



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

DISTRIBUCIÓN TEMPORAL Y ESPACIAL DE AMIBAS DE VIDA LIBRE PRESENTES EN POZOS DE LA ZONA SUROESTE DEL ACUÍFERO DE ZACATEPEC, MORELOS.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE BIÓLOGO

PRESENTA:

VICENTE PÉREZ BRENDA PATRICIA

DIRECTORA DE TESIS: M. en C. ELIZABETH RAMÍREZ FLORES

Los Reyes Iztacala, Estado de México 2009



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.

AGRADECIMIENTOS

Por todas las facilidades brindadas para la realización de este trabajo les doy mi agradecimiento a la:

Subgerencia de Explotación y Monitoreo Geohidrológico

Gerencia de Aguas Subterráneas

Subdirección General Técnica

Comisión Nacional del Agua (CNA)

Por todas las facilidades brindadas y su participación en los muestreos les doy mi agradecimiento a la:

Subgerencia de Agua Subterránea

Dirección Técnica

Dirección General del Organismo de la Cuenca del Río Balsas

Comisión Nacional del Agua (CNA)

Agradecimiento al programa PAPCA de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala por el apoyo económico para la realización de esta tesis.

DEDICATORIA

Principalmente a mis papás Refugio y Arturo por su incondicional apoyo, paciencia, comprensión, consejos, amor y constancia, por que sin ellos esto no hubiera sido posible, ya que siempre fueron mi principal motivo para salir adelante a pesar de pequeñas dificultades, gracias por depositar un poco de su confianza, esto es de ustedes y para ustedes, los Amo.

A mis hermanas Ivonne, Adriana y a mi tía Paty por que la carrera y este trabajo de tesis lo llevé acabo con ustedes a mi lado, siempre fueron mi compañía, mi motivación; gracias por no dejarme caer y por que ustedes sufrieron y disfrutaron conmigo lo que la carrera me ofrecía, gracias por estar aquí, ser mis confidentes y amigas, las quiero mucho.

A mis primas y primos que son casi hermanos, gracias por acompañarme, y preocuparse, gracias por todo lo que me han dado, los quiero mucho.

A mis tías y tíos también agradezco su confianza y su apoyo, especialmente quiero agradecer a uno de mis tíos que siempre se preocupó por mi desempeño y estuvo al pendiente de mi, donde sea que estés, gracias por todo lo que me diste.

A mis amigos, con los cuales conseguí una segunda gran familia feliz, y con los que compartí desde los primeros semestres conocimientos y experiencias inolvidables que no cambiaría por nada, gracias también por creer en mi, me siento muy afortunada por caminar a lo largo de la carrera con ustedes y espero nuestra amistad siga aún después de terminar esta etapa.

A muy contados profesores, de los cuales aprendí un poco de conocimiento que compartieron conmigo, y que me hicieron ver lo maravilloso de esta carrera, a no darme por vencida y agradezco su apoyo y confianza.

A aquellas personas que aun que no son de mi familia, siempre me demostraron su apoyo y estuvieron al pendiente de mi, gracias por sus consejos y su tiempo me siento muy feliz de poder contar con ustedes.

A la profesora Elizabeth por su paciencia, comprensión, apoyo, por compartir sus conocimientos y su tiempo, por confiar en esta tesis, por sus consejos, gracias por todo.

Por que no hay nada más bonito que compartir un sueño, y yo lo compartí y lo hice realidad con todos ustedes....gracias.

Contenido

INTRODUCCIÓN	7
MARCO TÉORICO	8
AMIBAS DE VIDA LIBRE.	8
Naegleria	8
Acanthamoeba	8
Balamuthia	9
Sappinia	9
Ciclo de vida	9
ACUÍFEROS	10
ANTECEDENTES	11
JUSTIFICACIÓN	14
OBJETIVOS	15
ZONA DE ESTUDIO	15
Localización.	15
Clima	15
Aguas subterráneas	15
MATERIAL Y MÉTODOS	18
Trabajo en Campo	18
Trabajo en Laboratorio	18
Siembra.	18
Identificación	18
Prueba de temperatura	18
Análisis estadístico	18
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
POZO TEQUESQUITENGO	26
POZO SANTA MARÍA	27
UNIDAD ALIANZA	29
TLALQUITENANGO	30
LAS JUNTAS	32
Análisis estadístico	34
CONCLUSIONES	35
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Localización del acuífero de Zacatepec en el Estado de Morelos.	16
Figura 2 Localización de los pozos en la zona suroeste del Estado de Morelos.	17

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Localización de los pozos en el suroeste del estado de Morelos.	17
Tabla 2 .Presencia y ausencia de Amibas de Vida Libre en los pozos estudiados	19
Tabla 3. Especies amibianas encontradas en los pozos.	20
Tabla 4 Riqueza especifica de AVL en pozos del acuífero de Zacatepec, Mor.(Octubre 2006 – Marzo 2007)	22
Tabla 5 Riqueza especifica de AVL en pozos del acuífero de Zacatepec. Mor. (Abril 2007 – Septiembre 2007)	23

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1 Frecuencia de aislamientos de Amibas de Vida Libre.	21
Gráfica 2. Distribución temporal de las AVL en el acuífero de Zacatepec.	24
Gráfica 3. Variación temporal de los parámetros fisicoquímicos.	25
Gráfica 4. Distribución espacial de las AVL en el acuífero de Zacatepec.	25
Gráfica 5. Variación espacial de parámetros fisicoquímicos.	26
Gráfica 6. Aislamientos de AVL en el pozo Tequesquitengo.	26
Gráfica 7. Parámetros fisicoquímicos Tequesquitengo.	27
Gráfica 8. Aislamientos de AVL en el pozo Sta. María.	28
Gráfica 9. Parámetros fisicoquímicos en el Pozo Sta. María.	28
Gráfica 10. Aislamientos obtenidos en el pozo U. Alianza.	29
Gráfica 11. Parámetros fisicoquímicos del pozo U. Alianza.	30
Gráfica 12. Aislamientos obtenidos en el pozo Tlalquitenango.	31
Gráfica 13. Parámetros fisicoquímicos en el pozo Tlalquitenango.	31
Gráfica 14. Aislamientos obtenidos en el pozo las Juntas.	32
Gráfica 15. Parámetros fisicoquímicos en el pozo las Juntas.	33

RESUMEN

Los protozoos patógenos tienen importancia en la calidad del agua, pues ésta es un vehículo para la transmisión de la mayoría de enfermedades. Los principales mecanismos en la transmisión son la ingestión de agua contaminada, el contacto y la recontaminación del agua por una mala higiene doméstica. Entre los protozoos están las amibas de vida libre (AVL), que están ampliamente distribuidas en la naturaleza (agua, tierra, aire), además algunas especies de los géneros *Naegleria*, *Acanthamoeba*, *Balamuthia* y *Sappinia* son patógenas para el hombre. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la distribución temporal y espacial de Amibas de Vida Libre presentes en pozos de la zona suroeste del acuífero de Zacatepec, Morelos. Se muestrearon cinco pozos ubicados en las localidades de Jojutla, Puente de Ixtla, Zacatepec, Tlalquitenango y Tlaltizapan. Se realizaron muestreos mensuales a lo largo de un año, en los que se recolectaron 1000 ml. de agua subterránea en envases previamente esterilizados y transportados a temperatura ambiente al laboratorio. En el sitio de muestreo se midieron tres parámetros fisicoquímicos pH, Oxígeno disuelto (O.D) 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; se realizaron pruebas de temperatura a 37° C y 42°C. La identificación morfológica se realizó acorde a las claves de Page (1988), tomando en cuenta las características morfológicas del quiste y el trofozoíto. El pozo con mayor número de aislamientos fue Tlalquitenango con 25, mientras que Tequesquitengo presentó el menor número de aislamientos con 18. El mes con mayor número de aislamientos fue diciembre con 13 mientras abril solo presentó 3. Se encontraron 21 diferentes especies de Amibas de Vida Libre pertenecientes a 16 géneros. El género encontrado con mayor frecuencia fue *Hartmannella vermiformis* con el 33.65 %. Las que fueron encontradas con menor frecuencia son: *Vahlkampfia avara*, *Thecamoeba corrugata*, *Stachiamoeba lipophora*, *Tetramitus rostratus*, *Saccamoeba stagnicola*, *Echinamoeba silvestris*, *Vannella platypodia*, *Mayorella culturata*, y *Acanthamoeba polyphaga*, todas con 0.96%. De las amibas con potencial patógeno se encontraron *Acanthamoeba polyphaga* y *Acanthamoeba royreba* ambas con bajos números de aislamientos. Otro género presente fue *Naegleria sp.* con baja frecuencia, que por las características morfológicas del quiste, probablemente pertenezca a la especie *N. gruberi*, la cual no ha sido reportada como patógena.

INTRODUCCIÓN

El agua es una de las sustancias más abundantes e importantes de la tierra; sostiene tanto a plantas como a la vida animal, desempeña un papel importante en la formación del clima, ayuda a dar forma a la superficie del planeta, mediante la erosión y otros procesos, y cubre aproximadamente el 70 % de la superficie de la tierra.

El agua circula continuamente entre la superficie de la tierra y su atmósfera en un proceso que se denomina ciclo hidrológico, siendo éste uno de los procesos básicos de la naturaleza. El agua de mar, de los ríos, de los lagos, del suelo y de la vegetación, al responder al calor del sol y a otras influencias, se evapora en el aire y se convierte en vapor de agua. Este vapor asciende a la atmósfera, se enfría y se convierte en agua líquida o hielo, formando las nubes. Cuando estas gotas de agua o cristales de hielo alcanzan el tamaño suficiente, regresan a la superficie de la tierra en forma de lluvia o de nieve. Ya en la superficie, pasa por la siguiente situación: una parte se filtra en el suelo donde puede ser absorbida por las plantas o circula hacia los depósitos de agua subterránea; otra porción se evapora.

La mayor cantidad de agua se encuentra en estanques, ríos, océanos, riachuelos, lagos, charcos, y otros lugares sobre la superficie. Las aguas subterráneas son las aguas que se encuentran bajo la superficie terrestre. Se encuentran en el interior de poros entre partículas sedimentarias y en las fisuras de las rocas más sólidas (Jiménez, 2002).

Una de las fuentes más importantes que abastecen de agua al hombre para sus actividades, lo constituyen los reservorios subterráneos. En ellos se encuentra el 95 % del agua dulce fluida disponible en los continentes. La manera más evidente de reconocer estas aguas es a través de manantiales u observando su extracción por medio de pozos o galerías de infiltración. Sin embargo, pocas veces se advierte que el agua que corre por los cuerpos de agua superficiales en las épocas secas, cuando la precipitación no ocurre o es mínima, proviene también de los reservorios subterráneos (Jiménez, 2002).

El término “calidad del agua potable” expresa el conjunto de caracteres físicos, químicos y biológicos que se deben satisfacer con el fin de que el agua que se suministra sea segura para el consumo humano.

Los protozoos patógenos tienen importancia en la calidad del agua, pues ésta es un vehículo para la transmisión de la mayoría de enfermedades. Los principales mecanismos en la transmisión son la ingestión de agua contaminada, el contacto y la recontaminación del agua por una mala higiene doméstica. Entre los protozoos están las amibas de vida libre (AVL), que están ampliamente distribuidas en la naturaleza (agua, tierra, aire), además algunas especies de los géneros *Naegleria*, *Acanthamoeba*, *Balamuthia* y *Sappinia* son patógenas para el hombre (Schuster y Visvesvara, 2004).

Las rutas de entrada al organismo son las mucosas nasales, oculares y dérmicas; la invasión es selectiva como en el caso de *Acanthamoeba*, que ocurre en personas con alguna depresión y/o resistencia inmunológica disminuida, por lo que la presencia de estas amibas en el agua representa mayor importancia en cuanto a la calidad del agua para diversos usos (agua para

consumo humano, agua para recreación y agua para irrigación de vegetales frescos de consumo directo) (Beltrán y Uyema, 1997).

MARCO TEÓRICO

AMIBAS DE VIDA LIBRE.

Las amibas de vida libre (AVL) son protozoos que se encuentran en diferentes tipos de ambientes como son: estanques, ríos, arroyos, lagos, piscinas, sistemas de tratamiento de agua residual, corrientes subterráneas e incluso agua de tuberías y envasada, así como también, en soluciones acuosas para lentes de contacto y en el aire. Son de distribución cosmopolita y como organismos oportunistas algunos son invasivos capaces de producir infecciones en el sistema nervioso central (SNC), como son la meningoencefalitis amebiana primaria (MAP), encefalitis amebiana granulomatosa y la queratitis amebiana (Bonilla *et al.*, 2004).

Por su capacidad de sobrevivir en el ambiente como de vida libre y también como endoparásitos, ha sido propuesto el término de *anfizoicas*. Las temperaturas elevadas favorecen la proliferación de algunas especies patógenas, por lo que se les encuentra con frecuencia en aguas termales naturales y en aguas contaminadas térmicamente por descargas industriales. Las AVL son capaces de sobrevivir a temperaturas extremas desde menos de 4 °C hasta más de 45 °C y el enquistamiento es la manera como las amibas responden a las variaciones ambientales que amenazan su existencia; además de la presencia de un adecuado abastecimiento de alimento, insuficiente cloro residual (en el caso de áreas de natación) mínima competencia con otros protozoos, pH entre 5.5 y 8.5 y óptimos niveles de oxígeno (Bonilla *et al.*, 2004).

Características morfológicas de los géneros de amibas con potencial patógeno:

Naegleria

El trofozoíto de *Naegleria* presenta una forma alargada característica, por lo que se le conoce como amiba limax, mide entre 15 y 25 μm ; su locomoción es por medio de lobópodos. Se reproduce por fisión nuclear (promitosis). El quiste es esférico mide de 8 a 12 μm de diámetro, con una pared doble lisa, con uno o dos poros planos. Las amibas de este género presentan una forma flagelada piriforme, que es fácilmente reversible a la etapa de trofozoíto (Schuster y Visvesvara, 2004).

Naegleria fowleri causa una infección aguda que afecta al sistema nervioso central (SNC) llamada Meningoencefalitis amebiana primaria (MAP). El mayor número de casos se ha presentado en niños y jóvenes previamente sanos con antecedente de haber nadado durante el verano en cuerpos de agua naturales contaminados o artificiales inadecuadamente clorados. La ruta de invasión de *N. fowleri* es a través de la aspiración por las fosas nasales del agua contaminada; los trofozoítos invaden la mucosa olfatoria, atraviesan el nervio olfativo, la lámina cribiforme y llegan al espacio subaracnoideo. En el análisis histopatológico de los tejidos, solamente se han observado trofozoítos (Bonilla *et al.*, 2004)

Acanthamoeba

El trofozoíto de *Acanthamoeba* es más grande que el de *Naegleria* (entre 24 y 56 μm), se caracteriza por presentar pseudópodos finos llamados acantópodos. Se divide por fisión binaria por medio de una mitosis típica. El quiste es ornamentado, mide entre 11 y 25.3 μm de diámetro, presenta una pared doble y poros en la unión del ectoquiste y el endoquiste.

Una infección causada por *Acanthamoeba* spp. es la Queratitis Amibiana (QA). Esta es una inflamación crónica en la córnea que puede causar la pérdida del ojo. Las amibas invaden el estroma corneal por una solución de continuidad del epitelio, debido a un traumatismo menor o abrasión de la córnea. Los principales factores de riesgo son el uso de lentes de contacto suaves, uso de soluciones salinas caseras, exposición a agua contaminada y traumatismos menores del ojo. Otros factores que favorecen el establecimiento de la Queratitis amibiana (QA) son la producción de lágrimas con baja actividad microbiana y la contaminación bacteriana secundaria (Bonilla *et al.*, 2004)

Balamuthia

El trofozoíto de *Balamuthia mandrillaris* es el más grande de los tres géneros patógenos, mide entre 12 y 60 μm . Tiene forma irregular, algunas veces presenta la forma limax, en otras, adopta una forma de araña con seudópodos no ramificados. El quiste mide entre 6 y 30 μm , su pared densa está compuesta por 3 capas y no presenta poros (Schuster y Visvesvara, 2004).

En el caso de *Balamuthia* al igual que *Acanthamoeba* spp. son organismos oportunistas capaces de producir encefalitis amibiana granulomatosa (EAG). Se presenta en individuos inmunosuprimidos o inmunodeficientes, como alcohólicos crónicos, VIH positivos, enfermos con SIDA, con lupus eritematoso sistémico o cáncer. También se han descrito casos de EAG sin ninguna predisposición. La puerta de entrada al torrente sanguíneo puede ser a través de los pulmones, vía neuroepitelio olfativo y lesiones de la piel (Bonilla *et al.*, 2004)

Sappinia

Recientemente se reportó un caso de Encefalitis Amibiana Granulomatosa causado por *Sappinia diploidea*, recientemente definida como *Sappinia pedata* (Qvarnstrom *et al.* 2009) en un paciente de 38 años inmunocompetente, y de quien se aislaron trofozoítos de la masa cerebral. El estudio histopatológico del tejido cerebral mostró trofozoítos pero no quistes y no se observó ninguna evidencia de reacción granulomatosa. Se extrajo quirúrgicamente la única lesión que se detectó por resonancia magnética y se le dio tratamiento con azitromicina, isotionato de pentamidina, itraconazol y flucitosina, con lo que el paciente se recuperó sin secuelas neurológicas. Se presume que la puerta de entrada fue a través del tracto respiratorio, por que el paciente presentó una infección nasal importante. Los síntomas en el caso reportado fueron dolor de cabeza, visión borrosa, ataques, fotofobia, y vómito (Gelman *et al* 2003).

Esta amiba había sido aislada del medio en heces humanas, de bisontes y del ganado pero no se había detectado como patógena. *S. pedata* presenta un tamaño mayor, llegando a medir de 45-85 μm con seudópodos indistintos y una película que se puede ondular cuando la amiba esta en movimiento. Un carácter distintivo de la amiba es la presencia de 2 núcleos los cuales están colocados muy cerca uno de otro; esta característica también se encuentra presente en el quiste. (Schuster y Visvesvara, 2004)

Ciclo de vida

El ciclo de vida de las AVL comprende una fase activa llamada trofozoíto y una forma quística en latencia; presentándose además en *Naegleria*, una forma flagelada. *Naegleria* presenta tres fases en su ciclo de vida; trofozoíto, quiste y flagelado. La forma de quiste es la fase de resistencia en la cual la amiba se mantiene en latencia y puede resistir largos períodos en

condiciones adversas como la desecación, bajas concentraciones de oxígeno, escasez de alimento, etc. En los cultivos de laboratorio se ha observado que el quiste de *Naegleria* es menos resistente que el de *Acanthamoeba*. (Martínez y Visvesvara, 1997).

En el ciclo de vida de *Naegleria* se destaca su capacidad para cambiar a la forma flagelada, esta forma se presenta cuando la amiba se encuentra en un medio sin nutrientes. En el laboratorio se induce la forma flagelada incubando la amiba en agua destilada o en una solución buffer. Esta forma es transitoria, el organismo no se alimenta ni se divide y después de un tiempo, cuando la amiba encuentra nuevamente un ambiente adecuado, regresa a su forma amibiana. Este proceso se realiza en cuestión de minutos; en el laboratorio es posible observar por unos segundos a la amiba presentando al mismo tiempo pseudópodos y flagelos. (Martínez y Visvesvara, 1997).

Las diversas especies de *Acanthamoeba*, la única especie de *Balamuthia* (*B. mandrillaris*) y de *Sappinia pedata* presentan solamente dos etapas en su ciclo de vida, la etapa de trofozoíto y la forma quística. La etapa de trofozoíto, igual que *Naegleria*, es la forma en la que la amiba realiza todas sus funciones. La forma de quiste es la estructura de resistencia, la cual regresa a su forma vegetativa cuando las condiciones son favorables. (Martínez y Visvesvara, 1997).

En el laboratorio se ha observado que el trofozoíto de *Acanthamoeba* puede permanecer algún tiempo sin enquistarse aunque las condiciones no sean tan favorables y en medio líquido se redondea y presenta prolongaciones citoplasmáticas similares a la forma flotante de otras amibas pequeñas de vida libre (por ej. *Vannella* y *Platyamoeba*). El quiste de *Acanthamoeba* es muy resistente y puede permanecer viable en los cultivos por meses e incluso años; probablemente a esto se debe su amplia distribución y alta incidencia en el ambiente (Martínez y Visvesvara, 1997).

ACUÍFEROS

El acuífero es la formación geológica que almacena agua y actúa como depósito y reserva. La mayoría conforman grandes extensiones y su recarga es por el aporte de aguas pluviales, corrientes superficiales, y lagos que se infiltran a través del suelo hacia el acuífero, el agua escurre por gravedad desde las zonas de recarga hacia las de descarga, las cuales pueden ser ríos, lagos y manantiales. La explotación se efectúa mediante el bombeo en pozos. En los acuíferos hay que distinguir, normalmente, una zona de recarga que es la parte por donde entra agua y otra zona de descarga que es por donde sale el líquido, pudiendo localizarse estas zonas en la superficie o en otros acuíferos subterráneos (Iturbe y Silva, 1992; Jiménez, 2002).

Los acuíferos se clasifican, según la estructura geológica, en libres, semiconfinados y confinados. Un acuífero libre consiste en una zona impermeable que sirve de base a una zona permeable saturada de agua, sobre la que existe una capa permeable sin saturar. Si el estrato está cubierto también por una capa impermeable, el acuífero recibe el nombre de acuífero confinado. Este tipo de acuífero presenta una permeabilidad muy pequeña o nula y, a veces al estar limitado por estratos impermeables suprayacentes y subyacentes, impiden al agua moverse más allá de la región confinada. Cuando esto último sucede y ocupa una cuenca más o menos extensa, se habla de cuenca artesiana. Aquí, el agua suele estar sometida a fuertes presiones por lo que, en los pozos abiertos en estas cuencas, denominados pozos artesianos, el agua asciende hacia la superficie, que a menudo alcanza sin necesidad de bombeo, de ahí que el agua almacenada pueda

liberarse a través de manantiales y pozos. Existen pocos acuíferos verdaderamente confinados; la mayoría recibe apreciables cantidades de agua por filtración, lentamente, durante largos periodos de tiempo, por una de las cepas de confinación; reciben entonces el nombre de acuíferos semiconfinados (Iturbe y Silva, 1992).

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. 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 (Iturbe y Silva, 1992).

Las aguas subterráneas han sido históricamente considerada una fuente segura y fiable de agua, protegidos de la contaminación de la superficie, una capa superior del suelo que elimina contaminantes, como el agua se filtra hacia abajo a través de la tierra. Sin embargo un número de brotes bien documentados de hepatitis A y gastroenteritis viral demuestran la contaminación del agua subterránea, así como numerosos reportes de contaminación química, han cambiado la idea errónea generalizada de que el agua subterránea está segura de contaminantes. Esto ha necesitado una reevaluación de que se conoce acerca de los destinos de microorganismos patógenos y contaminantes químicos en el suelo y el agua subterránea.

El agua subterránea es uno de los recursos naturales más importantes; ya que es una fuente de abastecimiento para diversos sectores de una población, como son: el urbano, el rural, el industrial, el comercial. A nivel mundial el agua subterránea constituye un alto porcentaje como fuente de suministro, así tenemos que en México constituye el 20 %, el 30 % en Canadá, cerca del 50 % en Estados Unidos y el 70 % en Europa. (Caballero, 2006)

El subsuelo mexicano aloja gran número de acuíferos, fuentes de agua que funcionan a la vez como vasos de almacenamiento, redes de acueductos y plantas de tratamiento naturales. La importancia del agua subterránea es mayor en países como México con extensas regiones áridas, donde el subsuelo suele ser la principal y la única fuente permanente de agua.

ANTECEDENTES

En el estado de Morelos se han realizado estudios fisicoquímicos y bacteriológicos en algunos pozos, de los que destacan los siguientes:

García en 2007 realizó un estudio para determinar la calidad bacteriológica y fisicoquímica de cuatro pozos del agua subterránea en las zonas centro- oriente del valle de Cuernavaca, Morelos; para lo que se tomaron muestras mensuales durante un año, las muestras se tomaron antes de pasar por el dosificador de cloro, *in situ* se determinó en cada pozo el oxígeno disuelto, pH y temperatura. En laboratorio se realizaron los parámetros bacteriológicos de Coliformes Totales y Fecales, y 20 parámetros fisicoquímicos usando técnicas establecidas en las normas Mexicanas. Con los resultados calculó el Índice de Calidad de Agua (ICA); y encontró que el pozo Texcal presentó un ICA de 99.5 %, el pozo la Cañada 98.5 %, CIVAC 97.8 %, Tabachines 96.5 %; lo

que indicó que los cuatro pozos en general no requieren de purificación para el abastecimiento público.

Monroy en 1997 realizó un estudio para determinar la calidad bacteriológica y fisicoquímica de tres pozos y un manantial ubicados en la zona sur del Acuífero del Valle de Cuernavaca; para lo cual se tomaron muestras mensuales durante un año, dichas muestras se tomaron antes de pasar por el dosificador de cloro, *in situ* se determinó el O.D, pH, Temperatura. En laboratorio se realizaron las determinaciones bacteriológicas y 20 fisicoquímicas usando técnicas analíticas establecidas en las Normas Oficiales Mexicanas; con los resultados obtenidos se calculó la media de cada parámetro y con ésta, el Índice de Calidad del Agua (ICA); como resultado obtuvo que los índices mas bajos se observaron en el manantial Las fuentes con 72.6 %, seguido de Ojo de agua con 83.2 %, Tezoyuca con 93.9 % y Zapata con 95 %, comparando las medias de los parámetros con la NOM-127 se tienen que los tres pozos y el manantial no sobrepasaron los límites máximos permisibles, para los parámetros fisicoquímicos, salvo en algunos muestreos donde el pH se presentó ligeramente por debajo de la norma, o la turbiedad que salió del límite en una sola ocasión. Sin embargo la presencia de bacterias Coliformes tanto fecales como totales rebasan los límites permisibles principalmente en el Manantial Las fuentes, ya que presentó contaminación bacteriana en todos los muestreos.

Rubio en 2007 realizó un estudio para determinar la calidad bacteriológica y fisicoquímica de tres pozos (Herradura, Universidad y Hotel del Prado) y un manantial (Túnel) ubicados en la zona norte del Acuífero del Valle de Cuernavaca; para lo cual se tomaron muestras mensuales durante un año, dichas muestras se tomaron antes de pasar por el dosificador de cloro, *in situ* se determinó el O.D, pH, Temperatura. En laboratorio se realizaron dos determinaciones bacteriológicas y 20 fisicoquímicas de acuerdo a técnicas analíticas establecidas en las Normas Oficiales Mexicanas; con los resultados obtenidos se calculó la media de cada parámetro y con esta, el Índice de Calidad del Agua (ICA); obteniendo como resultados que el índice mas bajo lo obtuvo el túnel El Manantial con 79 % mientras que los tres pozos Hotel del Prado, Herradura y Universidad presentaron muy buena calidad con 99 %. Con esto se concluyó que el agua subterránea muestra en general buena calidad, sin embargo se empieza a observar el evidente impacto de la actividad humana en el manantial el Túnel.

Pineda en 2008 realizó un estudio bacteriológico y fisicoquímico de agua en cinco pozos del acuífero de Zacatepéc, Morelos, México; determinó 15 parámetros fisicoquímicos y dos bacteriológicos (Coliformes totales y Coliformes fecales) durante un año. Utilizando como formas analíticas las de la Norma Oficial Mexicana. Con los resultados calculó el Índice de Calidad del Agua (ICA). De acuerdo a los resultados encontró que Puente Ixtla tuvo un ICA de 84%, Tequesquitengo 80%, Santa María 80% y Juntas 81%; lo que significa que requieren una ligera purificación para que esta pueda ser de consumo humano; mientras que Alianza tuvo un ICA de 78 %, es decir que requiere un mayor tratamiento para consumo humano. Respecto a la bacteriología para Coliformes totales, todos excedieron los límites y en Coliformes fecales solo Tequesquitengo y Santa María estuvieron dentro del límite; el pozo mas contaminado fue las Juntas, mientras el menos contaminado fue Santa María.

Rodríguez en 2008 determinó la calidad bacteriológica y fisicoquímica del acuífero de Zacatepéc Morelos, en las zonas de Xochitepec, Miacatlan, Coatlan del Rio y Cuachichinola; para lo cual realizó muestreos mensuales durante un año, las muestras se tomaron antes de pasar

por el dosificador de cloro, *in situ* se determinó el O.D, pH, Temperatura. En laboratorio realizó dos determinaciones bacteriológicas y 15 fisicoquímicas de acuerdo a técnicas analíticas establecidas en las Normas Oficiales Mexicanas; con los resultados obtenidos se calculó la media de cada parámetro y con esta, el Índice de Calidad del Agua (ICA); obteniendo como resultados que el índice mas bajo lo obtuvo Avigrupo (54.62%), Cuachichinola (59.9%), Presa (70.55%) y los mas altos los presentaron los pozos: Coatlan del Rio (82.88%), Cocoyotla (84.88%), Alpuyeca (91.11%), y Coatetelco (94.02%) . Con esto se concluyó que los siete pozos estudiados se encuentran dentro de los límites permisibles para los parámetros fisicoquímicos salvo en dos ocasiones que presentaron el pH ligeramente por debajo de la norma, en lo referente a los análisis bacteriológicos los pozos rebasaron los límites, pero solo en algunos muestreos, ya que en otros hubo ausencia de estas bacterias.

En relación a algunos trabajos con Amibas de Vida Libre se encuentran los siguientes:

Novarino *et al.* en 1997 por su parte menciona que los flagelados pequeños son en gran medida los protistas dominantes en acuíferos, aunque las amibas y de vez en cuando los ciliados pueden también estar presentes en números mucho más bajos. Reportando los siguientes géneros amibianos: *Acanthamoeba*, *Hartmannella*, *Mayorella*, *Rosculus*, *Vahlkampfia*, *Vannella* y *Platyamoeba*.

Ramírez *et al.* en 2001 realizaron un estudio donde caracterizaron las poblaciones de amibas de vida libre presentes en un acuífero contaminado orgánicamente en el Valle del Mezquital en Hidalgo. Se encontraron 289 amibas pertenecientes a 7 géneros. Los géneros más frecuentes fueron *Acanthamoeba* y *Hartmannella*. Observaron que la irrigación con aguas residuales favoreció la presencia de AVL en el acuífero La mayor abundancia de AVL fue registrada en Agosto y dentro de la zona de irrigación lo que representa un riesgo a la salud de los usuarios.

Campos en 2007 realizó un trabajo de la distribución temporal de las amibas de vida libre en dos manantiales del acuífero del valle de Cuernavaca, Mor. realizando 12 muestreos mensuales de Mayo de 2005 a Abril del 2006; *in situ* midió algunos parámetros fisicoquímicos: (OD), temperatura y pH. Obtuvo amibas de los siguientes géneros: *Hartmannella*, *Naegleria*, *Vannella*, *Vahlkampfia*, *Rosculus*, *Dactylamoeba*, *Platyamoeba* y *Filamoeba*. El manantial “Las fuentes” presentó una mayor riqueza específica y mayor número de amibas en comparación con el manantial “El túnel”. El rango de los parámetros fisicoquímicos fue similar en los dos puntos de muestreo obteniendo un pH entre 5.7-7.3, un rango de O.D entre 2.4-6.8 y un rango de temperatura de 16-19°C; estos parámetros se encontraron dentro de los rangos señalados en la bibliografía para la presencia de las AVL.

Beltrán en 2008 realizó un estudio de determinación de Amibas de Vida Libre en 10 pozos de Cuernavaca, Morelos en el periodo de un año, *in situ* midió algunos parámetros fisicoquímicos Oxígeno disuelto (OD), temperatura y pH. Por centrifugación concentró volúmenes de 50, 10 y 1 ml. Y se dejó incubar en medio de cultivo no nutritivo con la bacteria *Enterobacter aerogenes*, realizó identificación morfológica encontrando 19 especies, pertenecientes a 14 géneros, la especie mas frecuente fue *Hartmannella vermiformis* con el 24 % y *H. cantabrigiensis* con el 13%. El mayor número de aislamientos se presentó en los meses de Mayo, Junio y Diciembre, mientras que en el mes de Octubre no se presentaron Amibas de Vida Libre.

Limón en 2008 realizó una caracterización de Amibas de Vida Libre presentes en agua subterránea del acuífero de Zacatepec, Morelos; realizó muestreos a lo largo de 12 meses en los Municipios de Coatlán del Río, Cuachichinola, Mazatepec, Miacatlan, Puente de Ixtla, y Xochitepec. Dentro del trabajo en campo, recolectó 1000 ml de agua subterránea, en el sitio, midió pH, oxígeno disuelto, y temperatura. En el laboratorio se llevó a cabo el aislamiento de y cultivo de las AVL, realizó pruebas de temperatura a 37 y 42° C. realizó la identificación morfológica de las amibas con ayuda de la clave de Page (1988). Como resultado obtuvo que *Hartmannella vermiformis* fue la más frecuente con 41.50 %. Las menos frecuentes fueron *Guttulinopsis nivea* 0.68%, *Mayorella cultura* 0.68%, *Vannella cirrifera* 0.68%, *Vannella platypodia* 0.68% y *Vannella lata* 0.68%. *Naegleria sp.*, también fue reportado en porcentajes bajos 8.16% y describe que por las características del quiste, probablemente pertenezca a la especie *N. gruberi*, que no ha sido reportada como patógena.

JUSTIFICACIÓN

En México hay una gran concentración de personas que habitan y demandan agua potable, por lo tanto la necesidad de este recurso es cada día mayor, razón por la que es más difícil controlar la potabilidad de esta.

Existen pocos trabajos que se enfocan al estudio de las Amibas de Vida Libre en cuerpos de agua, actualmente para la evaluación de su calidad microbiológica, se ha recurrido al grupo de los Coliformes como indicadores de la calidad del agua y así definir su uso, para conocer la eficiencia de las plantas potabilizadoras y de tratamiento e identificación de fuentes de contaminación con un diagnóstico relativamente rápido. Sin embargo, es importante mencionar que para una evaluación y riesgos a la salud más completa, no sólo bacterias sino también otro tipo de organismos son importantes para tener una idea integral de la calidad del agua; como por ejemplo las amibas pequeñas de vida libre potencialmente patógena o anfizoicas, que guardan un interés especial dada su complejidad fisiológica y variedad de comportamientos así como de las enfermedades que ocasionan. Si reflexionamos que las amibas anfizoicas pueden ser encontradas con facilidad en cuerpos de agua de casi cualquier tipo y sobre todo que se han reportado como causantes de muertes tras la exposición al agua contaminada en lagos artificiales y piscinas, caracterizada por un cuadro clínico de tipo agudo y hemorrágico capaz de provocar una muerte fulminante en el hombre y animales por entrada nasal de trofozoítos durante la natación, por lo anterior es importante su estudio en fuentes de agua, como es el caso de las aguas subterráneas.

OBJETIVOS

-General

- Determinar la distribución temporal y espacial de Amibas de Vida Libre presentes en pozos de la zona suroeste del acuífero de Zacatepec, Morelos.

-Particulares:

- Aislar e identificar Amibas de Vida Libre encontradas en las muestras de los pozos estudiados.
- Determinar la riqueza específica de las Amibas de Vida Libre de los pozos.
- Relacionar la presencia de Amibas de Vida Libre con algunos parámetros fisicoquímicos: pH, temperatura y oxígeno disuelto.

ZONA DE ESTUDIO

Morelos es una de las entidades de la República Mexicana con más manantiales, en proporción a su territorio. Dos peculiaridades del medio geográfico morelense en verano son la presencia de numerosas corrientes que siguen la pendiente de norte a sur y la existencia de abundantes manantiales y mantos acuíferos del subsuelo que proporcionan humedad suficiente a la mayor parte del territorio estatal.

Localización.

El área de estudio está situado en el estado de Morelos, cuyas coordenadas geográficas extremas son: Al norte 19°08', al sur 18°20' de latitud norte; al este 98°38', al oeste 99°30' de longitud oeste; en su porcentaje territorial, el estado de Morelos representa el 0.2% de la superficie del país.

Clima

El clima que predomina en el estado de Morelos es cálido, que rige sobre todo en las zonas bajas de los ríos Amacuzac y Nexapa. En menor grado se presenta el clima de tipo semicálido, en una franja que va de Este a Oeste situada en la región norte, en la zona de transición entre la sierra y los valles. El templado o mesotérmico se distribuye en la zona norte, y se localiza en las partes altas de los valles de Cuernavaca y de Cuautla principalmente. Los climas semifríos se reducen a pequeñas áreas en el extremo norte, concentrándose en las partes más altas de la sierra, como son la Cordillera Neovolcánica y la Sierra Nevada o Transversal (<http://www.inegi.gob.mx/geografia/>)

Aguas subterráneas

El estado de Morelos cuenta con una zona muy importante de recarga de acuíferos además de que confluyen los escurrimientos de varias micro cuencas.

Los pozos profundos están distribuidos en todo el estado, pero los más sobresalientes son el artesiano de San Gabriel de las Palmas, el de Cuachichimala, los de Puente de Ixtla, Zacatepec y los de Atlacahayola, cerca de Telixtloc (<http://www.inegi.gob.mx/geografia/>).

El acuífero de Zacatepec, que tiene una recarga anual aproximada de 378 metros cúbicos, y una descarga comprometida de 319 mil 800 metros cúbicos; el volumen concesionado es de 31 millones 159 mil 102 metros cúbicos; su disponibilidad anual aproximada de agua subterránea, es de 27 millones 408 mil 90 metros cúbicos, que abastecen al propio municipio de Zacatepec, su valle y a Yauatepec.

El estado de Morelos cuenta con cuatro acuíferos de acuerdo con la Comisión Nacional del Agua (CNA, 2002) (Figura 1).

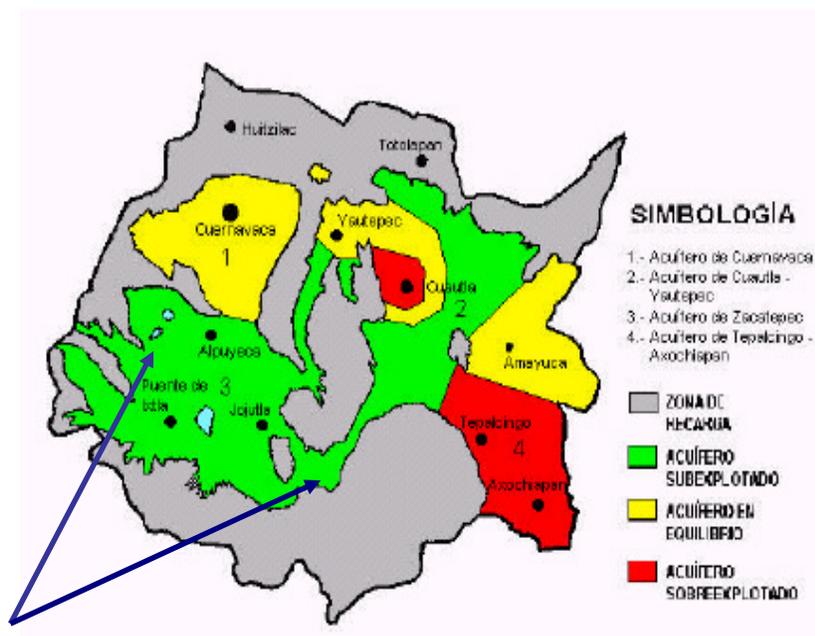


Figura 1 Localización del acuífero de Zacatepec en el estado de Morelos.

Los pozos estudiados se encuentran localizados en la zona suroeste del estado de Morelos en los municipios: Jojutla, Puente de Ixtla, Zacatepec, Tlalquiltenango y Tlaltizapan en el estado de Morelos (Tabla 1, Figura 2).

MATERIAL Y MÉTODOS

Trabajo en Campo

Se realizaron muestreos mensuales durante un año, se tomaron muestras de 1000 ml. de agua en cinco pozos ubicados en localidades de la zona suroeste del acuífero de Zacatepec, Morelos:

- 1.- Unidad Santa María
- 2.- Tequesquitengo
- 3.- Unidad Alianza
- 4.- Tlalquitenango
- 5.- Las juntas

Se realizó la medición de algunos parámetros fisicoquímicos: pH (potenciómetro HANNA Instruments HI 8314), temperatura y oxígeno disuelto (Oxímetro YSI. Mod 51-b).

Las muestras se transportaron al laboratorio a temperatura ambiente para su análisis.

Trabajo en Laboratorio

Siembra.

Una vez que las muestras fueron transportadas al laboratorio, se filtraron a través de membranas de 5 μm , que posteriormente se colocaron en cajas de petri con el medio de cultivo de agar no nutritivo con la bacteria *Enterobacter aerogenes* (NNE) como alimento, estas se incubaron por una semana a 30°C de forma invertida dentro de una bolsa de plástico.

Identificación

Se revisaron las cajas con un microscopio invertido para detectar las zonas de crecimiento de las amibas. Se realizaron preparaciones en fresco para lo cual se agregaron unas gotas de agua destilada estéril y se hizo un raspado de la zona de crecimiento para identificar morfológicamente las amibas con ayuda de la clave de Page, 1988. Las cajas que no presentaron crecimiento amibiano fueron desechadas.

Prueba de temperatura

Para realizar la prueba de temperatura se sembraron las amibas aisladas en medio NNE y se incubaron a dos temperaturas diferentes: 37 y 42°C para observar el desarrollo de amibas termófilas, las cajas se dejaron una semana y se realizaron preparaciones en fresco para lo cual se agregaron unas gotas de agua destilada estéril y se hizo un raspado de la zona de crecimiento, con ayuda del microscopio óptico se realizó la identificación de género y especie.

Análisis estadístico

Se realizó el análisis estadístico de Coeficiente de Correlación Lineal Producto-Momento de Pearson para determinar la relación de los parámetros fisicoquímicos (O.D., temperatura y pH) y la presencia de AVL. (Duran *et al.*, 2005).

RESULTADOS Y DISCUSION

En los 5 pozos muestreados hubo presencia de Amibas de Vida Libre en la mayoría de los meses.

Por otro lado, en Noviembre-2006, Diciembre-2006, Enero-2007, Marzo-2007 y Septiembre-2007 presentaron amibas en todos los pozos (Tabla 2).

En comparación con lo reportado por Limón (2008) en otras zonas del acuífero de Zacatepec, en el mismo periodo de estudio, los meses de Enero y Junio fueron los meses en que estuvieron presentes las Amibas de Vida Libre en los ocho pozos muestreados, mientras que en el mes de Noviembre se obtuvieron la menor cantidad de aislamientos.

Por otra parte Beltrán (2008) en diez pozos del acuífero de Cuernavaca encontró que en los meses de Mayo, Diciembre y Agosto se presentó el mayor número de aislamientos de Amibas de Vida Libre; mientras que el mes de Octubre los diez pozos muestreados se reportaron sin aislamientos.

Tabla 1 .Presencia y ausencia de Amibas de Vida Libre en los pozos estudiados

Pozo	Oct. 06	Nov. 06	Dic. 06	Ene 07	Feb. 07	Mar 07	Abr. 07	May. 07	Jun. 07	Jul. 07	Ago. 07	Sept. 07
Tequesquitengo	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
Santa María	-	+	+	+	+	+	nm	+	+	+	+	+
U. Alianza	+	+	+	+	nm	+	nm	+	+	+	+	+
Tlalquitenango	nm	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Las Juntas	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+

nm: no se muestreo

Se encontraron 21 diferentes especies de Amibas de Vida Libre pertenecientes a 16 géneros (Tabla 3).

En comparación con lo encontrado con Beltrán (2008) donde se encontraron 19 especies, pertenecientes a 14 géneros.

Mientras que Limón (2007) reportó 14 especies, pertenecientes a 11 géneros.

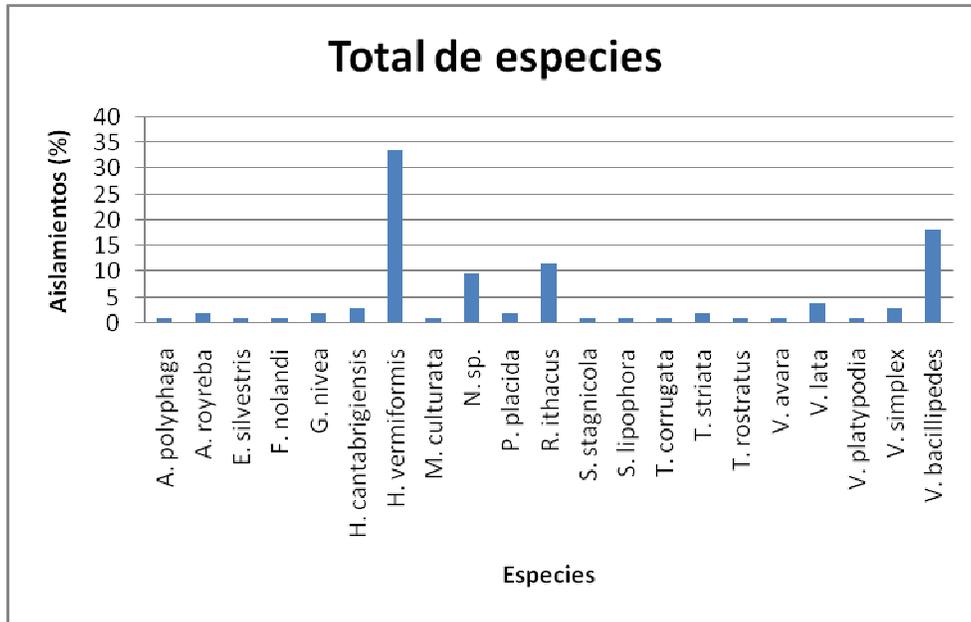
Género	Especie
<i>Acanthamoeba</i>	<i>polyphaga</i>
	<i>royreba</i>
<i>Echinamoeba</i>	<i>silvestres</i>
<i>Filamoeba</i>	<i>nolandi</i>
<i>Guttulinopsis</i>	<i>nivea</i>
<i>Hartmannella</i>	<i>cantabrigiensis</i>
	<i>vermiformis</i>
<i>Mayorella</i>	<i>cultura</i>
<i>Naegleria</i>	<i>sp.</i>
<i>Platyamoeba</i>	<i>placida</i>
<i>Rosculus</i>	<i>ithacus</i>
<i>Stachyamoeba</i>	<i>lipophora</i>
<i>Saccamoeba</i>	<i>stagnicola</i>
<i>Thecamoeba</i>	<i>corrugata</i>
	<i>stiata</i>
<i>Tetramitus</i>	<i>rostratus</i>
<i>Vahlkampfia</i>	<i>avara</i>
<i>Vannella</i>	<i>lata</i>
	<i>platypodia</i>
	<i>simplex</i>
<i>Vexillifera</i>	<i>bacillipedes</i>

Tabla 2. Especies amibianas encontradas en los pozos.

El género encontrado con mayor frecuencia fue *Hartmannella vermiformis* con el 33.65 % (Gráfica 1) y aunque no se ha demostrado que sea patógena, se ha encontrado asociada a infecciones cerebrales y oculares (Aitken *et al.* 1996, Centeno *et al.* 1996, Dua *et al.* 1998, Inoue *et al.* 1998, Michel *et al.* 2000, Lorenzo *et al.* 2007, Scheid 2007).

La amiba del género *Naegleria* encontrada, probablemente pertenezca a la especie *N. gruberi*, por las características morfológicas del quiste, la cual no ha sido reportada como patógenas.

En cuanto a las amibas de vida libre reportadas como patógenas, se encontraron dos especies del género *Acanthamoeba*, pero en números muy bajos y solamente en 2 meses.



Gráfica 1 Frecuencia de aislamientos de Amibas de Vida Libre.

En las tablas 4 y 5 se pueden observar las especies amibianas que se encontraron en cada mes y en cada pozo.

Tabla 3 Riqueza específica de AVL en pozos del acuífero de Zacatepec, Mor. (Octubre 2006 – Marzo 2007)

POZO	OCT-06	NOV-06	DIC-06	ENE-07	FEB-07	MARZO-07
TEQUESQUITENGO	<i>H. vermiformis</i> <i>V. bacillipedes</i> <i>N. sp.</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>V. avara</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>V. bacillipedes</i> <i>A. royreba</i> <i>V. simplex</i>	<i>V. bacillipedes</i> <i>H. vermiformis</i>	<i>H. vermiformis</i>	<i>H. vermiformis</i>
U. STA. MARÍA	<i>Negativo</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>T. corrugata</i>	<i>V. bacillipedes</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>S. stagnicola</i>	<i>R. ithacus</i> <i>T. striata</i>	<i>P. placida</i>
U. ALIANZA	<i>N. sp</i> <i>V. lata</i> <i>V. simplex</i> <i>S. lipophora</i>	<i>Negativo</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>V. lata</i> <i>V. bacillipedes</i>	<i>V. bacillipedes</i> <i>H. vermiformis</i>	<i>Sin muestreo</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>V. bacillipedes</i>
TLALQUITENANGO	<i>Sin muestreo</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>T. rostratus</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>E. silvestris</i> <i>V. bacillipedes</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>N. sp</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>N. sp</i> <i>V. platypodia</i> <i>M. cultura</i> <i>R. ithacus</i>	<i>R. ithacus</i> <i>V. bacillipedes</i>
LAS JUNTAS	<i>N. sp</i> <i>V. lata</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>N. sp</i> <i>V. simplex</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>N. sp</i>	<i>V. bacillipedes</i> <i>H. vermiformis</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>N. sp</i>	<i>A. polyphaga</i> <i>A. royreba</i> <i>H. vermiformis</i> <i>V. bacillipedes</i>

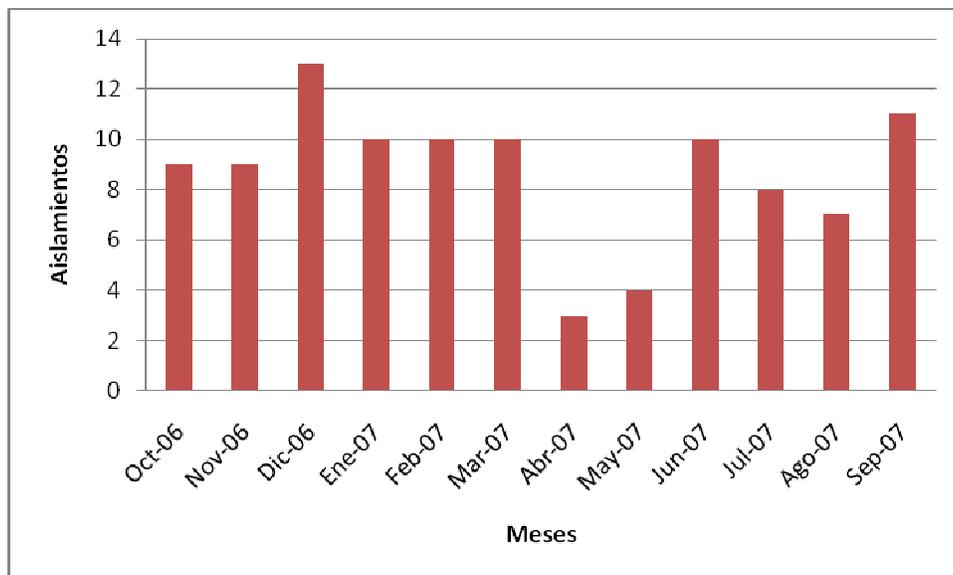
Tabla 4 Riqueza específica de AVL en pozos del acuífero de Zacatepec. Mor. (Abril 2007 – Septiembre 2007)

POZO	ABRIL-07	MAYO-07	JUNIO-07	JULIO-07	AGO-07	SEPT-07
TEQUESQUITENGO	<i>Negativo</i>	<i>Negativo</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>V. bacillipedes</i>	<i>H. vermiformis</i>	<i>H. vermiformis</i>	<i>H. vermiformis</i>
STA. MARÍA	<i>Sin muestreo</i>	<i>G. nivea</i> <i>R. ithacus</i> <i>F. nolandi</i>	<i>V. bacillipedes</i> <i>H. vermiformis</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>R. ithacus</i>	<i>R. ithacus</i> <i>T. striata</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>R. ithacus</i> <i>V. bacillipedes</i>
U. ALIANZA	<i>Sin muestreo</i>	<i>H. vermiformis</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>V. lata</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>V. bacillipedes</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>R. ithacus</i> <i>P. placida</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>R. ithacus</i> <i>V. bacillipedes</i>
TLALQUITENANGO	<i>G. nivea</i>	<i>Negativo</i>	<i>R. ithacus</i> <i>V. bacillipedes</i> <i>H. cantabrigiensis</i> <i>N. sp</i>	<i>R. ithacus</i> <i>V. bacillipedes</i> <i>H. vermiformis</i>	<i>H. vermiformis</i>	<i>H. vermiformis</i> <i>R. ithacus</i>
LAS JUNTAS	<i>H. vermiformis</i> <i>V. bacillipedes</i>	<i>Negativo</i>	<i>Negativo</i>	<i>Negativo</i>	<i>Negativo</i>	<i>H. cantabrigiensis</i> <i>N. sp</i>

Respecto a la distribución temporal de Amibas de Vida Libre se encontró que en el mes de Diciembre se obtuvieron mayor cantidad de aislamientos (13), al contrario del mes de Abril en el que solo se obtuvieron 3 aislamientos (Gráfica 2).

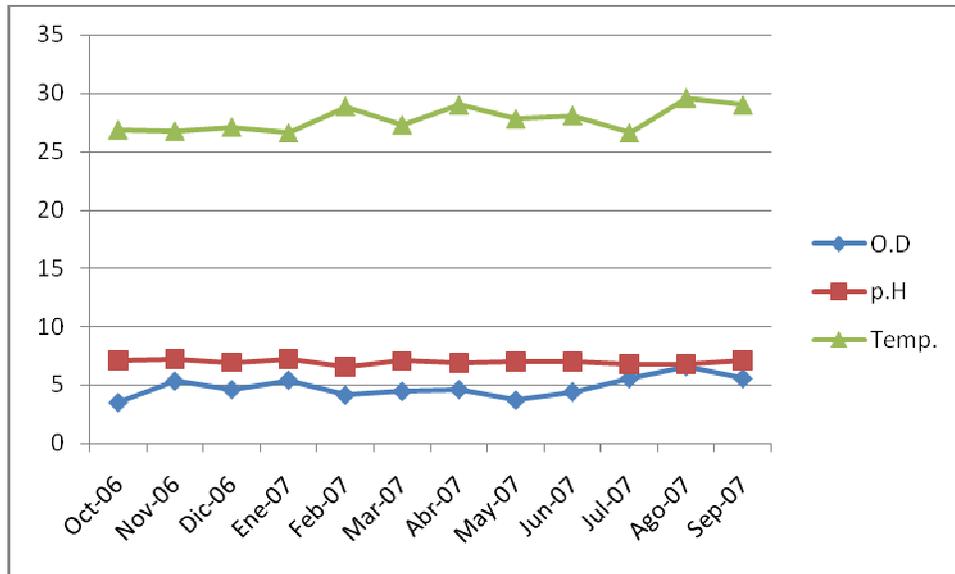
Esto se debe a que la mayor cantidad de amibas encontradas, no han sido reportadas como patógenas que son las que toleran temperaturas más altas. Lo que coincide con lo reportado con Limón (2007) el número de aislamientos fue mayor en los meses de Diciembre (21) y Febrero (20), mientras que el mes con menor número de aislamientos fue Abril (7).

De acuerdo con lo encontrado por Beltrán (2008) el número total de AVL se presentó en los meses de Mayo y Junio (56 y 60 NMP/ 100ml) respectivamente, en el mes de Febrero se reportó el número más bajo (1 NMP/100ml) y en el mes de Octubre fue de cero.



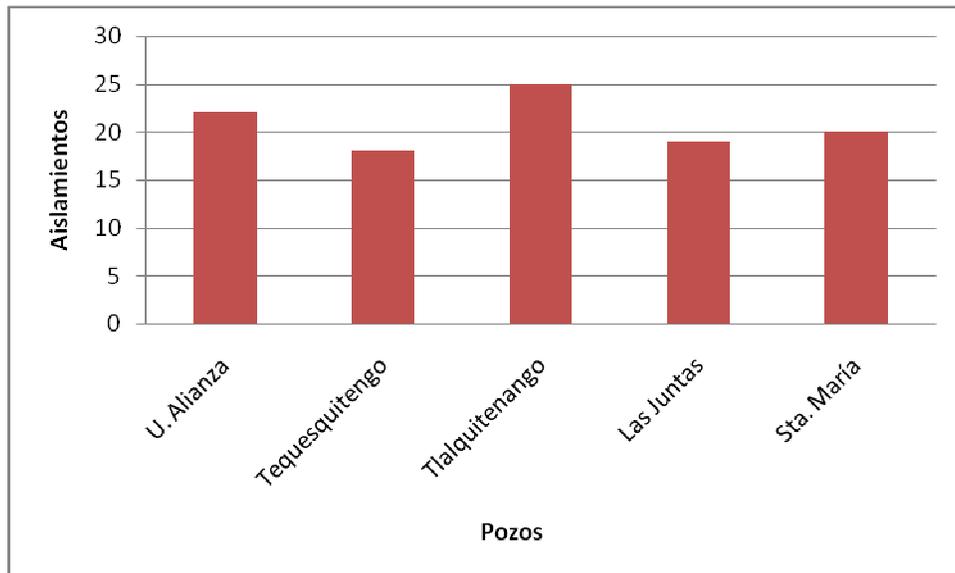
Gráfica 2. Distribución temporal de las AVL en el acuífero de Zacatepec.

Respecto a la variación de los parámetros fisicoquímicos se observa en la siguiente grafica que el Oxígeno Disuelto varía a lo largo de 12 meses entre 6.5 como máxima en el mes de Agosto-07 y 3.5 como mínimo en el mes de Octubre-06; mientras el pH varía de 7.26 como máximo en el mes de Enero-07 y 6.5 como mínimo en el mes de Febrero-07; por otra parte la temperatura varía de 29.6 °C en los meses de Julio-07 y Agosto-07 y la mínima es de 26.6 °C en el mes de Enero-07. Lo que muestra que los tres parámetros estudiados fueron muy semejantes, lo que indica que las condiciones ambientales son muy homogéneas, en esta zona del acuífero (Gráfica 3).



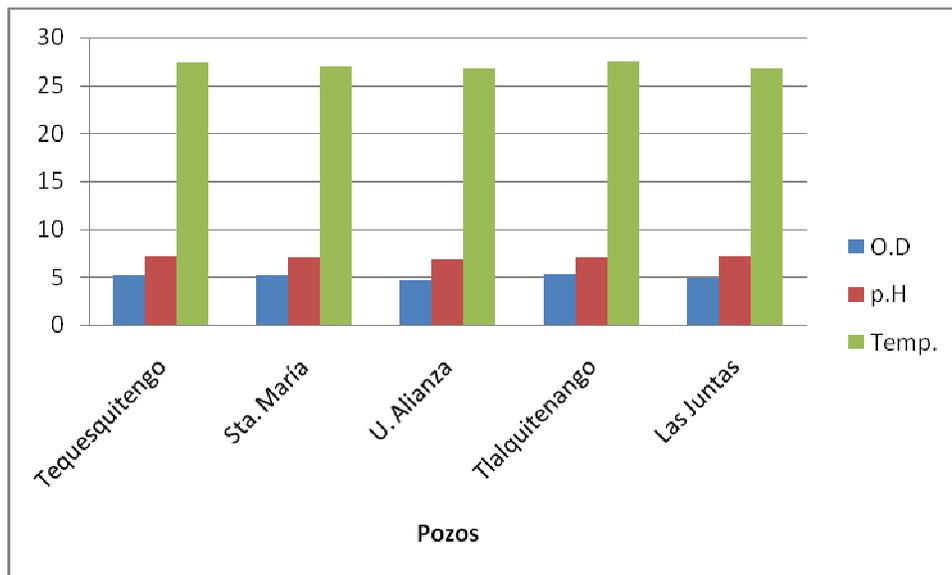
Gráfica 3. Variación temporal de los parámetros fisicoquímicos.

En relación con la distribución espacial se encontró que el pozo en donde se obtuvo mayor cantidad de aislamientos fue Tlalquitenango con 25, mientras que Tequesquitengo fue el pozo con menor cantidad de aislamientos obtenidos con 18 (Gráfica 4).



Gráfica 4. Distribución espacial de las AVL en el acuífero de Zacatepec.

Respecto a la variación de parámetros fisicoquímicos en los cinco pozos podemos observar que en general no se presentaron variaciones amplias. El Oxígeno Disuelto varió de 5.3 mg/l como máximo en el pozo Tlalquitenango y 4.6 como mínimo en el pozo U. Alianza; mientras el pH varía de 7.16 como máxima en el pozo Las Juntas y 6.9 en el pozo U. Alianza; por otra parte la temperatura varía de 27.4 °C la máxima en el pozo Tlalquitenango y 26.7 la mínima en el pozo Las Juntas (Gráfica 5).

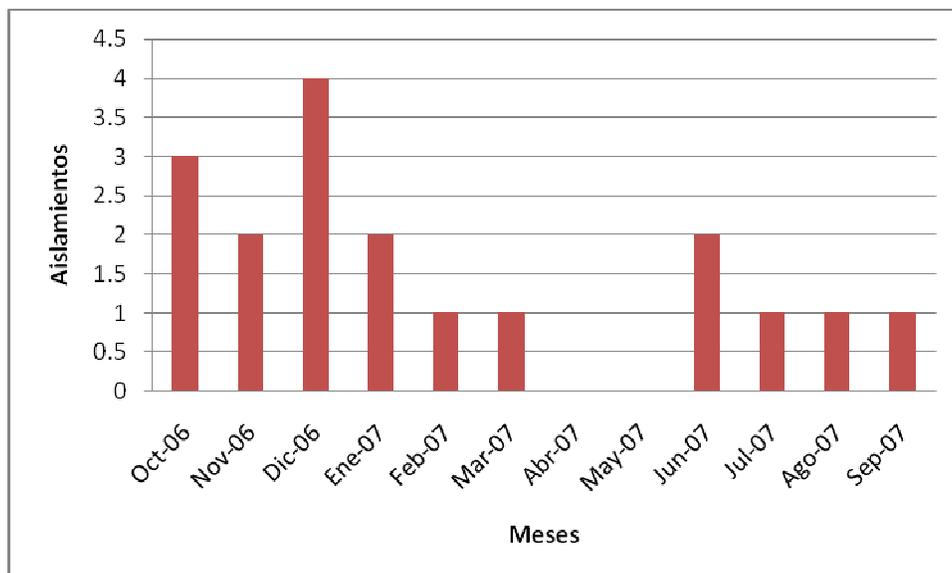


Gráfica 5. Variación espacial de parámetros fisicoquímicos.

POZO TEQUESQUITENGO

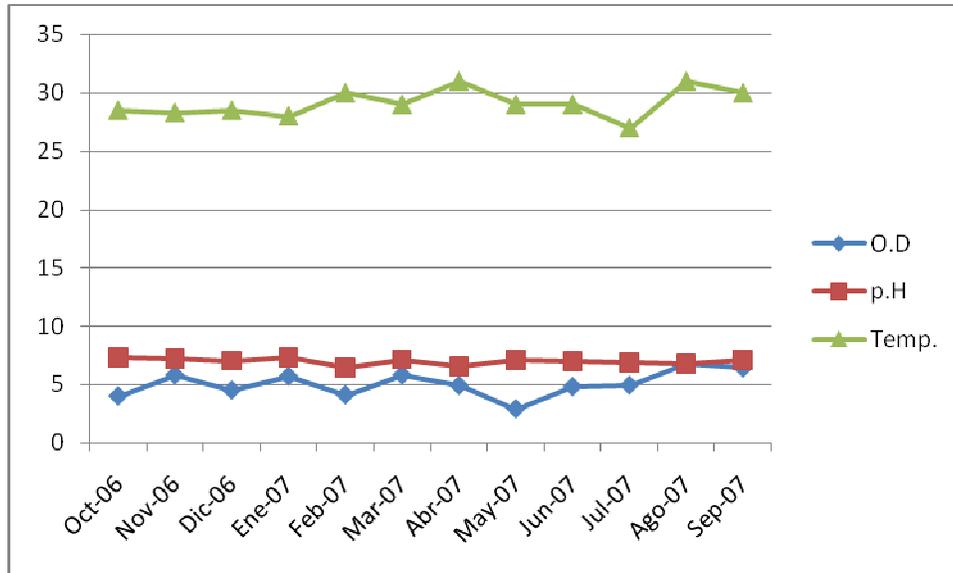
En el pozo Tequesquitengo se obtuvieron un total de 18 aislamientos, de los cuales en el mes de Diciembre se encontraron la mayoría de ellos (4), mientras en los meses de Abril y Mayo no se observaron Amibas (Gráfica 6).

Se aislaron 6 especies. Las encontradas con mayor frecuencia fueron *Hartmannella vermiformis*, que se encontró en todos los meses y *Vexillifera bacillipedes* que se presentó en 5 meses. Las que menos se presentaron fueron *Naegleria sp.*, *Vahlkampfia avara*, *Acanthamoeba royreba* y *Vannella simplex* (Tablas 4 y 5).



Gráfica 6. Aislamientos de AVL en el pozo Tequesquitengo.

En el pozo Tequesquitengo, referente al Oxígeno Disuelto, este varía de 6.7 en el mes de Agosto-07 como mínimo y 2.9 en el mes de Mayo-07 la mínima; respecto al pH este varía de 7.29 como máximo en el mes de Octubre-06 y 6.4 el mínimo en el mes de Febrero-07; la temperatura varía de 31°C como máxima en los meses de Abril-07 y Agosto-07 y 27°C como mínima en el mes de Julio-07 (Gráfica 7).



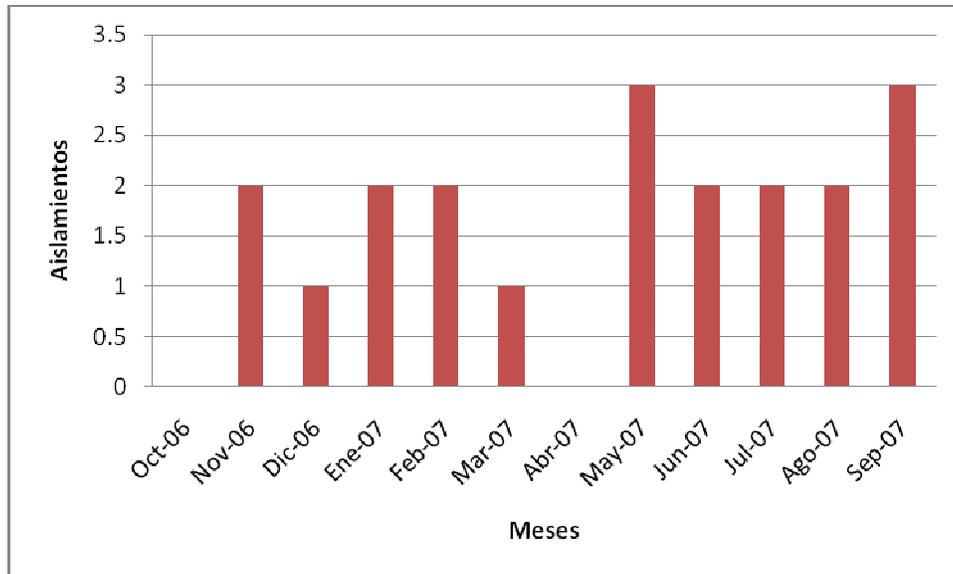
Gráfica 7. Parámetros fisicoquímicos Tequesquitengo.

Respecto a la correlación en el pozo Tequesquitengo a lo de un año entre la presencia de Amibas de Vida Libre y la temperatura, esta fue débil, en relación al Oxígeno Disuelto esta fue débil, y con el pH fue insignificante.

POZO SANTA MARÍA

En el pozo Santa María se obtuvieron un total de 20 aislamientos de los cuales en los meses de Mayo y Septiembre se obtuvieron la mayor cantidad de aislamientos (3), mientras en el mes de Octubre no se encontraron Amibas (Gráfica 8).

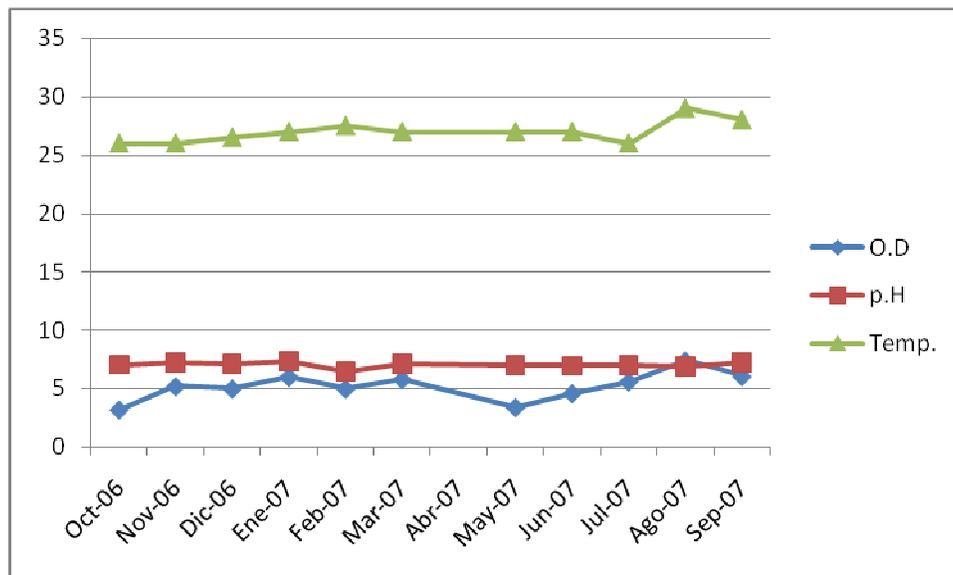
Se aislaron 9 especies. En relación a estas, las que se encontraron con mayor frecuencia están *Hartmannella vermiformis* en 4 meses y *Rosculus ithacus* en 5 meses. Las que menos se presentaron fueron *Thecamoeba corrugata*, *Saccamoeba stagnicola*, *Platyamoeba placida*, *Guttulinopsis nivea*, *Filamoeba nolandi* (Tablas 4 y 5).



Gráfica 8. Aislamientos de AVL en el pozo Sta. María.

*En abril no se pudo tomar muestra.

En el pozo Santa María se puede observar una variación de Oxígeno Disuelto de 7.3 como máxima en el mes de Agosto-07 y 3.2 como mínima en el mes de Octubre-06; respecto al pH hay una variación de 7.3 como máxima en el mes de Enero-07 y como mínima 6.4 en el mes de Febrero-07; respecto a la temperatura, esta varía de 29°C como máxima en el mes de Agosto-07 y como mínima 26°C en los meses Octubre-06, Noviembre-06, Diciembre-06 y Agosto-07 (Gráfica 9).



Gráfica 9. Parámetros fisicoquímicos en el Pozo Sta. María.

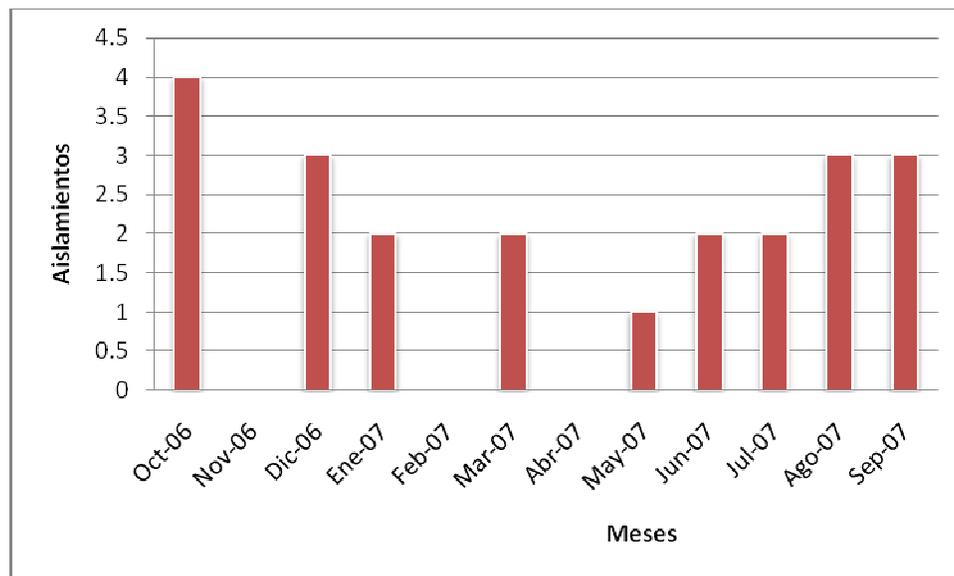
*El mes de Abril no se realizó el muestreo en este pozo

Respecto a la correlación en el pozo Sta. María a lo de un año entre la presencia de Amibas de Vida Libre y la temperatura, esta fue débil, en relación al Oxígeno Disuelto esta fue débil, y con el pH fue insignificante.

UNIDAD ALIANZA

En el pozo de Unidad Alianza se obtuvieron un total de 22 aislamientos de los cuales en el mes de Octubre-06 se obtuvo la mayor cantidad de aislamientos (4), mientras el mes de Noviembre-06 no se encontraron Amibas (Gráfica 10).

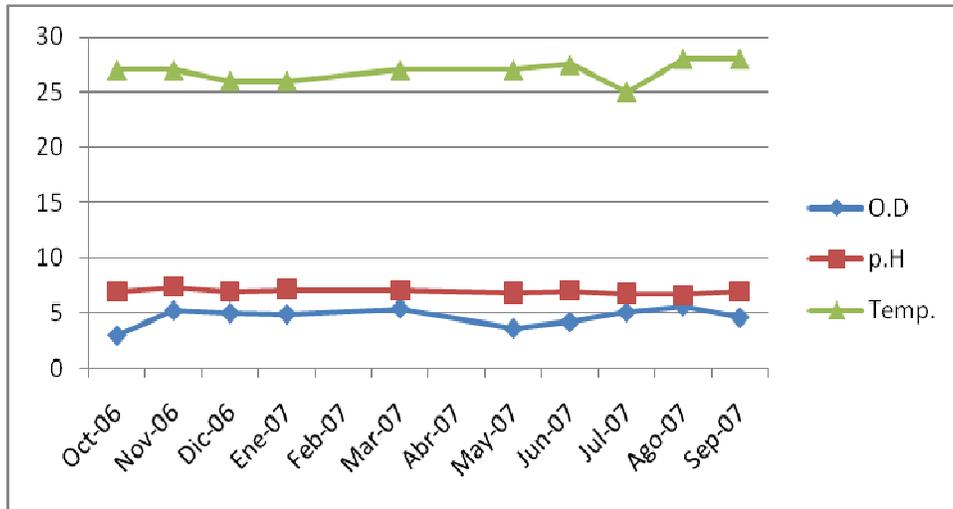
Se aislaron 8 especies. En lo respectivo a las especies de mayor frecuencia se presentaron *Hartmannella vermiformis* en 8 meses y *Vexillifera bacillipedes* en 5 meses. Las que menos se presentaron fueron *Platyamoeba placida*, *Naegleria sp.* *Vannella simplex*, *Stachyamoeba lipophora*. (Tablas 4 y 5)



Gráfica 10. Aislamientos obtenidos en el pozo U. Alianza.

*En febrero y abril no se pudo tomar muestra.

En el pozo Unidad Alianza la variación del Oxígeno Disuelto va de 3 como mínimo en el mes de Octubre-06 y 5.6 como máxima en el mes de Agosto-07; por otra parte el pH varía de 7.3 como máximo y 6.6 como mínimo en el mes de Agosto-07; mientras que la temperatura varía de 28°C como máxima en los meses de Agosto-07 y Septiembre-07 y 25°C como mínima en el mes de Julio-07 (Gráfica 11).



Gráfica 11. Parámetros fisicoquímicos del pozo U. Alianza.

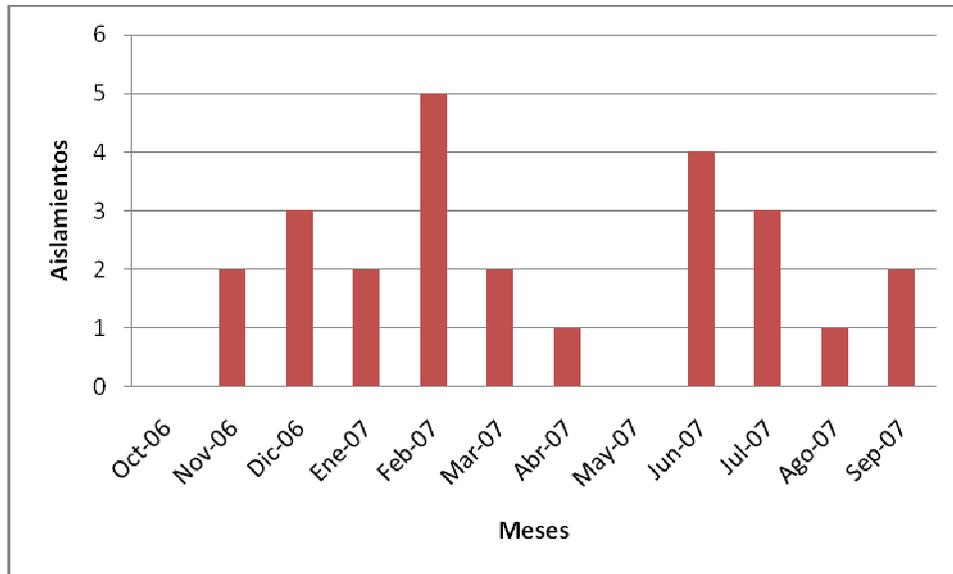
*En los meses de Febrero y Abril no hubo muestreo

Respecto a la correlación en el pozo U. Alianza a lo de un año entre la presencia de Amibas de Vida Libre y la temperatura, esta fue insignificante, en relación al Oxígeno Disuelto esta fue débil, y con el pH fue moderada.

TLALQUITENANGO

En el pozo Tlalquitenango se obtuvieron un total de 25 aislamientos, de éstos, en el mes de Febrero-07 se obtuvieron la mayor cantidad de aislamientos (5), mientras el mes de Mayo-07 no se encontraron Amibas (Gráfica 12).

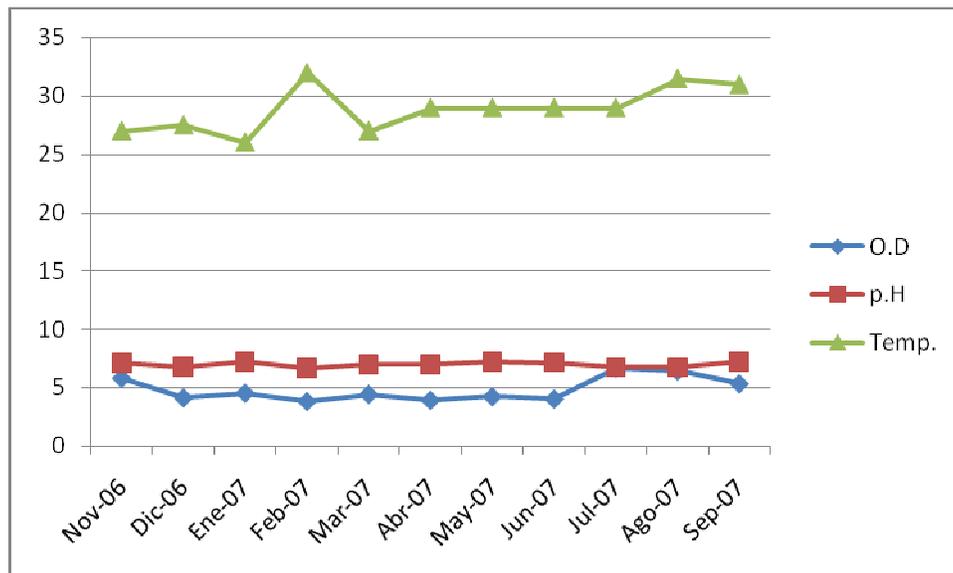
Se aislaron 10 especies, de éstas las de mayor frecuencia se encontró *Hartmannella vermiformis* en 7 meses y *Rosculus ithacus* en 5 meses. Las que menos se presentaron fueron *Tretamitus rostratus*, *Echinamoeba silvestris*, *Vannella platypodia*, *Mayorela culturata*, *Guttilinopsis névea*, *Hartmannella cantabrigiensis* (Tablas 4 y 5).



Gráfica 12. Aislamientos obtenidos en el pozo Tlalquitenango.

*En octubre no se pudo tomar muestra.

En el pozo Tlalquitenango la variación de Oxígeno Disuelto va de 6.6 como máximo en el mes de Julio-07 y 3.8 como mínimo en el mes de Febrero-07; el pH varía de 7.2 como máximo en el mes de Enero-07 y 6.6 como mínimo en el mes de Febrero-07; mientras la temperatura varía de 32°C como máxima en el mes de Febrero-07 y 26°C como mínimo en el mes de Enero-07 (Gráfica 13).



Gráfica 13. Parámetros fisicoquímicos en el pozo Tlalquitenango.

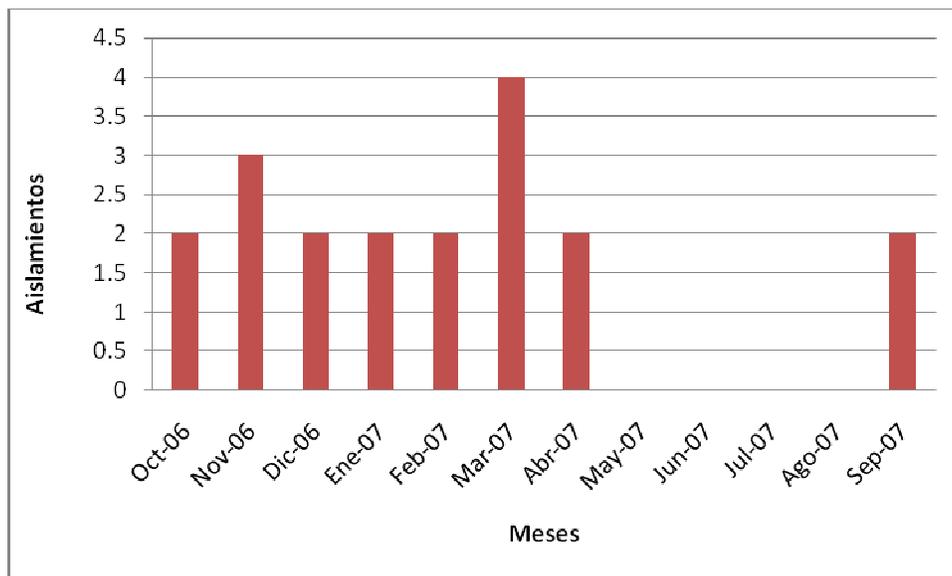
* En el mes de Octubre no se realizó el muestreo.

Respecto a la correlación en el pozo Tlalquitenango a lo de un año entre la presencia de Amibas de Vida Libre y la temperatura, esta fue insignificante, en relación al Oxígeno Disuelto esta fue débil, y con el pH fue débil.

LAS JUNTAS

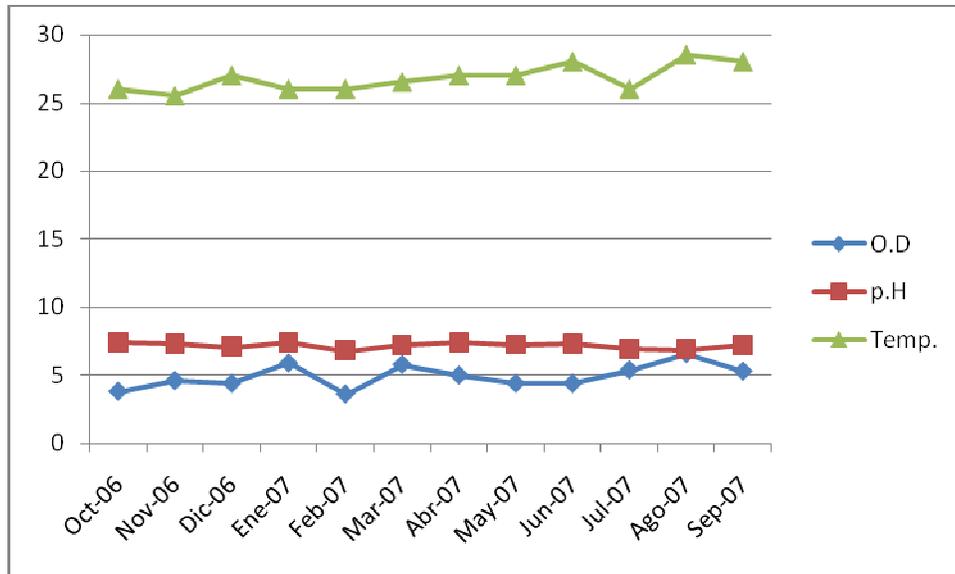
En el pozo Las Juntas se obtuvieron un total de 19 aislamientos, de los cuales en el mes de Marzo-07 se obtuvo la mayor cantidad (4), mientras los meses de Mayo-07, Junio-07, Julio-07 y Agosto-07 no se obtuvieron aislamientos (Gráfica 14).

Se aislaron 8 especies de las cuales la de mayor frecuencia fue *Hartmannella vermiformis* en 7 meses y *Naegleria* sp. en 5 meses. Las que menos se presentaron fueron *Hartmannella cantabrigiensis*, *Vannella lata*, *Vannella simplex*, *Acanthamoeba polyphaga*, *Acanthamoeba royreba* (Tablas 4 y 5).



Gráfica 14. Aislamientos obtenidos en el pozo las Juntas.

En el pozo Las Juntas el Oxígeno Disuelto varía de 6.6 como máximo en el mes de Agosto-07 y 3.6 como mínimo en el mes de Febrero-07; la variación de pH va de 7.39 en los meses de Octubre-06 y Abril-07, y 6.78 como mínimo en el mes de Febrero-07; por otro lado la temperatura varía de 28.5°C como máxima en el mes de Agosto-07 y 25.5°C como mínimo en el mes de Noviembre-07.



Gráfica 15. Parámetros fisicoquímicos en el pozo las Juntas.

Respecto a la correlación en el pozo Las Juntas a lo de un año entre la presencia de Amibas de Vida Libre y la temperatura, esta fue débil, en relación al Oxígeno Disuelto esta fue débil, y con el pH fue insignificante.

Análisis estadístico

El Coeficiente de Correlación proporciona una medida de la asociación lineal entre las variables, los valores de la correlación están entre -1 y +1. Si las variables están perfectamente asociadas, entonces el coeficiente de correlación será de 1 o -1, si por el contrario, las variables no están asociadas, entonces el coeficiente tendrá un valor cercano a cero (Durán et al., 2003).

La siguiente tabla se tomó en cuenta para realizar la interpretación del análisis estadístico.

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

A continuación se muestra la tabla de las correlaciones de Temperatura, Oxígeno disuelto y pH con la presencia de Amibas de Vida Libre.

Pozo	Temperatura	Oxigeno disuelto	pH
Tequesquitengo	-0.44426462	0.23135978	0.08159814
Sta. María	0.43442547	0.25582448	-0.01634814
U. Alianza	0.13473854	-0.25011612	-0.57204004
Tlalquitenango	0.18938176	-0.20465207	-0.42559924
Las Juntas	-0.4702686	-0.05668776	0.29228553

De acuerdo a las dos tablas anteriores se puede observar en la mayoría de las correlaciones el grado de asociación es insignificante o débil y solamente en una relación el grado de asociación es ligeramente moderada, esto sucedió en el pozo Alianza con el pH y la presencia de AVL.

No se observó relación de las amibas con la temperatura, debido a que la gran mayoría de las amibas aisladas no han sido reportadas como patógenas, que son las que sí siguen un patrón estacional con la temperatura (Bonilla *et al*, 2004)

CONCLUSIONES

Las AVL se presentaron en los cinco pozos y en todos los meses, aunque no de manera constante y en números bajos.

La especie que más predominó fue *Hartmannella vermiformis* que no ha sido reportada como patógena, sin embargo, ha sido asociada con algunos casos clínicos humanos de infecciones cerebrales y oculares.

Respecto a las amibas encontradas con potencial patógeno, están *Acanthamoeba polyphaga* y *Acanthamoeba royreba* que aunque en números muy bajos 1 y 2 aislamientos respectivamente, es un llamado de atención para mantener la cloración del agua y en la concentración adecuada para reducir el factor de riesgo a la salud de los usuarios de esta agua.

En lo que se refiere a la distribución Temporal de las AVL el mes en el que se obtuvieron la mayor cantidad de aislamientos fue en Diciembre y el mes de Abril se obtuvo el número mas bajo.

Por otra parte, en relación a la distribución Espacial de AVL se encontró que el pozo con mayor cantidad de aislamientos fue Tlalquitenango con 25, mientras que el pozo Tequesquitengo con 18 presentó la menor cantidad de aislamientos en el periodo de muestreo; cabe mencionar que la diferencia entre ambos pozos es muy pequeña, lo que se atribuye a que las condiciones ambientales son muy homogéneas en los dos pozos.

No se encontró relación de las amibas con los parámetros fisicoquímicos (pH, Oxígeno disuelto, Temperatura).

La ausencia de Amibas de Vida Libre Patógenas posiblemente se debió a que las temperaturas registradas en el acuífero no fueron las adecuadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ✓ Aitken D., Hay J., Kinnear F.B., Kirkness C.M., Lee W.R. Seal D.V. 1996. Amebic keratitis in a wearer of disposable contact lenses due to a mixed *Vahlkampfia* and *Hartmannella* infection. *Ophthalmol.* Pp. 103, 485-493.
- ✓ Ávila I. 2006. Amibas de vida libre potencialmente patógenas en aguas del parque “Las Cocuizas”, Maracay, Venezuela. *Revista Cubana de Medicina Tropical.* Habana. Pp. 3:15-19.
- ✓ Beltrán de Estrada, M. y Uyema T. N. 1997. Amebas de vida libre en muestras de agua de piscinas del Departamento de Lima. *Rev. perú. med. exp. salud publica.* Pp.14(1):29-33.
- ✓ Beltrán A. 2008. Determinación de Amibas de Vida Libre en 10 pozos de Cuernavaca, Morelos. FES Iztacala. UNAM. México.
- ✓ Bonilla P., Ramírez E., Ortiz R., Calderón A., Gallegos y Hernández D.2000. Occurrence of pathogenic and free-living amoebae in aquatics systems of the Huasteca Potosina, México. En: M.S. Munawar, I.F. Lawrence, I.F. y D. Maller (eds), *Aquatic Ecosystems of México: Status and Spcope.* Backhuys Publishers. Pp.37-44.
- ✓ Bonilla P., Ramírez E., Ortíz R. y 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. Pp. 67-81.
- ✓ 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.
- ✓ Castro B., Gaytan H. 1992. Medidas de calidad de agua potable en la ciudad de México, en un periodo de 9 meses. FES Iztacala. UNAM. México.
- ✓ Campos L. 2007. Distribución Temporal de las Amibas de Vida Libre en dos Manantiales del Acuífero del Valle de Cuernavaca, Morelos. FES Iztacala. UNAM. México.
- ✓ Centeno M., Rivera F., Cerva L., Tsutsumi V., Gallegos E., Calderón A., Ortiz R., Bonilla P., Ramírez E., y Suárez G. 1996. *Hartmannella vermiformis* isolated from the cerebrospinal fluid of a young male patient with meningoencephalitis and bronchopneumonia. *Arch. Med.* Pp. 27, 579-586.
- ✓ Comisión Nacional del Agua. 2000. Determinación de la disponibilidad del agua en el acuífero de Zacatepec, Estado de Morelos. Gerencia de Aguas Subterráneas, Subgerencia Regional Técnica, México. P 83.
- ✓ Comisión Nacional del Agua, 2002. Determinación de la disponibilidad de agua en el Acuífero Cuernavaca, Morelos. FES Iztacala. UNAM. México.

- ✓ Dua H.S., Azuara-Blanco A., Hossain M. y Lloyd J. 1998. Non-*Acanthamoeba* amebic keratitis. *Cornea*. Pp.18, 499-501.
- ✓ Duran A., Cisneros, A. y Vargas A. 2005. Bioestadística. FES Iztacala UNAM.
- ✓ García O. N. 2002. Estudio fisicoquímico y bacteriológico del agua subterránea en las zonas centro oriente del valle de Cuernavaca, Morelos, México.
- ✓ Gelman B.B., Popov V., Chaljub G., Nader R., Rauf S.J., Nauta H.W. y Visvesvara G.S. 2003. Neuropathological and ultrastructural features of amebic encephalitis caused by *Sappinia diploidea*. *J Neuropathol. Exp, Neurol*. Pp.62 (10): 990-8
- ✓ Gómez G.D. 2003. Estudio Cuantitativo de las Amibas de Vida Libre presentes en un sistema de tratamiento del agua residual del tipo del método de la zona de la raíz (MZR) en el poblado de Matilde, Hidalgo. FES Iztacala. UNAM. México.
- ✓ Inoue T., Asari S., Tahara K., Hayashi K, Kiritoshi A. y Shimomura Y. 1998. *Acanthamoeba* keratitis with symbiosis of *Hartmannella* ameba. *Am. J. Ophthalmol*. Pp.125, 721-723.
- ✓ 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. Pp. 54.
- ✓ Jiménez C.B.E. 2002. La contaminación ambiental en México. Limusa. México. Pp.300.
- ✓ Lorenzo-Morales J., Martínez-Carretero E., Batista N., Alvarez-Marin J., Bahaya Y., Walochnik J. y Valladares B. 2007. Early diagnosis of amoebic keratitis due to a mixed infection with *Acanthamoeba* and *Hartmannella*. *Parasitol*. Pp. 102, 167-169.
- ✓ Martínez A.J.y Visvesvara G.S. 1997. Free-living, amphizoic and opportunistic amebas. *Brain Pathol*. Pp. 7:583-589.
- ✓ Michel R., Schmid E.N., Böker T., Hager D.G., Müller K.D., Hoffmann R. y Seitz H.M. 2000. *Vannella* sp. harboring Microsporidia-like organisms isolated from the contact lens and inflamed eye of a female keratitis patient. *Parasitol*. Pp. 86, 514-520.
- ✓ Monroy P. D. 2007. Estudio fisicoquímico y bacteriológico del agua subterránea en la zona sur del valle de Cuernavaca, Morelos, México. FES Iztacala. UNAM. México.
- ✓ Novarino G., Warren A., Butler H., Lambourne G., Boxshall A., Bateman J., Kinner N.E., Harvey R.W., Mosse R.A., Teltsh B., 1997. Protistean communities in Aquifers: A review. *FEMS Microbiology Reviews*.
- ✓ Page, F.C. 1988. A New Key to Freshwater and Soil Gymnamoebae.CCAP. Cumbria. England.

- ✓ Qvarntom Y. Da silva A.J., Schuster F.L., Gelman B.B., Visvesvara G.S. 2009. Molecular confirmation of *Sappinia pedata* as a causative agent of amoebic encephalitis. Division of Parasitic Disease, National Center for Zoonotic, Vector-Borne, and Enteric Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia 30341, USA.
- ✓ Ramírez E., Robles, E., Bonilla, P., Sains, G., López., De La Cerda, J.M y Warren, A. 2001. Free-Living amoebae in organically-contaminated aquifer in México. En: S. Billot-Bonef, P.A. Cabanes, F. Marciano-Cabral, P.Perni y E.Pringuez (eds.). IX Internacional Meeting on the Biology and Pathogenicity of Free-living Amoebae Proceedings. John Libbey. Eurotext.
- ✓ Rubio R. M. 2007. Estudio fisicoquímico y bacteriológico del agua subterránea en la zona norte del valle de Cuernavaca, Morelos, México. FES Iztacala. UNAM. México.
- ✓ Scheid P. 2007. Mechanism of intrusion of a microsporidian-like organism into the nucleus of host amoebae (*Vannella* sp.) isolated from a keratitis patient. Parasitol. Pp. 101, 1097-1102.
- ✓ Schuster, F.L y Visvesvara, G. S. 2004. Free-living amoebae as opportunistic and non-opportunistic pathogens of humans and animals. Int. J Parasitol
- ✓ Visvesvara G.S., Moura H. y Schuster F.L. 2007. Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri*, and *Sappinia diploidea*. FEMS Immunol. Med. Microbial. Pp. 50, 1-26.

Internet.

<http://www.inegi.gob.mx/geografia/>