B. 2012. Calidad amebológica del agua de pozos utilizados para suministro de agua potable en el Estado de Hidalgo. *Ingeniería* Vol. 16. No. 3. Pag. 219-228.
- Ramírez E., Robles E., Martínez B., Ayala R., Sainz M., Martínez M., y González M. 2014. Distribution of free-living amoebae in a treatment system of textile industrial wastewater. *Experimental Parasitology* Vol. 145. Pag. 34-38.
- Ramírez E., Martínez B., González M., Robles E., Choncohua E., Galan C. 2015. Microbiological and Physicochemical Characteristics of a Pilot Plant of Activated Sludge. *International Journal of Engineering Research & Technology.* Vol. 4 No. 6. Pag. 5.
- Ramírez E., Ibarra D., Robles E., Sainz M., Martínez M., Ayala R., Correa-Metrio A. y Rivera-Aguilar V. 2017. Occurrence of Gymnamoebae and physico-chemical parameters in an industrial wastewater treatment system. *Global Advanced Research Journal of Microbiology.* Vol. 6. No. 4. Pag. 13-20.
- Rivera F., García G., Lugo A., Zierold E., Islas J., Ramírez E., Bonilla P. 1986. Amoebae in waste stabilization pond system in México. *Air, Water Soil Poll.* Vol. 28. Pag. 185-198.
- Rivera F., Rodríguez S., Warren A., Bonilla P., Ramírez E., Calderón A., Ortiz R. 1993. An investigation of the pathogenic and non-pathogenic free-living amoebae from the root zone method of wastewater treatment. *Water, Air Soil Poll.* Vol. 69. Pag. 93-98.

- Rodríguez-Zaragoza. S. 1994. Ecology of Free-Living Amoebae. Microbio. Vol. 20. No. 3. Pag. 225-241.
- Salazar-Gómez L., Crespi-Rosell M., Salazar R. 2009. Tratamiento de aguas residuales textiles mediante un biorreactor de membrana. Ingeniería & Desarrollo. Universidad del Norte. No. 26. Pag. 83-99.
- Salvado H., Mas M., Menéndez S. y Gracia P. 2001. Effects of Shock Loads of Salt on Protozoan Communities of Activated Sludge. Acta Protozool. Vol. 40. Pag. 177-185.
- Sánchez-Mares F. 2005. Software para diseñar sistemas de lodos activados y lagunas aireadas. Conciencia Tecnológica. No. 27-30.
- Scheikl U., Sommer R., Kirschner A., Rameder A., Schrammel B., Zweimüller I., Wesner W., Hinker M., Walochnik J. 2014. Free-living amoebae (FLA) co-occurring with legionellae in industrial Waters. European Journal of Protistology Vol. 50. Pag. 422-429.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT); Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). 2014. Estadísticas del Agua en México edición 2014. Disponible en: <http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Publicaciones/Publicaciones/EAM2014.pdf>
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT); Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). 2016. Estadísticas del Agua en México edición 2016. Disponible en: http://201.116.60.25/publicaciones/EAM_2016.pdf
- Varila-Quiroga J. y Díaz-López F. 2008. Tratamiento de aguas residuales mediante lodos activados a escala laboratorio. Revista de Tecnología - Journal of Technology. Vol. 7. No. 2. Pag. 21-28.
- Visvesvara G. S. 2014. Pathogenic and Opportunistic Free-living Amoebae: Agents of Human and Animal Disease. In: Farrar J, White NJ, Hotez PJ, Junghans T, Lalloo, Kang G, (eds). Manson's Tropical Infectious Diseases. 23th ed. China. Elsevier Saunders. Pag. 683-691.