

## Tesis de Posgrado

# Presencia, frecuencia y crecimiento de hongos levaduriformes en sistemas de distribución de aguas

Mosto, Patricia

1995

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias  
Biológicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

**Cita tipo APA:**

Mosto, Patricia. (1995). Presencia, frecuencia y crecimiento de hongos levaduriformes en sistemas de distribución de aguas. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. [http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_2741\\_Mosto.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2741_Mosto.pdf)

**Cita tipo Chicago:**

Mosto, Patricia. "Presencia, frecuencia y crecimiento de hongos levaduriformes en sistemas de distribución de aguas". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1995. [http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_2741\\_Mosto.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2741_Mosto.pdf)

**Facultad de Ciencias Exactas y Naturales**  
**Universidad de Buenos Aires**

**PRESENCIA, FRECUENCIA Y CRECIMIENTO DE HONGOS LEVADURIFORMES EN  
SISTEMAS DE DISTRIBUCION DE AGUAS**

**Patricia Mosto**

**Tesis para optar al título de Doctor en Ciencias Biológicas**

**1995**

- 152

**To Lara,  
for your unconditional  
support**

## AGRADECIMIENTOS

A mi hija Lara, por aceptar mis tiempos ausentes dedicados a la obtención de éste título, y por su ayuda constante e incondicional.

A mis padres, que siempre me alentaron para seguir adelante y progresar, en especial a mi madre por su constante ejemplo y ayuda.

A mi amiga Mary, por todas las horas dedicadas a cuidar a Lara cuando yo estudiaba, y por su estímulo y presencia durante la última etapa de esta tesis.

Al Dr. Máximo Barón por su empuje de aliento y su ayuda para terminar con la tesis doctoral.

Al Dr. Wesley Pipes por introducirme en el mundo de la microbiología del agua potable.

A la Dra. Elizabeth Moore por su guía y ayuda en la realización de esta tesis.

Al Dr. Jorge Wright por la corrección del manuscrito y por darme, con su ayuda y confianza en mí, la posibilidad de recibir mi título luego de 20 años.

A Edna Duncan, por el tiempo dedicado a ayudarme con las tablas e impresión de la tesis.

A mi amiga Silvy, por la ayuda durante los estadíos finales con las correcciones del idioma, y por siempre.

A mi prima Marcela, y a todos aquellos involucrados con mis trámites, a larga distancia, de los papeles del doctorado.

A mis amigos y a mis compañeros de trabajo por su ayuda y estímulo en la finalización de la tesis.

Y a todos aquellos a quienes de alguna manera, pequeña o grande, les debo parte de éste título.

## TABLA DE CONTENIDOS

### I. INTRODUCCION

Microorganismos en Sistemas de Distribución . . . . .	1
Presencia de Hongos en Sistemas de Distribución . . . . .	2
Importancia de Hongos en Sistemas de Distribución . . . . .	3
Crecimiento de los Microorganismos en Sistemas de Distribución . . . . .	5
Crecimiento de Hongos levaduriformes en Sistemas de Distribución . . . . .	9
Objetivos de la Investigación . . . . .	10

### II. MATERIAL Y METODOS

#### A. Estudios de campo.

Descripción del sistema de distribución de aguas. . . . .	11
Colección de muestras . . . . .	13
Análisis de muestras bacteriológicas y micológicas . . . . .	13
Análisis estadísticos . . . . .	15

#### B. Estudios experimentales de crecimiento.

Selección de microorganismos . . . . .	16
Preparación de cultivos de hongos levaduriformes . . . . .	16
Preparación del agua para estudios de crecimiento . . . . .	17
Respuesta de crecimiento en hongos levaduriformes (RCL) . . . . .	21
Análisis estadísticos . . . . .	22

### III. RESULTADOS

#### A. Estudios de campo.

I. Presencia de hongos en los diferentes sitios de muestreo . . . . .	24
II. Géneros de hongos presentes en el sistema de distribución . . . . .	30
III. Comparaciones dentro del sistema de distribución . . . . .	49
IV. Correlaciones entre hongos, bacterias y otros parámetros . . . . .	61

#### B. Estudios de laboratorio.

I. Experimentos de la respuesta de crecimiento levaduriforme (RCL) . . . . .	68
II. Crecimiento de hongos levaduriformes en los diferentes sitios del sistema de distribución . . . . .	78

#### **IV. DISCUSION**

##### **A. Estudios de campo**

I. Presencia y frecuencia de hongos en sistemas de distribución . . . . .	91
II. Tipos de hongos hallados y su significado . . . . .	94
III. Origen de los hongos en el sistema de distribución . . . . .	97
IV. Diferencias entre las muestras en los distintos puntos del sistema . . . . .	100

##### **B. Estudios de laboratorio.**

I. Respuesta de crecimiento levaduriforme (RCL) como técnica de bioensayo . . . . .	105
II. Resultados generales . . . . .	110
III. Importancia del crecimiento de hongos en aguas de consumo . . . . .	112

<b>V. CONCLUSIONES . . . . .</b>	<b>115</b>
----------------------------------	------------

<b>VI. BIBLIOGRAFIA . . . . .</b>	<b>119</b>
-----------------------------------	------------

#### **VII. APENDICES**

I. Apéndice I	
A: Valores promedios del número total de hongos y bacterias en cada sitio de muestreo	
B: Valores promedios de muestras positivas para hongos y bacterias en cada sitio de muestreo	
II. Apéndice II	
Parámetros fisico-químicos para cada sitio de muestreo	
III. Apéndice III	
Descripción de las especies de hongos halladas y Figuras A 1-19	
IV. Apéndice IV	
Frecuencia de las especies de hongos en los distintos sitios de muestreo	
V. Apéndice V	
Experimentos de crecimiento	

#### **VIII. LISTA DE TABLAS**

#### **IX. LISTA DE FIGURAS**

## INTRODUCTION

El principal objetivo de la microbiología de la Salud Pública es proveer agua potable microbiológicamente apta para el consumo. La aprobación del "Safe Drinking Water Act" (SDWA) en los Estados Unidos en 1974 (Ley Pública 93-523) ha estimulado significativamente las investigaciones microbiológicas en aguas potables. Dichas investigaciones cobraron ímpetu en los años 80. Las observaciones y hallazgos en los diferentes estudios demostraron a la comunidad científica la complejidad de los problemas relacionados con la calidad de aguas. Muchos interrogantes quedan aún sin contestar, entre ellos, los relacionados con los aspectos microbiológicos del agua potable.

Los estudios epidemiológicos de la última centuria intentan relacionar la diseminación de enfermedades gastrointestinales debido a la contaminación microbiológica de aguas para consumo (60). La identificación de ciertas bacterias como agentes etiológicos de enfermedades relacionadas con el agua potable ha servido como base para el tratamiento y desinfección de dichas aguas. El uso de bacterias coliformes como indicadoras de la calidad de aguas potables (60) ha focalizado el grueso de las investigaciones microbiológicas en este grupo de microorganismos. En los últimos años, la presencia de bacterias en los sistemas de distribución de aguas ha sido ampliamente documentada (3,6,12,15, 18,19,22,27,35,37,39,44,45,50,53,55,56,59,63,64,85).

Se han hallado una gran variedad de bacterias en los sistemas de distribución de aguas, entre ellas, especies patogénicas como las que causan disentería (Shigella sp.), fiebre tifoidea (Salmonella typhi), legioneliasis (Legionella sp.), conjuntivitis (Pseudomonas sp.), etc. (59). Las bacterias patogénicas no son los únicos microorganismos en los sistemas de distribución de aguas. Las bacterias indicadoras de contaminación, en particular Escherichia coli, así como el resto de las especies coliformes, son las más comúnmente halladas en aguas de consumo (60).

Otros microorganismos, además de bacterias, han sido detectados en los sistemas de distribución de aguas. Entre ellos, virus (21), protozoarios parásitos (25,67) y hongos (7,16,26,50,51,54,58,62,66,69,70,71,72,84). El estudio de estos últimos, ha cobrado interés en los últimos años.

Los hongos hallados en los sistemas de distribución de aguas son en su totalidad hongos levaduriformes o mohos filamentosos. Han sido hallados en las cañerías del sistema de distribución, en las bombas de agua, en canillas públicas y privadas, en tanques de almacenamiento, y en pozos de agua (26,50,53,69,72). Las densidades halladas, aunque no así los géneros, varían entre los diferentes sistemas analizados y las diferentes localidades de muestreo. Varios factores, tales como la fuente de origen del agua potable, los métodos de tratamiento y los métodos de muestreo, son en parte responsables de las diferencias halladas.



Los hongos, son un grupo variado de microorganismos eucarióticos, no fotosintéticos, degradadores de sustancias orgánicas en la mayoría de los ambientes, incluyendo los ambientes acuáticos. Los hongos que han sido aislados hasta el presente en sistemas de distribución de aguas pertenecen a la división Amastigomycota. Dentro de esta división, se han estudiado dos tipos morfológicamente diferentes en sistemas de aguas. Los primeros, organismos unicelulares comúnmente llamados hongos levaduriformes, y los segundos, organismos filamentosos, comúnmente llamados mohos. El tipo de esporas reproductivas es la base de la clasificación de los Amastigomycota. La mayoría de los hongos aislados en sistemas de distribución de aguas han sido identificados como hongos imperfectos, o Deuteromycetes, habitantes comunes de suelo, con dispersión aérea de las esporas.

La importancia de los hongos en los sistemas de distribución de aguas puede incluir:

- 1) la producción de compuestos debido a actividades metabólicas, o a sustancias de descomposición, que pueden reaccionar con compuestos desinfectantes, por ejemplo, cloro, produciendo sustancias tóxicas o cancerígenas como los trihalometanos (62),
- 2) la producción de olores o sabores en el agua potable (7,10,47),
- 3) la implicancia para la salud debido a la presencia de especies patogénicas, tales como Petriellidium boydii, Aspergillus niger y A. fumigatus (66,70,72,84), o a la presencia de especies alergizantes (46,49),

- 4) la producción de aflatoxinas debido a la presencia de Aspergillus flavus (72)
- 5) la presencia de especies tales como Alternaria y Fusarium, causantes de contaminación de productos alimenticios (28),
- 6) el deterioro de uniones de cañerías o materiales bajo tierra, (12,13,41), y
- 7) la colonización de cañerías formando densas películas de microorganismos ("biofilm"), con la consiguiente interferencia en la transmisión del agua debido a un aumento en las asperezas, o en la reducción del diámetro de dichas cañerías (51).

El mecanismo de ingreso de hongos a los sistemas de distribución de aguas ha sido motivo de investigación en los últimos años. Dichos mecanismos incluyen:

- 1) el cruce de las barreras de tratamiento y desinfección del agua potable;
- 2) la interfase agua-aire;
- 3) la contaminación durante la reparación de cañerías, ruptura de sistemas de desagües o conexión entre el sistema de desagüe y el sistema de distribución; y/o
- 4) el desgarramiento de la película de crecimiento de microorganismos ("biofilm") en el sistema de distribución.

Uno puede especular que una vez que la espora del hongo entra en el sistema de distribución de aguas puede colonizar y crecer en ciertos sitios dentro del sistema. Por el momento, la diferenciación entre el crecimiento de los hongos en el sistema de distribución de aguas y la presencia adventicia de los mismos es

difícil. Parte de esta tesis es tratar de entender dicha diferencia.

El crecimiento de microorganismos en aguas potables, se ve afectado por la disponibilidad de nutrientes en el agua, siendo el carbono orgánico, el factor de crecimiento más importante. De la totalidad de carbono orgánico (TOC), sólo una fracción, la asimilable o biodegradable (AOC) puede ser utilizada por los microorganismos. La medición del AOC en el agua potable provee una indicación de la potencialidad del crecimiento en esa fuente de agua (79). En los últimos 10-15 años, el grueso de la literatura en microbiología de aguas potables se relaciona con el crecimiento de bacterias (2,9,14,17,18,24,36,37,38,43,44,55,57,61,73,76,85). Este es el primer estudio que trata de comprender la potencialidad del crecimiento de hongos levaduriformes en sistemas de distribución.

Los elementos esenciales para el crecimiento de los microorganismos en sistemas de distribución de aguas incluyen aquellos requeridos en grandes cantidades como carbono, nitrógeno, fósforo, potasio, azufre, magnesio y calcio, como los requeridos en minúsculas (traza) cantidades tales como manganeso, molibdeno, cobre, cobalto, zinc, etc. La información específica referente a los tipos de nutrientes necesarios para estimular el crecimiento de microorganismos en sistemas de distribución de aguas, como así mismo los niveles a los que dichos nutrientes deben ser reducidos para controlar dicho crecimiento, no es conocida.

De los macronutrientes, el carbono, el nitrógeno y el fósforo juegan un rol principal en el crecimiento de los microorganismos. El fósforo existe en aguas potables casi exclusivamente como ortofosfato, y no es generalmente consumido por la actividad microbiológica. Herson et al. (24) han informado acerca de la estimulación del crecimiento bacteriano en sistemas de distribución por la adición de búferes fosfatados, concluyendo que el fósforo es un factor limitante de crecimiento. Rosenzweig (68), por otro lado, encuentra que inhibidores de corrosión de cañerías con base de fosfato, no influyen en el crecimiento bacteriano.

El nitrógeno se halla en el agua potable como nitrógeno orgánico, amoníaco, nitritos y nitratos (23). El amoníaco es un donante de electrones para bacterias autotróficas y puede promover el crecimiento bacteriano en sistemas de distribución. Rittmann y Soeyink (65) han encontrado que las concentraciones de amoníaco en aguas subterráneas son lo suficientemente elevadas como para producir crecimiento biológico. La proliferación de bacterias capaces de oxidar amoníaco en diques cubiertos en el sur de California aumenta el nivel de nitratos en el agua, con lo cual promueve el crecimiento de otras bacterias (86).

Los compuestos de carbono utilizados por los microorganismos heterotróficos para la producción de nuevo material celular y como fuente de energía, son compuestos de carbono orgánico. La mayor parte del carbono orgánico en aguas potables es de origen natural, e incluye ácidos húmicos y fúlvicos, polímeros de carbohidratos, proteínas y ácidos carboxílicos. Dado que los microorganismos

heterotróficos requieren carbono, nitrógeno y fósforo en una relación de 100:10:1, el carbono orgánico es, generalmente, el principal factor limitante de crecimiento.

La proporción del contenido total de carbono orgánico (TOC) que puede ser fácilmente digerida por los microorganismos heterotróficos de ambientes acuáticos y usada para su crecimiento es la fracción asimilable (AOC). A menudo, dicha fracción es solamente el 0.1-0.9% del TOC (83). La cantidad y tipo del carbono orgánico asimilable en aguas para el consumo es difícil de medir, y puede ser definido solamente en términos relativos. Generalmente, el AOC se calcula usando técnicas de bioensayo, propuestas inicialmente por Van der Kooij (83) y modificadas por Kaplan (30) y LeChevallier (40). Brevemente, las técnicas involucran:

- la recolección del agua a ser analizada en recipientes de vidrio libres de AOC;
- la eliminación de la población microbiológica indígena por calor;
- la inoculación e incubación de la muestra con el/los organismos a ser analizados; y
- el análisis del crecimiento de dichos microorganismos.

El crecimiento de los microorganismos es proporcional a la cantidad de nutrientes limitantes en el agua. Dicho nivel de nutrientes puede ser convertido a equivalentes de carbono mediante el uso de un coeficiente de producción derivado empíricamente para cada organismo dado un sustrato de crecimiento específico (79).

Los sistemas de aguas potables contienen entre 1 y 2000  $\mu\text{g/L}$  de AOC (14,20,36). Van der Kooij (83) ha demostrado una relación directa entre los niveles de AOC en el agua y el crecimiento bacteriano, exhibiendo las aguas con más de 50  $\mu\text{g/L}$  of AOC un crecimiento significativo. También se ha demostrado (36), que los niveles de AOC disminuyen a medida que el agua pasa de la planta potabilizadora al sistema de distribución.

Los microorganismos hallados en sistemas de distribución de aguas deben considerarse oligotróficos, dado que son capaces de crecer en bajas concentraciones de TOC (entre 1-15 mg/L) (34). Los microorganismos oligotróficos se hallan generalmente asociados con superficies de adhesión. La capacidad de los microorganismos de adherirse y colonizar superficies les proporciona un microambiente de mayor concentración de nutrientes que el medio que los rodea. Este crecimiento en película, "biofilm", influencia la concentración de sustratos limitantes y la velocidad de asimilación de dichos sustratos (14). Se ha investigado (52) la asimilación secundaria de compuestos orgánicos en concentraciones "traza" por los microorganismos del biofilm, y es un suministro de AOC a bajas concentraciones. La adhesión a superficies y la formación de biofilms, la edad del biofilm, y las condiciones de crecimiento previas (8,37,38,87), son factores que promueven el crecimiento de los microorganismos en aguas potables.

El grupo de organismos planctónicos que pueden crecer en sistemas de distribución es generalmente muy inferior al grupo de organismos que crecen como parte del "biofilm", y sus

requerimientos nutricionales (sustrato medido en AOC) son de muy bajas concentraciones (14). El concepto de concentración umbral (la concentración de sustrato más baja que puede mantener el crecimiento de los microorganismos) debe ser considerada cuando se estudia el crecimiento de microorganismos a bajas concentraciones de sustrato.

Los efectos negativos del crecimiento de microorganismos en la calidad del agua potable depende del número e identidad de los mismos, y de la concentración del sustrato orgánico. Las medidas preventivas para el control del crecimiento de microorganismos incluyen la reducción de compuestos orgánicos que sirven como fuente de carbono y energía. En los últimos años se han descrito diferentes métodos para determinar el potencial de crecimiento de microorganismos en agua potable (29,30,32,40,74,75,79,83). Los principios que incluyen dichos métodos son:

- 1) la medición de la cantidad de masa bacteriana producida luego de la incubación de la muestra de agua (las mediciones de masa bacteriana incluyen el recuento directo de los organismos, análisis de constituyentes biológicos o recuento de colonias);
- 2) la medición de la velocidad del crecimiento bacteriano (usando determinaciones de masa bacteriana); y
- 3) las mediciones de la reducción de la concentración de compuestos orgánicos (usando análisis químicos).

En general, con el uso de técnicas bacteriológicas, se pueden medir densidades muy bajas de masa bacteriana, permitiendo la determinación del potencial de crecimiento a niveles de  $\mu\text{g/L}$ .

La investigación de la presencia y significado de los hongos en los sistemas de distribución de aguas es un campo relativamente nuevo, y poco se sabe al respecto. La potencialidad de crecimiento de hongos levaduriformes en sistemas de distribución no ha sido nunca antes investigada.

El objetivo de esta tesis doctoral es:

- 1) verificar la presencia de hongos en los sistemas de distribución de aguas, corroborando hallazgos de autores previos,
- 2) obtener datos respecto al tipo y frecuencia de hongos en un sistema de distribución de aguas en particular; el de la ciudad de Glassboro, estado de Nueva Jersey, E.E.U.U.,
- 3) obtener información concerniente al punto de entrada de los hongos al sistema de distribución de aguas,
- 4) establecer, si existe, una correlación entre el número total de bacterias y el de hongos en el sistema de distribución de aguas, y
- 5) estudiar, por primera vez, el potencial de crecimiento de hongos levaduriformes en agua potable. El potencial de crecimiento se define aquí como la capacidad del agua de mantener el crecimiento y reproducción de un organismo dado versus una fuente de agua determinada.



## MATERIAL Y METODOS

Este trabajo consiste de dos partes. Un estudio de campo para proveer información sobre el tipo y la cantidad de hongos presentes en diferentes partes de un sistema de distribución de aguas, y un estudio experimental para evaluar la potencialidad del crecimiento de hongos levaduriformes en dicho sistema de distribución.

### **A) Estudio de campo**

El estudio de campo fue llevado a cabo para proporcionar información concerniente a la presencia y frecuencia de hongos en un sistema de distribución de aguas.

El sistema de distribución de la ciudad de Glassboro, Condado de Gloucester, Estado de Nueva Jersey, E.E.U.U., fue muestreado durante el año 1994. El criterio utilizado para la selección de este sistema fue la proximidad al laboratorio de la investigadora, la red de distribución, y el tipo de agua utilizada (agua subterránea).

El sistema de distribución es típico de una pequeña comunidad en el estado de Nueva Jersey. Posee 5 pozos de agua, con sólomente 3 trabajando durante los meses de verano y 4 durante el resto del año (con el resto de los pozos en "stand-by") y 2 tanques de almacenamiento. El tratamiento de aguas se realiza mediante la aplicación de cloro a 0.4 mg/l. (Tabla 1).

**TABLA 1 - DESCRIPCION DEL SISTEMA DE DISTRIBUCION DE AGUA DE LA CIUDAD DE GLASSBORO**

**1- Origen del agua**

5 pozos de agua ( 2-4 pozos en servicio simultáneamente)

Pozo # 2 - N. Main St.	- Cap. 360 GPM
Pozo # 3 - Maryland Av.	- Cap. 700 GPM
Pozo # 4 - Heston Rd.	- Cap. 1000 GPM
Pozo # 5 - Zane and Carl Av.	- Cap. 1028 GPM
Pozo # 6 - S. Delsea Dr.	- Cap. 1300 GPM

**2- Almacenamiento**

2 tanques de almacenamiento

Tanque Greentree - Greentree Rd.	- Cap. 1.0 MG
Tanque College - Carpenter Rd.	- Cap. 0.5 MG

**3- Red de distribución**

50% galvanizada (40% cubierta con cemento) y 50% de cobre  
Red de 30-40 años de antigüedad

**4- Uso de agua**

El agua se distribuye directamente de los pozos a la red de distribución. Los tanques de almacenamiento se usan como reserva.

Promedio mensual de agua usada en mG (año 1993-1994)

Invierno (Dic.-Ene.-Feb.)	51.576-	49.596-	40.361
Primavera (Mar.-Abr.-May.)	45.453-	47.356-	48.301
Verano (Jun.-Jul.-Ago.)	51.377-	62.387-	79.731
Otoño (Sep.-Oct.-Nov.)	63.203-	59.211-	57.394

**5- Servicios**

Población usuaria: 16.400 personas

Número de conexiones: 4760 (90% conexiones privadas  
10% conexiones públicas)

**6- Calidad del agua**

Cloro residual:	0.2-04 ppm
TDS	400 mg/L
pH	7.11
Indice de Langlier:	-0.31
Indice de corrosión:	12.2
Control de corrosión:	Fosfato de sodio
Asbestos:	0%

El sistema fue muestreado semanalmente. Los puntos de muestreo incluyen los 5 pozos, los 2 tanques de almacenamiento, canillas públicas y privadas, y bocas de incendio (Figura 1). En todos los sitios de muestreo se dejó correr libremente el agua durante 3 minutos antes de ser muestreada. En el momento de la recolección de muestras se efectuaron mediciones de cloro residual y temperatura de acuerdo con la metodología estandar (4). Las mediciones de pH fueron obtenidas por los operarios del sistema de tratamiento de aguas. En cada punto del muestreo, se tomaron 3 a 4 muestras duplicadas, en botellas esterilizadas por autoclave, a las cuales se les agregó 0.1 ml de una solución del 10% de tiosulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) antes de esterilizarlas. El tiosulfato de sodio se agregó para neutralizar el cloro residual en el agua e impedir la acción desinfectante del cloro durante el transporte de las muestras al laboratorio. Las muestras fueron guardadas y transportadas al laboratorio en refrigeradoras portátiles y examinadas dentro de las 3 horas de recolección.

Una vez en el laboratorio, las muestras fueron utilizadas para análisis microbiológicos de acuerdo con los métodos estandar (4).

Los recuentos de bacterias heterotróficas (HPC) se realizaron en medio de cultivo R<sub>2</sub>A (extracto de levadura, peptona, ácido casamino, dextrosa, almidón, ácido pirúvico, sulfato de potasio y sulfato de magnesio) usando el método de esparcido, inoculando 1 ml de la muestra, y esparciéndola sobre la superficie del medio de cultivo con una varilla de vidrio esparcidora, esterilizada

FIGURA 1 - Mapa de la Ciudad de Glassboro con los sitios de muestreo



sumergiéndola en alcohol y pasándola por la llama de un mechero Bunsen. Las cajas de petri fueron incubadas durante 7 días a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . Luego de 7 días de incubación, las colonias fueron contadas en un contador de colonias Quebec con campo oscuro.

Los recuentos de hongos fueron obtenidos filtrando 50 ml de la muestra con una jeringa de 50 ml, estéril, sujeta a una unidad de filtrado policarbonada (Nucleopore) de 47 mm de diámetro, estéril, conteniendo un filtro Gelman (tipo GN-6, de 47 mm de diámetro y 0.45 micrómetros de poro). Se aplicó con la jeringa presión positiva, filtrando lentamente el agua a través del filtro y depositando las esporas de los hongos en la superficie del mismo. El filtro fue luego estérilmente colocado en una caja de petri conteniendo medio Agar Dextrosa Sabouraud (SDA). El medio SDA fue preparado con una solución del 1% de Rosa de Bengala, un colorante que retrasa el crecimiento de los hongos que crecen rápido y permite el crecimiento de hongos que crecen lentamente, y una solución del 0.05% de cloramfenicol, antibiótico bacteriostático usado para inhibir el crecimiento bacteriano. Las cajas de petri fueron incubadas durante 7 días a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . Luego de 7 días se contaron e identificaron las colonias, y se transfirieron a cajas de petri con medio SDA para posterior identificación y uso.

Se calcularon parámetros estadísticos de media y desviación estandard para los recuentos de bacterias y de hongos. Las muestras fueron agrupadas por sitios de muestreo, y comparadas mediante Chi cuadrado. El nivel de significancia de todos los análisis fue  $p < 0.05$ . Los análisis de varianzas (ANOVA) fueron

realizados para el número total de hongos y el número de especies halladas, entre los distintos sitios de muestreo. Los análisis de regresión lineal fueron realizados para las relaciones entre recuentos de bacterias y de hongos.

#### **B) Estudio experimental de crecimiento**

Los experimentos de crecimiento fueron planeados para proporcionar información acerca del potencial de crecimiento de hongos levaduriformes en sistemas de distribución de aguas, desarrollando una nueva técnica de bioensayo.

Los hongos levaduriformes aislados del sistema de distribución de aguas fueron usados para los experimentos. Se seleccionaron las especies más comunes encontradas durante los primeros 4-6 meses de muestreo.

Las especies Rhodotorula aurantiaca y Torulopsis sphaerica fueron seleccionadas y cultivadas en medio SDA durante 72 horas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . Los cultivos fueron transferidos a tubos en pico de flauta con medio SDA, y cultivados durante 24 horas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . Los cultivos en pico de flauta fueron inundados con agua estéril, y las células gentilmente removidas del pico de flauta con un ansa estéril. Los hongos levaduriformes fueron recuperados por centrifugación, lavados 3 veces con agua destilada estéril para eliminar residuos del medio de cultivo, y resuspendidos en agua destilada estéril. Esta suspensión fué utilizada como inóculo en los estudios de crecimiento.

El experimento de respuesta de crecimiento levaduriforme (RCL) consistió en determinar el aumento en la densidad de la población fúngica, en muestras experimentales y de control. Se utilizó una modificación del experimento de "respuesta de crecimiento bacteriano" desarrollado por Mosto (en preparación, 48), basado en los trabajos de Van der Kooij (82), Kaplan (31,32) y LeChevallier (40). Dos hipótesis fueron consideradas:

- 1) el número de organismos en  $N_{max}$  es el máximo número de organismos que pueden crecer con base en la concentración de nutrientes en el agua, y
- 2) existe una relación directa entre el crecimiento de los organismos y la concentración de AOC.

Se utilizó agua colectada del sistema de distribución en los experimentos. Se analizaron tres pozos, los dos tanques de almacenaje, tres bocas de incendio y tres canillas privadas. Las muestras de agua fueron transferidas a botellas BOD, y esterilizadas por pasteurización a 70°C durante 30 minutos, el día de recolección, para eliminar la flora endémica del agua. La esterilidad del agua fué corroborada con recuentos en cajas de petri inoculadas antes de la iniciación del experimento. El agua pasteurizada se enfrió a temperatura ambiente antes de ser inoculada.

En todos los experimentos, el material de vidrio usado en los estudios de crecimiento fue lavado con detergente, enjuagado con agua caliente, lavado con ácido clorhídrico (HCl) 0.1N, enjuagado con agua destilada, secado, cubierto con papel de aluminio y

calentado a 550°C for 6-8 horas, para eliminar toda traza de carbono. Se utilizaron botellas para estudio de la demanda bioquímica de oxígeno (BOD test) en los experimentos de crecimiento.

Se introdujo un inóculo de densidad conocida de los hongos levaduriformes seleccionados en el agua estéril para los estudios de crecimiento. El volúmen del inóculo fué calculado con la ecuación

$$V_i = (10^4 \text{ CFU/ml}) \times (300 = \text{Volumen muestra en ml}) / \\ (\text{CFU/ml en inóculo})$$

de acuerdo con LeChevallier (40). Dado que los hongos levaduriformes tardan 72-96 horas en desarrollar colonias contables en cajas de petri con medio SDA, se emplearon dos métodos para establecer la densidad del inóculo en la suspensión original. En el primero, se llevaron a cabo veinte ensayos con las especies ha ser utilizadas en los experimentos, en medio SDA en tubos en pico de flauta, de acuerdo con los protocolos mencionados previamente, estableciendo con un 95% de confianza, que las suspensiones originales obtenidas siguiendo dicho protocolo, contenían entre 18-26 x 10<sup>6</sup> CFU/ml (22 x 10<sup>6</sup> CFU/ml promedio, Tabla 2). En el segundo, se efectuaron recuentos directos de células, usando un hematocímetro y un microscopio Zeiss con contraste de fase, para cada ensayo. Todos los cultivos, con un 95% de confiaza, poseyeron entre 35-45 x 10<sup>6</sup> CFU/ml (43 x 10<sup>6</sup> CFU/ml promedio, Tabla 2). Teniendo en cuenta ambos métodos, se supuso que la densidad original del inóculo era de 22 x 10<sup>6</sup> CFU/ml siempre y cuando el



**TABLA 2a - DENSIDAD DEL INOCULO EN RHODOTORULA AURANTIACA**

Experimento	Recuento CFU/ml (x 10 <sup>6</sup> )	Recuento con Hematocímetro (x 10 <sup>6</sup> )
1	18	44
2	22	40
3	18	45
4	26	42
5	16	35
6	20	45
7	23	44
8	25	45
9	26	45
10	26	45
11	18	45
12	18	45
13	18	45
14	23	42
15	26	40
16	25	43
17	24	44
18	19	36
19	25	43
20	21	44
Promedio	21.85	42.85
Aprox.	22	43

**TABLA 2b- DENSIDAD DEL INOCULO EN TORULOPSIS SPHAERICA**

Experimento	Recuento CFU/ml (x 10 <sup>6</sup> )	Recuento con Hematocímetro (x 10 <sup>6</sup> )
1	19	43
2	21	39
3	20	44
4	26	43
5	18	36
6	19	45
7	24	43
8	26	44
9	26	45
10	25	45
11	18	44
12	18	45
13	19	45
14	22	43
15	26	42
16	26	42
17	23	43
18	18	35
19	26	44
20	22	45
Promedio	22.10	42.75
Aprox.	22	43

recuento, usando el hematocímetro, estuviera dentro de los límites de confianza de  $43 \times 10^6$  CFU/ml. Los cálculos iniciales fueron corregidos una vez que las colonias desarrollaron a las 72-96 horas, y los recuentos de cajas de petri establecieron el número correcto de CFU/ml (en general, las oscilaciones de valores fueron siempre menores del 10%).

Se determinó la densidad de la población de los hongos levaduriformes en las muestras inoculadas mediante recuentos de cultivos en cajas de petri, periódicamente, durante un período de tres semanas. Se consideraron típicas de cultivos en fase estacionaria variaciones diarias de hasta 10% entre recuentos. Un aumento o disminución en la densidad de la población de 20% o más fue indicativo de que los cultivos no habían aun llegado a la fase estacionaria, ó se hallaban en fase de decrecimiento. Las muestras inoculadas fueron vigorosamente agitadas antes de ser muestreadas. Se esparció un mililitro de muestra tomado con pipeta estéril (por duplicado) o sus correspondientes diluciones, dependiendo de la concentración de la muestra, con una varilla de vidrio esparcidora, esterilizada con alcohol y llama de un mechero Bunsen, sobre la superficie de una caja de petri conteniendo medio SDA, y cultivado durante 72-96 horas a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . Los recuentos de colonias se realizaron usando un Contador Quebec con campo oscuro.

Los resultados de las muestras se analizaron en relación con controles que se inocularon simultáneamente con las muestras. Los controles consistieron en agua prepreparada, comprada comercialmente, y certificada para el uso en análisis de compuestos

orgánicos en cantidades traza. El agua de control posee menos de 10  $\mu\text{g/L}$  de AOC (concentración umbral para el crecimiento de microorganismos). El mismo lote de agua fué usado para todos los experimentos. El agua de control fué esterilizada e inoculada de la misma manera y con el mismo cultivo que las muestras experimentales.

En cada sitio de muestreo se promediaron los resultados del número de colonias por mililitro (CFU/ml) durante los días de crecimiento estacionario ( $N_{\text{max}}$ ). La respuesta de crecimiento levaduriforme (RCL) de cada uno de los sitios muestreados se calculó como la diferencia entre el número de colonias por mililitro de la muestra en  $N_{\text{max}}$  menos el número de colonias por mililitro del control en  $N_{\text{max}}$

$$\text{RCL} = \text{CFU/ml muestra en } N_{\text{max}} - \text{CFU/ml control en } N_{\text{max}}$$

La respuesta de crecimiento levaduriforme (RCL) se utilizó como un parámetro operacional para evaluar el potencial de crecimiento de la muestra de agua. Valores negativos fueron indicativos de que el agua testeada no es capaz de favorecer el crecimiento de hongos levaduriformes, mientras que valores positivos fueron indicativos de que el agua testeada puede favorecer el crecimiento de hongos levaduriformes.

Las diferencias de crecimiento entre las muestras experimentales y las muestras de control, y las relaciones entre los diferentes sitios de muestreo se analizaron estadísticamente.

Se practicaron controles de calidad microbiológica, de acuerdo con los métodos microbiológicos (77,78) y controles de calidad para el potencial de crecimiento (30).

## RESULTADOS

### A. ESTUDIOS DE CAMPO

Se realizaron estudios de campo en el sistema de distribución de aguas de la ciudad de Glassboro, estado de Nueva Jersey, E.E.U.U. Los objetivos de este estudio fueron:

- 1) obtener datos respecto del tipo y frecuencia de hongos en el sistema de distribución de aguas;
- 2) obtener información respecto del punto de entrada de los hongos al sistema de distribución y
- 3) establecer si existe una correlación entre el número total de bacterias y el de hongos en el sistema de distribución de aguas.

#### I. Presencia de hongos en los diferentes sitios de muestreo

Se recolectaron un total de 228 muestras por replicado. De ellas 116 muestras pertenecen a los pozos de agua, 36 a los tanques de almacenamiento, 56 a las canillas públicas o privadas, y 20 a las bombas de incendio. Un total de 106 muestras (46%) fueron positivas respecto de la presencia de hongos (Tabla 3).

Los sitios del sistema de distribución que presentan la mayor proporción de muestras positivas de hongos fueron las bombas de incendio, con un 70%. Los sitios que presentan el menor número de muestras positivas fueron los pozos de agua, con un 35%. Los valores estadísticos indican diferencias significativas entre el número de muestras positivas en los distintos sitios de muestreo.

**TABLA 3 - FRECUENCIA DE MUESTRAS POSITIVAS PARA LA PRESENCIA DE HONGOS**

Sitios	Positivas	Negativas	Totales
Pozos de Agua	41 (35.00%)	75 (65.00%)	116 (100%)
Tanques Alm.	21 (58.00%)	15 (42.00%)	36 (100%)
Canillas	30 (54.00%)	26 (46.00%)	56 (100%)
Bombas de Inc.	14 (70.00%)	6 (30.00%)	20 (100%)
Totales	106 (46.00%)	122 (54.00%)	228 (100%)

Chi cuadrado 15.76

probabilidad 0.05

\*P probabilidad de que el número de muestras positivas sea igual en todos los sitios muestreados en el sistema de distribución.

Los promedios en el recuento de bacterias (CFU/ml) y en el recuento de hongos (CFU/50 ml) fue calculado para cada sitio del sistema (Tabla 4). Los datos de las muestras individuales se incluyen en el Apéndice I. Se hallaron tanto hongos como bacterias en los diferentes sitios del sistema de distribución. Los pozos de agua fueron muestreados antes y después de la adición de cloro como agente desinfectante. El proceso de desinfección no parece proveer una barrera absoluta contra la entrada de microorganismos al sistema de distribución. El recuento promedio de hongos y

**TABLA 4 - RECuentos Promedios de Hongos y Bacterias en los Diferentes Sitios de Muestreo**

Sitios	Muestras Positivas	Muestras Totales	# Total de Hongos (CFU/50ml)	Hongos por Muestra + CFU/50ml)
Pozo 2	13	20	24	1.85
Pozo 3	7	34	16	2.28
Pozo 4	3	16	29	9.67
Pozo 5	8	10	46	5.75
Pozo 6	10	36	11	1.10
<b>Totales</b>	<b>40</b>	<b>116</b>	<b>127</b>	<b>3.17</b>
Tanque C	10	18	21	2.10
Tanque G	11	18	25	2.27
<b>Totales</b>	<b>21</b>	<b>36</b>	<b>46</b>	<b>2.19</b>
Canilla 1	1	6	2	2.00
Canilla 2	2	6	12	6.00
Canilla 3	3	6	6	2.00
Canilla 4	10	15	72	7.20
Canilla 5	9	17	39	4.33
Canilla 6	5	6	56	11.20
<b>Totales</b>	<b>30</b>	<b>56</b>	<b>185</b>	<b>6.17</b>
Bomba 1	2	2	2	1.00
Bomba 2	2	2	36	18.00
Bomba 3	-	2	-	-
Bomba 4	2	2	10	5.00
Bomba 5	2	2	5	2.50
Bomba 6	2	2	41	20.5
Bomba 7	1	2	1	1.00
Bomba 8	1	2	9	9.00
Bomba 9	-	2	-	-
Bomba 10	2	2	5	2.50
<b>Totales</b>	<b>14</b>	<b>20</b>	<b>109</b>	<b>7.78</b>



Tabla 4 - Cont.

Sitios	Muestras Positivas	Muestras Totales	# Total de Bacterias (CFU/ml)	Bacterias/Muestra + (CFU/ml)
Pozo 2	18	20	1298	72.16
Pozo 3	30	34	1226	40.87
Pozo 4	16	16	1065	66.56
Pozo 5	4	10	131	32.75
Pozo 6	17	36	2143	126.06
<b>Totales</b>	<b>84</b>	<b>116</b>	<b>5863</b>	<b>69.80</b>
Tanque C	8	18	603	75.37
Tanque G	13	18	778	59.85
<b>Totales</b>	<b>21</b>	<b>36</b>	<b>1318</b>	<b>65.76</b>
Canilla 1	6	6	455	75.83
Canilla 2	6	6	1496	249.33
Canilla 3	6	6	1747	291.13
Canilla 4	8	15	146	18.25
Canilla 5	15	17	1283	85.53
Canilla 6	6	6	613	102.17
<b>Totales</b>	<b>47</b>	<b>56</b>	<b>5740</b>	<b>137.04</b>
Bomba 1	2	2	68	34.00
Bomba 2	1	2	188	188.00
Bomba 3	1	2	34	34.00
Bomba 4	1	2	13	13.00
Bomba 5	-	2	-	-
Bomba 6	1	2	1	1.00
Bomba 7	-	2	-	-
Bomba 8	2	2	28	14.00
Bomba 9	2	2	6	3.00
Bomba 10	1	2	4	4.00
<b>Totales</b>	<b>12</b>	<b>20</b>	<b>342</b>	<b>28.5</b>

bacterias antes y después de la adición de cloro en los pozos de agua se indican en la Tabla 5. La concentración de cloro en los pozos de agua osciló entre 0.1-0.4 ppm durante el período muestreado (Apéndice II). El promedio total de hongos en los pozos de agua antes de la adición de cloro fué de 4.98 CFU/50ml, mientras que el promedio total de hongos en los pozos de agua luego de la adición de cloro fué de 3.18 CFU/50ml. Los promedios para las bacterias fueron de 51.64 CFU/ml antes de la adición de cloro y 62.52 CFU/ml luego de la adición de cloro. No hubo diferencias significativas en el número de hongos y de bacterias en los pozos de agua antes y después de la adición de cloro (Tabla 5).

Los hongos y las bacterias son capaces de sobrevivir a las concentraciones de cloro en el sistema de distribución (0.1-0.2 ppm, Apéndice II), y fueron hallados en las muestras de los tanques de almacenamiento, las canillas de residencias públicas y privadas y las bombas de incendio. El promedio de hongos por muestras positivas en los tanques de almacenamiento fué de 2.19 CFU/50 ml y el de las bacterias 65.76 CFU/ml. El promedio de hongos por muestras positivas en las muestras de canillas fué de 6.17 CFU/50ml y el de bacterias 137.04 CFU/ml. El promedio de hongos por muestras positivas en las muestras de las bombas de incendio fué de 7.78 CFU/50ml y el de bacterias 28.5 CFU/ml (Tabla 4).

**TABLA 5 - RECUENTO PROMEDIO DE HONGOS Y BACTERIAS EN LOS DIFERENTES POZOS DE AGUA ANTES Y DESPUES DEL TRATAMIENTO DE DESINFECCION**

Sitios	Muestras Positivas	Hongos (X CFU/50ml) (D. Est.)	Muestras Positivas	Bacterias (X CFU/ml) (D. Est.)
Pozo 2 A	7	2.00 (1.83)	9	57.78 (143.64)
Pozo 2 D	6	1.67 (1.21)	8	97.25 (251.96)
Pozo 3 A	5	2.80 (3.03)	16	33.88 (75.24)
Pozo 3 D	2	2.00 (1.41)	14	48.86 (75.18)
Pozo 4 A	2	10.50 (0.71)	8	59.59 (43.88)
Pozo 4 D	1	8.00 (0.00)	8	73.63 (75.19)
Pozo 5 A	4	8.25 (4.50)	2	5.50 (0.71)
Pozo 5 D	4	3.25 (2.22)	2	60.00 (16.97)
Pozo 6 A	3	1.33 (0.58)	9	101.44 (271.55)
Pozo 6 D	7	1.00 (0.00)	7	32.86 (53.00)

A= antes de la adición de cloro

D= después de la adición de cloro

Promedio de Hongos (A) = 4.98 Des. Est. = 4.13

Promedio de Hongos (D) = 3.18 Des. Est. = 2.81

Promedio de bacterias (A) = 51.64 Des. Est. = 35.44

Promedio de bacterias (D) = 65.52 Des. Est. = 24.51

Student T-test

Student T-test

Hongos p=.81 N.D.S.

Bacterias p=.56 N.D.S.

Las diferencias entre los promedios de recuentos de hongos y bacterias por sitio se determinó usando análisis de varianza (ANOVA) (Tabla 6). El análisis de varianza indicó diferencias significativas para los recuentos de hongos solamente en los pozos de agua, pero no en los tanques de almacenamiento, las canillas ó las bombas de incendio. El pozo #4 presentó la mayor desviación estadística en comparación con los otros pozos. Los recuentos de bacterias indicaron diferencias significativas entre las diferentes canillas y entre las bombas de incendio, pero no entre los pozos de agua ó los tanques de almacenamiento. Las canillas #1 y #3 fueron semejantes entre sí en la distribución bacteriana (valor de correlación 294 y 392 respectivamente) y la canilla #2 presentó un valor de correlación de 558. Dichas canillas difirieron de las canillas #5 y #6 (valores de correlación de -47 y -67 respectivamente), y la canilla #4 presentó un valor de correlación de -175. Dentro de las bombas de incendio, la bomba #2 presentó la máxima desviación en los valores de correlación.

## II. Géneros de hongos presentes en el sistema de distribución

Se hallaron tanto hongos levaduriformes como mohos filamentosos en el sistema de distribución de aguas de la ciudad de Glassboro. Se identificaron un total de 20 géneros (6 hongos levaduriformes y 14 mohos filamentosos). Todos los géneros hallados pertenecen a la clase Deuteromycotina (Tabla 7).

**TABLA 6 - ANOVA PARA LA PRESENCIA DE HONGOS Y BACTERIAS EN LOS DIFERENTES SITIOS DE MUESTREO**

**A. Para Hongos**

	P	F/R	C.	
Entre pozos de agua	0.000	10.72	441.78	DS*
Entre tanques de almacenamiento	0.800	0.07	43.00	NDS
Entre canillas	0.480	0.92	1472.80	NDS
Entre bombas de incendio	0.777	0.56	1990.00	NDS

**B. Para Bacterias**

	P	F/R	C.	
Entre pozos de agua	0.210	1.55	1.92 E6	NDS
Entre tanques de almacenamiento	0.832	0.05	0.21 E6	NDS
Entre canillas	0.005	4.52	3.05 E6	DS**
Entre bombas de incendio	0.019	7.56	0.03 E6	DS***

\*valor de correlación: Pozo #4 = -92

\*\*valores de correlación: canilla #1 =294  
 canilla #2 =558  
 canilla #3 =392  
 canilla #4 =-175  
 canilla #5 =-47  
 canilla #6 =-67

\*\*\*valor de correlación: Bomba #2 = 356

**TABLA 7 - HONGOS HALLADOS EN EL SISTEMA DE DISTRIBUCION DE AGUAS DE LA CIUDAD DE GLASSBORO**

Aureobasidium sp.  
Basipetospora sp.  
Candida pelliculosa  
Candida tropicalis  
Cephalosporium sp.  
Chromotorula sp.  
Dactylosporium sp.  
Geotrichum sp.  
Gilmaniella sp.  
Hansfordia sp.  
Monilia sp.  
Penicillium sp.  
Periconiella sp.  
Rhodotorula aurantiaca  
Rhodotorula minuta  
Streptomyces sp.  
Torulopsis sphaerica  
Micelio estéril #1  
Micelio estéril #2  
Micelio estéril #3

---

La identificación de los hongos levaduriformes y mohos filamentosos se basó en observaciones microscópicas de cultivos en SDA agar, en diferentes estados de crecimiento y reacciones fisiológicas para los hongos levaduriformes, de acuerdo con la bibliografía pertinente para dichos grupos (1,5,42).

Ciertos hongos (9 muestras en total) no pudieron ser identificados debido a que nunca produjeron esporas, y se indican en las tablas como "micelio estéril". Las descripciones genéricas y sus ilustraciones se incluyen en el Apéndice III.

Los hongos levaduriformes más comunes fueron Chromotorula sp., Rhodotorula aurantiaca y Torulopsis sphaerica, presentes en 9 y 8 muestras respectivamente. El moho filamentoso más común fue Hansfordia sp. presente en 24 muestras. Penicillium sp. se halló en 22 muestras, Basipetospora sp. en 21 muestras, y Cephalosporium sp.

en 17 muestras. Los mohos filamentosos Geotrichum sp., Monilia sp. y el "micelio estéril # 2", fueron las especies menos frecuentes, halladas solamente una vez (Tabla 8).

La mayoría de los hongos levaduriformes fueron hallados en los pozos de agua y las bombas de incendio. Las dos especies de Candida, C. pelliculosa y C. tropicalis, y los mohos filamentosos Geotrichum sp., Gilmaniella sp. y Monilia sp. fueron halladas solamente en los pozos de agua. Dactylosporium sp. y Periconiella sp., fueron hallados únicamente en los tanques de almacenamiento. Aureobasidium sp. y Streptomyces sp. fueron hallados únicamente en las muestras de canillas y las bombas de incendio. Los pozos de agua presentaron la mayor diversidad de especies halladas, con un total de 16 especies. Los valores estadísticos (Tabla 8) indican diferencias significativas respecto de la presencia de hongos en los diferentes sitios de muestreo. El apéndice IV es una enumeración de la presencia y frecuencia de los géneros hallados por sitio de muestreo.

La tabla 9 indica los géneros hallados y su frecuencia en los diferentes pozos de agua. Rhodotorula aurantiaca y Torulopsis sphaerica, fueron las únicas especies halladas en 4 de los 5 pozos, mientras que Cephalosporium sp., Gilmaniella sp. y Hansfordia sp. se hallaron en 3 de los 5 pozos. Las especies Candida tropicalis, Geotrichum sp. y Monilia sp., como así mismo las especies de micelio estéril 1 y 2 fueron solamente halladas en uno de los 5

**TABLA 8 - PRESENCIA DE LOS DIFERENTES GENEROS DE HONGOS POR SITIO DE MUESTREO**

Géneros # de muestras positivas para dicho género

	Pozos	Tanques	Canillas	Bombas	Totales
<u>C. pelliculosa</u>	2				2
<u>C. tropicalis</u>	2				2
<u>Chromotorula</u>	3	2		4	9
<u>R. aurantiaca</u>	7		1	1	9
<u>R. minuta</u>	2				2
<u>T. sphaerica</u>	6			2	8
<u>Aureobasidium</u>			3	3	6
<u>Cephalosporium</u>	8	2	5	2	17
<u>Dactylosporium</u>		2			2
<u>Geotrichum</u>	1				1
<u>Gilmaniella</u>	6				6
<u>Hansfordia</u>	6	9	6	3	24
<u>Monilia</u>	1				1
<u>Basipetospora</u>	4	8	2	7	21
<u>Penicillium</u>	5	2	11	4	22
<u>Periconiella</u>		2			2
<u>Streptomyces</u>			3	1	4
Micelio #1	1		1		2
Micelio #2	1				1
Micelio #3	2		3		5
<b>Totales</b>	<b>57</b>	<b>27</b>	<b>35</b>	<b>27</b>	<b>146</b>
Frecuencia	39.04	18.49	23.98	18.49	100.00
# Species	16	7	9	9	

Chi cuadrado  
Probabilidad

11.30  
0.05

\*P probabilidad de que la presencia de hongos sea igual en todos los sitios de muestreo



A. Número de muestras positivas

Generos	Pozo 2	Pozo 3	Pozo 4	Pozo 5	Pozo 6	Total
<u>C. pelliculosa</u>	1	1				2
<u>C. tropicalis</u>				2		2
<u>Chromotorula</u>			2		1	3
<u>R. aurantiaca</u>		1	2	2	1	6
<u>R. minuta</u>				1	1	2
<u>T. sphaerica</u>	2	1	2		1	6
<u>Cephalosporium</u>	1			6	1	8
<u>Geotrichum</u>					1	1
<u>Gilmaniella</u>	2	2			2	6
<u>Hansfordia</u>	3		1		2	6
<u>Monilia</u>		1				1
<u>Basipetospora</u>	3	1				4
<u>Penicillium</u>		3			2	5
Micelio #1	1					1
Micelio #2				1		1
Micelio #3			1		1	2
<b>Totales</b>	13	10	8	12	13	56
Frecuencia	23.21	17.86	14.29	21.43	23.21	100

Chi cuadrado = 3.00

Probabilidad = 0.05

\*P Probabilidad de que el número de muestras positivas sea igual en todos los pozos de agua

## B. Número de CFU/50 ml

Generos	Pozo 2	Pozo 3	Pozo 4	Pozo 5	Pozo 6	Total
<u>C. pelliculosa</u>	1	1				2
<u>C. tropicalis</u>				4		4
<u>Chromotorula</u>			5		1	6
<u>R. aurantiaca</u>		2	13	11	1	27
<u>R. minuta</u>				2	1	3
<u>T. sphaerica</u>	3	1	9		6	14
<u>Cephalosporium</u>	1			28	1	30
<u>Geotrichum</u>					1	1
<u>Gilmaniella</u>	2	3			3	8
<u>Hansfordia</u>	11		1		2	14
<u>Monilia</u>		1				1
<u>Basipetospora</u>	3	1				4
<u>Penicillium</u>		10			2	12
Micelio #1	1					1
Micelio #2				1		1
Micelio #3			1		1	2
<b>Totales</b>	22	19	29	46	14	130
Frecuencia	16.92	14.61	23.31	35.38	10.77	100
# Generos	7	7	5	5	10	16

Chi cuadrado = 20.98

Probabilidad = 0.05

\*P Probabilidad de que el número de muestras positivas sea igual en todos los pozos de agua

pozos. Las especies de hongos levaduriformes más abundantes en cuanto a su presencia en el número de muestras positivas fueron Rhodotorula aurantiaca y Torulopsis sphaerica, presentes en 6 del total de las muestras. Rhodotorula aurantiaca fue el hongo levaduriforme con más colonias halladas (27 CFU/50ml), constituyendo el 48% dentro de dicho grupo. Cephalosporium sp. fue el moho filamentoso más abundante, presente en 8 de las muestras con un total de 30 colonias y constituyendo el 40% dentro de dicho grupo. Geotrichum sp., Monilia sp., y los micelios estériles 1 y 2, fueron las especies menos frecuentes, halladas solamente 1 vez. Los pozos de agua con la más alta frecuencia de muestras positivas fueron los pozos #1, #6 y #5 (23.21% y 21.43%, respectivamente). Los pozos #3 y #4 fueron los que presentaron una menor frecuencia de muestras positivas (17.86% y 14.29% respectivamente). El pozo #5 presentó la mayor frecuencia de hongos (35.38%), mientras que el pozo #6 la menor (10.77%). El pozo #6, por otro lado, presentó la mayor diversidad de especies fúngicas, con un total de 10 especies diferentes. Los valores estadísticos (Tabla 9) indican que no hay diferencias significativas entre los pozos de agua en relación con el número de muestras positivas, pero sí las hay en cuanto al número de hongos (CFU/50 ml).

La Tabla 10 presenta la lista de hongos hallados en los pozos de agua antes y después del tratamiento de desinfección con cloro. Solamente Candida tropicalis y los "micelios estériles" 1 y 2 fueron halladas en agua no tratadas. Contrariamente, los únicos organismos hallados en los pozos luego del tratamiento,

TABLA 10. RESENCIA DE LOS DIFERENTES GENEROS DE HONGOS POR POZO DE AGUA ANTES Y DESPUES DEL TRATAMIENTO DE DESINFECCION

A. Número de muestras positivas

Géneros	POZO 2		POZO 3		POZO 4		POZO 5		POZO 6	
	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D
<u>C. pelliculosa</u>		1		1						
<u>C. tropicalis</u>					2					
<u>Chromotorula</u>			1	1		1		1		
<u>R. aurantiaca</u>		1	1		2		2			1
<u>R. minuta</u>							1			1
<u>T. sphaerica</u>	1	1		1	1	1			1	
<u>Cephalosporium</u>	1						3	3		1
<u>Geotrichum</u>										1
<u>Gilmaniella</u>	1	1		2					1	1
<u>Hansfordia</u>	1	2			1				1	1
<u>Monilia</u>				1						
<u>Basipetospora</u>	2	1	1							
<u>Penicillium</u>			3							2
micelio #1	1									
micelio #2							1			
micelio #3					1					1
Totales	7	7	5	5	6	2	9	3	4	9
Frecuencia	.70	.70	.29	.29	.75	.75	1.8	.6	.22	.50
Variación		0%		0%	-66.67%		-66.67%		+56.00%	
Géneros	6	6	3	3	5	2	4	1	3	7
Concentración Cloro (prom.)	.20 ppm		.15 ppm		.20 ppm		.10 ppm		.22 ppm	

TABLE 10. PRESENCIA DE LOS DIFERENTES GENEROS DE HONGOS POR POZO DE AGUA ANTES Y DESPUES DEL TRATAMIENTO DE DESINFECCION

B. Número de CFU/50 ml

Géneros	Pozo 2		Pozo 3		Pozo 4		Pozo 5		Pozo 6	
	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D
<u>C. pelliculosa</u>		1		1						
<u>C. tropicalis</u>							4			
<u>Chromotorula</u>					3	2			1	
<u>R. aurantiaca</u>		1	1		13		11			1
<u>R. minuta</u>							5			1
<u>T. sphaerica</u>	2	1		1	3	6			1	
<u>Cephalosporium</u>	1						17	11		1
<u>Geotrichum</u>										1
<u>Gilmaniella</u>	1	1		3					2	1
<u>Hansfordia</u>	6	5			1				1	1
<u>Monilia</u>				1						
<u>Basipetospora</u>	2	1		1						
<u>Penicillium</u>				10						2
micelio #1	1									
micelio #2							1			
micelio #3					1					1
Totales	13	10	13	6	21	8	35	11	5	9
Frecuencia	1.3	1	.76	.35	2.6	1	7	2.2	.28	.5
Variación	-23.00%		-53.95%		-61.54%		-68.57%		+44.00%	
Concentración Cloro (prom.)	.20 ppm		.15 ppm		.20 ppm		.10 ppm		.22 ppm	

(-) indica reducción  
(+) indica incremento

fueron Candida pelliculosa, Geotrichum sp. y Monilia sp. Las concentraciones de cloro en los pozos de agua oscilaron entre 0.1-0.4 ppm (Apéndice II).

Las comparaciones de frecuencias de muestras positivas indican que no hay diferencias entre los pozos #2 y #3, una reducción del 66.67% en el número de muestras positivas en los pozos #4 y #5, y un incremento del 56% en el pozo #6 (Tabla 10A).

Cuando se comparan los pozos respecto del número de géneros presentes, los pozos #4 y #5 presentan la mayor reducción (40% y 25% respectivamente) en el número de géneros hallados, mientras que el pozo #6 presenta un incremento del 43% luego de la adición de cloro (Tabla 10A).

Cuando se analizan los pozos en cuanto al número de colonias de hongos (CFU/50 ml), el pozo #2 presenta una reducción del 23%, el pozo #3 del 53.95%, el pozo #4 del 61.54% y el pozo #5 del 68.57%. Solamente el pozo #6 presenta un incremento del 44%. (Tabla 10B).

En la Tabla 11 se da la lista de hongos hallados en los tanques de almacenamiento. Las dos especies comunes para ambos tanques fueron Hansfordia sp. y Basipetospora sp., siendo ambas las especies más abundantes, Hansfordia sp. con un 52.38% de representación en el Tanque C y Basipetospora sp. con un 52% de representación en el Tanque G. Las especies Cephalosporium sp., Dactylosporium sp. y Periconiella sp. se hallaron solamente en el Tanque C, mientras que el único hongo levaduriforme hallado en los tanques de almacenamiento, Chromotorula sp., y el moho filamentoso Penicillium sp. fueron hallados solamente en el Tanque G. No hay

**TABLA 11 - PRESENCIA DE LOS DIFERENTES GENEROS DE HONGOS POR TANQUE DE ALMACENAMIENTO**

**A. Número de muestras positivas**

Géneros	Tanque C	Tanque G	Totales
<u>Chromotorula</u>		2	2
<u>Cephalosporium</u>	2		2
<u>Dactylosporium</u>	2		2
<u>Hansfordia</u>	4	5	9
<u>Basipetospora</u>	3	5	8
<u>Penicillium</u>		2	2
<u>Periconiella</u>	2		2
Totales	13	14	27
Frecuencia	48.15	51.85	100%

Chi cuadrado = .136

probabilidad = 0.05

\*P probabilidad de que el número de muestras positivas sea igual en ambos tanques

**B. Número de CFU/50 ml**

Géneros	Tanque C	Tanque G	Totales
<u>Chromotorula</u>		2	2
<u>Cephalosporium</u>	2		2
<u>Dactylosporium</u>	2		2
<u>Hansfordia</u>	11	8	19
<u>Basipetospora</u>	4	13	17
<u>Penicillium</u>		2	2
<u>Periconiella</u>	2		2
Totales	21	25	46
Frecuencia	45.65	53.35	100%
Generos	5	4	7

Chi cuadrado = .602

probabilidad = 0.05

\*P probabilidad de que el número de muestras positivas sea igual en ambos tanques

diferencias significativas en cuanto a la presencia, frecuencia ó diversidad de especies entre ambos tanques (Tabla 11).

La Tabla 12 presenta la lista de hongos hallados en las canillas públicas y privadas. El único género presente en todas las canillas fue Penicillium sp., mientras que Rhodotorula aurantiaca y el micelio estéril #1 fueron solamente hallados en la canilla #5. Penicillium sp. fue el género con mayor representación en las muestras positivas (15 muestras) y con mayor frecuencia (65 CFU/50 ml). Hansfordia sp. fué hallado en 12 muestras con una frecuencia de 40 CFU/50 ml. El género Aureobasidium sp. fue hallado solamente en tres muestreos, todos en la canilla #6, pero con una alta frecuencia en cada muestra. La canilla #4 exhibió la mayor frecuencia de muestras positivas (40.38%) y de colonias de hongos (38.11%), mientras que la canilla #1 presenta la menor frecuencia (3.85% para muestras positivas y 1.08% para el número de colonias). Las canillas presentan una diferencia significativa tanto en el número de muestras positivas como en el número total de hongos en CFU/50ml (Tabla 12).

En la Tabla 13 se da la lista de hongos hallados en las bombas de incendio. El género más común entre las bombas de incendio, hallado en 5 de ellas, fue Basipetospora sp., que también tuvo la mayor incidencia de muestras positivas. El género que presentó la mayor frecuencia, con 56 CFU/50ml fue Chromotorula sp., hallado en gran número en las bombas #2 y #6 en el mes de Junio, luego de casi 6 meses de que dichas bombas no habían sido enjuagadas. La bomba



TABLA 12 - PRESENCIA DE LOS DIFERENTES GENEROS DE HONGOS EN LAS CANILLAS DE AGUA

A. Número de muestras positivas

Géneros	C. #1	C. #2	C. #3	C. #4	C. #5	C. #6	Totales
<u>R. aurantiaca</u>					1		1
<u>Aureobasidium</u>						3	3
<u>Cephalosporium</u>	1		1	4	5	1	9
<u>Hansfordia</u>		1		9	2		12
<u>Basipetospora</u>		1			1		2
<u>Penicillium</u>	1	1	3	5	4	1	15
<u>Streptomyces</u>		1		1	2		4
Micelio #1					1		1
Micelio #3				2	2	1	5
Totales	2	4	4	21	15	6	52
Frecuencia	3.85	7.69	7.69	40.38	28.85	11.54	100%

Chi cuadrado = 63.74  
 probabilidad = 0.05

\*P probabilidad de que el número de muestras positivas sea igual en todas las canillas muestreadas

TABLA 12 - PRESENCIA DE LOS DIFERENTES GENEROS DE HONGOS EN LAS CANILLAS DE AGUA

B. Número de CFU/50 ml

Géneros	C. #1	C. #2	C. #3	C. #4	C. #5	C. #6	Totales
<u>R. aurantiaca</u>					1		1
<u>Aureobasidium</u>						51	51
<u>Cephalosporium</u>	1		1	5	2	1	10
<u>Hansfordia</u>		5		33	2		40
<u>Basipetospora</u>		1			1		2
<u>Penicillium</u>	1	3	5	28	27	1	65
<u>Streptomyces</u>		2		1	3		6
<u>Micelio #1</u>					1		1
<u>Micelio #3</u>				5	2	3	10
Totales	2	11	6	72	39	56	186
Frecuencia	1.08	5.91	3.22	38.71	20.97	30.11	100%
Géneros	2	4	2	5	8	4	9

Chi cuadrado = 73.46  
 probabilidad = 0.05

\*P probabilidad de que el número de muestras positivas sea igual en todas las canillas muestreadas

TABLA 13 - PRESENCIA DE LOS DIFERENTES GENEROS DE HONGOS EN LAS BOMBAS DE INCENDIO

A. Número de muestras positivas

Géneros	B. #1	B. #2	B. #3	B. #4	B. #5	B. #6	B. #7	B. #8	B. #9	B. #10	Tot.
<u>Chromotorula</u>		2				1		1			4
<u>R. aurantiaca</u>		1									1
<u>T. sphaerica</u>		1						1			2
<u>Aureobasidium</u>				1	1					1	3
<u>Cephalosporium</u>		1		1							2
<u>Hansfordia</u>				1	1	1					3
<u>Basipetospora</u>	2	2			1	1				1	7
<u>Penicillium</u>				1		1	1			1	4
<u>Streptomyces</u>						1					1
Totales	2	7	0	4	3	6	1	2	0	3	27
Frecuencias	7.41	25.93	0	14.81	11.11	18.52	3.70	7.41	0	11.11	100%

Chi cuadrado = 58.14  
 probabilidad = 0.05

\*P probabilidad de que el número de muestras positivas sea igual en todas las bombas de incendio

TABLA 13 - PRESENCIA DE LOS DIFERENTES GENEROS DE HONGOS EN LAS BOMBAS DE INCENDIO

B. Número de CFU/50 ml

Géneros	B. #1	B. #2	B. #3	B. #4	B. #5	B. #6	B. #7	B. #8	B. #9	B. #10	Tot.
<u>Chromotorula</u>		17				32		7			56
<u>R. aurantiaca</u>		12									12
<u>T. sphaerica</u>		1						2			3
<u>Aureobasidium</u>				1	1					3	5
<u>Cephalosporium</u>		1		2							3
<u>Hansfordia</u>				1	3	4					8
<u>Basipetospora</u>	2	5			1	3				1	12
<u>Penicillium</u>				6		1	1			1	9
<u>Streptomyces</u>						1					1
Totales	2	36	0	10	5	41	1	9	0	5	109
Frecuencias	1.83	33.03	0	9.17	4.59	37.61	0.92	8.26	0	4.59	100%
Géneros	1	5	0	4	3	5	1	2	0	4	9

Chi cuadrado = 170.41  
 probabilidad = 0.05

\*P probabilidad de que el número de muestras positivas sea igual en todas las bombas de incendio

de incendio #2 presentó el mayor número de muestras positivas (26%) y junto con la bomba #6 el más alto número de CFU/50 ml (33 CFU/50ml para la bomba #2 y 37.61 CFU/50ml para la bomba #6). Las bombas #3 y #9 no poseyeron hongos en ninguna de las dos veces muestreadas. Las bombas de incendio presentaron una diferencia significativa tanto en el número de muestras positivas como en el número de colonias (CFU/50ml) presentes (Tabla 13).

El número total de muestras positivas por especie osciló entre 1 y 31. El número total de colonias (CFU/50ml) por especie osciló entre 1 y 85. Los recuentos promedios de géneros por muestras positivas oscilaron entre 1 y 7.66 CFU/50 ml. Los géneros más altamente representados en número de muestras positivas fueron Hansfordia sp., presente en un total de 31 muestras, Penicillium sp. presente en un total de 23 muestras y Basipetospora sp. presente en un total de 21 muestras (Tabla 14).

Cuando se analiza el número de hongos presentes (en CFU/50ml), el hongo levaduriforme más abundante fué Chromotorula sp., con un promedio de 7.00 CFU/50 ml en el sistema de distribución, hallado principalmente en las bombas de incendio #2 y #6 durante el mes de Junio. El moho filamentoso Aureobasidium sp. presentó un alto promedio (7.66 CFU/50ml) debido a su alta frecuencia en número y baja frecuencia en presencia.

Los hongos levaduriformes Rhodotorula aurantiaca y Torulopsis sphaerica se hallaron presentes en varias muestras con un alto número de colonias. Lo mismo ocurrió con los mohos filamentosos Basipetospora sp., Cephalosporium sp., Hansfordia sp. y

Géneros	# Total de Muestras +	# Total de CFU/50 ml	Promedio CFU/50ml por Muestra +
<u>C. pelliculosa</u>	2	2	1.00
<u>C. tropicalis</u>	2	4	2.00
<u>Chromotorula</u>	9	63	7.00
<u>R. aurantiaca</u>	9	41	4.55
<u>R. minuta</u>	2	3	1.50
<u>T. sphaerica</u>	8	17	2.12
<u>Aureobasidium</u>	6	46	7.66
<u>Cephalosporium</u>	21	45	2.14
<u>Dactylosporium</u>	2	2	1.00
<u>Geotrichum</u>	1	1	1.00
<u>Gilmaniella</u>	6	8	1.33
<u>Hansfordia</u>	31	82	2.64
<u>Monilia</u>	1	1	1.00
<u>Basipetospora</u>	21	35	1.67
<u>Penicillium</u>	23	85	3.70
<u>Periconiella</u>	2	2	1.00
<u>Streptomyces</u>	5	7	1.40
Micelio #1	2	2	1.00
Micelio #2	1	1	1.00
Micelio #3	6	11	1.83
<b>Totales</b>	<b>160</b>	<b>458</b>	<b>2.86</b>

Penicillium sp.. Rhodotorula aurantiaca fue el hongo levaduriforme más abundante con 63 CFU/50ml, y Penicillium sp. y Hansfordia sp. fueron los mohos filamentosos más abundantes con 85 y 82 CFU/50ml respectivamente (Tabla 14).

### III. Comparaciones dentro del sistema

Ciertos sitios del sistema de distribución exhibieron un número mayor de muestras positivas para la presencia de hongos (Figura 2) y de bacterias heterotróficas (Figura 3). Lo mismo ocurre respecto del número promedio de hongos (Figura 4) y bacterias heterotróficas (Figura 5).

El análisis de varianza (ANOVA) dentro del sistema de distribución indica una diferencia significativa del número de muestras positivas para los hongos y para las bacterias, siendo las bombas de incendio los sitios que más difieren del resto dentro del sistema de distribución. El número total de bacterias halladas en los diferentes sitios indica también diferencias significativas, con las bombas de incendio siendo los sitios de mayor diferencia (Tabla 15).

El análisis de los datos de la Tabla 4 indican que el pozo #2 dió el mayor recuento de muestras positivas, con un total de 13 muestras, mientras que el pozo #4 fué el que presentó el mayor número de hongos por muestra positiva, con un promedio de 9.67 CFU/50 ml. El pozo #3 exhibió el mayor número de muestras positivas respecto a las bacterias heterotróficas, y el pozo #6 el

Figura 2 - Presencia de hongos por sitio de muestreo

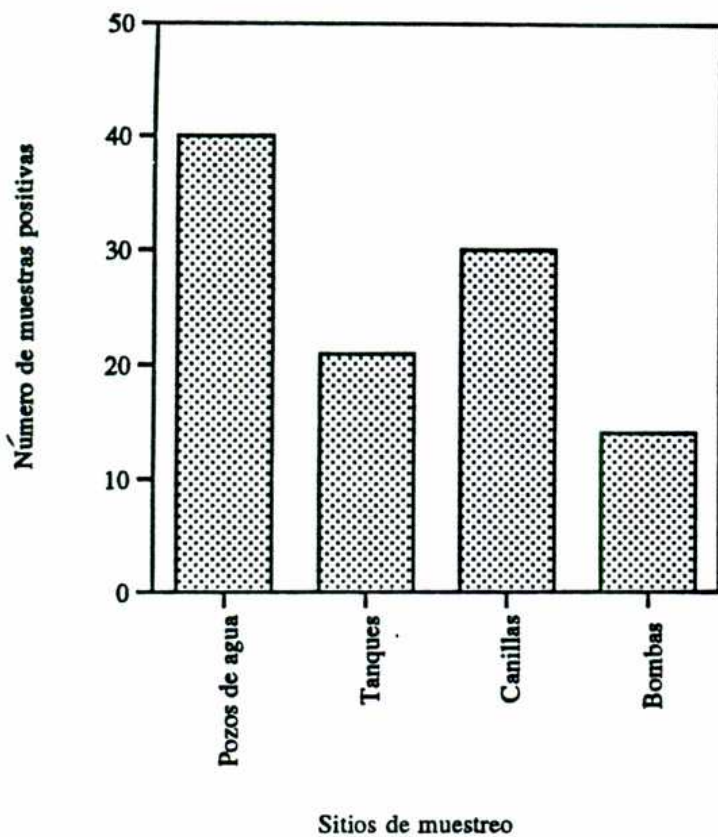


Figura 3 - Presencia de bacterias por sitio de muestreo

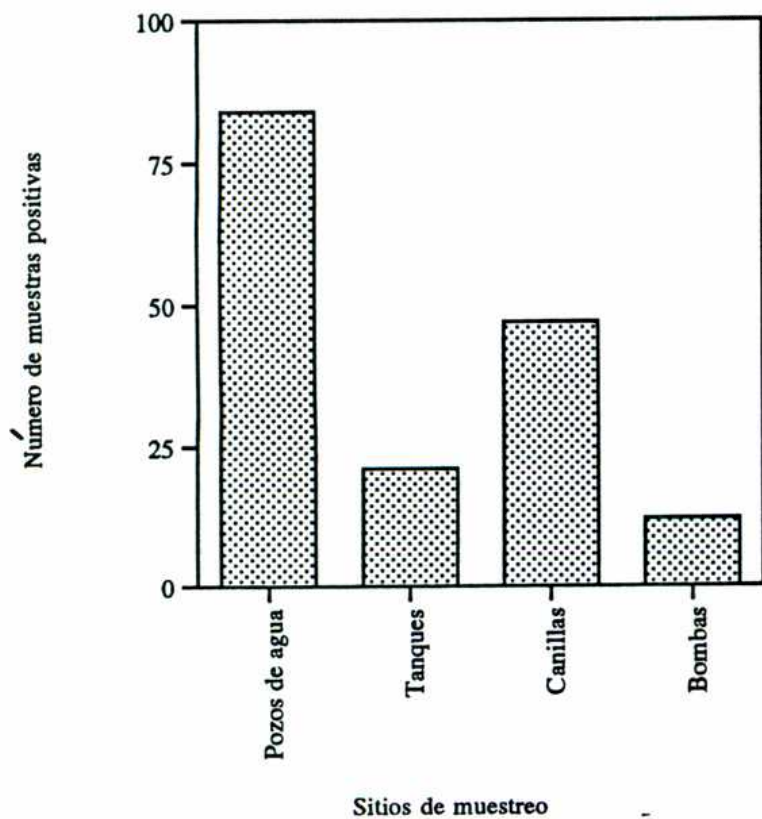




Figura 4 - Número promedio de hongos por sitio de muestreo

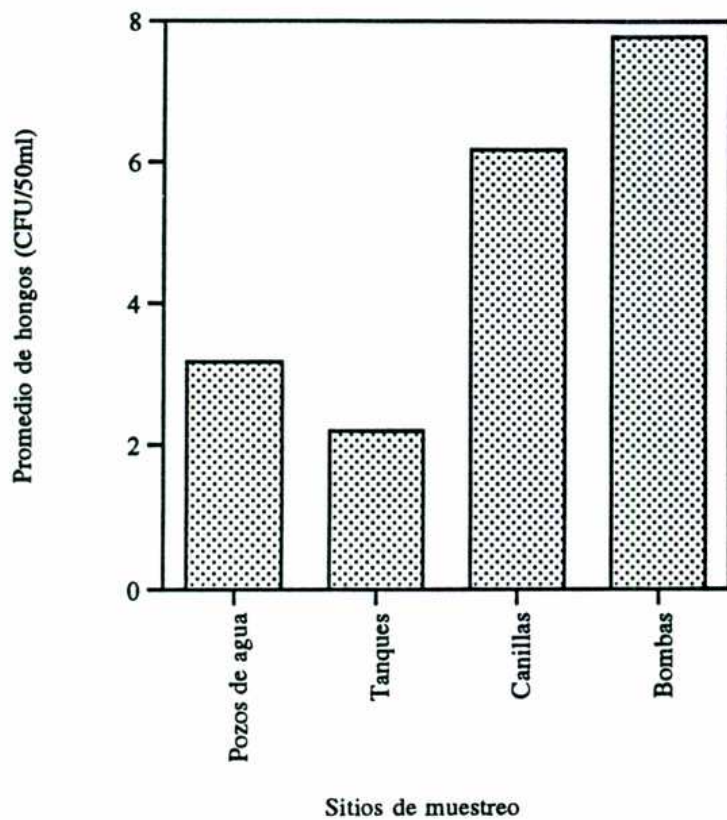
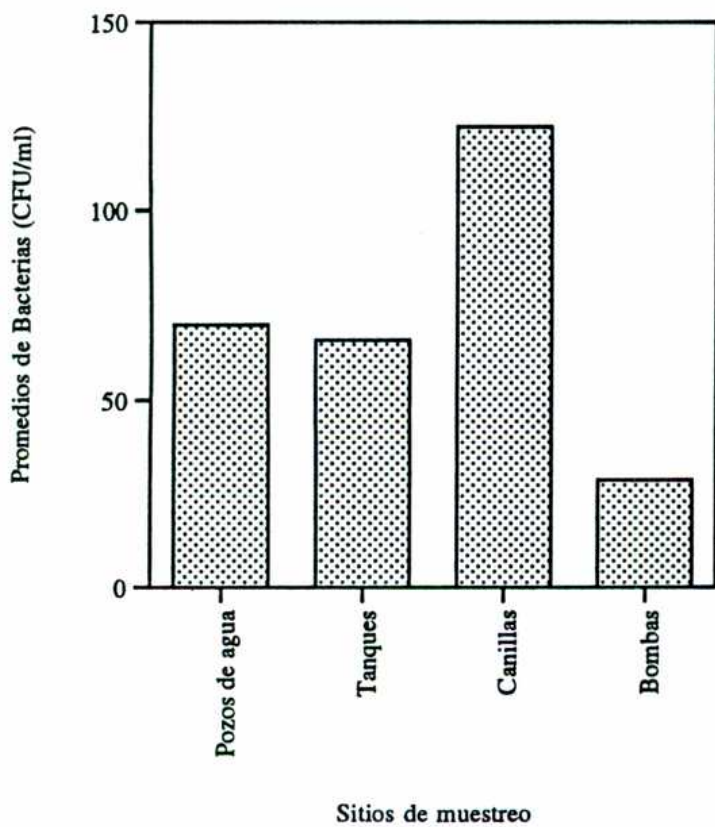


Figura 5 - Número promedio de bacterias por sitios de muestreo



mayor promedio de bacterias heterotróficas con 126 CFU/ml. (Tabla 15).

**TABLA 15- ANOVAS DENTRO DEL SISTEMA DE DISTRIBUCION**

1) Número de muestras positivas para hongos	P= 0.0003	F/R= 10.52	C= 363.86	DS*
2) Recuentos totales de hongos	P= 0.2300	F/R= 1.57	C= 8691.00	NDS
3) Recuentos promedio de hongos	P= 0.8200	F/R= 0.30	C= 652.83	NDS
4) Número de muestras positivas para bacterias	P= 0.0001	F/R= 13.15	C= 1298.61	DS**
5) Recuentos totales de bacterias	P= 0.0008	F/R= 8.56	C= 9.76 E6	DS***
6) Recuentos promedios de bacterias	P= 0.0678	F/R= 2.97	C= 0.14 E6	NDS

\* valores de correlación: Bombas de incendio= 680

\*\* valores de correlación: Bombas de incendio= 111

\*\*\* valores de correlación: Bombas de incendio= 976

De acuerdo con el Apéndice I, salvo el pozo #5 en el que siempre, a excepción del último muestreo, hubo muestras positivas para el recuento de hongos, el resto de los pozos no presentaron hongos hasta mediados de abril. El pozo #5 exhibió en general un alto número de hongos en cada muestreo, como así mismo el pozo #4 durante el mes de Julio. Ambos pozos son los menos utilizados por la ciudad de Glassboro. El pozo #6 es el que tuvo el menor número de hongos. Dicho pozo es utilizado continuamente por la ciudad de Glassboro, tanto en el verano como en el invierno y, en

general, es el que siempre presentó una mayor concentración de cloro (0.22 ppm promedio, Apéndice II).

Los dos tanques de almacenamiento no presentaron diferencias significativas en cuanto al número de hongos, pero el Tanque C presentó un mayor recuento de bacterias heterotróficas. Ambos tanques de almacenamiento mantienen una concentración promedio de cloro de 0.12 ppm.

Las muestras de la canilla #4 presentaron el mayor número de muestras positivas y colonias totales de hongos, pero la canilla #6 tuvo el mayor promedio de hongos por muestras positivas con 11.2 CFU/50 ml (Tabla 4). La canilla #5 presentó la mayoría de muestras positivas para las bacterias heterotróficas, y la canilla #3 el promedio máximo con 291.17 CFU/ml. Este sitio de muestreo se halla en una zona residencial de alta construcción de casas nuevas. Hay un constante movimiento del agua de distribución cuando nuevas cañerías se instalan y acoplan a la red de distribución principal. Debido a ello, la película de microorganismos ("biofilm") se ve constantemente alterada, contribuyendo al número elevado de CFU/ml para las bacterias heterotróficas. Las concentraciones de cloro fueron similares en todas las canillas muestreadas (0.1 ppm). Hubo un incremento en el recuento de hongos durante el mes de Septiembre en comparación con los otros meses de muestreo (Apéndice I).

Las bombas de incendio fueron muestreadas 2 veces durante el período de muestreo (siguiendo el programa de la ciudad de Glassboro). Las bombas #2 y #6 presentaron el mayor promedio de hongos por muestra positiva, con un total de 18 y 20.5 CFU/50ml

respectivamente. El hongo levaduriforme Chromotorula sp., se halló en ambas bombas durante el mes de Junio, y el hongo levaduriforme Rhodotorula aurantiaca fue hallado, en dicha fecha, en la bomba #2. La aparición de dichos hongos en las bombas de agua puede estar asociada al hecho de que ambas bombas no habían sido enjuagadas por casi 6 meses, y el agua contenía una gran cantidad de materia orgánica. El recuento de bacterias heterotróficas fue máximo en la bomba #2, pero no así en la bomba #6.

El sistema de distribución de aguas de la ciudad de Glassboro funciona con un flujo de aguas de los pozos de agua hacia las canillas públicas y privadas, con el uso de los tanques de almacenamiento como alternativa, si así fuera necesario. Si todos los pozos estuvieran en funcionamiento simultáneamente, el sistema de distribución, con respecto a los sitios de muestreo de este estudio, seguiría el flujo de aguas de acuerdo con la Figura 6. Dado que solamente tres o cuatro pozos funcionan simultáneamente, los sitios de muestreo pueden recibir agua de diferentes pozos. La Tabla 16 es un listado de la fuente de agua que cada sitio recibió durante el período muestreado.

Los siguientes resultados se hallaron en base al análisis de la Tabla 16 y al Apéndice IV. No existen datos de la composición florística de los pozos de agua durante los meses de enero y febrero. Durante el mes de marzo, los mohos filamentosos comunes al sistema, Basipetospora sp., Cephalosporium sp., Hansfordia sp., y Penicillium sp. se encontraron tanto en las canillas #4 y #5, y los tanques de almacenamiento, como en los pozos de agua #2 y #6

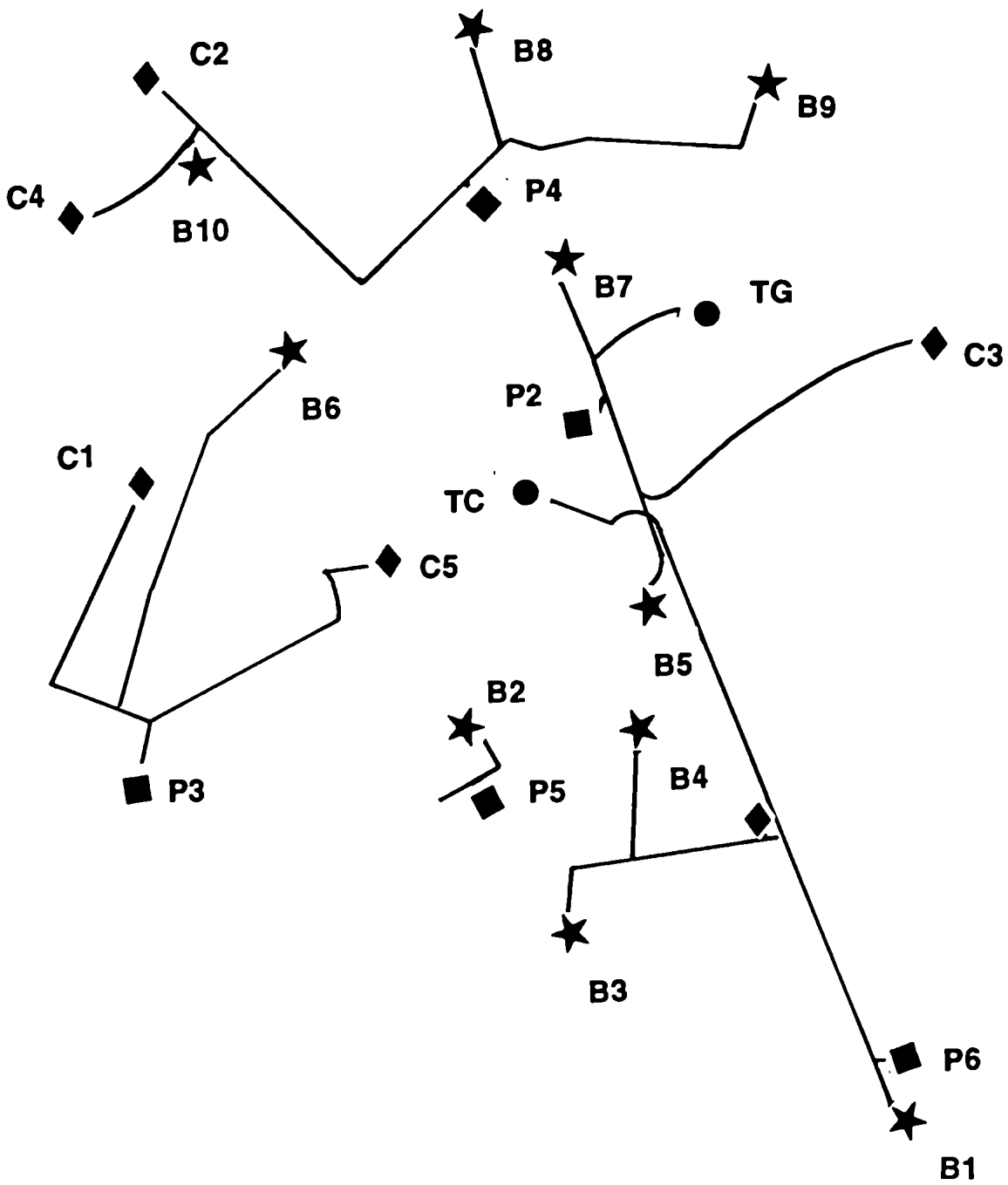


FIGURA 6 - Red de distribución para los sitios de muestreo

**TABLA 16 - FUENTE DE AGUA PARA CADA SITIO POR FECHA DE MUESTREO**

Fecha	Pozo	Otro Sitio
Enero & Febrero	#3 #2	Canilla #5 Canilla #4
Marzo 7 & 21	#3 #2	Canilla #5 Canilla #4
Marzo 28	#2 #6	Tanque C Tanque G
Abril 4 Abril 18 & 25	#2 #2 #6	Tanque C & G Tanque G Tanque G
Mayo 2 & 30	#4 #6	Tanque G Tanque C
Mayo 23	#2 #6	Tanque G Tanque C
Junio 1	#2 #3 #4 #6	Bomba #5, 7, 8, y 9 Bomba #2, 6 y 10 Tanque G Tanque C, Bomba #1, 3 y 4
Junio 6, 20 & 27	#4 #6	Tanque G Tanque C
Junio 13	#5 #6	Tanque G Tanque C
Julio 5	#2 #6	Tanque G Tanque C
Julio 11 & 18	#4 #6	Tanque G Tanque C
Julio 26	#3 #6	Canilla #5 Tanque C & G
Agosto 1	#3 #6	Canilla #5 Tanque C & G
Sept. 12 & 26	#5 #6	Canilla #1, 2, 4 y 5 Canilla #3 y 6
Sept. 19	#5 #6	Canilla #1, 2, 4 y 5 Bomba #2, 6 y 10 Tanque C & G, Canilla #3 y 6 Bomba #1, 3, 4, 5, 7, 8 y 9
Oct. 3, 17 & 24	#3 #6	Canilla #1, 2, 4 y 5 Canilla #3 y 6

que sirven el sistema en dicho mes. Dichos géneros son altamente frecuente en todo el sistema de aguas y no se puede por lo tanto estipular una correlación directa.

Durante los meses de Abril, Mayo y Junio no hubo correlación entre los hongos encontrados en los pozos de agua y los tanques de almacenamiento. Por otro lado, los géneros Dactylosporium sp. y Periconiella sp. fueron solamente encontrados en los tanques de almacenamiento durante este período.

No hubo correlación en cuanto al tipo de hongos hallados durante el mes de Junio entre las bombas de incendio (primer muestreo) y los pozos de agua que las sirven durante este mes (Bomba #1, #3 y #4 - pozo #6; Bomba #2, #6 y #10 - Pozo # 3; y Bomba #5, #7, #8 y #9 - Pozo # 2). El alto número de colonias del hongo levaduriforme Chromotorula sp. en las Bombas #2 y #6 durante dicho muestreo se atribuye a que dichas bombas no habían sido enjuagadas por un largo período de tiempo y contenían una alta acumulación de materia orgánica.

Durante el mes de Julio y Agosto, no hubo correlación entre los tanques de almacenamiento y los pozos de agua, a excepción de la presencia de Hansfordia sp. en ambos el 11/07, pero como fuera mencionado anteriormente, dicho género es ubícuo al sistema. Durante el mes de Septiembre, no hubo correlación entre los tanques de almacenamiento, las canillas o las bombas de incendio y los pozos #5 y #6, a excepción del género Cephalosporium sp. hallado tanto en la canilla #6 y el Pozo de agua #6, pero dicho género es también ubícuo al sistema.

Durante el mes de Octubre no se recolectaron muestras de los pozos de agua, por lo que no se conoce la composición florística de los mismos, pero con base en los datos de los meses previos, salvo los géneros comunes Hansfordia sp. y Penicillium sp., el género Aureobasidium sp., presente en alto número en la canilla #6, no fue hallado nunca en los pozos de agua.

En la mayoría de los muestreos, la frecuencia de los géneros hallados osciló entre 1-3 colonias, con unas pocas excepciones, donde se halló un alto número de colonias del mismo género. Se hallaron 32 y 16 colonias de Chromotorula sp. en las bombas de agua el 06/01; 10 colonias de Rhodotorula aurantiaca en el pozo #4 el 07/18, y 12 colonias en la bomba #2 el 06/01; 13 colonias de Hansfordia sp. en la Canilla #4 el 9/26; 19 colonias de Penicillium sp. en la Canilla #5 el 9/19 y 20 colonias en la Canilla #4 el 10/3; y 31 colonias de Aureobasidium sp. en la Canilla #6 el 10/27 y 10 colonias en dicha canilla el 09/26 y el 10/24 (Apéndice IV). Sobre la base de dichos resultados, los pozos y bombas de agua parecen poseer una mayor tendencia a la alta frecuencia de esporas de un mismo género para los hongos levaduriformes, mientras que las canillas lo poseen para los mohos filamentosos.

El alto recuento de ciertos géneros en ciertos sitios, comparados con otros sitios el mismo día de muestreo, indicaría que dichos hongos crecen en el sistema de distribución, en lugar de ser esporas halladas por azar debido a que han penetrado las barreras de desinfección. Se hallaron por ejemplo, 19 colonias de Penicillium sp. en la Canilla #5 (en tres muestras duplicadas) el



09/19, mientras que ninguna colonia de dicho género fue hallada en las otras canillas muestreadas en esa fecha. Se hallaron también 20 colonias de Penicillium sp. en la canilla #4 el 10/03, mientras que solamente se hallaron 2 y 1 colonias en las canillas #3 y #6 respectivamente. Estos y otros ejemplos se indican en la Tabla 17.

Se establecieron arbitrariamente tres categorías:

- 1) SIN HONGOS - sitios sin ninguna colonia de hongos;
  - 2) POCOS HONGOS - sitios con recuentos entre 1 y 5 CFU/50 ml;
- y
- 3) MUCHOS HONGOS - sitios con recuentos de hongos de > 5 CFU/50 ml. (Tabla 18).

**TABLA 18 - VALORES PROMEDIOS DE MUESTRAS POR NUMERO DE HONGOS PRESENTES**

Recuentos	# muestras	Frecuencia	CFU/50ml prom.
> 5 CFU/50 ml	26	11.40%	12.42
1-5 CFU/50 ml	79	34.65%	1.82
0 CFU/50 ml	123	53.95%	0

El análisis de los resultados indica que la mayoría de las muestras, 123, pertenecen a la categoría de SIN HONGOS, con una frecuencia del 53.95%. Hubo un total de 79 muestras y una frecuencia del 34.65% en la categoría POCOS HONGOS, con un promedio de 1.82 CFU/50ml. La categoría MUCHOS HONGOS fué la menos representada, con un total de 26 muestras, una frecuencia del 11.4% y un promedio de 12.42 CFU/50ml.

**TABLA 17 - COMPARACION DE SITIOS CON MUCHAS COLONIAS DE HONGOS Y SITIOS SIN COLONIAS EN EL MISMO DIA DE MUESTREO**

Sitio	Fecha	CFU/50 ml (duplicados)				Prom.	Género
Pozo 5 Pozo 2, 3, 6 T C, G	05/23	9	9	9		9	<u>Cephalosporium</u>
		0	0	0		0	
		0	0	0		0	
Pozo 3 Pozo 5, 6 T C, G	06/13	8	10	6		8	<u>Penicillium</u>
		0	0	0		0	
		0	0	0		0	
Pozo 4 Pozo 3, 6 T C, G	07/18	15	15	10	0	10	<u>R. aurantiaca</u>
		0	0	0	0	0	
		0	0	0	0	0	
Pozo 5, 6 TC, G C1-6 B2 B6 B8 B1, 3-5, 7, 9, 10	09/19	0	0	0		0	<u>Chromotorula</u>
		0	0	0		0	
		0	0	0		0	
		16	16			16	
		36	28			32	
		7	6			7	
Pozo 5, 6 TC, G C5 B2 B1, 3-10	09/19	0	0	0		0	<u>R. aurantiaca</u>
		0	0	0		0	
		1	1	1		1	
		12	12			12	
		0	0			0	
Can. 5 Can. 1-4, 6 T G T C Pozo 5, 6	09/19	19	18	20		19	<u>Penicillium</u>
		0	0	0		0	
		0	1	2	1	1	
		0	0	0	0	0	
		0	0	0	0	0	
Can. 6 Can. 1-5	09/26	13	10	7		10	<u>Aureobasidium</u>
		0	0	0		0	
Can. 4 Can. 5 Can. 1-3, 6	09/26	13	15	11		13	<u>Hansfordia</u>
		1	1	1		1	
		0	0	0		0	
Can. 4 Can. 3 Can. 6 Can. 1, 2, 5	10/03	20	20	19		20	<u>Penicillium</u>
		2	1	2		2	
		0	1	1		1	
		0	0	0		0	

Los hongos hallados en las muestras categorizadas como MUCHOS HONGOS, fueron Chromotorula sp., Rhodotorula aurantiaca, Torulopsis sphaerica, Aureobasidium sp., Cephalosporium sp., Hansfordia sp., y Penicillium sp.. Chromotorula sp., fue dentro de los hongos levaduriformes, y Hansfordia sp. y Penicillium sp. dentro de los mohos filamentosos, los hongos que produjeron el mayor número de colonias (Tabla 14). La mayoría de los sitios muestreados produjeron muestras en las tres categorías, dependiendo de la fecha de muestreo. Los únicos sitios que nunca produjeron muestras categorizadas como MUCHOS HONGOS, fueron el Pozo #6, los dos tanques de almacenamiento, las canillas #1 y #3 y las bombas de agua #1, #3-5, #7, #9 y #10 (Apéndice IV).

#### IV. Correlación entre hongos y bacterias y otros parámetros

Las concentraciones de cloro, temperatura y pH fueron medidas en todos los sitios de muestreo. La lista de dichos parámetros se incluye en el Apéndice II.

Se efectuaron regresiones lineares comparando los recuentos de hongos y bacterias entre sí y con los diferentes parámetros por sitio de muestreo (Tabla 19).

Los hongos y las bacterias presentaron una correlación significativa con un 95% de confianza en los muestreos de canillas y bombas de incendio. En los muestreos de canillas, un 8.47% de la variación fúngica se puede explicar debido a las bacterias heterotróficas, con un error residual de 5.84. En las bombas de incendio, un 23.93% de la variación fúngica se puede explicar

**TABLA 19- REGRESIONES LINEARES ENTRE LOS DISTINTOS PARAMETROS POR SITIO DE MUESTREO**

**a- Pozos de agua**

1) Hongos vs. Temperatura	$r^2 = 0.23\%$	c.c. = 0.048	e.st. = 1.53	p = 0.72
	$y = -0.77 + 0.08x$		$y = \text{hongos}$ $x = \text{temperatura}$	
2) Hongos vs. cloro	$r^2 = 0.63\%$	c.c. = 0.080	e.st. = 1.52	p = 0.55
	$y = 0.44 + 1.65x$		$y = \text{hongos}$ $x = \text{cloro}$	
3) Hongos vs. pH	$r^2 = 2.09\%$	c.c. = 0.140	e.st. = 1.52	p = 0.28
	$y = -7.85 + 0.97x$		$y = \text{hongos}$ $x = \text{pH}$	
4) Hongos vs. bacteria	$r^2 = 0.47\%$	c.c. = -0.007	e.st. = 1.53	p = 0.61
	$y = 0.76 + 0.0006x$		$y = \text{hongos}$ $x = \text{bacteria}$	
5) Bacterias vs. temperatura	$r^2 = 1.57\%$	c.c. = 0.120	e.st. = 164.65	p = 0.35
	$y = -360.92 + 21.94x$		$y = \text{bacterias}$ $x = \text{temperatura}$	
6) Bacterias vs. cloro	$r^2 = 0.47\%$	c.c. = 0.067	e.st. = 165.69	p = 0.62
	$y = 33.22 + 150.42x$		$y = \text{bacterias}$ $x = \text{cloro}$	
7) Bacteria vs. pH	$r^2 = 6.39\%$	c.c. = 0.25	e.st. = 160.57	p = 0.056
	$y = -1566.42 + 183.05x$		$y = \text{bacterias}$ $x = \text{pH}$	

Tabla 19 - cont.

## b- Tanques de almacenamiento

1) Hongos vs. Temperatura	$r^2= 1.20\%$	c.c.= -0.11	e.st.= 1.57	p= 0.52
	$y= 2.75 - 0.07x$		y= hongos x= temperatura	
2) Hongos vs. cloro	$r^2= 2.61\%$	c.c.= 0.16	e.st.= 1.56	p= 0.35
	$y= 0.50 + 6.67x$		y= hongos x= cloro	
3) Hongos vs. pH	$r^2= 8.31\%$	c.c.= 0.29	e.st.= 1.52	p= 0.09
	$y= -65.97 + 7.45x$		y= hongos x= pH	
4) Hongos vs. bacteria	$r^2= 0.06\%$	c.c.= -0.025	e.st.= 1.58	p= 0.89
	$y= 1.30 + 0.0005x$		y= hongos x= bacterias	
5) Bacterias vs. temperatura	$r^2= 32.10\%$	c.c.= 0.57	e.st.= 64.79	p= 0.0003
	$y= -338.57 + 18.26x$		y= bacterias x= temperatura	
6) Bacterias vs. cloro	$r^2= 0.03\%$	c.c.= -0.02	e.st.= 78.62	p= 0.92
	$y= 42.37 - 34.33x$		y= bacterias x= cloro	
7) Bacteria vs. pH	$r^2= 0.17\%$	c.c.= 0.04	e.st.= 78.56	p= 0.81
	$y= -441.20 + 53.14x$		y= bacterias x= pH	

Tabla 19- cont.

## c- Canillas de agua

1) Hongos vs. Temperatura	$r^2= 1.97\%$	c.c.= 0.14	e.st.= 6.04	p= 0.30
	$y= -0.89 + 0.22x$		y= hongos x= temperatura	
2) Hongos vs. cloro	$r^2= 1.14\%$	c.c.= -0.11	e.st.= 6.06	p= 0.43
	$y= 6.89 - 34.44x$		y= hongos x= cloro	
3) Hongos vs. pH	$r^2= 0.31\%$	c.c.= 0.06	e.st.= 6.09	p= 0.68
	$y= -58.21 + 6.79x$		y= hongos x= pH	
4) Hongos vs. bacteria	$r^2= 8.47\%$	c.c.= 0.29	e.st.= 5.84	p= 0.03
	$y= 2.44 + 0.009x$		y= hongos x= bacterias	
5) Bacterias vs. temperatura	$r^2= 11.21\%$	c.c.= 0.33	e.st.= 192.30	p= 0.01
	$y= -235.06 + 17.52x$		y= bacterias x= temperatura	
6) Bacterias vs. cloro	$r^2= 0.93\%$	c.c.= -0.10	e.st.= 203.13	p= 0.48
	$y= 209.67 - 1043.33x$		y= bacterias x= cloro	
7) Bacteria vs. pH	$r^2= 1.18\%$	c.c.= -0.11	e.st.= 202.88	p= 0.43
	$y= 4142.10 - 445.94x$		y= bacterias x= pH	

Tabla 19- cont.

## d- Bombas de Incendio (\*)

1) Hongos vs. Temperatura	$r^2= 6.72\%$	c.c.= 0.26	e.st.= 10.65	p= 0.27
	$y= -64.55 + 3.50x$		y= hongos x= temperatura	
2) Hongos vs. pH	$r^2= 13.85\%$	c.c.= 0.37	e.st.= 10.24	p= 0.11
	$y= -591.43 + 66.76x$		y= hongos x= pH	
3) Hongos vs. bacteria	$r^2= 23.93\%$	c.c.= 0.49	e.st.= 9.62	p= 0.03
	$y= 3.38 + 0.12x$		y= hongos x= bacterias	
4) Bacterias vs. temperatura	$r^2= 0.16\%$	c.c.= -0.04	e.st.= 44.62	p= 0.87
	$y= 60.43 - 2.17x$		y= bacterias x= temperatura	
5) Bacteria vs. pH	$r^2= 2.77\%$	c.c.= 0.17	e.st.= 44.03	p= 0.48
	$y= -1063.59 + 120.88x$		y= bacterias x= pH	

(\*) correlaciones con cloro no se analizaron dado que la concentracion de cloro fue de 0.1 en todos los muestreos de las bombas de incendio

$r^2$ = coeficiente de determinacion  
 c.c.= coeficiente de correlacion  
 e.st.= error standard  
 p= probabilidad con 5% de confianza  
 $y= a + bx$  = ecuacion de regresion

debido a las bacterias heterotróficas, con un error residual de 9.62.

Los análisis de regresión lineal para hongos vs. temperatura, cloro o pH no presentan correlaciones significativas para ninguno de los sitios de muestreo.

Los análisis de regresión lineal entre las bacterias y la temperatura, indican una correlación significativa con un 95% de confianza en los muestreos de tanques de almacenamiento y de canillas de agua. En los tanques de almacenamiento, un 32% de la variación bacteriana se puede explicar por la temperatura, con un error residual de 64.79; y en las canillas, un 11.21% de la variación bacteriana se puede explicar por la temperatura, con un error residual de 192.30. Dichos análisis no presentan correlaciones significativas entre los recuentos de bacterias heterotróficas y la concentración de cloro ó el pH del agua.

Se efectuaron también regresiones múltiples utilizando el modelo de Durbin-Watson (Tabla 20). La gran variabilidad de los parámetros microbiológicos y el pequeño rango de variación de los parámetros fisico-químicos, pudo haber influenciado los resultados estadísticos. No hubo correlación múltiple para los hongos ni para las bacterias heterotróficas en ninguno de los sitios de muestreo.



TABLA 20- VALORES DE REGRESION MULTIPLE - MODELO DE DURBIN-WATSON

**a) Pozos de agua**

1) Hongos vs. resto de parametros  
 $r^2= 4.81\%$        $r^{2*}= -2.37\%$       e. st.= 1.54      p= 0.18

2) Bacteria vs. resto de parametros  
 $r^2= 9.8\%$        $r^{2*}= 3.0\%$       e. st.= 162.01      p= 0.42

**b) Tanques de almacenamiento**

1) Hongos vs. resto de parametros  
 $r^2= 13.26\%$        $r^{2*}= 2.07\%$       e. st.= 1.54      p= 0.09

2) Bacteria vs. resto de parametros  
 $r^2= 32.73\%$        $r^{2*}= 24.05\%$       e. st.= 67.54      p= 0.86

**c) Canillas de agua**

1) Hongos vs. resto de parametros  
 $r^2= 9.65\%$        $r^{2*}= 2.56\%$       e. st.= 5.96      p= 0.63

2) Bacteria vs. resto de parametros  
 $r^2= 19.04\%$        $r^{2*}= 12.69\%$       e. st.= 188.96      p= 0.32

**d) Bombas de Incendio**

1) Hongos vs. resto de parametros  
 $r^2= 42.32\%$        $r^{2*}= 31.51\%$       e. st.= 8.88      p= 0.07

2) Bacteria vs. resto de parametros  
 $r^2= 27.22\%$        $r^{2*}= 13.58\%$       e. st.= 40.41      p= 0.70

$r^2=$  coeficiente de determinacion multiple

$r^{2*}=$  coeficiente de determinacion multiple adaptado

e.st.= error estandard

p= probabilidad

## B. ESTUDIOS DE LABORATORIO

### I. Experimentos de la respuesta de crecimiento levaduriforme

Se llevaron a cabo cinco experimentos para evaluar la respuesta de crecimiento de los hongos levaduriformes en el agua potable del sistema de distribución de la ciudad de Glassboro. Tres experimentos se realizaron utilizando el hongo levaduriforme Rhodotorula aurantiaca y dos el hongo levaduriforme Torulopsis sphaerica. Se seleccionaron dichos hongos porque fueron los más abundantes en el sistema de distribución durante los primeros meses de muestreo. En cada experimento, una muestra de un pozo de agua, de un tanque de almacenamiento, de una canilla, y de una bomba de incendio fueron comparadas respecto de la respuesta de crecimiento del hongo levaduriforme en un agua de control con una concentración conocida de AOC. Los dos primeros experimentos, con cada uno de los hongos levaduriformes, se llevaron a cabo durante el mes de Junio, con agua recolectada el 01/06. En dichos experimentos, se utilizó agua del pozo #6, del tanque C, de la canilla #5 y de la bomba de incendio #1. El tercer y cuarto experimento, con cada uno de los hongos levaduriformes, se llevaron a cabo durante el mes de Septiembre, con agua recolectada el 19/09. En dichos experimentos, se utilizó agua del Pozo #5, del tanque G, de la canilla #4, y de la bomba de incendio #5. Un último experimento, utilizando solamente Rhodotorula aurantiaca, se llevó a cabo durante el mes de Octubre, con agua recolectada el 10/17. En dicho experimento se utilizó agua del Pozo #3, del Tanque C, de la canilla #6 y de la bomba de incendio #10. Los datos de los resultados para cada

experimento se indican en el Apéndice V.

Las técnicas de respuesta de crecimiento para hongos levaduriformes (RCL) se desarrollaron por primera vez para este estudio, y son modificaciones de las técnicas de respuesta de crecimiento de bacterias en agua potable (48). Dado que los hongos levaduriformes poseen un desarrollo más lento que las bacterias, la densidad del inóculo utilizado se incrementó, para disminuir el tiempo requerido por los cultivos de alcanzar  $N_{max}$ , a aproximadamente  $2 \times 10^4$  CFU/ml en vez de 500 CFU/ml, valor originalmente indicado por Van der Kooij (83) para el potencial de crecimiento de Pseudomonas aeruginosa. Otro parámetro que se consideró para incrementar la velocidad de crecimiento fue la temperatura del inóculo, pero aumentos de temperatura pueden tener efectos múltiples, no sólo aumentando la velocidad de crecimiento, sino también aumentando la velocidad de la respiración endógena y disminuyendo la producción del cultivo. Por lo tanto, la temperatura del cultivo para las condiciones experimentales, fué de 20-22°C, lo que coincide con la temperatura en la mayor parte del año dentro del sistema de distribución.

Para asegurar homogeneidad entre las distintas muestras, se utilizaron inóculos en máximas condiciones fisiológicas. Dichos inóculos se hallaban en la fase exponencial de crecimiento, lo que produjo células saludables, con la mayoría de las mismas viables. Esto se corroboró con recuentos directos de células bajo microscopía óptica y su comparación con el crecimiento en cajas de petri en CFU/ml.

Para asegurarse de que el AOC del agua en los distintos sitios del sistema de distribución no fuera alterado con las técnicas de esterilización para la eliminación de la flora endémica, dicha agua fué pausterizada a 60-70°C durante 30-40 minutos. Varios autores (31,32,33,40,61,80,81,83) han demostrado que este mecanismo de esterilización es el único que no afecta significativamente la concentración del AOC en el agua. El filtrado estéril del agua usando diferentes filtros aumenta significativamente tanto el DOC (carbono orgánico disuelto) como el AOC (carbono orgánico asimilable) en el agua de incubación (32), y la esterilización por autoclave del agua también aumenta el AOC debido a la degradación del POC (carbono orgánico particulado) (80).

Para eliminar contaminaciones traza de carbono orgánico en los recipientes de incubación y no introducir errores en el experimento se tuvieron en cuenta precauciones y cuidados siguiendo los métodos standard (30). Las técnicas comúnmente usadas por otros autores (31,32,33,40,61,80,81,83) son exponer los recipientes de incubación a temperaturas de 550°C por 6-12 horas. El tamaño de los recipientes de incubación también influye en la precisión de la determinación del AOC. Recipientes pequeños (ampollas de menos de 50 ml) poseen un alto porcentaje de células adheridas a la pared del recipiente, incrementando el efecto de "biofilm" en la determinación del AOC. Por otro lado, Erlenmeyers de 1L interfieren con el cálculo del AOC debido al gran volumen y al tiempo requerido por el cultivo para llegar a  $N_{max}$ . Las botellas de BOD (con una capacidad de 300 ml) poseen una medida ideal para los

experimentos de crecimiento (32,61), y se utilizaron en este estudio.

Los organismos utilizados en las técnicas de bioensayo se enumeraron por recuento de CFU/ml en cajas de petri con medio SDA, luego de 72 horas de incubación a 22°C. Ambos hongos levaduriformes respondieron de manera similar en cuanto al crecimiento en las diferentes muestras (Figuras 7-16).

Las figuras 7 y 8 indican la respuesta de crecimiento de Rhodotorula aurantiaca y Torulopsis sphaerica en el agua de control para los experimentos 1-2 (Fig. 7) y 3-4 (Fig. 8). En el segundo conjunto de experimentos (3-4), ambos hongos levaduriformes presentaron una respuesta de crecimiento mayor (en CFU/ml), y se mantuvieron en  $N_{max}$  por un período más largo de tiempo (7 días en lugar de 4), debido probablemente al estado metabólico del inóculo.

Una distribución similar se observa en las Figuras 9 y 10 con respecto a la respuesta de crecimiento en los pozos de agua. En el pozo #5 (segundo conjunto de experimentos, Fig. 10), Torulopsis sphaerica mantuvo un CFU/ml mayor que Rhodotorula aurantiaca en los primeros 10 días de cultivo, pero decreció posteriormente. Ninguno de los dos hongos levaduriformes presentó una respuesta de crecimiento positiva en las aguas de pozo.

Figura 7 - Experimento 1 y 2 con el agua de control

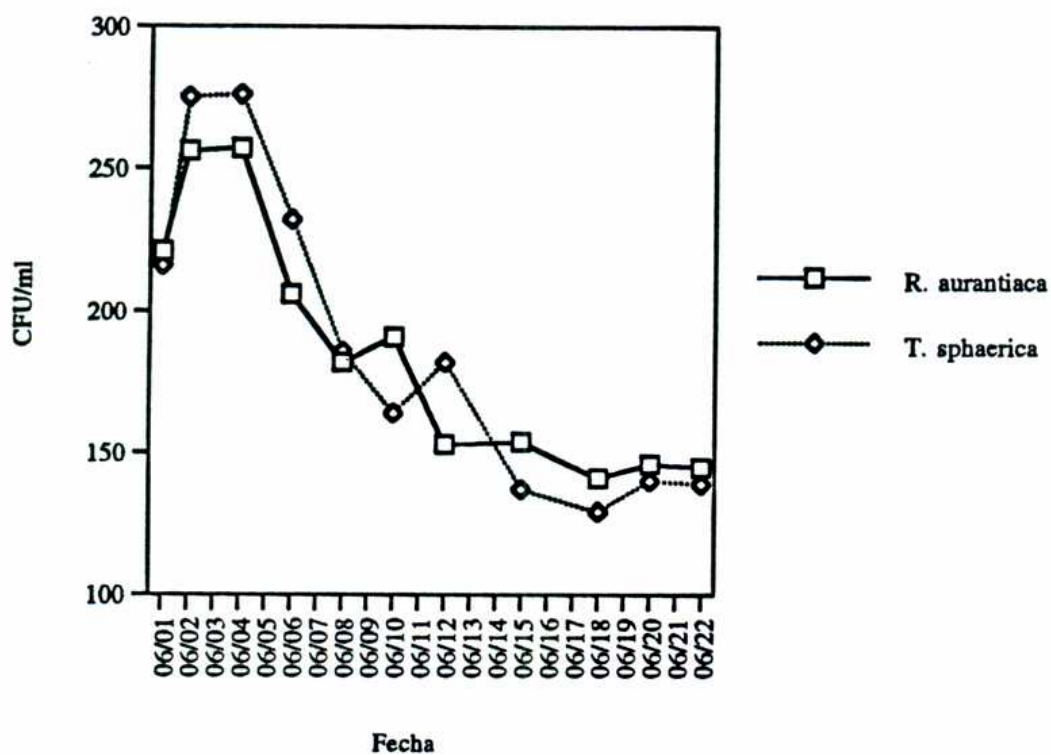


Figura 8 - Experimento 3 y 4 con el agua de control

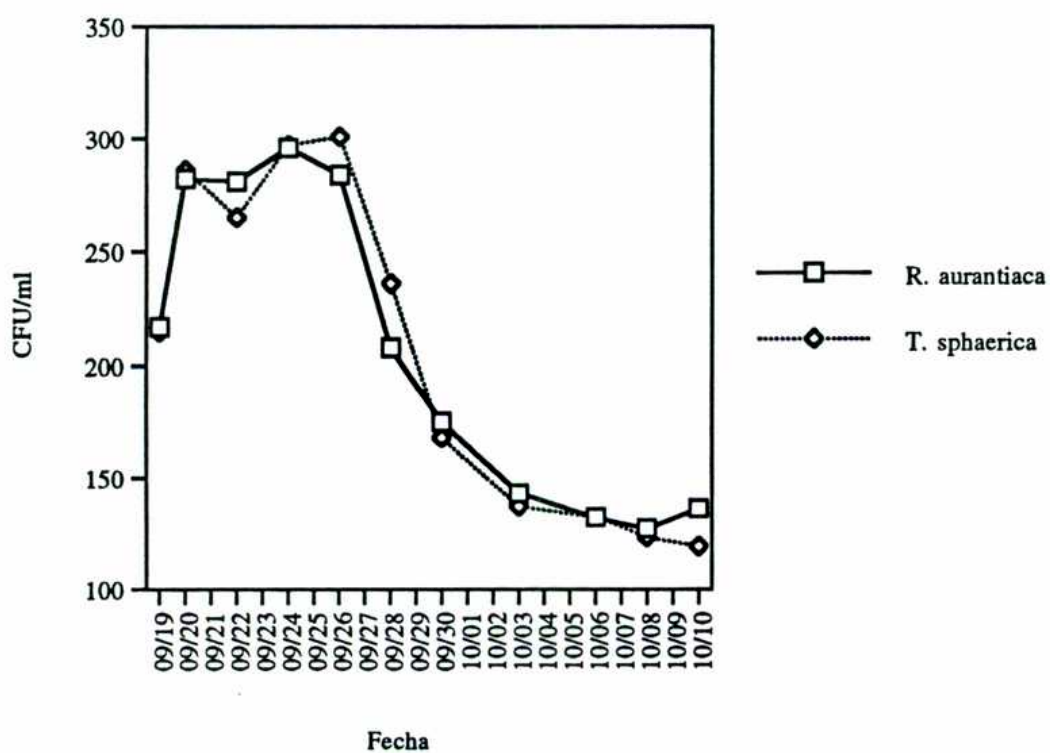


Figura 9 - Experimento 1 y 2 con el agua del pozo # 6

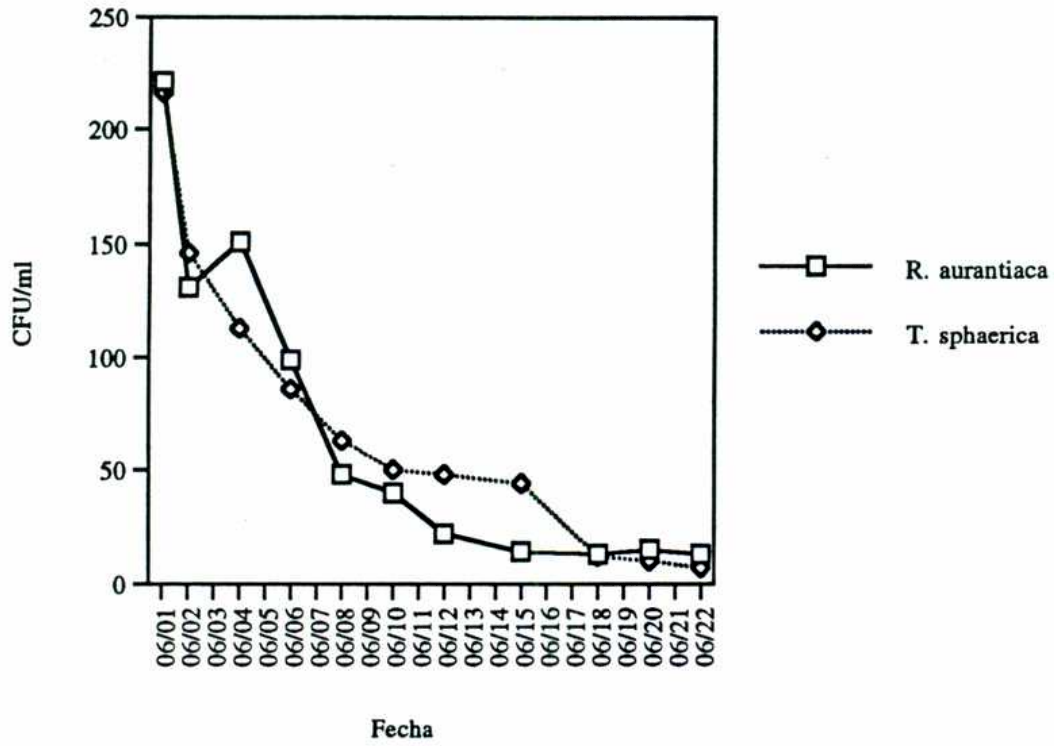
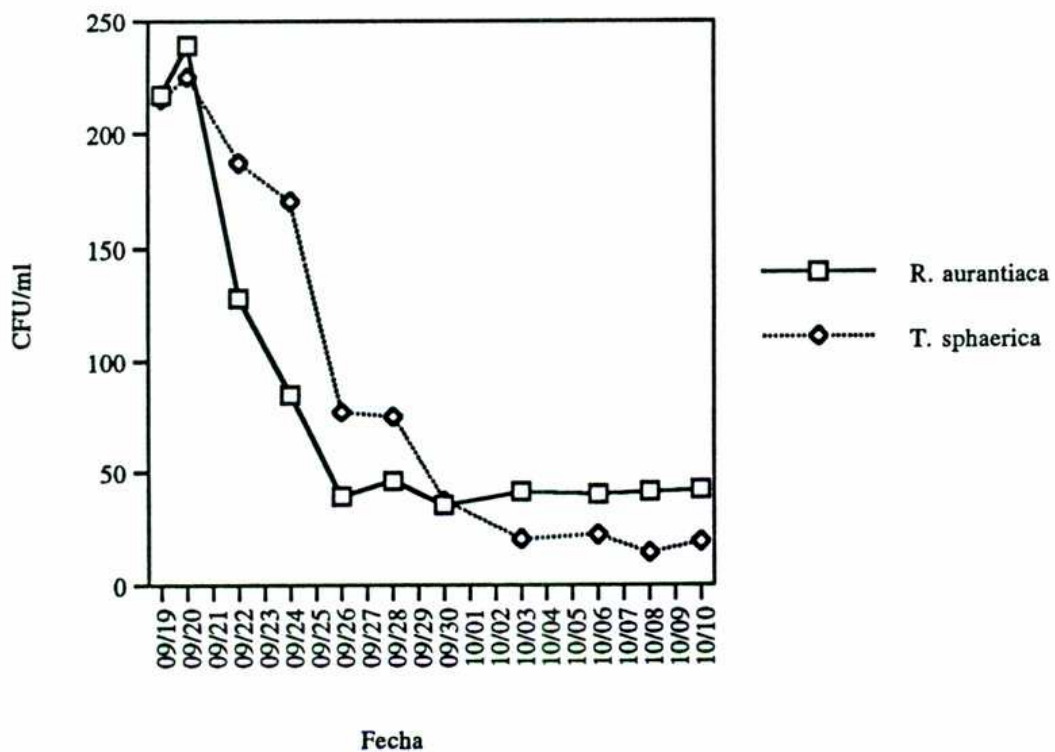


Figura 10 - Experimentos 3 y 4 con el agua del pozo # 5



Las Figuras 11 y 12 muestran una correlación significativa entre los dos hongos levaduriformes respecto de su respuesta de crecimiento en los tanques de almacenamiento. Nuevamente se observa que el conjunto de experimentos 3-4 presentó un mayor CFU/ml que el conjunto de experimentos 1-2, debido probablemente al estado metabólico del cultivo que se utilizó en dichos experimentos.

Las Figuras 13 y 14 muestran el comportamiento de ambos hongos levaduriformes en las muestras de canillas. Al igual que en los tanques de almacenamiento, ninguna de las dos especies presentó una respuesta de crecimiento positiva en las aguas de canilla, poseyendo la mayor declinación de todas las muestras.

Las Figuras 15 y 16 presentan la respuesta de crecimiento de las dos especies levaduriformes en las bombas de incendio. La correlación entre ambas especies es altamente significativa. Contrariamente al resto de las otras muestras, los experimentos 1-2 exhibieron una respuesta de crecimiento mayor que los experimentos 3-4, como así mismo un período más largo de  $N_{max}$ . Ambas especies llegaron a  $N_{max}$  en el tercer día de iniciado el experimento, en lugar del sexto día, y se mantuvieron en  $N_{max}$  por aproximadamente 5 días en vez de 2.

No hubo diferencias significativas en la respuesta de crecimiento entre ambas especies levaduriformes, con lo cual se puede inferir que ambos hongos utilizan y/o necesitan cantidades similares de AOC para su crecimiento.



Figura 11 - Experimentos 1 y 2 con el agua del tanque C

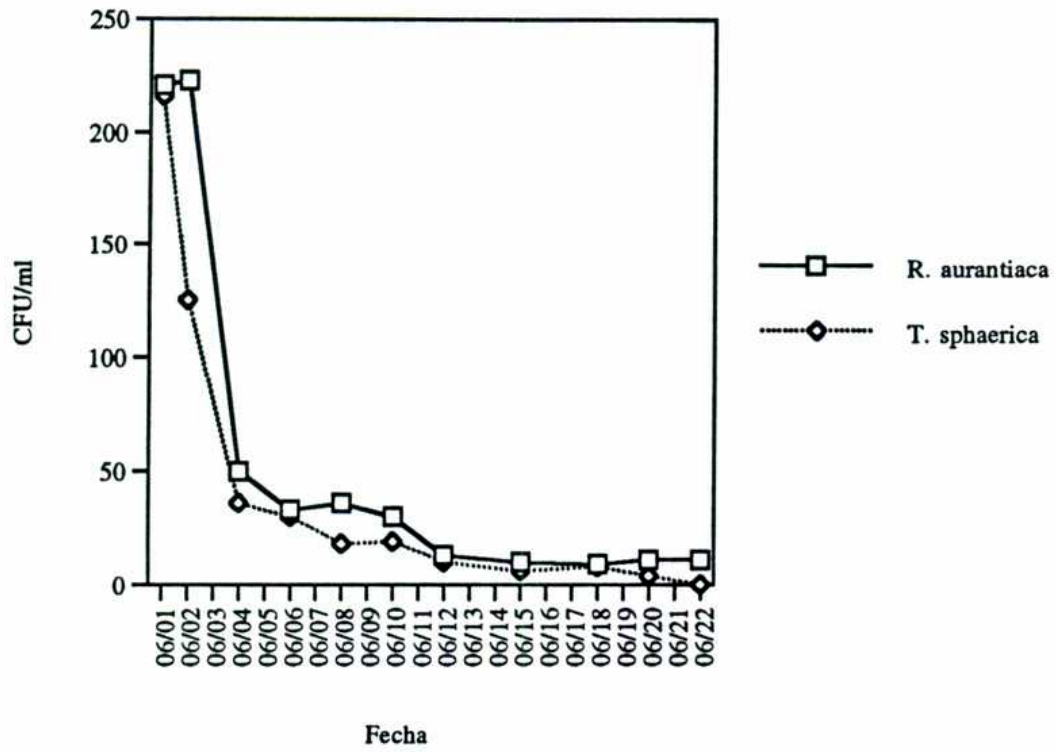


Figura 12 - Experimentos 3 y 4 con el agua del tanque G

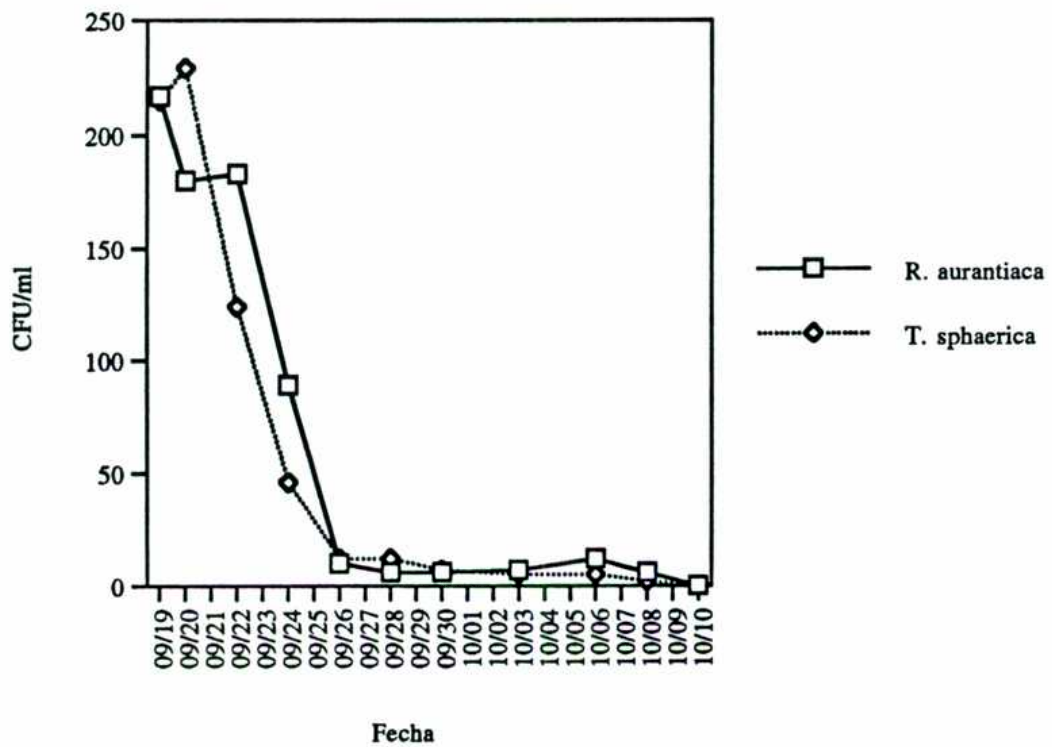


Figura 13 - Experimento 1 y 2 con el agua de la canilla # 5

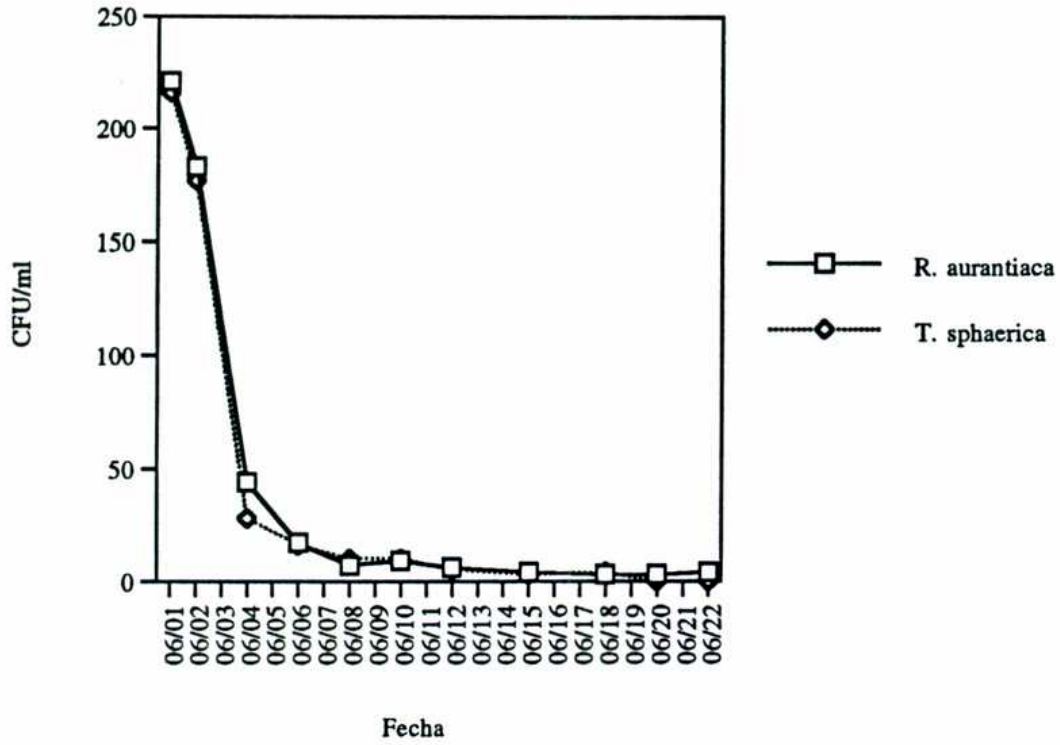


Figura 14 - Experimento 3 y 4 con el agua de la canilla #4

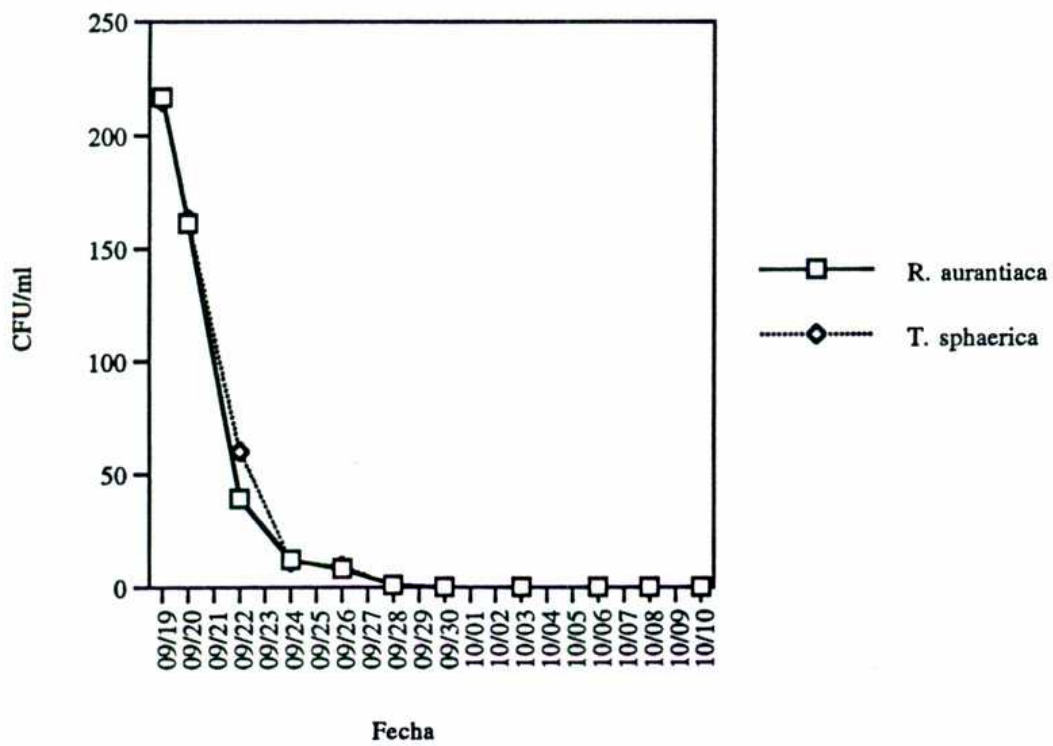


Figura 15 - Experimentos 1 y 2 con el agua de la bomba # 1

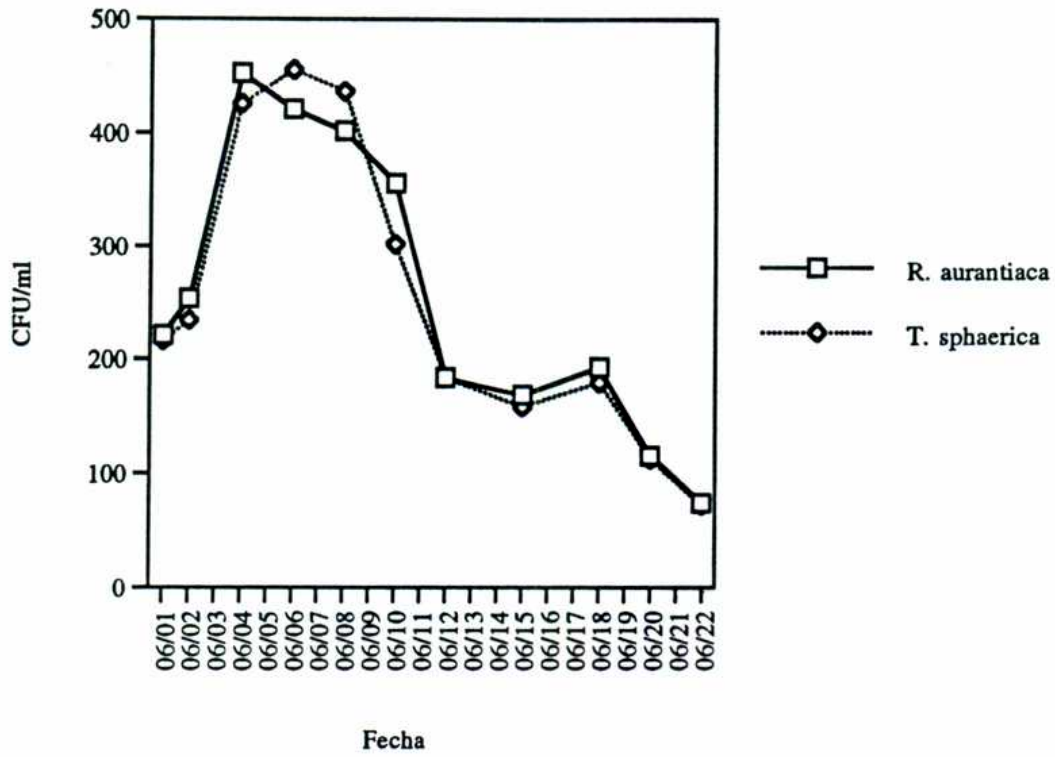
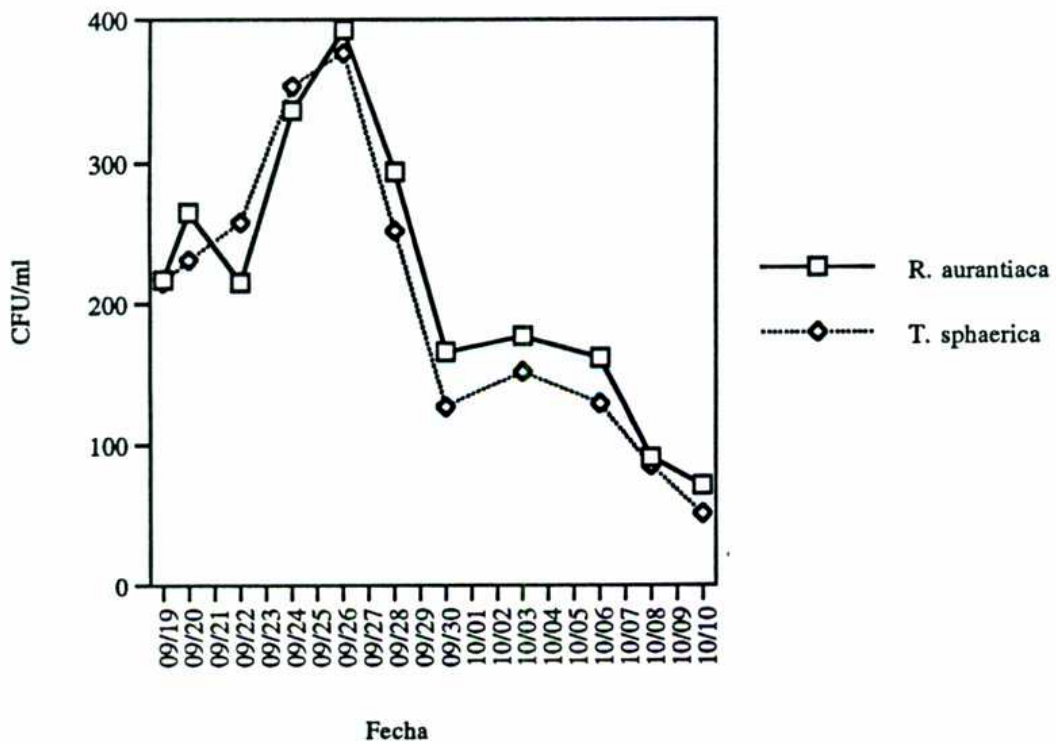


Figura 16 - Experimentos 3 y 4 con el agua de la bomba # 5



## II. Crecimiento de hongos levaduriformes en los diferentes sitios del sistema de distribución.

Las figuras 17-21 presentan los resultados de cada uno de los experimentos de crecimiento. El análisis de dichos gráficos indica un modelo general de respuesta de crecimiento levaduriforme en el sistema de distribución de aguas de la Ciudad de Glassboro. Los únicos sitios del sistema de distribución que poseen suficiente AOC para estimular el crecimiento de hongos levaduriformes son las bombas de incendio. Los pozos de agua, los tanques de almacenamiento y las canillas muestreadas no poseen la cantidad suficiente de carbono orgánico asimilable para obtener una respuesta positiva de crecimiento de hongos levaduriformes en el sistema de distribución.

La tabla 21 muestra comparativamente la respuesta de crecimiento levaduriforme (RCL) en el agua en los diferentes sitios del sistema, experimentalmente, respecto al RCL en el agua de control. Valores negativos del RCL ( $N_{\max}$  Muestra -  $N_{\max}$  Control) indican que el agua no posee suficiente AOC para estimular el crecimiento de hongos levaduriformes. Valores positivos del RCL ( $N_{\max}$  Muestra -  $N_{\max}$  Control), por otro lado, indican que el agua posee suficiente AOC para estimular el crecimiento de los hongos levaduriformes. El agua de control posee entre 5-10  $\mu\text{g/L}$  de AOC, valor mínimo estipulado por otros autores (79,80,81,82,83) para el crecimiento de microorganismos en agua potable. Solamente las bombas de incendio presentaron una respuesta de crecimiento

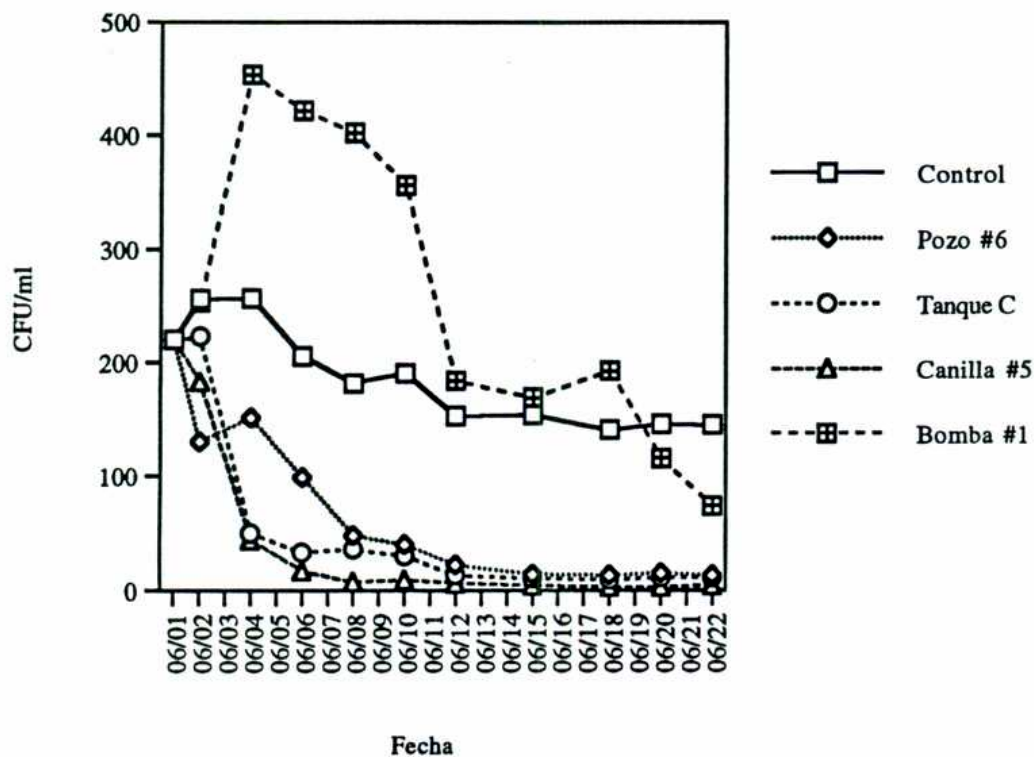
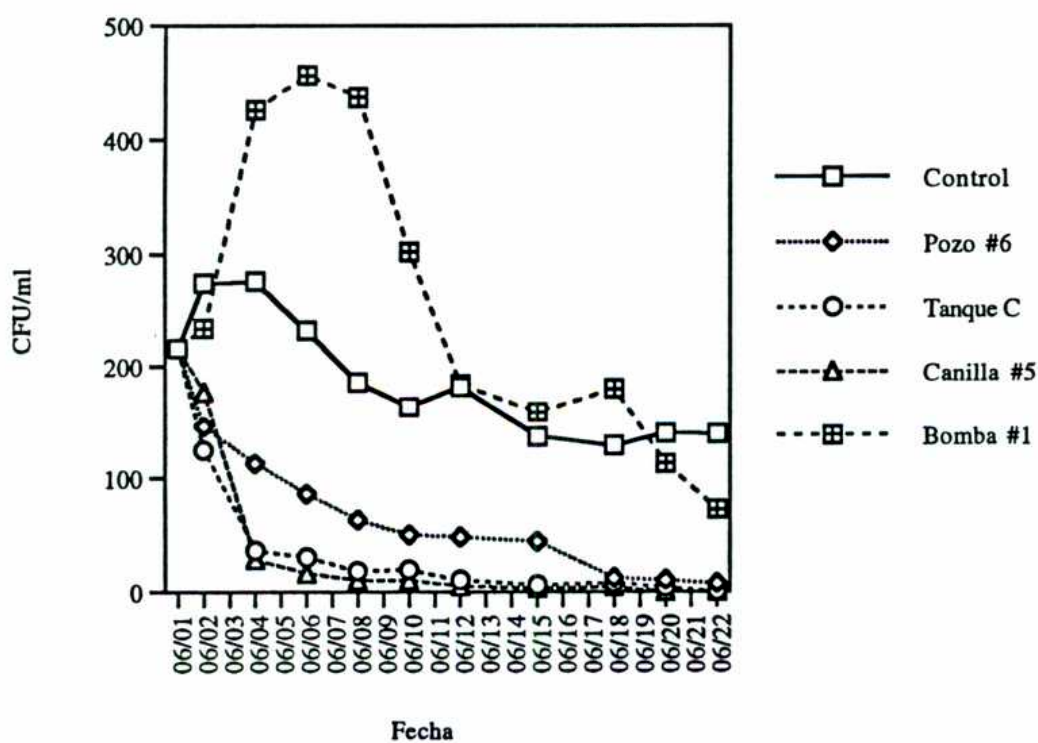
Figura 17 - Experimento # 1 - *R. aurantiaca*Figura 18 - Experimento # 2 - *T. sphaerica*

Figura 19 - Experimento # 3 - *R. aurantiaca*

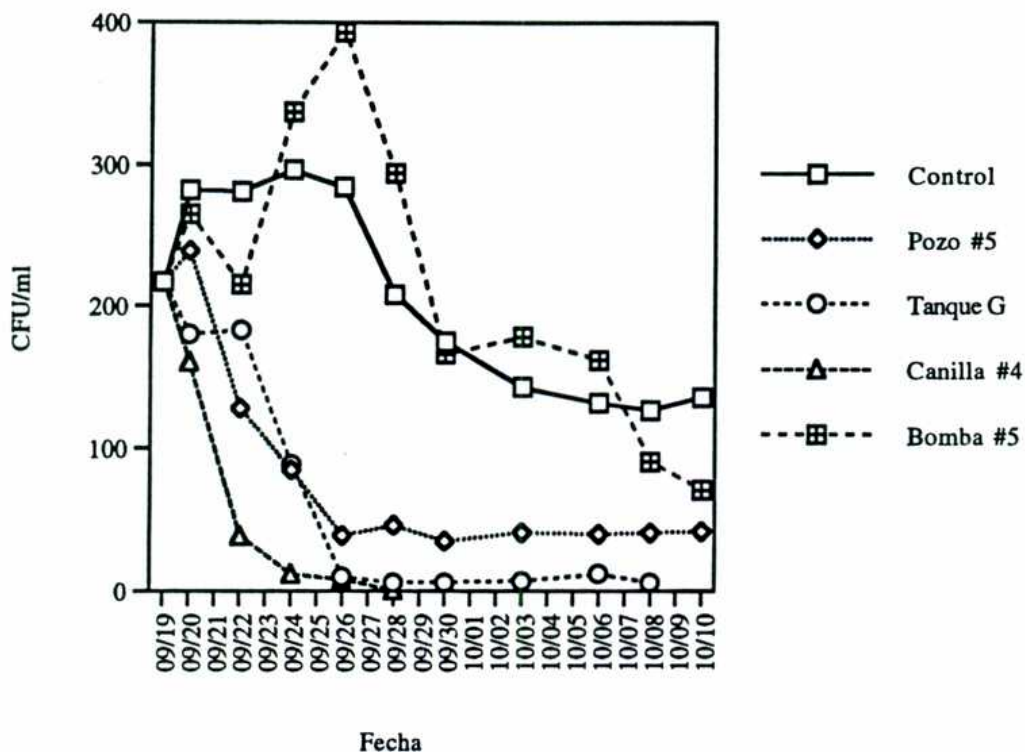


Figura 20 - Experimento # 4 - *T. sphaerica*

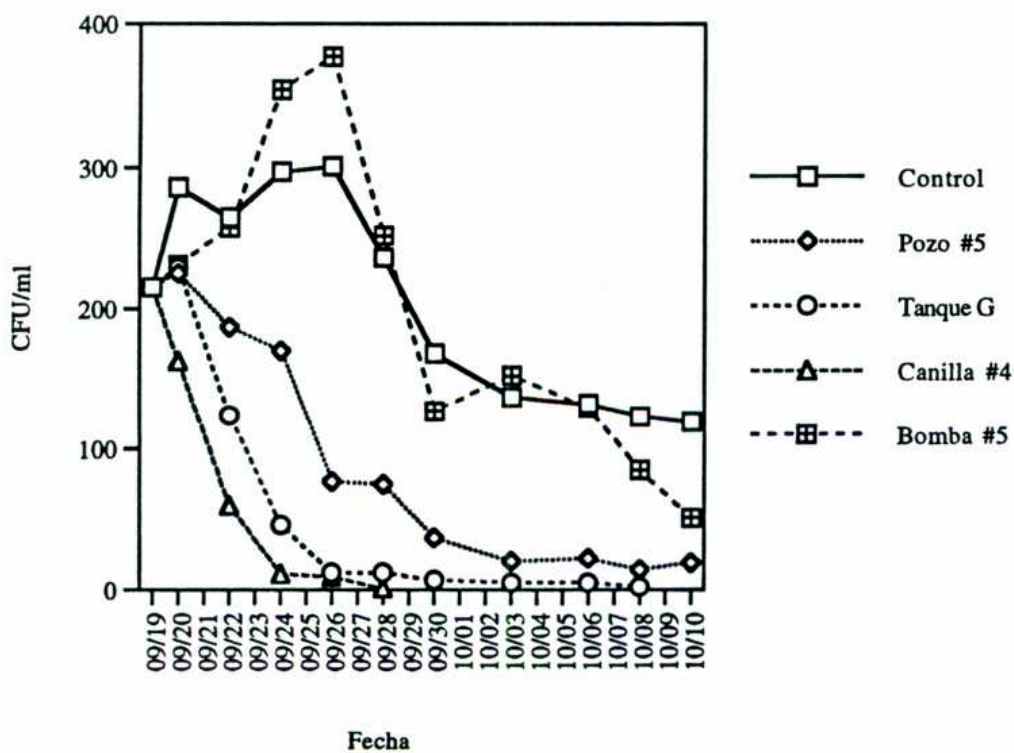
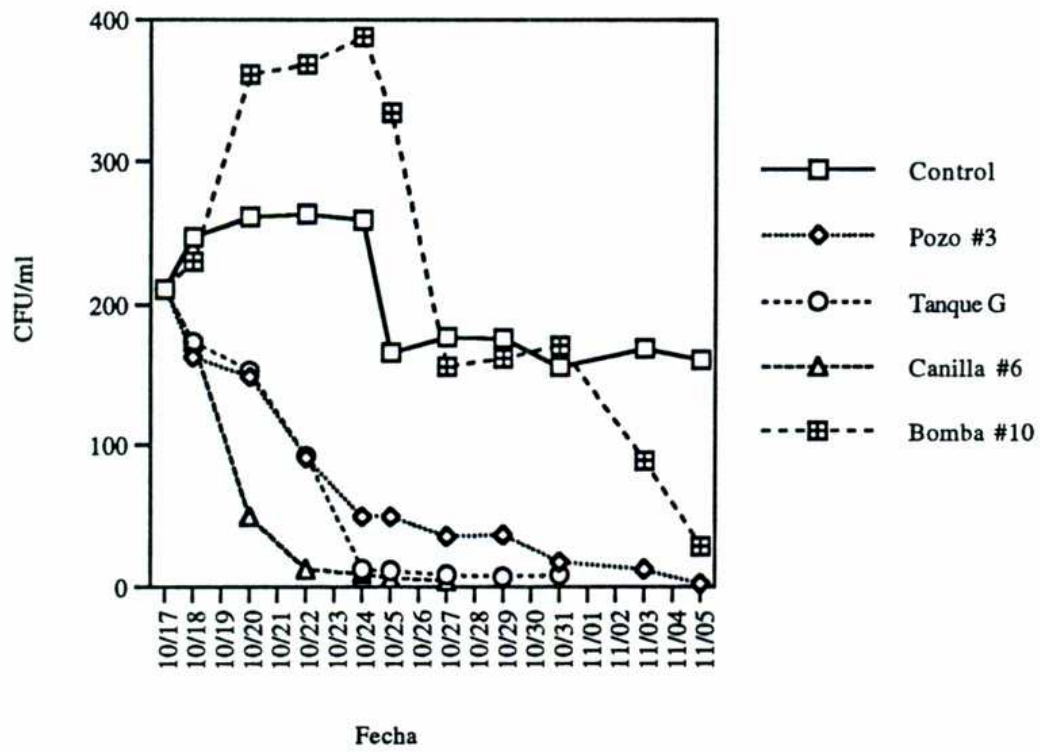


Figura 21 - Experimento # 5 - *R. aurantiaca*

**TABLA 21 - COMPARACION DE LA RESPUESTA DE CRECIMIENTO LEVADURIFORME (RCL), INDICE DE MANTENIMIENTO (IM), Y DIAS DE CRECIMIENTO (TC) EN LOS DIFERENTES SITIOS DE MUESTREO, POR EXPERIMENTO**

Experimentos	RCL	IM	TC
#1 - Pozo #6	- 116.83	- 133.92	13 días
#1 - Tanque C	- 33.33	- 136.87	11 días
#1 -Canilla #5	- 72.67	- 142.57	7 días
#1 - Bomba #1	+ 151.84	- 52.50	>22 días
#2 - Pozo #6	- 145.17	- 144.47	17 días
#2 - Tanque C	- 149.67	- 147.14	14 días
#2 -Canilla #5	- 98.33	- 150.14	11 días
#2 - Bomba #1	+ 164.78	- 61.47	>22 días
#3 - Pozo #5	- 46.42	- 93.71	>22 días
#3 - Tanque G	- 104.25	- 126.53	6 días
#3 -Canilla #4	- 125.08	- 134.42	5 días
#3 - Bomba #5	+ 55.80	- 53.42	>22 días
#4 - Pozo #5	- 62.25	- 108.84	11 días
#4 - Tanque G	- 58.25	- 123.00	9 días
#4 -Canilla #4	- 124.58	- 127.75	9 días
#4 - Bomba #5	+ 78.42	- 43.08	>22 días
#5 - Pozo #3	- 104.78	- 155.23	19 días
#5 - Tanque C	- 97.61	- 158.23	7 días
#5 -Canilla #6	- 86.78	- 161.12	7 días
#5 - Bomba #10	+ 101.89	- 78.89	>22 días



positiva, con valores que oscilaron entre 55.80-151.84 para Rhodotorula aurantiaca y 78.42-164.78 para Torulopsis sphaerica. En todos los demas sitios de muestreo los cultivos no crecieron y murieron luego de un cierto tiempo (Tabla 21).

La tabla 21 indica también las diferencias entre el agua de control y los diferentes sitios del sistema respecto del índice de mantenimiento (IM) de los hongos levaduriformes (IM= promedio mínimo CFU/ml Muestra - promedio mínimo CFU/ml Control). Indices de mantenimiento con máximos valores negativos indican que el agua de la muestra es incapaz de mantener un nivel mínimo de células levaduriformes.

La respuesta de crecimiento de los hongos levaduriformes (RCL) en el agua de control (Figura 22) indica que los cultivos de Rhodotorula aurantiaca crecieron aproximadamente un 51% en los primeros 4-8 días de iniciado el experimento ( $N_{max}$ ) y luego se estabilizaron en un promedio mínimo de 150 CFU/ml, mientras que los cultivos de Torulopsis sphaerica crecieron un 57% en los primeros 4-8 días de iniciado el experimento ( $N_{max}$ ) y luego se estabilizaron en un promedio mínimo de 141 CFU/ml. Los valores de  $N_{max}$  en el agua de control indican el RCL (respuesta de crecimiento levaduriforme) en concentraciones de 5-10  $\mu\text{g/L}$  de AOC. Los valores de promedios mínimos (en CFU/ml) indican el índice de mantenimiento (IM) de dichos hongos en el agua de control.

La figura 23 indica la respuesta de crecimiento levaduriforme (RCL) en los pozos de agua. El pozo #5 fue el único otro sitio del sistema, ademas de las bombas de incendio, que presentó para ambos

Figura 22 - Crecimiento de *R. aurantiaca* y *T. sphaerica* en el agua de control

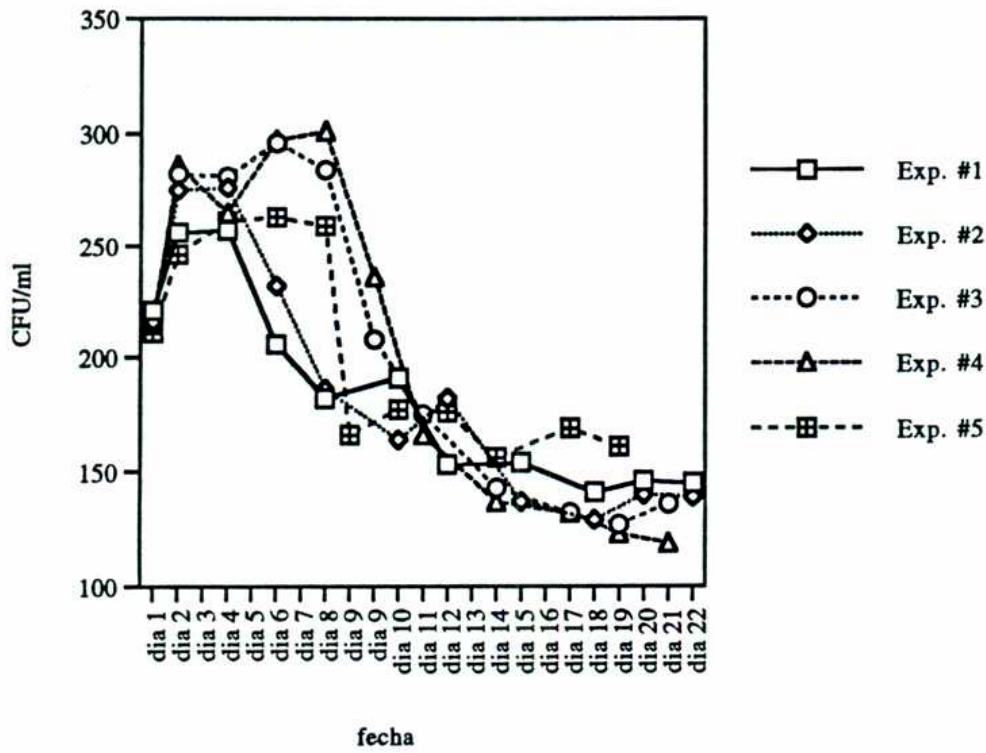
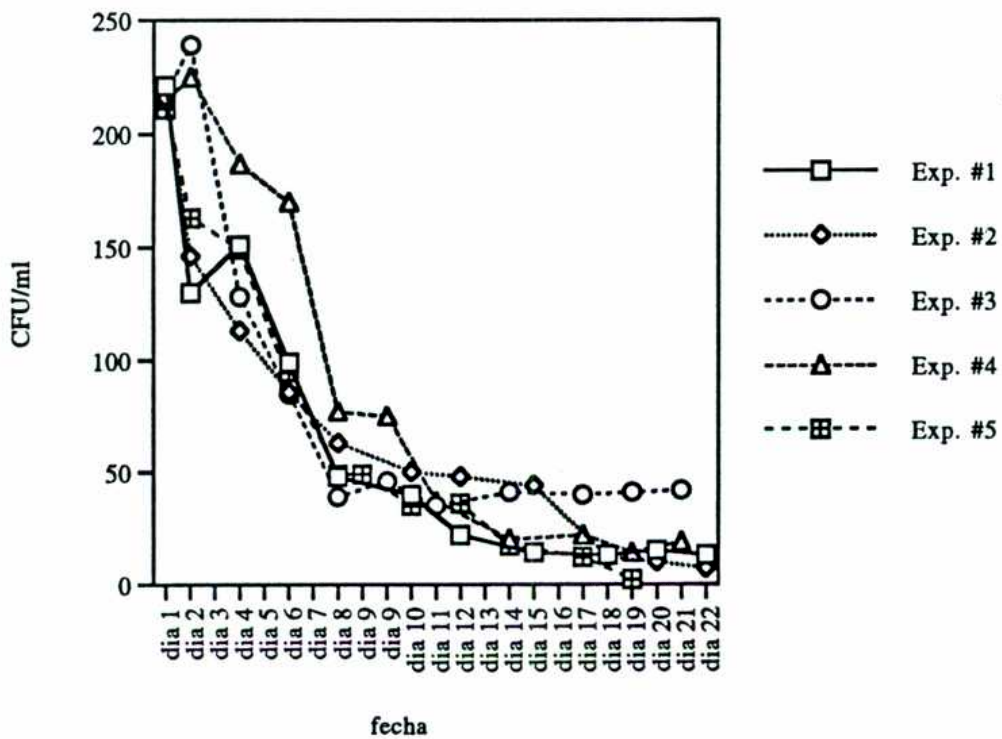


Figura 23 - Crecimiento de *R. aurantiaca* y *T. sphaerica* en el agua de pozo



hongos levaduriformes un mínimo incremento (25% para Rhodotorula aurantiaca y 11% para Torulopsis sphaerica) en el número de CFU/ml, en los dos primeros días de iniciado el experimento. En general, los pozos de agua no contienen suficiente AOC para estimular el crecimiento de hongos levaduriformes, con valores de RCL de -46.42 (pozo #5), -104.78 (pozo #3) y -116.83 (pozo #6) para Rhodotorula aurantiaca y de -62.25 (pozo #5) y -145.17 (pozo #6) para Torulopsis sphaerica. Los pozos de agua llegan a un mínimo crecimiento entre 11 y 13 días de iniciado el experimento. El pozo #5 mantuvo un IM (índice de mantenimiento) mayor tanto para Rhodotorula aurantiaca (-93.71 CFU/ml) como para Torulopsis sphaerica (-108.84 CFU/ml) que el pozo #6 (-133.92 CFU/ml y -144.47 CFU/ml, respectivamente). El pozo #3, presentó un IM de -155.23 CFU/ml para Rhodotorula aurantiaca, única especie experimentada. Dicho valor fue similar al obtenido en el pozo #6 (Tabla 21).

La figura 24 indica la respuesta de crecimiento de los hongos levaduriformes en los tanques de almacenamiento. Los tanques de almacenamiento no contienen suficiente AOC para mantener el crecimiento de hongos levaduriformes, con valores de RCL de -33.33 (tanque C) y -104.25/-97.61 (tanque G en los experimentos 2 y 3) para Rhodotorula aurantiaca y de -149.67 (tanque C) y -58.25 (tanque G) para Torulopsis sphaerica. Los tanques de almacenamiento llegaron a un mínimo crecimiento entre 6 y 11 días de iniciado el experimento para Rhodotorula aurantiaca y entre 10 y 15 días para Torulopsis sphaerica. Ambos tanques de almacenamiento presentaron un IM similar para ambas especies (Tabla

21). Las curvas de los pozos de agua y los tanques de almacenamiento son muy similares respecto del crecimiento (o falta de) de hongos levaduriformes.

La figura 25 indica la respuesta de crecimiento de los hongos levaduriformes en las canillas de agua. Las canillas de agua muestreadas no contienen suficiente AOC para mantener el crecimiento de hongos levaduriformes, con valores de RCL de -72.67 (canilla #5), -125.08 (canilla #4) y -86.78 (canilla #6) para Rhodotorula aurantiaca y de -98.33 (canilla #5) y -124.58 (canilla #4) para Torulopsis sphaerica. Las canillas de agua presentan curvas idénticas, con una desaparición de las células levaduriformes entre 5 y 7 días de iniciado el experimento para Rhodotorula aurantiaca y entre 9 y 11 días para Torulopsis sphaerica. Las canillas de agua #5 y #6 exhibieron un IM mayor tanto para Rhodotorula aurantiaca (-142.57 y -161.12, respectivamente) como para Torulopsis sphaerica (-150.14) en la canilla #5, que la canilla #4 (-134.42 para Rhodotorula aurantiaca y -127.75 para Torulopsis sphaerica, Tabla 21). Las curvas de las canillas de agua indican una capacidad mínimas de mantenimiento para los hongos levaduriformes en comparación a cualquier otro sitio dentro del sistema de distribución.

La figura 26 indica la respuesta de crecimiento de los hongos levaduriformes en las bombas de incendio. Las bombas de incendio son los únicos sitios del sistema de distribución que contienen suficiente AOC para estimular el crecimiento de hongos levaduriformes, con valores de RCL de 151.84 (bomba #1), 55.8

Figura 24 - Crecimiento de *R. aurantiaca* y *T. sphaerica* en los tanques de almacenamiento

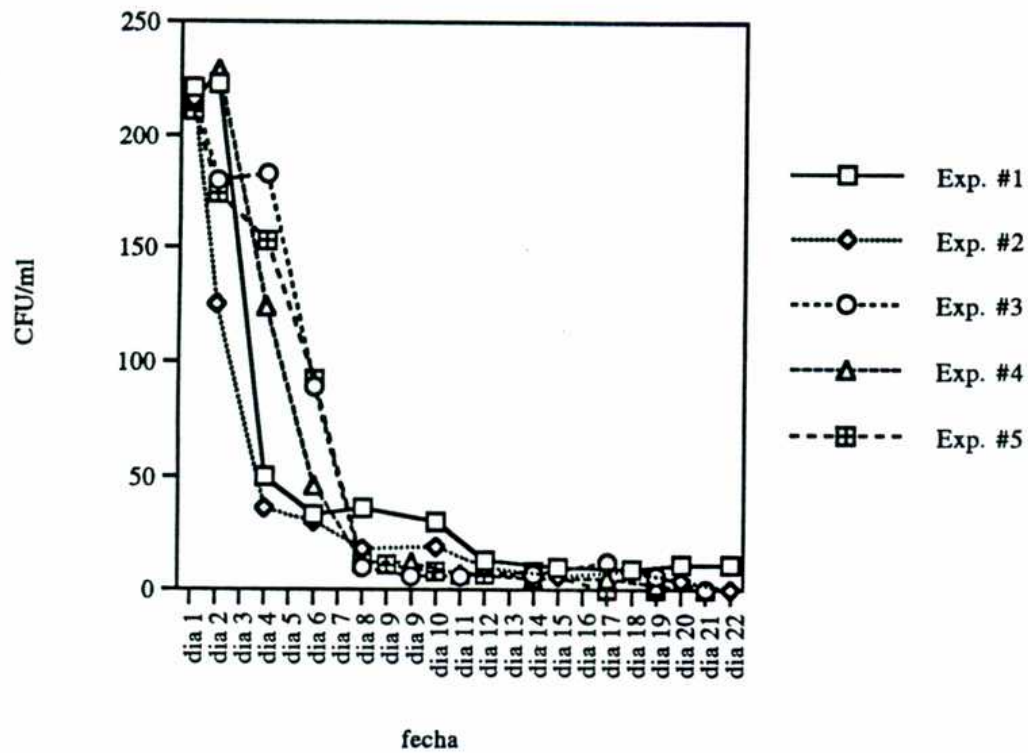


Figura 25 - Crecimiento de *R. aurantiaca* y *T. sphaerica* en las canillas de agua

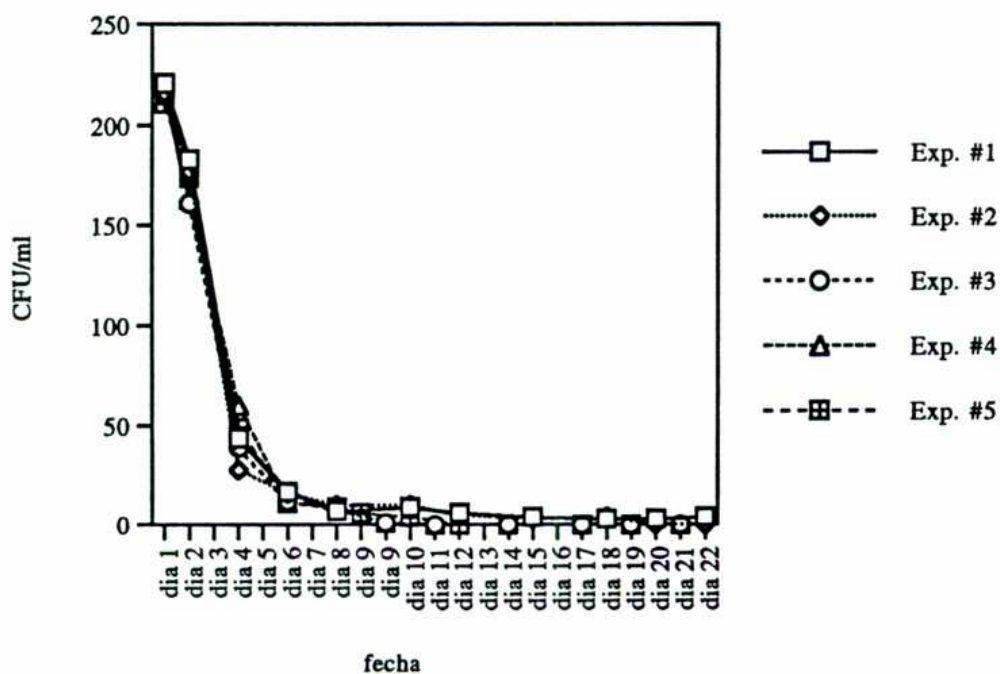
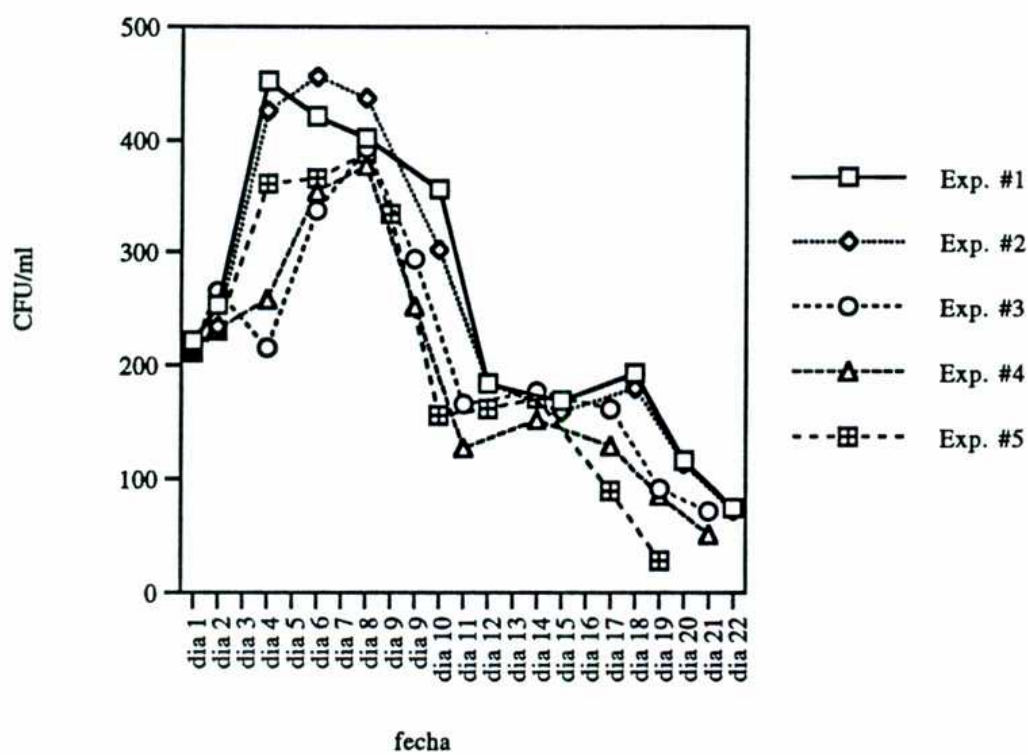


Figura 26 - Crecimiento de R. aurantiaca y T. sphaerica en las bombas de incendio



(bomba #5) y 101.89 (bomba #10) para Rhodotorula aurantiaca y de 164.78 (bomba #1) y 78.52 (bomba #5) para Torulopsis sphaerica. Las bombas de incendio poseen los máximos índices de mantenimiento para ambos hongos levaduriformes, con valores de IM de -52.50 (bomba #1), -53.42 (bomba #5) y -78.89 (bomba #10) para Rhodotorula aurantiaca y -61.47 (bomba #1) y -43.08 (bomba #5) para Torulopsis sphaerica (Tabla 21). Las curvas de las bombas de incendio son similares entre si respecto del crecimiento de hongos levaduriformes, presentando un máximo crecimiento en los primeros 9-10 días de iniciado el experimento, con una declinación a un punto semiestable durante los 10-19 días subsiguientes y una declinación posterior hasta el final del experimento. La bomba de incendio #1 presentó una respuesta de crecimiento mayor para ambos hongos que la bomba #5 ó la bomba #10 para Rhodotorula aurantiaca. En dicha bomba, se logro un  $N_{max}$  más rápido (en los primeros 4 días) que en las otras bombas.

Cuando se comparan los valores entre el crecimiento levaduriforme durante los días 10-19 ( $N_{submax}$ ) con los valores mínimos de los controles (Tabla 22), la bomba #10 es la única que presenta valores negativos, mientras que la bomba #1 y la bomba #5 presentan valores de  $N_{submax}$  positivos.

Rhodotorula aurantiaca presentó un  $N_{submax}$  mayor que Torulopsis sphaerica, en particular en la bomba #5. Los valores de  $N_{submax}$  son indicativos de la capacidad del agua de mantener un crecimiento de hongos levaduriformes por un cierto período de tiempo, por debajo de las condiciones óptimas.

**TABLA 22 - COMPARACION DE VALORES DE CRECIMIENTO DE LA FASE SEMIESTABLE ( $N_{submax}$ ) EN LAS BOMBAS DE INCENDIO COMPARADOS CON EL CRECIMIENTO MINIMO EN EL AGUA CONTROL**

Experimento	Sitio	$N_{submax}$
#1 <u>R. aurantiaca</u>	Bomba #1	+ 34.11
#2 <u>T. sphaerica</u>	Bomba #1	+ 29.64
#3 <u>R. aurantiaca</u>	Bomba #5	+ 33.80
#4 <u>T. sphaerica</u>	Bomba #5	+ 8.03
#5 <u>R. aurantiaca</u>	Bomba #10	- 4.78



## DISCUSION

### A) ESTUDIOS DE CAMPO

#### I. Presencia y frecuencia de hongos en sistemas de distribución.

Los sistemas de distribución de agua potable poseen tanto hongos levaduriformes como mohos filamentosos (69-72). Dichos hongos se hallan en:

- muestras de pozos de agua, tanques de almacenamiento, canillas públicas o privadas, y bombas de incendio;
- en aguas clorinadas ó aguas no tratadas;
- en sistemas de distribución que utilizan aguas subterráneas como en aquellos que usan aguas de superficie y;
- en la superficie de adhesión ("biofilm") de las cañerías de distribución como en el agua corriente (50,69,70).

La Tabla 23 es una lista de los hongos hallados en sistemas de distribución por otros autores.

La frecuencia fúngica, recuento por volumen de agua, normalmente expresada en CFU/50ml, varía en los distintos trabajos publicados (Tabla 24). Las diferencias registradas pueden deberse a factores tales como el origen del agua; los métodos de tratamiento; y/o el protocolo de muestreo. Los géneros más comunmente hallados en los sistemas de distribución de agua potable se enumeran en la Tabla 25. La mayoría de dichos hongos pertenecen a la clase Deuteromycetes u hongos imperfectos, grupo de hongos comunes en suelo.

**TABLA 23. HONGOS HALLADOS EN SISTEMAS DE DISTRIBUCION DE AGUAS**

Bays & Burman (7). Hongos hallados en la superficie de las cañerías y en el agua corriente. Gran Bretaña.

Burman & Colbourne (13). Hongos creciendo en juntas de cañerías y superficies plásticas o pintadas dentro del sistema de distribución. Gran Bretaña.

Dolan & Pipes (17). Hongos creciendo en superficies metálicas dentro del sistema de distribución. E.E.U.U.

Hinzelin & Block (26). Hongos hallados en el sistema de distribución. Francia.

Nagy & Olson (50,51). Hongos levaduriformes y mohos filamentosos hallados en cañerías y en el agua corriente. E.E.U.U.

Niemi et al. (53). Hongos hallados en aguas superficiales desinfectadas para consumo. Finlandia.

Olson & Nagy (56). Hongos levaduriformes y mohos filamentosos hallados en sistemas de distribución. E.E.U.U.

Pass & Liles (58). Hongos en aguas no clorinadas de sistemas de distribución pequeños. E.E.U.U.

Rosenzweig et al. (69-72). Hongos hallados en varias partes del sistema de distribución. Primeros trabajos indicando la posibilidad de que los hongos pueden crecer en el sistema de distribución. E.E.U.U.

Siedler et al. (73). Hongos hallados en tanques de almacenamiento. E.E.U.U.

West (84). Hongos hallados en aguas superficiales tratadas para consumo. E.E.U.U.

TABLA 24. FRECUENCIA DE HONGOS REGISTRADAS POR OTROS AUTORES

Autor	Tipo de muestra	Frecuencia
Nagy & Olson (50,51)	agua de pozo- no clorinada	18 CFU/50ml
Nagy & Olson (50,51)	agua de pozo- clorinada	34 CFU/50ml
Hinzelin & Block (26)	sistema de distribución	2-65 CFU/50ml
Rosenzweig et al. (69-72)	agua de pozo- clorinada	6 CFU/50ml
Rosenzweig et al. (69-72)	agua superficial- clorinada	5 CFU/50ml
West (84)	agua superficial- clorinada	1.5 CFU/50ml

TABLA 25 - GENEROS DE HONGOS COMUNMENTE HALLADOS EN DIFERENTES SISTEMAS DE DISTRIBUCION

Bays et al. (7)	<u>Cephalosporium</u> <u>Verticillium</u>	<u>Phialosphora</u> <u>Trichoderma</u>	<u>Phoma</u>
Nagy & Olson (50,51)	<u>Acremonium</u> <u>Paelomyces</u> <u>Rhodotorula</u>	<u>Cryptococcus</u> <u>Penicillium</u>	<u>Nomurae</u> <u>Sporocybe</u>
Rozenzweig et al. (69-72)	<u>Alternaria</u> <u>Cladosporium</u> <u>Phaeococcus</u> <u>Penicillium</u>	<u>Aspergillus</u> <u>Cryptococcus</u> <u>Rhodotorula</u> <u>Verticillium</u>	<u>Epicoccum</u> <u>Mucor</u>
West (84)	<u>Alternaria</u> <u>Phoma</u>	<u>Cladosporium</u> <u>Rhodotorula</u>	<u>Candida</u>

El presente trabajo es un estudio microbiológico de un sistema de distribución de aguas (Ciudad de Glassboro, estado de Nueva Jersey), realizado con el propósito de obtener información respecto a la población fúngica de dicho sistema. Uno de los objetivos del trabajo fué verificar la presencia de hongos en el sistema de

distribución y obtener datos respecto de su frecuencia. Los resultados hallados en esta parte de trabajo de campo fueron luego utilizados en el laboratorio en el desarrollo de la técnica de bioensayo para la evaluación de la respuesta de crecimiento de hongos levaduriformes (RCL) en aguas potables.

Se hallaron hongos levaduriformes, mohos filamentosos y bacterias heterotróficas en las muestras recolectadas en los diferentes sitios de muestreo (pozos de agua, tanques de almacenamiento, canillas públicas o privadas y bombas de incendio). La presencia y frecuencia de los hongos hallados en este estudio fue similar a los datos obtenidos por otros autores (26,50,53,69,70,71,72,84) para otros sistemas de distribución de agua potable. Los resultados de este estudio incrementan el conocimiento de la población fúngica en los sistemas de distribución y proveen información sobre la colonización y crecimiento de hongos levaduriformes en ciertos sitios dentro del sistema.

## II. Tipos de hongos hallados y su significado

Los hongos hallados en el sistema de distribución de la ciudad de Glassboro pertenecen a la clase Deuteromycetes (Hongos Imperfectos), y fueron tanto hongos levaduriformes como mohos filamentosos.

La lista de los hongos hallados se presenta en la Tabla 7, y es similar a los hongos hallados por otros autores (Tabla 25). Es probable que esporas de otros géneros de hongos se hallen presentes

en el sistema de distribución pero no crezcan en el medio de cultivo utilizado. Dicho medio, SDA, es utilizado comunmente para el crecimiento de especies fúngicas, y es el medio recomendado por varios autores (26,50,58,69,70,72,84) para el aislamiento de hongos en aguas potables.

Los géneros más comunes hallados en este estudio fueron: Chromotorula sp., Rhodotorula aurantiaca y Torulopsis sphaerica dentro de los hongos levaduriformes, y Basipetospora sp., Cephalosporium sp., Hansfordia sp., y Penicillium sp. dentro de los mohos filamentosos. Los hongos levaduriformes predominaron en los pozos de agua y las bombas de incendio. Su presencia en los pozos de agua puede ser un indicio de la fuente de entrada de dichos hongos al sistema. Su presencia en las bombas de incendio puede atribuirse a que la concentración del AOC en dichos sitios promueve el crecimiento de hongos levaduriformes. Esta hipótesis fue corroborada en los estudios de crecimiento realizados en este trabajo.

Los hongos menos comunes al sistema fueron Geotrichum sp. y Monilia sp.. Se hallaron también, con baja frecuencia, 3 tipos de micelio que nunca produjeron elementos reproductivos, y fueron clasificados como "micelios estériles".

La mayoría de los hongos hallados, y en particular los hongos más comunes dentro del sistema, presentaron una distribución homogénea, mientras que los hongos con baja representación, fueron endémicos de ciertos sitios del sistema. Candida pelliculosa, Candida tropicalis, Geotrichum sp., Gilmaniella sp. y Monilia sp.

se hallaron solamente en los pozos de agua. Dactylosporium sp. y Periconiella sp. sólo en los tanques de almacenamiento. Aureobasidium sp. y Streptomyces sp. en las canillas de agua y las bombas de incendio.

El significado de los hongos en los sistema de distribución de aguas incluye:

- la producción de olores ó sabores;
- la presencia de especies patogénicas ó alergizantes;
- la producción de aflotoxinas ó sustancias de contaminación de productos alimenticios;
- el deterioro de las cañerías, y;
- la reducción de la concentración residual del cloro desinfectante con el consiguiente aumento de la población bacteriana en el agua.

Ninguna de las especies halladas en el sistema de distribución de aguas de la Ciudad de Glassboro pertenecen a especies asociadas con la producción de aflotoxinas (72); hongos patogénicos (66,70, 72,84); especies alergizantes (46,49); ó especies que pueden influenciar la contaminación de productos alimenticios (28).

Streptomyces sp., organismo hallado en las canillas de agua y las bombas de incendio, es reconocido como un agente causante de olores y sabores "a tierra" en aguas potables (7,10,47). Las especies de Candida halladas no pertenecen al grupo de especies patogénicas.

La mayoría de los mohos filamentosos con frecuencias altas hallados en este estudio, son los mismos géneros relacionados con

la reducción de los niveles de cloro residual en el agua potable (62). Esto puede influenciar el incremento en la población bacteriana y los problemas asociados con ello. La presencia de hongos en el agua de distribución puede contribuir al incremento de bacterias heterotróficas, dado que las mismas pueden crecer entre la masa micelial, utilizando productos extracelulares producidos por los hongos como sustrato orgánico de crecimiento, ó protegiéndose contra la acción desinfectante del cloro. Los resultados de este estudio indican una correlación significativa entre los hongos y las bacterias heterotróficas tanto en las canillas de agua como en las bombas de incendio, validando lo mencionado anteriormente.

### III. Origen de los hongos en el sistema de distribución.

La presencia de hongos en diferentes partes del sistema, y su frecuencia relativa, es una indicación de que el cloro residual mantenido dentro del sistema como mecanismo de desinfección no es suficiente para inactivar los hongos, como ya ha sido mencionado por otros autores (62,70,71).

Se pueden postular dos hipótesis con respecto al origen de los hongos en el sistema de distribución. La primera, que los hongos atraviesan sin ser afectados las barreras de desinfección provistas a la altura de los pozos de agua. La segunda, que los hongos son introducidos en otros sitios del sistema. Este estudio provee evidencias de que los hongos pueden tanto atravesar las barreras de desinfección, entrar al sistema en otros sitios, como, además,

sugiere la posibilidad de que los hongos colonizan y crecen en el sistema de distribución. Esto último pudo ser corroborado en los experimentos de crecimiento.

El análisis de la presencia y frecuencia de hongos en los pozos de agua antes y después de la adición de cloro muestra que no hay diferencias significativas, sugiriendo que el cloro no es una barrera eficiente para la eliminación de esporas o micelios fúngicos. Esto coincide con lo ya señalado por otros autores (58,62,71), y sugiere que los pozos de agua son una entrada de hongos al sistema de distribución.

El pozo #6 presentó consistentemente un número mayor de muestras positivas (presencia de hongos) después de la adición de cloro. Esto puede deberse a que en dicho pozo se agregan compuestos fosfatados como anticorrosivos de cañerías. Herson et al. (24) demostraron que los compuestos fosfatados inducen el crecimiento de bacterias heterotróficas. Dicho fenómeno puede ser el caso para las colonias fúngicas, aunque tal correlación no se observó para las bacterias heterotróficas en dicho pozo.

Los datos de este estudio indican, cuando se agrupan los sitios sobre la base del porcentaje de muestras positivas, un incremento en la presencia de hongos desde los pozos de agua hacia las canillas y tanques de almacenamiento, con una presencia máxima en las bombas de incendio. Dichos resultados (bombas > tanques canillas > pozos) coinciden con lo hallado por otros autores (69-72) en diferentes sistemas de distribución. El mismo patrón se observa cuando se agrupan los sitios sobre la base del número de



hongos (frecuencia), con la excepción de que los pozos de agua presentan una frecuencia mayor que los tanques de almacenamiento.

Las bombas de incendio son los sitios del sistema que presentan la mayor presencia y frecuencia de hongos. Esto sugiere que dichos sitios poseen las condiciones necesarias para la colonización y crecimiento de los hongos una vez que los mismos entran al sistema. Esta hipótesis se corroboró con los estudios de crecimiento.

Los sitios de entrada de hongos a los sistemas de distribución indicados por otros autores (11,26,50,69,72) son:

- los pozos de agua,
- la interfase agua-aire en los tanques de almacenamiento, ó
- por contaminación durante la reparación o conexión de nuevas cañerías al sistema de distribución.

Los pozos de agua del sistema de distribución de la Ciudad de Glassboro son los sitios que presentan la mayor diversidad (diferentes géneros) de hongos. Esto es indicativo de que los pozos de agua proveen una entrada para especies fúngicas que no sobreviven en la red de distribución.

Nuestros datos también indican que la interfase aire-agua en los tanques de almacenamiento puede ser una fuente de entrada al sistema de distribución, dado que dichos sitios de muestreo presentan especies únicas, que no se hallan dentro del sistema y son los segundos en relación con la presencia de hongos.

Por otro lado, los datos sugieren que la contaminación de cañerías no parece ser una fuente de entrada de hongos al sistema. La canilla #3 se halla en una zona de la Ciudad de Glassboro de

alta construcción de casas nuevas, con cañerías adicionales que se agregan al sistema constantemente. Dicha canilla presentó un alto número de bacterias heterotróficas pero no de hongos.

#### IV. Diferencias entre las muestras en los distintos puntos del sistema.

Las observaciones y resultados de los estudios de campo indican que:

- 1) muestreos de sitios aislados dentro del sistema de distribución sólo proveen información parcial respecto a los hongos presentes y su frecuencia;
- 2) las bombas de incendio están asociadas con el mayor número de hongos;
- 3) no hay correlación entre la presencia de hongos y otros parámetros muestreados dentro del sistema de distribución; y
- 4) los hongos crecen en ciertas áreas del sistema de distribución.

Los resultados obtenidos en los distintos sitios de muestreo difieren tanto en la presencia (número de muestras positivas) como en la frecuencia (número de hongos presentes en CFU/50ml) de hongos. Los sitios del sistema que presentaron el mayor promedio de muestras positivas y el mayor recuento de hongos fueron las bombas de incendio, seguidos por las canillas de agua. Los sitios que presentaron el menor promedio de muestras positivas fueron los pozos de agua y los de menor frecuencia los tanques de almacenamiento.

La concentración de cloro se mantuvo constante en el sistema de distribución, y no se halló una correlación significativa entre el cloro residual y la población fúngica.

Los pozos de agua fueron los únicos puntos del sistema que presentaron una variación significativa entre sí respecto a la presencia y frecuencia fúngica. Esto puede ser atribuído al hecho de que ciertos pozos son poco utilizados por el sistema, permitiendo la acumulación de materia orgánica que facilita el crecimiento fúngico. La acumulación de materia orgánica en ciertas bombas de incendio, debido a que no se enjuagaron ("flushed") por varios meses, se vio reflejada en la alta frecuencia de ciertas especies fúngicas en dichos sitios de muestreo.

La concentración de materia orgánica en muestras de pozos de agua, canillas ó bombas de incendio provee una posible explicación de las diferencias entre muestras con alta frecuencia de hongos comparadas con otras de baja frecuencia el mismo día de recolección.

La alta frecuencia en los pozos de agua puede ser fácilmente atribuída a la contaminación del agua con especies de hongos de suelo que habitan las napas de donde el agua es bombeada.

La alta frecuencia en las canillas se atribuye generalmente a que las mismas se encuentran en zonas de alta construcción con remoción de la película de adhesión ("biofilm") ó en zonas terminales ("dead-ends") del sistema con poca remoción del agua lo que induce a un incremento del biofilm donde los hongos se ven protegidos de la acción desinfectante del cloro.

Las muestras de canillas en zonas de alta construcción de casas nuevas en la Ciudad de Glassboro respecto a las muestras de canillas de zonas establecidas dentro de la red de distribución, indican un alto número de bacterias heterotróficas (HPC) pero no así de hongos. Esto puede ser indicativo que la alteración del biofilm no incrementa el número de células fúngicas en el agua corriente.

Solamente la canilla #4 se halla en una zona terminal ("dead-end") del sistema. Esto puede contribuir a la concentración de Hansfordia sp y Penicillium sp. durante los meses de Septiembre y Octubre, pero no explica el alto contenido de Penicillium sp. en la canilla #5 durante el mes de Septiembre o la aparición del alto número de Aureobasidium sp. en la canilla #6 en el mes de Octubre. Una posible explicación es que en las canillas mencionadas la cantidad de AOC presente facilita el crecimiento de los hongos hallados. Dicha hipótesis no fue comprobada en los experimentos de crecimiento.

El agua en las bombas de incendio se halla estancada por largos períodos de tiempo, a menos que las bombas se abran y enjuaguen. Dicho enjuague se realiza de acuerdo con un plan de limpieza de la Municipalidad de la Ciudad de Glassboro. Ciertas bombas de incendio, #2 y #6, debido a la falta de operadores, no se enjuagaron por períodos de tiempo de hasta 6 meses. Esto favorece la concentración de materia orgánica, lo que provee un substrato de crecimiento para los hongos, y además los protege de la acción desinfectante del cloro.

No hubo crecimiento fúngico en aproximadamente la mitad (54%) de las muestras del sistema de distribución. Del resto, 35% presentaron pocos hongos (1-5 CFU/50ml) y 11% muchos hongos (más de 5 CFU/50ml). Recuentos de hasta 30 CFU/50ml para una especie en particular se obtuvieron en ciertos sitios de muestreo. Recuentos tan numerosos en ciertas partes del sistema de distribución en fechas particulares de muestreo sugieren que esporas adventicias ó fragmentos miceliales que entran al sistema ya sea en el agua de pozo ó por la fase agua-aire de los tanques de almacenamiento, tienen la potencialidad de crecer en el mismo. La segunda parte de este trabajo es un intento de demostrar la posibilidad del crecimiento de hongos en el sistema de distribución.

Los datos obtenidos indican una tendencia al incremento de hongos durante los meses de Mayo-Agosto (verano), cuando las temperaturas del sistema son óptimas (21-22°C) para el crecimiento fúngico.

La presencia de hongos en el sistema de distribución no parece estar influenciada por los factores fisico-químicos muestreados, y no se halló una correlación significativa entre ellos. Dichos resultados pueden deberse a la limitada variación de dichos parámetros, lo que impone un error estadístico en el test de correlación.

Las correlaciones entre los hongos y las bacterias heterotróficas en el sistema de distribución muestran una regresión lineal positiva en las canillas de agua y en las bombas de incendio. Esto sugiere que la presencia de un grupo de

microorganismos influencia la presencia del otro, ya sea protegiéndolo de la acción desinfectante del cloro en la película de adhesión ("biofilm") o contribuyendo significativamente a la producción de AOC.

Los datos de bacterias heterotróficas (HPC) indican una diferencia significativa en su distribución en las muestras de canillas y bombas de incendio. En dichas muestras, así como en los tanques de almacenamiento, existe una correlación significativa entre el HPC y la temperatura. Otros parámetros (cloro, pH) no se correlacionan significativamente con la distribución bacteriana.

Los datos del análisis de varianza para el sistema de distribución en su totalidad, indican diferencias significativas tanto en la presencia de hongos como de bacterias. Dichos datos respaldan la hipótesis de que muestreos en sitios particulares del sistema de distribución no son representativos del sistema en su totalidad. Cuando se analiza un sistema de distribución de agua potable para entender la flora microbiológica del mismo se deben realizar muestreos tanto espaciales como temporales.

## B. ESTUDIOS DE LABORATORIO

### I. Respuesta de crecimiento levaduriforme (RCL) como técnica de bioensayo.

Los principales objetivos del desarrollo de una técnica de bioensayo para determinar el crecimiento de hongos levaduriformes en aguas potables fueron:

- analizar por primera vez si los hongos levaduriformes pueden crecer en el ambiente oligotrófico del agua potable; y
- desarrollar una técnica de bioensayo sencilla que pueda ser utilizada por la industria del agua en forma rutinaria como estimación del AOC, sin la necesidad de equipos costosos y tiempo de experimentación.

Uno de los beneficios logrados con esta técnica de bioensayo fué eliminar el tiempo utilizado en la estimación de la producción de crecimiento ("yield"), método dificultoso en la obtención de resultados consistentes en el análisis del AOC. El desarrollo de esta técnica de bioensayo en base a la respuesta de crecimiento levaduriforme (RCL) permitió la determinación del potencial de crecimiento de los hongos levaduriformes en el agua potable de una manera simple y rápida.

Investigaciones previas de métodos para el cálculo de AOC (20,29,31,33,40,61,74,75,79,80,81,83) en agua superficiales y de consumo indican:

- 1) variaciones en las mediciones;
- 2) dificultades para obtener valores de AOC;

- 3) dificultades en las correlaciones entre los valores de AOC del agua experimental y los compuestos orgánicos utilizados como controles para determinar la producción de crecimiento ("yield");
- 4) problemas asociados en la consideración del carbono orgánico como única fuente de crecimiento ó factor limitante; y
- 5) interpretación de la biodegradación limitada de ciertos compuestos orgánicos en el agua.

Ciertas condiciones se estipularon en la evaluación de la respuesta de crecimiento levaduriforme (RCL). Dichas condiciones incluyen el uso de hongos levaduriformes en fase de crecimiento exponencial, lavados lo suficiente como para que no exista en el inóculo medio de cultivo residual, é incubados en el agua de experimentación por un período de 10-20 días, a 20-22°C de temperatura para poder compararlo al crecimiento en aguas de control con concentraciones bajas de AOC ( $< 10 \mu\text{g/L}$ ).

La técnica de bioensayo desarrollada se definió como un parámetro operacional. Las botellas (BOD) de incubación no son un verdadero análogo del sistema de distribución en términos de material, velocidad de corriente del agua, presión ejercida en las células fúngicas por el raspado contra las cañerías, tiempo de permanencia en el sistema de distribución, ó relación superficie/volumen. Independientemente de los factores mencionados anteriormente, si esta técnica de bioensayo se estandariza en cuanto a las botellas de incubación, la preparación del agua de experimentación y del agua de control, la temperatura de



incubación, el inóculo (tipo y cantidad del organismo usado), y el procedimiento de enumeración de dicho organismo (relación entre el agua experimental y de control en  $N_{max}$ ), se pueden obtener valores reproducibles del crecimiento de los hongos levaduriformes en las diferentes partes del sistema, y su correlación con el AOC presente.

La ventaja del uso de botellas de BOD en la técnica de bioensayo incluye la reducción de la cantidad de agua usada en los experimentos, la reducción del precio de los materiales de vidrio, la reducción del espacio requerido para la incubación de las muestras, y la posibilidad de incrementar la duplicación de muestras con el consecuente beneficio estadístico.

Los datos comparativos de recuento indican que la enumeración de células viables en cajas de petri, en CFU/ml, está subestimada en comparación al número real de células contadas con microscopio óptico, pero el recuento usando cajas de petri es una técnica simple, rápida y más barata que los recuentos directos bajo microscopía óptica. El recuento directo de células bajo microscopía óptica presenta, en general, valores más altos dado que las poblaciones de hongos levaduriformes en estado estacionario ( $N_{max}$ ) pueden contener un alta proporción de células muertas que no se distinguen de las células vivas bajo microscopía óptica simple. El incremento de la densidad del inóculo contribuye a la reducción del tiempo requerido para que los hongos levaduriformes alcancen  $N_{max}$ . Van der Kooij et al. (79,81,83) originalmente recomiendan inóculos de 500 CFU/ml para el crecimiento de bacterias

heterotróficas, que alcanzan  $N_{max}$  entre 5 a 20 días. Dado que los hongos levaduriformes poseen un crecimiento más lento que las bacterias heterotróficas, el incremento en el inóculo facilitó que los cultivos llegaran a  $N_{max}$  entre 2-3 días de iniciado el experimento en el agua de control, y entre 4-6 días en las bombas de incendio (único sitio del sistema que tuvo una respuesta positiva para el crecimiento levaduriforme).

El uso del número promedio de CFU/ml durante la fase de crecimiento estacionario, en lugar del valor de  $N_{max}$  alcanzado el primer día en dicha fase de crecimiento, reduce la variabilidad de la técnica de bioensayo. El uso de un valor único de  $N_{max}$  enfatiza los valores estadísticos de contorno, mientras que el valor promedio de los recuentos durante la fase estacionaria permite el análisis de replicación por un período de varios días.

Ciertas suposiciones teóricas subyacen al desarrollo de la técnica de bioensayo más allá de las consideraciones prácticas de la misma. Cuando se trata de establecer una relación entre la densidad celular y el AOC del agua (31,32,33,80,81,82), dicha relación no es siempre lineal. La desviación de la linealidad de la correlación sugiere que el carbono puede no ser el único nutriente limitante, y las técnicas desarrolladas con base en mediciones de AOC usando acetato como fuente de carbono control en vez de agua comercial, pueden incurrir en errores de medición. Uno de tales errores es suponer que la producción de crecimiento ("yield") del organismo de bioensayo en acetato es equivalente a la producción de crecimiento ("yield") del organismo en el AOC natural

del agua potable. Las consideraciones teóricas de la técnica de bioensayo de esta tesis doctoral respecto a la correlación entre el AOC natural y el del agua de control, se basó en evaluar la medición de carbono orgánico como masa levaduriforme. Cuando un organismo heterotrófico, como los hongos levaduriformes utilizados en el experimento, transporta carbono orgánico a través de la pared celular, parte del mismo es respirado, parte es excretado como exceso, y el resto es incorporado dentro del material celular para crecimiento y reproducción. La relación del recuento de células (incremento en número = reproducción del organismo) entre el agua de control y el agua experimental provee una estimación del carbono asimilable (AOC) disponible para el crecimiento y la reproducción, reflejado en un mayor número de células.

Mientras quede claro que los valores de respuesta de crecimiento generados son un valor operacional de comparación, y no un valor absoluto de la cantidad de AOC en el agua, esta técnica de bioensayo es un procedimiento aceptable y expeditivo. Hasta el presente no hay otro método disponible que pueda ser utilizado en la industria del agua en forma masiva sin incurrir en esfuerzos costosos en cuanto a personal técnico, equipos o espacio de laboratorio.

Otros factores, aparte de los ya mencionados, se asumieron en el desarrollo de esta técnica de bioensayo. Primero, que el agua a ser analizada no inhiba el crecimiento del organismo utilizado en la técnica de bioensayo; y segundo, que dicho organismo represente la capacidad metabólica de la microflora del sistema de

distribución. Para ello se utilizaron como organismos de bioensayo hongos levaduriformes endémicos de dicho sistema. Se utilizaron dos especies comunmente halladas en los pozos de agua, Rhodotorula aurantiaca y Torulopsis sphaerica. Se recomienda para el uso de esta técnica de bioensayo la utilización de especies endémicas del sistema de distribución, para una mejor evaluación del mismo. Los trabajos previos de mediciones de AOC para bacterias heterotróficas (31,32,40,80,81,83) utilizan Pseudomonas aeruginosa como organismo de bioensayo, sin tener en cuenta si dicha especie es o no endémica del sistema.

Evidentemente, muchos interrogantes quedan aún sin responder respecto a las condiciones metabólicas de la flora nativa de un sistema de aguas y su uso como inóculo de bioensayo. Entre ellos, que la técnica de bioensayo utiliza una sola especie y no tiene en cuenta las interacciones interespecíficas que se generan en un sistema natural de aguas.

## II. Resultados generales

La técnica de bioensayo desarrollada en este trabajo demuestra ser aplicable a diferentes tipos de aguas recolectadas dentro del sistema de distribución (pozos, tanques de almacenamiento, canillas, bombas de incendio).

Una respuesta positiva en el crecimiento levaduriforme indica que la muestra de agua contiene suficiente AOC (compuestos de carbono capaces de ser asimilados por los microorganismos) como para inducir el crecimiento levaduriforme. Una respuesta negativa

indica que los sitios de muestreo no estimulan el crecimiento de hongos levaduriformes. La técnica de bioensayo diseñada no mide la concentración exacta de AOC, pero permite deducir conclusiones sobre el crecimiento relativo de los hongos levaduriformes en diferentes tipos de agua.

Ambos hongos levaduriformes utilizados durante los experimentos presentaron valores (en CFU/ml) consistentes, corroborando la validez de la respuesta de crecimiento levaduriforme (RCL) evaluada con la técnica de bioensayo desarrollada en esta tesis. Ampliamente documentado (26,50,58,69,70,72,84) es el uso de SDA como medio de cultivo para hongos levaduriformes, y fué considerado como medio apropiado para los recuentos en esta técnica de bioensayo.

Ambos hongos levaduriformes presentaron una respuesta de crecimiento (RCL) similar, indicando la estabilidad biológica de dichos organismos en respuesta al umbral de nutrientes en un tipo de agua en particular. Esto es también indicativo de la factibilidad de la técnica de bioensayo de ser aplicada como medida correlativa del AOC y del umbral mínimo de nutrientes en una muestra de agua determinada.

Los resultados de los experimentos de crecimiento indican que las bombas de incendio son los únicos sitios del sistema de distribución de la Ciudad de Glassboro que poseen un contenido de nutrientes suficiente como para permitir el crecimiento de hongos levaduriformes. Dichos resultados son indicativos del potencial de crecimiento en aguas con poco movimiento que permiten la

acumulación de materia orgánica como fuente de nutrientes.

El hecho de que ambos hongos levaduriformes no crecieran en el resto de las muestras analizadas, es indicativo de la baja concentración de nutrientes en dichos sitios del sistema.

### III. Importancia del crecimiento de hongos en aguas de consumo

La habilidad de Rhodotorula aurantiaca y Torulopsis sphaerica de crecer en las aguas examinadas fue de gran interés y es la primera vez que se demuestra en un trabajo de investigación. La presencia de hongos levaduriformes en aguas potables, en particular aquellos que presentan problemas desde un punto de vista patogénico, requiere una acción inmediata por parte de la municipalidad afectada. La habilidad de los hongos levaduriformes de crecer en condiciones de bajo contenido de nutrientes como las halladas en el agua potable, genera interrogantes respecto de la ecología de dichos organismos, y de la efectividad del tratamiento de las aguas para consumo.

Los resultados de este estudio son de alta aplicación en la industria del agua potable. Este estudio confirma trabajos previos (62,70,71) de que la mera presencia de cloro como desinfectante residual no es adecuada para prevenir el crecimiento microbiológico en los sistemas de distribución de aguas. Los requerimientos nutricionales de ciertos hongos levaduriformes (como también se ha demostrado para bacterias heterotróficas y bacterias coliformes) son satisfechos en los ambientes oligotróficos del agua potable. El uso de la técnica de bioensayo de respuesta de crecimiento

levaduriforme (RCL) propuesta en esta tesis doctoral provee un instrumento útil para determinar si una cierta muestra de agua posee las condiciones necesarias para el crecimiento de hongos levaduriformes. Esta técnica de bioensayo puede ser también utilizada para evaluar los efectos del proceso de tratamiento del agua y la estabilidad biológica y el estado nutricional de la misma. En particular, tratamientos tales como ozonación, oxidantes fuertes, o filtrado con carbono granular activado biológicamente.

La técnica de bioensayo propuesta en esta tesis doctoral fue diseñada como instrumento de evaluación del estado nutricional del agua potable. Dicho estado es solamente uno de los muchos factores que afectan el crecimiento de los microorganismos en el agua de consumo. Otros factores importantes, tales como temperatura, tipo de tratamiento, velocidad del agua, tiempo de retención en las cañerías, y concentración y tipo de desinfectantes, deben ser evaluados cuando se determina la estabilidad biológica del agua potable. Algunos de dichos parámetros fueron evaluados en forma general en este estudio.

Aun hoy están pobremente comprendidas las interacciones entre los diferentes componentes presentes en el agua potable, que pueden contribuir al crecimiento de los hongos levaduriformes. Por lo tanto, debe analizarse más profundamente el rol atribuido al AOC como uno de los factores más importantes para el crecimiento de los microorganismos.

De acuerdo con los experimentos llevados a cabo en este estudio, la estimación de la respuesta del crecimiento de hongos levaduriformes (RCL) puede considerarse una herramienta de investigación importante para entender los problemas de crecimiento de hongos en sistemas de distribución, y permitir en el futuro mejores estrategias para mantener la calidad de aguas de consumo. El análisis de la respuesta de crecimiento levaduriforme (RCL) permitirá distinguir entre problemas de desinfección, tratamiento ó movimiento del agua potable dentro del sistema de distribución. Una solución a los problemas del crecimiento de microorganismos en aguas potables es mantener un balance entre el tratamiento del agua, la velocidad de distribución, y los niveles mínimos de desinfección. Técnicas de bioensayo simples como la propuesta en este trabajo, pueden ayudar a entender el balance necesario entre dichos componentes.

La industria del agua potable es consciente de los posibles beneficios de diseñar procesos de tratamiento de aguas que reduzcan las concentraciones de nutrientes que favorecen el crecimiento de los microorganismos. Proveerle a dicha industria de una técnica fácil, sencilla y económica para evaluar la potencialidad del crecimiento de hongos en el agua potable puede ser de alto valor económico y sanitario.



## CONCLUSIONES

Los sistemas de distribución y el agua potable contenida en ellos no son ambientes estériles. La mayoría de las investigaciones microbiológicas del agua potable se refieren a la presencia de bacterias, tanto en el agua corriente como en la película de adhesión a las cañerías ("biofilm"). Las investigaciones respecto de la presencia de hongos en sistemas de distribución de aguas es un campo muy reciente y poco conocido en la industria del agua potable.

Cuando se estudia un ambiente, cualquiera sea el mismo, para la identificación de sus componentes microbiológicos, la selección de técnicas de recuperación, las condiciones de cultivo, y los sitios particulares de muestreo, influyen en la determinación de los organismos presentes en dicho ambiente. Dichos criterios se aplican cuando se pretende estudiar la composición microbiológica de los sistemas de distribución de agua potable. Los microorganismos que pueden ser hallados en las muestras de agua son aquellos liberados al agua corriente de la película de biofilm, aquellos que sobreviven a la acción desinfectante del cloro, o aquellos que atraviesan los puntos de entrada al sistema.

La información provista por las investigaciones de campo de este estudio, indica que muestreos de sitios aislados en sistemas de distribución de aguas es solamente parcial respecto de la población microbiológica del sistema. El contenido microbiológico de los pozos de agua, los tanques de almacenamiento, las canillas

públicas o privadas y las bombas de incendio difirieron significativamente tanto en la presencia, frecuencia y especies de hongos hallados. Esta tesis doctoral provee datos que verifican la presencia de hongos en sistemas de distribución de aguas, y su relativa frecuencia e identidad.

Las investigaciones de campo indican que los pozos de agua son una fuente de entrada de hongos al sistema de distribución, y las concentraciones de cloro utilizadas por la Municipalidad de la Ciudad de Glassboro no actúan como una barrera de inactivación. Los datos también sugieren que los hongos crecerían en ciertas partes del sistema, en particular en áreas donde el agua se mantiene estancada y permite una acumulación de materia orgánica. Esto fue comprobado para las bombas de incendio. Los estudios de crecimiento de hongos levaduriformes apoyan las conclusiones obtenidas en los estudios de campo.

Se desarrolló una nueva técnica de bioensayo para los estudios de crecimiento de hongos levaduriformes. Esta técnica permite una estimación del potencial de crecimiento de hongos levaduriformes en diferentes sitios del sistema de distribución. La respuesta de crecimiento levaduriforme (RCL) se basa en una comparación del promedio de células en  $N_{max}$  de la muestra versus el promedio de células en  $N_{max}$  del agua de control. El agua de control es agua comprada comercialmente con un valor conocido de AOC, valor mínimo estipulado para el mantenimiento de microorganismos. La técnica de bioensayo desarrollada en esta tesis es simple, económica y reproducible. Se basa en las suposiciones teóricas de que

diferentes fracciones de carbono pueden ser asimiladas por los organismos y traducidas en material orgánico de crecimiento y reproducción, y que tal asimilación representa la capacidad metabólica de dichos organismos. Para convalidar dicha técnica de bioensayo, se utilizaron hongos levaduriformes pertenecientes a la flora endémica del agua del sistema de distribución.

Los estudios realizados en este trabajo sirven como base para la formulación de varias hipótesis o interrogantes para futuras investigaciones, como así mismo la factibilidad de aplicar técnicas de bioensayo simples y económicas en la industria del agua.

Parte de los futuros interrogantes incluyen:

- qué propiedades de las esporas fúngicas los protegen de la acción desinfectante del cloro?;
- cuáles son las interacciones de los nutrientes limitantes y el crecimiento de hongos en los sistemas de distribución?;
- qué combinación de la concentración del AOC y del cloro residual permiten una limitación efectiva del crecimiento de los hongos?;
- cuál es el patrón de crecimiento de los mohos filamentosos hallados en aguas de consumo?;
- cómo se comparan los diferentes sistemas de distribución respecto al crecimiento de hongos?.

El desarrollo de una técnica de bioensayo simple como la generada en este trabajo, puede proporcionar a la industria del agua potable un mecanismo sencillo y económico para evaluar la potencialidad del crecimiento de microorganismos en los sistemas de distribución de aguas, y la importancia sanitaria de la misma.

## BIBLIOGRAFIA

- (1) Ainsworth, G., F. Sparrow, & A. Sussman. 1973. The Fungi, An Advanced Treatise. Vol. IV. A Taxonomic Review with Keys: Ascomycetes and Fungi Imperfecti. Academic Press, N.Y. 621 pp.
- (2) Allen, M.J. & E.E. Geldreich. 1978. Distribution line sediments and bacterial regrowth. Proc. Water Quality Tech. Conf. A.W.W.A :217.
- (3) Allen, M.J., H. Taylor, & E. Geldreich. 1980. The occurrence of microorganisms in water main encrustation. Jour. A.W.W.A. 72:614-625.
- (4) American Public health Association. 1992. Standard Method for the Examination of Water and Wastewater. 18th Ed. Washington, D.C.
- (5) Barnett, H. & B. Hunter. 1972. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 3rd. Ed. Burgess Pub. Co. Minn., 242 pp.
- (6) Batik, O., G. Craun, & W. Pipes. 1983. Routine Coliform Monitoring and Waterborne Disease Outbreaks. J. Env. Health 45:227-230.
- (7) Bays, L.R., N.P. Burman, & W.M. Lewis. 1970. Taste and Odour in Water Supplies in Great Britain. A Survey of the Present Position and Problems for the Future. Water Treat. Exam. 19: 136-160.

- (8) Berg, J.D., A. Martin, & P.V. Roberts. 1981. Growth of disinfection-resistant bacteria and simulation of natural aquatic environments in the chemostat. pp. 219-243. In: R.L. Jolley et al. Water Chlorination, Chemistry, Environmental Impact and Health Effects. Lewis Pub., Inc. Chelsea, MI.
- (9) Bourbigot, M.M., A. Dodin, & R. Lherritier. 1982. Limiting bacterial aftergrowth in distribution systems by removing biodegradable organic. Proc. A.W.W.A. Annual Conf. 110-113.
- (10) Burman, N. 1965. Symposium of Consumer Complaints. Taste and Odor due to Stagnation and Local Warming in Long Pipes. Water Treat. 19: 136-160.
- (11) Burman, N.P. 1973. The occurrence and significance of actinomycetes in water supply. pp. 219-230. In Sykes, G. and F.A. Skinner, Ed. Actinomycetales; characteristics and practical importance. Academic Press, N.Y.
- (12) Burman, N.P. & S. Colbourne. 1977. Technique for the assessment of growth of microorganisms on plumbing materials used in contact with potable water supplies. Appl. Bacteriol. 43:137-141.
- (13) Burman, N. & J. Colbourne. 1979. Effect on Non-Metallic Materials on Water Quality. J. Inst. Water Eng. Scien. 33:11-18.

- (14) Characklis, W.G., D. Goodman, W.A. Hunt & G.A. McFeters. 1988. Bacterial Regrowth in distribution systems. A.W.W.A. Research Foundation.
- (15) Christian, R.R. & W.O. Pipes. 1983. Frequency distribution of coliforms in water distribution systems. Applied and Env. Microbiology 45:603-609.
- (16) Donlan, R.M. 1987. An Investigation of biofilm developing on cast iron surfaces exposed in drinking water mains. Doctoral Thesis. Environmental Studies Institute, Drexel University, Philadelphia, PA.
- (17) Donlan, R.M. & W.O. Pipes. 1988. Selected Water Characteristics and Attached Microbial Population Density. Proc. Water Qual. Tech. Conf. A.W.W.A :70-76.
- (18) Earnhardt, K.B. 1980. Chlorine resistance coliforms - The Muncie-Indiana Experience. Proc. Water Qual. Tech. Conf. A.W.W.A. :111-114.
- (19) El-Shaarawi, A., S. Esterby, & B. Dutka. 1981. Bacterial density in water determined by binomial distributions. Appl. Env. Micro. 41:107-116.
- (20) Gaidish, T.J., R.L. Calderon, & J.G. Grochowski. 1987. Assimilable Organic Carbon determinations in different source waters and water supply treatments. N-31. Abst. Ann. Met. Amer. Soc. Microb. :249.
- (21) Gerba, C. & J. Rose. 1990. Viruses in Source and Drinking Water. Chap. 18, pp. 380-396. In: Drinking Water Microbiology. G. McFeter Ed., Springer-Verlag, N.Y.

- (22) Goshko, M., W. Pipes, & R. Christian. 1983. Coliform occurrence in small water distribution systems. Journ. Am. Water Works Assoc. 75(7):372-378.
- (23) Grant, W.D. & P.E. Long. 1981. Environmental Microbiology. John Wiley and Sons. Inc., N.Y.
- (24) Herson, D.S., D.R. Marshall & H.T. Victoreen. 1984. Bacterial persistence in the distribution system. Proc. Water. Qual. Tech. Conf. A.W.W.A. :205-212.
- (25) Hibler, C. & C. Hancock. 1990. Waterborne Giardiasis. Chap. 13, pp. 271-293. In: Drinking Water Microbiology. G. McFeter Ed., Springer-Verlag, N.Y.
- (26) Hinzelin, F. & J.C. Block. 1985. Yeast and Filamentous Fungi in Drinking Water. Environ. Tech. Lett. 6:101-106.
- (27) Hudson, L., J. Hankins, & M. Battaglia. 1983. Coliforms in water distribution systems. Journ. Am. Water Works Assoc. 75: 564-568.
- (28) Jay, J. 1986. Sources, Types, Incidence, and behavior of Microorganisms in Foods. Chap. 2, pp. 27-32. In: Modern Food Microbiology. Van Nostrand Reinhold Co. N.Y.
- (29) Joret, J.C. & Y. Levy. 1986. Methode rapide d'evaluation du carbone eliminables des eaux par voie biologique. Tribune de Cebedeau 39:3-9.
- (30) Kaplan, L.A. 1993. Assimilable Organic Carbon. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 17th Ed. American Public Health Assoc., Inc.



- (31) Kaplan, L. & T. Bott. 1989. Measurements of assimilable organic carbon in water distribution systems by a simplified bioassay technique. In Proc. Amer. Water Work Assoc. Water Quality Tech. Conf., St. Louis, Mo.
- (32) Kaplan, L., T. Bott, & D. Reasoner. 1993. Evaluation and simplification of the Assimilable Organic Carbon nutrient bioassay for bacterial growth in drinking water. Appl. Env. Microb. 59(5):1532-1539.
- (33) Kaplan, L., D. Reasoner, E. Rice, & T. Bott. 1992. A survey of assimilable organic carbon, biodegradable dissolved organic carbon, and coliform growth response in U.S. drinking waters. Rev. Sci. Eau 5:207-224.
- (34) Kuznetsov, S.I., G.A. Dubina & N.A. Leptera. 1979. Biology of oligotrophic bacteria. Ann. Rev. Microb. 33:377-387.
- (35) Lamka, K., M. LeChevallier, & R. Seidler. 1980. Bacterial Contamination of Drinking Water Supplies in a Modern Rural Neighborhood. App. Env. Micro. 39:734-738.
- (36) LeChevallier, M.W., T.M. Babock & R.G. Lee. 1987. Examination and characterization of distribution system biofilm. App. Environ. Microb. 53:2714-2724.
- (37) LeChevallier, M.W., C.D. Cawthon & R.G. Lee. 1988a. Factors promoting survival of bacteria in chlorinated water supplies. App. Envir. Micro. 54:649-654.

- (38) LeChevallier, M.W., C.D. Cawthon & R.G. Lee. 1988b. Inactivation of biofilm bacteria. App. Envir. Micro. 54:2492-2499.
- (39) LeChevallier, M., R. Seidler, & T. Evans. 1980. Enumeration and Characterization of Standard Plate Count Bacteria in Chlorinated and Raw Water Supplies. App. Env. Micro. 40:922-930.
- (40) LeChevallier, M., N. Shaw, L. Kaplan, & T. Bott. 1993. Development of a rapid assimilable organic carbon method for water. Appl. Env. Microb. 59(5):1526-1531.
- (41) Leeflang, K.W. 1968. Biologic degradation of rubber gaskets used for sealing pipe joints. Journ. A.W.W.A. 60:1070-1076.
- (42) Lodder, J. & N. Kreger-Van Rij. 1952. The Yeasts, A Taxonomic Study. North-Holland Pub. Co., N.Y., 713 pp.
- (43) Lowther, E.D. & R.H. Moser. 1984. Detecting and eliminating coliform regrowth. Proc. Water Qual. Tech. Conf. A.W.W.A.
- (44) Martin, R.S., W.H. Gates, R.S. Tobin, D. Grantham, P.K. Wolfe, & P. Forestall. 1982. Factors affecting coliform bacteria growth in distribution systems. Journ. A.W.W.A. 74:34-42.
- (45) Maul, A., A. El-Shaaawi, & J. Block. 1985. Heterotrophic bacteria in water distribution systems. Science of Total Environment. 44:201-214.

- (46) Metzger, W., R. Patterson, J. Fink, R. Semerdjian, & M. Roberts. 1976. Hypersensitivity Pneumonitis due to Contaminated Water in a Home Sauna. J. Am. Med. Ass. 236: 2209-2211.
- (47) Morris, J.C., N. Ram, B. Baum, & E. Wajon. 1980. Formation and Significance of N-Chloro Compounds in Water Supplies. EPA-600/2-80-031.
- (48) Mosto, P. Bacterial Growth Response in a small water distribution system. (Inédito).
- (49) Muittari, A., P. Kusisto, P. Virtanen, A. Sovijarvi, P. Gronroos, P. Harmoinen, P. Antila, & L. Kellomaki. 1980. An epidemic of extrinsic allergic alveolitis caused by tap water. Clin. Allergy 10:77-82.
- (50) Nagy, L.A. & B.H. Olson. 1982. The Occurrence of Filamentous Fungi in Drinking Water Systems. Can. J. Microbiol. 28:667-671.
- (51) Nagy, L.A. & B.H. Olson. 1985. Occurrence and Significance of Bacteria, Fungi and Yeasts Associated with Distribution Pipe Surfaces. pp. 213-238. Proc. Water Qual. Tech. Conf. AWWA.
- (52) Namkung, E., R.G. Stratton & B.E. Rittman. 1983. Prediction removal of trace organic compounds by biofilms Jour. A.W.W.A. 55:1366-1372.
- (53) Niemi, R.M., S. Knuth, & K. Lundstrom. 1982. Actinomycetes and Fungi in Surface Waters and in Potable Water. Appl. Environ. Microb. 43:378-388.

- (54) O'Connor, J.T., L. Hash & A. Edwards. 1975. Deterioration of water quality in distribution systems. Jour. A.W.W.A. 67: 113-117.
- (55) Olivieri, P., A.E. Bakalian, K.W. Bossung & E.D. Lowther. 1985. Recurrent coliforms in water distribution systems in the presence of free residual chlorine. pp. 651-656. In: R.L. Jolley et al. Water Chlorination, Chemistry, Environmental Impact and Health Effects. Lewis Pub., Inc. Chelsea, MI.
- (56) Olson, B. & L.A. Nagy. 1984. Microbiology of Potable Water. Adv. Appl. Microbiology. 30:73-132.
- (57) Olson, H. 1982. Assessment and Implications of Bacterial Regrowth in Water Distribution Systems. EPA-600/52-82-072. USEPA, Cincinnati, OH.
- (58) Pass, T. & T.J. Liles. 1988. The Isolation and Identification of Filamentous Fungi from Distribution Systems, Unchlorinated and Hemodialysis Water. Abstr. Ann. Mtg. Amer. Soc. Microbiol. N66.
- (59) Pipes, W.O. 1982. Introduction in Bacterial Indicator in Pollution. CRC Press, Inc. Chapter 1.
- (60) Pipes, W. 1989. The Significance of Coliform Monitoring Results. Wat. Qual. Tech. Conf. AWWA. PA.
- (61) Pipes, W., P. Mosto, & H. Minnigh. 1991. Survey of coliform regrowth in drinking water distribution systems. Pub. 31101-Drexel University :1-45.

- (62) Ramirez-Toro, G. 1991. Occurrence and Interaction of Fungi and Bacteria in Water Distribution Systems with Free Chlorine and Monochloramine. Doctoral Thesis. Environmental Studies Institute, Drexel University, Philadelphia, PA.
- (63) Reasoner, D., J. Blannon, E. Geldreich, & J. Barnick. 1989. Nonphotosynthetic Pigmented bacteria in a Potable Water Treatment and Distribution System. Appl. Env. Micro. 55:912-921.
- (64) Reilly, J.K. & J.S. Kipplin. 1983. Relationship of bacterial counts with turbidity and free chlorine in two distribution systems. J. Am. Water Works Assoc. 75:309-312.
- (65) Rittmann, B.E. & V.L. Snoeyink. 1984. Achieving biologically stable drinking water. Journ. A.W.W.A. 76:106-114.
- (66) Roesch, S.C. & L.Y.C. Leong. 1983. Isolation and Identification of *Petriellidium boydii* from a Municipal Water System. Abstr. Ann. Mtg. Amer. Soc. Microbiol. :276.
- (67) Rose, J. 1990. Occurrence and Control of Cryptosporidium in Drinking Water. Chap. 14, pp. 294-321. In: Drinking Water Microbiology. G. McFeter Ed., Springer-Verlag, N.Y.
- (68) Rosenzweig, W.D. 1987. Influence of phosphate corrosion control compounds on bacterial regrowth. EPA CR-811613-01-0. USEPA, Cincinnati, OH.
- (69) Rosenzweig, W.D., H.A. Minnigh, & W.O. Pipes. 1986. Fungi in Potable Water Distribution Systems. J. Amer. Water Works Assoc. 78:53-55.

- (70) Rosenzweig, W.D. & W.O. Pipes. 1986. Survival of Fungi in Potable Water Systems. pp. 449-456. Proc. Water Qual. Tech. Conf. AWWA.
- (71) Rosenzweig, W.D. & W.O. Pipes. 1988. Fungi from Potable Water: Interaction with chlorine and Engineering Effects. Proc. Inter. Special Conf. Microbiol. Water and Wastewater, Vol. 1.
- (72) Rosenzweig, W.D. & W.O. Pipes. 1989. Presence of Fungi in Drinking Water. pp. 85-93. In: Biohazard of Drinking Water Treatment. Lewis Pub., Ann Arbor.
- (73) Seidler, R.J., J.E. Morrow & S.T. Bagley. 1977. Klebsiella in drinking water emanating from redwood tanks. App. Environ. Micro. 33:893-900.
- (74) Servais, P., G. Billen, & M.C. Hascoet. 1987. Determination of the biodegradable fraction of dissolved organic matter in waters. Water Res. 21:445-450.
- (75) Stanfield, G. & P.H. Jago. 1987. The development and use of a method for measuring the concentration of assimilable organic carbon in water. Water Res. Cent. U.K. Report 1628-M.
- (76) Tuovinen, O.H. & J.C. Hsu. 1982. Aerobic and anaerobic microorganisms in tubercles of the Columbus, OH, water distribution system. Appl. Environ. Micro. 44:761-764.
- (77) U.S. Environmental Protection Agency. 1975. Handbook for Evaluating Water Bacteriological Laboratories. EPA-670/9-75-006.

- (78) U.S. Environmental Protection Agency. 1978. Microbiological Methods for Monitoring the Environment. EPA-600/8-78-017.
- (79) Van der Kooij, D. 1990. Assimilable organic carbon (AOC) in drinking water. In Drinking Water Microbiology G.A. McFeters. Springer-Verlag, N.Y. pp. 57-87.
- (80) Van der Kooij, D. 1992. Assimilable Organic Carbon as an Indicator of Bacterial Regrowth. J.A.W.W.A., R & A. :57-65.
- (81) Van der Kooij, D. & A, Hijnen. 1985. Measuring the concentration of easily assimilable organic carbon in water treatment as a tool for limiting regrowth of bacteria in distribution systems. Proc. of the AWWA Water Quality Tech. Conf., Houston. pp. 729-744.
- (82) Van der Kooij, D. & W. Hijnen. 1988. Multiplication of *Klebsiella pneumoniae* strain in water at low concentrations of substrate. Proc. Intern. Conf. Water and Wastewater Microb. 1. Int. Assoc. Water Poll. Res. Control, Newport each, CA.
- (83) Van der Kooij, D., A. Visser, & W.A. Hijnen. 1982. Determining the concentration of easily assimilable organic carbon in drinking water. Journ. A.W.W.A. 74:540-545.
- (84) West, R.P. 1986. Isolation rates and characterization of fungi in drinking water distribution systems. Proc. Water Qual. Tech. Conf. A.W.W.A. :457-459.
- (85) Wiernega, J.T. 1985. Recovery of coliforms in the presence of a free chlorine residual. Journ. A.W.W.A. 77:83-88.

- (86) Wolfe, R.L., E.G. Means, M.K. Davis & S. Barrett. 1988. Biological nitrification in covered reservoirs containing chloraminated water. Journ. A.W.W.A. 80:109-114.
- (87) Wolfe, R.S., N.R. Ward & B.H. Olson. 1985. Inactivation of heterotrophic bacterial populations in finished drinking water by chlorine and chloramine. Water Res. 19:1393-1403.



## **APENDICES**

APENDICE I						
A- VALORES PROMEDIOS DEL NUMERO TOTAL DE HONGOS Y BACTERIAS						
EN CADA SITIO DE MUESTREO						
Sitio	Fecha	Recuento de hongos		Recuento de bacterias		
		(CFU/50 ml)		(CFU/ml)		
		Antes	Despues	Antes	Despues	
Pozo #2	28-Mar	0	0	0	0	
	4-Apr	0	0	4	2	
	18-Apr	0	0	4	3	
	25-Apr	2	1	3	4	
	23-May	1	1	3	4	
	1-Jun	1	2	4	0	
	6-Jun	2	1	12	2	
	27-Jun	1	1	30	40	
	5-Jul	6	4	20	3	
	26-Jul	1	0	440	720	
	Promedio		1.4	1	52	77.8
	Desv. Est.		1.78	1.25	136.65	225.96
Pozo #3	28-Mar	0	0	0	0	
	4-Apr	0	0	5	2	
	11-Apr	0	0	8	2	
	18-Apr	0	0	2	7	
	25-Apr	0	0	7	100	
	2-May	0	0	8	0	
	23-May	3	0	13	5	
	30-May	1	0	7	1	
	1-Jun	0	3	2	115	
	13-Jun	8	0	8	13	
	20-Jun	0	0	2	2	
	27-Jun	1	0	5	0	
	5-Jul	0	0	4	28	
	11-Jul	0	1	100	7	
	18-Jul	0	0	25	158	
	26-Jul	1	0	300	240	
	1-Aug	0	0	46	4	
Promedio		0.82	0.24	31.88	40.24	
Desv. Est.		2.01	0.75	73.31	70.43	

Apendice I - Cont.					
Sitio	Fecha	Recuento de hongos		Recuento de bacterias	
		(CFU/50 ml)		(CFU/ml)	
		Antes	Despues	Antes	Despues
Pozo #4	4-Apr	0	0	3	24
	18-Apr	0	0	21	39
	2-May	0	0	12	23
	30-May	0	0	67	47
	20-Jun	0	0	80	13
	27-Jun	0	0	107	100
	11-Jul	10	8	65	104
	18-Jul	11	0	121	239
Promedio		2.63	1.00	59.50	73.63
Desv. Est.		4.87	2.83	43.88	75.19
Pozo #5	28-Mar	8	1	0	0
	23-May	12	2	0	0
	6-Jun	11	6	6	0
	13-Jun	2	4	0	48
	19-Sep	0	0	5	72
Promedio		6.60	2.60	2.20	24.00
Desv. Est.		5.37	2.41	3.03	33.94
Pozo #6	28-Mar	0	0	0	0
	11-Apr	0	0	0	0
	18-Apr	1	1	0	0
	25-Apr	0	0	0	0
	2-May	0	1	3	3
	23-May	1	0	0	0
	30-May	0	1	0	0
	1-Jun	0	1	0	0
	6-Jun	2	0	0	0
	13-Jun	0	0	4	9
	20-Jun	0	1	3	3
	27-Jun	0	0	17	9
	5-Jul	0	0	5	11
	11-Jul	0	1	6	0
	18-Jul	0	1	0	47
	26-Jul	0	0	825	TNTC
	1-Aug	0	0	37	148
	19-Sep	0	0	13	0
Promedio		0.22	0.39	50.72	13.53
Desv. Est.		0.55	0.50	193.46	36.49

				Apendice I- Cont.	
Sitio	Fecha	Recuento de Hongos (CFU/50ml)		Recuento de bacterias (CFU/ml)	
Tanque C	28-Mar	4		0	
	4-Apr	2		0	
	18-Apr	1		0	
	25-Apr	1		0	
	2-May	0		2	
	23-May	1		0	
	30-May	0		0	
	1-Jun	3		0	
	6-Jun	0		0	
	13-Jun	0		5	
	20-Jun	0		0	
	27-Jun	0		2	
	5-Jul	0		180	
	11-Jul	1		63	
	18-Jul	1		98	
	26-Jul	5		163	
	1-Aug	0		90	
19-Sep	2		0		
Promedio		1.17		33.50	
Desv. Est.		1.50		59.64	
Tanque G	28-Mar	2		0	
	4-Apr	5		0	
	18-Apr	1		1	
	25-Apr	1		0	
	2-May	2		2	
	23-May	1		5	
	30-May	0		0	
	1-Jun	1		12	
	6-Jun	1		0	
	13-Jun	0		12	
	20-Jun	0		57	
	27-Jun	0		54	
	5-Jul	0		30	
	11-Jul	3		50	
	18-Jul	0		51	
	26-Jul	0		400	
	1-Aug	5		100	
19-Sep	3		4		
Promedio		1.39		43.22	
Desv. Est.		1.65		93.58	

				Apendice I - Cont.	
Sitio	Fecha	Recuento de Hongos (CFU/50ml)		Recuento de bacterias (CFU/ml)	
Canilla 1	12-Sep	2		55	
	19-Sep	0		132	
	26-Sep	0		80	
	3-Oct	0		41	
	17-Oct	0		50	
	24-Oct	0		47	
	Promedio		0.33		67.50
Desv. Est.		0.82		34.36	
Canilla 2	12-Sep	10		300	
	19-Sep	0		400	
	26-Sep	0		200	
	3-Oct	1		172	
	17-Oct	0		200	
	24-Oct	0		224	
	Promedio		1.83		249.33
Desv. Est.		4.02		85.74	
Canilla 3	12-Sep	1		129	
	19-Sep	0		440	
	26-Sep	2		TNTC	
	3-Oct	3		152	
	17-Oct	0		2	
	24-Oct	0		24	
	Promedio		1.00		149.40
Desv. Est.		1.26		174.87	

				Apendice I - Cont.	
Sitio	Fecha	Recuento de Hongos (CFU/50ml)		Recuento de bacterias (CFU/ml)	
Canilla 4	24-Jan	0		0	
	31-Jan	0		0	
	7-Feb	2		0	
	14-Feb	6		0	
	21-Feb	0		0	
	28-Feb	6		5	
	7-Mar	0		0	
	21-Mar	0		2	
	28-Mar	8		0	
	12-Sep	4		60	
	19-Sep	1		59	
	26-Sep	14		3	
	3-Oct	20		10	
	17-Oct	7		3	
24-Oct	4		4		
Promedio		4.80		9.73	
Desv. Est.		5.81		20.39	
Canilla 5	24-Jan	2		3	
	31-Jan	2		0	
	7-Feb	0		0	
	14-Feb	1		5	
	21-Feb	0		1	
	28-Feb	3		5	
	7-Mar	0		4	
	21-Mar	1		10	
	28-Mar	0		4	
	1-Jun	0		51	
	1-Aug	0		24	
	12-Sep	7		27	
	19-Sep	21		TNTC	
	26-Sep	1		11	
3-Oct	1		85		
17-Oct	0		29		
24-Oct	0		24		
Promedio		2.29		17.69	
Desv. Est.		5.13		22.88	

				Apendice I - Cont.			
Sitio	Fecha	Recuento de Hongos (CFU/50ml)		Recuento de bacterias (CFU/ml)			
Canilla 6	12-Sep	4		35			
	19-Sep	0		8			
	26-Sep	10		8			
	3-Oct	1		62			
	17-Oct	31		256			
	24-Oct	10		244			
Promedio		9.33		102.17			
Desv. Est.		11.45		116.31			
Sitio	Fecha	Recuento de Hongos (CFU/50ml)		Recuento de bacterias (CFU/ml)			
Bomba 1	1-Jun	1		2			
	19-Sep	1		66			
Promedio		1		34			
Desv. Est.		0		45.25			
Bomba 2	1-Jun	31		188			
	19-Sep	5		0			
Promedio		18		94			
Desv. Est.		18.38		132.94			
Bomba 3	1-Jun	0		0			
	19-Sep	0		34			
Promedio		0		17			
Desv. Est.		0		24.04			
Bomba 4	1-Jun	1		13			
	19-Sep	9		0			
Promedio		5		6.5			
Desv. Est.		5.66		9.19			

				Apendice I - Cont.		
Sitio	Fecha	Recuento de Hongos (CFU/50ml)	Recuento de bacterias (CFU/ml)			
Bomba 5	1-Jun	3	0			
	19-Sep	2	0			
Promedio		2.5	0			
Desv. Est.		0.71	0.00			
Bomba 6	1-Jun	40	1			
	19-Sep	1	0			
Promedio		20.5	0.5			
Desv. Est.		27.58	0.71			
Bomba 7	1-Jun	1	0			
	19-Sep	0	0			
Promedio		0.5	0			
Desv. Est.		0.71	0.00			
Bomba 8	1-Jun	9	26			
	19-Sep	0	2			
Promedio		4.5	14			
Desv. Est.		6.36	16.97			
Bomba 9	1-Jun	0	4			
	19-Sep	0	2			
Promedio		0	3			
Desv. Est.		0.00	1.41			
Bomba 10	1-Jun	4	4			
	19-Sep	1	0			
Promedio		2.5	2			
Desv. Est.		2.12	2.83			



Apendice I- Cont.					
PART B - PROMEDIOS DE MUESTRAS POSITIVAS					
Sitio	Recuento de hongos		Recuento de bacterias		
	(CFU/50 ml)		(CFU/ml)		
	Antes	Despues	Antes	Despues	
Pozo #2	2	1	4	2	
	1	1	4	3	
	1	2	3	4	
	2	1	3	4	
	1	1	4		
	6	4	12	2	
	1		30	40	
			20	3	
			440	720	
Promedio	2	1.67	57.78	97.25	
Desv. Est.	1.83	1.21	143.64	251.96	
Pozo #3	3	3	5	2	
	1	1	8	2	
	8		2	7	
	1		7	100	
	1		8	4	
			13	5	
			7	1	
			2	115	
			8	13	
			2	2	
			5	240	
			4	28	
			100	7	
			25	158	
			300		
			46		
Promedio	2.80	2.00	33.88	48.86	
Desv. Est.	3.03	1.41	75.24	75.18	

Apendice I- Cont.					
Sitio	Recuento de hongos		Recuento de bacterias		
	(CFU/50 ml)		(CFU/ml)		
	Antes	Despues	Antes	Despues	
Pozo #4	10	8	3	24	
	11		21	39	
			12	23	
			67	47	
			80	13	
			107	100	
			65	104	
			121	239	
	Promedio	10.50	8.00	59.50	73.63
Desv. Est.	0.71		43.88	75.19	
Pozo #5	8	1	6	48	
	12	2	5	72	
	11	6			
	2	4			
	Promedio	8.25	3.25	5.50	60.00
Desv. Est.	4.50	2.22	0.71	16.97	
Pozo #6	1	1	3	3	
	1	1	4	9	
	2	1	3	3	
		1	17	9	
		1	5	11	
		1	6	47	
		1	825	148	
			37		
			13		
	Promedio	1.33	1.00	101.44	32.86
Desv. Est.	0.58	0.00	271.55	53.00	

				Apendice I- Cont.		
Sitio	Fecha	Recuento de Hongos (CFU/50ml)	Recuento de bacterias (CFU/ml)			
Tanque C		4	2			
		2	5			
		1	2			
		1	180			
		1	63			
		3	98			
		1	163			
		1	90			
		5				
		2				
	Promedio		2.10	75.38		
	Desv. Est.		1.45	70.94		
Tanque G		2	1			
		5	2			
		1	5			
		1	12			
		2	12			
		1	57			
		1	54			
		1	30			
		3	50			
		5	51			
		3	400			
			100			
			4			
	Promedio		2.27	59.85		
Desv. Est.		1.56	106.43			
Canilla 1		2	55			
			132			
			80			
			41			
			50			
			47			
	Promedio		2.00	67.50		
	Desv. Est.			34.36		

				Apendice I- Cont.	
Sitio	Fecha	Recuento de Hongos (CFU/50ml)	Recuento de bacterias (CFU/ml)		
Canilla 2		10	300		
		1	400		
			200		
			172		
			200		
			224		
Promedio		5.50	249.33		
Desv. Est.		6.36	85.74		
Canilla 3		1	129		
		2	440		
		3	TNTC		
			152		
			2		
			24		
Promedio		2.00	149.40		
Desv. Est.		1.00	174.87		
Canilla 4		2	5		
		6	2		
		6	60		
		8	59		
		4	3		
		1	10		
		14	3		
		20	4		
		7			
		4			
Promedio		7.20	18.25		
Desv. Est.		5.77	25.58		

				Apendice I- Cont.	
Sitio	Fecha	Recuento de Hongos (CFU/50ml)		Recuento de bacterias (CFU/ml)	
Canilla 5		2		3	
		2		5	
		1		1	
		3		24	
		1		29	
		7		5	
		21		4	
		1		10	
		1		4	
				51	
				24	
				27	
				TNTC	
				11	
				85	
Promedio		4.33		20.21	
Desv. Est.		6.54		23.44	
Canilla 6		4		35	
		10		8	
		10		8	
		1		62	
		31		256	
				244	
Promedio		11.20		102.17	
Desv. Est.		11.73		116.31	
Sitio	Fecha	Recuento de Hongos (CFU/50ml)		Recuento de bacterias (CFU/ml)	
Bomba 1		1		2	
		1		66	
Promedio		1		34	
Desv. Est.		0		45.25	
Bomba 2		31		188	
		5			
Promedio		18		188	
Desv. Est.		18.38			

				Apendice I- Cont.	
Sitio	Fecha	Recuento de Hongos (CFU/50ml)		Recuento de bacterias (CFU/ml)	
Bomba #3				34	
Promedio				34	
Desv. Est.					
Bomba 4		1		13	
		9			
Promedio		5		13	
Desv. Est.		5.66			
Bomba 5		3			
		2			
Promedio		2.5			
Desv. Est.		0.71			
Bomba 6		40		1	
		1			
Promedio		20.5		1	
Desv. Est.		27.58			
Bomba 7		1			
Promedio		1			
Desv. Est.					
Bomba 8		9		26	
				2	
Promedio		9		14	
Desv. Est.				16.97	
Bomba 9				4	
				2	
Promedio				3	
Desv. Est.				1.41	
Bomba 10		4		4	
		1			
Promedio		2.5		4	
Desv. Est.		2.12			

APENDICE II

PARAMETROS FISICO-QUIMICOS PARA CADA SITIO DE MUESTREO

Sitio	Fecha	Temperatura	Cloro (ppm)	pH	
Pozo #2	28-Mar	19	0.2	8.7	
	4-Apr	19	0.3	8.7	
	18-Apr	19	0.1	8.7	
	25-Apr	19	0.2	8.7	
	23-May	19	0.2	8.7	
	1-Jun	19	0.2	8.7	
	6-Jun	19	0.3	8.7	
	27-Jun	19	0.1	8.7	
	5-Jul	19	0.2	8.7	
	26-Jul	19	0.2	8.8	
	Promedio		19	0.2	8.71
	Desv. Est.		0	0.07	0.03
Pozo #3	28-Mar	20	0.2	8.8	
	4-Apr	20	0.1	8.8	
	11-Apr	20	0.1	8.8	
	18-Apr	20	0.2	8.8	
	25-Apr	20	0.1	8.7	
	2-May	20	0.2	8.8	
	23-May	19	0.1	8.8	
	30-May	19	0.1	8.7	
	1-Jun	20	0.2	8.7	
	13-Jun	19	0.1	8.7	
	20-Jun	19	0.1	8.7	
	27-Jun	19	0.2	8.7	
	5-Jul	19	0.1	8.8	
	11-Jul	19	0.2	8.8	
	18-Jul	19	0.3	9	
	26-Jul	21	0.1	9.5	
	1-Aug	20	0.1	9.2	
Promedio		19.59	0.15	8.84	
Desv. Est.		0.62	0.06	0.21	

Apendice II - Cont.				
Sitio	Fecha	Temperatura	Cloro (ppm)	pH
Pozo #4	4-Apr	20	0.2	9.3
	18-Apr	20	0.1	9.2
	2-May	20	0.2	9.1
	30-May	20	0.2	9
	20-Jun	19	0.2	8.8
	27-Jun	22	0.1	8.8
	11-Jul	19	0.3	9.3
	18-Jul	21	0.2	9.1
Promedio		20.13	0.19	9.08
Desv. Est.		0.99	0.06	0.20
Pozo #5	28-Mar	20	0.1	9
	23-May	20	0.1	9
	6-Jun	20	0.1	9
	13-Jun	20	0.1	9
	19-Sep	20	0.1	9
Promedio		20.00	0.10	9.00
Desv. Est.		0.00	0.00	0.00
Pozo #6	28-Mar	18	0.2	9
	11-Apr	18	0.2	9
	18-Apr	18	0.1	9
	25-Apr	18	0.1	9
	2-May	18	0.1	9
	23-May	18	0.2	9
	30-May	18	0.1	9
	1-Jun	18	0.2	9
	6-Jun	18	0.4	9
	13-Jun	18	0.2	9
	20-Jun	18	0.1	8.8
	27-Jun	18	0.2	8.7
	5-Jul	18	0.1	8.6
	11-Jul	18	0.3	8.6
	18-Jul	18	0.2	9
	26-Jul	19	0.2	9.2
	1-Aug	18	0.1	9
	19-Sep	18	0.3	8
Promedio		18.06	0.18	8.88
Desv. Est.		0.24	0.09	0.27



Apendice II - Cont.				
Sitio	Fecha	Temperatura	Cloro (ppm)	pH
Tanque C	28-Mar	17	0.1	9
	4-Apr	17	0.2	9
	18-Apr	18	0.1	9
	25-Apr	18	0.1	9
	2-May	19	0.1	9
	23-May	19	0.1	9
	30-May	19	0.1	9
	1-Jun	20	0.1	9
	6-Jun	21	0.1	9
	13-Jun	20	0.1	9
	20-Jun	23	0.1	9
	27-Jun	23	0.1	9
	5-Jul	23	0.1	9
	11-Jul	24	0.2	9
	18-Jul	25	0.2	9
	26-Jul	25	0.1	9.2
	1-Aug	25	0.1	9
	19-Sep	20	0.1	9
	Promedio		20.89	0.12
Desv. Est.		2.81	0.04	0.05
Tanque G	28-Mar	17	0.2	9
	4-Apr	18	0.1	9
	18-Apr	18	0.1	9
	25-Apr	18	0.1	9
	2-May	19	0.2	9.2
	23-May	19	0.1	9
	30-May	20	0.1	9
	1-Jun	20	0.1	9.1
	6-Jun	20	0.1	9
	13-Jun	20	0.1	9.1
	20-Jun	22	0.1	9
	27-Jun	21	0.1	9
	5-Jul	22	0.1	9
	11-Jul	23	0.2	9
	18-Jul	23	0.1	9.1
	26-Jul	23	0.1	9
	1-Aug	23	0.1	9
	19-Sep	21	0.1	9.2
	Promedio		20.39	0.12
Desv. Est.		1.97	0.04	0.07

Apendice II - Cont.				
Sitio	Fecha	Temperatura	Cloro (ppm)	pH
Canilla 1	12-Sep	24	0.1	9.1
	19-Sep	23	0.1	9
	26-Sep	22	0.1	9.1
	3-Oct	22	0.1	9
	17-Oct	22	0.1	9
	24-Oct	21	0.1	9
	<b>Promedio</b>		<b>22.33</b>	<b>0.10</b>
<b>Desv. Est.</b>		<b>1.03</b>	<b>0.00</b>	<b>0.05</b>
Canilla 2	12-Sep	23	0.1	9.1
	19-Sep	24	0.1	9
	26-Sep	22	0.1	9.1
	3-Oct	22	0.1	9
	17-Oct	21	0.1	9.1
	24-Oct	21	0.1	9
	<b>Promedio</b>		<b>22.17</b>	<b>0.10</b>
<b>Desv. Est.</b>		<b>1.17</b>	<b>0.00</b>	<b>0.05</b>
Canilla 3	12-Sep	21	0.1	9.1
	19-Sep	22	0.1	9
	26-Sep	22	0.1	9.1
	3-Oct	22	0.1	9
	17-Oct	21	0.1	9.1
	24-Oct	20	0.1	9.1
	<b>Promedio</b>		<b>21.33</b>	<b>0.10</b>
<b>Desv. Est.</b>		<b>0.82</b>	<b>0.00</b>	<b>0.05</b>

Apendice II - Cont.					
Sitio	Fecha	Temperatura	Cloro (ppm)	pH	
Canilla 4	24-Jan	12	0.1	9.1	
	31-Jan	12	0.1	9	
	7-Feb	12	0.1	9.1	
	14-Feb	16	0.1	9	
	21-Feb	13	0.1	9.1	
	28-Feb	16	0.1	9.1	
	7-Mar	14	0.2	9	
	21-Mar	14	0.2	9	
	28-Mar	18	0.1	9	
	12-Sep	24	0.1	9.1	
	19-Sep	21	0.1	9	
	26-Sep	20	0.1	9.1	
	3-Oct	20	0.1	9	
	17-Oct	20	0.1	9.1	
	24-Oct	20	0.1	9.1	
	Promedio		16.80	0.11	9.05
	Desv. Est.		3.90	0.04	0.05
Canilla 5	24-Jan	12	0.1	9.1	
	31-Jan	12	0.1	9	
	7-Feb	13	0.1	9.1	
	14-Feb	15	0.1	9	
	21-Feb	15	0.1	9.1	
	28-Feb	13	0.1	9.1	
	7-Mar	16	0.1	9.1	
	21-Mar	16	0.1	9.1	
	28-Mar	17	0.1	9	
	1-Jun	20	0.1	9.1	
	1-Aug	24	0.1	9.1	
	12-Sep	27	0.1	9.1	
	19-Sep	21	0.1	9	
	26-Sep	20	0.1	9.1	
	3-Oct	21	0.1	9	
	17-Oct	20	0.1	9.1	
	24-Oct	20	0.1	9.1	
Promedio		17.76	0.10	9.07	
Desv. Est.		4.32	0.00	0.05	

Apendice II - Cont.				
Sitio	Fecha	Temperatura	Cloro (ppm)	pH
Canilla 6	12-Sep	24	0.1	9.1
	19-Sep	20	0.1	9
	26-Sep	21	0.1	9.1
	3-Oct	21	0.1	9
	17-Oct	20	0.1	9.1
	24-Oct	21	0.1	9.1
Promedio		21.17	0.10	9.07
Desv. Est.		1.47	0.00	0.05
Bomba 1	1-Jun	20	0.1	8.9
	19-Sep	19	0.1	8.9
	Promedio	19.5	0.1	8.9
	Desv. Est.	0.71	0.00	0.00
Bomba 2	1-Jun	20	0.1	9
	19-Sep	19	0.1	9
	Promedio	19.5	0.1	9
	Desv. Est.	0.71	0.00	0.00
Bomba 3	1-Jun	21	0.1	9
	19-Sep	20	0.1	9
	Promedio	20.5	0.1	9
	Desv. Est.	0.71	0.00	0.00
Bomba 4	1-Jun	21	0.1	8.9
	19-Sep	20	0.1	9
	Promedio	20.5	0.1	8.95
	Desv. Est.	0.71	0.00	0.07
Bomba 5	1-Jun	20	0.1	8.9
	19-Sep	19	0.1	9
	Promedio	19.5	0.1	8.95
	Desv. Est.	0.71	0.00	0.07
Bomba 6	1-Jun	21	0.1	9
	19-Sep	20	0.1	8.9
	Promedio	20.5	0.1	8.95
	Desv. Est.	0.71	0.00	0.07

Apendice II - Cont.				
Sitio	Fecha	Temperatura	Cloro (ppm)	pH
Bomba 7	1-Jun	21	0.1	9
	19-Sep	20	0.1	8.9
Promedio		20.5	0.1	8.95
Desv. Est.		0.71	0.00	0.07
Bomba 8	1-Jun	21	0.1	8.9
	19-Sep	19	0.1	8.9
Promedio		20	0.1	8.9
Desv. Est.		1.41	0.00	0.00
Bomba 9	1-Jun	21	0.1	8.8
	19-Sep	19	0.1	8.9
Promedio		20	0.1	8.85
Desv. Est.		1.41	0.00	0.07
Bomba 10	1-Jun	20	0.1	8.9
	19-Sep	19	0.1	9
Promedio		19.5	0.1	8.95
Desv. Est.		0.71	0.00	0.07

## APENDICE III - DESCRIPCION DE LAS ESPECIES DE HONGOS HALLADAS

### HONGOS LEVADURIFORMES

#### Candida tropicalis (Cast) Berkhout (Figura A 3-1 a-c)

Células ovoides, algunas veces globosas, 5-9 X 6-12  $\mu\text{m}$ . Desarrollo de pseudomicelio y micelio verdadero profuso. Formas miceliales producen conidios hialinos, unicelulares, ovoides a fusiformes, apicales o laterales, a veces formando cadenas cortas. Pigmentación cr mea a amarillenta. Cultivos duros y op cos, de superficie rugosa, a menudo hirsuta, con márgenes suaves. Fermentación de glucosa, galactosa, maltosa, sacarosa, pero no de lactosa.

#### Candida pelliculosa Red. (Figura A 3-2 a-b)

Células ovoides, 2-5 X 4-8  $\mu\text{m}$ . Desarrollo de pseudomicelio lento y no abundante. Ramificaciones típicamente en ángulo recto,   pseudomicelio zigzagueante. Pigmentación blanca. Cultivos op cos. Fermentación de glucosa, galactosa, maltosa, sacarosa, pero no de lactosa.

#### Chromotorula Harrison (Figura A 3-3)

Células globosas, ovoides o elongadas, 2-4 X 6-8  $\mu\text{m}$ . Reproducción por gemación multilateral. Raramente formación de un pseudomicelio primitivo. Pigmentación negra. Cultivos brillantes. Hongos levaduriformes no fermentativos.

Rhodotorula aurantiaca (Saito) Lodder (Figura A 3-5)

Células ovoides a elongadas, 3-5 X 7-16  $\mu\text{m}$ , solitarias, de a pares, o en cadenas cortas. Desarrollo de pseudomicelio primitivo. Pigmentación anaranjada a rojiza. Cultivos suaves, brillantes, ocasionalmente mucosos. Hongos levaduriformes no fermentativos.

Rhodotorula minuta (Saito) Harrison (Figura A 3-6)

Células ovoides, 2-3 X 3-6  $\mu\text{m}$ , solitarias o de a pares. Formación de pseudomicelio ausente. Pigmentación anaranjada. Cultivos suaves, brillantes, pero nunca mucosos. Hongos levaduriformes no fermentativos.

Torulopsis sphaerica (Hammer et Cordes) Lodder (Figura A 3-4 a-b)

Células redondeadas a ovoides, 3-4 X 3-6  $\mu\text{m}$ . Formación de pseudomicelio ausente. Pigmentación crémea a amarillenta. Cultivos suaves. Fermentación de glucosa, galactosa, sacarosa, lactosa, pero no de maltosa.

## HONGOS IMPERFECTOS (MOHOS FILAMENTOSOS)

Los mohos filamentosos fueron solamente identificados a género.

### Aureobasidium Viola y Boyer (Figura A 3-7 a-c)

Micelio hialino cuando joven, tornándose oscuro con la edad del cultivo, a totalmente negro y brillante en cultivos de más de 2 meses. Micelio no profuso. Conidióforos ausentes o reducidos. Conidios (blastosporas) oscuros, unicelulares, ovoides, producidos lateralmente. Habitantes comunes de suelo.

### Basipetospora Cole y Kendrick (fig. A 3-15 a-c)

Micelio blanco, profuso. Conidióforo erecto, simple, semejante a las hifas. Conidios (artroporas) hialinos, unicelulares, globosos a cilíndricos, en cadenas basales. Hongos saprofíticos.

### Cephalosporium Corda (Figura A 3-9 a-e)

Micelio hialino a brillantemente coloreado. Conidióforos simples, fialiformes. Conidios hialinos, unicelulares, agrupados en masa en una estructura mucilaginoso. Hongos saprofíticos.

### Dactylosporium Harz. (Figura A 3-8 a-b)

Micelio oscuro. Conidióforo oscuro, simple, con conidios creciendo en forma apical y semiapical. Conidios oscuros (castaños), ovoides, a veces desiguales, con septos longitudinales, transversales y oblicuos. Hongos saprofíticos.



Gilmaniella Barron (Figura A 3-12)

Micelio reducido, hialino. Conidióforo hialino, simple, corto e inflado. Conidios (aleurosporas) castaño oscuro o negros, unicelulares, globosos, apicales, simples, con pared celular gruesa, suave o rugosa. Habitantes comunes de suelo y madera.

Geotrichum Link (Figura A 3-13 a-b)

Micelio blanco. Conidióforos ausentes. Conidios (artrosporas) hialinos, unicelulares, cilíndricos, truncados en los polos (en forma de barril), formados por la fragmentación de las hifas. Habitantes comunes de suelo y saprofíticos.

Hansfordia Hughes (Figura A 3-11 a-d)

Micelio hialino a oscuro con la edad del cultivo, profuso. Conidióforos pigmentados, erectos a péndulos, ramificados repetidamente en forma irregular, con conidios apicales o semiapicales en un diente mocho. Conidios hialinos, unicelulares, globosos u ovoides. Hongos saprofíticos.

Monilia Pers. (fig. A 3-14 a-e)

Micelio blanco o grisáceo, profuso. Conidióforo ramificado, con poca diferenciación de los conidios. Conidios rosados o grisáceos, unicelulares, cilíndricos a redondeados, en cadenas ramificadas. Hongos saprofíticos.

Penicillium Link (Figura A 3-18 a-b)

Micelio hialino a coloreado en cultivos viejos. Conidióforos simples, ramificados en forma penicilar, terminando en fiálides. Conidios hialinos a brillantemente coloreados, unicelulares, globosos a ovoides, en cadenas basales. Hongos saprofíticos.

Periconiella Sacc. (Figura A 3-17 a-c)

Micelio oscuro. Conidióforo oscuro, ramificado, con conidios apicales. Conidios oscuros, unicelulares, oblongos a ovoides. Hongos comunes de suelo.

Streptomyces Wak. y Henrici (Figura A 3-16)

Micelio delicado, hialino. Colonias compactas, con un característico olor a "tierra mojada". Esporas diminutas, producidas en cadenas debido a la fragmentación de las hifas. Hongos comunes de suelo. Clasificado como bacteria dentro del orden Actinomycetales.

Varias especies no produjeron conidios en SDA o medio malta, con lo cual fue imposible su determinación, y fueron clasificadas como "micelio estéril".

"Micelio estéril 1" - Micelio rosado (fig. A3-19)

"Micelio estéril 2" - Micelio oscuro, casi negro (fig. A3-10)

"Micelio estéril 3" - Micelio hialino

## LEYENDA DE LAS FIGURAS

Fig. 1 - Candida tropicalis

- a. estado levaduriforme X1000
- b. estado micelial X200
- c. estado micelial - detalle de la posición de los conidios X400

Fig. 2 - Candida pelliculosa

- a. estado levaduriforme X1000
- b. estado pseudomicelial con ramificaciones en ángulo casi recto X400

Fig. 3 - Chromotorula sp. X1000

Fig. 4 - Torulopsis sphaerica

- a. cultivos en SDA agar X1000
- b. cultivos en agar malta X1000

Fig. 5 - Rhodotorula aurantiaca X1000

Fig. 6 - Rhodotorula minuta X1000

Fig. 7 - Aureobasidium sp.

- a. micelio típico X200
- b. conidios laterales naciendo directamente del micelio X400
- c. desarrollo de micelio de un conidio X400

Fig. 8 - Dactylosporium sp.

- a. vista general del micelio, conidióforos y conidios septados X200
- b. detalle del desarrollo apical y semiapical de los conidios septados X1000

Fig. 9 - Cephalosporium sp.

- a. cultivo en SDA agar X200
- b. cultivo en agar malta X200
- c. detalle del conidióforo y la estructura mucilaginosa X100
- d. detalle de la estructura mucilaginosa con conidios X200
- e. detalle de los conidios truncados en la base X1000

Fig. 10 - Micelio estéril #2 X400

Fig. 11 - Hansfordia sp.

- a. conidióforos en SDA agar X200
- b. conidióforos en agar malta X200
- c. detalle del conidióforo y los conidios (SDA agar) X400
- d. detalle de un conidio gemando X1000

Fig. 12 - Gilmaniella sp.

- a. vista general del micelio con conidios intercalares X400
- b. vista general del micelio con un conidio apical X400
- c. detalle del conidio de pared rugosa-dentada X400

Fig. 13 - Geotrichum sp.

- a. vista del micelio y la formación de conidios = artrosporas  
X200
- b. detalle de la fragmentación de conidios X400

Fig. 14 - Monilia sp.

- a. detalle del conidiofóro ramificado X400
- b. detalle del micelio y formación de conidióforos en SDA agar  
X400
- c. conidios X1000
- d. micelio y conidióforos en agar malta X400
- e. pseudomicelio desarrollando de un conidio en agar malta  
X400

Fig. 15 - Basipetospora sp.

- a. micelio, conidióforo y conidios X200
- b. detalle del micelio, conidióforos erectos y conidios en  
cadena X400
- c. detalle de los conidios X1000

Fig. 16 - Streptomyces sp. X400

Fig. 17 - Periconiella sp.

- a. vista del micelio, conidióforo ramificado y conidios apicales X200
- b. detalle del conidióforo ramificado y conidios X400
- c. detalle de los conidios apicales X800

Fig. 18 - Penicillium sp.

- a. vista del micelio, conidióforo y conidios X200
- b. detalle del conidióforo penicilar, fiálides y conidios en cadena X400

Fig. 19 - Micelio estéril # 1 X400

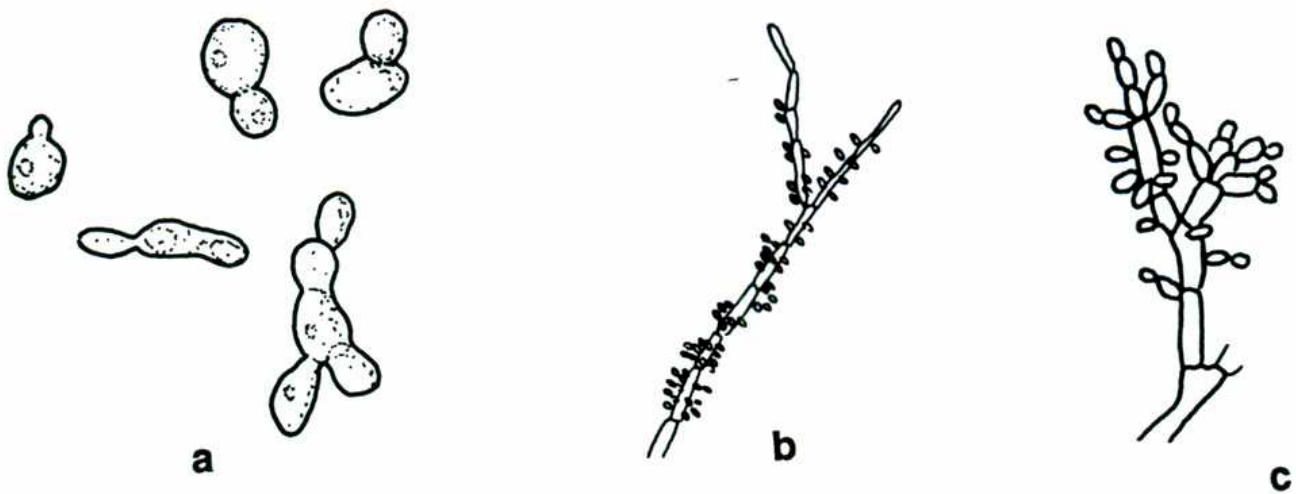


Figura 1

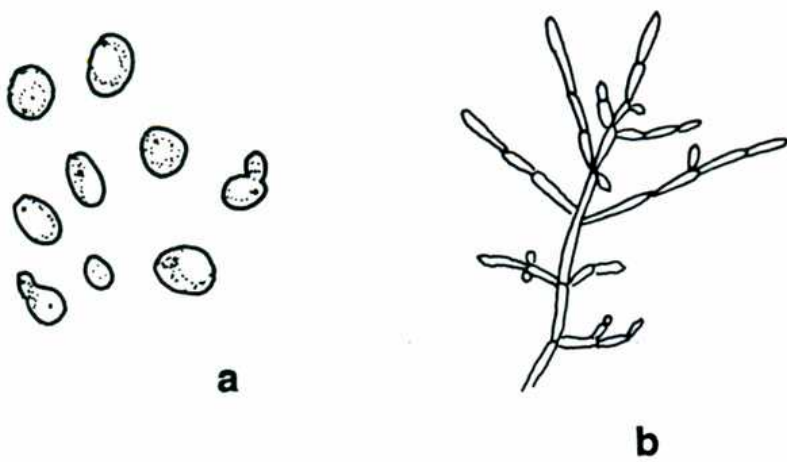


Figura 2

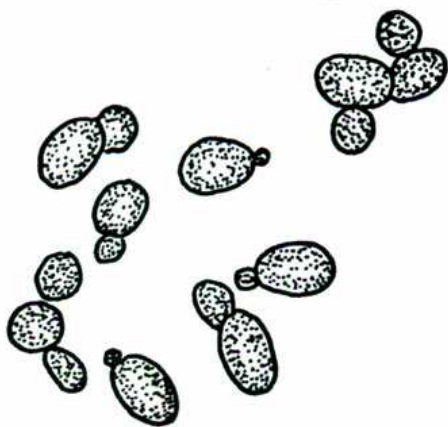


Figura 3

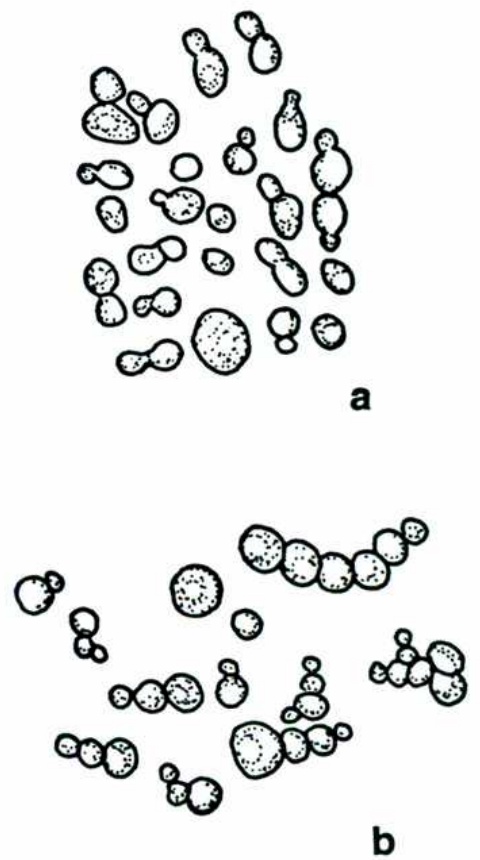


Figura 4

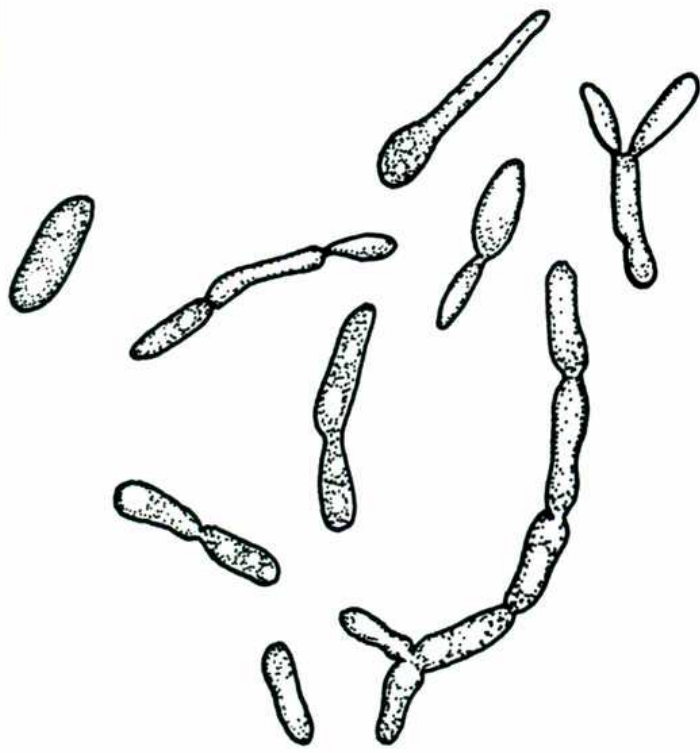


Figura 5

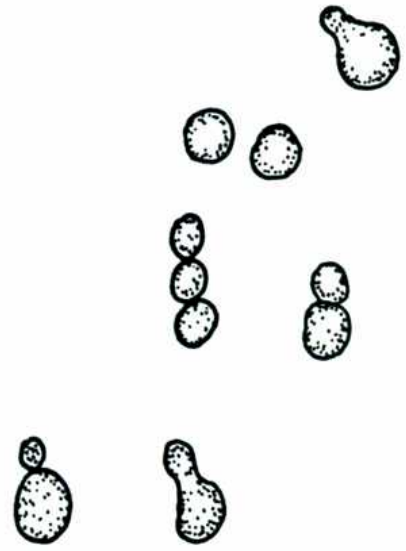


Figura 6

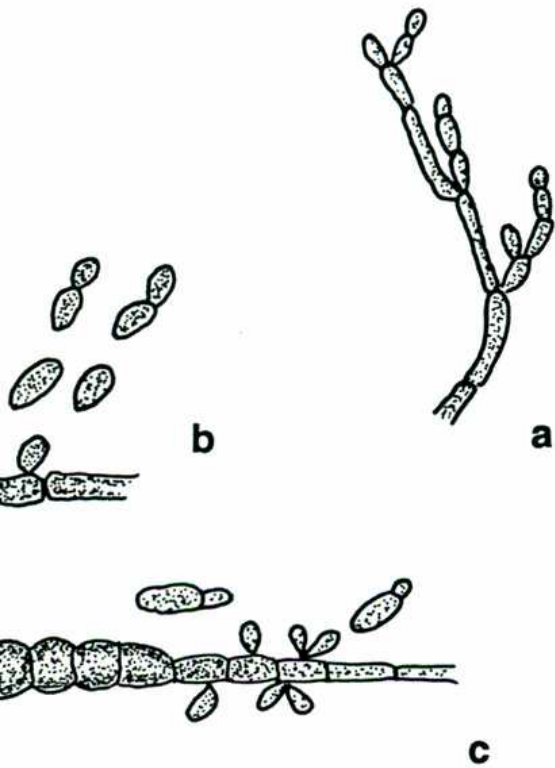


Figura 7

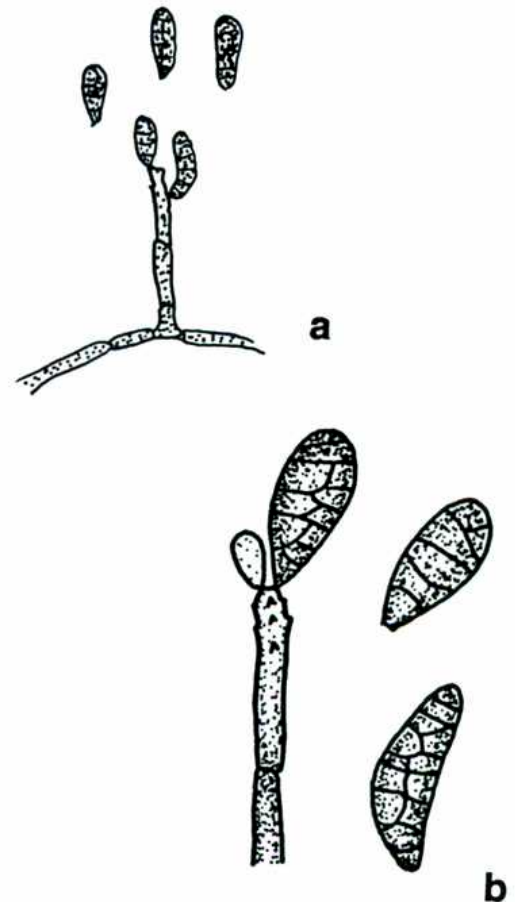
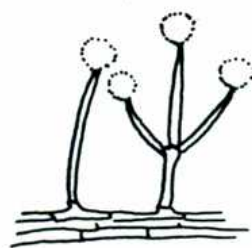


Figura 8

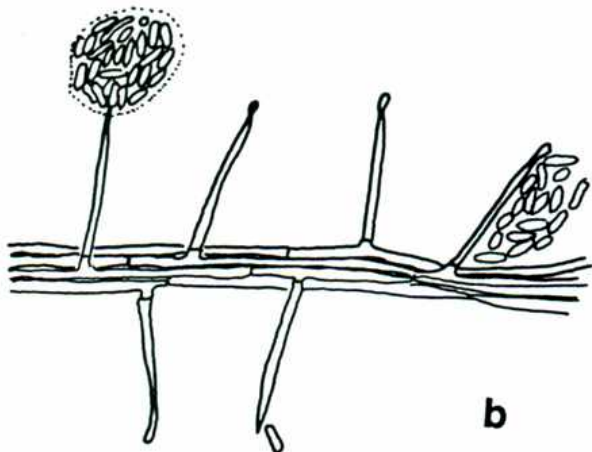




a



c



b



d

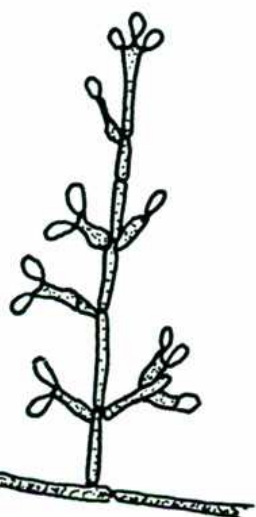


e

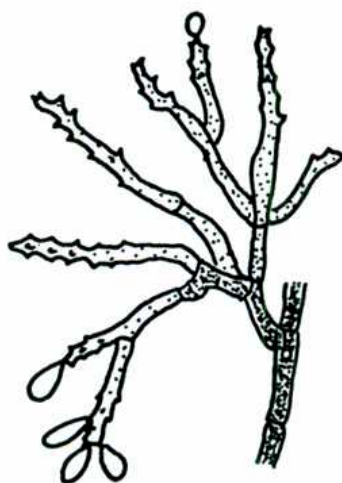
Figura 9



Figura 10



a



b



c

Figura 11



d

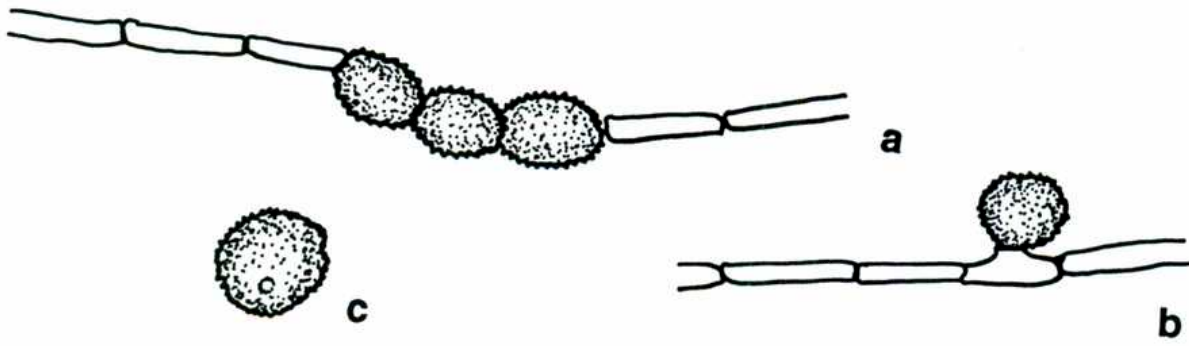


Figura 12

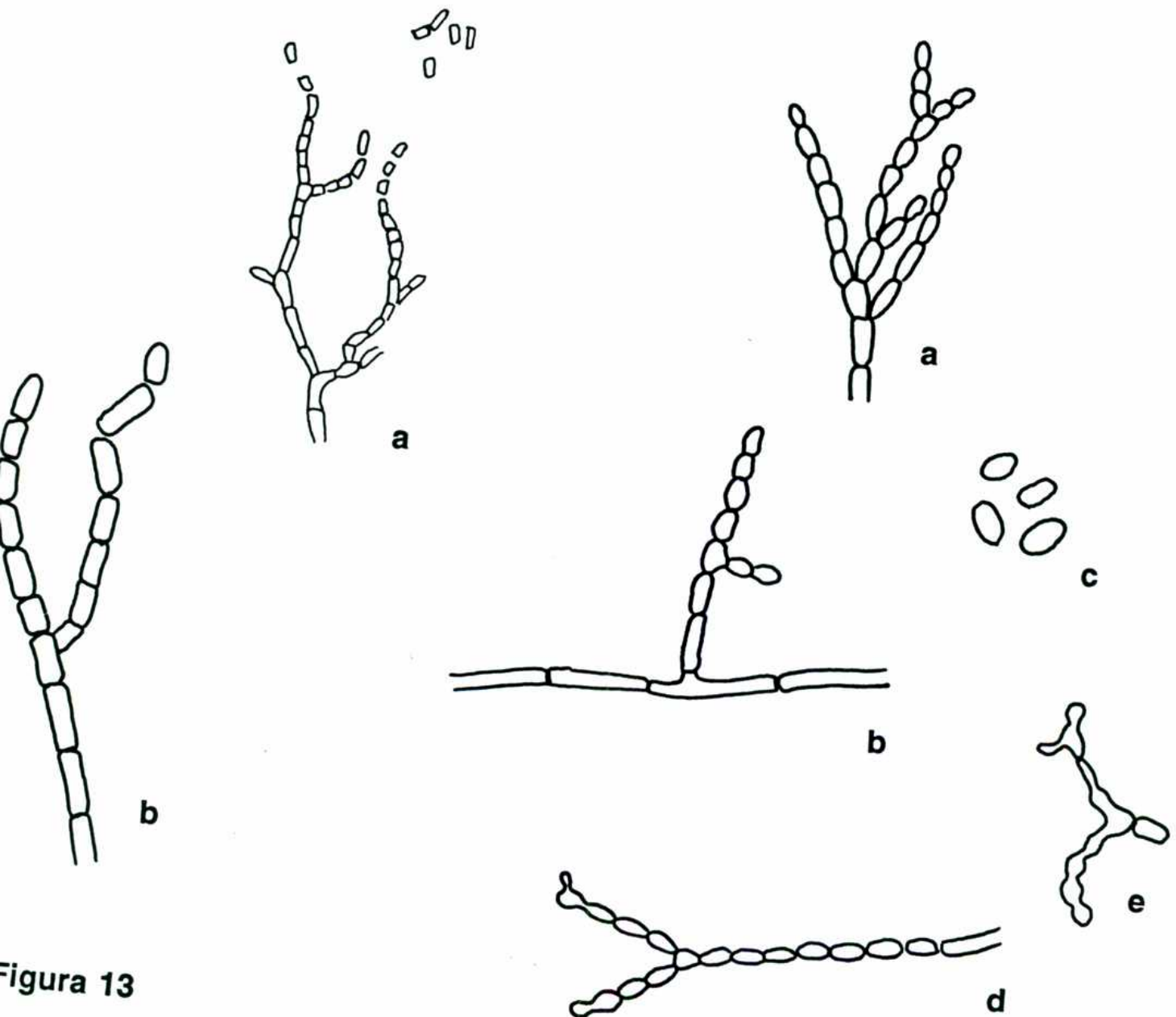


Figura 13

Figura 14

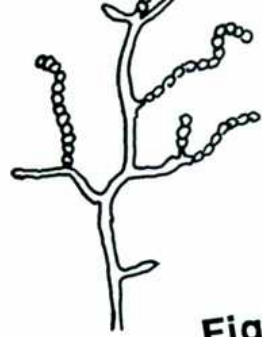
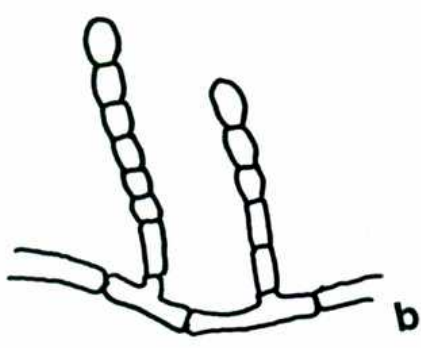
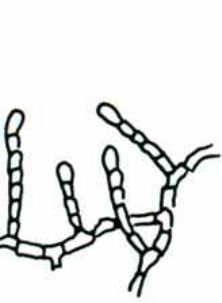


Figura 16



Figura 15

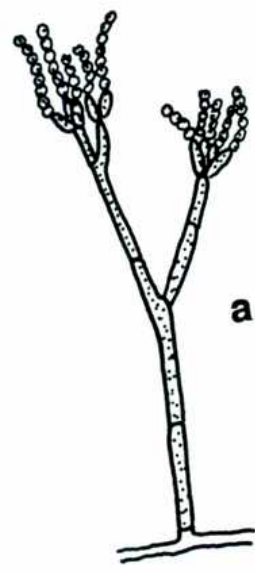
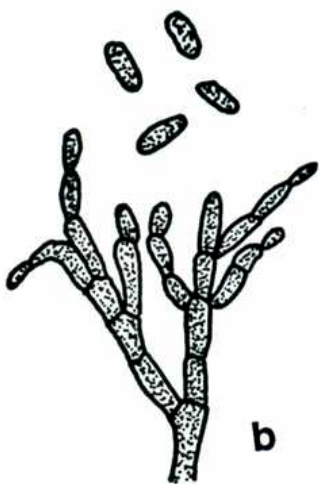
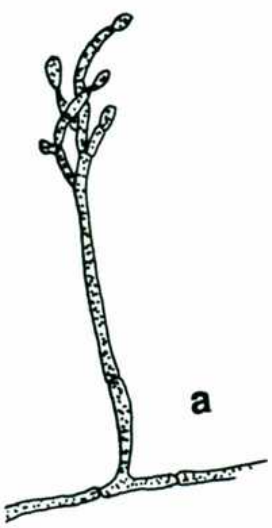


Figura 18

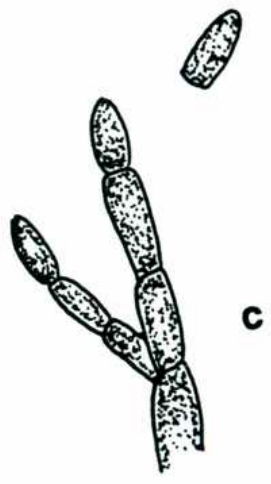
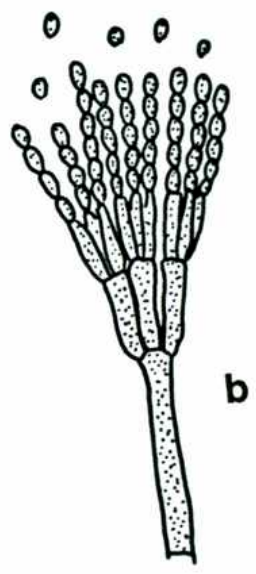


Figura 17

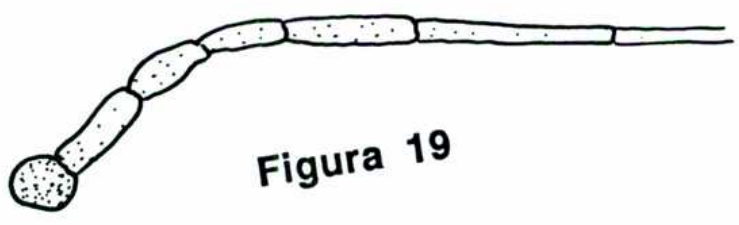


Figura 19

APENDICE IV

FRECUENCIA DE LAS ESPECIES DE HONGOS EN LOS DISTINTOS SITIOS DE MUESTREO

Pozo #2 = Antes						
Especies	28-Mar	4-Apr	18-Apr	25-Apr	23-May	
C. pelliculosa						
R. aurantiaca						
T. sphaerica				2		
Cephalosporium						
Gilmaniella					1	
Hansfordia						
Basipetospora						
Micelio #1						
Pozo #2 = Después						
Especies	1-Jun	6-Jun	27-Jun	5-Jul	26-Jul	
C. pelliculosa						
R. aurantiaca						
T. sphaerica						
Cephalosporium		1				
Gilmaniella						
Hansfordia				6		
Basipetospora			1		1	
Micelio #1		1				
Pozo #3 = Antes						
Especies	28-Mar	4-Apr	11-Apr	18-Apr	25-Apr	
C. pelliculosa						
R. aurantiaca						
T. sphaerica						
Gilmaniella						
Monilia						
Basipetospora						
Penicillium						
Pozo #3 = Después						
Especies	2-May	23-May	30-May	1-Jun	13-Jun	
C. pelliculosa						
R. aurantiaca		2				
T. sphaerica						
Gilmaniella						
Monilia						
Basipetospora						
Penicillium			1		8	

Apendice IV- Cont.					
Pozo #3 = Antes					
Especies	20-Jun	27-Jun	5-Jul	11-Jul	18-Jul
C. pelliculosa					
R. aurantiaca					
T. sphaerica					
Gilmaniella					
Monilia					
Basipetospora					
Penicillium		1			
Especies	26-Jul	1-Aug			
C. pelliculosa					
R. aurantiaca					
T. sphaerica					
Gilmaniella					
Monilia					
Basipetospor	1				
Penicillium					
Pozo #4 = Antes					
Especies	28-Mar	18-Apr	2-May	30-May	20-Jun
Chromotorula					
R. aurantiaca					
T. sphaerica					
Hansfordia					
Especies	27-Jun	11-Jul	18-Jul		
Chromotorula		3			
R. aurantiaca		3	10		
T. sphaerica		3			
Hansfordia		1	1		
Pozo #5 = Antes					
Especies	28-Mar	23-May	6-Jun	13-Jun	19-Sep
C. tropicalis			2		
R. aurantiaca	8	3			
R. minuta			2		
Cephalosporium		9	6	2	
Micelia #2			1		

Apendice IV- Cont.						
Pozo #6 = Antes						
Especies	28-Mar	11-Apr	18-Apr	25-Apr	2-May	
Chromotorula						
R. aurantiaca						
R. minuta						
T. sphaerica						
Cephalosporium						
Geotrichum						
Gilmaniella						
Hansfordia			1			
Penicillium						
Micelio #3						
Especies	23-May	30-May	1-Jun	6-Jun	13-Jun	
Chromotorula						
R. aurantiaca						
R. minuta						
T. sphaerica	1					
Cephalosporium						
Geotrichum						
Gilmaniella				2		
Hansfordia						
Penicillium						
Micelio #3						
Especies	20-Jun	27-Jun	5-Jul	11-Jul	18-Jul	
Chromotorula						
R. aurantiaca						
R. minuta						
T. sphaerica						
Cephalosporium						
Geotrichum						
Gilmaniella						
Hansfordia						
Penicillium						
Micelio #3						

Apendice IV- Cont.						
Pozo #6 = Antes						
Especies	26-Jul	1-Aug	19-Sep			
Chromotorula		1				
R. aurantiaca						
R. minuta						
T. sphaerica						
Cephalosporium						
Geotrichum						
Gilmaniella						
Hansfordia						
Penicillium						
Micelio #3						
Pozo #2 = Despues						
Especies	28-Mar	4-Apr	18-Apr	25-Apr	23-May	
C. pelliculosa						
R. aurantiaca					1	
T. sphaerica						
Cephalosporium						
Gilmaniella						
Hansfordia				1		
Basipetospora						
Micelio #1						
Especies	1-Jun	6-Jun	27-Jun	5-Jul	26-Jul	
C. pelliculosa	1					
R. aurantiaca						
T. sphaerica		1				
Cephalosporium						
Gilmaniella	1					
Hansfordia				4		
Basipetospora			1			
Micelio #1						
Pozo #3 = Despues						
Especies	28-Mar	4-Apr	11-Apr	18-Apr	25-Apr	
C. pelliculosa						
R. aurantiaca						
T. sphaerica						
Gilmaniella			1			
Monilia						
Basipetospora						
Penicillium						

Apendice IV- Cont.						
Pozo #3 = Despues						
Especies	2-May	23-May	30-May	1-Jun	13-Jun	
C. pelliculosa				1		
R. aurantiaca						
T. sphaerica		1				
Gilmaniella				2		
Monilia						
Basipetospora						
Penicillium						
Especies	20-Jun	27-Jun	5-Jul	11-Jul	18-Jul	
C. pelliculosa						
R. aurantiaca						
T. sphaerica						
Gilmaniella						
Monilia				1		
Basipetospora						
Penicillium						
Especies	26-Jul	1-Aug				
C. pelliculosa						
R. aurantiaca						
T. sphaerica						
Gilmaniella						
Monilia						
Basipetospora						
Penicillium						
Pozo #4 = Despues						
Especies	28-Mar	18-Apr	2-May	30-May	20-Jun	
Chromotorula						
R. aurantiaca						
T. sphaerica						
Hansfordia						
Especies	27-Jun	11-Jul	18-Jul			
Chromotorula		2				
R. aurantiaca						
T. sphaerica		6				
Hansfordia						



Apendice IV- Cont.					
<b>Pozo #5 = Despues</b>					
<b>Especies</b>	<b>28-Mar</b>	<b>23-May</b>	<b>6-Jun</b>	<b>13-Jun</b>	<b>19-Sep</b>
C. tropicalis		2			
R. aurantiaca					
R. minuta			2		
Cephalospori	1		6	4	
Micelia #2					
<b>Pozo #6 = Despues</b>					
<b>Especies</b>	<b>28-Mar</b>	<b>11-Apr</b>	<b>18-Apr</b>	<b>25-Apr</b>	<b>2-May</b>
Chromotorula					
R. aurantiaca					1
R. minuta					
T. sphaerica					
Cephalosporium					
Geotrichum					
Gilmaniella			1		
Hansfordia					
Penicillium					
Micelio #3					
<b>Especies</b>	<b>23-May</b>	<b>30-May</b>	<b>1-Jun</b>	<b>6-Jun</b>	<b>13-Jun</b>
Chromotorula					
R. aurantiaca					
R. minuta			1		
T. sphaerica					
Cephalosporium					
Geotrichum					
Gilmaniella					
Hansfordia					
Penicillium		1			
Micelio #3					

Apendice IV- Cont.						
Pozo # 6 = Despues						
Especies	20-Jun	27-Jun	5-Jul	11-Jul	18-Jul	
Chromotorula						
R. aurantiaca						
R. minuta						
T. sphaerica						
Cephalosporium						
Geotrichum	1					
Gilmaniella						
Hansfordia						
Penicillium				1		
Micelio #3					1	
Especies	26-Jul	1-Aug	19-Sep			
Chromotorula						
R. aurantiaca						
R. minuta						
T. sphaerica						
Cephalosporium			1			
Geotrichum						
Gilmaniella						
Hansfordia		1				
Penicillium						
Micelio #3						
Tanque C						
Especies	28-Mar	4-Apr	18-Apr	25-Apr	2-May	
Cephalosporium		1				
Dactylosporium				1		
Hansfordia	4					
Basipetospora		1				
Perinconiella			1			
Especies	23-May	30-May	1-Jun	6-Jun	13-Jun	
Cephalosporium			1			
Dactylosporium			1			
Hansfordia	1					
Basipetospora						
Perinconiella			1			

Apendice IV- Cont.					
<b>Tanque C</b>					
<b>Especies</b>	<b>20-Jun</b>	<b>27-Jun</b>	<b>5-Jul</b>	<b>11-Jul</b>	<b>18-Jul</b>
Cephalosporium					
Dactylosporium					
Hansfordia				1	
Basipetospora					1
Perinconiella					
<b>Especies</b>	<b>26-Jul</b>	<b>1-Aug</b>	<b>19-Sep</b>		
Cephalosporium					
Dactylosporium					
Hansfordia	5				
Basipetospora			2		
Perinconiella					
<b>Tanque G</b>					
<b>Especies</b>	<b>28-Mar</b>	<b>4-Apr</b>	<b>18-Apr</b>	<b>25-Apr</b>	<b>2-May</b>
Chromotorula					1
Hansfordia	2			1	
Basipetospora		5			1
Penicillium			1		
<b>Especies</b>	<b>23-May</b>	<b>30-May</b>	<b>1-Jun</b>	<b>6-Jun</b>	<b>13-Jun</b>
Chromotorula			1		
Hansfordia	1				
Basipetospora				1	
Penicillium					
<b>Especies</b>	<b>20-Jun</b>	<b>27-Jun</b>	<b>5-Jul</b>	<b>11-Jul</b>	<b>18-Jul</b>
Chromotorula					
Hansfordia				3	
Basipetospora					
Penicillium					

Apendice IV- Cont.					
<b>Tanque G</b>					
<b>Especies</b>	<b>26-Jul</b>	<b>1-Aug</b>	<b>19-Sep</b>		
<b>Chromotorula</b>					
<b>Hansfordia</b>			1		
<b>Basipetospora</b>		5	1		
<b>Penicillium</b>			1		
<b>Canilla 1</b>					
<b>Especies</b>	<b>12-Sep</b>	<b>19-Sep</b>	<b>26-Sep</b>	<b>3-Oct</b>	<b>17-Oct</b>
<b>Cephalosporium</b>	1				
<b>Penicillium</b>	1				
<b>Especies</b>	<b>24-Oct</b>				
<b>Cephalosporium</b>					
<b>Penicillium</b>					
<b>Canilla 2</b>					
<b>Especies</b>	<b>12-Sep</b>	<b>19-Sep</b>	<b>26-Sep</b>	<b>3-Oct</b>	<b>17-Oct</b>
<b>Hansfordia</b>	5				
<b>Basipetospora</b>				1	
<b>Penicillium</b>	3				
<b>Streptomyces</b>	2				
<b>Especies</b>	<b>24-Oct</b>				
<b>Hansfordia</b>					
<b>Basipetospora</b>					
<b>Penicillium</b>					
<b>Streptomyces</b>					
<b>Canilla 3</b>					
<b>Especies</b>	<b>12-Sep</b>	<b>19-Sep</b>	<b>26-Sep</b>	<b>3-Oct</b>	<b>17-Oct</b>
<b>Cephalosporium</b>				1	
<b>Penicillium</b>	1		2	2	

Apendice IV- Cont.					
<b>Canilla 3</b>					
Especies	24-Oct				
Cephalosporium					
Penicillium					
<b>Canilla 4</b>					
Especies	24-Jan	31-Jan	7-Feb	14-Feb	21-Feb
Cephalosporium					
Hansfordia			2	2	
Penicillium				2	
Streptomyces					
Micelio #3					
Especies	28-Feb	7-Mar	21-Mar	28-Mar	12-Sep
Cephalosporium	1			1	1
Hansfordia	3			3	1
Penicillium	2				1
Streptomyces					
Micelio #3				4	1
Especies	19-Sep	26-Sep	3-Oct	17-Oct	24-Oct
Cephalosporium					
Hansfordia	1	13		4	4
Penicillium			20	3	
Streptomyces					
Micelio #3					
<b>Canilla 5</b>					
Especies	24-Jan	31-Jan	7-Feb	14-Feb	21-Feb
R. aurantiaca					
Cephalosporium					
Hansfordia				1	
Basipetospora					
Penicillium		2			
Streptomyces	1				
Micelio #1					
Micelio #3	1				

Apendice IV - Cont.						
<b>Canilla 5</b>						
Especies	28-Feb	7-Mar	21-Mar	28-Mar	1-Jun	
R. aurantiaca						
Cephalosporium			1			
Hansfordia						
Basipetospora						
Penicillium	3					
Streptomyces						
Micelio #1						
Micelio #3						
Especies	1-Aug	12-Sep	19-Sep	26-Sep	3-Oct	
R. aurantiaca			1			
Cephalosporium			1			
Hansfordia		1				
Basipetospora				1		
Penicillium		3	19			
Streptomyces		2				
Micelio #1					1	
Micelio #3		1				
Especies	17-Oct	24-Oct				
R. aurantiaca						
Cephalosporium						
Hansfordia						
Basipetospora						
Penicillium						
Streptomyces						
Micelio #1						
Micelio #3						
<b>Canilla 6</b>						
Especies	12-Sep	19-Sep	26-Sep	3-Oct	17-Oct	
Aureobasidium			10		31	
Cephalospori	1					
Penicillium				1		
Micelio #3	3					

			Apendice IV- Cont.			
<b>Canilla 6</b>						
Especies	24-Oct					
<b>Aureobasidiu</b>			10			
<b>Cephalosporium</b>						
<b>Penicillium</b>						
<b>Micelio #3</b>						
<b>Bomba #1</b>						
Especies	1-Jun	19-Sep				
<b>Basipetospor</b>			1	1		
<b>Bomba #2</b>						
Especies	1-Jun	19-Sep				
<b>Chromotorul</b>			16	1		
<b>R. aurantiaca</b>			12			
<b>T. sphaerica</b>			1			
<b>Cephalosporium</b>				1		
<b>Basipetospor</b>			1	4		
<b>Bomba #3</b>						
Especies	1-Jun	19-Sep				
<b>Bomba #4</b>						
Especies	1-Jun	19-Sep				
<b>Aureobasidium</b>				1		
<b>Cephalosporium</b>				2		
<b>Hansfordia</b>			1			
<b>Penicillium</b>				6		
<b>Bomba #5</b>						
Especies	1-Jun	19-Sep				
<b>Aureobasidium</b>				1		
<b>Hansfordia</b>			3			
<b>Basipetospora</b>				1		

			Apendice IV - Cont.			
<b>Bomba #6</b>						
<b>Especies</b>	<b>1-Jun</b>	<b>19-Sep</b>				
Chromotouru	32					
Hansfordia	4					
Basipetospor	3					
Penicillium		1				
Streptomyces	1					
<b>Bomba #7</b>						
<b>Especies</b>	<b>1-Jun</b>	<b>19-Sep</b>				
Penicillium	1					
<b>Bomba #8</b>						
<b>Especies</b>	<b>1-Jun</b>	<b>19-Sep</b>				
Chromotorul	7					
T. sphaerica	2					
<b>Bomba #9</b>						
<b>Especies</b>	<b>1-Jun</b>	<b>19-Sep</b>				
<b>Bomba #10</b>						
<b>Especies</b>	<b>1-Jun</b>	<b>19-Sep</b>				
Aureobasidiu	3					
Basipetospor	1					
Penicillium		1				



APENDICE V					
Experimentos de crecimiento (valores en CFU/ml X 100)					
A- Experimento #1 - Rhodotorula aurantiaca 06/01 - Inoculo 221 X 100					
Fecha	Control	Pozo #6	Tanque C	Canilla #5	Bomba #1
2-Jun	231	139	214	170	255
	283	139	220	195	254
	254	114	234	185	251
Promedio	256.00	130.67	222.67	183.33	253.33
Desv. Est.	26.06	14.43	10.26	12.58	2.08
4-Jun	299	151	43	42	450
	220	162	52	46	466
	251	140	54	45	442
Promedio	256.67	151.00	49.67	44.33	452.67
Desv. Est.	39.80	11.00	5.86	2.08	12.22
6-Jun	211	100	37	17	420
	210	87	30	19	407
	197	109	31	16	436
Promedio	206.00	98.67	32.67	17.33	421.00
Desv. Est.	7.81	11.06	3.79	1.53	14.53
8-Jun	180	42	33	8	400
	183	54	36	7	392
	184	48	38	5	414
Promedio	182.33	48.00	35.67	6.67	402.00
Desv. Est.	2.08	6.00	2.52	1.53	11.14
10-Jun	194	43	30	9	360
	214	32	30	9	359
	165	45	29	9	348
Promedio	191.00	40.00	29.67	9.00	355.67
Desv. Est.	24.64	7.00	0.58	0.00	6.66
12-Jun	159	23	10	6	190
	164	19	14	7	174
	137	25	14	4	187
Promedio	153.33	22.33	12.67	5.67	183.67
Desv. Est.	14.36	3.06	2.31	1.53	8.50

Apendice V- Cont.					
15-Jun	147	18	11	5	188
	155	10	9	3	161
	160	15	11	3	159
Promedio	154.00	14.33	10.33	3.67	169.33
Desv. Est.	6.56	4.04	1.15	1.15	16.20
18-Jun	140	13	8	2	184
	130	10	9	4	197
	152	17	10	3	198
Promedio	140.67	13.33	9.00	3.00	193.00
Desv. Est.	11.02	3.51	1.00	1.00	7.81
20-Jun	157	16	11	4	113
	141	18	12	2	130
	139	10	11	4	105
Promedio	145.67	14.67	11.33	3.33	116.00
Desv. Est.	9.87	4.16	0.58	1.15	12.77
22-Jun	147	10	11	5	82
	130	10	10	4	76
	157	18	11	4	65
Promedio	144.67	12.67	10.67	4.33	74.33
Desv. Est.	13.65	4.62	0.58	0.58	8.62
<b>B- Experimento #3 - Rhodotorula aurantiaca - 09/19 inoculo 217 x 100</b>					
Fecha	Control	Pozo #5	Tanque G	Canilla #4	Bomba #5
20-Sep	287	244	186	168	290
	283	254	155	152	254
	276	220	198	162	251
Promedio	282.00	239.33	179.67	160.67	265.00
Desv. Est.	5.57	17.47	22.19	8.08	21.70
22-Sep	270	122	152	31	229
	285	121	199	38	220
	288	140	199	48	196
Promedio	281.00	127.67	183.33	39.00	215.00
Desv. Est.	9.64	10.69	27.14	8.54	17.06

Apendice V- Cont.					
24-Sep	291	73	100	10	320
	312	89	80	14	359
	285	92	86	13	333
Promedio	296.00	84.67	88.67	12.33	337.33
Desv. Est.	14.18	10.21	10.26	2.08	19.86
26-Sep	281	35	10	6	380
	296	42	12	9	416
	275	41	9	9	383
Promedio	284.00	39.33	10.33	8.00	393.00
Desv. Est.	10.82	3.79	1.53	1.73	19.97
28-Sep	200	44	9	0.53	270
	181	45	4	0.54	315
	242	50	5	0.67	298
Promedio	207.67	46.33	6.00	0.58	294.33
Desv. Est.	31.21	3.21	2.65	0.08	22.72
30-Sep	188	38	6		174
	169	31	9		162
	167	36	3		163
Promedio	174.67	35.00	6.00		166.33
Desv. Est.	11.59	3.61	3.00		6.66
3-Oct	140	49	10		178
	159	32	8		195
	129	42	4		157
Promedio	142.67	41.00	7.33		176.67
Desv. Est.	15.18	8.54	3.06		19.04
6-Oct	120	39	12		173
	139	36	13		152
	137	45	10		160
Promedio	132.00	40.00	11.67		161.67
Desv. Est.	10.44	4.58	1.53		10.60
8-Oct	119	49	4		94
	140	44	5		85
	122	30	9		94
Promedio	127.00	41.00	6.00		91.00
Desv. Est.	11.36	9.85	2.65		5.20

Apendice V- Cont.					
10-Oct	129	42			76
	139	45			75
	140	40			62
Promedio	136.00	42.33			71.00
Desv. Est.	6.08	2.52			7.81
C- Experimento #5 - Rhodotorula aurantiaca - 10/17 - inculo 211X 100					
Fecha	Control	Pozo #3	Tanque G	Canilla #6	Bomba #10
18-Oct	244	184	174	174	245
	288	165	187	187	234
	208	140	160	161	211
Promedio	246.67	163.00	173.67	174.00	230.00
Desv. Est.	40.07	22.07	13.50	13.00	17.35
20-Oct	230	138	152	52	314
	295	126	109	53	393
	257	183	197	41	375
Promedio	260.67	149.00	152.67	48.67	360.67
Desv. Est.	32.65	30.05	44.00	6.66	41.40
22-Oct	240	97	79	11	345
	298	79	98	14	448
	250	98	98	12	310
Promedio	262.67	91.33	91.67	12.33	367.67
Desv. Est.	31.01	10.69	10.97	1.53	71.74
24-Oct	260	52	10	10	404
	251	53	10	10	413
	266	41	17	7	348
Promedio	259.00	48.67	12.33	9.00	388.33
Desv. Est.	7.55	6.66	4.04	1.73	35.22
25-Oct	175	47	9	9	372
	162	50	14	4	360
	160	51	9	5	270
Promedio	165.67	49.33	10.67	6.00	334.00
Desv. Est.	8.14	2.08	2.89	2.65	55.75

Apendice V- Cont.					
27-Oct	182	32	8	4	164
	167	37	7	4	107
	183	36	9	5	196
Promedio	177.33	35.00	8.00	4.33	155.67
Desv. Est.	8.96	2.65	1.00	0.58	45.08
29-Oct	178	39	9		174
	167	31	7		159
	183	39	5		152
Promedio	176.00	36.33	7.00		161.67
Desv. Est.	8.19	4.62	2.00		11.24
31-Oct	156	19	10		161
	154	18	8		197
	159	15	6		155
Promedio	156.33	17.33	8.00		171.00
Desv. Est.	2.52	2.08	2.00		22.72
3-Nov	161	14			80
	166	14			98
	179	9			88
Promedio	168.67	12.33			88.67
Desv. Est.	9.29	2.89			9.02
5-Nov	161	1			31
	160	0			20
	163	4			33
Promedio	161.33	1.67			28.00
Desv. Est.	1.53	2.08			7.00
<b>D- Experimento #2 - Torulopsis sphaerica - 06/01 - inoculo 216 X 100</b>					
Fecha	Control	Pozo #6	Tanque C	Canilla #5	Bomba #1
2-Jun	252	141	132	169	245
	285	159	114	174	234
	287	139	130	187	224
Promedio	274.67	146.33	125.33	176.67	234.33
Desv. Est.	19.66	11.02	9.87	9.29	10.50

Apendice V- Cont.					
4-Jun	291	122	35	30	423
	261	113	36	20	404
	276	105	36	33	452
Promedio	276.00	113.33	35.67	27.67	426.33
Desv. Est.	15.00	8.50	0.58	6.81	24.17
6-Jun	212	83	30	16	404
	243	95	32	16	475
	241	80	27	15	490
Promedio	232.00	86.00	29.67	15.67	456.33
Desv. Est.	17.35	7.94	2.52	0.58	45.94
8-Jun	175	64	19	9	434
	184	55	19	9	428
	199	71	15	13	448
Promedio	186.00	63.33	17.67	10.33	436.67
Desv. Est.	12.12	8.02	2.31	2.31	10.26
10-Jun	185	48	20	9	310
	154	63	22	10	315
	153	40	15	12	280
Promedio	164.00	50.33	19.00	10.33	301.67
Desv. Est.	18.19	11.68	3.61	1.53	18.93
12-Jun	195	50	10	7	193
	159	44	8	3	183
	191	51	12	4	175
Promedio	181.67	48.33	10.00	4.67	183.67
Desv. Est.	19.73	3.79	2.00	2.08	9.02
15-Jun	136	50	7	4	162
	111	41	4	2	152
	164	40	7	3	162
Promedio	137.00	43.67	6.00	3.00	158.67
Desv. Est.	26.51	5.51	1.73	1.00	5.77
18-Jun	126	13	7	4	183
	144	12	9	5	174
	117	10	7	4	183
Promedio	129.00	11.67	7.67	4.33	180.00
Desv. Est.	13.75	1.53	1.15	0.58	5.20

					Apendice V- Cont.	
20-Jun	143	11	7		105	
	124	9	2		110	
	154	11	4		125	
Promedio	140.33	10.33	4.33		113.33	
Desv. Est.	15.18	1.15	2.52		10.41	
22-Jun	133	7			72	
	134	7			75	
	151	7			69	
Promedio	139.33	7.00			72.00	
Desv. Est.	10.12	0.00			3.00	
<b>E- Experimento #4 - Torulopsis sphaerica - 09/19 - Inoculo 215 X 100</b>						
Fecha	Control	Pozo #5	Tanque G	Canilla #4	Bomba #5	
20-Sep	279	204	208	152	231	
	285	251	245	162	214	
	295	220	234	174	248	
Promedio	286.33	225.00	229.00	162.67	231.00	
Desv. Est.	8.08	23.90	19.00	11.02	17.00	
22-Sep	252	199	130	66	285	
	287	187	140	41	235	
	256	174	101	74	255	
Promedio	265.00	186.67	123.67	60.33	258.33	
Desv. Est.	19.16	12.50	20.26	17.21	25.17	
24-Sep	292	160	44	13	359	
	308	152	58	12	392	
	291	197	35	9	312	
Promedio	297.00	169.67	45.67	11.33	354.33	
Desv. Est.	9.54	24.01	11.59	2.08	40.20	
26-Sep	312	76	11	9	350	
	287	72	11	10	389	
	303	82	13	8	392	
Promedio	300.67	76.67	11.67	9.00	377.00	
Desv. Est.	12.66	5.03	1.15	1.00	23.43	

Apendice V- Cont.					
28-Sep	241	64	11	0.5	283
	230	76	12	0.6	254
	236	85	14	1	220
Promedio	235.67	75.00	12.33	0.70	252.33
Desv. Est.	5.51	10.54	1.53	0.26	31.53
30-Sep	174	34	8		162
	154	42	9		110
	175	36	4		108
Promedio	167.67	37.33	7.00		126.67
Desv. Est.	11.85	4.16	2.65		30.62
3-Oct	133	25	5		159
	145	19	7		140
	132	17	4		157
Promedio	136.67	20.33	5.33		152.00
Desv. Est.	7.23	4.16	1.53		10.44
6-Oct	145	19	6		139
	116	22	4		126
	136	25	4		121
Promedio	132.33	22.00	4.67		128.67
Desv. Est.	14.84	3.00	1.15		9.29
8-Oct	117	12	3		95
	120	17	1		86
	133	14	2		73
Promedio	123.33	14.33	2.00		84.67
Desv. Est.	8.50	2.52	1.00		11.06
10-Oct	126	19			52
	100	21			52
	130	17			50
Promedio	118.67	19.00			51.33
Desv. Est.	16.29	2.00			1.15



## LISTA DE TABLAS

Tablas	Página
1 Descripción del Sistema de Distribución de agua de la ciudad de Glassboro .....	12
2a Densidad del inóculo en <u>Rhodotorula aurantiaca</u> ...	19
2b Densidad del inóculo en <u>Torulopsis sphaerica</u> .....	20
3 Frecuencia de muestras positivas para la presencia de hongos .....	25
4 Recuentos promedios de hongos y bacterias en los diferentes sitios de muestreo .....	26-27
5 Recuento promedio de hongos y bacterias en los diferentes pozos de agua antes y después del tratamiento de desinfección .....	29
6 ANOVA para la presencia de hongos y bacterias en los diferentes sitios de muestreo .....	31
7 Hongos hallados en el Sistema de Distribución de aguas de la Ciudad de Glassboro .....	32
8 Presencia de los diferentes géneros de hongos por sitio de muestreo .....	34
9 Presencia de los diferentes géneros de hongos por pozo de agua .....	35-36
10 Presencia de los diferentes géneros de hongos por pozo de agua antes y después del tratamiento de desinfección .....	38-39
11 Presencia de los diferentes géneros de hongos por tanque de almacenamiento .....	41
12 Presencia de los diferentes géneros de hongos en las canillas de agua .....	43-44
13 Presencia de los diferentes géneros de hongos en las bombas de incendio .....	45-46
14 Recuento totales de hongos en el sistema de distribución .....	48
15 ANOVAS dentro del sistema de distribución .....	52
16 Fuente de agua para cada sitio por fecha de muestreo .....	56

17	Comparación de sitios con muchas colonias de hongos y sitios sin colonias en el mismo día de muestreo .....	60
18	Valores promedios de muestras por número de hongos presentes .....	59
19	Regresiones lineares entre los distintos parámetros por sitio de muestreo .....	62-65
20	Valores de regresión múltiple - Modelo Durbin-Watson .....	67
21	Comparación de la respuesta de crecimiento levaduriforme (RCL), Índice de mantenimiento (IM), y días de crecimiento (TC) en los diferentes sitios de muestreo, por experimento.....	82
22	Comparación de valores de crecimiento de la fase semi-estable ( $N_{submax}$ ) en las bombas de incendio comparados con el crecimiento mínimo en el agua de control .....	90
23	Hongos hallados en sistemas de distribución de aguas .....	92
24	Frecuencia de hongos registradas por otros autores .....	93
25	Géneros de hongos comunmente hallados en sistemas de distribución .....	93

## LISTA DE FIGURAS

Figuras	Página
1	Mapa de la Ciudad de Glassboro con los sitios de muestreo .....
2	Presencia de hongos por sitio de muestreo .....
3	Presencia de bacterias por sitio de muestreo ....
4	Número promedio de hongos por sitio de muestreo .
5	Número promedio de bacterias por sitio de muestreo
6	Red de distribución para los sitios de muestreo ..
7	Experimentos 1 y 2, con el agua de control .....
8	Experimentos 3 y 4, con el agua de control .....
9	Experimentos 1 y 2, con el agua de pozo #6 .....
10	Experimentos 3 y 4, con el agua de pozo #5 .....
11	Experimentos 1 y 2, con el agua del tanque de almacenamiento C .....
12	Experimentos 3 y 4, con el agua del tanque de almacenamiento G .....
13	Experimentos 1 y 2, con el agua de canilla #5 .....
14	Experimentos 3 y 4, con el agua de canilla #4 .....
15	Experimentos 1 y 2, con el agua de la bomba de incendio #1 .....
16	Experimentos 3 y 4, con el agua de la bomba de incendio #5 .....
17	Experimento #1 - Crecimiento de <u>Rhodotorula aurantiaca</u> en las distintas aguas experimentadas (06/94).....
18	Experimento #2 - Crecimiento de <u>Torulopsis sphaerica</u> en las distintas aguas experimentadas (06/94) .....
19	Experimento #3 - Crecimiento de <u>Rhodotorula aurantiaca</u> en las distintas aguas experimentadas (09/94).....
20	Experimento #4 - Crecimiento de <u>Torulopsis sphaerica</u> en las distintas aguas experimentadas (09/94) .....

- 21 Experimento #5 - Crecimiento de Rhodotorula aurantiaca en las distintas aguas experimentadas (10/94).....
- 22 Crecimiento de Rhodotorula aurantiaca y Torulopsis sphaerica en el agua de control .....
- 23 Crecimiento de Rhodotorula aurantiaca y Torulopsis sphaerica en el agua de pozo .....
- 24 Crecimiento de Rhodotorula aurantiaca y Torulopsis sphaerica en el agua del tanque de almacenamiento .....
- 25 Crecimiento de Rhodotorula aurantiaca y Torulopsis sphaerica en el agua de canilla .....
- 26 Crecimiento de Rhodotorula aurantiaca y Torulopsis sphaerica en el agua de las bombas de incendio .....

## LISTA DE FIGURAS

Figuras	Página
1 Mapa de la Ciudad de Glassboro con los sitios de muestreo .....	14
2 Presencia de hongos por sitio de muestreo .....	50
3 Presencia de bacterias por sitio de muestreo ...	50
4 Número promedio de hongos por sitio de muestreo .....	51
5 Número promedio de bacterias por sitio de muestreo .....	51
6 Red de distribución para los sitios de muestreo .....	55
7 Experimentos 1 y 2, con el agua de control .....	72
8 Experimentos 3 y 4, con el agua de control .....	72
9 Experimentos 1 y 2, con el agua de pozo #6 .....	73
10 Experimentos 3 y 4, con el agua de pozo #5 .....	73
11 Experimentos 1 y 2, con el agua del tanque de almacenamiento C .....	75
12 Experimentos 3 y 4, con el agua del tanque de almacenamiento G .....	75
13 Experimentos 1 y 2, con el agua de canilla #5 ..	76
14 Experimentos 3 y 4, con el agua de canilla #4 ..	76
15 Experimentos 1 y 2, con el agua de la bomba de incendio #1 .....	77
16 Experimentos 3 y 4, con el agua de la bomba de incendio #5 .....	77
17 Experimento #1 - Crecimiento de <u>Rhodotorula aurantiaca</u> en las distintas aguas experimentadas (06/94) .....	79
18 Experimento #2 - Crecimiento de <u>Torulopsis sphaerica</u> en las distintas aguas experimentadas (06/94) .....	79

19	Experimento #3 - Crecimiento de <u>Rhodotorula aurantiaca</u> en las distintas aguas experimentadas (09/94).....	80
20	Experimento #4 - Crecimiento de <u>Torulopsis sphaerica</u> en las distintas aguas experimentadas (09/94) .....	80
21	Experimento #5 - Crecimiento de <u>Rhodotorula aurantiaca</u> en las distintas aguas experimentadas (10/94).....	81
22	Crecimiento de <u>Rhodotorula aurantiaca</u> y <u>Torulopsis sphaerica</u> en el agua de control .....	84
23	Crecimiento de <u>Rhodotorula aurantiaca</u> y <u>Torulopsis sphaerica</u> en el agua de pozo.....	84
24	Crecimiento de <u>Rhodotorula aurantiaca</u> y <u>Torulopsis sphaerica</u> en los tanques de almacenamiento .....	87
25	Crecimiento de <u>Rhodotorula aurantiaca</u> y <u>Torulopsis sphaerica</u> en las canillas de agua ...	87
26	Crecimiento de <u>Rhodotorula aurantiaca</u> y <u>Torulopsis sphaerica</u> en las bombas de incendio .	88