



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA
ECOLOGÍA

INFLUENCIA DE LA PRESENCIA Y TIPO DE MACRÓFITAS ACUÁTICAS (*Hydrocotyle* y *Potamogeton*) SOBRE LAS AMIBAS DE VIDA LIBRE EN UN CUERPO DE AGUA SOMERO

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

RAMÍREZ FLORES MIGUEL ANGEL

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. ALFONSO LUGO VÁZQUEZ
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA, UNAM
COMITÉ TUTOR: DRA. BONILLA LEMUS PATRICIA
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA, UNAM
DRA. MAYÉN ESTRADA ROSAURA
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

LOS REYES IZTACALA, TLALNEPANTLA, ESTADO DE MÉXICO 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA
ECOLOGÍA

INFLUENCIA DE LA PRESENCIA Y TIPO DE MACRÓFITAS ACUÁTICAS (*Hydrocotyle* y *Potamogeton*) SOBRE LAS AMIBAS DE VIDA LIBRE EN UN CUERPO DE AGUA SOMERO

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

RAMÍREZ FLORES MIGUEL ANGEL

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. ALFONSO LUGO VÁZQUEZ
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA, UNAM
COMITÉ TUTOR: DRA. BONILLA LEMUS PATRICIA
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA, UNAM
DRA. MAYÉN ESTRADA ROSAURA
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

LOS REYES IZTACALA, TLALNEPANTLA, ESTADO DE MÉXICO 2023

COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

OFICIO CPCB/022/2023

ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **31 de octubre de 2022** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de (**Ecología**) del estudiante **RAMIREZ FLORES MIGUEL ANGEL**, con número de cuenta **312242741** con la tesis titulada **“Influencia de la presencia y tipo de macrófitas acuáticas (*Hidrocotyle* y *Potamogeton*) sobre las amibas de vida libre en un cuerpo de agua somero.”**, realizada bajo la dirección de la **DR. ALFONSO LUGO VÁZQUEZ**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DR. ROGELIO AGUILAR AGUILAR
Vocal: DR. JUSTO SALVADOR HERNÁNDEZ AVILÉS
Vocal: DRA. NATHALIE ROBERTE CHANTAL CABIROL
Vocal: M. en C. JOSÉ PEDRO RAMÍREZ GARCÍA ARMORA
Secretario: DRA. PATRICIA BONILLA LEMUS

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 05 de enero de 2023

COORDINADOR DEL PROGRAMA



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA



Agradecimientos

Al Posgrado de Ciencias Biológicas por darme la valiosa oportunidad de seguirme preparando y otorgarme lo necesario para ir más allá.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada durante mi periodo de estudios, desde agosto del 2020 hasta julio del 2022.

Al Dr. Alfonso Lugo Vázquez por ser un excelente tutor, un excelente guía y gran apoyo durante mi formación para obtener este grado. Sus enseñanzas y paciencia son invaluableles.

A la Dra. Patricia Bonilla Lemus y la Dra. Rosaura Mayén Estrada por todos sus consejos, aportaciones y apoyo a este trabajo como miembros de mi comité tutor ya que sin ustedes no hubiese podido resultar igual.

También quiero agradecer...

A mis padres, Rocío y Salvador, que siempre están ahí cada paso para guiarme, apoyarme y regañarme cuando es necesario, sé que cada decisión y cada paso han estado, están y estarán, sin ustedes yo no llegaría hasta aquí.

A mi tía, Lisa, que también me ha apoyado cada paso, me ha compartido sus conocimientos y siempre ha visto por mí y mi futuro en cada momento, siempre voy a agradecer ese apoyo y atención que me das para poder lograr mis metas.

A Itzel por acompañarme en todo momento, darme esa energía y ánimos cuando la situación es agobiante o estresante, por darme ese apoyo único y especial en cada momento y por siempre estar y creer.

Este pequeño paso más va dedicado a mis papás, a mi tía y a cielito. Por ustedes es que cada paso es más certero, más grande y más alegre.

También le dedico este pequeño esfuerzo a mi familia que tal vez no la podrá leer en "físico", pero espero la puedan ver desde donde estén.

Contenido

Resumen	1
Abstract.....	2
Introducción	3
Objetivos.....	7
General	7
Particulares	7
Metodología.....	7
Campo.....	7
Laboratorio	9
Identificación y densidades de amibas.....	9
Medición de parámetros ambientales.....	11
Análisis estadísticos.....	12
Resultados.....	13
Riqueza específica general	13
Riqueza específica de amibas en los sitios de muestreo	15
Densidades de bacterias	20
Clorofila <i>a</i>	21
Parámetros físicos y químicos	22
Datos biológicos y ambientales	26
Discusión	28
Conclusiones	53

Referencias Bibliográficas.....	55
Anexos.....	78
Anexo 1. Fotografías y corta descripción de las amibas identificadas	78
Anexo 2. Análisis estadísticos y tablas de datos.....	84

Resumen

Existen diversos factores que influyen en la presencia de las amibas en el ambiente acuático, como puede ser la presencia de organismos como macrófitas acuáticas, las cuales tienen el potencial de inhibir su desarrollo u otorgarles condiciones adecuadas para sobrevivir, como son sustrato, alimento y protección. No se conoce con profundidad la interacción entre las condiciones ambientales y las amibas; además de que el estudio de las amibas de vida libre se ha centrado en unas pocas especies de importancia médica y se ha dejado de lado el estudio de la ecología de las especies no patógenas. Es por estas razones que en el presente estudio se analizó cómo la composición y abundancia de las amibas se relacionan con la ausencia y presencia de dos diferentes macrófitas acuáticas.

Se realizaron dos muestreos abarcando las épocas de secas y de lluvias en un canal aledaño a la Laguna de Salazar. El primer sitio fue en un punto con *Potamogeton* sp., otro sitio fue en una zona con *Hydrocotyle* sp. y un tercer sitio correspondió a una zona sin presencia de macrófitas. A su vez se registraron algunos parámetros ambientales para relacionarlos con la frecuencia y densidad de las amibas.

Se identificaron 15 taxones pertenecientes a 11 géneros. *Arcella*, *Naegleria* y *Vermamoeba* se observaron en todos los sitios en ambas épocas, mientras que *Vannella* y *Korotnevella* sólo se encontraron en secas. *Diffugia*, *Saccamoeba* y *Thecamoeba* únicamente se presentaron en lluvias. De entre los parámetros ambientales, sólo la correlación de las densidades de bacterias totales con la abundancia de amibas desnudas fue significativa ($p < 0.06$). La abundancia de amibas desnudas fue menor que la de amibas testadas, siendo el sitio con *Hydrocotyle* el que registró los valores más altos de abundancia de ambos grupos.

Se concluye que el efecto de las macrófitas sobre las amibas es indirecto al afectar el ambiente que las rodea, otorgando una mayor complejidad al hábitat, ejerciendo algún cambio sobre los parámetros ambientales o modificando la disponibilidad de alimento de las amibas.

Abstract

Free-living amoebae (FLA) can be affected by some factors including the presence of organisms like aquatic macrophytes which have the potential of inhibit the amoebae or giving them the necessary conditions to survive, such as food, large habitat to live in and protection. It is not well known how the interaction between FLA and environmental conditions works; besides the study of FLA has been focused on a few species with medical concern and the ecological study of the non-pathogenic FLA has been neglected. For this reason, the presented work aimed to analyze how the distribution and abundance of FLA are related to the presence or absence of two different macrophytes.

Two samplings were made covering the rainy and dry seasons; they were made in a channel bordering a lagoon. The first collecting site was one with *Potamogeton* sp., a second one with *Hydrocotyle* sp., and the third one with no macrophyte in it. Also, some environmental parameters were measured to relate them with the amoebae abundance.

Fifteen taxa belonging to eleven genera were identified. *Arcella*, *Naegleria*, and *Vermamoeba* were observed in all sites and both seasons. *Vannella* and *Korotnevella* were observed only in the dry seasons while *Diffugia*, *Saccamoeba*, and *Thecamoeba* were in the rainy season. Naked amoebae abundances with total bacteria densities had a significant correlation ($p < 0.06$). The abundance of naked amoebae was lower than the testate abundance, and the site with *Hydrocotyle* had the highest amoebae abundance.

In conclusion, the effect of the macrophytes on the amoebae was not found to be direct, even though the macrophytes can affect amoebae indirectly by changing the environment around them, giving them more complexity, changing the environmental parameters or the food availability.

Introducción

Los protistas de vida libre son eslabones importantes en los ciclos de materia y energía, gracias a su rápida reproducción y a su consumo de grandes cantidades de alimento en su dieta diaria. Son cosmopolitas y de dispersión ubicua (Fenchel et al., 2019; Finlay, 2004); sin embargo, son más comunes en ambientes acuáticos, donde amibas, ciliados y flagelados heterótrofos depredan bacterias, algas y otros protistas, fungiendo como consumidores primarios y secundarios (Anderson, 2010; Finlay & Esteban, 1998; Sherr & Sherr, 2002). Los protistas forman parte del circuito microbiano y una de sus funciones principales es la de ser “reempacadores tróficos” que ponen al alcance de organismos de tallas mayores como rotíferos, cladóceros y copépodos, una porción muy importante de la materia y la energía contenida en las bacterias (Anderson, 2010; Gifford, 1991; Sherr & Sherr, 2002).

Las amibas, a pesar de tener algunas características morfológicas similares, actualmente son consideradas como un grupo polifilético cuyos miembros pertenecen a supergrupos diferentes dentro de la clasificación de los protistas (Adl et al., 2019; Pawlowski, 2008; Smirnov et al., 2011). En un principio, las amibas se clasificaron de acuerdo con sus características morfológicas y de alimentación, entre otras consideraciones (Page, 1976); sin embargo, en las últimas décadas se implementaron técnicas genéticas, que le han dado un cambio drástico a la taxonomía actual de las mismas (Fuerst et al., 2015; Godeanu, 2020). La mayoría de las amibas de vida libre se encuentran en el supergrupo Amoebozoa y los supergrupos Excavata, Rhizaria y Opisthokonta, siendo Amoebozoa el grupo más estudiado en cuanto a la taxonomía se refiere (Adl et al., 2019; Cavalier-Smith, 1998; Samba-Louaka et al., 2019; Smirnov et al., 2011).

A pesar de pertenecer a grupos diferentes, la característica más común en los amébidos es la presencia de pseudópodos, con los cuales realizan la locomoción y alimentación, fagocitando a sus presas con ellos. Aunque pueden llegar a alcanzar tamaños iguales o superiores a 500 μm , la mayoría de las especies tiene un tamaño menor a 30 μm . Numerosas

especies son capaces de formar quistes, lo cual les permite sobrevivir a condiciones adversas (Anderson, 2010; Finlay & Esteban, 1998; Page, 1988).

Las amibas de vida libre se pueden dividir en dos tipos; las que tienen testa (testadas) y las que no tienen testa (desnudas). La testa puede ser autógena, cuando las amibas secretan su propia testa que puede ser proteica, silíceo o calcárea; o puede ser xenogénica cuando es formada por la aglutinación de partículas orgánicas o minerales capturadas del ambiente (Ogden & Hedley, 1980; Patterson & Kumar, 2002). Son frecuentes en ambientes de agua dulce y salobre, incluidos los lagos y hábitats terrestres húmedos como turberas, suelos, cortezas de árbol, aguas estancadas y marismas. Este grupo es particularmente útil para el monitoreo de lagos y es asociado con cambios de pH, eutrofización y a contaminantes (Patterson et al., 2013; Patterson & Kumar, 2002).

En los cuerpos de agua, las amibas pueden vivir en el sedimento y se alimentan principalmente de bacterias, mientras que otras viven adheridas a las superficies, e inclusive se adhieren a la película superficial del agua. Las pocas amibas que se encuentran en la columna de agua suelen estar adheridas a partículas suspendidas (Finlay & Esteban, 1998; Rodríguez-Zaragoza, 1994; Rogerson et al., 2003). Las amibas de mayor tamaño son capaces de ingerir a otros protistas incluyendo ciliados, flagelados y algunas microalgas, convirtiéndolas en importantes eslabones dentro de las redes tróficas microbianas y participantes fundamentales en la purificación del agua, los ciclos de nutrientes y la mineralización de la materia orgánica (Anderson, 2010; Ren et al., 2018; Rodríguez-Zaragoza, 1994). Es importante mencionar que, aunque no es constante, existen diversos factores que pueden favorecer, o no, la presencia de las amibas en el ambiente, como lo son factores físicos y químicos; por ejemplo, la temperatura, oxígeno disuelto, salinidad, etc. (Patterson & Kumar, 2002; Rodríguez-Zaragoza, 1994), también pueden ser la presencia de otros organismos como macrófitas acuáticas, las cuales tienen el potencial de inhibir su desarrollo (Derda et al., 2016; Niyiyati et al., 2016) u otorgarles condiciones adecuadas para sobrevivir, como son sustrato, alimento y protección (Ramírez et al., 2010; Rodríguez-Zaragoza, 2005a; Rodríguez-Zaragoza, 2005b; Thomaz & Cunha, 2010).

No se conoce con profundidad la importancia de las amibas en los ecosistemas naturales ni la interacción entre las condiciones ambientales y las especies de este grupo (Ren et al., 2018). Una limitante significativa ha sido la carencia de métodos eficaces para el estudio de la diversidad de estos organismos, su cuantificación y sus funciones ecológicas, por lo cual se trata de un campo que ha sido poco abordado (Sherr & Sherr, 2002; Vickerman, 1992). Para su estudio suelen utilizarse métodos de cultivo para aislar e identificar a las amibas del ambiente; sin embargo, la fuente de alimento, temperatura y las especies no cultivables hacen que estos métodos sean inexactos, además de costosos y laboriosos. Se recurre a la identificación morfológica, ya que las técnicas moleculares se han enfocado a unas pocas especies y es difícil usar técnicas que permitan identificar a todas las amibas del medio. La identificación morfológica requiere experiencia y observar las muestras *in vivo*, ya que muchas veces el proceso de fijación provoca cambios citológicos, por lo que no pueden identificarse (Anderson & Rogerson, 2011; Delafont et al., 2016; Le Calvez et al., 2012; Reynaud et al., 2020). Estas son algunas de las razones por lo que otros protistas, como los ciliados, se han estudiado con mayor profundidad (Finlay & Esteban, 1998). Aunado a lo anterior, el estudio de las amibas de vida libre se ha centrado en unas pocas especies de importancia médica, debido al potencial patógeno que presentan, y se ha dejado de lado el estudio de la ecología de las especies no patógenas, las cuales son la abrumadora mayoría (Rodríguez-Zaragoza, 1994).

Las macrófitas suelen convertirse en componentes importantes en el hábitat acuático al influenciar procesos ecológicos, como el ciclo de nutrientes al ayudar en la transferencia de elementos químicos del sedimento al agua o al retener sólidos y nutrientes en las raíces u hojas sumergidas, y estos puedan ser usados por microalgas o bacterias. También se ha visto que pueden modificar, en el agua, el oxígeno, pH y alcalinidad como resultado de su metabolismo, o inclusive inhibir el desarrollo de microalgas, bacterias o cianobacterias gracias a sustancias alelopáticas que pueden secretar; sin embargo, uno de sus mayores roles en el hábitat donde se encuentra es la de conferir complejidad al hábitat acuático, tanto así que se ha usado para explicar la diversidad a microescalas, pues las estructuras sumergidas, como hojas, raíces y

tallos pueden fungir como sustrato al cual se pueden adherir microorganismos (Mieczan et al., 2018; Thomaz & Cunha, 2010).

Las macrófitas acuáticas, en aguas continentales, se pueden clasificar según su crecimiento; en enraizadas sumergidas, como algunas especies del género *Potamogeton*, enraizadas de hojas flotantes, enraizadas emergentes como *Hydrocotyle* spp., libres flotadoras y libres sumergidas (Evans, 1988; Lot & Novelo, 1988; Zepeda-Gómez et al., 2012).

Potamogeton es un género bastante frecuente en los cuerpos de agua mexicanos, tanto en aguas dulces y salinas, con temperaturas muy variables (González Gutiérrez, 1989; Zepeda-Gómez et al., 2012). Algunas especies del género han sido estudiadas, entre otras cosas, por su capacidad de fitorremediación (Nabi, 2021; Xu et al., 2021) y su efecto en la composición de comunidades de bacterias, algas y macroinvertebrados (Mieczan et al., 2018; Poi et al., 2021; Yan et al., 2019; Yin et al., 2020; Zhang et al., 2019). Por otro lado, *Hydrocotyle* crece por rizoma y llega a cubrir grandes áreas (Evans, 1988). Algunas especies de este género han sido objeto de estudio en ámbitos de fitorremediación (Basílico et al., 2017a, 2017b; Wong-Argüelles et al., 2021), relacionado a fitoquímica, farmacognosia, uso medicinal (Kaboua et al., 2021; Souza et al., 2021) y su efecto en la composición de comunidades de otras plantas, macroinvertebrados, fitoplancton y zooplancton (Reynolds & Aldridge, 2021; Stiers & Triest, 2017).

Es altamente probable que las macrófitas acuáticas tengan también una influencia importante sobre las amibas, pero esta interacción ha sido muy poco estudiada. Es por estas razones que el presente estudio busca aportar conocimiento a la ecología de las amibas acuáticas analizando cómo su composición y abundancia se relacionan con las diferentes condiciones ambientales en las que habitan y con un enfoque hacia la influencia que pueden tener dos tipos diferentes de plantas acuáticas.

Objetivos

General

Estudiar algunos aspectos ecológicos de las amibas de vida libre en un cuerpo de agua dulce con ausencia y presencia de dos diferentes macrófitas acuáticas.

Particulares

Conocer la riqueza específica de las amibas en un canal aledaño a la Laguna de Salazar, Estado de México, en ausencia de plantas y en la presencia de la macrófita sumergida *Potamogeton*, y de la macrófita emergente *Hydrocotyle*.

Calcular la densidad total de amibas en cada uno de los sitios muestreados.

Registrar la temperatura, conductividad, oxígeno disuelto, pH, clorofila, densidades de bacterias totales, fósforo y nitrógeno totales; en cada sitio.

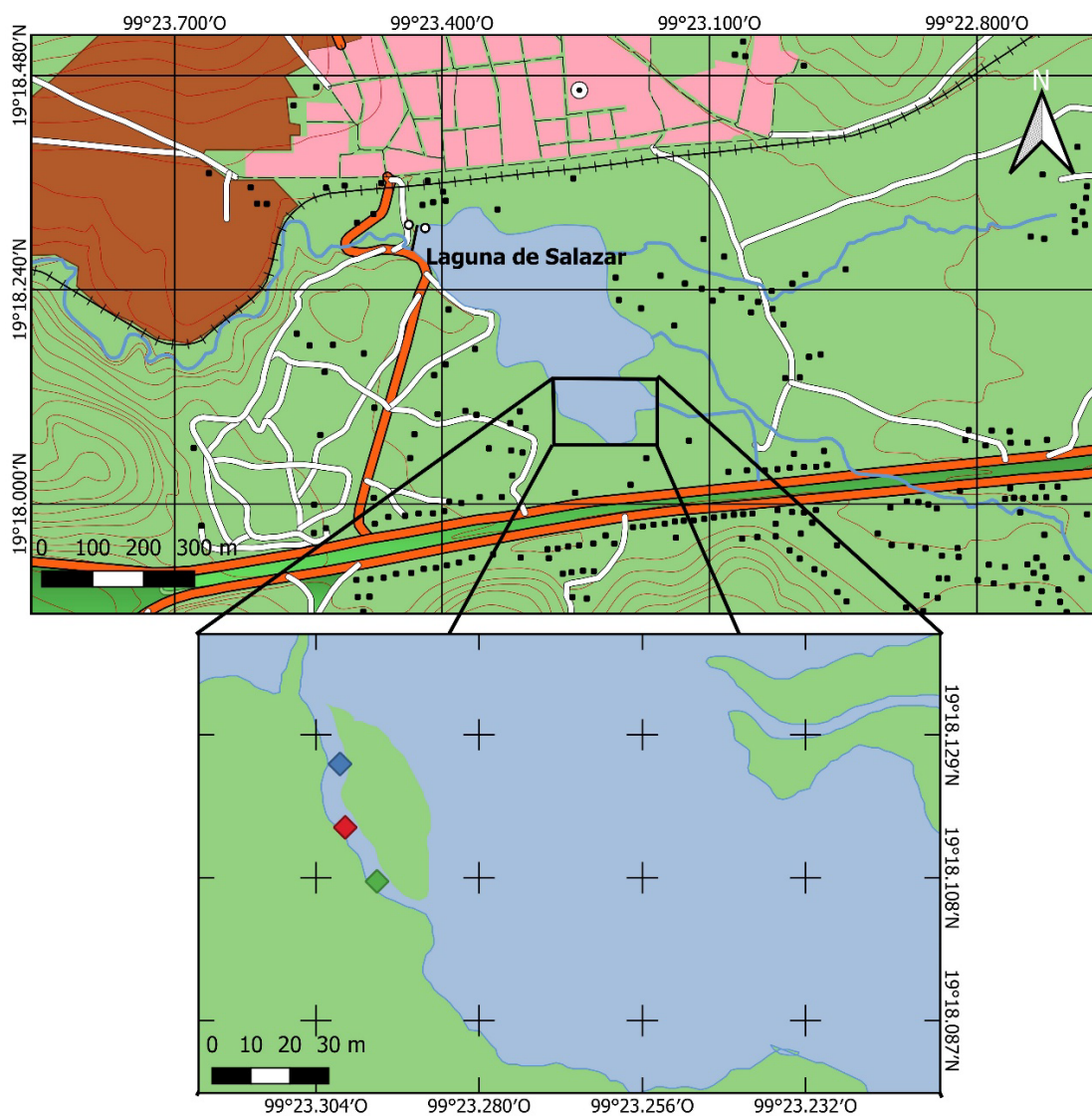
Analizar y comparar la riqueza y abundancia de las amibas en las tres condiciones ambientales distintas (ausencia de plantas, presencia de *Hydrocotyle* y presencia de *Potamogeton*) y relacionarla con las condiciones ambientales.

Metodología

Campo

Se realizaron dos muestreos en el año 2021, siendo el primero en el mes de marzo, cubriendo la época de secas, y el segundo en julio del mismo año, cubriendo la época de lluvias.

Los muestreos se realizaron en tres sitios, en un canal de aproximadamente 60 m de longitud y con una profundidad aproximada de 0.5 m, situado a la orilla de la Laguna de Salazar. Esta laguna es un cuerpo de agua somero ubicado en el Estado de México, el cual pertenece al Parque Nacional Insurgente Miguel Hidalgo y Costilla (**Figura 1**). El clima es semifrío-subhúmedo con una temperatura media de 10.1°C, con una precipitación promedio de 1306.5 mm (CONANP, 2019).



Simbología		
◆ Sin	+++ Via ferrea	○ Caminos
◆ Pota	○ Presa	— Carreteras
◆ Hydro	▪ Edificaciones	— Curvas de nivel
⊙ Poblado de Salazar	— Corrientes de agua	— Áreas urbanizadas
	— Laguna de Salazar	— Área de cultivo
	— Calles	

**Posgrado de Ciencias
Biológicas
UNAM**

Elaborado por Miguel A. Ramírez-Flores

Datum: WSG84 4326

Figura 1 Mapa de la zona de la Laguna de Salazar y puntos de muestreo en el canal de estudio.

El primer sitio correspondió a una zona con crecimiento de la macrófita acuática sumergida *Potamogeton* sp., el segundo sitio fue en una zona con crecimiento de la macrófita emergida *Hydrocotyle* sp., y un tercer sitio se ubicó en una zona sin macrófitas acuáticas (Figura 1).

Los sitios de muestreo se catalogaron como se muestra a continuación:

- Hydro1: Sitio con macrófita *Hydrocotyle*, primer muestreo (secas).
- Hydro2: Sitio con macrófita *Hydrocotyle*, segundo muestreo (lluvias).
- Pota1: Sitio con macrófita *Potamogeton*, primer muestreo (secas).
- Pota2: Sitio con macrófita *Potamogeton*, segundo muestreo (lluvias).
- Sin1: Sitio sin macrófita, primer muestreo (secas).
- Sin2: Sitio sin macrófita, segundo muestreo (lluvias).

En el primer muestreo se obtuvieron directamente 500 mL de la columna de agua (a 0.2 m de profundidad aproximada), de los cuales 15 mL se fijaron con formol al 2%, y 500 mL del bentos, incluyendo 2 cm del sedimento, colectados con un nucleador. Para el segundo muestreo se tomaron 500 mL de la columna de agua a la misma profundidad, también tomando 15 mL para fijarlos con formol al 2%, y 250 mL de la película superficial, con ayuda de un gotero de 20 mL. Para el primer y segundo muestreo se analizaron seis muestras en cada uno, tres del agua y tres del bentos para el primer muestreo y tres de agua y tres de la superficie en el segundo.

Todas las muestras se colocaron en frascos estériles de plástico y se mantuvieron a temperatura ambiente para su procesamiento 24 horas después en el laboratorio de Limnología y de Microbiología Ambiental dentro de la Unidad de Investigación Interdisciplinaria en Ciencias de la Salud y la Educación de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.

Adicionalmente, se midieron *in situ* la profundidad, temperatura, conductividad y oxígeno disuelto con una multisonda YSI modelo 85; mientras que el pH se midió con un potenciómetro Conductronic pH15.

Laboratorio

Identificación y densidades de amibas

Las muestras de agua se homogenizaron y se tomó una alícuota de 50 mL de cada una para la identificación de amibas, se concentró la alícuota por centrifugación (15 min a 3500 RPM en una centrifugadora Boecco U-32), posteriormente se inoculó un mL del pellet en una

caja de cultivo con agar NNE (Page, 1988) y otro en agar extracto de levadura y malta (Sigma®); este proceso se realizó por duplicado. Se incubaron las cajas a 25°C, realizando una primera identificación a las 48 h, y una segunda a las 72 h. Para la identificación de amibas testadas se tomó 0.1 mL de la alícuota y se observó directamente al microscopio. La identificación de las amibas se realizó en un microscopio óptico con contraste de fases (Zeiss K7 con objetivo 40x), de acuerdo con sus características morfológicas, siguiendo las claves de identificación de Lee et al., (2000), Page, (1988) y el artículo de Sigala et al., (2016). Para la identificación del género *Naegleria*, además de observar el trofozoíto y quiste, se realizó una prueba de flagelación (Page, 1988). La prueba de flagelación se realizó agregando agua destilada estéril al cultivo de las cepas que se ubicaron como probables de pertenecer al género. El cultivo se observó con el microscopio cada media hora para detectar la fase flagelada.

Para determinar la densidad total de amibas desnudas se realizó una modificación del método de una sola dilución descrito por Anderson y Rogerson (1995) y Smirnov & Brown (2004); se tomaron alícuotas de 50 mL de la muestra original, las cuales se centrifugaron por 15 min a 3500 RPM (Centrífuga Boecco U-32), se decantó el sobrenadante y el pellet se llevó a una dilución de 1:100. Se inocularon 10 µL de la dilución en cada pozo de una caja de cultivo de 48 pozos. Cada pozo contenía 2 mL de agar extracto de levadura y malta (Sigma®). Las cajas se incubaron a 25°C, realizando una observación a las 48 h en busca de crecimiento de amibas, y una segunda observación a las 72 h. Para la obtención de las densidades totales se contaron los números de pozos en los que hubo crecimiento de amibas y se utilizó la siguiente fórmula:

$$N = \frac{n \times 10^6}{V \times F}$$

Donde N es el número de amibas por litro; n es el número de pozos positivos; V es el volumen total en µL inoculados por plato de cultivo en los pozos (480); 10⁶ es un factor de conversión de µL a litros y F es el factor de dilución usado (100). Las densidades de amibas se calcularon como número de amibas por litro (amibas/L); sin embargo, Smirnov & Brown (2004) propusieron el término de mínima abundancia posible (MPA por sus siglas en inglés, Minimal

Posible Abundance), por lo que en los cuadros 2 y 3, así como en el resto del escrito, así se referirá.

Para el conteo de amibas testadas se colocó 0.1 mL, de la alícuota concentrada, en una cámara de Palmer Maloney y se contaron las testas totales presentes a un aumento de 400x. Se realizó el conteo por triplicado y se obtuvo el promedio. Posteriormente se realizó una corrección por la concentración y se extrapolaron para obtener los números de amibas testadas totales por litro de agua (AT/L).

Medición de parámetros ambientales

Para medir el nitrógeno y fósforo totales se tomaron 50 mL de cada muestra se realizó la digestión química de la materia orgánica presente utilizando persulfato de potasio en condiciones básicas. Las muestras se colocaron en autoclave durante 30 minutos a 115 °C (Valderrama, 1981). Una vez que las muestras alcanzaron la temperatura ambiente se procedió al análisis del nitrógeno y el fósforo totales; el primero se determinó en forma de N-NO_3^- en mg/L y el fósforo en forma de P-PO_4^{3-} en mg/L, con los métodos espectrofotométricos de reducción de cadmio (Nitriver 5) y del ácido ascórbico (Phosver 5), respectivamente, utilizando un laboratorio portátil de calidad de agua marca HACH modelo DREL/2000.

El recuento de bacterias totales se realizó con la técnica de epifluorescencia con 4'6-diamino-2-fenilindol (DAPI) (Porter & Feig, 1980). Se realizó un filtrado con una bomba manual de vacío a través de filtros de policarbonato de 0.22 μm de apertura de poro y de 13 mm de diámetro previamente teñidos con una solución saturada de negro clorazol como fondo de contraste. A 2 mL de la muestra fijada con formol se le agregaron 50 μL de DAPI, dejándolo reaccionar de 5 a 10 min. Una vez pasado ese tiempo se filtró la muestra y el filtro se montó sobre una gota de aceite de inmersión en un portaobjetos, se colocó otra gota encima para evitar la desecación y se colocó un cubreobjetos. Las observaciones se llevaron a cabo con un microscopio Axioscop A1 Carl Zeiss equipado con filtros G365, FT395 y LP420 a un aumento de 1000X. Para el primer muestreo se contaron 200 bacterias por muestra, por lo que el

intervalo de confianza fue de $\pm 20\%$, mientras que para el segundo muestreo se contaron 400 bacterias por muestra, dando un intervalo de confianza de $\pm 10\%$ para la estimación de la media (Wetzel & Likens, 2000).

El cálculo de la densidad de bacterias se realizó utilizando un micrómetro cuadrado de Whipple, y usando la siguiente fórmula:

$$x = \frac{B \times Af}{Nc \times Ac} \times Vm$$

Donde x es el número de bacterias/mL; B es el número de bacterias contadas; Af es el área filtrable ($7 \times 10^6 \mu\text{m}^2$); Nc es el número de cuadrantes contados; Ac es el área del cuadrante ($169 \mu\text{m}^2$) y Vm es el volumen filtrado.

La clorofila a fue medida mediante el método de Arar y Collins (1997). Se filtraron las muestras de agua (1 a 5 mL de cada una) a través de filtros de fibra de vidrio Whatman GF/F (Tamaño de poro de $0.7 \mu\text{m}$). Para la extracción se colocaron los filtros en acetona al 90% durante aproximadamente 24 horas a 4°C y en ausencia de luz. Posteriormente, los filtros se maceraron y se eliminó la turbidez mediante centrifugación a 3000 RPM durante 15 minutos. El sobrenadante se colocó en celdas de cristal y se midió su fluorescencia mediante un fluorómetro Turner Designs modelo 10AU adecuadamente calibrado.

Para la dureza total y de calcio se tomaron dos alícuotas de 50 mL, y por el método de titulación con EDTA se midió la dureza de calcio y total (American Public Health Association et al., 2017).

Análisis estadísticos

Se realizó un análisis de rarefacción Mao Tau basado en muestras y una estimación de Chao2 con el programa EstimateS ver. 9.1 (Colwell & Elsensohn, 2014) para estimar si las especies encontradas eran todas las especies que se podrían encontrar en los muestreos, así como hacer una extrapolación de muestreos y observar cuantos muestreos son necesarios para alcanzar el número de especies estimadas. Posteriormente se usó el programa PAST (Hammer et al., 2001) para realizar los siguientes análisis: para comprobar si existían diferencias

significativas entre los sitios de muestreo se realizaron dos ANOSIM; uno utilizando los datos de riqueza de especies de amibas y otro con los datos de los parámetros físicos y químicos.

Además, se aplicó un análisis de agrupamiento de los sitios y épocas para construir un dendrograma de similitud mediante el índice de Jaccard y el método de agrupamiento UPGMA, con los datos de presencia o ausencia de amibas. Se realizó un análisis no paramétrico de correlación de Spearman con los datos de densidades de bacterias y densidades de amibas para establecer si había relación entre los protistas y su principal alimento. Para ordenar los sitios de acuerdo con su parecido en las variables ambientales se realizó un análisis de ordenamiento no métrico multidimensional (NMDS) usando los datos de las variables físicas y químicas. Finalmente, para observar las relaciones de los sitios de muestreos y las especies halladas con los parámetros ambientales, se realizó un análisis de correspondencias canónicas (CCA).

Resultados

Riqueza específica general

En total se identificaron 15 taxones pertenecientes a 11 géneros (**Cuadro 1**).

Cuadro 1

Riqueza específica del canal. Propuesta taxonómica de Smirnov et al., (2011) y Adl et al., (2019). Fotos y descripciones de las amibas en Anexo 1

Género	Taxón
<i>Acanthamoeba</i> (Volkonsky, 1931)	<i>A. castellanii</i> (Douglas, 1930)
	<i>A. polyphaga</i> (Puschkarew, 1913)
	<i>A. triangularis</i> (Pussard & Pons, 1977)
<i>Arcella</i> (Ehrenberg, 1832)	<i>Arcella</i> sp.1
	<i>Arcella</i> sp.2
<i>Diffflugia</i> (Leclerc, 1815)	<i>Diffflugia</i> sp.
<i>Korotnevella</i> (Goodkov, 1988)	<i>K. stella</i> (Schaeffer, 1926 emend. Goodkov, 1988)

<i>Hartmannella</i> (Alexeieff, 1912 emend. Page, 1974)	<i>H. cantabrigiensis</i> (Page, 1974)
<i>Naegleria</i> (Alexeieff, 1912 emend. Calkins, 1913)	<i>Naegleria</i> sp.
<i>Saccamoeba</i> (Frenzel, 1982 emend. Bovee, 1972)	<i>S. stagnicola</i> (Page, 1974)
<i>Thecamoeba</i> (Fromentel, 1874)	<i>T. quadrilineata</i> (Carter, 1856 emend. Lepši, 1960)
<i>Vahlkampfia</i> (Chatton & Lalung-Bonnaire, 1912)	<i>V. ustiana</i> (Page, 1974)
<i>Vannella</i> (Bovee, 1965)	<i>V. platypodia</i> (Gläser, 1912) <i>V. simplex</i> (Wohlfasrth-Botterman, 1960 emend. Bovee 1965)
<i>Vermamoeba</i> (Cavalier-Smith & Smirnov, 2011)	<i>V. vermiformis</i> (Page, 1967 emend (Cavalier-Smith & Smirnov, 2011)

El análisis de rarefacción Mau Tao (**Figura 2**) muestra que la acumulación de especies con 12 muestras es la misma que se observó (15 taxones), por lo que se puede decir que en el muestreo no hubo taxones faltantes a lo modelado según la curva. Por otra parte, según el análisis de estimación de especies de Chao2, la cantidad de taxones para las 12 muestras debe ser de 16; sin embargo, la diferencia es de un taxón, que equivale a menos del 10 % del total de taxones que se pueden hallar, según el modelo. El análisis de rarefacción Mau Tao y el de estimación Chao2 señalaron que los taxones identificados representaron al menos el 90% de la riqueza específica teórica esperada.

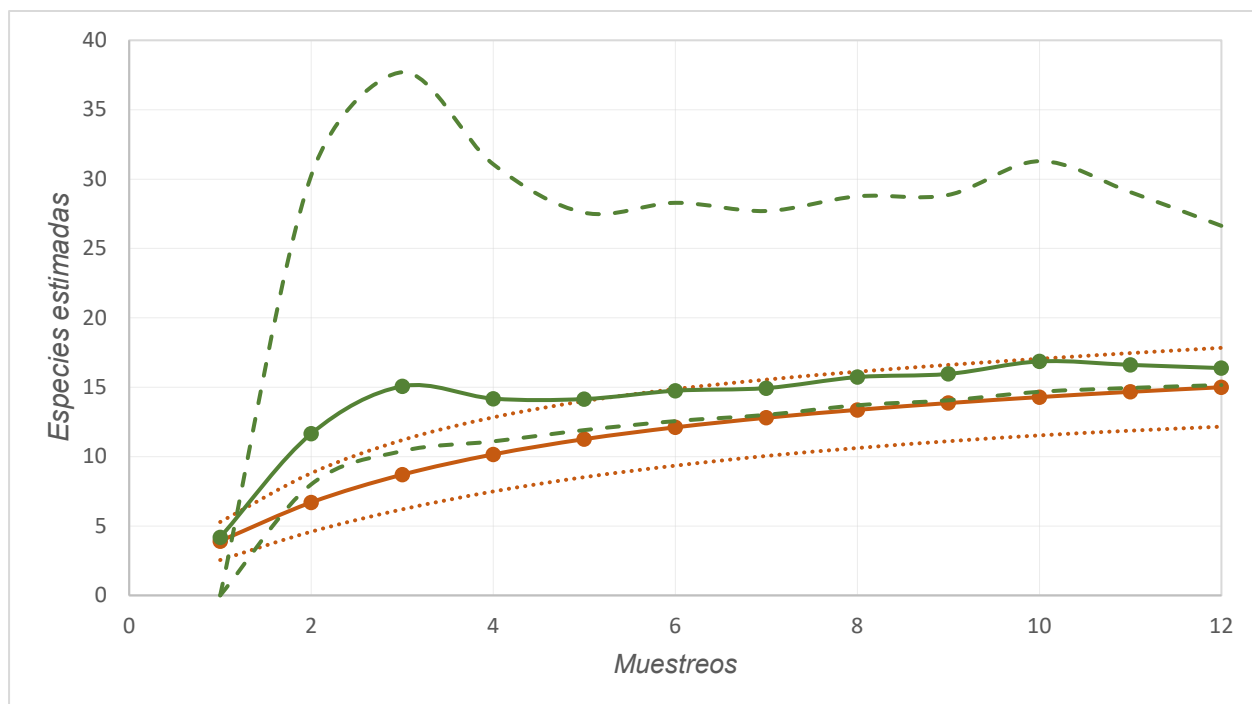


Figura 2 Análisis de rarefacción Mau Tao (línea naranja) y análisis de estimación de especies Chao2 (línea verde). 100 re-aleatorizaciones. Líneas guionadas verdes indican el intervalo a un 95% de confianza de la estimación de Chao2. Líneas punteadas naranjas indican el intervalo a un 95% de confianza de la curva de rarefacción. Extrapolación del análisis de rarefacción en Anexo2.

En la extrapolación realizada con el análisis de rarefacción Mau Tao (**Anexo 2**) se observó que obteniendo el doble de muestras se estima que se encontrarían sólo dos taxones más.

Riqueza específica de amibas en los sitios de muestreo

En el Cuadro 2 se observa que el número de taxones entre Pota1 y Sin1 es similar, aunque su composición es distinta. En Pota1 el mayor número de taxones se encontró en la columna de agua y en Sin1 sólo se observaron taxones en la columna de agua; en cuanto a la composición, cuatro taxones coincidieron en ambos sitios. A pesar de lo anterior, la MPA y las AT/L difiere, ya que Pota1 tiene casi el doble de MPA y miles de veces más AT/L que Sin1, lo que puede indicar que existe algún factor que afecte la MPA en este último.

En Hydro1 se obtuvo el mayor número de taxones, tanto en general como por tipo de muestra, a su vez, la MPA y AT/L son más altas que en los otros sitios.

Cuadro 2

Riqueza específica del primer muestreo (secas) dada por cada sitio y tipo de muestra. También se muestran las densidades de amibas y número de taxones identificados por cada sitio. MPA=Minimal Possible Abundance, AT/L= Amibas Testadas por Litro.

Época de secas					
	Columna de agua	Bentos	MPA*	AT/L	Taxones
Pota1	<i>Arcella</i> sp.1	<i>Korotnevella stella</i>	4791	41333	6
	<i>Diffugia</i> sp.	<i>Vahlkampfia ustiana</i>			
	<i>Naegleria</i> sp.	<i>Vannella platypodia</i>			
	<i>Vahlkampfia ustiana</i>				
Hydro1	<i>Arcella</i> sp.1	<i>Korotnevella stella</i>	5208	92667	7
	<i>Hartmannella cantabrigiensis</i>	<i>Naegleria</i> sp.			
	<i>Naegleria</i> sp.	<i>Vannella platypodia</i>			
	<i>Vahlkampfia ustiana</i>	<i>Vermamoeba vermiformis</i>			
	<i>Vannella platypodia</i>				
	<i>Vermamoeba vermiformis</i>				
Sin1	<i>Arcella</i> sp.1		2499	9333	6
	<i>Diffugia</i> sp.				
	<i>Hartmannella cantabrigiensis</i>				
	<i>Korotnevella stella</i>				
	<i>Naegleria</i> sp.				
	<i>Vannella simplex</i>				

*densidades de amibas consideradas únicamente de la columna de agua

Arcella sp.1, *Naegleria* sp. y *Korotnevella stella* son los únicos taxones que se aislaron en todos los sitios del primer muestreo. *Vannella simplex* y *Vermamoeba vermiformis*, por su parte, son los únicos taxones que sólo se encontraron en un sitio.

En relación con el segundo muestreo, el Cuadro 3 muestra que el número de taxones en Hydro2 fue mayor con respecto al primer muestreo, mientras que Pota2 mantiene el mismo número que en el primer muestreo y Sin2 disminuyó. La composición entre sitios varió más que en el primer muestreo.

Los valores de la MPA de Pota1 fueron muy similares entre la columna de agua y la película superficial, aunque la composición fue diferente. Sin2 tiene un valor mayor en cuanto a su MPA

de la columna de agua y la superficie, sin embargo, la composición es parecida, pues tres taxones de la columna de agua se encontraron en la película superficial.

En Hydro2 se obtuvo una diferencia entre la MPA de la película superficial y la columna de agua, siendo la de película superficial de 3750 y la columna de agua de 8334. También muestra el número más alto de taxones observados.

Cuadro 3

Riqueza específica del segundo muestreo (lluvias) por cada sitio y tipo de muestra. Se muestran las densidades de amibas y número de taxones identificados por cada sitio. MPA=Minimal Possible Abundance, AT/L= Amibas Testadas por Litro

Época de lluvias						
	Columna de agua	Superficie	MPA		AT/L	Taxones
			Columna	Superficie	Columna	
Pota2	<i>Arcella</i> sp.1	<i>Acanthamoeba castellanii</i>	2917	2500	53333	6
	<i>Arcella</i> sp.2	<i>Acanthamoeba polyphaga</i>				
	<i>Naegleria</i> sp.					
	<i>Saccamoeba stagnicola</i>					
Hydro2	<i>Acanthamoeba triangularis</i>	<i>Acanthamoeba polyphaga</i>	8334	3750	31333	8
	<i>Arcella</i> sp.1	<i>Acanthamoeba triangularis</i>				
	<i>Hartmannella cantabrigiensis</i>	<i>Hartmannella cantabrigiensis</i>				
	<i>Naegleria</i> sp.					
	<i>Thecamoeba quadrilineata</i>					
	<i>Vannella platypodia</i>					
	<i>Vannella simplex</i>					
Sin2	<i>Arcella</i> sp.1	<i>Naegleria</i> sp.	5833	4583	6667	5
	<i>Vahlkampfia ustiana</i>	<i>Vahlkampfia ustiana</i>				
	<i>Vannella simplex</i>	<i>Vannella simplex</i>				
	<i>Vermamoeba vermiformis</i>	<i>Vermamoeba vermiformis</i>				

En Hydro2 y Sin2 se encontró la misma amiba testada (*Arcella* sp.1) y Pota2 tuvo a dos taxones (*Arcella* sp.1 y *Arcella* sp.2). En Pota2 se obtuvo un número de AT/L mayor que en Pota1, a pesar de que en ambas épocas se cuenta con dos taxones de amibas testadas. Por otra parte, para los sitios Hydro2 y Sin2 se halló un número menor de AT/L que en la época de

secas; observando que Hydro2 no fue el sitio con mayor abundancia de amibas testadas, pero sí de amibas desnudas.

Acanthamoeba castellanii, *Acanthamoeba triangularis*, *Arcella* sp.2, *Hartmannella cantabrigiensis*, *Saccamoeba stagnicola*, *Thecamoeba quadrilineata*., *Vahlkampfia ustiana* y *Vannella platypodia* son especies que se encontraron en un solo sitio de muestreo, mientras que *Naegleria* sp., *Arcella* sp.1 y *Vermamoeba vermiformis* se observaron en todos los sitios.

En total, en el sitio con la macrófita *Potamogeton* se observaron 11 taxones; *Acanthamoeba castellanii*, *A. polyphaga*, *Arcella* sp.1, *Arcella* sp.2, *Diffugia* sp., *Korotnevella stella*, *Naegleria* sp., *Saccamoeba stagnicola*, *Vahlkampfia ustiana*, *Vannella platypodia* y *Vermamoeba vermiformis*. En el sitio con la macrófita *Hydrocotyle* también se identificaron 11 taxones; *Acanthamoeba polyphaga*, *A. triangularis*, *Arcella* sp.1, *Korotnevella stella*, *Hartmannella cantabrigiensis*, *Naegleria* sp., *Thecamoeba quadrilineata*, *Vahlkampfia ustiana*, *Vannella platypodia*, *V. simplex* y *Vermamoeba vermiformis*. Por último, el sitio sin macrófitas tuvo siete taxones; *Arcella* sp.1, *Korotnevella stella*, *Hartmannella cantabrigiensis*, *Naegleria* sp., *Vahlkampfia ustiana*, *Vannella simplex* y *Vermamoeba vermiformis*.

El resultado del ANOSIM realizado entre los sitios de muestreo con base en la presencia o ausencia de las amibas (Índice de Jaccard), no mostró alguna diferencia significativa ($p > 0.06$), entre los sitios, es decir, todos tuvieron una composición similar (**Anexo 2**).

La Figura 3 corresponde al dendrograma resultante del análisis de agrupamiento entre sitios de muestreo (tabla de datos en Anexo 2), donde se muestra que la composición de amibas entre los sitios Hydro1 e Hydro2 fue similar, con casi un 60% de similitud, coincidiendo en cinco taxones ambos sitios, siendo Hydro2 el sitio que tuvo mayor número de taxones (**Cuadro 1**). No se formó una agrupación entre los sitios de la época de lluvias o del mismo sitio en las dos épocas, pero sí se formó una agrupación entre el sitio Sin2 y Pota1, dos sitios diferentes de épocas diferentes, el sitio Sin2 tuvo solo un taxon menos que Pota1 y coinciden tres taxones entre ellos.

Pota2 es el sitio con la menor similitud, probablemente debido a que tuvo dos taxones que no están presentes en ningún otro sitio.

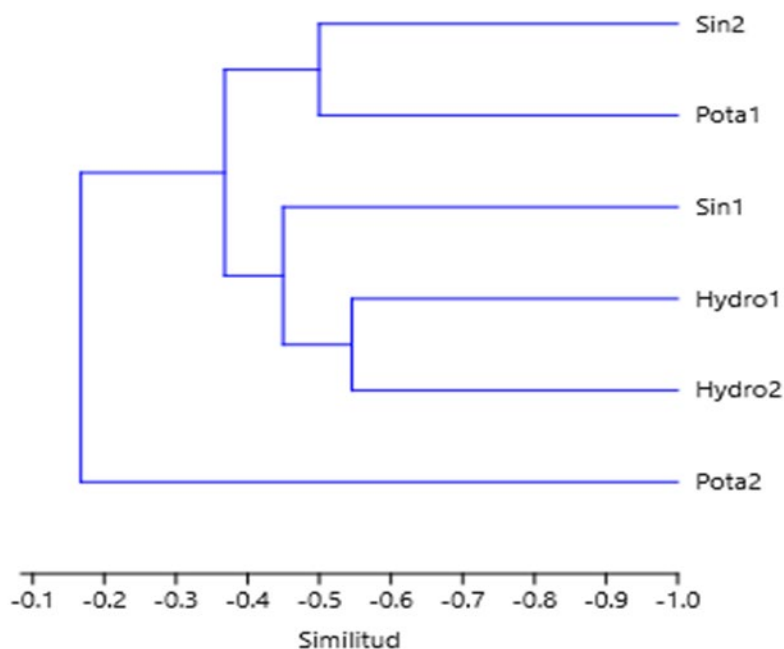


Figura 3 Dendrograma de análisis de agrupamientos por sitio de muestreo y época. Método de unión UPGMA. Índice de Jaccard. Tabla con valores de similitud en Anexo 2.

En la Figura 4 se encuentra el dendrograma resultante de un análisis de agrupamientos entre los tipos de muestra tomados, encontrando que las muestras Sed1 y Agua1 formaron un grupo con una similitud aproximada del 70%. Esto es congruente, puesto que ambos tipos de muestra corresponden al mismo muestreo y sitio; no obstante, como se observa en el Cuadro 1, la composición del tipo de muestra en cada sitio es diferente, mayormente notorio en el sitio Sin3, donde no se pudo observar ninguna especie en el sedimento.

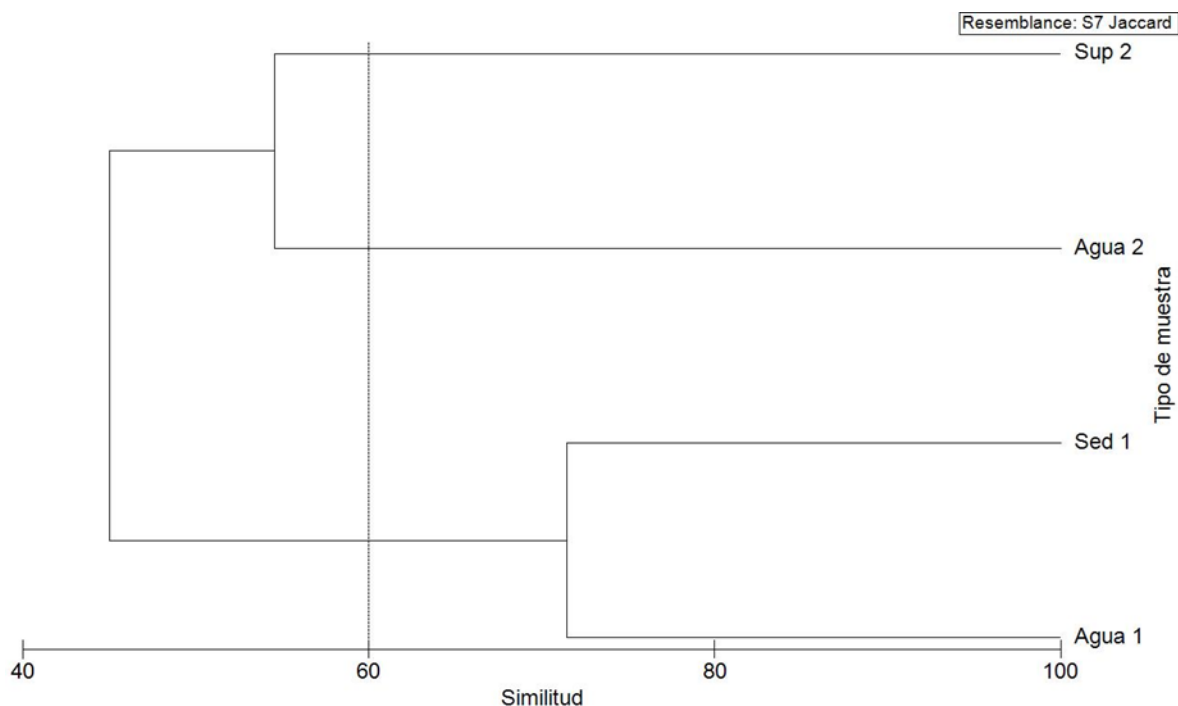


Figura 4 Dendrograma de análisis de agrupamientos por tipo de muestra y época. Método de unión UPGMA. Los números 1 y 2 indican el primer y segundo muestreo, respectivamente; Agua = muestra tomada de la columna del agua, Sed = muestra tomada del bentos, Sup = muestra tomada de la superficie del agua.

Densidades de bacterias

Las densidades totales de bacterias fueron más bajas en la temporada de secas, con valores de 6.18×10^5 bacterias/mL. En el Figura 5 se puede observar que las densidades totales de bacterias en el primer muestreo fueron semejantes entre los tres sitios. En cuanto al morfotipo de bacteria predominante se encontró que fueron los bacilos, teniendo los mayores porcentajes en los tres sitios (Pota1 con 49%, Hydro1 con 54% y Sin1 con 63%). Las bacterias de morfología larga (filamentos) fueron las que se encontraron en menor porcentaje (menos del 15 %), en los tres sitios y los cocos tuvieron un porcentaje máximo del 41% y mínimo de 23%.

Para la temporada de lluvias, las densidades totales de bacterias fueron más altas que en la temporada de secas, siendo Pota1 el sitio con la menor densidad (1.23×10^6 bacterias/mL). De nuevo, fueron los bacilos los que se encontraron en mayor porcentaje en los tres sitios, seguido por cocos y al último los de morfología larga.

Se observa en la Figura 5 que existe mayor variación en las densidades totales entre cada sitio.

De acuerdo con el análisis de correlación de Spearman, se encontró correlación significativa ($p= 0.056$) (Kim & Choi, 2019) entre las densidades de bacterias totales (cocos, bacilos y largas) y la MPA de amibas (**Anexo 2**).

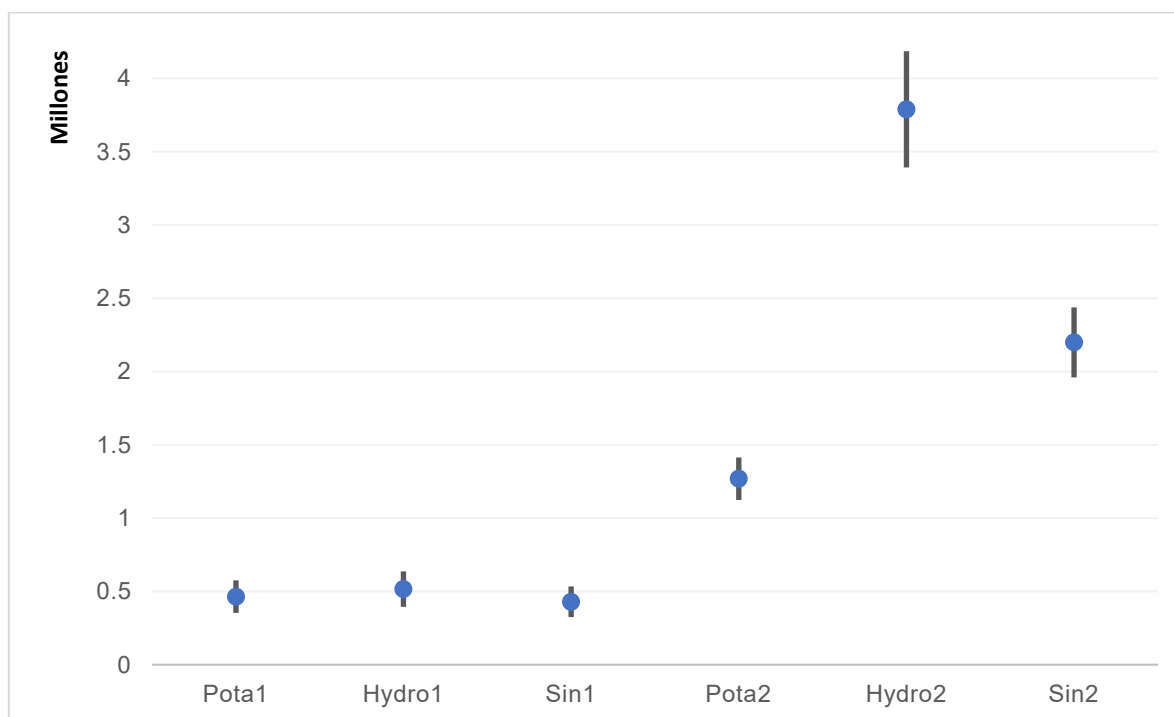


Figura 5 Densidades totales de bacterias/mL por cada sitio en ambos muestreos. Se indican con líneas los intervalos de confianza para cada sitio (20% para el primer muestreo y 10% para el segundo muestreo).

Clorofila a

En los sitios Hydro1 y 2 se obtuvieron las concentraciones más altas de clorofila a (>25 $\mu\text{g/L}$) aunque se puede observar (**Figura 6**) que las concentraciones obtenidas en Hydro2 fueron más bajas que en Hydro1. Entre los otros sitios de muestreos, ninguno tuvo concentraciones mayores a 16 $\mu\text{g/L}$; sin embargo, hubo una diferencia entre los muestreos en el mismo sitio: Pota1 fue más alto que Pota2, y Sin1 fue ligeramente más bajo que Sin2.

De acuerdo con OCDE (1982) y a las concentraciones de clorofila a obtenidos, se puede ubicar al canal como un sistema eutrófico exceptuando la zona de *Hydrocotyle*, donde las concentraciones corresponden a un sistema hipereutrófico (Moreno-Franco, 2010).

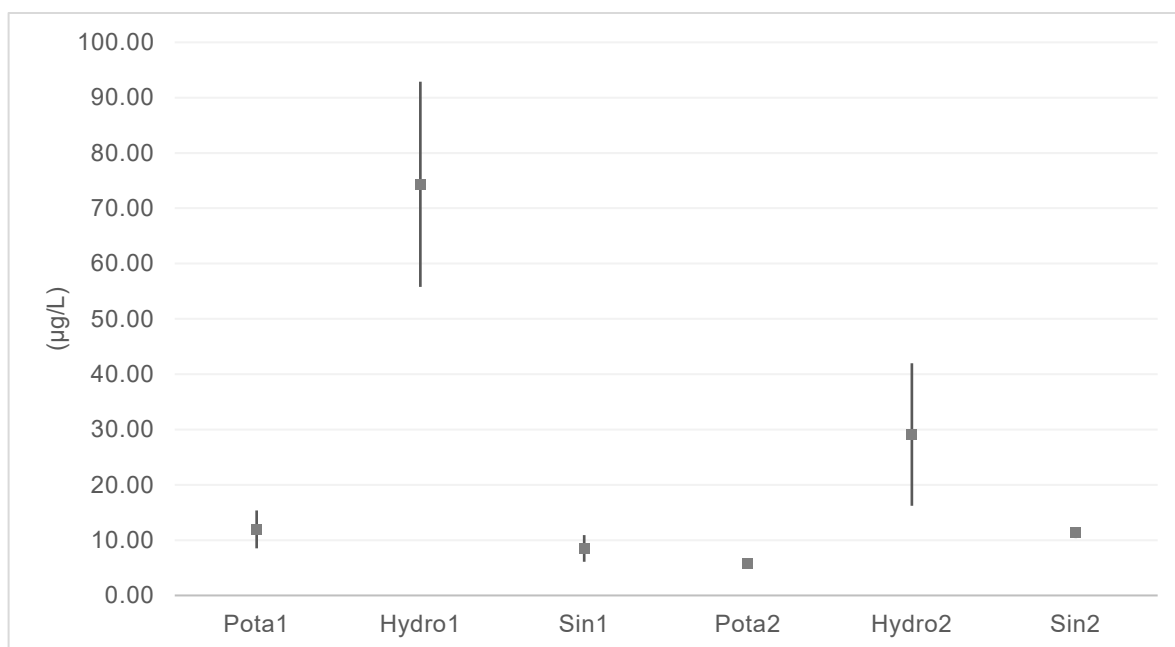


Figura 6 Clorofila a obtenida en cada sitio de muestreo. Se indican con líneas los límites dados por la desviación estándar.

Parámetros físicos y químicos

El oxígeno disuelto tuvo una variación notoria (**Figura 7**) en el primer muestreo, con concentraciones desde 6.42 a 9.38 mg/L; mientras que, en el segundo muestreo, se registró un valor máximo de 7.42 mg/L y mínimo de 6.25 mg/L. En la Figura 7 se observa cómo se invierte la tendencia del oxígeno entre los sitios, en el primer muestreo el valor más alto fue en *Potamogeton* y el más bajo en el sitio Sin planta; para el segundo muestreo se obtuvieron el valor más bajo y alto respectivamente.

En la Figura 8 se observa que la temperatura aumentó en el segundo muestreo respecto al primero, teniendo como valor más alto 17.7°C para el primero y 19.6°C para el segundo. El mayor aumento de temperatura se presentó en el sitio de *Hydrocotyle*, aumentando 3°C.

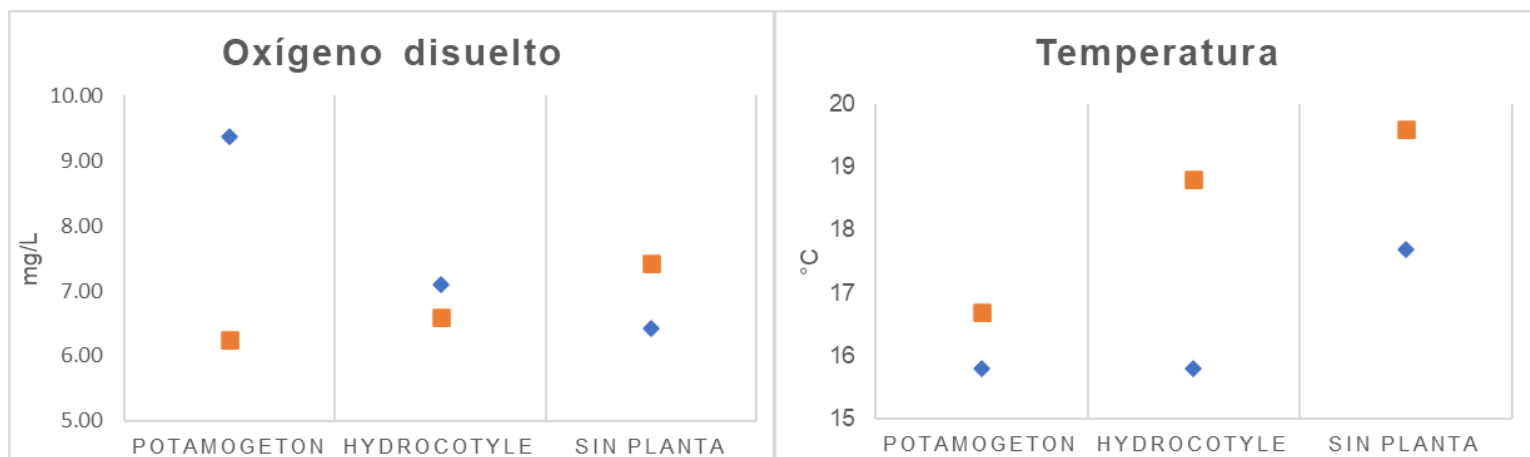


Figura 7 y 8 Oxígeno disuelto y temperatura en cada sitio de muestreo. Rombo azul indica el dato para el primer muestreo, cuadrado naranja indica el dato para el segundo muestreo.

En la Figura 9 se aprecia una amplia variación en la conductividad del sitio *Hydrocotyle* entre el primer y segundo muestreo, aproximadamente de 130 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Los sitios de *Potamogeton* y Sin Planta mostraron concentraciones similares entre ellos y entre muestreos.

El pH del canal tiende a ser básico y se observó una pequeña variación entre sitios en el primer muestreo, con valores casi idénticos en los sitios de *Hydrocotyle* y Sin planta, en *Potamogeton* se registró un valor de 8.6, que fue el mayor. Para el segundo muestreo se observó que *Potamogeton* aumentó a 9.28 su valor de pH y sigue siendo el más alto entre los sitios; el sitio Sin planta disminuyó su pH a un valor cercano a siete (**Figura 10**).

Se puede observar en las Figuras 11 y 12 que tanto el fósforo, como el nitrógeno tuvieron concentraciones menores en el segundo muestreo. El fósforo sigue el mismo patrón tanto para el primer, como para el segundo muestreo; observándose como concentraciones más bajas los del sitio *Hydrocotyle*.

El nitrógeno tuvo su valor más bajo en el segundo muestreo, en el sitio *Hydrocotyle*, a su vez en este sitio está la variación más grande entre muestreos. El sitio Sin Planta obtuvo las concentraciones más altas con un máximo de 3.4 mg/L de N-NO_3^- .

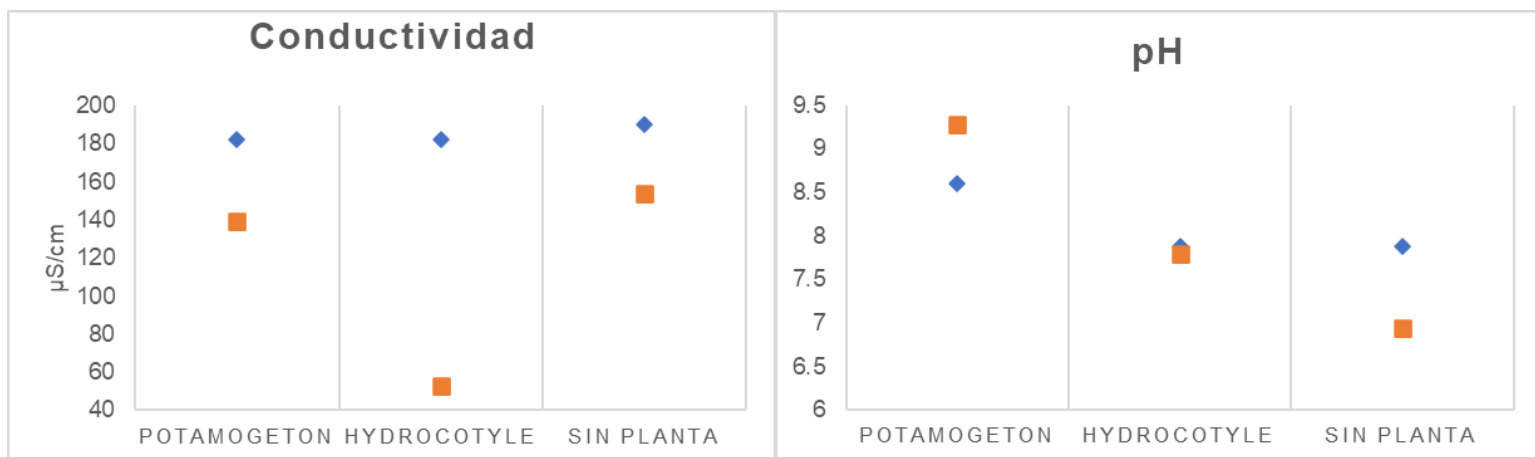


Figura 9 y 10 Conductividad y pH en cada sitio de muestreo. Rombo azul indica el dato para el primer muestreo, cuadrado naranja indica el dato para el segundo muestreo.

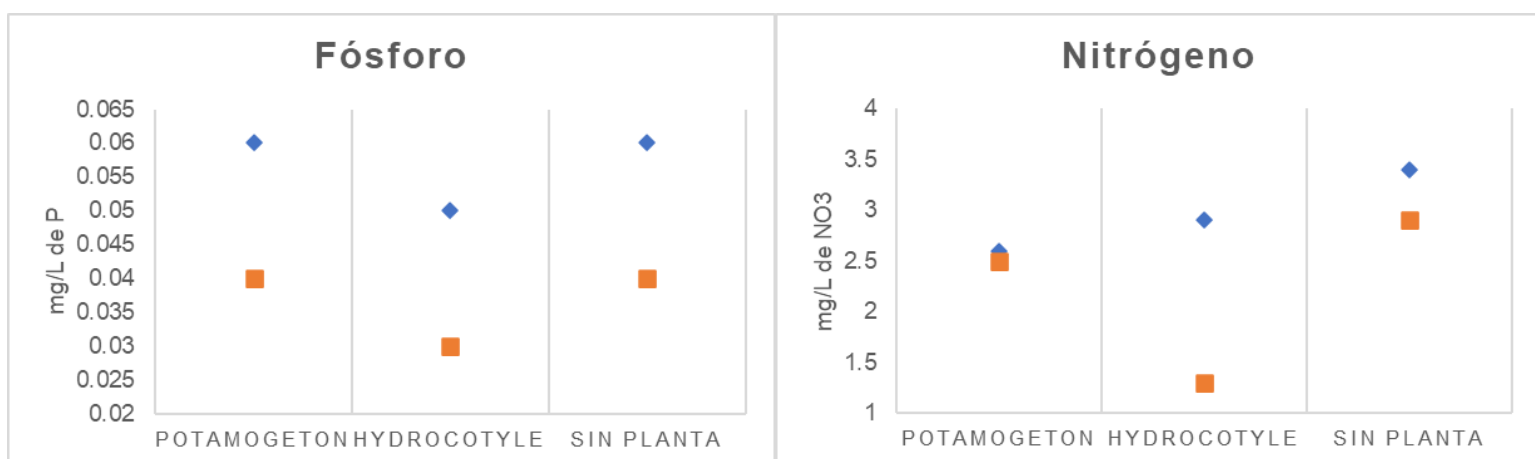


Figura 11 y 12 Fósforo y Nitrógeno totales en cada sitio de muestreo. Nitrógeno medido como Nitratos y fósforo medido como ortofosfatos. Rombo azul indica el dato para el primer muestreo, cuadrado naranja indica el dato para el segundo muestreo.

En los sitios de *Hydrocotyle* y Sin planta, las concentraciones de dureza total fueron menores en el primer muestreo, por el contrario, en el sitio de *Potamogeton*, el valor del primer muestreo fue mayor, y también el más alto con 46.5 mg de CaCO_3/L . La mayor variación se encontró en el sitio Sin Planta, con 20 mg de CaCO_3/L de diferencia (**Figura 13**).

De acuerdo con las concentraciones de nitrógeno y fósforo totales, el canal se encuentra como un sistema eutrófico y contaminado (Brönmark, 2005).

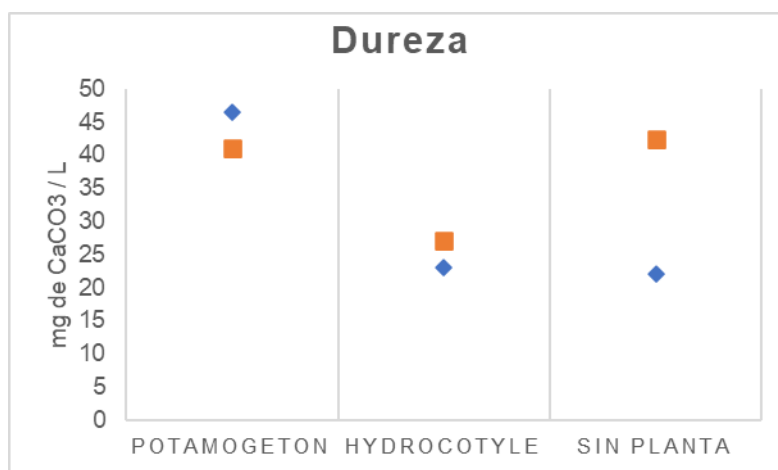


Figura 13 Concentraciones de dureza total para cada sitio de muestreo. Rombo azul indica el dato para el primer muestreo, cuadrado naranja indica el dato para el segundo muestreo.

No se encontró ninguna correlación significativa ($p > 0.06$) entre los parámetros físicos y químicos con la MPA de amibas desnudas o las AT/L de testadas (**Anexo 2**). A su vez, el ANOSIM no mostró diferencias significativas ($p > 0.06$) entre sitios y muestreos por sus parámetros físicos y químicos. El análisis se encuentra en el Anexo 2. A pesar de lo anterior, el análisis NMMS muestra (**Figura 14**) que al menos el sitio *Hydrocotyle* es muy similar en ambos muestreos, pues Hydro 1 y 2 están ubicados cerca en el gráfico. Los otros sitios tuvieron poca similitud; sin embargo, se puede decir que los sitios se pueden agrupar por la presencia de la macrófita *Potamogeton* y la ausencia de macrófita; es decir, que, aunque no sean significativos, los sitios con la misma macrófita, o sin macrófita, son relativamente parecidos entre épocas y que la macrófita sí genera un ambiente diferente dependiendo de la presencia y el tipo.

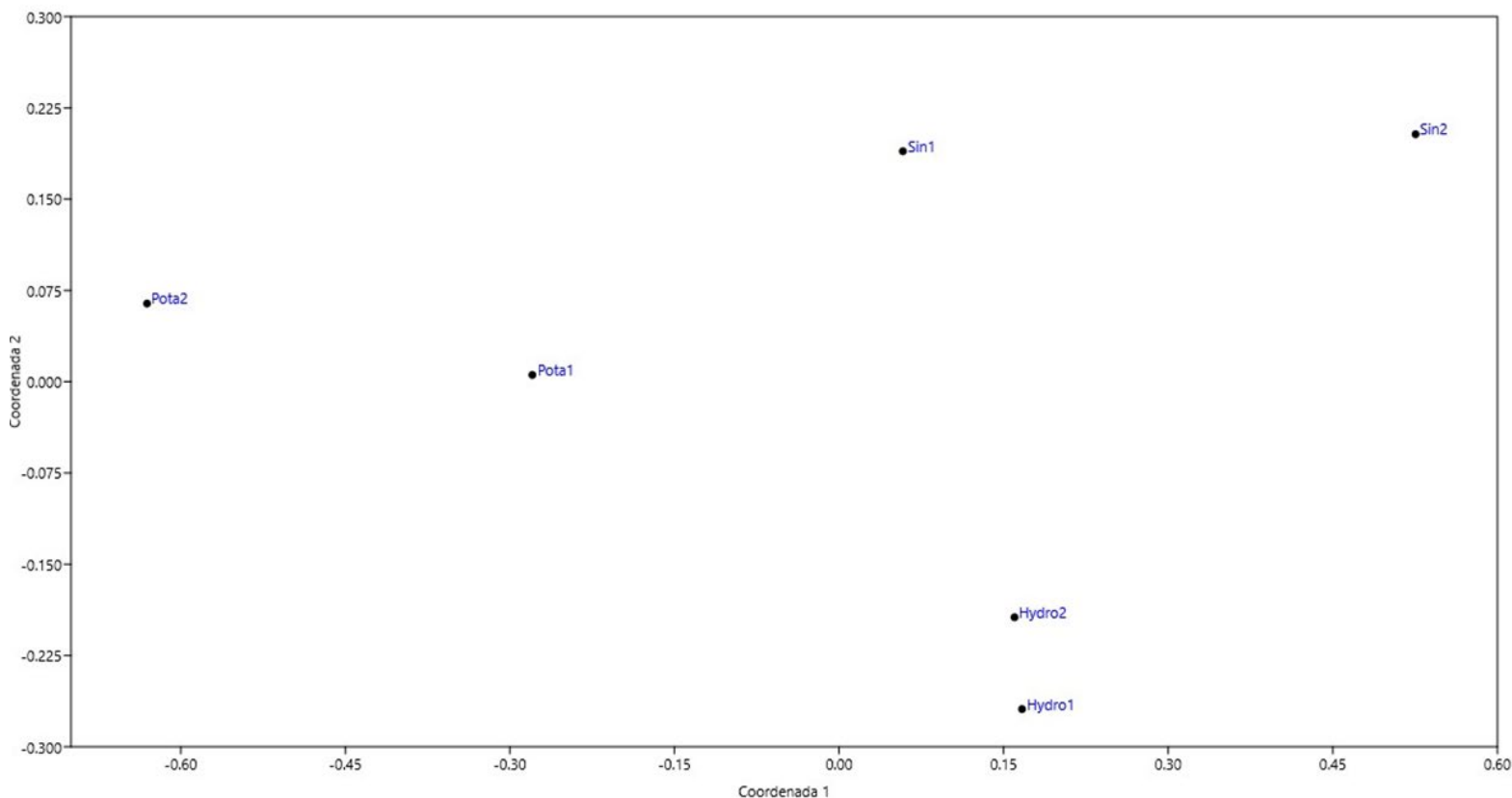


Figura 14 Análisis NMMS con datos de los parámetros físicos, químicos y clorofila. Los datos de los parámetros se han transformado a Log10. Similitud por distancia euclidiana. Estrés 0.

Datos biológicos y ambientales

La Figura 15 nos muestra el resultado de un análisis de correspondencia canónicas (CCA), que incluyó a todas las especies de amibas y los sitios de muestreo en ambas épocas, para asociarlos con las ocho variables ambientales. El CCA sugiere que el primer eje (eigenvalor=0.5991, 47%) está positivamente relacionado con el pH y el segundo eje (eigenvalor=0.3223, 25%) está negativamente relacionado con oxígeno, fósforo total, conductividad, dureza y nitrógeno total, mientras que positivamente con la temperatura y clorofila *a*. Juntos los dos primeros ejes explican el 72 % de la variación.

Se puede observar que los sitios Pota1, Sin1 y Sin2 están relacionados con concentraciones elevadas de fósforo total, y nitrógeno total, así como valores altos de conductividad; Hydro1 con clorofila *a* e Hydro2 con valores elevados de temperatura; sin

embargo, ambos sitios se relacionan con concentraciones bajas de dureza y pH. Finalmente, el sitio Pota2 se relaciona con un valor elevado de pH.

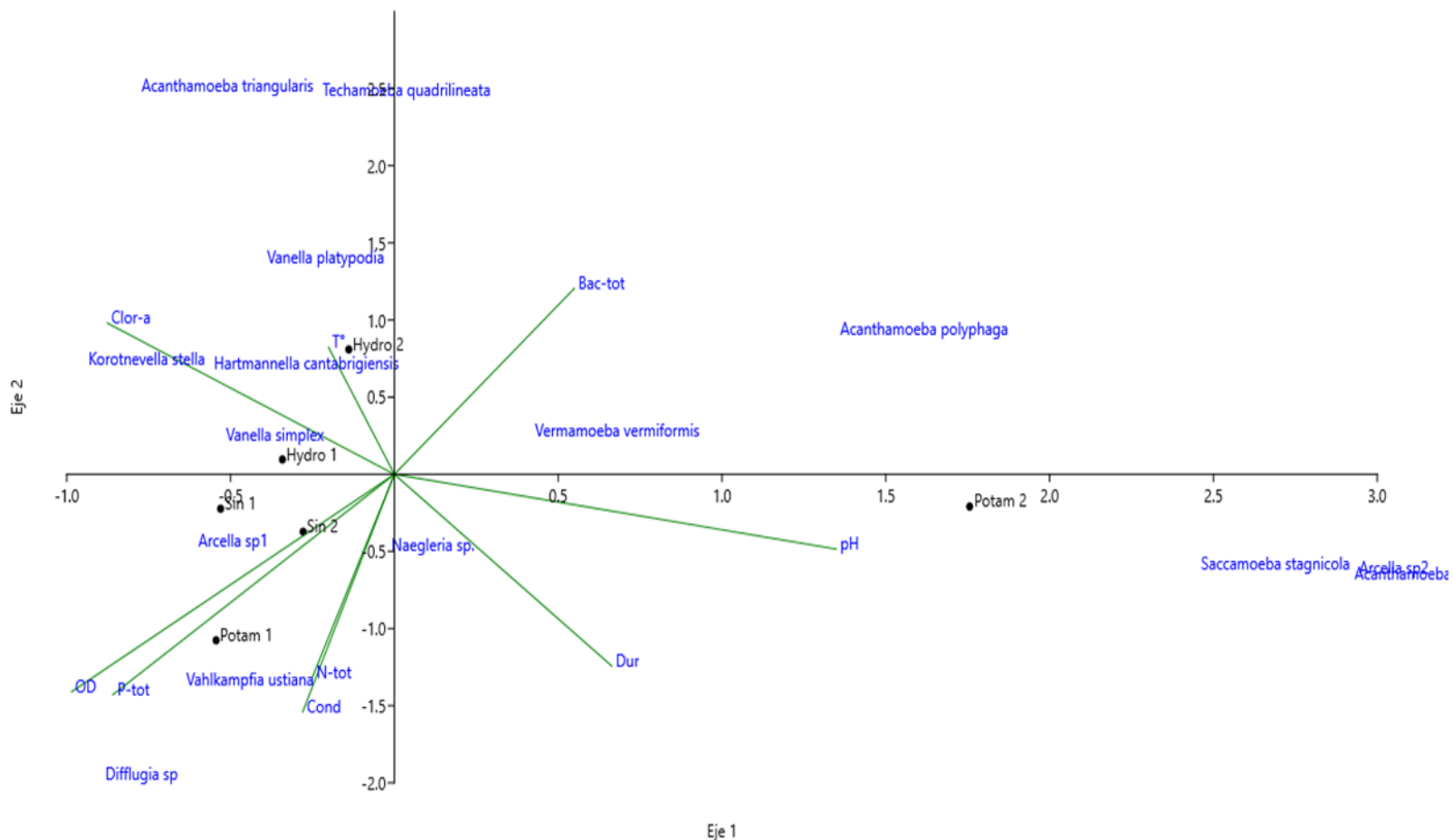


Figura 15 Análisis canónico de correspondencias. Clor-a = clorofila a, T°= temperatura, OD= oxígeno disuelto, P-tot= fósforo total, N-tot= nitrógeno total, Cond= conductividad, Dur= dureza, Bac-tot= bacterias totales.

En cuanto a los taxones, se pueden dividir en cuatro grupos; aquellos que se relacionaron con concentraciones mayores de pH, como *Acanthamoeba polyphaga*, *A. castellanii*, *Arcella sp.2* y *Saccamoeba stagnicola*. En otro grupo están las especies que se relacionaron con concentraciones altas de oxígeno disuelto, fósforo total, nitrógeno total y conductividad; tales como *Diffugia sp.*, *Vahlkampfia ustiana*, *Arcella sp.1* y *Naegleria sp.* Otro grupo está conformado por *Vermamoeba vermiformis* y *Acanthamoeba polyphaga*, los cuales se relacionaron con mayor abundancia de bacterias. Por último, está el grupo de *Thecamoeba quadrilineata*, *Acanthamoeba triangularis*, *Vannella platypodia*, *Korotnevela stella*, *Hartmannella*

cantabrigiensis y *Vannella simplex* que se relacionaron con concentraciones elevadas de temperatura y clorofila *a*.

Discusión

La Laguna de Salazar se encuentra dentro del Parque Nacional Miguel Hidalgo y Costilla, por lo que es un área nacional protegida bajo la supervisión de la CONANP (CONANP, 2019); sin embargo, diversos medios periodísticos del país han compartido notas sobre la contaminación que ha sufrido la laguna, a causa de la descarga de aguas negras y del impacto que ejercen los locales turísticos aledaños a ella (García, 2021; García-Conejo, 2021; González, 2018; Ríos, 2021). Por lo que, a pesar de ser un cuerpo de agua natural, es necesario contemplar que la Laguna de Salazar presenta perturbación ambiental que no se ha estudiado. El canal aledaño donde se realizó este estudio se alimenta del agua de la laguna y, por lo tanto, podría tener condiciones ambientales perturbadas.

En este estudio se identificaron 11 géneros de amibas, incluyendo *Acanthamoeba* spp. y *Naegleria* sp. (**Cuadro 1**), los cuales son considerados de importancia médica debido a su potencial patógeno para el ser humano (Siddiqui et al., 2016; Visvesvara, 2013; Visvesvara et al., 2007). Todos los géneros observados en este estudio se han reportado en agua residual (Hu et al., 2013; Jaromin-Gleń et al., 2013; Ramírez et al., 2005, 2015; Rivera et al., 1993, 1995), y en redes de agua potable (Bonilla-Lemus et al., 2010; Delafont et al., 2016; Puzon et al., 2020; Thomas et al., 2008).

Se observaron más taxones en los sitios con macrófitas; los sitios con *Hydrocotyle* tuvieron más taxones en ambas épocas, mientras que los sitios con *Potamogeton* sólo en la segunda época (lluvias) tuvieron un taxón más que el sitio sin plantas. Estos hallazgos concuerdan con lo reportado en algunos estudios donde se observó que las macrófitas afectaban positivamente la presencia de las amibas. (Dabés & Velho, 2001; Lansac-Tôha et al., 2007; Ramírez et al., 2010; Rodríguez-Zaragoza et al., 2005a, 2005b; Vieira et al., 2007).

La investigación que se ha llevado a cabo sobre las amibas desnudas relacionadas con la presencia de alguna macrófita es escasa. Sólo un estudio se ha relacionado con alguna macrófita acuática (Ramírez et al., 2010), mientras que los demás han sido en suelos asociados a macrófitas (Rodríguez-Zaragoza et al., 2005a, 2005b).

Ramírez et al. (2010) relacionaron la presencia de las amibas desnudas con el lirio acuático, la identificación de las amibas se realizó solamente a nivel de género. Se aislaron más géneros (16) en las raíces del lirio que en el agua circundante al lirio donde se encontraron 10 géneros. De estos géneros encontrados, coinciden en seis con este estudio (*Acanthamoeba*, *Korotnevella*, *Hartmannella*, *Naegleria*, *Vahlkampfia* y *Vannella*). Los autores atribuyeron el mayor número de taxones aislados del lirio, a que su raíz es gruesa y fibrosa, lo que proporciona un hábitat más grande y refugio para diversos microorganismos.

Hay que puntualizar que el estudio se llevó a cabo en Xochimilco y, aunque no se hayan considerado parámetros ambientales en dicho estudio, es sabido que los cuerpos de agua de la zona son en su mayoría eutróficos con alto contenido de materia suspendida (Nandini et al., 2015), contrario al canal donde se realizó el presente estudio, por lo que aún con ambos tipos de hábitat, se mantiene la constante de encontrar mayor riqueza de amibas asociadas a alguna macrófita.

En cuanto a las amibas testadas, se ha observado que existe una mayor riqueza en zonas circundantes a macrófitas acuáticas que en el sedimento, aunque se tiene poca información sobre la preferencia de las amibas testadas al tipo de macrófita (Dabés & Velho, 2001; Lansac-Tôha et al., 2007; Tran et al., 2021; Vieira et al., 2007). Lansac-Tôha et al. (2007) revisaron 23 estudios realizados sobre la presencia y distribución de amibas testadas en ambientes acuáticos en Brasil, en donde reportaron 285 taxones en muestras de sedimento, plancton y agua cerca de macrófitas acuáticas; encontrando más taxones en el plancton seguido por las zonas con macrófitas. A pesar de que la revisión incluyó estudios realizados en distintos cuerpos de agua, como ríos, lagos, lagunas, estuarios, etc., se observó que la tendencia antes mencionada se mantenía en los diversos cuerpos de agua. En contraste, en el

presente estudio no se observa esta tendencia claramente en el número de taxones observados en los sitios de muestreo, pues en la época de secas se identificaron dos taxones en el sitio sin plantas, al igual que en el sitio con *Potamogeton* y sólo uno en el sitio con *Hydrocotyle*; mientras que, en la época de lluvias, en el sitio con *Hydrocotyle* y sin planta se identificó un taxón, mientras que el sitio con *Potamogeton* se obtuvieron dos registros. Sin embargo, otros autores mencionan que no es la presencia de macrófitas lo que más influía sobre las amibas, sino el pH, la disponibilidad de alimento o algún otro factor ambiental (Arrieira et al., 2015; Escobar et al., 2008; Lamentowicz et al., 2010; Mieczan, 2007).

Aunque sólo se identificaron tres taxones en este estudio, las abundancias de amibas testadas son grandes, esto puede deberse a que los taxones pertenecen a los géneros *Diffugia* y *Arcella*, mismos que fueron los más frecuentes y abundantes en los 23 estudios de la revisión de Lansac-Tôha et al. (2007). A su vez, se ha explicado que no es extraño encontrar una alta densidad de amibas testadas en la columna de agua, ya que se ha reportado la presencia de vacuolas de flotación o una disminución en la testa de las amibas para que puedan permanecer en la columna de agua (Štěpánek & Jiří, 1958; Velho et al., 1999).

En el presente estudio, así como en anteriores mencionados, se observó que las amibas prefieren un ambiente cercano a las macrófitas. El efecto que ejercen las macrófitas sobre las amibas no es directo, sino indirecto al generar un ambiente favorable circundante a ellas (Mieczan et al., 2018; Thomaz & Cunha, 2010). Debido a que propician el establecimiento de una comunidad microbiana cercana a sus raíces, donde se pueden encontrar bacterias, hongos, algas, otros protistas, inclusive nemátodos u otros animales diminutos, que pueden ser alimento para las amibas. Al mismo tiempo las amibas pueden beneficiar a las macrófitas, pues al alimentarse de estos microorganismos, las amibas pueden liberar los nutrientes fijados en esa biomasa y así la macrófita puede aprovecharlos; también se ha visto que pueden depredar ciertos tipos de bacterias u hongos que son dañinos para las macrófitas (Kreuzer et al., 2006; Rodríguez-Zaragoza et al., 2005b; Weidner et al., 2017).

Se han realizado estudios donde se prueban diferentes extractos o compuestos de plantas sobre amibas, demostrando en varios casos que poseen un efecto negativo sobre ellas (Derda et al., 2016; Fakae et al., 2020; Kadry et al., 2021; Mitsuwan et al., 2020; Mustafa et al., 2021). Esos estudios fueron realizados sobre unas pocas especies de importancia médica y los compuestos son extractos concentrados de la planta, no los que naturalmente puede producir la planta en el ambiente, por lo que no se puede considerar que dicha macrófita pueda tener el mismo efecto sobre las amibas en el ambiente. Es importante mencionar que no se han hecho estudios de este tipo con *Potamogeton* o *Hydrocotyle*.

En este estudio no se encontraron diferencias significativas entre los sitios de muestreo con relación al número de taxones observados o los parámetros ambientales medidos, en este sentido se debe considerar que los sitios estaban considerablemente cercanos dentro de un canal angosto, por lo que es de esperarse que los parámetros ambientales no sean significativamente diferentes. Pero sí se pudo identificar que cada sitio tenía una mayor similitud comparándose entre épocas que con los otros dos sitios. Esto fue especialmente evidente en el sitio con *Hydrocotyle*, lo cual se puede deber a que, como ya se mencionó, las macrófitas pueden afectar sus alrededores con la liberación de sustancias alelopáticas, pero también constituyen un espacio particular a partir de la estructura de sus tallos y hojas. Las macrófitas sumergidas, como *Potamogeton*, son especialmente representativas de estas condiciones, pero en este estudio fue *Hydrocotyle* quien favoreció la presencia de más taxones amibianos.

Como se mencionó, las macrófitas indirectamente afectan a las amibas, pues algunas permiten sólo el crecimiento de ciertas especies de bacterias, ya que pueden secretar sustancias que evitan que ciertas bacterias proliferen alrededor de ellas. Esta selectividad de bacterias puede favorecer sólo cierto tipo de amibas (Cortés-Pérez et al., 2018; Yin et al., 2020). Las bacterias planctónicas son diferentes a las epífitas, las macrófitas reclutan sólo algunos tipos de bacterias para estar adheridas a ellas por lo que pueden afectar la comunidad de amibas que se alimentan de ellas (Yan et al., 2019; Zhu et al., 2021). Lo anterior implica que, aunque los números de bacterias totales sean elevados, no significa que las amibas se puedan

alimentar de todas ellas; por ejemplo, el sitio Hydro2 tuvo la mayor abundancia de bacterias totales, así como de amibas desnudas y testadas (**Cuadro 2** y **Cuadro 3**), pero esto no significa que todas las bacterias que crecen cerca de *Hydrocotyle* puedan ser consumidas por las amibas. Hacen falta más estudios para entender la relación macrófita-bacterias-amibas.

Se ha observado que un lago dominado por fitoplancton presenta características físicas y químicas diferentes a un lago dominado por macrófitas, y estas características físicas y químicas influyen las abundancias de protistas presentes en los lagos (Mieczan, 2010; Thomaz & Cunha, 2010; Zhang et al., 2019).

Mieczan (2010) encontró mayor diversidad de ciliados en lagos donde el fitoplancton era dominante; sin embargo, en lagos donde las macrófitas eran dominantes la diversidad fue menor. Si tomamos en cuenta que las amibas ocupan un nicho parecido al de los ciliados, podría decirse que también las amibas tenían una menor diversidad en este tipo de lagos dominados por macrófitas, lo cual podría explicar la poca riqueza de taxones encontrada de amibas testadas; sin embargo, puede existir la posibilidad que, al haber menos competencia, las amibas puedan proliferar mejor; sobre todo al tener más sustrato al cual poder adherirse con la presencia de macrófitas, pudiendo observarse en la riqueza de taxones de amibas desnudas.

Como ya se ha mencionado, una manera en que las macrófitas afectan a las amibas es indirecta a través de modificar la disponibilidad de alimento (bacterias, algas u otros microorganismos) y el efecto que tengan sobre los parámetros físicos y químicos del ambiente. Se ha observado, al menos para ciliados, que en cuerpos de agua donde las macrófitas predominan, las concentraciones de nitrógeno y fósforo son los que más afectan la presencia de ciliados. En este estudio no se mostró alguna correlación entre el nitrógeno y fósforo totales con la presencia de amibas, además de que las concentraciones de estos parámetros variaron más entre épocas que entre sitios.

Hydrocotyle posee efecto alelopático sobre una especie de fitoplancton (Reynolds & Aldridge, 2021). Así mismo, puede disminuir levemente las concentraciones de amonio y fósforo total, además de que es un gran consumidor de estos nutrientes. También se ha visto un efecto

importante sobre la disminución de la abundancia de coliformes fecales (Basílico et al., 2017a, 2017b). Esto podría sugerir que la presencia de *Hydrocotyle* está afectando la disponibilidad de alimento en este estudio; sin embargo, se pudo observar (**Figura 5**) que en los sitios con *Hydrocotyle*, las densidades de bacterias totales son las más elevadas. Por otro lado, sí se observa una concentración de nitrógeno y fósforo totales menor comparándola con los otros sitios, aunque como se mencionó, estos no tuvieron alguna correlación con la presencia o abundancia de amibas.

Bastidas-Navarro & Modenutti (2007) analizaron la distribución horizontal de amibas testadas en un lago oligotrófico en sitios con dos macrófitas acuáticas circundantes, siendo *Potamogeton* una de ellas. Comparando el cuerpo de agua con el de este estudio, el lago tenía una menor concentración de clorofila; sin embargo, la temperatura y oxígeno disuelto eran muy similares. Para la zona sin macrófita reportaron la presencia de los géneros *Arcella* y *Diffflugia* en todos los meses muestreados; a diferencia de ese estudio que se observaron ambos géneros en el primer muestreo, durante secas, pero en lluvias sólo estuvo presente *Diffflugia*. Así mismo, reportaron a las especies *Arcella discoides*, *Diffflugia pyriformis* y otras dos como las más frecuentes. Finalmente mencionaron que la mayor abundancia se obtuvo en las zonas con macrófitas circundantes, aunque no se encontró diferencia de abundancia entre las macrófitas; mientras que en el presente estudio sí se pueden observar una diferencia de al menos 20 mil organismos entre los sitios con macrófitas, aunque para secas es el sitio con *Hydrocotyle* aquel con una abundancia mayor de amibas testadas y en lluvias lo es *Potamogeton* (**Cuadro 2 y Cuadro 3**).

Se ha observado un aumento en la biomasa de microalgas en lagos donde predomina *Potamogeton*. Aunque es raro, *Potamogeton* puede producir sustancias aleloquímicas con capacidad de afectar la composición de invertebrados, lo que a su vez influye en la comunidad de amibas, pues algunos invertebrados pueden ser depredadores de amibas (Mieczan et al., 2018; Poi et al., 2021). Por el contrario, en este estudio, se observó un aumento en la clorofila *a* en los sitios con *Hydrocotyle* al grado de considerarse un cuerpo de agua hipereutrófico; sin

embargo, las concentraciones de clorofila *a* en los otros sitios clasifican al canal como cuerpo de agua eutrófico (<25µg/L) (OCDE, 1982). Establecido lo anterior, se ha observado que inclusive en condiciones eutróficas, las macrófitas forman un hábitat adecuado para bacterias, protistas y otros organismos (Poi et al., 2021), como resultado se pudo observar que el sitio *Hydrocotyle*, aun con un microhábitat hipereutrófico (según la concentración clorofila), fue el sitio con más taxones y densidad de amibas observados.

Las condiciones ambientales físicas y químicas son importantes para la presencia y distribución de amibas, pues éstas poseen mecanismos para soportar condiciones adversas, como es el formar quistes y/o producir numerosos organismos de tallas más pequeñas para buscar alimento; aunque es importante mencionar que existen algunas, como *Naegleria*, con un estadio flagelar con el que pueden desplazarse libremente en la columna de agua en busca de mejores condiciones (Ettinger et al., 2003; Rodríguez-Zaragoza, 1994). Por tanto, estos mecanismos, como el enquistamiento, pueden afectar los patrones de abundancia y distribución, dado que, en una escala local, la distribución de amibas siempre es heterogénea inclusive en la escala de centímetros (Smirnov & Thar, 2003). También se ha visto que amibas de rápido crecimiento y formas aplanadas suelen alternar con amibas de lento crecimiento y pseudópodos extendidos, según la temporada (Anderson, 2010).

No se observó que los parámetros físicos o químicos fueran suficientes para marcar alguna diferencia significativa entre los sitios y épocas de muestreo con respecto a la presencia de las amibas, es importante considerar que sí pueden tener un efecto en la presencia o ausencia de las amibas en el hábitat y/o la fase en la que se encuentran. La temperatura es un factor de selección, pues se ha encontrado que a temperaturas más templadas existe una mayor riqueza de amibas, mientras que a temperaturas más altas (<35°C) sólo será posible encontrar aquellas que son termófilas. Otro factor importante podría ser la cantidad de materia, suspendida y orgánica, pues a mayor presencia de ésta, se beneficia más la proliferación de bacterias, lo que a su vez beneficia a las amibas (Bonilla-Lemus et al., 2014; Ramírez et al., 2016; Rodríguez-Zaragoza, 1994).

En cuanto a las amibas testadas, se ha demostrado que el ensamble varía de acuerdo con la profundidad, a la cual son altamente sensibles, el pH y la concentración de alimento, así como a las variables asociadas como el oxígeno disuelto, el cual disminuye su concentración conforme aumenta la profundidad (Arrieira et al., 2015; Escobar et al., 2008; Lamentowicz et al., 2010; Mieczan, 2007; Roe et al., 2010).

Otros factores ambientales no relacionados directamente al agua también afectan a la presencia de amibas, como es el caso de la estacionalidad y temporalidad. Aunque se ha señalado que la relación de las estaciones del año y la comunidad de amibas no ha sido consistente a través de los estudios que se han realizado (Ren et al., 2018). Algunos estudios, incluido el presente, reportaron más taxones (y densidad de amibas en el caso del presente estudio) en los meses que son parte del verano (Ettinger et al., 2003; Kang et al., 2020). En otros estudios observaron que no existe relación entre las estaciones del año y la presencia de amibas desnudas o testadas, sugiriendo que el tipo de hábitat influye más (Ren et al., 2018; Sigala et al., 2018; Tsvetkova et al., 2004; Velho et al., 1999). Sin embargo, es importante poner atención en el método de aislamiento de amibas, pues Tsvetkova et al. (2004) incubaron sus muestras a 37°C y 45°C, lo que permitió que sólo las cepas termo-tolerantes pudieran crecer y por ende reportaron un número menor de géneros en su estudio.

Respecto a la temporalidad, Ettinger et al. (2003) realizaron un estudio en los meses de mayo a octubre en un río donde la mayoría de los sitios poseen concentraciones de oxígeno disuelto y pH similares al presente estudio; mencionaron que la lluvia puede ser un factor que aumente la presencia de amibas, lo cual también fue sugerido por Kyle & Noblet (1987) en un estudio realizado en un lago con temperatura y oxígeno disuelto similar al presente estudio y por John & Howard (1995) en un estudio realizado en tres diferentes lagos, lo que coincide con los resultados de este estudio.

Dabés & Velho (2001) reportaron 51 taxones en un estudio que se realizó en el agua que rodeaba a varias macrófitas acuáticas en una laguna en Brasil. La abundancia promedio del estudio fue de 1.687×10^6 cél/L, más de diez veces la abundancia encontrada en el

presente estudio (92,667 AT/L en Hydro1 siendo la mayor abundancia). Realizaron dos muestreos en la temporada de secas y dos en la temporada de lluvias, encontrando que la mayoría de los géneros tuvieron una mayor abundancia en lluvias y, a diferencia de lo hallado en el canal de este estudio, *Diffflugia* fue el segundo género más abundante en ambas épocas con 18 taxones, siendo *Diffflugia corona*, *D. elegans*, *D. gramen*, *D. lobostoma* y *D. pseudogramen* las especies más abundantes del género. *Arcella* fue el tercero más abundante con 6 taxones y siendo *Arcella discoides* la especie más abundante.

Hay evidencia de que las amibas desnudas son uno de los grupos que más depredan bacterias, por lo que se cree que las dinámicas de sus poblaciones están relacionadas (Anderson, 2010; Rodríguez-Zaragoza, 1994). En este estudio se obtuvo la correlación positiva (0.82, **Anexo 2**) entre el número de bacterias totales y MPA de amibas desnudas, lo que puede indicar que, a mayor cantidad de bacterias disponibles, las amibas tienen mayor oportunidad de proliferar al tener más disponibilidad de alimento; esto es porque el alimento principal de las amibas son las bacterias, aunque la mayoría son polípagas. El estudio realizado por Ettinger et al. (2003) apoya lo anterior, ya que registraron los géneros *Naegleria*, *Vannella*, *Vahlkampfia*, *Hartmannella* y *Acanthamoeba* en un río, haciendo énfasis en que el río tenía grandes descargas de aguas residuales al momento del estudio, por lo que el número de bacterias fecales era elevado, y se encontró una relación positiva entre éstas y el número de aislamientos de amibas. No obstante, no se debe dejar de lado que existen especies de amibas alguívoras, o carnívoras (Smirnov, 2009).

Pueden consumir un gran intervalo de tamaños de bacterias; sin embargo, se ha demostrado que tienen preferencia, e inclusive selectividad en su alimento, pues amibas de tallas pequeñas suelen preferir bacterias de tallas relativamente pequeñas, como *Klebsiella* o *Escherichia* (Smirnov & Brown, 2004); por ejemplo, *Mayorella* y *Acanthamoeba* han sido asociadas con la depredación sobre cianobacterias (Bagatini et al., 2013; Tsai et al., 2020), siendo que se ha visto que algunas cianobacterias inhiben la depredación sobre ellas y las bacterias que se encuentren adheridas a las colonias que éstas forman; sin embargo no se

tiene claro de qué manera inhiben la depredación, pues los compuestos que producen las cianobacterias no afectan directamente a las amibas (Van Wichelen et al., 2012).

Las amibas testadas pueden alimentarse de bacterias, algas, ciliados o rotíferos, aunque su distribución esta más relacionada con la densidad de bacterias que inclusive a las condiciones físicas y químicas. Sin embargo, sus abundancias se ven favorecidas en valores bajos de pH, por lo que se ha sugerido que el pH es un factor más relevante que la disponibilidad de alimento (Mieczan, 2007). A pesar de lo anterior, en este estudio no se encontró una correlación significativa entre las bacterias totales y las amibas testadas, y contradictoriamente el CCA (**Figura 14**) muestra que *Arcella* sp.2 está relacionada con valores elevados de pH, pero *Arcella* sp.1 no.

La clorofila es un factor que no ha sido ampliamente estudiado para amibas desnudas; sin embargo, se sabe que amibas de grandes tallas suelen depredar sobre algas u otros protistas, además de bacterias. A su vez, se ha documentado la capacidad de las amibas de alimentarse de cianobacterias (Anderson, 2010; Bagatini et al., 2013; Tsai et al., 2020). A pesar de esto y que con otros organismos como ciliados se ha visto que, en lagos con abundantes algas, los ciliados están relacionados con la clorofila *a* (Anderson, 2010), este estudio no mostró correlación significativa entre la concentración de clorofila *a* y la MPA de amibas desnudas, aunque Anderson (1997) y Kyle & Noblet (1985) reportaron que la presencia de algas, o un lago altamente productivo, beneficia a las amibas. No obstante, aunque no es soportado estadísticamente, se observaron más taxones y densidades elevadas de amibas en los sitios con *Hydrocotyle*, el cual, como se mencionó anteriormente, es un sitio con concentraciones elevadas de clorofila, incluso clasificándolo según esta como un ambiente hipereutrófico. Es probable que este efecto positivo se deba a que en ambientes más productivos es mayor la densidad de bacterias (Conty et al., 2007).

Como se mencionó, los factores ambientales pueden jugar un papel muy importante en el estado en que se puede encontrar a alguna amiba, en quiste o trofozoíto; sin embargo, una limitante de los métodos indirectos, como el de cultivo por medios de enriquecimiento es que no

distinguen entre trofozoíto y quiste, además de ser selectivos. Esto significa que algunas especies que pueden estar presentes en un ambiente sólo en forma de quistes terminan siendo detectadas y cuantificadas como si estuvieran activas (Mrva & Garajová, 2018; Smirnov, 2009; Smirnov & Brown, 2004). Smirnov & Thar (2003) mencionaron que la presencia de especies pequeñas y raramente reportadas en un hábitat, aunque sean muy abundantes, puede deberse a la selectividad del medio, dado que el microhábitat que le es favorable a esas especies es fácilmente reproducible en el medio de cultivo o, por el contrario, otras especies no tan abundantes, pueden no encontrar ese microhábitat fácilmente en los medios de cultivo. Por lo anterior es que se usó agar extracto de levadura y malta (Sigma®), pues es un medio que facilita el crecimiento de la mayoría de las bacterias y otros organismos que fungen como alimento presente en la muestra, y así evitar en lo posible una selección de amibas por el medio de cultivo (Anderson & Rogerson, 1995; Smirnov & Brown, 2004).

El análisis de rarefacción basado en muestras indica qué tan completo es el panorama de la riqueza de taxones obtenido con los muestreos realizados; sin embargo, con este tipo de curvas de acumulación de especies, se suele llegar a este número máximo de especies sin que se registren todas (Colwell et al., 2012; Escalante-Espinosa, 2003). Es por esto por lo que se realizó el análisis de estimación de especies Chao2, el cual se ha encontrado que hace una estimación de especies bastante fiable sin sobreestimarlas (Bautista-Hernández et al., 2013; Escalante-Espinosa, 2003). El resultado fue que en este estudio hubo una diferencia de solamente un taxón del estimado, sumado a la extrapolación que se realizó con el análisis de rarefacción que mostró que inclusive con el doble de muestreos los taxones esperados no serían mayores de 17; por tanto, puede considerarse que los taxones identificados representan al menos el 90% de la riqueza del canal.

Son pocos los estudios para amibas en cuerpos de agua similares que consideren en su totalidad a las amibas y no sólo las de interés patógeno. En un estudio realizado en diferentes lagos poco profundos en la Ciudad de México con parámetros similares en cuando a dureza, fósforo total, nitrógeno total, pH y temperatura se determinó que las amibas tienen una

presencia importante en estos sistemas, ya que tanto desnudas como testadas fueron de los grupos con más especies observadas, como son algunas especies de desnudas pertenecientes a géneros como *Naegleria*, *Vahlkampfia*, *Acanthamoeba*, *Saccamoeba*, *Thecamoeba*, *Vannella*; mientras que para testadas se identificaron especies como *Arcella gibbosa*, *A. vulgaris*, *Diffugia lobostoma* y *D. lanceolata* (Aladro-Lubel et al., 2007). No se realizaron estudios para determinar si los parámetros ambientales influían en la presencia de estas amibas; sin embargo, se puede observar que en cuerpos de agua bastante similares limnológicamente se encontraron ocho de los 11 géneros observados en el presente estudio. Dentro del presente estudio no se identificaron especies de las amibas testadas, por lo que no se puede comparar específicamente con el estudio antes mencionado, y en cuanto a amibas desnudas, dentro de los géneros mencionados en el estudio referido, sólo identificaron la especie en dos de ellos, *Saccamoeba clava* y *Thecamoeba sphaeronucleolus*, dos especies que no se encontraron en el presente estudio y que no han tenido otros registros en México.

Arcella y *Diffugia* son géneros encontrados como los más frecuentes dentro de los estudios con un cuerpo de agua con algunas características limnológicas similares al del presente estudio (oxígeno disuelto, nitrógeno total y pH); en un estudio realizado en el sedimento de 31 lagos (Escobar et al., 2008) se reportó que la presencia de más especies en algunos lagos se debió a un pH cercano a 8 y alcalinidades totales elevadas, siendo significativas estas correlaciones, ya que un pH ácido suele ser selectivo para la mayoría de amibas testadas; sin embargo en el presente estudio no se identificó dicha correlación, adicionalmente los pH obtenidos fueron de cercanos a la neutralidad hacia básicos y sólo se identificaron 3 taxones pertenecientes a dos géneros, por lo que puede existir algún otro factor que influya en el canal estudiado.

En otro estudio con las mismas condiciones arriba mencionadas, se ha observado a las especies *Diffugia muriformis*, *D. pseudogramen* y *D. corona* como las más abundantes y frecuentes; mencionando que factores ambientales incluido temporalidad tienen un fuerte efecto en la estructuración de la comunidad de amibas testadas (Arrieira et al., 2015)

En un estudio con parámetros ambientales similares a los arriba mencionados, pero con un estado de eutrofización mayor (Xu et al., 2005) se reportó que los cambios en el gradiente eutrófico tienen repercusiones en las amibas y sobre todo, en la época donde la abundancia de cianobacterias fue mayor; lo que provocó que las amibas testadas sean menos frecuentes y amibas desnudas como *Thecamoeba*, *Vahlkampfia*, *Saccamoeba* y *Hartmannella* aumenten su frecuencia (excepto *Naegleria*, la cual se reporta con menos frecuencia que incluso las testadas), atribuyéndolo a que en las épocas donde la eutrofización se intensifique o exista este aumento de cianobacterias, sólo las amibas con la tolerancia a estas condiciones pudieron prevalecer. El presente estudio coincide con estos datos, pues a excepción de las densidades de amibas, en los sitios con mayor concentración de clorofila *a* se reportó solo un taxón de amibas testadas.

Se han realizado estudios en cuerpos de agua con condiciones no muy similares al presente, pues han sido en ríos (Andrade et al., 2015; Bonilla-Lemus et al., 2014; Ettinger et al., 2003; Ren et al., 2018) o en lagos con condiciones ambientales distintas a las observadas en el presente estudio (Sigala et al., 2016, 2018). A pesar de no ser condiciones similares a las observadas en el presente estudio, es importante considerarlos al observar en qué condiciones ambientales se da la presencia de amibas.

En diversos ríos de la cuenca de México, un estudio reportó el mismo número de géneros (11) y un menor número de taxones (12) comparándolos con el presente estudio, el oxígeno disuelto y pH fueron similares también, pero las temperaturas fueron más bajas, a excepción del río con más especies y cuya temperatura fue similar a las registradas en el presente estudio (16°C). *Acanthamoeba triangularis*, *A. polyphaga*, *Naegleria* sp., *Vannella platypodia* y *Vermamoeba vermiformis*, fueron taxones que coincidieron con el presente estudio, a su vez los taxones *Thecamoeba similis*, *Vahlkampfia aberdonica* fueron registrados y aunque no son taxones similares, los géneros sí se observaron en el canal (Andrade et al., 2015). En este mismo estudio se observó que el río con mayor número de taxones estuvo asociado con los valores más elevados de temperatura.

En otros estudios como el de Bonilla-Lemus et al. (2014) donde reportaron un número de taxones y géneros mayor aún con temperaturas inferiores, igualmente en ríos de la cuenca de México, donde se reportaron 26 taxones coincidiendo en cinco con este estudio; *Hartmannella cantabrigiensis*, *Korotnevella stella*, *Naegleria gruberi*, *Vannella platypodia*, *V. simplex* y *Vermamoeba vermiformis*. En ambos estudios mencionan que la temperatura fue uno de los parámetros que más influenció la presencia de amibas en sus muestreos, también reportado por Patsyuk & Onyshchuk, (2019) y Ren et al., (2018), quienes además mencionan que la turbidez es un factor relevante. Además de las temperaturas más bajas en ese estudio, reportaron también valores más bajos que los del presente estudio de conductividad y fósforo total (calculado en dicho estudio como fósforo reactivo disuelto). Los cambios en el número de taxones entre los tres estudios (Andrade et al., 2015; Bonilla-Lemus et al., 2014 y el presente) no puede atribuirse a alguna variable ambiental; sin embargo, puede deberse al tipo de sistema, ya que el canal estudiado en el presente estudio se comporta más como un sistema léntico, mientras que los otros son ríos donde existe un constante y elevado flujo de agua, lo que puede conducir a un ambiente menos estable para las amibas.

En otro estudio realizado en el eje volcánico transversal de México en 29 cuerpos de agua se reportaron 40 taxones de amibas testadas, siendo *Arcella discoides*, *Diffugia protaeiformis acuminata* y *D. urceolata elongata* unos de los más frecuentes. A su vez, se registraron variables ambientales que mostraban una relación con la presencia de amibas testadas; como son temperatura, profundidad, oxígeno disuelto, conductividad, alcalinidad total y pH, mencionando que existe una importante relación entre las amibas y los factores ambientales. Las variables ambientales de los cuerpos de agua tuvieron valores superiores a los obtenidos en el presente estudio, pues el pH tuvo un rango de 6.9 a 10.3; la temperatura de 13°C a 41.2 °C, conductividad de 9 a 14700 $\mu\text{S}/\text{cm}$ y oxígeno disuelto de 0.08 a 12.3 mg/L. (Sigala et al., 2018).

Acanthamoeba fue el género con más taxones observados y se ha reportado que es el género de AVL más común en el ambiente (Page, 1988; Ramirez et al., 2014; Reyes-Batlle

et al., 2021), debido a que resiste diversas condiciones gracias a la presencia de celulosa en la pared de su quiste (Barrett & Alexander, 1977). Ha sido reportado en aguas residuales, acuíferos, lagos, lagunas agua potable, ríos, manantiales, entre otros ambientes (Berrilli et al., 2021; Bonilla-Lemus et al., 2010; Ettinger et al., 2003; Feiz Haddad et al., 2019; John & Howard, 1995; Latifi et al., 2020; Patsyuk & Onyshchuk, 2019; Ramírez et al., 2009, 2014, 2016; Rivera et al., 1993; Üstüntürk-Onan, 2020; Üstüntürk-Onan & Walochnik, 2018).

En México se ha encontrado en ríos con temperaturas entre los 7°C a 16°C (Andrade et al., 2015; Bonilla-Lemus et al., 2014), pero a pesar de ser un género ampliamente distribuido, en algunos estudios (Andrade et al., 2015; Bonilla-Lemus et al., 2014; Ramírez et al., 2016), incluido el presente, no se observó con una alta frecuencia, y esto puede deberse a que *Acanthamoeba* se ha visto mayormente vinculada al sedimento y zonas con muchas partículas suspendidas a las cuales pueda adherirse (De Jonckheere, 1991; Rodríguez-Zaragoza, 1994), aunque en este estudio no se encontró en las muestras del bentos. *Acanthamoeba* se ha considerado uno de los géneros de amibas más resistente frente a condiciones ambientales extremas (Ramírez et al., 2014), por lo que su ausencia en las muestras del sedimento pudo deberse a un factor no relacionado con la amiba y más bien al método de estudio; ya que se ha mencionado que la selectividad del medio, así como las preferencias de alimento de las amibas pueden interferir en la observación de la amiba en la muestra. Lo anterior puede justificar también su ausencia en secas; sin embargo, para explicar este hallazgo también puede sumarse que en secas la entrada de sedimentos y la remoción del bentos es mínimo, lo que conlleva a una menor probabilidad de observar este género en dichas fechas.

En otros estudios realizados en ríos o lagos el género predominante ha sido *Acanthamoeba*; sin embargo, las temperaturas del agua al momento de los muestreos han sido superiores (<21°C) (Kang et al., 2020; Niyyati et al., 2012; Ortiz-Ortega et al., 2014), entre ellos, Ballares et al. (2020) reportaron la presencia de *Acanthamoeba* en cuatro lagos que se utilizan para acuicultura y actividades turísticas de la zona de las lagunas cráter en Filipinas. Aunque no describen más condiciones ambientales, atribuyen la presencia del género a una

temperatura favorable del agua (27° a 31°C) y al impacto antropogénico de la zona. Este estudio confirma que es posible que la actividad turística realizada cerca del canal deba considerarse un factor más a considerar en futuros estudios.

Acanthamoeba castellanii y *A. polyphaga* se han reportado en acuíferos, aguas termales, canales de riego, cascadas, posas, ríos y sistemas de tratamiento (Andrade et al., 2015; Kang et al., 2020; Koyun et al., 2020; Latifi et al., 2020; Ortíz-Ortega et al., 2014; Ramírez et al., 2009; Ramírez-Flores, 2019; Reyes-Batlle et al., 2021; Rivera et al., 1993; Toledo, 2007). Por su parte, *A. triangularis* se ha reportado en agua potable, reservorios naturales, ríos, sistemas de tratamiento (Al-Herrawy et al., 2017; Andrade et al., 2015; Campos, 2015; Koyun et al., 2020; Mitsuwan et al., 2020).

Las tres especies de *Acanthamoeba* arriba mencionadas se han reportado como patógenas (Visvesvara, 2014; Xuan et al., 2008), a su vez, no se ha reportado que exista algún factor particular de estas especies que intervenga en la presencia o ausencia de estos en el ambiente; se ha reportado que al igual que todo el género, la disponibilidad de alimento, la temperatura, la turbidez y el nitrógeno amoniacal podría llegar a influir en su distribución y abundancia (Ettinger et al., 2003; Ren et al., 2018; Rodríguez-Zaragoza, 1994).

Korotnevelia stella es una especie observada en todos los sitios durante la primera época (**Cuadro 2**). Se ha reportado en ríos, lagos, aguas residuales y manantiales (Bonilla-Lemus et al., 2014; Patsyuk, 2013; Ramírez et al., 2005, 2014, 2016; Smirnov & Thar, 2003; Takamura et al., 2000; Udalov, 2016; Udalov et al., 2017; Udalov & Völcker, 2022; Van Wichelen et al., 2012). Posee una forma flotante al igual que *Vannella* por lo que la presencia en todos los sitios puede ser explicada por la facilidad de la amiba de desprenderse del sustrato y ser llevada en la corriente de agua; asimismo, se reportó que posee una gran capacidad de soportar una amplia variación de la temperatura, la concentración de oxígeno disuelto y de materia orgánica disuelta (Patsyuk, 2013).

Hartmannella cantabrigiensis se observó en ambas temporalidades en los sitios con *Hydrocotyle* (**Cuadro 2** y **Cuadro 3**), aunque en secas también se observó en el sitio sin planta.

Es una especie que ha sido poco estudiada, pues los pocos registros que se tienen de ella sólo se limitan a mencionarla; sin embargo, ha sido objeto de estudio en el ámbito de taxonomía, pues se ha sugerido mover la especie a otro género (Brown et al., 2011). También se ha documentado que son vectores para *Legionella* (Hsu et al., 2011; Thomas et al., 2008). La especie se ha aislado de acuíferos, ríos y sistemas de tratamiento (Bonilla-Lemus et al., 2014; Ramírez et al., 2009; Rivera et al., 1993). Como género se ha reportado también en acuíferos, aguas termales, agua potable, lagos, entre otros ambientes (Berrilli et al., 2021; Bonilla-Lemus et al., 2010; Ramírez et al., 2010; Takamura et al., 2000; M. Xu et al., 2005). También como género se ha observado que su presencia puede ser afectada por el oxígeno disuelto, la disponibilidad de alimento, la temperatura y la turbidez (Bonilla-Lemus et al., 2014; Ettinger et al., 2003; Ren et al., 2018).

Naegleria sp. se encontró en todos los sitios de muestreo de este estudio, en ambas épocas (**Cuadro 2** y **Cuadro 3**). Se considera que *Naegleria* es más susceptible a las condiciones ambientales, como pH, temperatura, oxígeno disuelto, entre otros. (Bonilla-Lemus et al., 2014; Stahl & Olson, 2020); sin embargo, en varios estudios se ha mostrado que *Naegleria* tiene intervalos de tolerancia amplios a diversos parámetros ambientales, como temperatura, pH y oxígeno disuelto, aunque depende mucho de la cepa y si esta se encuentra en forma de quiste o de trofozoíto (Stahl & Olson, 2020). Es importante mencionar que las cepas con potencial patógeno de *Naegleria* son comúnmente termófilas (en aguas con temperaturas promedio de 30°C) y tienen la capacidad de crecer a más de 40°C (De Jonckheere, 2012, 2014). La determinación a nivel de especie del género *Naegleria*, no es posible sin la aplicación de técnicas moleculares (Kilvington & Beeching, 1995; Page, 1988).

Por otro lado, Bellini et al. (2020) realizaron un estudio en un río de Brasil, el cual tiene características físicas y químicas similares al cuerpo de agua de este estudio, y encontraron la presencia de cinco especies de *Naegleria* en todos los sitios muestreados a lo largo del río. Dichas especies fueron *N. philippinensis*, *N. canariensis*, *N. australiensis*, *N. gruberi* y *N. dobsoni*.

Es posible atribuir la alta frecuencia de las especies de este género a dos hechos, uno de ellos es que posee una forma flagelar, la cual le permite desplazarse si las condiciones ambientales o de disponibilidad de alimento no le son favorables, por lo que se puede recuperar de diferentes sitios con las mismas condiciones en un mismo cuerpo de agua. El otro, es su amplia resistencia a amplias condiciones ambientales, pues se ha demostrado que ahora cepas patógenas se pueden observar en ambientes con agua “fría” ($\approx 16^{\circ}\text{C}$) cuando antes se consideraba que sólo era posible encontrarlas en agua con temperatura por arriba de 30°C (Bonilla-Lemus et al., 2020).

En otros estudios se ha confirmado la presencia de *Naegleria* en acuíferos, agua potable, aguas termales, canales de riego, lagos, ríos, entre otros ambientes (Bonilla-Lemus et al., 2020; Ettinger et al., 2003; Gianinazzi et al., 2009; John & Howard, 1995; Kang et al., 2020; Kyle & Noblet, 1986, 1987; Lares-Jiménez et al., 2018; Latifi et al., 2020; Milanez et al., 2019; Niyati et al., 2012; Ramírez et al., 2009; Reyes-Batlle et al., 2021; Takamura et al., 2000).

Saccamoeba stagnicola y *Thecamoeba quadrilineata* son dos especies que sólo aparecieron en un sitio de muestreo en la época de lluvias (**Cuadro 3**). Desafortunadamente no se ha profundizado la relación de estas especies con las variables ambientales; sin embargo, se han aislado de diversos cuerpos de agua naturales, residuales, entre otros ambientes, como son *T. quadrilineata* (Beltrán, 2008; Campos, 2015; Toledo, 2007) y *S. stagnicola* (Campos, 2015; Ibarra, 2015; Patsyuk, 2013; Ramírez et al., 2009).

Vahlkampfia ustiana estuvo presente en las dos épocas en tres sitios (**Cuadro 2** y **Cuadro 3**); este género no posee una forma que le permita desplazarse en el agua, aunque pertenece a Heterolobosea como *Naegleria* (Smirnov et al., 2011), por lo que queda restringida al sustrato, materia suspendida o a la interfaz agua-aire; por otra parte, se ha visto que la frecuencia de *V. ustiana* en algunos cuerpos de agua se relaciona con periodos de lluvia o bajas temperaturas (Anderson, 1997; Ettinger et al., 2003; Ramírez et al., 2016; Rodríguez-Zaragoza, 1994). Por tanto, se le puede atribuir a la baja temperatura la presencia de *V. ustiana* puesto que la mayoría de los registros fueron en la columna de agua o superficie y en la

temporada de secas (**Cuadro 2** y **Cuadro 3**). También se ha aislado de canales de riego, lagos, sistemas de tratamiento, entre otros ambientes (Ramírez-Flores, 2019; Rivera et al., 1993; Takamura et al., 2000).

Vannella es un género que estuvo presente en los tres sitios durante el primer muestreo y en dos del segundo (**Cuadro 2** y **Cuadro 3**), es decir que tuvo una alta frecuencia. No posee la capacidad de formar quistes como una estructura de resistencia a condiciones ambientales adversas; sin embargo, posee una forma denominada “forma flotante” (Page, 1988), la cual le permite la permanencia en la columna de agua y ser arrastrada por las corrientes, resultando en una mayor distribución en el cuerpo de agua; por lo que la capacidad de desprenderse de donde se encuentra adherida y moverse en la columna de agua, puede ser parte de la explicación de la alta frecuencia de este género. También se ha mencionado que *Vannella* posee un trofozoito muy resistente a la desecación y a la falta de alimento. (Bonilla-Lemus et al., 2014; Ettinger et al., 2003).

No se ha establecido alguna relación entre especies de *Vannella* y los parámetros ambientales. Al igual que otras amibas, las correlaciones significativas que se han reportado son tomando en cuenta su género; por ejemplo, Ettinger et al. (2003) observaron una correlación positiva entre *Vannella* y coliformes fecales en un río, donde al igual que en el presente estudio, *Vannella* fue uno de los géneros más frecuentes.

En la mayoría de los estudios se han registrado juntos a los dos taxones de *Vannella* que se observaron en el presente estudio a *V. platypodia* y *V. simplex*, siendo estos en acuíferos, lagunas, ríos, sistemas de tratamiento, entre otros (Bonilla-Lemus et al., 2014; Garstecki & Arndt, 2000; Ramírez et al., 2009; Toledo, 2007).

Vermamoeba vermiformis es una especie que también se observó en todos los sitios de muestreo en secas y lluvias (**Cuadro 2** y **Cuadro 3**); aunque no se tienen muy claras las condiciones ambientales que favorecen su reproducción, se ha reportado en cuerpos de agua de 40°C y en nieve a 0°C, inclusive se le ha considerado tan ampliamente distribuida como *Acanthamoeba* (Ramírez et al., 2016; Reyes-Batlle et al., 2015; Scheid, 2019). *V. vermiformis*

se comporta como un depredador de superficies, pues es más efectivo a la hora de depredar bacterias cuando estas están adheridas a alguna superficie, por lo que su presencia en la columna de agua puede estar más relacionada a la materia en suspensión que ahí se encuentra.

Existen diversos motivos por lo que esta ameba se puede encontrar en todos los sitios de muestreo, como se mencionó, *V. vermiformis* puede tener una distribución tan amplia como *Acanthamoeba*, y esto es debido a que posee un quiste bastante resistente, pues consta de dos paredes, un endoquiste y un ectoquiste, que aunque no posee celulosa como el quiste de *Acanthamoeba*, están conformados por diversas capas filamentosas, lo que le proporciona una resistencia al ambiente, e inclusive a la desinfección (Fouque et al., 2012; Masangkay et al., 2019). Teniendo un quiste resistente junto con la cercanía de los sitios muestreados en este estudio pudo ser una combinación favorable para el aislamiento frecuente de esta especie.

Es importante mencionar que *V. vermiformis* ha cobrado importancia en el ámbito médico, al verse involucrada en diferentes casos de queratitis, aislarse de un caso de meningoencefalitis, aunque no se comprobó que fuese directamente responsable de la enfermedad (Centeno et al., 1996) y encontrándose que es vector de otros organismos patógenos como *Legionella* (Cabello-Vílchez et al., 2014; Masangkay et al., 2019; Scheid, 2019).

Vermamoeba vermiformis se ha aislado de acuíferos, agua potable, aguas termales, canales de riego, lagos, lagunas, pozos, ríos, sistemas de tratamiento, entre otros (Feiz Haddad et al., 2019; Garstecki & Arndt, 2000; Kang et al., 2020; Lares-Jiménez et al., 2018; Latifi et al., 2020; Ramírez et al., 2009, 2014; Reyes-Battle et al., 2021; Rivera et al., 1993; Üstüntürk-Onan & Walochnik, 2018).

Las especies del género *Arcella* han sido asociadas con una variedad de hábitats de agua dulce y se consideran oportunistas, aisladas de condiciones hostiles en ambientes tropicales, subtropicales y templados; se caracteriza por tolerar altas conductividades, altas salinidades, pH bajos y soportar una gran variabilidad ambiental de su hábitat (Escobar et al., 2008; Sigala et al., 2016, 2018; Sullivan & Booth, 2011). Además, se ha reportado en varios

estudios como uno de los géneros dominantes más abundantes en el plancton de lagos y ríos, algunos con características similares a las del presente estudio, como se menciona anteriormente (Dabés & Velho, 2001; Escobar et al., 2008; Ju et al., 2014; Sullivan & Booth, 2011; Tran et al., 2021). Lo anterior coincide con este estudio, pues a pesar de que no se analizaron las muestras de sedimento o la superficie del agua en busca de amibas testadas, este género sí apareció en todas las muestras de la columna de agua, al contrario que *Diffflugia* que sólo apareció en dos (Lansac-Tôha et al., 2000; Tran et al., 2021; Velho et al., 1999).

Se ha reportado que la presencia de *Arcella* se encuentra relacionada positivamente con la turbidez, pH, temperatura y clorofila *a*, así como negativamente con el oxígeno disuelto (Escobar et al., 2008; Picapedra et al., 2019). Esta tendencia no se encontró del todo en el presente estudio, pues según el CCA un taxón de *Arcella* (sp.1) se relaciona más con concentraciones altas de OD, mientras que el segundo taxón (sp.2) se relaciona con valores altos de pH. Esto puede contradecirse a lo sugerido por Picapedra et al. (2019); sin embargo, considerando la gran cantidad de especies de este género se puede considerar que ambos puntos son correctos. Por ejemplo, se puede observar a *A. vulgaris*, la cual se ha mencionado que ha sido una especie muy frecuente, pero en condiciones de pH ácido, inclusive en pH de ≈ 2.5 y por otro lado se tienen especies como *A. discoidea*, que también ha sido muy frecuente incluso en estudios en cuerpos de agua con oxígeno disuelto moderadamente altos y condiciones similares al presente como se ha mencionado anteriormente (Dabés & Velho, 2001; Escobar et al., 2008; Patterson & Kumar, 2000; Velho et al., 1999). También se ha reportado como un género más frecuente en el plancton de lagos y ríos, lo que coincide con este estudio, pues a pesar de que no se analizaron las muestras de sedimento o la superficie del agua en busca de amibas testadas, este género se identificó en todas las muestras de la columna de agua, al contrario que *Diffflugia* que sólo se observó en dos (Lansac-Tôha et al., 2000; Tran et al., 2021; Velho et al., 1999).

Las especies del género *Diffflugia* también se han reportado principalmente en el sedimento (Lansac-Tôha et al., 2014; Tran et al., 2021) y se han asociado con el aumento en la

entrada de sedimentos y materia orgánica a los sistemas, densidad de bacterias, así como a la eutrofización (Dabés & Velho, 2001; Roe et al., 2010; Xu et al., 2005). Se ha observado que las condiciones óptimas para la presencia de este género son en pH cerca de la neutralidad y poca profundidad (Patterson & Kumar, 2000; Velho et al., 1999), encontrando principalmente en estas condiciones a *Diffflugia oblonga*.

Frecuentemente las especies de *Diffflugia* que se observan en diferentes estudios en lagos son las mismas, aunque exista alguna variación en los parámetros ambientales (exceptuando aquellos con alguna característica que los haga generar condiciones adversas, como en el estudio de Patterson & Kumar [2000], donde reportaron pH muy ácidos), dichas especies son *D. avellana*, *D. corona*, *D. gramen*, *D. lobostoma*, *D. pseudogramen* y *D. oblonga* (Arrieira et al., 2015; Dabés & Velho, 2001; Lansac-Tôha et al., 2007; Takamura et al., 2000; Velho et al., 1999).

Se ha observado en varios estudios con características ambientales similares al presente como uno de los géneros más abundantes (Arrieira et al., 2015; Escobar et al., 2008; Ju et al., 2014; Tran et al., 2021), lo que es contrastante, ya que en este estudio se encontró en sólo dos sitios en la época de secas; sin embargo, su baja presencia en el canal puede deberse a que es un género asociado al bentos y en el presente estudio no se identificaron amibas testadas de dicho hábitat, por lo que su presencia pudo deberse gracias a la materia suspendida en la columna de agua.

La técnica usada en este estudio para el conteo de amibas desnudas es una de las dos que actualmente se usan como métodos indirectos, las cuales son preferidas por sobre otras técnicas como PCR cuantitativa, citometría, entre otras (Moussa et al., 2020; Smirnov & Brown, 2004). Los métodos indirectos, a pesar de que todos se basan en diluciones y conteos de presencia o ausencia de amibas en pozos o cajas, el fundamento matemático sobre el que se formulan es distinto (Anderson & Rogerson, 1995; Garstecki & Arndt, 2000; Smirnov & Brown, 2004), lo que les confiere una pequeña diferencia en los resultados finales; mientras que el método de la MPA puede llegar a subestimar la cantidad de amibas en el ambiente, el método

del número más probable (NMP) lo puede sobreestimar (Smirnov & Brown, 2004; Smirnov & Thar, 2003; Smirnov, 2002).

Referente a la técnica usada en este estudio, Smirnov & Brown (2004) indicaron que el método será más preciso en cuanto más específico se haga el conteo y la dilución sea la correcta; es decir, habrá más certeza en la densidad de amibas si se cuenta por especie y la dilución realizada haga que esa especie no esté presente en más del 13% de los pozos. Sin embargo, son precisiones que requieren estandarizar la técnica tras diversos estudios. En los estudios más precisos usando esta técnica no se ha considerado más allá de morfotipo y sólo en algunos casos se ha alcanzado el nivel de especie ya que es complejo identificar a este nivel (Anderson, 1997, 2007, 2013; Anderson & Rogerson, 1995; Rogerson et al., 2003).

En México no hay trabajos publicados que consideren a las amibas desnudas en su totalidad y en los que se realice un intento de cuantificación. En Sonora se realizó un estudio sobre la concentración de amibas termófilas en aguas naturales usadas para recreación; la técnica usada fue la del NMP, y reportaron que en verano los números de amibas fueron mucho mayores, teniendo como máximo 9175 NMP/L, el cual es parecido a los 8334 MPA que se obtuvieron en este estudio, y como mínimo 3477 NMP/L, pero se debe considerar que el número de amibas reportado son sólo de las termófilas, por lo que puede ser que el número de amibas no termófilas y termófilas sea mayor al encontrado en el presente estudio.

Lamentablemente no realizaron análisis físicos o químicos, más que el registro de temperatura, la cual estuvo en un rango de 23-35°C (Lares-Villa & Hernández-Peña, 2010), mientras que en el presente estudio la temperatura tuvo un rango de 15.8°C-19.6°C.

Otro estudio realizado en México fue considerando las amibas patógenas de un sistema de tratamiento de agua (Rivera et al., 1993). Este estudio resulta difícil de comparar, además del hábitat diferente en donde se realiza el estudio, utilizaron dos métodos de conteo de amibas, uno fue por conteo directo de colonias y otro por NMP. Se reportó en este estudio que el método de cuenta por colonias arroja una cantidad de amibas mayor que el obtenido por NMP. A pesar de no poder comparar datos con este estudio resulta interesante considerarlo como

referencia para observar el resultado de usar un método que no involucre el cultivo de amibas y el considerar el tiempo que se ha intentado cuantificar a las amibas desnudas.

Al igual que en otros estudios (Anderson, 1997; Anderson & Rogerson, 1995), se puede observar que la densidad de amibas es mayor en los meses de verano; tal vez debido al aumento de temperatura. Si comparamos las densidades de amibas con otros estudios debe considerarse de dónde fue tomada la muestra, pues Anderson (1997) reportó densidades de amibas superiores, inclusive de millones, que, aunque sea de un lago somero sus muestras se obtuvieron cerca del sedimento, y se ha visto que las amibas se encuentran en su mayoría asociadas a partículas y al sedimento, pues necesitan de una superficie para adherirse (Rodríguez-Zaragoza, 1994; Rogerson et al., 2003), y es posible que en un cuerpo de agua con poca turbidez, el número de amibas sea mayor en la superficie que en la columna de agua debido a que la cantidad de materia suspendida es menor, por lo que las amibas se ubican principalmente en la película superficial del agua en la interfaz agua-aire. (Bastian et al., 2009; Rodríguez-Zaragoza, 1994).

En un estudio realizado en diversos lagos con un oxígeno disuelto, pH y conductividad parecidos a los registrados en el canal del presente estudio, inclusive se menciona que son lagos poco profundos; sin embargo, a diferencia del presente estudio, se menciona que dichos lagos se encuentran en un proceso de eutrofización muy avanzado, y esta característica puede ser una de las razones por la que las densidades de amibas no coincidan entre ambos estudios, pues en dichos lagos se encontraron densidades desde 339 mil a poco más de un millón de amibas desnudas por litro. En dicho estudio también se menciona que las altas concentraciones del mejillón cebra que se encuentra en esos lagos puede alentar la proliferación de amibas; dicha información no puede compararse directamente al presente estudio; sin embargo, se puede decir que la influencia de un organismo externo puede ser relevante en las densidades de amibas desnudas (Bischoff & Horvath, 2011).

Anderson (2007) reportó una densidad de amibas muy superior en un lago, comparándolo con la MPA obtenida en el presente estudio; el lago lo describe como altamente

productivo, por lo que puede existir más disponibilidad de alimento. A su vez compara las abundancias de amibas con la de ciliados, concluyendo que las amibas desnudas ocupan un lugar de igual importancia que los ciliados en la red trófica, reportando que hay más abundancia de amibas en meses más fríos, mientras que en los cálidos la abundancia de ciliados aumenta, infiriendo que se puede deber al aumento de bacterias en esa temporada; sin embargo, en el presente estudio se observó una relación entre las bacterias totales y la MPA de amibas. Por ejemplo, coincidieron en la muestra Hydro2 los mayores valores de densidad de bacterias totales y la MPA más elevada del estudio (**Cuadro 3**).

Se observó que con un nivel de $p < 0.06$, existe una correlación significativa positiva con el número de bacterias totales y la abundancia de amibas. Esto puede explicar que la MPA del segundo muestreo sea en promedio mayor, que los del primer muestreo, pues el número de bacterias totales resultó también mayor en este muestreo. Kim & Choi (2019) discuten las consideraciones para elegir el nivel de confianza en los análisis estadísticos y porque el criterio de $p < 0.05$ no es siempre el más adecuado.

En cuanto a las amibas testadas, el valor más alto de AT/L fue de más de 90 mil en el sitio con *Hydrocotyle* en secas, mientras que el segundo fue el sitio con *Potamogeton* en la temporada de lluvias. No hay un patrón claro en cuanto a las estaciones climáticas; sin embargo, se observó que en el sitio sin planta se registró el número más bajo en ambas épocas. Resulta difícil comparar los datos de abundancias, ya que muchos estudios han registrado abundancias a partir de muestra del sedimento o por especie, mientras que en el presente estudio sólo se consideró la columna de agua y una abundancia total.

Es importante mencionar que la abundancia de amibas testadas y la presencia de especies suele ser menor en cuerpos de agua tropicales que en cuerpos de agua templados (Patterson et al., 2015; Sigala et al., 2018). Esta relación no se ha observado en amibas desnudas.

En este estudio los valores de AT/L fueron mucho mayores que las MPA, esto tiene sentido pues se ha establecido que la abundancia de amibas testadas es la mayor entre todos

los protistas, en algunas ocasiones pueden llegar a alcanzar una abundancia igual o superior a la de los rotíferos y copépodos (Mieczan, 2007; Velho et al., 1999).

Conclusiones

La riqueza de especies del canal fue de 15 taxones, y de acuerdo con el modelo de estimación de Chao2 faltó solo un taxón del total estimado, por lo que se puede considerar prácticamente completo el inventario de especies del canal.

De los géneros identificados, *Arcella*, *Naegleria* y *Vermamoeba* estuvieron presentes en todos los sitios en ambas épocas, mientras que *Vannella* y *Korotnevella* solo se identificaron en secas. *Diffflugia*, *Saccamoeba* y *Thecamoeba* solo en lluvias.

Al comparar entre épocas, la de lluvia tuvo una riqueza de 12 taxones mientras la de secas nueve, coincidiendo en siete taxones; *Arcella* sp.1, *Hartmannella cantabrigiensis*, *Naegleria* sp., *Vahlkampfia ustiana*, *Vannella platypodia*, *V. simplex* y *Vermamoeba vermiformis*.

La abundancia de amibas desnudas fue menor que la de amibas testadas, siendo el sitio con *Hydrocotyle* en el que se registraron los valores más altos de abundancia de cada una. Mientras que las abundancias de amibas testadas fueron similares a otros estudios, las de amibas desnudas variaron más. Este es otro motivo por el cual los estudios con abundancias de amibas desnudas son necesarios, pues se requieren para poder realizar más comparaciones.

Es importante utilizar métodos de cuantificación de amibas desnudas pues los estudios ecológicos serían más completos.

El método utilizado para conteo en este trabajo, a pesar de tener sus limitantes, tiene el potencial de permitir realizar mejores estudios ecológicos una vez estandarizado. Por lo anterior es que en este estudio resultó complicado comparar los datos de abundancias obtenidos, pues pocos son los estudios publicados que han considerado a todas las amibas desnudas.

De entre los parámetros ambientales, sólo la correlación de las bacterias totales con la MPA de amibas desnudas fue significativa con $p < 0.06$ de confianza. Posiblemente un estudio

con más muestreos podría ofrecer suficientes datos para encontrar alguna otra correlación de las amibas con alguna otra variable ambiental.

Se encontró que algunas especies se relacionan con valores mayores de pH, como *Acanthamoeba polyphaga*, *A. castellanii*, *Arcella* sp.2, y *Saccamoeba stagnicola*.

Otras prefirieron concentraciones altas de oxígeno disuelto, fósforo total, nitrógeno total y valores altos de conductividad, como son *Arcella* sp.1, *Diffugia* sp., *Naegleria* sp. y *Vahlkampfia ustiana*.

Con mayor abundancia de bacterias se relacionaron *Acanthamoeba polyphaga* y *Vermamoeba vermiformis*.

Acanthamoeba triangularis, *Hartmannella cantabrigiensis*, *Korotnevella stella*, *Vannella platypodia* y *V. simplex* se relacionaron con valores elevados de temperatura y clorofila *a*.

No se encontraron diferencias significativas entre los sitios de muestreo por la riqueza de amibas o por los parámetros ambientales. Sin embargo, los análisis de agrupamiento muestran que el sitio con *Hydrocotyle* es el más similar tanto por la composición de amibas, como por las condiciones ambientales; es decir, que este sitio es estable entre estaciones climáticas. Con esto se puede hipotetizar que *Hydrocotyle* permite una estabilidad del área circundante ya sea a través de medios químicos y/o físicos.

Se encontró que en los sitios donde estuvieron presentes las macrófitas *Potamogeton* o *Hydrocotyle* se observaron 11 especies en cada sitio, y en el sitio sin macrófitas se observaron sólo siete especies. Sólo cinco especies se observaron en todos los sitios; *Arcella* sp.1, *Korotnevella stella*, *Naegleria* sp., *Vahlkampfia ustiana* y *Vermamoeba vermiformis*.

No se ha demostrado un efecto directo de las macrófitas sobre las amibas, sino que les afecta de manera indirecta modificando el ambiente, tal vez otorgando una mayor complejidad al hábitat, o ejerciendo algún cambio sobre los parámetros físicos o químicos. Las macrófitas sí pueden tener un efecto directo sobre las bacterias y algas, modificando así la disponibilidad de alimento de las amibas.

Referencias Bibliográficas

- Adl, S. M., Bass, D., Lane, C. E., Lukeš, J., Schoch, C. L., Smirnov, A., Agatha, S., Berney, C., Brown, M. W., Burki, F., Cárdenas, P., Čepička, I., Chistyakova, L., Campo, J., Dunthorn, M., Edvardsen, B., Eglit, Y., Guillou, L., Hampl, V., ... Zhang, Q. (2019). Revisions to the classification, nomenclature, and diversity of eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 66(1), 4–119. <https://doi.org/10.1111/jeu.12691>
- Aladro-Lubel, M. A., Reyes-Santos, M., Olvera-Bautista, F., & Robles-Briones, M. N. (2007). Ciliados y otros protozoos. En A. Lot (Ed.), *Guía ilustrada de La Cantera Oriente. Caracterización ambiental e inventario biológico*. México; UNAM, Coordinación de la Investigación Científica, Reserva Ecológica del Pedregal.
- Al-Herrawy, A. Z., Marouf, M. A., & Gad, M. A. (2017). *Acanthamoeba* species in tap water, Egypt. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 9(1). <https://doi.org/10.25258/ijpcr.v9i1.8259>
- American Public Health Association, American Water Works Association, & Water Environment Federation. (2017). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (R. B. Baird, A. D. Eaton, E. W. Rice, & L. L. Bridgewater, Eds.; 23rd edition). American Public Health Association.
- Anderson, O. R. (1997). Annual abundances, diversity, and growth potential of gymnamoebae in a shallow freshwater pond. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 44(5), 393–398. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1997.tb05714.x>
- Anderson, O. R. (2007). A seasonal study of the carbon content of planktonic naked amoebae in the Hudson estuary and in a productive freshwater pond with comparative data for ciliates. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 54(4), 388–391. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2007.00276.x>
- Anderson, O. R. (2010). Protozoan ecology. En John Wiley & Sons, Ltd (Ed.), *ELS* (1a ed.). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0001929.pub2>

- Anderson, O. R. (2013). Naked amoebae in biofilms collected from a temperate freshwater pond. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 60(4), 429–431. <https://doi.org/10.1111/jeu.12042>
- Anderson, O. R., & Rogerson, A. (1995). Annual abundances and growth potential of gymnamoebae in the Hudson estuary with comparative data from the firth of Clyde. *European Journal of Protistology*, 31, 223–233. [https://doi.org/10.1016/S0932-4739\(11\)80446-3](https://doi.org/10.1016/S0932-4739(11)80446-3)
- Anderson, O. R., & Rogerson, A. (2011). Amoeba. En John Wiley & Sons, Ltd (Ed.), *ELS* (1a ed.). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0001961.pub2>
- Andrade, M. A., Carrasco, M. M., Ortiz, R., Ibarra, M. R., Carmona, J., & Bonilla, P. (2015). Amibas de vida libre y potencialmente patógenas de ríos de la Cuenca de México. En *Tendencias de investigación en Limnología tropical: Perspectivas universitarias en Latinoamérica*. Asociación Mexicana de Limnología, A.C., Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM, y Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.
- Arar, E. J., & Collins, G. B. (1997). *Method 445.0: In vitro determination of chlorophyll and pheophytin a in marine and freshwater algae by fluorescence*. United States Environmental Protection Agency and Office of Research and Development, National Exposure Research Laboratory.
- Arrieira, R. L., Alves, G. M., Schwind, L. T. F., & Lansac-Tôha, F. A. (2015). Local factors affecting the testate amoeba community (Protozoa: Arcellinida; Euglyphida) in a neotropical floodplain. *Journal of Limnology*, 73(3). <https://doi.org/10.4081/jlimnol.2015.1078>
- Bagatini, I. L., Spínola, A. L. G., Peres, B. de M., Mansano, A. da S., Rodrigues, M. A. A., Batalha, M. A. P. L., Lucca, J. V. de, Godinho, M. J. L., Tundisi, T. M., & Selegim, M. H. R. (2013). Protozooplankton and its relationship with environmental conditions in 13 water bodies of the Mogi-Guaçu basin—SP, Brazil. *Biota Neotropica*, 13(4), 152–163. <https://doi.org/10.1590/S1676-06032013000400016>

- Ballares, L. D., Masangkay, F. R., Dionisio, J., Villaflores, O., Pineda-Cortel, M. R., & Milanez, G. D. (2020). Molecular detection of *Acanthamoeba* spp. In Seven Crater Lakes of Laguna, Philippines. *Journal of Water and Health*, 18(5), 776–784.
<https://doi.org/10.2166/wh.2020.146>
- Barrett, R. A., & Alexander, M. (1977). Resistance of cysts of amoebae to microbial decomposition. *Applied and Environmental Microbiology*, 33(3), 670–674.
<https://doi.org/10.1128/aem.33.3.670-674.1977>
- Basílico, G., Magdaleno, A., Paz, M., Moretton, J., Faggi, A., & de Cabo, L. (2017a). Agro-industrial effluent phytoremediation with *Lemna gibba* and *Hydrocotyle ranunculoides* in water recirculating mesocosms: Water. *CLEAN - Soil, Air, Water*, 45(3), 1600386.
<https://doi.org/10.1002/clen.201600386>
- Basílico, G., Magdaleno, A., Paz, M., Moretton, J., Faggi, A., & de Cabo, L. (2017b). Sewage pollution: Genotoxicity assessment and phytoremediation of nutrients excess with *Hydrocotyle ranunculoides*. *Environmental Monitoring and Assessment*, 189(4), 182.
<https://doi.org/10.1007/s10661-017-5892-8>
- Bastian, F., Alabouvette, C., & Saiz-Jimenez, C. (2009). Bacteria and free-living amoeba in the Lascaux Cave. *Research in Microbiology*, 160(1), 38–40.
<https://doi.org/10.1016/j.resmic.2008.10.001>
- Bastidas-Navarro, M., & Modenutti, B. (2007). Efecto de la estructuración por macrófitas y por recursos alimentarios en la distribución horizontal de tecamebas y rotíferos en un lago andino patagónico. *Revista Chilena de Historia Natural*, 80, 345–362.
<https://doi.org/10.4067/S0716-078X2007000300008>
- Bautista-Hernández, C. E., Monks, S., & Pulido-Flores, G. (2013). Los parásitos y el estudio de su biodiversidad: Un enfoque sobre los estimadores de la riqueza de especies. En G. Pulido-Flores & S. Monks (Eds.), *Estudios científicos en el estado de Hidalgo y zonas aledañas: Vol. II*. Zea Books.

- Bellini, N. K., Fonseca, A. L. M. da, Reyes-Batlle, M., Lorenzo-Morales, J., Rocha, O., & Thiemann, O. H. (2020). Isolation of *Naegleria* spp. from a Brazilian water source. *Pathogens*, 9(2), 90. <https://doi.org/10.3390/pathogens9020090>
- Beltrán, A. (2008). *Determinación de las amibas de vida libre en los pozos del acuífero de Cuernavaca, Morelos* [Licenciatura]. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.
- Berrilli, F., Di Cave, D., Novelletto, A., & Montalbano Di Filippo, M. (2021). PCR-based identification of thermotolerant free-living amoebae in Italian hot springs. *European Journal of Protistology*, 80. <https://doi.org/10.1016/j.ejop.2021.125812>
- Bischoff, P. J., & Horvath, T. G. (2011). Abundances of naked amoebae and macroflagellates in Central New York lakes: Possible effects by zebra mussels. *Acta Protozoologica*, 50(1).
- Bonilla-Lemus, P., Caballero Villegas, A. S., Carmona Jiménez, J., & Lugo Vázquez, A. (2014). Occurrence of free-living amoebae in streams of the Mexico Basin. *Experimental Parasitology*, 145. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2014.07.001>
- Bonilla-Lemus, P., Ramírez-Bautista, G. A., Zamora-Muñoz, C., Ibarra-Montes, M. del R., Ramírez-Flores, E., & Hernández-Martínez, M. D. (2010). *Acanthamoeba* spp. In domestic tap water in houses of contact lens wearers in the metropolitan area of Mexico City. *Experimental Parasitology*, 126(1), 54–58. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2009.11.019>
- Bonilla-Lemus, P., Rojas-Hernández, S., Ramírez-Flores, E., Castillo-Ramírez, D. A., Monsalvo-Reyes, A. C., Ramírez-Flores, M. A., Barrón-Graciano, K., Reyes-Batlle, M., Lorenzo-Morales, J., & Carrasco-Yépez, M. M. (2020). Isolation and identification of *Naegleria* species in irrigation channels for recreational use in Mexicali Valley, Mexico. *Pathogens*, 9(10), 820. <https://doi.org/10.3390/pathogens9100820>
- Brönmark, C., & Hansson, L.-A. (2005). *The biology of lakes and ponds* (2nd ed). Oxford University Press.

- Brown, M. W., Silberman, J. D., & Spiegel, F. W. (2011). "Slime Molds" among the Tubulinea (Amoebozoa): Molecular systematics and taxonomy of *Copromyxa*. *Protist*, 162(2), 277–287. <https://doi.org/10.1016/j.protis.2010.09.003>
- Cabello-Vílchez, A. M., Mena, R., Zuñiga, J., Cermeño, P., Martín-Navarro, C. M., González, A. C., López-Arencibia, A., Reyes-Batlle, M., Piñero, J. E., Valladares, B., & Lorenzo-Morales, J. (2014). Endosymbiotic *Mycobacterium chelonae* in a *Vermamoeba vermiformis* strain isolated from the nasal mucosa of an HIV patient in Lima, Peru. *Experimental Parasitology*, 145, S127–S130. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2014.02.014>
- Campos, S. (2015). *Amibas de vida libre en un sistema de tratamiento de lodos activados de una industria textil* [Licenciatura]. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.
- Cavalier-Smith, T. (1998). A revised six-kingdom system of life. *Biological Reviews*, 73(3), 203–266. <https://doi.org/10.1017/S0006323198005167>
- Centeno, M., Rivera, F., Cerva, L., Tsutsumi, V., Gallegos, E., Calderon, A., Ortiz, R., Bonilla, P., Ramírez, E. & Suárez, G. (1996). *Hartmannella vermiformis* isolated from the cerebrospinal fluid of a young male patient with meningoencephalitis and bronchopneumonia. *Archives of Medical Research*, 27, 579-586.
- Colwell, R. K., Chao, A., Gotelli, N. J., Lin, S.-Y., Mao, C. X., Chazdon, R. L., & Longino, J. T. (2012). Models and estimators linking individual-based and sample-based rarefaction, extrapolation, and comparison of assemblages. *Journal of Plant Ecology*, 5(1), 3–21. <https://doi.org/10.1093/jpe/rtr044>
- Colwell, R. K., & Elsensohn, J. E. (2014). EstimateS turns 20: Statistical estimation of species richness and shared species from samples, with non-parametric extrapolation. *Ecography*, 37(6), 609–613. <https://doi.org/10.1111/ecog.00814>
- CONANP. (2019). *Programa de manejo del Parque Nacional Insurgente Miguel Hidalgo y Costilla*. https://simec.conanp.gob.mx/pdf_libro_pm/86_libro_pm.pdf

- Conty, A., García-Criado, F., & Bécares, E. (2007). Changes in bacterial and ciliate densities with trophic status in Mediterranean shallow lakes. En R. D. Gulati, E. Lammens, N. De Pauw, & E. Van Donk (Eds.), *Shallow Lakes in a Changing World* (pp. 327–335). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6399-2_29
- Cortés-Pérez, S., Rodríguez Zaragoza, S., Ferrera-Cerrato, R., & Luna-Pabello, V. M. (2018). Recovery of amoebae community in the root soil of *M. sativa* after a strong contamination pulse with n-hexane. *Water, Air, & Soil Pollution*, 229(9), 293. <https://doi.org/10.1007/s11270-018-3944-5>
- Dabés, M. B. G., & Velho, L. F. M. (2001). Assemblage of testate amoebae (Protozoa, Rhizopoda) associated to aquatic macrophytes stands in a marginal lake of the Sao Francisco River floodplain, Brazil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 23, 299–304. <https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v23i0.2687>
- De Jonckheere, J. F. (1991). Ecology of *Acanthamoeba*. *Clinical Infectious Diseases*, 13(Supplement_5), S385–S387. https://doi.org/10.1093/clind/13.Supplement_5.S385
- De Jonckheere, J. F. (2012). The impact of man on the occurrence of the pathogenic free-living amoeboflagellate *Naegleria fowleri*. *Future Microbiology*, 7(1), 5–7. <https://doi.org/10.2217/fmb.11.141>
- De Jonckheere, J. F. (2014). What do we know by now about the genus *Naegleria*? *Experimental Parasitology*, 145, S2–S9. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2014.07.011>
- Delafont, V., Bouchon, D., Héchard, Y., & Moulin, L. (2016). Environmental factors shaping cultured free-living amoebae and their associated bacterial community within drinking water network. *Water Research*, 100, 382–392. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.05.044>
- Derda, M., Hadaś, E., Cholewiński, M., Skrzypczak, Ł., Grzondziel, A., & Wojtkowiak-Giera, A. (2016). *Artemisia annua* L. as a plant with potential use in the treatment of acanthamoebiasis. *Parasitology Research*, 115, 1635–1639. <https://doi.org/10.1007/s00436-016-4902-z>

- Escalante-Espinosa, T. (2003). ¿Cuántas especies hay? Los estimadores no paramétricos de Chao. *Elementos*, 52, 53–56.
- Escobar, J., Brenner, M., Whitmore, T. J., Kenney, W. F., & Curtis, J. H. (2008). Ecology of testate amoebae (thecamoebians) in subtropical Florida lakes. *Journal of Paleolimnology*, 40(2), 715–731. <https://doi.org/10.1007/s10933-008-9195-5>
- Ettinger, M., Webb, S., Harris, S., McIninch, S., C. Garman, G., & Brown, B. (2003). Distribution of free-living amoebae in James River, Virginia, USA. *Parasitology Research*, 89(1), 6–15. <https://doi.org/10.1007/s00436-002-0707-3>
- Evans, J. P. (1988). Nitrogen translocation in a clonal dune perennial, *Hydrocotyle bonariensis*. *Oecologia*, 77(1), 64–68. <https://doi.org/10.1007/BF00380926>
- Fakae, L. B., Stevenson, C. W., Zhu, X.-Q., & Elsheikha, H. M. (2020). In vitro activity of *Camellia sinensis* (green tea) against trophozoites and cysts of *Acanthamoeba castellanii*. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 13, 59–72. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2020.05.001>
- Feiz Haddad, M. H., Khoshnood, S., Mahmoudi, M. R., Habibpour, H., Ali, S. A., Mirzaei, H., Feiz Haddad, R., & Ahmadiangali, K. (2019). Molecular Identification of free-living amoebae (*Naegleria* spp., *Acanthamoeba* spp. and *Vermamoeba* spp.) Isolated from Unimproved hot springs, Guilan province, Northern Iran. *Iranian Journal of Parasitology*. <https://doi.org/10.18502/ijpa.v14i4.2100>
- Fenchel, T., Finlay, B. J., & Esteban, G. F. (2019). Cosmopolitan Metapopulations? *Protist*, 170(3), 314–318. <https://doi.org/10.1016/j.protis.2019.05.002>
- Finlay, B. (2004). Protist Diversity is Different? *Protist*, 155(1), 15–22. <https://doi.org/10.1078/1434461000160>
- Finlay, B. J., & Esteban, G. F. (1998). Freshwater protozoa: Biodiversity and ecological function. *Biodiversity and Conservation*, 7(9), 1163–1186. <https://doi.org/10.1023/A:1008879616066>

- Fouque, E., Trouilhé, M.-C., Thomas, V., Hartemann, P., Rodier, M.-H., & Héchard, Y. (2012). Cellular, biochemical, and molecular changes during encystment of free-living amoebae. *Eukaryotic Cell*, 11(4), 382–387. <https://doi.org/10.1128/EC.05301-11>
- Fuerst, P. A., Booton, G. C., & Crary, M. (2015). Phylogenetic analysis and the evolution of the 18s rRNA gene typing system of *Acanthamoeba*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 62(1), 69–84. <https://doi.org/10.1111/jeu.12186>
- García, G. (2021, abril 27). Laguna de Salazar muere a causa de descargas de aguas negras. *TresPM*. <https://www.trespm.mx/edomex/laguna-de-salazar-muere-a-causa-de-descargas-de-aguas-negras>
- García-Conejo, M. (2021, abril 7). Apesta a muerte: Laguna Salazar está envenenada por comerciantes, denuncian vecinos. *Portal*. <https://diariportal.com/2021/04/07/apesta-a-muerte-laguna-salazar-esta-envenenada-por-comerciantes-denuncian-vecinos/>
- Garstecki, T., & Arndt, H. (2000). Seasonal abundances and community structure of benthic rhizopods in shallow lagoons of the southern Baltic Sea. *European Journal of Protistology*, 36(1), 103–115. [https://doi.org/10.1016/S0932-4739\(00\)80027-9](https://doi.org/10.1016/S0932-4739(00)80027-9)
- Gianinazzi, C., Schild, M., Wüthrich, F., Ben Nour, N., Füchslin, H.-P., Schürch, N., Gottstein, B., & Müller, N. (2009). Screening Swiss water bodies for potentially pathogenic free-living amoebae. *Research in Microbiology*, 160(6), 367–374. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2009.06.007>
- Gifford, D. J. (1991). The protozoan-metazoan trophic link in pelagic ecosystems. *The Journal of Protozoology*, 38(1), 81–86. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1991.tb04806.x>
- Godeanu, S. (2020). Changes in taxonomy from Linné to Cavalier-Smith case study—testacean protists. *Academy of Romanian Scientists Annals Series on Biological Sciences*, 9, 5–19.
- González, C. (2018, enero 5). Mata contaminación al turismo de La Marquesa. *El Universal*. <https://www.eluniversal.com.mx/metropoli/edomex/mata-contaminacion-al-turismo-de-la-marquesa>

- Hammer, Ø., Harper, D. A. T., & Ryan, P. D. (2001). Past: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4.
- Hsu, B.-M., Huang, C.-C., Chen, J.-S., Chen, N.-H., & Huang, J.-T. (2011). Comparison of potentially pathogenic free-living amoeba hosts by *Legionella* spp. in substrate-associated biofilms and floating biofilms from spring environments. *Water Research*, 45(16), 5171–5183. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.07.019>
- Hu, B., Qi, R., & Yang, M. (2013). Systematic analysis of microfauna indicator values for treatment performance in a full-scale municipal wastewater treatment plant. *Journal of Environmental Sciences*, 25(7), 1379–1385. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(12\)60199-5](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(12)60199-5)
- Ibarra, P. (2015). *Presencia y distribución de gimnamebas en un sistema de lodos activados que trata agua residual de una industria textil lanera* [Maestría en Ciencias Biológicas]. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.
- Jaromin-Gleń, K., Babko, R., Łagód, G., & Sobczuk, H. (2013). Community composition and abundance of protozoa under different concentration of nitrogen compounds at “Hajdow” wastewater treatment plant. *Ecological Chemistry and Engineering S*, 20(1), 127–139. <https://doi.org/10.2478/eces-2013-0010>
- John, D., & Howard, M. (1995). Seasonal distribution of pathogenic free-living amebae in Oklahoma waters. *Parasitology Research*, 81, 193–201.
- Ju, L., Yang, J., Liu, L., & Wilkinson, D. M. (2014). Diversity and distribution of freshwater testate amoebae (protozoa) along latitudinal and trophic gradients in China. *Microbial Ecology*, 68, 657–670. <https://doi.org/10.1007/s00248-014-0442-1>
- Kaboua, K., Pakoussi, T., Mouzou, A., Assih, M., Kadissoli, B., Dossou-Yovo, K. M., & Bois, P. (2021). Toxicological evaluation of *Hydrocotyle bonariensis* Comm. Ex Lamm (Araliaceae) leaves extract. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 10(1), 69. <https://doi.org/10.1186/s43088-021-00160-5>

- Kadry, G. M., Ismail, M. A. M., El-Sayed, N. M., El-Kholy, H. S., & El-Akkad, D. M. H. (2021). In vitro amoebicidal effect of *Aloe vera* ethanol extract and honey against *Acanthamoeba* spp. Cysts. *Journal of Parasitic Diseases*, *45*(1), 159–168.
<https://doi.org/10.1007/s12639-020-01292-8>
- Kang, H., Sohn, H.-J., Seo, G.-E., Seong, G.-S., Ham, A.-J., Park, A.-Y., Jung, S.-Y., Lee, S.-E., Cho, S.-H., & Shin, H.-J. (2020). Molecular detection of free-living amoebae from Namhangang (southern Han River) in Korea. *Scientific Reports*, *10*(1), 335.
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-57347-1>
- Kilvington, S., & Beeching, J. (1995). Identification and epidemiological typing of *Naegleria fowleri* with DNA probes. *Applied and Environmental Microbiology*, *61*(6), 2071–2078.
<https://doi.org/10.1128/aem.61.6.2071-2078.1995>
- Kim, J. H., & Choi, I. (2019). Choosing the level of significance: a decision-theoretic approach. *Abacus*, *57*(1), 27–71. <https://doi.org/10.1111/abac.12172>
- Koyun, İ., Kolören, Z., Karaman, Ü., Tsiami, A., & Karanis, P. (2020). *Acanthamoeba* spp. In river water samples from the Black Sea region, Turkey. *Journal of Water and Health*, *18*(2), 186–199. <https://doi.org/10.2166/wh.2020.170>
- Kreuzer, K., Adamczyk, J., Iijima, M., Wagner, M., Scheu, S., & Bonkowski, M. (2006). Grazing of a common species of soil protozoa (*Acanthamoeba castellanii*) affects rhizosphere bacterial community composition and root architecture of rice (*Oryza sativa* L.). *Soil Biology and Biochemistry*, *38*(7), 1665–1672.
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.11.027>
- Kyle, D. E., & Noblet, G. P. (1986). Seasonal distribution of thermotolerant free-living amoebae. I. Willard's Pond¹. *The Journal of Protozoology*, *33*(3), 422–434.
<https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1986.tb05634.x>
- Kyle, D. E., & Noblet, G. P. (1987). Seasonal distribution of thermotolerant free-living amoebae. II. Lake Issaqueena¹. *The Journal of Protozoology*, *34*(1), 10–15.
<https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1987.tb03122.x>

- Lamentowicz, M., Lamentowicz, Ł., van der Knaap, W. O., Gąbka, M., & Mitchell, E. A. D. (2010). Contrasting species—environment relationships in communities of testate amoebae, bryophytes and vascular plants along the Fen–Bog gradient. *Microbial Ecology*, *59*, 499–510. <https://doi.org/10.1007/s00248-009-9617-6>
- Lansac-Tôha, F. A., Velho, L. F. M., Zimmermann, M. C., & Bonecker, C. C. (2000). On the occurrence of testate amoebae (Protozoa, Rhizopoda) in Brazilian inland waters. I. Family Arcellidae. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, *22*(2), 355–363.
- Lansac-Tôha, F. A., Zimmermann-Callegari, M. C., Mucio, G., Velho, L. F. M., & Fulone, L. J. (2007). Species richness and geographic distribution of testate amoebae (Rhizopoda) in Brazilian freshwater environments. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, *29*(2), 185–195.
- Lansac-Tôha, F., Velho, L., Costa, D., Simões, N., & Alves, G. (2014). Structure of the testate amoebae community in different habitats in a neotropical floodplain. *Brazilian Journal of Biology*, *74*(1), 181–190. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.24912>
- Lares-Jiménez, L. F., Borquez-Román, M. A., Lares-García, C., Otero-Ruiz, A., Gonzalez-Galaviz, J. R., Ibarra-Gámez, J. C., & Lares-Villa, F. (2018). Potentially pathogenic genera of free-living amoebae coexisting in a thermal spring. *Experimental Parasitology*, *195*, 54–58. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2018.10.006>
- Lares-Villa, F., & Hernández-Peña, C. (2010). Concentration of *Naegleria fowleri* in natural waters used for recreational purposes in Sonora, Mexico (November 2007–October 2008). *Experimental Parasitology*, *126*(1), 33–36. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2010.04.011>
- Latifi, A., Salami, M., Kazemirad, E., & Soleimani, M. (2020). Isolation and identification of free-living amoeba from the hot springs and beaches of the Caspian Sea. *Parasite Epidemiology and Control*, *10*, e00151. <https://doi.org/10.1016/j.parepi.2020.e00151>

- Le Calvez, T., Trouilhé, M.-C., Humeau, P., Moletta-Denat, M., Frère, J., & Héchard, Y. (2012). Detection of free-living amoebae by using multiplex quantitative PCR. *Molecular and Cellular Probes*, 26(3), 116–120. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2012.03.003>
- Lee, J. J., Huntner, S. H., & Bovee, E. C. (Eds.). (2000). *An Illustrated guide to the protozoa* (2nd ed., Vol. 1–2). Society of Protozoologists.
- Lot, A., & Novelo, A. (1988). Vegetación y flora acuática del lago de Pátzcuaro, Michoacán, México. *The Southwestern Naturalist*, 33(2), 167–175. <https://doi.org/10.2307/3671891>
- Masangkay, F., Milanez, G., Karanis, P., & Nissapatorn, V. (2019). *Vermamoeba vermiformis*—Global trend and future perspective. En *Encyclopedia of Environmental Health* (pp. 356–366). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.11005-X>
- Mieczan, T. (2007). Seasonal patterns of testate amoebae and ciliates in three peatbogs: Relationship to bacteria and flagellates (Poleski National Park, Eastern Poland). *Ecology & Hydrobiology*, 7(1), 79–88. [https://doi.org/10.1016/S1642-3593\(07\)70191-X](https://doi.org/10.1016/S1642-3593(07)70191-X)
- Mieczan, T. (2010). Periphytic ciliates in three shallow lakes in eastern Poland: A comparative study between a phytoplankton-dominated lake, a phytoplankton-macrophyte lake and a macrophyte-dominated lake. *Zoological Studies*, 49(5), 589–600.
- Mieczan, T., Tarkowska-Kukuryk, M., Ārva, D., Berzni-Nagy, L., Novak, Z., & Vajda, C. (2018). The effect of epiphytic macroinvertebrates on microbial communities in different types of macrophyte-dominated shallow lakes. *Knowledge & Management of Aquatic Ecosystems*, 419, 13. <https://doi.org/10.1051/kmae/2017060>
- Milanez, G., Masangkay, F., Somsak, V., Kotepui, M., Tangpong, J., & Karanis, P. (2019). Occurrence and the first report of *Naegleria australiensis* presence in a major lake in the Philippines. *Journal of Water and Health*, 17(4), 647–653. <https://doi.org/10.2166/wh.2019.034>
- Mitsuwan, W., Sangkanu, S., Romyasamit, C., Kaewjai, C., Jimoh, T. O., de Lourdes Pereira, M., Siyadatpanah, A., Kayesth, S., Nawaz, M., Rahmatullah, M., Butler, M. S., Wilairatana,

- P., Wiart, C., & Nissapatorn, V. (2020). *Curcuma longa* rhizome extract and Curcumin reduce the adhesion of *Acanthamoeba triangularis* trophozoites and cysts in polystyrene plastic surface and contact lens. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 14, 218–229. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2020.11.001>
- Moreno-Franco, D.P., Quintero-Manzano, J., López-Cuevas, A. (2010). Métodos para identificar, diagnosticar y evaluar el grado de eutrofia. *ContactoS*, 78, 25-33.
- Moussa, M., Marcelino, I., Richard, V., Guerlotté, J., & Talarmin, A. (2020). An optimized most probable number (MPN) method to assess the number of thermophilic Free-Living Amoebae (FLA) in water samples. *Pathogens*, 9, 409. <https://doi.org/10.3390/pathogens9050409>
- Mrva, M., & Garajová, M. (2018). The efficiency of cultivation media in recovering naked lobose amoebae from freshwater environments. *Zoological Studies*, 57.
- Mustafa, F., Ghazali, N. F., Mohamad, H., Ibrahim, M. A., & Zakaria, N. H. (2021). Anti-acanthamoebic activity of methanolic extract of *Piper sarmentosum* leaves. *Malaysian Journal of Microbiology*, 17(5), 525–538. <https://doi.org/10.21161/mjm.211170>
- Nabi, M. (2021). Heavy metals accumulation in aquatic macrophytes from an urban lake in Kashmir Himalaya, India. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 16. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2021.100509>
- Nandini, S., Ramirez García, P., & Sarma, S. S. S. (2015). Water quality in Lake Xochimilco, Mexico: Zooplankton indicators and *Vibrio cholerae*. *Journal of Limnology*. <https://doi.org/10.4081/jlimnol.2015.1213>
- Niyyati, M., Dodangeh, S., & Lorenzo-Morales, J. (2016). A Review of the Current Research Trends in the application of medicinal plants as a source for novel therapeutic agents against *Acanthamoeba* infections. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 15(4), 893–900.
- Niyyati, M., Lasjerdi, Z., Nazar, M., Haghighi, A., & Nazemalhosseini Mojarad, E. (2012). Screening of recreational areas of rivers for potentially pathogenic free-living amoebae in

- the suburbs of Tehran, Iran. *Journal of Water and Health*, 10(1), 140–146.
<https://doi.org/10.2166/wh.2011.068>
- OCDE. (1982). Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico, Eutrophosation des eaux. Methodes de surveillance d'évaluation et lutte Paris.
- Ogden, C. G., & Hedley, R. H. (1980). *An atlas of freshwater testate amoebae*. Oxford University Press [for the] British Museum (Natural History).
- Ortíz-Ortega, R., Vilches-Flores, A., Rodríguez-Monroy, M. A., & Bonilla-Lemus, P. (2014). Pathogenic free-living amoebae of the genera *Acanthamoeba* in recreational water in the Huasteca Potosina, México. *BIOCYT*, 7(25), 474–481.
<https://doi.org/10.22201/fesi.20072082.2014.7.76134>
- Page, F. C. (1976). A revised classification of the Gymnamoebia (Protozoa: Sarcodina). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 58(1), 61–77. <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.1976.tb00820.x>
- Page, F. C. (1988). *A new key to freshwater and soil gymnamoebae: With instructions for culture*. Freshwater Biological Association.
- Patsyuk, M. K. (2013). Tolerance of naked amoebas (Protista) to the abiotic factors. *Natura Montenegrina, Podgorica*, 12(2), 319–323.
- Patsyuk, M. K., & Onyshchuk, I. P. (2019). Diversity and distribution of naked amoebae in water bodies of Sumy Region (Ukraine). *Vestnik Zoologii*, 53(3), 177–186.
<https://doi.org/10.2478/vzoo-2019-0018>
- Patterson, R. T., Huckerby, G., Kelly, T. J., Swindles, G. T., & Nasser, N. A. (2015). Hydroecology of Amazonian lacustrine Arcellinida (testate amoebae): A case study from Lake Quistococha, Peru. *European Journal of Protistology*, 51(5), 460–469.
<https://doi.org/10.1016/j.ejop.2015.06.009>
- Patterson, R. T., & Kumar, A. (2000). Assessment of arcellacean (thecamoebian) assemblages, species, and strains as contaminant indicators in James Lake, northeastern Ontario,

- Canada. *Journal of Foraminiferal Research*, 30(4), 310–320.
<https://doi.org/10.2113/0300310>
- Patterson, R. T., & Kumar, A. (2002). A review of current testate rhizopod (thecamoebian) research in Canada. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 180(1–3), 225–251. [https://doi.org/10.1016/S0031-0182\(01\)00430-8](https://doi.org/10.1016/S0031-0182(01)00430-8)
- Patterson, R. T., Lamoureux, E. D. R., Neville, L. A., & Macumber, A. L. (2013). Arcellacea (testate lobose amoebae) as pH indicators in a pyrite mine-acidified lake, northeastern Ontario, Canada. *Microbial Ecology*, 65, 541–554. <https://doi.org/10.1007/s00248-012-0108-9>
- Pawlowski, J. (2008). The twilight of Sarcodina: A molecular perspective on the polyphyletic origin of amoeboid protists. *Protistology*, 5(4), 281–302.
- Picapedra, P. H. dos S., Fernandes, C., & Baumgartner, G. (2019). Structure and ecological aspects of zooplankton (Testate amoebae, Rotifera, Cladocera and Copepoda) in highland streams in southern Brazil. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 31.
<https://doi.org/10.1590/s2179-975x2917>
- Poi, A. S. G., Gallardo, L. I., Casco, S. L., Sabater, L. M., & Úbeda, B. (2021). Influence of macrophyte complexity and environmental variables on macroinvertebrate assemblages across a subtropical wetland system. *Wetlands*, 41(8), 105.
<https://doi.org/10.1007/s13157-021-01508-4>
- Porter, K. G., & Feig, Y. S. (1980). The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnology and Oceanography*, 25(5), 943–948.
<https://doi.org/10.4319/lo.1980.25.5.0943>
- Puzon, G. J., Miller, H. C., Malinowski, N., Walsh, T., & Morgan, M. J. (2020). *Naegleria fowleri* in drinking water distribution systems. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 16, 22–27. <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2020.02.003>
- Ramírez, E., Robles, E., Bonilla, P., Sainz, G., Lopez, M., De La Cerda, J. M., & Warren, A. (2005). Occurrence of pathogenic free-living amoebae and bacterial indicators in a

- constructed wetland treating domestic wastewater from a single household. *Engineering in Life Sciences*, 5(3), 253–258. <https://doi.org/10.1002/elsc.200420071>
- Ramírez, E., Robles, E., & Martínez, B. (2010). Free-living amoebae isolated from water-hyacinth root (*Eichornia crassipes*). *Experimental Parasitology*, 126(1), 42–44. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2010.01.020>
- Ramírez, E., Robles, E., Martínez, B., Ayala, R., Sainz, G., Martínez, M. E., & Gonzalez, M. E. (2014). Distribution of free-living amoebae in a treatment system of textile industrial wastewater. *Experimental Parasitology*, 145, S34–S38. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2014.07.006>
- Ramírez, E., Robles, E., Martínez, M. E., Sainz, M. G., Martínez, B., Rivas, B. I., & Rocha, A. (2016). Distribution of free-living amoebae in springs in Morelos, Mexico. *Global Advanced Research Journal of Microbiology*, 5(6), 57–67.
- Ramírez, E., Robles, E., Sainz, M. G., & Campoy, E. (2009). Calidad microbiológica del acuífero de Zacatepec, Morelos. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 24(4), 247–255.
- Ramírez-Flores, M. (2019). *Amebas de vida libre en el canal de riego Revolución en el Ejido Saltillo Mexicali, Baja California Norte*. [Licenciatura]. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.
- Ren, K., Xue, Y., Rønn, R., Liu, L., Chen, H., Rensing, C., & Yang, J. (2018). Dynamics and determinants of amoeba community, occurrence and abundance in subtropical reservoirs and rivers. *Water Research*, 146, 177–186. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.09.011>
- Reyes-Batlle, M., Díaz, F. J., Sifaoui, I., Rodríguez-Expósito, R., Rizo-Liendo, A., Piñero, J. E., & Lorenzo-Morales, J. (2021). Free living amoebae isolation in irrigation waters and soils of an insular arid agroecosystem. *Science of The Total Environment*, 753. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141833>
- Reyes-Batlle, M., Niyiyati, M., Martín-Navarro, C. M., López-Arencibia, A., Martínez-Carretero, E., Piñero, J. E., & Lorenzo-Morales, J. (2015). Unusual *Vermamoeba vermiformis* Strain

- Isolated from Snow in Mount Teide, Tenerife, Canary Islands, Spain. *Novelty in Biomedicine*. 3(4), 189-192
- Reynaud, Y., Ducat, C., Talarmin, A., & Marcelino, I. (2020). Cartography of free-living amoebae in soil in Guadeloupe (French West Indies) using DNA metabarcoding. *Pathogens*, 9(6), 440. <https://doi.org/10.3390/pathogens9060440>
- Reynolds, S. A., & Aldridge, D. C. (2021). Embracing the allelopathic potential of invasive aquatic plants to manipulate freshwater ecosystems. *Frontiers in Environmental Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2020.551803>
- Ríos, A. (2021, abril 8). Vecinos denuncian contaminación en Laguna Salazar por comerciantes, En Edomex. *El Gráfico*. <https://www.elgrafico.mx/al-dia/vecinos-denuncian-contaminacion-en-laguna-salazar-por-comerciantes-en-edomex>
- Rivera, F., Rodríguez, S., Warren, A., Bonilla, P., Ramírez, E., Calderón, A., & Ortiz, R. (1993). An investigation of the pathogenic and non-pathogenic free-living amoebae from the root zone method of wastewater treatment. *Water, Air, & Soil Pollution*, 69, 93–98. <https://doi.org/10.1007/BF00478350>
- Rivera, F., Warren, A., Ramírez, E., Decamp, O., Bonilla, P., Gallegos, E., Calderón, A., & Sánchez, J. T. (1995). Removal of pathogens from wastewaters by the root zone method (RZM). *Water Science and Technology*, 32(3), 211–218.
- Rodríguez-Zaragoza, S. (1994). Ecology of Free-Living Amoebae. *Critical Reviews in Microbiology*, 20(3), 225–241. <https://doi.org/10.3109/10408419409114556>
- Rodríguez-Zaragoza, S., Gaviria-González, L., & Rivera-Aguilar, V. (2005a). Riqueza de especies de amebas desnudas en la rizosfera de *Neobuxbaumia tetetzo* y *Prosopis laevigata* en el Desierto del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, México. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural*, 11.
- Rodríguez-Zaragoza, S., Mayzlish, E., & Steinberger, Y. (2005b). Seasonal changes in free-living amoeba species in the root canopy of *Zygophyllum dumosum* in the Negev Desert, Israel. *Microbial Ecology*, 49(1), 134–141. <https://doi.org/10.1007/s00248-003-1056-1>

- Roe, H. M., Patterson, R. T., & Swindles, G. T. (2010). Controls on the contemporary distribution of lake thecamoebians (testate amoebae) within the Greater Toronto Area and their potential as water quality indicators. *Journal of Paleolimnology*, *43*, 955–975.
<https://doi.org/10.1007/s10933-009-9380-1>
- Rogerson, A., Anderson, O. R., & Vogel, C. (2003). Are planktonic naked amoebae predominately floc associated or free in the water column? *Journal of Plankton Research*, *25*(11), 1359–1365. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbg102>
- Samba-Louaka, A., Delafont, V., Rodier, M.-H., Cateau, E., & Héchard, Y. (2019). Free-living amoebae and squatters in the wild: Ecological and molecular features. *FEMS Microbiology Reviews*, *43*(4), 415–434. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuz011>
- Scheid, P. L. (2019). *Vermamoeba vermiformis*—A free-living amoeba with public health and environmental health significance. *The Open Parasitology Journal*, *7*(1), 40–47.
<https://doi.org/10.2174/1874421401907010040>
- Sherr, E. B., & Sherr, B. F. (2002). Significance of predation by protists in aquatic microbial food webs. *Antonie van Leeuwenhoek*, *81*, 293–308.
- Siddiqui, R., Ali, I. K. M., Cope, J. R., & Khan, N. A. (2016). Biology and pathogenesis of *Naegleria fowleri*. *Acta Tropica*, *164*, 375–394.
<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.09.009>
- Sigala, I., Lozano, S., Pérez, L., Caballero, M., & Lugo, A. (2018). Ecological drivers of testate amoeba diversity in tropical water bodies of central Mexico. *Journal of Limnology*, *77*(3), 385–399. <https://doi.org/10.4081/jlimnol.2018.1699>
- Sigala, I., Lozano-García, S., Escobar, J., Pérez, L., & Gallegos-Neyra, E. (2016). Testate amoebae (Amebozoa: Arcellinida) in tropical lakes of Central Mexico. *Revista de Biología Tropical*, *64*(1), 377. <https://doi.org/10.15517/rbt.v64i1.18004>
- Smirnov, A. (2009). Amoebas, Lobose. En *Encyclopedia of Microbiology* (pp. 558–577). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/B978-012373944-5.00359-X>

- Smirnov, A., & Brown, S. (2004). Guide to the methods of study and identification of soil gymnamoebae. *Protistology*, 3(3), 148–190.
- Smirnov, A., & Thar, R. (2003). Spatial distribution of gymnamoebae (Rhizopoda, Lobosea) in brackish-water sediments at the scale of centimeters and millimeters. *Protist*, 154(3–4), 359–369. <https://doi.org/10.1078/143446103322454121>
- Smirnov, A. V. (2002). Vertical distribution and abundance of gymnamoebae (Rhizopoda) in bottom sediments of the brackish water Nivå Bay (Baltic Sea, The Sound). *Protist*, 153, 239–250.
- Smirnov, A. V., Chao, E., Nassonova, E. S., & Cavalier-Smith, T. (2011). A revised classification of naked lobose amoebae (Amoebozoa: Lobosa). *Protist*, 162(4), 545–570. <https://doi.org/10.1016/j.protis.2011.04.004>
- Souza, D. C. S., Costa-Silva, T. A., Morais, T. R., Brito, J. R., Ferreira, E. A., Antar, G. M., Sartorelli, P., Tempone, A. G., & Lago, J. H. G. (2021). Simplified derivatives of dibenzylbutyrolactone lignans from *Hydrocotyle bonariensis* as antitrypanosomal Candidates. *Chemistry & Biodiversity*, 18(10). <https://doi.org/10.1002/cbdv.202100515>
- Stahl, L. M., & Olson, J. B. (2020). Environmental abiotic and biotic factors affecting the distribution and abundance of *Naegleria fowleri*. *FEMS Microbiology Ecology*, 97(1). <https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa238>
- Štěpánek, M., & Jiří, J. (1958). *Diffflugia gramen* Penard, *Diffflugia gramen* var. *achlora* Penard and *Diffflugia gramen* f. *globulosa* f.n.: Morphometrical and statistical study. *Hydrobiologia*, 10(1), 138–156. <https://doi.org/10.1007/BF00142184>
- Stiers, I., & Triest, L. (2017). Impact of non-native invasive plant species cover on phytoplankton and zooplankton communities in temperate ponds. *Aquatic Invasions*, 12(3), 385–395. <https://doi.org/10.3391/ai.2017.12.3.11>
- Sullivan, M. E., & Booth, R. K. (2011). the potential influence of short-term environmental variability on the composition of testate amoeba communities in sphagnum peatlands. *Microbial Ecology*, 62(1), 80–93. <https://doi.org/10.1007/s00248-011-9875-y>

- Takamura, N., Shen, Y., & Xie, P. (2000). Species richness of Protozoa in Japanese lakes. *Limnology*, 1(2), 91–106. <https://doi.org/10.1007/s102010070015>
- Thomas, V., Loret, J.-F., Jousset, M., & Greub, G. (2008). Biodiversity of amoebae and amoebae-resisting bacteria in a drinking water treatment plant: Amoebae and amoebae-resisting bacteria in a water plant. *Environmental Microbiology*, 10(10), 2728–2745. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2008.01693.x>
- Thomaz, S. M., & Cunha, E. R. da. (2010). The role of macrophytes in habitat structuring in aquatic ecosystems: Methods of measurement, causes and consequences on animal assemblages' composition and biodiversity. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 22(02), 218–236. <https://doi.org/10.4322/actalb.02202011>
- Toledo, E. (2007). *Presencia y distribución de amibas y ciliados en el sistema de lodos activados de Ciudad Universitaria* [Maestría en Ciencias Biológicas]. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.
- Tran, H. Q., Tran, V. T. H., & Tikhonenkov, D. V. (2021). Freshwater testate amoebae from waterbodies of North Vietnam with the finding of indicator species. *Limnology*, 22(1), 151–160. <https://doi.org/10.1007/s10201-020-00642-y>
- Tsai, C.-M., Chen, J.-W., & Lin, W.-C. (2020). Effects of *Acanthamoeba castellanii* on the dissolved oxygen and the microbial community under the experimental aquatic model. *Experimental Parasitology*, 218. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2020.107985>
- Tsvetkova, N., Schild, M., Panaiotov, S., Kurdova-Mintcheva, R., Gottstein, B., Walochnik, J., Aspöck, H., Lucas, M. S., & Müller, N. (2004). The identification of free-living environmental isolates of amoebae from Bulgaria. *Parasitology Research*, 92(5), 405–413. <https://doi.org/10.1007/s00436-003-1052-x>
- Udalov, I. A. (2016). *Pseudoparamoeba microlepis* n. sp., *Korotnevella fousta* n. sp. (Amoebozoa, Dactylopodida), with notes on the evolution of scales among dactylopodid amoebae. *European Journal of Protistology*, 54, 33–46. <https://doi.org/10.1016/j.ejop.2016.03.001>

- Udalov, I. A., & Völcker, E. (2022). Is scale's structure still a good character to delimitate species of Amoebozoa? Case of the genus *Korotnevella* (Amoebozoa, Dactylopodida). *Organisms Diversity & Evolution*, 22(1), 17–33. <https://doi.org/10.1007/s13127-021-00521-z>
- Udalov, I. A., Völcker, E., & Smirnov, A. (2017). *Korotnevella novazelandica* n. Sp. (Amoebozoa, Discosea, Dactylopodida)—A new freshwater amoeba with unusual combination of scales. *Protistology*, 11(4), 238–247. <https://doi.org/10.21685/1680-0826-2017-11-4-5>
- Üstüntürk-Onan, M. (2020). Isolation and identification of free-living amoebae isolated from well water in Istanbul. *Journal of Water and Health*, 18(6), 1139–1145. <https://doi.org/10.2166/wh.2020.255>
- Üstüntürk-Onan, M., & Walochnik, J. (2018). Identification of free-living amoebae isolated from tap water in Istanbul, Turkey. *Experimental Parasitology*, 195, 34–37. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2018.10.002>
- Valderrama, J. C. (1981). The simultaneous analysis of total nitrogen and total phosphorus in natural waters. *Marine Chemistry*, 10(2), 109–122. [https://doi.org/10.1016/0304-4203\(81\)90027-X](https://doi.org/10.1016/0304-4203(81)90027-X)
- Van Wichelen, J., van Gremberghe, I., Vanormelingen, P., & Vyverman, W. (2012). The importance of morphological versus chemical defenses for the bloom-forming cyanobacterium *Microcystis* against amoebae grazing. *Aquatic Ecology*, 46(1), 73–84. <https://doi.org/10.1007/s10452-011-9382-8>
- Velho, L. F. M., Lansac-Tôha, F. A., & Bini, L. M. (1999). Spatial and temporal variation in densities of testate amoebae in the plankton of the Upper Paraná River floodplain, Brazil. *Hydrobiologia*, 411, 103–113. <https://doi.org/10.1023/A:1003889331767>
- Vickerman, K. (1992). The diversity and ecological significance of Protozoa. *Biodiversity and Conservation*, 1(4), 334–341. <https://doi.org/10.1007/BF00693769>
- Vieira, L. C. G., Bini, L. M., Velho, L. F. M., & Mazão, G. R. (2007). Influence of spatial complexity on the density and diversity of periphytic rotifers, microcrustaceans and

- testate amoebae. *Fundamental and Applied Limnology*, 170(1), 77–85.
<https://doi.org/10.1127/1863-9135/2007/0170-0077>
- Visvesvara, G. S. (2013). Infections with free-living amoebae. En *Handbook of Clinical Neurology* (Vol. 114, pp. 153–168). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53490-3.00010-8>
- Visvesvara, G. S. (2014). Pathogenic and opportunistic free-living amoebae. En *Manson's Tropical Infectious Diseases* (pp. 683-691.e5). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-5101-2.00051-0>
- Visvesvara, G. S., Moura, H., & Schuster, F. L. (2007). Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri*, and *Sappinia diploidea*. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 50(1), 1–26.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2007.00232.x>
- Weidner, S., Latz, E., Agaras, B., Valverde, C., & Jousset, A. (2017). Protozoa stimulate the plant beneficial activity of rhizospheric pseudomonads. *Plant and Soil*, 410, 509–515.
<https://doi.org/10.1007/s11104-016-3094-8>
- Wetzel, R. G., & Likens, G. E. (2000). *Limnological Analyses*. Springer New York.
<https://doi.org/10.1007/978-1-4757-3250-4>
- Wong-Argüelles, C., Carranza-Álvarez, C., Alonso-Castro, A. J., & Ilizaliturri-Hernández, C. A. (2021). Fitorremediación *in situ* En México: Una Revisión. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 44(2), 133–133. <https://doi.org/10.35196/rfm.2021.2.133>
- Xu, J., Liu, J., Hu, J., Wang, H., Sheng, L., Dong, X., & Jiang, X. (2021). Nitrogen and phosphorus removal in simulated wastewater by two aquatic plants. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(44), 63237–63249. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-15206-5>
- Xu, M., Cao, H., Xie, P., Deng, D., Feng, W., & Xu, J. (2005). The temporal and spatial distribution, composition and abundance of protozoa in Chaohu Lake, China: Relationship with eutrophication. *European Journal of Protistology*, 41(3), 183–192.
<https://doi.org/10.1016/j.ejop.2005.03.001>

- Xuan, Y.-H., Chung, B.-S., Hong, Y.-C., Kong, H.-H., Hahn, T.-W., & Chung, D.-I. (2008). Keratitis by *Acanthamoeba triangularis*: Report of cases and characterization of isolates. *The Korean Journal of Parasitology*, 46(3), 157.
<https://doi.org/10.3347/kjp.2008.46.3.157>
- Yan, D., Xia, P., Song, X., Lin, T., & Cao, H. (2019). Community structure and functional diversity of epiphytic bacteria and planktonic bacteria on submerged macrophytes in Caohai Lake, southwest of China. *Annals of Microbiology*, 69(9), 933–944.
<https://doi.org/10.1007/s13213-019-01485-4>
- Yin, X., Lu, J., Wang, Y., Liu, G., Hua, Y., Wan, X., Zhao, J., & Zhu, D. (2020). The abundance of nirS-type denitrifiers and anammox bacteria in rhizospheres was affected by the organic acids secreted from roots of submerged macrophytes. *Chemosphere*, 240, 124903. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124903>
- Zepeda-Gómez, C., Lot-Helgueras, A., Nemiga, X., & Madrigal-Uribe, D. (2012). Florística y diversidad de las ciénegas del río Lerma Estado de México, México. *Acta Botanica Mexicana*, 98, 23–49. <https://doi.org/10.21829/abm98.2012.1139>
- Zhang, W., Wang, L., Chen, L., Shen, H., & Chen, J. (2019). Proliferation of filamentous green algae along with submerged macrophytes planting, and the role of microbe. *Ecological Engineering*, 139. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2019.07.040>
- Zhu, H.-Z., Jiang, M.-Z., Zhou, N., Jiang, C.-Y., & Liu, S.-J. (2021). Submerged macrophytes recruit unique microbial communities and drive functional zonation in an aquatic system. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(19), 7517–7528.
<https://doi.org/10.1007/s00253-021-11565-8>

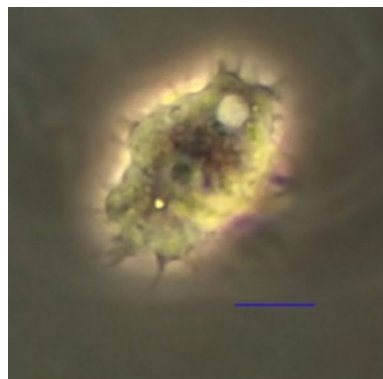
Anexos

Anexo 1. Fotografías y corta descripción de las amibas identificadas

A excepción de *Korotnevella stella*, se tiene registro de todas las amibas reportadas. Las descripciones generales son tomadas de Page (1988) y Lee et al. (2000).

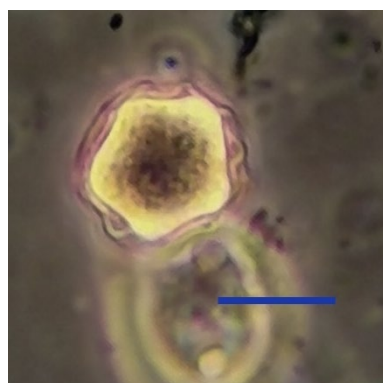
Como escala considerar la línea azul en cada imagen que equivale siempre a 10µm.

- *Acanthamoeba* spp.



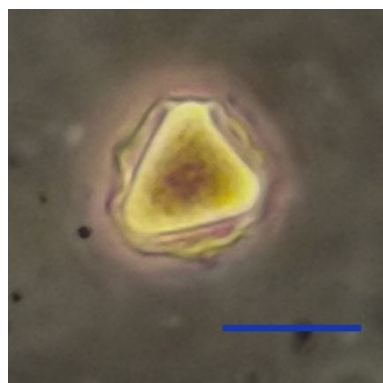
Fotografía 1 Trofozoito de *Acanthamoeba* sp.

La forma de trofozoito se encuentra usualmente entre 12 y 40 µm. Muy poco eruptiva presentando subpseudópodos filamentosos llamados acantópodos, lo que le da a la amiba una apariencia “espinada”. Posee un núcleo esférico con un nucleolo central. Usualmente se aprecia una vacuola contráctil grande en el citoplasma. La identificación morfológica de la especie es posible observando el quiste, el cuál posee dos capas en su pared; ectoquiste y endoquiste.



Fotografía 2 Quiste de *A. polyphaga*

El endoquiste de *Acanthamoeba polyphaga* posee un endoquiste muy irregular, pero casi nunca estrellado; el ectoquiste un poco menos rugoso que en otras especies, en algunos lados bien separado del endoquiste. Posee una media de cinco o seis brazos. Tiene un tamaño promedio de 14 µm.



Fotografía 3 Quiste de *A. triangularis*

En el quiste de *Acanthamoeba triangularis* el endoquiste posee menos de cuatro brazos. Se puede apreciar un ostiolo en donde el ectoquiste y endoquiste se encuentran. Con un tamaño promedio de 13 µm.

- *Arcella* spp.



Fotografía 4 Testa de *Arcella* sp.1

Son amibas con la testa más o menos circular y una apertura central. La testa es completamente orgánica compuesta por unidades de construcción parecidas a una caja que se distribuyen en una sola capa. Las testas jóvenes carecen de color, mientras que las más antiguas toman un color café.

En el género existen diversas variedades y formas en aproximadamente 50 especies.



Fotografía 5 Testa de *Arcella* sp.2

- *Diffflugia* sp.



Fotografía 6 Testa de *Arcella* sp.

Amibas con la testa aglutinada, posee una apertura redonda, ovalada, lobulada o dentada pero nunca con forma de hendidura. La testa siempre compuesta de partículas minerales o diatomeas. La taxonomía del género está basada principalmente en los tamaños y formas de las testas.

- *Hartmannella cantabrigiensis*



Fotografía 7 Trofozoíto de *H. cantabrigiensis*

El género posee un trofozoíto con un solo pseudópodo, excepto cuando cambia de dirección, con punta hialina casi siempre. Usualmente presenta una pequeña vacuola contráctil. La especie *Hartmannella cantabrigiensis* posee un tamaño promedio de 16 a 33 μm , usualmente 23 μm . El cociente de lo largo y lo ancho es usualmente 4.5 máximo aproximadamente 6.5. El quiste suele ser liso, esférico u ovoide, con un diámetro promedio de 8.8 μm .

- *Naegleria* sp.



Fotografía 8 Trofozoíto de *Naegleria* sp.

Amibas eruptivas de forma limax con un tamaño promedio de 15 a 30 μm ; aunque el tamaño puede variar dependiendo de la especie y aislamiento. Se caracterizan por poseer una forma de trofozoíto, una forma de quiste y una forma flagelar; para su identificación es necesario observar la forma limax del trofozoíto, como el quiste y la forma flagelada; sin embargo, una identificación morfológica sólo es posible hasta género, y para identificar la especie es necesario usar métodos moleculares.



Fotografía 9 Quistes de *Naegleria* sp.

El quiste de *Naegleria* es esférico, algunas veces puede ser reniforme u ovoide, y con un tamaño promedio de 9 a 17 μm , aunque al igual que el trofozoíto varía dependiendo de la especie y de la cepa. Es característico del quiste observar al núcleo rodeado por una pared densa negra de cromatina que tiene una apariencia “perlada”.

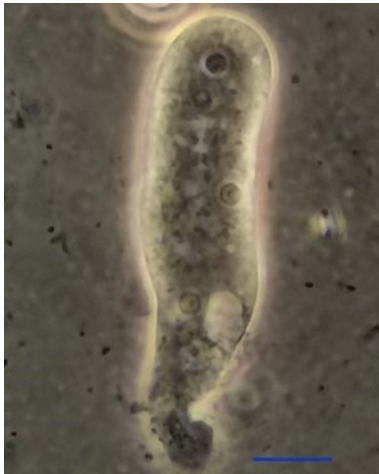
Las formas flageladas de *Naegleria* se caracterizan por



Fotografía 10 Flagelado de *Naegleria* sp.

poseer 2 flagelos y el cuerpo posee una forma de pera.

- *Saccamoeba stagnicola*



Fotografía 11 Trofozoito de *S. stagnicola*

Al igual que *Hartmannella*, el género *Saccamoeba* posee un solo pseudópodo y tiene forma cilíndrica. El trofozoíto se encuentra en movimiento constante; sin embargo, no es eruptivo. La especie *Saccamoeba stagnicola* mide usualmente de largo de 30 a 75 μm , aunque en promedio es de 50 μm . El tamaño del núcleo en promedio mide 6.5 μm . Usualmente contiene bacterias endosimbíóticas. Puede formar quistes.

- *Thecamoeba quadrilineata*



Fotografía 12 Trofozoíto

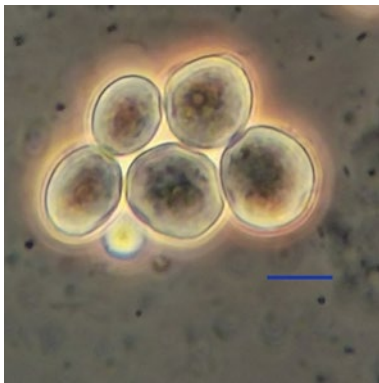
Las amibas del género *Thecamoeba* son aplanadas y de contorno oblongado usualmente con varios dobleces paralelos. Uno de los extremos posee una parte hialina que puede llegar a cubrir hasta la mitad de la célula. La especie *Thecamoeba quadrilineata* mide entre 35 a 100 μm , aunque el promedio es de 50 a 70 μm ; un núcleo centrado y con un nucleolo liso, usualmente mide en promedio 9.5 μm .

de *T. quadrilineata*

Vahlkampfia ustiana

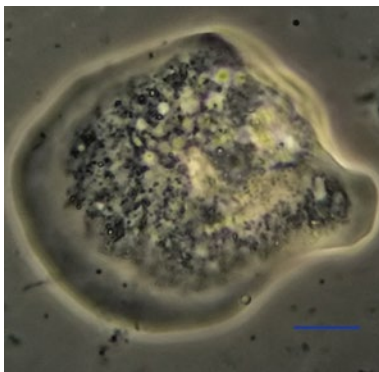


Fotografía 13 Trofozoito de *V. ustiana*



Fotografía 14 Quiste de *V. ustiana*

- *Vannella* spp.



Fotografía 15 Trofozoito de *V. simplex*

El género varía de tamaño desde los 7 hasta los 65 μm , aproximadamente; sin embargo, al igual que *Naegleria*, varía de acuerdo con la especie. Tienen forma limax y no presenta estado flagelar.

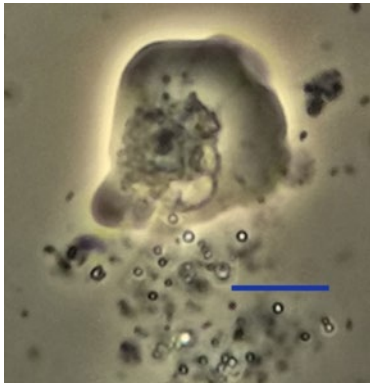
La especie *Vahlkampfia ustiana* mide desde 30 a 65 μm y el trofozoito posee un uroide prominente o bulboso. Poseen un núcleo de 5 a 6.5 μm de diámetro. El quiste puede ser circular ovalado reniforme o piriforme; usualmente miden 15 μm y pueden tener una cubierta pegajosa.

El género posee una forma locomotora con un hialoplasma anterior aplanado que puede ocupar más de la mitad del largo del trofozoito. El ancho es usualmente más grande que el largo, lo que le confiere una forma de abanico. En condiciones acuosas, tienen la capacidad de cambiar su forma del trofozoito a una con prolongaciones largas llamada forma flotante. No forman quistes.

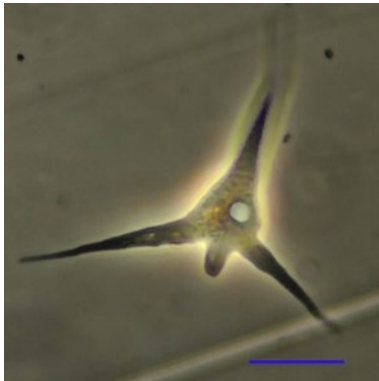
La especie *Vannella simplex* es más ancha que larga en su mayoría con un tamaño promedio de 42 a 52 μm . El núcleo puede medir en promedio de 7.4 a 8.6 μm de diámetro, a veces puede presentar más de un núcleo. Pasa de su forma flotante a



Fotografía 16 Forma flotante de *V. simplex*



Fotografía 17 Trofozoito de *V. platypodia*



Fotografía 18 Forma flotante de *V. platypodia*

la forma ameboide muy lentamente.

La especie *Vannella platypodia* es más larga que ancha usualmente, a veces tiene forma espatulada o con la parte posterior prolongada. En promedio mide de 16 a 21 μm y suele pasar de su forma flotante la forma ameboide en pocos minutos.

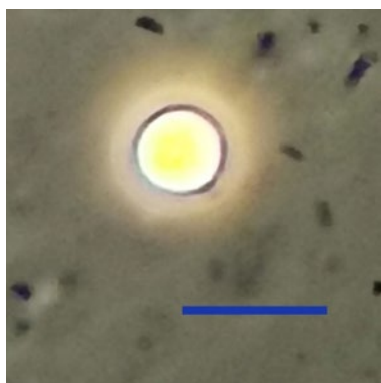
- *Vermamoeba vermiformis*

El trofozoito posee un solo pseudópodo, con una prominente zona hialina en uno de los extremos, no es eruptivo y usualmente tiene una vacuola contráctil. Su largo va desde los 12 a los 37 μm , pero a diferencia del género *Hartmannella* el cociente de largo entre el ancho es mayor a 6. el núcleo mide en



Fotografía 19 Trofozoito de *V. vermiformis*

promedio de 2.1 a 4.1 μm . El quiste es esférico o ligeramente ovoide con un diámetro promedio de 7 μm , característico por ser muy refringente en microscopía de contraste de fases.



Fotografía 20 Quiste de *V. vermiformis*

Anexo 2. Análisis estadísticos y tablas de datos.

- ANOSIM entre diferentes sitios de muestreo usando datos de riqueza de especies.

Realizado con PAST 4.07 (Hammer et al., 2001).

Permutation N:	9999	R:	-0.1111
Mean rank within:	9	p (same):	0.7374
Mean rank between:	7.83		

- ANOSIM entre diferentes sitios de muestreo usando datos transformados a Log1 de los parámetros físicos y químicos, incluida clorofila a. Realizado con PAST 4.07(Hammer et al., 2001)

Permutation N:	9999	Mean rank between:	9.25
Mean rank within:	3	R:	0.8333

p (same): 0.0674

- Datos de presencia y ausencia de amibas para análisis estadísticos.

	Primer muestreo			Segundo muestreo		
	Potamogeton	Hydrocotyle	Sin Planta	Potamogeton	Hydrocotyle	Sin Planta
<i>Acanthamoeba castellanii</i>	0	0	0	1	0	0
<i>Acanthamoeba polyphaga</i>	0	0	0	1	1	0
<i>Acanthamoeba triangularis</i>	0	0	0	0	1	0
<i>Arcella</i> sp1	1	1	1	1	1	1
<i>Arcella</i> sp2	0	0	0	1	0	0
<i>Diffugia</i> sp.	1	0	1	0	0	0
<i>Korotnevella stella</i>	1	1	1	0	0	0
<i>Hartmannella cantabrigiensis</i>	0	1	1	0	1	0
<i>Naegleria</i> sp.	1	1	1	1	1	1
<i>Saccamoeba stagnicola</i>	0	0	0	1	0	0
<i>Thecamoeba quadrilineata</i>	0	0	0	0	1	0
<i>Vahlkampfia ustiana</i>	1	1	0	0	0	1
<i>Vannella platypodia</i>	1	1	0	0	1	0
<i>Vannella simplex</i>	0	0	1	0	1	1
<i>Vermamoeba vermiformis</i>	0	1	0	1	1	1

- Análisis de correlación de Spearman con los datos de MPA y AT/L de amibas y datos.

Realizado con PAST 4.07 (Hammer et al., 2001).

	OD	T°	Cond	pH	P-tot	N-tot	Dur	Clor-a	MPA	AT/L
OD		0.77778	0.71111	0.49722	0.66667	0.83889	0.20833	0.26944	0.41944	0.80278
T°	-0.14494		0.41944	0.16111	0.45	0.98889	0.98333	0.59444	0.43333	0.044444
Cond	0.20292	-0.41176		0.71111	0.05	0.036111	0.55556	0.98333	0.19444	0.98333
pH	-0.37143	-0.66674	0.20292		0.36667	0.77778	0.86111	0.35556	0.10278	0.26944
P-tot	0.21602	-0.4227	0.86106	0.49377		0.21667	0.93333	0.5	0.1	0.86667
N-tot	0.11595	-0.014706	0.86765	-0.14494	0.62622		0.43333	0.83889	0.37222	0.6
Dur	0.6	-0.028989	-0.31887	0.085714	0.061721	-0.40584		0.91944	0.65833	0.91944
Clor-a	0.54286	-0.2609	-0.028989	-0.48571	-0.33947	-0.11595	-0.085714		0.15556	0.56389
MPA	0.42857	0.40584	-0.63775	-0.77143	-0.77152	-0.46382	0.25714	0.65714		0.80278
AT/L	-0.14286	-0.84067	-0.028989	0.54286	-0.092582	-0.28989	-0.085714	0.31429	-0.14286	

- Análisis de correlación de Spearman con los datos de MPA y AT/L de amibas y densidades de bacterias. Realizado con PAST 4.07 (Hammer et al., 2001).

	AT/L	MPA	Cocos	Bacilos	Largas	Totales
AT/L		0.65833	0.56389	0.49722	0.29722	0.65833
MPA	0.25714		0.080556	0.11944	0.26944	0.058333
Cocos	-0.31429	0.77143		0.058333	0.080556	0.016667
Bacilos	-0.37143	0.71429	0.82857		0.016667	0.016667
Largas	-0.54286	0.54286	0.77143	0.94286		0.058333

Resultados de correlación de Spearman con densidades de bacterias y MPA de amibas. En negritas están los valores con correlación si se toma $p < 0.06$

- Análisis de rarefacción Mau Tao, con la extrapolación de muestreos y de estimación Chao2. Realizado con EstimateS ver. 9.1 (Colwell & Elsehon, 2014).

Muestreos	S(est)	S(est) 95% CI Limite inferior	S(est) 95% CI Limite superior	S(est) SD	Chao 2 Media	Chao 2 95% CI Limite inferior	Chao 2 95% CI Limite superior	Chao 2 SD
1	3.92	2.55	5.29	0.7	4.19	0	0	0
2	6.7	4.59	8.81	1.08	11.65	8	30.26	4.51
3	8.7	6.2	11.19	1.27	15.07	10.4	37.7	5.6
4	10.16	7.49	12.83	1.36	14.18	11.1	31.07	3.99
5	11.26	8.52	14	1.4	14.15	11.91	27.58	3.07
6	12.11	9.35	14.87	1.41	14.75	12.56	28.29	3.05
7	12.8	10.05	15.55	1.4	14.94	13.01	27.7	2.81
8	13.37	10.62	16.12	1.4	15.73	13.7	28.76	2.89
9	13.86	11.11	16.61	1.4	15.96	14.06	28.86	2.81
10	14.29	11.53	17.05	1.41	16.86	14.67	31.29	3.17
11	14.67	11.87	17.46	1.42	16.61	14.95	29.06	2.62
12	15	12.16	17.84	1.45	16.38	15.16	26.63	2.07
13	15.29	12.38	18.21	1.49				
14	15.55	12.55	18.56	1.53				
15	15.78	12.66	18.89	1.59				
16	15.98	12.73	19.22	1.65				
17	16.15	12.77	19.54	1.73				
18	16.31	12.77	19.85	1.8				
19	16.45	12.75	20.14	1.88				
20	16.57	12.72	20.42	1.96				
21	16.67	12.66	20.68	2.04				
22	16.76	12.6	20.93	2.12				
23	16.85	12.53	21.16	2.2				
24	16.92	12.46	21.38	2.27				

A partir del muestreo 13 empieza la extrapolación

- Tablas con valor de similitud por índice de Jaccard. Realizado con PAST 4.07 (Hammer et al., 2001).

	Pota1	Hydro1	Sin1	Pota2	Hydro2	Sin2
Pota1	1	0.375	0.4285714	0.11111111	0.1666667	0.5
Hydro1	0.375	1	0.44444444	0.1818182	0.5454546	0.5
Sin1	0.4285714	0.44444444	1	0.0909091	0.4545455	0.375
Pota2	0.11111111	0.1818182	0.0909091	1	0.2307692	0.2222222
Hydro2	0.1666667	0.5454546	0.4545455	0.2307692	1	0.3636364
Sin2	0.5	0.5	0.375	0.2222222	0.3636364	1